

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อการกระบวนการทำลาย สิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว

ณัฐจิรา อินทะใส*, กมล อยู่สุข**, มงคล โชตยาภรณ์*, ประสิทธิ์ หนะรัตน์*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยกระบวนการ Phagocytosis ของเม็ดเลือดขาว

วัสดุและวิธีการ: นำสารสกัดส่วนน้ำใจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำ (SW), ส่วนน้ำใจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วยเอธานอล (SAE), ส่วนน้ำใจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วยอะซีโตน (SAC), ส่วนน้ำใจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำ และตามด้วยสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว (SSAS), ส่วนตะกอนจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำ (PW), ส่วนตะกอนจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วยเอธานอล (PAE), ส่วนตะกอนจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วยอะซีโตน (PAC), ส่วนตะกอนจากการสกัดถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วยสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว (PSAS) และนำมาใช้ในการทดสอบกระบวนการ Phagocytosis, Nitroblue tetrazolium (NBT) test และ Phagocytic killing function (PKF) test ของเม็ดเลือดขาวต่อเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) โดยเทียบกับชุดควบคุม (C)

ผลการทดลอง: ในการทดสอบ Phagocytosis พบว่าผลของ SW, SAE, SAC, SSAS, PW, PAE, PAC และ PSAS ต่อ Phagocytic index เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาทีเป็น 54, 74, 80, 54, 88, 64, 66 และ 60 % ตามลำดับ และที่ 30 นาทีเป็น 84, 86, 92, 62, 96, 82, 80 และ 78 % ตามลำดับ โดย Phagocytic index ของชุดควบคุมที่ 15 และ 30 นาทีเป็น 52 และ 60% ตามลำดับ ส่วนการทดสอบ NBT test พบว่า % Neutrophil ที่มีตะกอนสีน้ำเงินในไฮโดรพลาสซึมเป็น 40, 72, 99, 32, 80, 72, 70 และ 38 % ตามลำดับ โดยชุดควบคุมเป็น 36 % และการทดสอบ PKF test พบว่าจำนวนโคโลนีของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาทีเป็น 750, 435, 272, 737, 265, 375, 550 และ 468 โคโลนี และที่ 30 นาทีเป็น 821, 633, 733, 761, 471, 500, 400 และ 480 โคโลนี ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของชุดควบคุมที่ 15 และ 30 นาทีเป็น 770 และ 767 โคโลนี ตามลำดับ

สรุป: สารสกัดจากถั่วเหลืองสามารถกระตุ้นกระบวนการทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยกระบวนการ Phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวต่อเชื้อ *E. coli* ได้ดีขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุมและสารสกัดจากถั่วเหลืองไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli* วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2544; 34: 180-9.

คำรหัส: กระบวนการทำลายสิ่งแปลกปลอม, ถั่วเหลือง

* ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543

Abstract: Effect of Soybean Extracts on Phagocytosis

Intasai N*, Yoosook K**, Chotayaporn M*, Chanarat P*

Objective: To evaluate the effect of soybean extracts on phagocytosis of leukocyte.

Materials and Methods: The supernate of soybean extracted by water (SW), water and followed by absolute ethanol (SAE), water and followed by acetone (SAC), water and followed by saturated ammonium sulfate (SSAS), and precipitate of soybean extracted by water (PW), water and followed by absolute ethanol (PAE), water and followed by acetone (PAC) and water and followed by saturated ammonium sulfate (PSAS) were used in phagocytosis test, Nitroblue tetrazolium (NBT) test and phagocytic killing function (PKF) test of leukocytes to *Escherichia coli* (*E. coli*).

Results: In phagocytosis test, the result showed that effect of SW, SAE, SAC, SSAS, PW, PAE, PAC and PSAS to Phagocytic index at 15 minutes was 54, 74, 80, 54, 88, 64, 66 and 60 % respectively, and at 30 minutes was 84, 86, 92, 62, 96, 82, 80 and 78 %, respectively. Phagocytic index of control at 15 and 30 minutes was 52 and 60%, respectively. In NBT test, the result showed that percentage of neutrophil (% Neutrophil) which had blue precipitate in cytoplasm was 40, 72, 99, 32, 80, 72, 70 and 38 %, respectively. Control was 36 %. In PKF test, the result showed that number of colony of *E.coli* at 15 minutes was 750, 435, 272, 737, 265, 375, 550 and 468 colonies and at 30 minutes was 821, 633, 733, 761, 471, 500, 400 and 480 colonies, respectively. The number of colony in control at 15 and 30 minutes was 770 and 767 colonies, respectively.

