

ฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium berghei* ในหนูทดลอง

Effect of Shallot Extract (*Allium ascalonicum*) on Liver and Renal Damage Induced by *Plasmodium berghei* Infection in Mice

วรวิทย์ สมศักดิ์^{1*}, สุกัญญา ชาชิโย², สมเดช ศรีชัยรัตนกุล³ และชัยรัตน์ อุทัยพิบูลย์⁴
Voravuth Somsak^{1*}, Sukanya Chachiyo², Somdet Srichairatanakool³
and Chairat Uthaipibull⁴

¹ ดร., สาขาวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

¹ Dr., Department of Clinical Chemistry, Faculty of Medical Technology, Western University

² นิสิตปริญญาตรี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

² B.Sc.student, Faculty of Medical Technology, Western University

³ รองศาสตราจารย์ ดร., ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ Associated Professor Dr., Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

⁴ ดร., ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช)

⁴ Dr., National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), National Science and
Technology Development Agency (NSTDA)

* Corresponding author, E-mail: voravuthsomsak@gmail.com

บทคัดย่อ

โรคมาลาเรียสามารถก่อให้เกิดความเสียหายของอวัยวะสำคัญของร่างกาย เช่น ตับและไต และเกิดการเสียชีวิตได้ ดังนั้นการหาสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้จึงเป็นสิ่งจำเป็นโดยพืชสมุนไพรที่สนใจคือหอมแดง มีการรายงานว่าสารสกัดหอมแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ปรสิตและเซลล์มะเร็งได้ นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าสารสกัดหอมแดงยังสามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตได้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดหอมแดงกับความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างยับยั้งต่อความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลอง โดยเตรียมสารสกัดหอมแดงอย่างยับยั้งด้วยน้ำและทดสอบความเป็นพิษในหนูทดลอง จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ในหนูทดลอง ICR ที่ติดเชื้อ *P. berghei* ANKA ปริมาณ 6×10^6 เซลล์ต่อหนูทดลอง โดยให้หนูทดลองได้รับสารสกัดทางหลอดอาหารวันละครั้งเป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน และทำการตรวจวัดตัวบ่งชี้ ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase

(ALT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหอมแดงที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ คือ 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรียนั้นจะพบความเสียหายของตับและไตเกิดขึ้นในวันที่ 10 หลังจากติดเชื้อโดยดูได้จากระดับของ AST, ALT, BUN และ creatinine ที่สูงที่สุด แต่สารสกัดหอมแดงที่ขนาด 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้โดยดูจากตัวบ่งชี้ที่มีระดับปกติ จากผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดหอมแดงมีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลองได้

คำสำคัญ: หอมแดง สารสกัดหอมแดง ความเสียหายของตับ ความเสียหายของไต มาลาเรีย
พลาสโมเดียมเบอร์กีไอ

Abstract

Malaria can cause organ damage such as liver and renal, and death. So, finding plant extracts that have protective effect of liver and renal induced by malaria are urgently needed. This study was interested in shallot (*Allium ascalonicum*). It has been reported that shallot extract presented potent antioxidant as well as inhibition of bacteria, parasite and cancer. Moreover, shallot extract could protect liver and renal damage. However, it has not been reported about shallot extract and liver and renal damage induced by malaria yet. This study aimed to evaluate the effect of shallot extract on liver and renal damage induced by malaria infection in mice. Aqueous crude extract of shallot was prepared, and acute toxicity was then investigated in mice. Then, efficacy test *in vivo* was studied in ICR mice infected with 6×10^6 *P. berghei* ANKA by giving the extract orally once a day for 4-consecutive days, markers including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine were subsequently measured with commercial kits. It was found that no toxicity signs were found up to 3000 mg/kg of extract. During malaria infection, liver and renal damage were found on day 10 after infection indicated by marked increases of AST, ALT, BUN, and creatinine. Interestingly, protective effect of liver and renal damage was found in infected mice treated with 3000 mg/kg of shallot extract. All markers were found normal levels. It can be concluded that shallot extract exerts protective effect of liver and renal damage induced by malaria infection in mice.

