บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บทบาทของระบบภูมิคุ้มกัน

ในสิ่งแวดล้อมรอบกายของคนนั้นประกอบด้วยเชื้อโรคมากมาย ทั้งเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ปรสิต และรา ชีวิตของเราต้องสัมผัสกับเชื้อโรคเหล่านี้ และอาจก่อให้เกิดโรคขึ้นได้ แต่การที่ร่างกายสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างปลอดภัย เพราะมีกลไกในการป้องกันและทำลายเชื้อโรคที่เรียกว่า ระบบภูมิคุ้มกัน (หรือภูมิต้านทาน) คอยปกป้องภูมิคุ้มกันแบ่งออกเป็น 2 ระบบใหญ่ๆ คือ ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (natural หรือ innate หรือ nonspecific immunity) ซึ่งเป็นด่านแรกในการต่อสู้และป้องกันเชื้อโรคที่เข้ามาในร่างกาย เป็นภูมิคุ้มกันที่มีอยู่ก่อนแล้วตั้งแต่กำเนิดคล้ายกับสัญชาตญาณในการป้องกันตนเองจากเชื้อโรคต่างๆ ภูมิคุ้มกันแบบนี้สามารถทำงานได้ทันที โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากสิ่งแปลกปลอม (antigen) มาก่อน ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดจะทำงานโดยอาศัยเซลล์ของร่างกาย เช่น เซลล์ผิวหนัง เซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น polymorphonuclear leukocyte (PMN) และ mononuclear cell ที่เกี่ยวข้องกับการจับกินและย่อยทำลาย เซลล์ natural killer (NK) ทำหน้าที่ในการทำลายเซลล์มะเร็ง เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดยังประกอบด้วยกระบวนการที่ทำหน้าที่ต้านทานไม่ให้เชื้อโรคมาทำอันตรายใดๆ ต่อเซลล์ ได้แก่ การตอบสนองโดยการอักเสบและการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ (Abbas and Lichtman, 2007) ภูมิคุ้มกันระบบนี้จะทำงานแบบไม่จำเพาะไม่จำเป็นต้องเรียนรู้หรือทำความรู้จักกับแอนติเจนมาก่อน และไม่มีการจดจำชนิดของแอนติเจนหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย แต่ก็สามารถทำหน้าที่ป้องกัน และยับยั้งเพื่อไม่ให้เกิดการติดเชื้อขึ้นได้ ภูมิคุ้มกันอีกระบบ ได้แก่ ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific หรือ acquired หรือ adaptive immunity) เป็นการทำงานต่อเนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด เกิดขึ้นจากการที่ร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอม โดยเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอมในครั้งแรกจะไม่สามารถทำงานได้ทันที ต้องใช้เวลาในการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมประมาณ 7-14 วัน แต่หากร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนชนิดเดิมอีกครั้ง ร่างกายจะสามารถตอบสนองได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันแบบนี้มีการจดจำชนิดของแอนติเจนหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแอนติเจน สามารถตอบสนองต่อเชื้อโรคที่เข้ามาได้เป็นอย่างดี โดยอาศัยเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่งมีความจำเพาะและสามารถจำแนกความแตกต่างของ antigenic determinant ได้ในโปรตีนที่มีลักษณะคล้ายกัน 2 โมเลกุล แต่มีกรดอะมิโนแตกต่างกันเพียงตำแหน่งเดียว ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะยังสามารถแบ่ง

