

การศึกษาเบื้องต้นของผลจาก รากเถล็ดปลาช่อนต่อพยาธิใบไม้ตับใน hamsters

มุกดา จิตต์เจริญธรรม*

สมาน เทศนา**

ศศิธร แก้วเกษ**

* ภาควิชาเภสัชวิทยา

** ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Preliminary study : Effects of *Desmodium pulchellum*'s root on *Opisthorchis viverrini* in hamsters

Muckda Chitcharoenthum*

Smarn Tesana**

Sasithorn Kaewkes**

B. Pharm, M. Sc (Pharmacology) Ph.D (Neuroscience)

B. Sc (Biology), M. Sc. (Tropical Medicine), D.A.P & E (Malaysia)

B. Sc. (Medical Technology), M. Sc. (Parasitology), C.M.P. (Queensland)

* Department of Pharmacology

** Department of Parasitology Khon Kaen University

This report is the preliminary study on effects of the extract from *Desmodium pulchellum*'s root on the liver fluke "*Opisthorchis viverrini*" in hamsters. After 45 days of infection with metacercariae of this liver fluke, all six groups of 5 hamsters had similar number of eggs in feces ($p>0.7$). The treatment effects of water extract from this herb (10 g root/1 kg b.w) given for 1,2,3,4 or 5 days on the number of eggs in feces and the number of adult fluke in the liver were compared with those of controls. The results show that the number of eggs in feces from hamsters treated with the herb-extract is significantly decreased from controls ($p<0.004$). On the other hand, the number of fluke in the liver is similar in all six groups ($p>0.1$). These results suggest that the extract from this herb may have anthelmintic effect on this fluke, at least, on the egg production.

การทดลองเบื้องต้น ถึงผลของน้ำสกัดจาก
รากเถล็ดปลาช่อน (*Desmodium pulchellum*) ต่อ
พยาธิใบไม้ตับใน hamsters โดยใช้ขนาด 10 ก. ของ
รากต่อ 1 กก. น้ำหนักตัว ป้อนให้แก่ hamsters ที่
ได้รับ metacercariae มาแล้วเป็นเวลา 45 วัน ก่อน

ให้ยามีการตรวจนับไข่พยาธิใบไม้ในตับ ในมูล 1 ก.
จากสัตว์แต่ละตัว ค่าเฉลี่ยของไข่จากแต่ละกลุ่ม
(6 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว) มีมากกว่า 20,000 ไข่ ซึ่ง
ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ($P>0.7$) ในกลุ่มที่
ได้รับยาด้วยกัน แม้จะได้รับยาเป็นระยะเวลาที่ต่าง

กัน 1 2 3 4 หรือ 5 วัน จะมีจำนวนไข่ในมูล 1 กพอ ๆ กัน แต่ทุกกลุ่มจะมีจำนวนน้อยกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.02$) เมื่อตรวจนับตัวพยาธิในตับ พบว่าทั้ง 6 กลุ่มมีจำนวนพอ ๆ กัน ($p > 0.1$) ผลเหล่านี้แสดงว่าน้ำสกัดรากเกล็ดปลาช่อนอาจมีผลต่อการผลิตไข่จากตัวพยาธิ แต่ไม่มีผลต่อจำนวนตัวพยาธิในตับ

บทนำ

พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ระบาดอยู่ในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และบางจังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย เฉลี่ยมีระบาดในประเทศ 14.72%⁽¹⁾ คนทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือติดพยาธิจากการรับประทานปลาในวงศ์ตะเพียนที่ไม่สุก อย่างเช่น ก้อยปลา ปลาร้า เป็นต้น⁽²⁾ ระยะติดต่อ (metacercariae) ที่คนได้รับเข้าไปจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยในตับ ทำให้การทำงานของตับผิดปกติ และสุขภาพเสื่อมโทรม เห็นขนาโรครแทรกซ้อนอื่นๆ เช่น มะเร็งของตับ⁽³⁾ และมะเร็งของท่อน้ำดี⁽⁴⁾ ได้มีรายงานว่ามิยาซากิโรคพยาธิชนิดนี้ อาทิเช่น quinacrine chloroquine⁽⁵⁾ Niclofolan⁽⁶⁾ praziquantel⁽⁷⁾ แต่ผลข้างเคียงจากยาและราคาขายที่แพง ทำให้ต้องมีการสืบหาหาตัวใหม่โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสมุนไพรที่มีในประเทศ