Conclusions: The extracted substances could stimulate more phagocytic activity of neutrophils compared to the control but it had no effect on the growth of *E. coli*. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci

2001; 34: 180-9.

Key words: Phagocytosis, soybean

* Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

** 4th year Medical Technology student, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

บทนำ

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นสิ่งที่สำคัญในการป้องกันการติดเชื้อ¹⁻³ ทั้งนี้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบ่งเป็น 2 แบบ คือ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Nonspecific หรือ Innate immune response) และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific immune response) กระบวนการที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะคือกระบวนการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) ของเม็ดเลือดขาว ซึ่งมีขั้นตอนที่สำคัญคือ Chemotaxis, Adherence, Ingestion และ Digestion ตามลำดับ

ปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาคุณสมบัติของถั่วเหลืองพบว่ามีส่วนที่มีประโยชน์ต่อร่างกายรวมทั้งระบบภูมิคุ้มกันด้วย⁴⁻⁸ Weirnik และคณะ⁴ รายงานว่าคนปกติที่มีสุขภาพดีที่ได้รับ 20% Intralipid (IL) ซึ่งเป็น Soybean emulsion ทางหลอดเลือดนาน 2 ชั่วโมง พบว่าในระหว่างที่ได้รับ IL นั้น Nitroblue tetrazolium-reduction ของ Monocyte สูงขึ้นและถ้าผสม Monocyte กับ IL (20-100 mg/mL) ก่อนเป็นเวลา 30 นาที พบว่า Monocyte สามารถเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มียีสต์และจับทำลาย (Phagocyte) ยีสต์ได้ดีขึ้น ส่วน Neutrophil จะให้ผลตรงกันข้าม ทั้งนี้ Strunk และคณะ⁵ รายงานว่าผู้ที่ได้รับ IL จะมี Fat pigment และ Fat droplet ใน Reticuloendothelial phagocytic cells รวมทั้งทำให้ความสามารถในการจับกับเม็ด bead หรือ *Candida albicans* ลดลง และลดความสามารถในการเกาะ และจับกินเม็ดเลือดแดงเกาะที่เคลือบด้วย IgG เข้าไปในเซลล์ Tomioka และคณะ⁶ รายงานว่า Soybean agglutinin ไม่ยับยั้ง macrophage ในการหลั่ง H_2O_2 แต่ส่งเสริมการหลั่งเพียงเล็กน้อย และ Soybean agglutinin ไม่มีผลในการยับยั้งการจับทำลายสิ่งแปลกปลอมของ Macro-

phage ในขณะที่ Rumsey และคณะ⁷ รายงานว่าปลา Rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) ที่กินอาหารที่มีส่วนผสมของถั่วเหลืองจะทำให้การทำงานของ Neutrophil, Monocyte และ Macrophage ดีขึ้น Jannace และคณะ⁸ ได้ศึกษาผลของการรับประทาน Soy phosphatidyl choline (PC) ต่อกระบวนการ Phagocytosis ความเข้มข้นของ Arachidonate ซึ่งเป็น Eicosanoid precursor ของ Prostaglandin (PGs) และ Leukotriens (LTs) ที่มีบทบาทสำคัญในการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและในการตอบสนองต่อการอักเสบ และการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม ของ Neutrophil พบว่า PC ทำให้ความเข้มข้นของ Arachidonate ใน Neutrophils ต่อเชื้อ *C. albicans* เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า จะเห็นได้ว่ามีรายงานหลากหลายเกี่ยวกับผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อการจับทำลายสิ่งแปลกปลอมของ เม็ดเลือดขาว จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดจาก ถั่วเหลืองในลักษณะต่างๆ จะมีผลในการกระตุ้นการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) ของเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะ Neutrophils ได้หรือไม่

วิธีการทดลอง

1. ตัวอย่างเลือด : Heparinized blood จากคนที่มีสุขภาพดี จำนวน 50 ราย
2. การเตรียมสารสกัดจากถั่วเหลือง
 - 2.1 การสกัดด้วยน้ำ