Keywords: *Allium ascalonicum*, shallot extract, liver damage, renal damage, malaria, *Plasmodium berghei*



บทนำ

มาลาเรียเป็นโรคเขตร้อนที่พบได้มากในแถบทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ เอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทยด้วย จากการรายงานขององค์การอนามัยโลกพบว่ามีผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียถึงปีละหลายล้านคน และพบการเสียชีวิตจากโรคนี้อีกปีละหลายแสนคน (Visser, van Vugt, & Grobusch, 2014) โรคมาลาเรียเกิดจากการติดเชื้อปรสิตในจีส *Plasmodium* spp. โดยการติดต่อนั้นจะต้องอาศัยยุงก้นปล่องเพศเมีย (*Anopheles* spp.) เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ โดยพบว่าปัจจุบันมีเชื้อมาลาเรียที่ก่อโรคในคนนั้น 5 สายพันธุ์ คือ *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* และ *P. knowlesi* โดยเชื้อ *P. falciparum* และ *P. vivax* นั้นจะพบการก่อโรคและความรุนแรงของโรคได้มากที่สุด (Culleton & Abkallo, 2014) ซึ่งสาเหตุการเสียชีวิตส่วนใหญ่ของโรคมาลาเรียเกิดจากไข้มาลาเรียขึ้นสมอง ภาวะโลหิตจางและการแตกทำลายเม็ดเลือดแดงเรื้อรัง การช็อกจากการมีน้ำตาลต่ำในกระแสเลือดและการเกิดความเสียหายของอวัยวะสำคัญของร่างกาย เช่น ตับและไต (Audomkasok, Singpha, Chachiy, & Somsak, 2014; Eisenhut, 2014) จากการรายงานพบว่าเมื่อมีการติดเชื้อมาลาเรียนั้น โดยเฉพาะในระยะเรื้อรังจะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้น ส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีการทำลายสารต้านอนุมูลอิสระให้ลดลง และทำให้อวัยวะสำคัญของร่างกายเสียหาย โดยพบการเกิดภาวะตับอักเสบเรื้อรังและไตวายฉับพลันขึ้น (Maranhao et al., 2014; Somsak, Jaihan, Srichairatanakool, & Uthapibull, 2013) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าผู้ป่วยในโรงพยาบาลยังมีอัตราการเสียชีวิตจากภาวะไตวายจากการติดเชื้อมาลาเรียด้วยนั่นเอง ดังนั้นการค้นหายาหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือสามารถช่วยยับยั้งความรุนแรงของโรคมาลาเรียได้นั้น น่าจะส่งผลให้ผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียมีการลดลงของพยาธิสภาพและความรุนแรง และมีชีวิตรอดได้ยาวนานขึ้น

งานวิจัยนี้ได้สนใจพืชสมุนไพร คือ หอมแดง (*Allium ascalonicum*) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีการใช้เป็นยาสมุนไพรและเป็นเครื่องเทศประกอบอาหาร จากการศึกษาพบว่าสารประกอบสำคัญที่ทำหน้าที่ในการออกฤทธิ์ได้แก่ Allicin และสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำให้หอมแดงสามารถมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งกระบวนการอักเสบ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ปรสิตและเซลล์มะเร็งได้ นอกจากนี้การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดหอมแดงสามารถยับยั้งการแตกของเม็ดเลือดแดงและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในหนูทดลองได้อีกด้วย และการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อการป้องกันความเสียหายของอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) พบว่าสารสกัดหอมแดงสามารถป้องกันความเสียหายของอวัยวะสำคัญ ๆ ได้ เช่น ตับและไต จากการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันด้วยสารเคมีและการติดเชื้อแบคทีเรีย (Fattorusso, Iorizzi, Lanzotti, & Tagliatela-Scafati, 2002; Fehrestani Sani, Montasser Kouhsari, & Moradabadi, 2012; Mnayer et al., 2014; Mohammadi-Motlagh, Mostafaie, & Mansouri, 2011) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อการป้องกันหรือรักษาความเสียหายของตับและไตที่เกิดจากการติดเชื้อมาลาเรีย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความ



เสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย *P. berghei* ในหนูทดลอง ซึ่งขอบเขตของงานวิจัยนี้จะทำการเตรียมสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบด้วยน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสมและนำมาทดสอบฤทธิ์ในหนูทดลองที่มีการติดเชื้อมาลาเรีย *P. berghei* และทำการตรวจวัดระดับของตัวบ่งชี้ความเสียหายของตับและไต ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับนั้นหากสารสกัดหอมแดงสามารถมีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้ ก็จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ดีในการนำไปปรับปรุงและประยุกต์ใช้เป็นยาาร่วมในการรักษาผู้ป่วยด้วยโรคมมาลาเรียได้ และยังเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาต่อถึงสารประกอบสำคัญและกลไกการออกฤทธิ์ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าในด้านคุณสมบัติของหอมแดงที่สามารถนำมาใช้เป็นยาในการรักษาโรคมมาลาเรียได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับและไตที่ถูกเหนี่ยวนำจากการติดเชื้อมาลาเรีย *P. berghei* ในหนูทดลอง โดยมีสมมติฐานของงานวิจัยคือ หากสารสกัดหอมแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และยังสามารถช่วยป้องกันความเสียหายของอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายได้ ดังนั้นสารสกัดหอมแดงจึงน่าจะมีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

จากการที่โรคมมาลาเรียซึ่งเกิดจากการติดเชื้อปรสิตในจิ้นัส *Plasmodium* spp. และสามารถทำให้เกิดการเสียชีวิตในคนที่ติดเชื้อได้นั้น สาเหตุอย่างหนึ่งของการเสียชีวิตคือ ความเสียหายที่เกิดกับอวัยวะสำคัญของร่างกาย ได้แก่ ตับและไต ดังนั้นการป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นกับตับและไตในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรียนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นและสามารถช่วยทำให้ผู้ป่วยโรคมมาลาเรียมีความรุนแรงของโรคลดลงและมีชีวิตที่ยาวนานขึ้น โดยการศึกษาครั้งนี้สนใจการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรคือหอมแดงมาทำการศึกษา ซึ่งมีรายงานว่าสารสกัดหอมแดงนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ยับยั้งกระบวนการอักเสบได้ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อปรสิตได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้สารสกัดหอมแดงยังสามารถรักษาระดับของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ของร่างกายให้สมดุลได้ เช่น การรักษาระดับน้ำตาลกลูโคสและไขมันในผู้ป่วยโรคไขมันและเบาหวาน และยังสามารถช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นกับอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายได้ เช่น ตับและไต แต่ยังไม่มีการรายงานฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อการป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียมาก่อน จึงเป็นแนวคิดของงานวิจัยนี้ที่จะนำสารสกัดหอมแดงมาศึกษาฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย โดยใช้ระดับของตัวบ่งชี้ความเสียหายของตับและไตเป็นตัวแสดงฤทธิ์ที่เกิดขึ้น ได้แก่ เอนไซม์ AST, ALT, BUN และ creatinine โดยใช้เชื้อมาลาเรียที่ก่อโรคในหนูทดลองคือ *P. berghei* เป็นโมเดลในการศึกษา



วิธีดำเนินการวิจัย

หนูทดลอง

หนูทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นหนูถีบจักรเพศเมียสายพันธุ์ ICR อายุประมาณ 4-6 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 25-30 กรัม ซึ่งมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จ. นครปฐม หนูทดลองจะถูกเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส แสงสว่าง 12 ชั่วโมง/ความมืด 12 ชั่วโมง ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป CP082 และน้ำดื่มที่สะอาดตลอดการศึกษา ในการศึกษาเกี่ยวกับสัตว์ทดลองได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัยในสัตว์ทดลอง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

เชื้อมาลาเรีย *Plasmodium berghei*

เชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเชื้อมาลาเรีย *P. berghei* สายพันธุ์ ANKA (PbANKA) ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐานที่ไม่มีการติดต่อยาต้านมาลาเรีย โดยเชื้อ PbANKA ที่เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวจะถูกนำมาละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นจะนำไปฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูทดลองปริมาตร 200-400 ไมโครลิตร และทำการตรวจนับการเจริญเติบโตของเชื้อในหนูทดลองจากการย้อมสี Wright บนแผ่นเสมียร์เลือดจากหางหนูและดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ทำการตรวจนับเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อต่อจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (% parasitemia) เมื่อเชื้อมีการเจริญเติบโตประมาณ 15-20 % parasitemia จะเก็บเลือดจากหางหนูทดลองปริมาตร 2 ไมโครลิตรละลายใน 0.85% NaCl ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และทำการฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูทดลองตัวใหม่ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

การตรวจวัดการทำงานของตับและไต

เก็บเลือดจากหางหนูทดลองในหลอด heparinized microhematocrit tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ทำการเก็บพลาสมาเพื่อนำไปวัดตัวบ่งชี้การทำงานของตับ ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) และตัวบ่งชี้การทำงานของไต ได้แก่ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูปจากบริษัท BioSystems

การเตรียมสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบ

นำหอมแดง (*Allium ascalonicum*) จากตลาดสดในเขตจังหวัดกาญจนบุรีมาทำการล้างให้สะอาดและปอกเปลือก จากนั้นนำมาทำการผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:4 และปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 5 นาที ครบเวลานำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่กำลังไฟ 360 วัตต์ เป็นเวลานานประมาณ 3-5 นาที ทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 1 และเก็บสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Mohammadi-Motlagh et al., 2011)

การทดสอบความเป็นพิษในหนูทดลอง

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว ทำการให้สารสกัดหอมแดงอย่างหยาบเข้าทางหลอดอาหารที่ขนาด 500, 1000, 1500, 3000 และ 6000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละหนึ่งครั้งเป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน จากนั้นจะสังเกตและบันทึกอาการแสดงความเป็นพิษที่เกิดขึ้น เป็นระยะเวลา 30 วัน (Lorke, 1983)

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว ทำการติดเชื้อ PbANKA ปริมาณ 6×10^6 เซลล์ต่อหนูทดลองเข้าทางช่องท้อง 2 ชั่วโมงต่อมาทำการให้สารสกัดหอมแดงอย่างหยาบที่ขนาด 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทางหลอดอาหารวันละครั้งเป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน (วันที่ 0-3) จากนั้นในวันที่ 4 ทำการเก็บเลือดของหนูทดลองด้วยวิธี cardiac puncture นับการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย การทำงานของตับและไต โดยเทียบกับหนูทดลองในกลุ่มปกติและกลุ่มที่ติดเชื้อแต่ไม่ได้รับสารสกัด (Peters, 1975)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of mean; SEM) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะใช้การทดสอบ one-way ANOVA และ Tukey's HSD test ที่ความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$

ผลการวิจัย

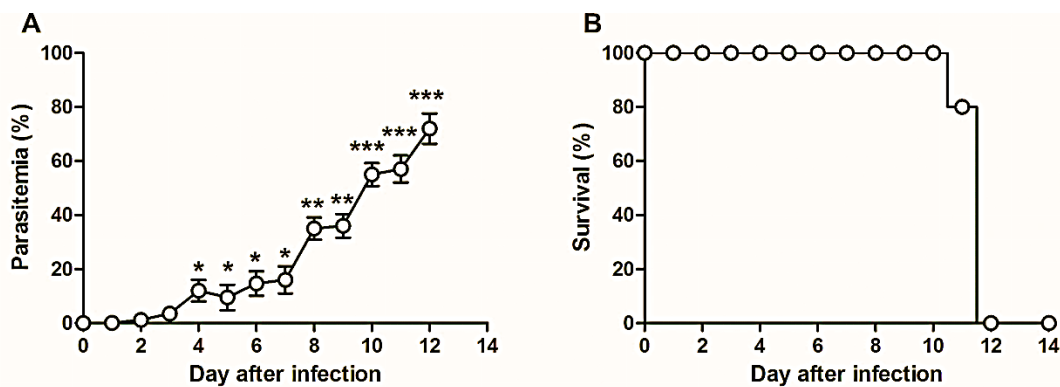
ความเป็นพิษของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบในหนูทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบด้วยน้ำในหนูทดลอง ICR พบว่า สารสกัดหอมแดงอย่างหยาบที่ขนาด 500, 1000, 1500, 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมไม่ทำให้หนูทดลองเกิดความเป็นพิษและไม่พบลักษณะอาการที่ผิดปกติแต่อย่างใด แต่เมื่อหนูทดลองได้รับสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบที่ขนาด 6000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพบว่าหนูทดลองมีลักษณะที่ผิดปกติทุกตัว ได้แก่ เชื่องซึม เคลื่อนไหวน้อย ไม่กินอาหารและดื่มน้ำ แต่ไม่พบการตายของหนูทดลองเกิดขึ้นในการศึกษา ดังนั้นความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษในหนูทดลองคือ 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