ต้นเกล็ดปลาช่อน (*Desmodium pulchellum*) เป็นไม้พุ่มอยู่ตามป่าเบญจพรรณ มีใบย่อย 3 ใบ ได้ใบมีขนาดเล็กๆ ใบสีเขียว รูปหอยแครง เรียงประบกกันไปตามแนวแกน มีดอกสีขาวอยู่ระหว่างใบ ไม้พุ่มนี้มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรในประเทศฟิลิปปินส์ใช้รักษาแผล ในประเทศอินโดนีเซียใช้รักษาฝี ในประเทศมาเลเซียใช้รากต้มรับประทานหลังคลอดบุตร และเปลือกใช้รักษาอาการท้องเสีย⁽⁸⁾ ในประเทศไทยมีค้ำบอกเล่าถึง

สรรพคุณของต้นเกล็ดปลาช่อนว่าอาจใช้รักษาพยาธิใบไม้ในตับได้ ผู้วิจัยและคณะจึงได้ศึกษาผลของน้ำยาสกัดจากรากเกล็ดปลาช่อน ต่อพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini*) ใน hamsters ที่ได้รับระยะติดต่อ metacercariae เข้าไป

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ

ต้นเกล็ดปลาช่อน (*Desmodium pulchellum* (Lin.) Beth.) ได้มาจากการเก็บตามป่าดงของจังหวัดขอนแก่น แล้วเอามาตรวจสอบลักษณะโดยอาจารย์ประนอม จันทโรดทัย แห่งภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ก่อนที่จะนำมาศึกษา พืชที่เก็บมาจะนำมาสกัดทันที โดยแยกเอาแต่รากจาก 10 ต้นที่เก็บมาจากการต่างๆ มาชั่ง ขนาดที่ใช้ป้อนสัตว์ทดลองคือ 10 ก. น้ำหนักรากต่อน้ำหนักตัวสัตว์ 1 กก. (ขนาดนี้ได้ทดสอบในหนูถีบจักรก่อนและพบว่าไม่เป็นพิษ)

สัตว์ทดลองที่ใช้คือ hamsters จำนวน 5 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ซึ่งมีจำนวน 5 ตัว เช่นกัน

ระยะติดต่อ (metacercariae) ของพยาธิใบไม้ตับชนิด *O. viverrini* ได้จากปลาขาว (*Cylocheilichthys* sp.) ที่ซื้อมาจากตลาดในเมืองขอนแก่น และกาฬสินธุ์ โดยนำปลาเหล่านี้มาสับและย่อยด้วย pepsin A ความเข้มข้น 0.125 Anson unit ที่ pH 2.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงใน Shaking water bath นำเนื้อปลาที่ย่อยแล้วกรองผ่านตะแกรงความถี่ 600 ไมโครเมตร เอาส่วนที่ผ่านตะแกรงมาตกตะกอนด้วยน้ำเกลือ (0.85%) แล้วกรองอีกครั้งผ่านตะแกรงความถี่ 300 ไมโครเมตร เอาส่วนที่ผ่านตะแกรงมาตกตะกอนอีกครั้งหนึ่ง แล้วจึงนำไปแยกจาก metacercariae ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (light microscope)

แยกนับ metacercariae และป้อนให้ hamsters ที่สลบด้วย ether ทาง stomach tube ตัวละ 50 metacercariae จากนั้นอีก 45 วัน เอมูลสัตว์แต่ละตัวมา 2 samples เพื่อตรวจนับหาจำนวนไข่พยาธิต่อ 1 ก.มุล โดยวิธี stoll's egg count technic จำนวนไข่ที่นับได้ในสัตว์แต่ละตัว จะเป็นค่าเฉลี่ยจากการตรวจนับ 2 ครั้ง การป้อนยาที่ใช้วิธีเดียวกับการ