นำถั่วเหลือง 60 กรัม มาแช่ในน้ำกลั่น 300 มล. นาน 24 ชม. ที่ 2-6 °C บดให้ละเอียดด้วย Blender และกรองด้วยผ้าขาวบางหนา 4 ชั้น แบ่งสารละลายที่ผ่านการกรองมา 25 มล. และปั่นที่ 3,000 rpm นาน 10 นาที ที่ 4 °C ดูดส่วนน้ำใส (Supernatant from water extraction; SW) ใส่หลอดใหม่ และละลายตะกอน (Precipitate from

water extraction; PW) ด้วยน้ำเกลือ 25 มล. นำ SW และ PW ไปนึ่งฆ่าเชื้อและแบ่งใส่หลอดเล็กๆ เก็บที่ -20°C เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2 การสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol

แบ่งสารละลายที่ผ่านการกรองจากข้อ 1 มา 25 มล. เติม Absolute ethanol ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ปั่นที่ 3,000 rpm นาน 10 นาที ที่ 4°C ดูดส่วนน้ำใส (Supernatant from absolute ethanol extraction; SAE) ใส่หลอดใหม่ นำ SAE และส่วนตะกอน (Precipitate from absolute ethanol extraction; PAE) ไประเหยแห้งด้วยการเป่าด้วยลมเย็น จนกระทั่งแห้งสนิท เติมน้ำเกลือ ลงไปในหลอด SAE และ PAE หลอดละ 25 มล. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและแบ่งใส่หลอดเล็กๆ เก็บที่ -20°C เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2.3 การสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone

ทำตามข้อ 2.2 โดยเปลี่ยนจาก Absolute ethanol เป็น Acetone จะได้ส่วนน้ำใส (Supernatant from acetone extraction; SAC) และส่วนตะกอน (Precipitate from acetone extraction; PAC)

2.4 การสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate

ทำตามข้อ 2.2 โดยเปลี่ยนจาก Absolute ethanol เป็น Saturated ammonium sulfate จะได้ส่วนน้ำใส (Supernatant from saturated ammonium sulfate extraction; SSAS) และส่วนตะกอน (Precipitate from saturated ammonium sulfate extraction; PSAS)

3. การทดสอบผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อกระบวนการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis)

3.1 การทดสอบกระบวนการ Phagocytosis ของเม็ดเลือดขาว

Phagocytes ในกระแสเลือดที่สำคัญ ได้แก่ Neutrophils และ Monocytes เมื่อพบสิ่งแปลกปลอมในกระแสเลือดจะทำลายสิ่งแปลกปลอม และในกรณีที่มีสารที่เป็น Opsonin อยู่ด้วยแล้ว จะทำให้กระบวนการ Phagocytosis มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วิธีทำ

1. เติม Heparinized blood 200 μL ลงในหลอดทดลองขนาด 12x75 มม. จำนวน 9 หลอด และเติมน้ำใสและส่วนตะกอนจากสารสกัดต่างๆ ลงไปปริมาณ 200 μL และเติมน้ำเกลือปริมาณ 200 μL ลงไปในชุดควบคุม

2. นำหลอดทดลองทั้ง 9 หลอดไป Incubate ที่อุณหภูมิ 37°C ใน Waterbath นาน 10 นาที

3. เติมเชื้อ *E. coli* ที่ปรับปริมาณด้วย McFarland No. 0.5 ลงไปทุกหลอด หลอดละ 200 μL

4. Incubate ที่อุณหภูมิ 37°C ใน Waterbath ต่อไป จนครบเวลา 15 และ 30 นาที นำมาสเมียร์บนแผ่นสไลด์

5. ปลอ่ยให้สเมียร์แห้ง และนำไปย้อมด้วยสี Wright-Geimsa's stain

6. ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า แล้วนับ Phagocytic index ของ Neutrophils

3.2 การทดสอบ Nitroblue tetrasolium salt (NBT) test เพื่อประเมินความสามารถของ Neutrophils ในการทำลายสิ่งแปลกปลอม