ออกได้เป็น 2 แบบคือ humoral immunity และ cell-mediated immunity โดยการตอบสนองแบบ humoral immunity จะเกี่ยวข้องกับ B-lymphocyte ซึ่งทำงานโดยเมื่อมีแอนติเจนเข้ามากระตุ้น จะเกิดการตอบสนอง และเปลี่ยนแปลงไปเป็น plasma cell ซึ่งทำหน้าที่สร้างแอนติบอดีที่จำเพาะ เพื่อกำจัดจุลชีพ ปรสิตรวมไปถึงสารพิษ และ B-lymphocyte จำนวนหนึ่งจะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ที่จดจำ (memory cell) ต่อแอนติเจนชนิดนั้นๆ ที่เข้ามา เมื่อมีการติดเชื้อหรือได้รับแอนติเจนชนิดเดิมในครั้งต่อมา ร่างกายจะตอบสนองได้เร็วขึ้นสำหรับภูมิคุ้มกันแบบ cell mediated immunity เกี่ยวข้องกับ T-lymphocyte ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ cytotoxic T cell (Tc) และ helper T cell (Th) โดย cytotoxic T cell ทำหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมชนิด intracellular microbe เช่น ไวรัสและแบคทีเรียบางชนิด และยังทำหน้าที่ในการกำจัดเซลล์ผิดปกติของร่างกายที่เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เนื้องอก (tumour) หรือเซลล์มะเร็ง ส่วน helper T cell สามารถสร้างและหลั่งสารน้ำที่เรียกว่า ไซโตไคน์ (cytokine) ซึ่งเป็นโปรตีน หรือไกลโคโปรตีน (glycoprotein) เพื่อเป็นสัญญาณ (chemical messenger) ติดต่อกันระหว่างเซลล์ หรือควบคุมปฏิกิริยาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ในปัจจุบันมีการค้นพบไซโตไคน์มากมายหลายชนิด สามารถแบ่งกลุ่มไซโตไคน์ออกได้เป็น Th1 และ Th2 cytokine โดย naive T helper cell (Th0) เมื่อรับรู้แอนติเจนแล้วจะถูกกระตุ้นด้วย IL-12 และ IFN-γ เปลี่ยนแปลงไปเป็น Th1 cell หรือถูกกระตุ้นด้วย IL-4 แล้วเปลี่ยนแปลงไปเป็น Th2 cell ซึ่ง Th1 หรือ Th2 cell จะสร้างและหลั่งไซโตไคน์ที่ต่างชนิดกันออกมาโดย Th1 cell จะหลั่ง IL-2 และ IFN-γ ส่วน Th2 cell จะหลั่ง IL-4 และ IL-10 Th1 cytokine ส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ในการกระตุ้นการทำงานของ NK cell, phagocyte และ cytotoxic T cell ส่วน Th2 cytokine จะกระตุ้นการทำงานของ eosinophil และกระตุ้นให้ B cell เกิด class switching หลั่ง Immunoglobulin E (IgE) ซึ่งมีบทบาทในการกำจัดหนอนพยาธิและการเกิดภาวะภูมิแพ้ (Mak and Saunders, 2011) ระบบภูมิคุ้มกันจะทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ต้องประกอบด้วยปริมาณและการทำหน้าที่ที่พอเหมาะของเซลล์โมเลกุลและสารน้ำ ตลอดจนมีการทำงานประสานร่วมกันเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกัน (defense) ร่างกาย และเพิ่มความต้านทานของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมภายนอก ถ้าหากภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ หรือทำงานบกพร่องไป อาจเกิดผลร้ายได้ เช่น เกิดการติดเชื้อจุลชีพได้ง่าย ภาวะภูมิต้านเนื้อเยื่อตนเอง (autoimmune disease) หรือแม้กระทั่งถ้าภูมิคุ้มกันทำงานมากเกินไปก็จะให้เกิดปัญหาได้อีก เช่น ภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ดังนั้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่เหมาะสมไม่ได้มีหน้าที่หลักเพียงการตอบสนองต่อแอนติเจนจากสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เท่านั้นแต่บทบาทที่สำคัญมากคือการควบคุมให้สามารถ

ทำงานได้อย่างมีดุลยภาพที่สมบูรณ์ การสร้างสุขภาพที่ดี จึงต้องสร้างระบบภูมิคุ้มกันที่ดีและสมดุลด้วยเช่นกัน