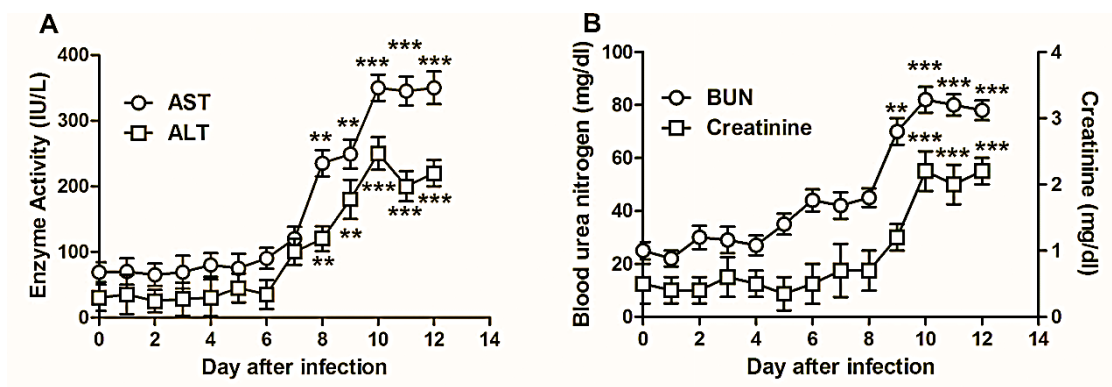
ความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลอง

หนูทดลอง ICR ที่มีการติดเชื้อ PbANKA ปริมาณ 6×10^6 เซลล์ต่อหนูทดลอง พบว่าเชื้อมาลาเรียมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยสามารถพบเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ตั้งแต่วันที่ 2 หลังจากติดเชื้อ (1.2% parasitemia) และเชื้อมาลาเรียจะมีการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 4 หลังจากติด

เชื้อ (12% parasitemia) จากนั้นเชื้อจะเจริญเติบโตและพบการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 12 หลังจากติดเชื้อ (72% parasitemia) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 1A โดยหนูทดลองที่ติดเชื้อจะมีชีวิตรอดประมาณ 10-12 วัน (ภาพประกอบที่ 1B) เมื่อทำการตรวจวัดความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียโดยใช้ตัวบ่งชี้คือ AST, ALT, BUN และ creatinine พบว่าตับและไตจะเกิดความเสียหายอย่างชัดเจนในระหว่างที่มีการติดเชื้อมาลาเรียในวันที่ 10 โดยดูได้จากระดับของ AST และ ALT ที่มีระดับเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 350 และ 250 IU/L ตามลำดับ (ภาพประกอบที่ 2A) และระดับของ BUN และ creatinine ที่ 82 และ 2.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ (ภาพประกอบที่ 2B)



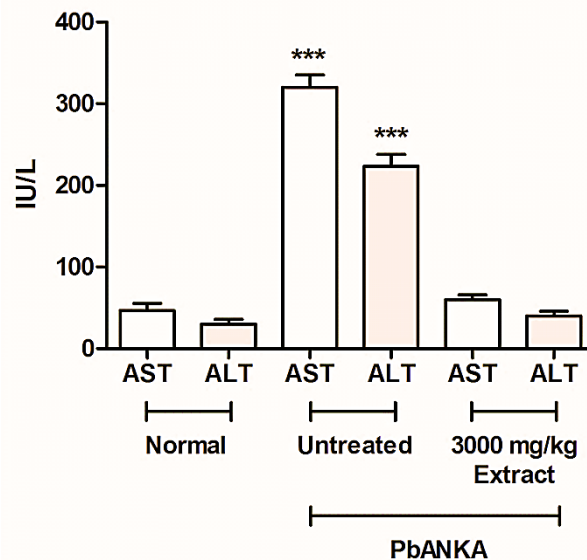
ภาพประกอบที่ 1 การติดเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง (A) การเจริญเติบโตของเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง (B) เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนูทดลองที่ติดเชื้อ PbANKA
 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (n = 3)



ภาพประกอบที่ 2 ความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง (A) ระดับของเอนไซม์ AST และ ALT (B) ระดับของ BUN และ creatinine
 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (n = 3)