ทำการผสม Neutrophils กับสารสกัดจากถั่วเหลืองก่อน แล้วทำการกระตุ้น Neutrophils ด้วยเชื้อ *E. coli* แล้วนำไปผสมกับสี NBT เซลล์ที่ถูกกระตุ้นนี้จะกินสี NBT เข้าไปในเซลล์ได้ และถ้ากระบวนการ Hexose monophosphate (HMP) shunt ภายในเซลล์ทำงานได้ดีจะเกิดปฏิกิริยา Re-

duction ทำให้สี NBT กลายเป็นผลึกสีน้ำเงิน และไม่ละลายน้ำอยู่ภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการ HMP shunt นี้มีบทบาทสำคัญในการทำลายสิ่งแปลกปลอมภายหลังจากถูก Neutrophils กินเข้าไปแล้ว

วิธีทำ

1. เติม Heparinized blood 100 μ L ลงในหลอดทดลองขนาด 12x75 มม. จำนวน 9 หลอด และเติมส่วนใสและส่วนตะกอนจากสารสกัดต่างๆ ลงไปปริมาณ 100 μ L และเติมน้ำเกลือปริมาณ 100 μ L ลงไปในชุดควบคุม

2. นำหลอดทดลองทั้ง 9 หลอดไป Incubate ที่อุณหภูมิ 37°C ใน Waterbath นาน 10 นาที

3. เติมเชื้อ *E. coli* ที่ปรับปริมาณด้วย Mc. Farland No. 0.5 ลงไปทุกหลอด หลอดละ 100 μ L

4. เติมสี NBT ลงไปทุกหลอด หลอดละ 100 μ L

5. Incubate ที่อุณหภูมิ 37°C ใน Waterbath นาน 10 นาที นำมาสเมียร์บนแผ่นสไลด์

6. ปล่อยให้สเมียร์แห้ง และนำไปย้อมด้วยสี Wright-Geimsa's stain

7. ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า แล้วนับ % Neutrophils ที่มีตะกอนสีน้ำเงินในไซโตพลาสซึม

3.3 การทดสอบ Phagocytic killing function (PKF) test

นำเอาเม็ดเลือดขาวของคนผสมกับสารสกัดจากถั่วเหลืองและเชื้อแบคทีเรียที่ยังมีชีวิต จัดสภาวะที่เหมาะสมกับการเกิด Phagocytosis จากนั้นทำการนับจำนวนแบคทีเรียที่เหลือจากการฆ่า ด้วย Neutrophil โดยการทำให้ Pour plate technique

วิธีทำ

1. เติม Heparinized blood 200 μ L ลงในหลอดทดลองขนาด 12x75 มม. จำนวน 9 หลอด และเติมส่วนใสและส่วนตะกอนจากสารสกัดต่างๆ ลงไปปริมาณ 200 μ L และเติมน้ำเกลือปริมาณ 200 μ L ลงไปในชุดควบคุม

2. นำหลอดทดลองทั้ง 9 หลอดไป Incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน Waterbath นาน 10 นาที

3. เติมเชื้อ *E. coli* ที่ปรับปริมาณด้วย Mc. Farland No. 0.5 ลงไปทุกหลอด หลอดละ 200 μ L

4. Incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน Waterbath ต่อไป จนครบเวลา 15 และ 30 นาที ตูดแบ่งมา 20 μ L ผสมกับ 0.023% Nutrient agar และทำการ Pour plate

5. เมื่อ Agar แข็งตัวจึงนำไป Incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง

6. เมื่อครบเวลา นับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E.coli* ที่เจริญบน Agar

ผลการทดลอง

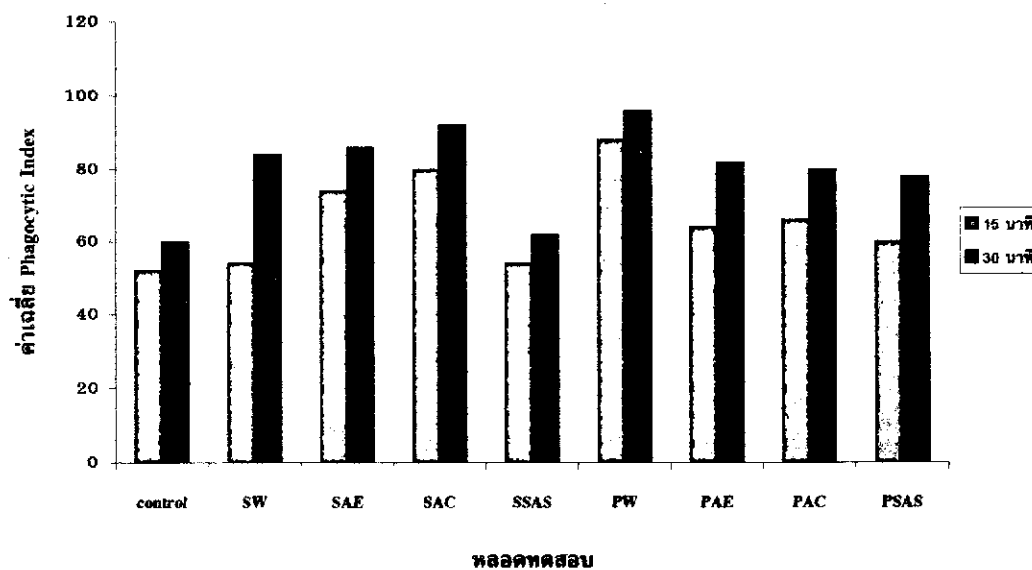
1. ผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อกระบวนการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis)