ปัจจุบันจึงมีการนำศาสตร์ทางด้านวิทยาภูมิคุ้มกันมาใช้ในการรักษาโรค (immunotherapy) โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับภาวะภูมิคุ้มกันผิดปกติ อาทิเช่น โรคมะเร็ง เอดส์ ภูมิแพ้ และภูมิต้านเนื้อเยื่อตนเอง รวมไปถึงการสร้างเสริมสุขภาพให้มีภูมิคุ้มกันที่แข็งแรง การค้นคว้าวิจัยหาสารที่มีฤทธิ์ปรับภาวะภูมิคุ้มกันของร่างกาย จึงเป็นสิ่งจำเป็นในการรักษาระบบภูมิคุ้มกันให้อยู่ในภาวะที่สมดุล (homeostasis) (Patwardhan and Gautam, 2005) จึงนำไปสู่การค้นหาสารที่มีฤทธิ์ หรือมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน สารเหล่านี้เรียกว่า immunomodulator ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันนี้มีอยู่หลายกลุ่ม อาทิเช่น Polysaccharides (Yuan, et al., 2009), Flavonoids (Middleton, 1998), Protein (Liu, et al., 2009) , Lectin (Clement and Venkatesh, 2010) และอื่นๆ โดยสารเหล่านี้อาจจะมีผลเพิ่มหรือลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันก็ได้ เพื่อก่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันตามที่ต้องการ การปรับสภาวะภูมิคุ้มกันเพื่อให้ได้ผลตามที่ต้องการนี้ สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มตามผลของการตอบสนองที่ได้รับเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ สารที่มีฤทธิ์เพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulators) สามารถใช้ในกรณีที่ร่างกายเสียสมดุลของระบบภูมิคุ้มกันไปและเกิดภาวะต่างๆ เช่น ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง จึงควรกระตุ้นให้มีภูมิคุ้มกันที่พร้อมจะเผชิญกับโรคได้ สารอีกกลุ่มหนึ่ง คือ สารที่มีฤทธิ์ลดหรือยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressant) ใช้ในกรณีที่ภูมิคุ้มกันทำงานมากเกินไป เช่น ภาวะภูมิแพ้ต่างๆ ภาวะภูมิต้านเนื้อเยื่อตนเอง

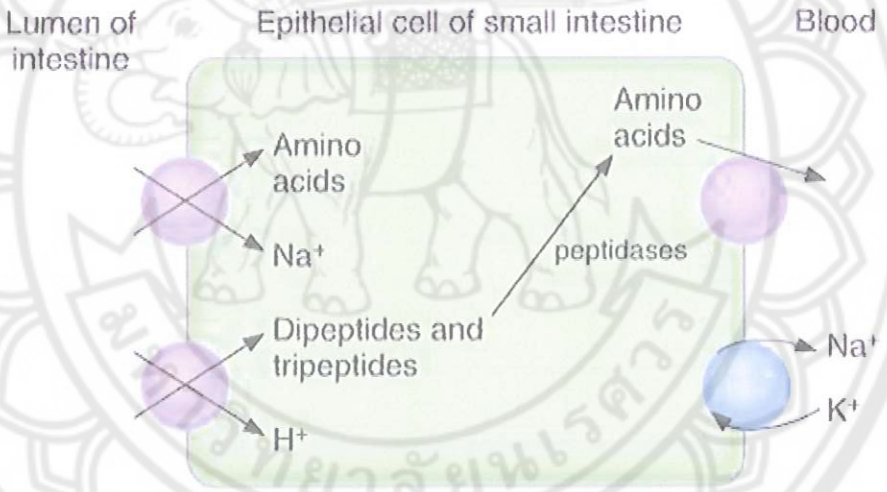
ปัจจุบันมีการค้นพบสารที่มีฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันมากมาย โดยเฉพาะจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอย่างพืชสมุนไพร รวมไปถึงสารประเภทโปรตีน ซึ่งนอกจากจะมีฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันแล้วยังมีความสำคัญในการรักษาเซลล์ และอวัยวะสร้างภูมิคุ้มกันต่างๆ ของร่างกายให้แข็งแรงอีกด้วย จึงจำเป็นต้องได้รับสารอาหารประเภทโปรตีนอย่างเพียงพอ ซึ่งความต้องการของโปรตีนในแต่ละคนนั้น เมื่อแรกเกิดต้องการโปรตีนวันละ 1.5 g/kg BW จนกระทั่งอายุ 19 ปีขึ้นไป ต้องการโปรตีนโดยประมาณวันละ 0.8 g/kg BW ถึงแม้ว่าในผู้ใหญ่การเจริญเติบโตหยุดแล้ว แต่ก็ยังต้องการโปรตีนไว้ซ่อมแซมส่วนต่างๆ ที่สึกหรอไป (Institute of Medicine: Washington, 2005)