ป้อน metacercariae ของพยาธิ แต่ละกลุ่มสัตว์ทดลองจะได้รับยาขนาดเดียวกันแต่ด้วยระยะเวลาที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อครบกำหนดจำนวนครั้งที่ป้อน ก็รอต่อไปอีก 7 วัน จึงทำการนับจำนวนไข่ในมูลอีกครั้ง และตรวจนับตัวเต็มวัยพยาธิในตับของ hamsters โดยการกดทับเนื้อตับด้วยกระจกแล้วตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ตารางที่ 1 การให้น้ำสกัดเกล็ดปลาช่อนแก่ hamsters ที่ได้รับการป้อนระยะติดต่อ (metacercariae) ของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ไปแล้ว 45 วัน การทดลองได้สุ่มแบ่ง hamsters เป็นจำนวน 6 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว

กลุ่ม	วันที่ให้น้ำสกัดเกล็ดปลาช่อน					รวมจำนวนยาสกัดที่ให้ (ก. ต่อ น้ำหนักตัว 1 กก.)	ช่วงเวลาระหว่าง การตรวจนับไขก่อน และหลังที่ได้รับยาแล้ว
	1	2	3	4	5		
control	-	-	-	-	-	0	12
กลุ่มที่ 1	+	-	-	-	-	10	8
กลุ่มที่ 2	+	-	-	-	-	20	9
กลุ่มที่ 3	+	+	+	-	-	30	10
กลุ่มที่ 4	+	+	+	+	-	40	11
กลุ่มที่ 5	+	+	+	+	+	50	12

ตารางที่ 2 จำนวนเฉลี่ยของไข่ *O. viverrini* ต่อมูล hamster 1 กรัม ก่อนและหลังการให้น้ำสกัดจากเกล็ดปลาช่อน และค่าที่เปลี่ยนไปของจำนวนไข่ในช่วงทดลองยา ของแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่ม	จำนวนเฉลี่ยของไข่ต่อกรัมมูล $\pm$ SD		จำนวนไข่ที่เปลี่ยนไป จากก่อนได้รับยา $\pm$ SD
	ก่อนได้รับยา	หลังได้รับยา	
Control	2890 $\pm$ 1177.03	6940 $\pm$ 3445.34 a	+4050 $\pm$ 2451.73 a
1	2253.2 $\pm$ 1400.49	1510 $\pm$ 1229.80 b	-743.2 $\pm$ 1176.84 b
2	4010 $\pm$ 2756.34	4620 $\pm$ 1254.43 a	+610 $\pm$ 1805.38 b
3	3620 $\pm$ 1057.17	3700 $\pm$ 1133.14 a	+80 $\pm$ 643.12 b
4	2960 $\pm$ 2049.73	2420 $\pm$ 1643.35 b	-540 $\pm$ 1300.92 b
5	2660 $\pm$ 1885.31	3390 $\pm$ 2090.79 a	+730 $\pm$ 1454.85 b

a และ b แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Student-Newman-Keul Test ที่ระดับ 0.05 กลุ่มที่แสดงด้วยพยัญชนะเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 3 จำนวนเฉลี่ยของตัวพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ต่อ hamster 1 ตัว ของแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่ม	จำนวนตัวพยาธิต่อ hamster 1 ตัว $\pm$ SD
Control	13.6 $\pm$ 8.73
1	6.6 $\pm$ 6.44
2	21.2 $\pm$ 10.15
4	14.4 $\pm$ 10.23
5	18.2 $\pm$ 6.11

ผลการศึกษา

การตรวจหาไข่พยาธิ *Opisthorchis viverrini* จากมูลของ hamsters เริ่มพบไข่ใน 30-35 วัน หลังจากการป้อนระยะติดต่อของพยาธิ (metacercariae) การป้อนยาตามตารางที่ 1 เริ่มหลังจาก ป้อน metacercariae ได้ 45 วัน และได้ผลดัง แสดงในตารางที่ 2