- 1.1 ผลการทดสอบกระบวนการ Phagocytosis ของเม็ดเลือดขาว

จากการตรวจสเมียร์ที่ได้จากการทดลองด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า Neutrophils ที่เกิด Phagocytosis จะเห็นเชื้อ *E.coli* ในไซโตพลาสซึมของ Neutrophils ประมาณ 1-5 ตัว และ ในการนับ Phagocytic index ของ Neutrophils ในเวลาหลังจาก incubate เชื้อ *E. coli* ผ่านไป 15 นาที พบว่า ผลของ SW, SAE, SAC, SSAS, PW, PAE, PAC และ PSAS ต่อ Phagocytic index เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาทีเป็น 54, 74, 80, 54, 88, 64, 66 และ 60

% ตามลำดับ และที่ 30 นาทีเป็น 84, 86, 92, 62, 96, 82, 80 และ 78 % ตามลำดับ โดย Phagocytic index ของชุดควบคุมที่ 15 และ 30 นาทีเป็น 52 และ 60% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าส่วนน้ำใสของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol (SAE) และ Acetone (SAC) และส่วนตะกอนของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (PW) สารสกัดจากถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol (PAE), Acetone (PAC) และ

Saturated ammonium sulfate (PSAS) มี Phagocytic index เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ส่วนน้ำใสของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (SW) และสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate (SSAS) ทำให้ Phagocytic index เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อกระบวนการ Phagocytosis

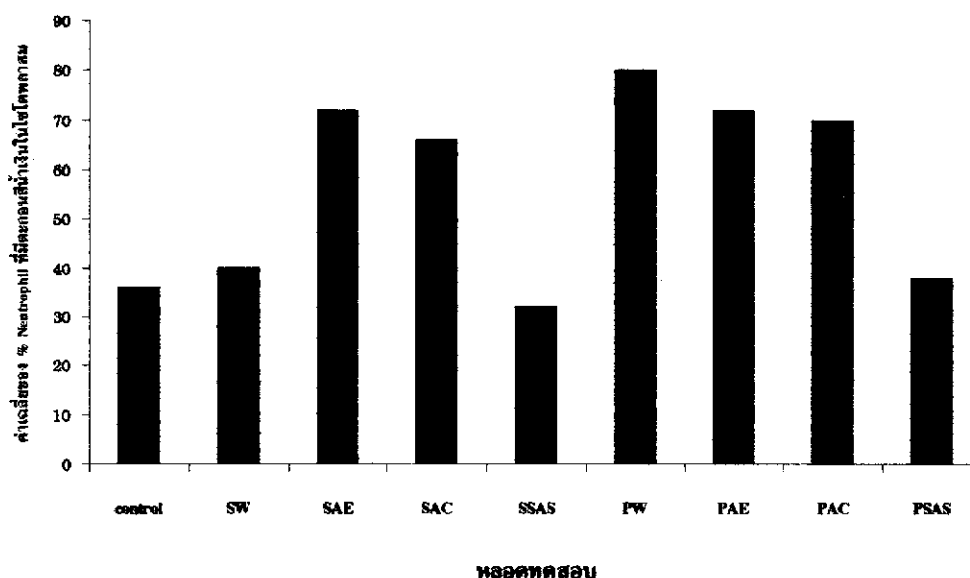
หมายเหตุ

- Control คือหลอดที่ประกอบไปด้วย Heparinized blood, *E. coli* และ น้ำเกลือ
- SW คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- SAE คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- SAC คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- SSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น
- PW คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- PAE คือหลอดที่ใช้และส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- PAC คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- PSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น