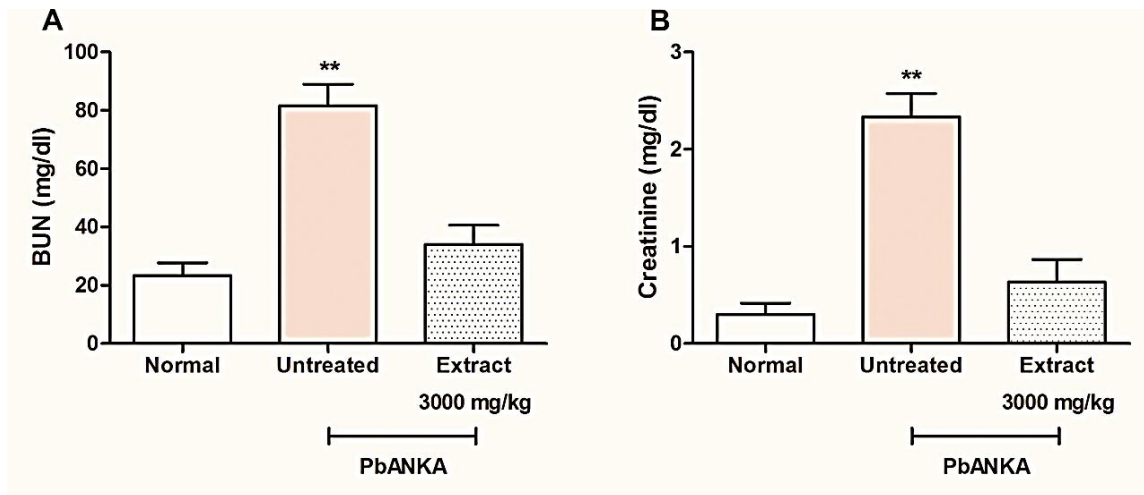
ฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับในหนูทดลอง ICR ที่ติดเชื้อ PbANKA และได้รับสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบทางหลอดอาหารวันละครั้งเป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน พบว่าสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบสามารถรักษาระดับเอนไซม์ AST และ ALT ให้ปกติได้ในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรีย โดยระดับของเอนไซม์ทั้งสองชนิดไม่แตกต่างจากหนูทดลองกลุ่มปกติ และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองที่ติดเชื้อ PbANKA แต่ไม่ได้รับสารสกัดพบว่า ระดับของเอนไซม์ AST และ ALT นั้นจะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มปกติ (ภาพประกอบที่ 3) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบสามารถป้องกันความเสียหายของตับจากการติดเชื้อมาลาเรียได้



ภาพประกอบที่ 3 ฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับจากการติดเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง *** $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มปกติ (n = 3)

เมื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของไตจากการติดเชื้อ PbANKA พบว่า สารสกัดหอมแดงอย่างหยาบสามารถรักษาระดับของ BUN และ creatinine ได้ โดยไม่มีความแตกต่างจากหนูทดลองกลุ่มปกติ ในขณะที่หนูทดลองที่ติดเชื้อมาลาเรียแต่ไม่ได้รับสารสกัดพบว่าจะมีระดับ BUN และ creatinine สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มปกติ (ภาพประกอบที่ 4A และ 4B) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบสามารถป้องกันความเสียหายของไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้



ภาพประกอบที่ 4 ฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของไตจากการติดเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง (A) ระดับ BUN (B) ระดับ creatinine
** $p < 0.01$ เปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มปกติ

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับและไตโดยใช้ตัวบ่งชี้คือเอนไซม์ AST, ALT ระดับของ BUN และ creatinine ที่ถูกเหนี่ยวนำจากการติดเชื้อ PbANKA ในหนูทดลอง จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหอมแดงด้วยน้ำในหนูทดลองที่ได้รับทางหลอดอาหารพบว่า ที่ความเข้มข้นสูง ๆ (6000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จะก่อให้เกิดความเป็นพิษกับหนูทดลองขึ้นเนื่องจากการมีปริมาณของสารสกัดที่มากเกินไป อาจจะทำให้ความสมดุลกรด-ด่างของระบบเลือดและร่างกายเปลี่ยนไปได้ นอกจากนี้ปริมาณสารสกัดที่มากเกินไปนั้นอาจเกิดภาวะระคายเคืองต่อทางเดินอาหารได้ เนื่องจากหนูทดลองมีอาการท้องอืด ไม่กินอาหารและดื่มน้ำ ดังนั้นความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถใช้ในการศึกษาและไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ คือ 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Bhattacharya et al., 2012; Kiyosawa, Ando, Manabe, & Yamoto, 2009) ในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรียนั้น เชื้อจะมีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ ในเม็ดเลือดแดง เนื่องจากเชื้อ PbANKA จะมีวงจรชีวิตในเม็ดเลือดแดงของหนูทดลองประมาณ 24 ชั่วโมง ดังนั้นเราจึงสามารถพบการเพิ่มขึ้นของ % parasitemia ทุกวันเช่นกัน จนกระทั่งหนูทดลองตาย โดยมีระดับเอนไซม์ AST, ALT, BUN และ creatinine สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 10 หลังจากติดเชื้อ เนื่องจากความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียนั้นจะอยู่ในระยะการติดเชื้อแบบเรื้อรังประมาณวันที่ 8-10 หลังจากติดเชื้อ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการที่เชื้อมาลาเรียจะก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันและอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น และก่อให้เกิดการไปทำลายอวัยวะต่างๆของร่างกายได้ (Grobusch & Kreamsner, 2005; Souza et al., 2013) นอกจากนี้เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียนั้น จะมีลักษณะรูปร่างที่ผิดปกติไป ขาดความสมดุลและสูญเสียความยืดหยุ่น ดังนั้น