ก่อนได้รับยา ไข่ที่พยาธิผลิตออกมามีในมูลของ hamsters แต่ละกลุ่มมีจำนวนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($MSE=4128659.450$, $F(5,24)=0.5$, $p>0.7$) เมื่อดูกลุ่ม control จะเห็นว่าที่ 12 วันต่อมาพยาธิผลิตไข่มากกว่าเดิม 140.14% ส่วนกลุ่มที่ 5 ซึ่งได้รับยาและถูกตรวจนับไข่ในเวลาเดียวกับกลุ่ม control นั้น มีจำนวนไข่ในมูลมากกว่ากลุ่มอื่นที่ได้รับยาแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.5$) มีการเพิ่มของไข่ 27.44% ที่ 12 วันนับจากวันที่ตรวจนับครั้งแรกก่อนให้ยา ความแตกต่างของกลุ่มที่ 5 และ control นั้นมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ทุกกลุ่มที่ได้รับยามีไข่พยาธิในมูลน้อยกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ($MSE = 4856750.00$, $F(5,24)=3.675$, $p<0.02$) และเมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของจำนวนไข่มาก่อนและหลังได้รับยา พบว่ามีความแตกต่างของทุกกลุ่ม

ที่ได้รับยากับกลุ่ม control มีนัยสำคัญมากขึ้น ($MSE=3099572.783$, $F(5,24)=4.9156$, $p<0.004$) ผลเหล่านี้แสดงว่ายาสกัดรากเกล็ดปลาช่อนมีฤทธิ์ลดจำนวนไข่พยาธิ และระยะเวลาให้ 1 2 3 4 หรือ 5 วัน นั้นมีผลพอ ๆ กันต่อการลดจำนวนไข่พยาธิ

เมื่อตรวจนับจำนวนตัวพยาธิในตับ ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3 นั้น ชี้ว่าทุกกลุ่มมีจำนวนตัวพยาธิพอ ๆ กัน ($MSE=151.700$) $F(4,20)=1.673$, $p>0.1$) นี้ก็แสดงว่าน้ำสกัดรากเกล็ดปลาช่อนไม่ได้มีผลต่อตัวพยาธิในตับ

วิจารณ์

ยาถ่ายพยาธิที่เป็นสมุนไพรไทย มีหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพดี เช่น ปวดกาคที่ได้จากการสกัดแก่นมะหาด สามารถถ่ายพยาธิตัวตืดได้ผลดี⁽⁹⁾ น้ำคั้น หรือสารสกัดจากมะเกลือใช้ถ่ายพยาธิได้หลายชนิด ทั้งพยาธิปากขอ ตัวตืด เข้มหมุด พยาธิแส้ม้า และพยาธิไส้เดือน⁽¹⁰⁾ ส่วนพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* นั้นได้มีการทดลองใช้ยาที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น quinacrine hydrochloride, chloroquine phosphate⁽¹¹⁾, entobex⁽¹²⁾, amopyroquine⁽¹³⁾, hetol⁽¹⁴⁾, niclofolan⁽⁶⁾ และ mebendazole⁽¹⁵⁾ ส่วนใหญ่แล้วใช้ไม่ได้ผลยาที่มีผลลดไข่พยาธิ หรือทำลายตัวพยาธิก็ทำให้เกิดอาการข้างเคียงมาก

ต่อมามีการลองใช้ praziquantel ในคนที่มิพยาธิใบไม้ตับ พบว่าได้ผลดี^(7,16) แต่ยาราคาแพง ดังนั้นจึงเริ่มทดลองยาสมุนไพรรากเกล็ดปลาช่อนในการรักษาพยาธิใบไม้ตับ

รายงานนี้แสดงว่าน้ำสกัดรากเกล็ดปลาช่อนอาจมีผลต่อพยาธิใบไม้ตับใน hamsters ในจำนวนสัตว์ทั้ง 6 กลุ่ม ซึ่งมีการตรวจนับตัวพยาธิในเวลา