โปรตีนและโปรตีนไฮโดรไลเสท

โปรตีน (protein) เป็นสารประกอบภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ซึ่งมีมากเป็นอันดับสองรองจากน้ำ โปรตีนเป็นโภชนะที่สำคัญและจำเป็นต่อร่างกายในการดำรงชีวิต การเจริญเติบโตและการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ตลอดจนการสร้างเอนไซม์ และฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของร่างกาย โปรตีนยังเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากร่างกายต้องใช้โปรตีนในการผลิตเซลล์เม็ดเลือดขาวต่างๆ แอนติบอดีรวมถึงสารน้ำอย่างไซโตไคน์ และโมเลกุลอื่นๆ ที่ควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โปรตีนจึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อภูมิคุ้มกันที่แข็งแรง หากขาดโปรตีนจะส่งผลถึงความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมและการสร้างแอนติบอดีตอบสนองน้อยกว่าปกติ (Chandra, 1997) ส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอและมีภูมิต้านทานโรคต่ำ (Calder and Kew, 2002) ทำให้เกิดการติดเชื้อจากจุลชีพได้ง่ายโปรตีนไฮโดรไลเสท (protein hydrolysate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อย (hydrolyzed) วัตถุดิบที่มีโปรตีนสูงเช่นน้ำนม ถั่วเหลืองถั่วเขียวถั่วลิสงเป็นต้นโดยโปรตีนไฮโดรไลเสทประกอบด้วยกรดอะมิโนเปปไทด์และสารประกอบอื่นๆ (Radha, et al., 2008) การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่นิยมมี 3 วิธีคือการย่อยโดยใช้กรดด่างและเอนไซม์ (Tombs, 1993) ซึ่งการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากการใช้กรดและด่างนั้น พบว่าก่อให้เกิดผลพลอยได้ (by product) ที่ไม่เหมาะสม โดยการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกและกระทำภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงนั้น สามารถทำให้เกิดสารก่อมะเร็ง คือ monochloropropanols, dichloropropanols และ monochloropropanediols หรือเรียกว่าสารกลุ่ม 3-MCPD (Gawarska, et al., 2009) ส่วนการย่อยสลายด้วยด่าง กรดอะมิโนบางชนิดอาจเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนกรดอะมิโนในรูป L-form ไปเป็นกรดอะมิโนในรูป D-form (racemization) ซึ่งร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ได้ ทั้งยังทำให้คุณค่าทางอาหารเสียไป (Nakai and Modler, 1996) เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงมีการนำเอนไซม์มาใช้ในการย่อยสลายแทนเนื่องจากเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาบริเวณพันธะเปปไทด์ โดยไม่ทำลายกรดอะมิโนอีกทั้งเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงในการตัดพันธะเปปไทด์สูง จึงทำให้ได้อัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการใช้กรดและด่าง (Clemente, 2000)