จึงสามารถเกิดการอุดตันหลอดเลือดโดยเฉพาะหลอดเลือดฝอยที่ไต และการไปทำลายเซลล์ตับรวมทั้งการไปอุดตันท่อน้ำดี ซึ่งจะส่งผลต่อการทำงานที่ผิดปกติของตับและไตตามมาจนกระทั่งเสียชีวิตได้ (Autino, Corbett, Castelli, & Taramelli, 2012) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรียนั้น จะเกิดการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงขึ้นในหลอดเลือด ซึ่งเหตุนี้จะเป็นการเพิ่มอนุมูลอิสระและการอักเสบเรื้อรังในร่างกายได้ ส่งผลต่อการเกิดความเป็นกรดอย่างรุนแรงในหลอดเลือดจึงเป็นอีกสาเหตุหนึ่งต่อการไปทำลายเซลล์ตับและไตให้เกิดความเสียหายได้นั่นเอง (English & Newton, 2002) แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดหอมแดงนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นหนูทดลองที่ติดเชื้อมาลาเรียและได้รับสารสกัดหอมแดงอย่างหยาดจึงสามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตได้ โดยดูได้จากระดับของตัวบ่งชี้ต่าง ๆ อยู่ในระดับที่ปกติ สามารถอธิบายได้ว่า สารสกัดหอมแดงมีสารโพลีฟีนอลสูงและมีสาร Allicin ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นเมื่อเกิดการติดเชื้อมาลาเรียขึ้นสารสกัดหอมแดงจึงทำหน้าที่ไปลดความรุนแรงของการติดเชื้อลง ลดสารอนุมูลอิสระจากการติดเชื้อและการแตกของเม็ดเลือดแดง ลดการอักเสบและรักษาระดับกรด-ด่างในหลอดเลือดได้ (Fattorusso et al., 2002; Fehresti Sani et al., 2012; Wongmekiat, Leelarugrayub, & Thamprasert, 2008) ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้เกิดการป้องกันความเสียหายของตับและไตได้ นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดหอมแดงยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ PbANKA ในหนูทดลองได้ ดังนั้นเมื่อเชื้อถูกยับยั้งการเจริญเติบโต จึงทำให้ลดความรุนแรงได้และลดความเสียหายที่เกิดกับตับและไตได้ตามไปด้วยนั่นเอง