1.2 ผลการทดสอบ NBT test

จากการตรวจเสมียร์ที่ได้จากการทดลองด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนร้อยละของ Neutrophils (% Neutrophils) ที่มีตะกอนสีน้ำเงินในไซโตพลาสซึมในเวลาหลังจาก Incubate เชื้อ *E. coli* ผ่านไป 10 นาที พบว่าผลของ SW, SAE, SAC, SSAS, PW, PAE, PAC และ PSAS ต่อการทดสอบ NBT โดยพิจารณาจาก % Neutrophil ที่มีตะกอนสีน้ำเงินในไซโตพลาสซึมเป็น 40, 72, 99, 32, 80, 72, 70 และ 38 % ตามลำดับ โดยชุดควบคุมเป็น 36 % จะเห็นได้ว่าส่วนน้ำไลของสาร

สกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (SW) สารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol (SAE) และ Acetone (SAC) และส่วนตะกอนของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (PW) สารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol (PAE), Acetone (PAC) และ Saturated ammonium sulfate (PSAS) มี % Neutrophil ที่มีตะกอนสีน้ำเงินในไซโตพลาสซึมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อการทดสอบ NBT test

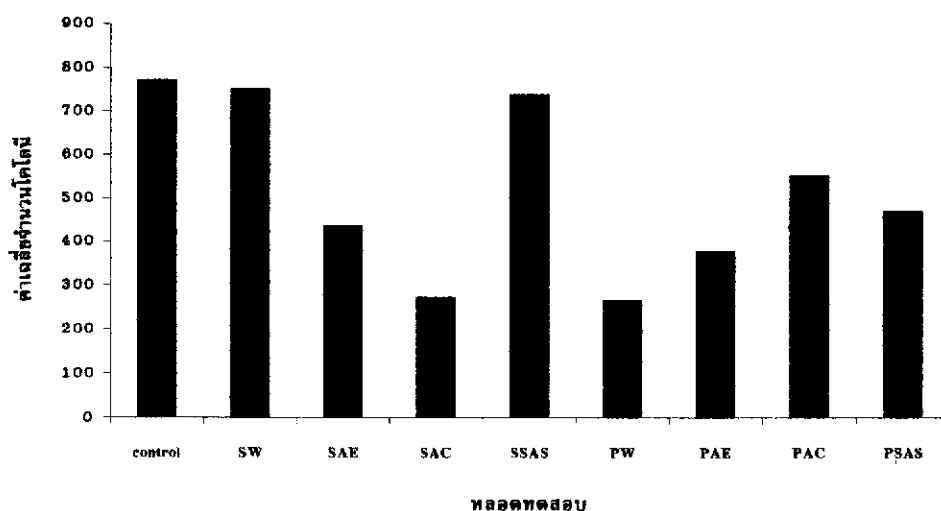
หมายเหตุ

- Control คือหลอดที่ประกอบไปด้วย Heparinized blood, *E. coli* และ น้ำเกลือ
- SW คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- SAE คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- SAC คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- SSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น
- PW คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- PAE คือหลอดที่ใช้และส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- PAC คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- PSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น

1.3 ผลการทดสอบ Phagocytic killing function (PKF) test

จากการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. coli* หลังจาก Incubate เชื้อ *E. coli* ผ่านไป 15 และ 30 นาที พบว่าผลของ SW, SAE, SAC, SSAS, PW, PAE, PAC และ PSAS ต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เวลา 15 นาทีเป็น 750, 435, 272, 737, 265, 375, 550 และ 468 โคโลนี และที่ 30 นาทีเป็น 821, 633, 733, 761, 471, 500, 400 และ 480 โคโลนีตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของชุดควบคุมที่ 15 และ 30 นาทีเป็น 770 และ 767 โคโลนี ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าส่วนน้ำใสของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Absolute

ethanol (SAE) และ Acetone (SAC) และส่วนตะกอนของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (PW) สารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol (PAE), Acetone (PAC) และ Saturated ammonium sulfate (PSAS) มีจำนวนโคโลนีของเชื้อลดลงเป็นจำนวนมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนส่วนใสของสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำ (SW) และสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate (SSAS) ทำให้จำนวนโคโลนีของเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลของสารสกัดจากถั่วเหลืองต่อการทดสอบ Phagocytic killing function (PKF) test