ที่ต่างกัน 1 ถึง 5 วันนั้น พบว่ามีจำนวนตัวพยาธิใกล้เคียงกัน แต่จำนวนไข่ของกลุ่ม control มีจำนวนเพิ่มจากที่นับก่อนการทดลองถึง 140% ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับยาจะมีการลดลงของไข่จากจำนวนที่นับได้ในครั้งแรก และกลุ่มที่เห็นจำนวนไข่เพิ่มก็เพิ่มสูงสุด 27% ของที่นับได้ครั้งแรก ผลเหล่านี้แสดงว่าน้ำสกัดรากเกล็ดปลาช่อนมีผลต่อการผลิตไข่จากพยาธิใบไม้ตับแม้จะไม่มีผลต่อตัวพยาธิในตับ ส่วนผลต่อการได้รับระยะติดต่อ (metacercariae) จนกลายเป็นตัวโตเต็มวัยในตับนั้นควรศึกษาต่อเพื่อดูว่ายาสกัดนี้มีฤทธิ์เสริมหรือต่อต้าน

เอกสารอ้างอิง

1. Preuksaraj S. Public health aspects of opisthorchiasis in Thailand. *Arzneimittel Forschung/Drug research Symposium Proceedings : Trematode infections and chemotherapy in Southeast and East Asia*. Kyongju, Republic of Korea, October 19-21, 1983; pp 1119-1120.
2. Tesana S, Kaewkes S, Phinlaor S. Infectivity and survivorship of *Opisthorchis viverrini* metacercariae in fermented fish. *J Parasit Trop Med Ass Thailand*, 1986; 9:21-29.
3. Thamavit W, Bhamarapavati N, Sahaphong S, Vajrasthira S, Angsubhakorn S. Effects of Dimethylnitrosamine of induction of cholangiocarcinoma in *Opisthorchis viverrini* infected Syrian Golden hamsters. *Cancer Res*, 1978; 38:4643-4639.
4. Sonakul D, Koompirochana C, Chinda K, Stitnimmankarn T. Hepatic carcinoma with opisthorchiasis. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1978; 9:215-219.
5. Sadun EH. Studies on *Opisthorchis viverrini* in Thailand. *Am J Hyg*, 1955; 62:81-115.
6. Bunnag D, Harinasuta T, Chondanond D, Vutikes S, Dhesakorn V. Clinical trial of Niclofolan in opisthorchiasis in Thailand, (in press).
7. Bunnag K, Harinasuta T. Studies on the chemotherapy of human opisthorchiasis in Thailand: I. Clinical trial of praziquantel. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1980; 11:528-531.
8. Quisumbing E. Medical plants of the Philippines. Bureau of Printing, Manila, 1951; 1233 pp.
9. Charoenlarp P, Radomyos P, Harinasuta T. Treatment of taeniasis with Puag Haad; a crude extract of *Artocarpus viverrini* wood. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1981; 12:568-570.
10. Migasena S, Suntharasamai P, Inkatanuvat S, Chindanond D, Harinasuta T. Clinical trial of the extract of *Diospyros mollis* berries in hookworm infected patient. *Mahidol University Annual Research Abstracts*, Bangkok, Thailand, 1973; pp 342.
11. Sadun EH, Chamnarakit C, Chetanasen S. Studies on the treatment of *Opisthorchis viverrini* in human infections with quinacrine hydrochloride and chloroquine phosphate. *Am J Trop Med Hyg*, 1955; 4:1080.
12. Plengvanit U, Harinasuta C. Treatment of opisthorchiasis with Entrobex, *J Med Ass Thailand*, 1961; 44:168.
13. Wykoff DE, Winn MM, Harinasuta C, Chittayasothour K. Treatment of *Opisthorchis viverrini* infections in Thailand with Amopyroquine (Propoquin). *J Parasit*, 1967; 53:742.
14. Bunnag D, Harinasuta T, Suntharasamai P, Viravan C, Petehklah S. Clinical trial of Hrtol (1,4-bis(2-chlorophenyl)-thylbenzol) in the treatment of opisthorchiasis. *Ann Trop Med Parasit*, 1970; 46:109.
15. Jaroonvesma N, Choroenlarp K, Cross JH. Treatment of *Opisthorchis viverrini* with mebendazole. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1981; 12:595.
16. Pungpark S, Bunnag D, Harinasuta T. Study on the chemotherapy of human opisthorchiasis: effective dose of praziquantel in heavy infection. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1985; 16:248-252.