จากผลการศึกษารูปได้ว่าสารสกัดหอมแดงอย่างหยาดสามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยการรักษาระดับของเอนไซม์ AST, ALT, BUN และ creatinine ให้อยู่ในระดับที่ปกติได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวจุฑาธิป กิตติธร นางสาวธิดาภรณ์ ปุ๊ตหน้อย นางสาวสายรุ้ง ศรีวิวัฒน์ นางสาวสมฤดี นาคินชาติ และนางสาวสุทิน อุดมกะสก สำหรับงานด้านหนูทดลอง นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณ ดร.สะแกวัลย์ อุ๋นใจจิ้น ที่ให้คำปรึกษาด้านการสกัดหอมแดงอย่างหยาดและการวิจารณ์ผลการศึกษา และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเวสเทิร์นที่ให้สนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Audomkasok, S., Singpha, W., Chachiyo, S., & Somsak, V. (2014). Antihemolytic Activities of Green Tea, Safflower, and Mulberry Extracts during *Plasmodium berghei* Infection in Mice. *J Pathog*, 2014, 203154. doi: 10.1155/2014/203154
- Autino, B., Corbett, Y., Castelli, F., & Taramelli, D. (2012). Pathogenesis of malaria in tissues and blood. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 4(1), e2012061. doi: 10.4084/MJHID. 2012.061
- Bhattacharya, S., Shoda, L. K., Zhang, Q., Woods, C. G., Howell, B. A., Siler, S. Q., & Andersen, M. E. (2012). Modeling drug- and chemical-induced hepatotoxicity with systems biology approaches. *Front Physiol*, 3, 462. doi: 10.3389/fphys.2012.00462
- Culleton, R. L., & Abkallo, H. M. (2014). Malaria parasite genetics: doing something useful. *Parasitol Int*. doi: 10.1016/j.parint.2014.07.006
- Eisenhut, M. (2014). Severe hemolysis as potential contributing factor in the pathophysiology of cerebral malaria. *Clin Infect Dis*. doi: 10.1093/cid/ciu1149
- English, M., & Newton, C. R. (2002). Malaria: pathogenicity and disease. *Chem Immunol*, 80, 50-69.
- Fattorusso, E., Iorizzi, M., Lanzotti, V., & Tagliatela-Scafati, O. (2002). Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *J Agric Food Chem*, 50(20), 5686-5690.
- Fehresti Sani, M., Montasser Kouhsari, S., & Moradabadi, L. (2012). Effects of Three Medicinal Plants Extracts in Experimental Diabetes: Antioxidant Enzymes Activities and Plasma Lipids Profiles in Comparison with Metformin. *Iran J Pharm Res*, 11(3), 897-903.
- Grobusch, M. P., & Kreamsner, P. G. (2005). Uncomplicated malaria. *Curr Top Microbiol Immunol*, 295, 83-104.
- Kiyosawa, N., Ando, Y., Manabe, S., & Yamoto, T. (2009). Toxicogenomic biomarkers for liver toxicity. *J Toxicol Pathol*, 22(1), 35-52. doi: 10.1293/tox.22.35
- Lorke, D. (1983). A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol*, 54(4), 275-287.
- Maranhao, H. M., Vasconcelos, C. F., Rolim, L. A., Neto, P. J., Neto Jda, C., Filho, R. C., & Wanderley, A. G. (2014). Hepatoprotective effect of the aqueous extract of *Simarouba amara* Aublet (Simaroubaceae) stem bark against carbon tetrachloride

- (CCl4)-induced hepatic damage in rats. *Molecules*, 19(11), 17735-17746. doi: 10.3390/molecules191117735
- Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., & Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the alliaceae family. *Molecules*, 19(12), 20034-20053. doi: 10.3390/molecules191220034
- Mohammadi-Motlagh, H. R., Mostafaie, A., & Mansouri, K. (2011). Anticancer and anti-inflammatory activities of shallot (*Allium ascalonicum*) extract. *Arch Med Sci*, 7(1), 38-44. doi: 10.5114/aoms.2011.20602
- Peters, W. (1975). The chemotherapy of rodent malaria, XXII. The value of drug-resistant strains of *Plasmodium berghei* in screening for blood schizontocidal activity. *Ann Trop Med Parasitol*, 69(2), 155-171.
- Somsak, V., Jaihan, U., Srichairatanakool, S., & Uthaipibull, C. (2013). Protection of renal function by green tea extract during *Plasmodium berghei* infection. *Parasitol Int*, 62(6), 548-551. doi: 10.1016/j.parint.2013.08.004
- Souza, M. C., Silva, J. D., Padua, T. A., Capelozzi, V. L., Rocco, P. R., & Henriques, M. (2013). Early and late acute lung injury and their association with distal organ damage in murine malaria. *Respir Physiol Neurobiol*, 186(1), 65-72. doi: 10.1016/j.resp.2012.12.008
- Visser, B. J., van Vugt, M., & Grobusch, M. P. (2014). Malaria: an update on current chemotherapy. *Expert Opin Pharmacother*, 15(15), 2219-2254. doi: 10.1517/14656566.2014.944499
- Wongmekiat, O., Leelarugrayub, N., & Thamprasert, K. (2008). Beneficial effect of shallot (*Allium ascalonicum* L.) extract on cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 46(5), 1844-1850. doi: 10.1016/j.fct.2008.01.029