หมายเหตุ

- Control คือหลอดที่ประกอบไปด้วย Heparinized blood, *E. coli* และ น้ำเกลือ
- SW คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- SAE คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- SAC คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- SSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น
- PW คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำในการกระตุ้น
- PAE คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Absolute ethanol ในการกระตุ้น
- PAC คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Acetone ในการกระตุ้น
- PSAS คือหลอดที่ใช้ส่วนตะกอนของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate ในการกระตุ้น

วิจารณ์

จากการทดสอบ Phagocytosis พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองทุกชนิดสามารถกระตุ้นการทดสอบ Phagocytosis ของ Neutrophil ต่อเชื้อ *E. coli* ได้ แสดงว่าน่าจะมีสารที่มีคุณสมบัติคล้าย Opsonin ในสารที่สกัดได้

จากการทดสอบ NBT พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองทุกชนิดสามารถกระตุ้น Phagocytic cells ให้เกิดกระบวนการ Respiratory burst และ Hexose monophosphate shunt (HMP) ได้ดี ยกเว้นส่วนใสของสารสกัดด้วยน้ำและตามด้วย Saturated ammonium sulfate (SSAS) ทั้งนี้ อาจเกิดจากโมเลกุลของ Ammonium sulfate ที่ยังอึดตัวในส่วนใสนี้บดบังโมเลกุลของสารที่กระตุ้นเซลล์ให้เกิด Respiratory burst และ Hexose monophosphate shunt (HMP) ดังนั้นจึงอาจต้องขจัด Ammonium sulfate ออกก่อนนำมาทดสอบ

จากการทดสอบ PKF test พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองทุกชนิดสามารถกระตุ้นให้ Phagocytic cells ทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jannace และคณะ^๖ SW และ SSAS กระตุ้นการทดสอบ PKF ได้น้อยกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารกระตุ้นการทดสอบ PKF ที่เป็นไขมันมีน้อยในสารสกัดส่วนนี้

นอกจากนี้สารสกัดจากถั่วเหลืองทุกชนิดไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ Viability ของ Neutrophil ในทุกการทดลอง (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

สรุป

สารสกัดจากถั่วเหลืองกระตุ้นกระบวนการจับทำลายสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) ของเม็ดเลือดขาวได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุมัติทุนวิจัยในโครงการวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2543

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักนโยบายและแผนสาธารณสุข สำนักงานปลัดกระทรวง สาธารณสุข. รายงานสถิติการเกิด-การตายในโรงพยาบาลของรัฐ พ.ศ. 2533-2537. กรุงเทพฯ : องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก 2539.
2. พิพัฒน์ ลักษณะมีจรัสกุล. วิทยาการระบาด: ประยุกต์ในงานโรคติดเชื้อ. กรุงเทพฯ: เจริญดีการพิมพ์ 2541.
3. สีรา กิตติกุล. วิทยาภูมิคุ้มกันเบื้องต้น (Fundamental Immunology) ใน กนกรัตน์ ศิริพานิชกร (บก.). โรคติดเชื้อ Infectious Diseases. กรุงเทพฯ: โฮลิสติก พับลิชชิง 2541: 16-32.
4. Wiernik A, Jarstrand C, Julander I. The effect of intralipid on mononuclear and polymorphonuclear phagocytes. Am J Clin Nutr 1983; 37: 256-61.
5. Strunk RC, Payne CM, Nagle RB, Kunke K. Alteration of the structure and function of guinea pig peritoneal macrophages by a soybean emulsion. Am J Pathol 1979; 96: 753-70.
6. Tomioka H, Saito H. Effect of some plant lectins on hydrogen peroxide release from macrophages induced with streptococcal preparation OK-432. Infect Immun 1980; 28: 336-43.

7. Rumsey GL, Siwicki AK, Anderson DP, Bowser PR. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanism, growth, and protein utilization on rainbow trout. *Vet Immunol Immunopathol* 1994; 41: 323-339.
8. Jannace PW, Lerman RH, Santos JI, Vitale JJ. Effects of oral soy phosphatidylcholine on phagocytosis, arachidonate concentrations, and killing by human polymorphonuclear leukocytes. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 599-603.