การดูดซึมโปรตีนไฮโดรไลเสท

โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีน ซึ่งโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายแล้วจะประกอบไปด้วยเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโนอิสระ โปรตีนไฮโดรไลเสทนี้สามารถละลายน้ำได้ดี ทั้งยังพบว่ามีข้อดีในแง่ของการดูดซึมการดูดซึมโปรตีนไฮโดรไลเสทในทางเดินอาหารส่วนใหญ่เกิดขึ้นในลำไส้เล็กส่วนต้น (Silk, et al., 1985) ซึ่งถ้าเป็นเปปไทด์สายสั้นมักจะถูกดูดซึมเข้า enterocyte ผ่านทาง Peptide Transport System (PEPTS) โดยอาศัยการทำงานร่วมกับไฮโดรเจนโปรตอน (H^+) (Webb, et al., 1992) ซึ่งสามารถถูกดูดซึมได้เร็วกว่ากรดอะมิโน เนื่องจากสามารถดูดซึมได้ครั้งละ 2-3 โมเลกุลในขณะที่การดูดซึมกรดอะมิโนจะถูกเรียงเข้าดูดซึมได้ครั้งละ 1 โมเลกุล (Matthews, 1972) ส่วนกรดอะมิโนอิสระนั้น จะถูกดูดซึมโดยผ่านทาง specific Na+ dependent transport system ดังภาพ 1



ภาพ 1 การดูดซึมของเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโน

ที่มา: http://quizlet.com/9670420/familiarize/embedv2?&m

รายงานการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เปปไทด์ที่ได้จากการตัดหรือย่อยโปรตีนนั้นเปรียบเสมือนการเลียนแบบกระบวนการย่อยโปรตีนของมนุษย์ (Manninen, 2004) จะสามารถถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว และมากกว่าอยู่ในรูปของเปปไทด์สายยาว โดย Koopman ทำการศึกษาการย่อยและดูดซึมระหว่างโปรตีนเคซีนและโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากเคซีนซึ่งติดฉลากด้วย L-(1-^{13}C) phenylalanine ทำการให้อาสาสมัครกลุ่มหนึ่งได้รับโปรตีนเคซีนที่ติดฉลาก 35 g

และอีกกลุ่มหนึ่งได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเคซีนที่ติดฉลาก 35 g ภายหลังจาก 6 ชั่วโมงที่อาสาสมัครได้รับโปรตีนดังกล่าว เลือดและเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของอาสาสมัครแต่ละกลุ่มถูกเก็บและนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนเคซีนและโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเคซีนที่ติดฉลาก ซึ่งพบว่าอาสาสมัครที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเคซีนที่ติดฉลากมีปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเคซีนที่ติดฉลากในกล้ามเนื้อสูงกว่าอาสาสมัครที่ได้รับโปรตีนเคซีนที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลเสทติดฉลาก เช่นเดียวกันก็พบปริมาณ plasma amino acid ในอาสาสมัครที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเคซีนที่ติดฉลากสูงกว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับโปรตีนเคซีนที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลเสทติดฉลาก (Koopman, et al., 2009) การศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้ของ Poullain, et al. (1989) ซึ่งทำการศึกษาเปรียบเทียบโปรตีนที่ไม่ได้ถูกย่อย โปรตีนไฮโดรไลเสทและกรดอะมิโนที่อยู่ในรูปอิสระ ต่อการเจริญเติบโตในหนู Wistar และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจะถูกดูดซึมได้เร็วกว่าโปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อย หรือแม้กระทั่งกรดอะมิโนอิสระ ผลการศึกษาวิจัยอีกฉบับก็เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดย Grimble, et al. (1987) แสดงให้เห็นว่าโปรตีนเวย์ (whey protein) ไข่ และเคซีน (casein) เมื่อนำมาตัดหรือย่อยเป็น ไดเปปไทด์และไตรเปปไทด์จะถูกดูดซึมได้ดีและเร็วกว่าโปรตีนที่ไม่ได้ถูกย่อย ด้วยคุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเสทดังกล่าว ปัจจุบันจึงมีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสทมาใช้เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่มีปัญหาด้านการย่อย (impaired luminal hydrolysis) ผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับล้มเหลว (hepatic failure) รวมไปถึงในผู้ป่วยที่มีการแพ้โปรตีน (allergy) (Clemente, 2000) นอกจากประโยชน์ในแง่ของการดูดซึมแล้ว ยังมีงานวิจัยหลายฉบับที่ระบุถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสท อาทิเช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Theodore, et al., 2008; Xie, et al., 2008) ฤทธิ์ลดความดันโลหิต และฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Vasantha, et al., 2011) เป็นต้น

โปรตีนไฮโดรไลเสทส่วนใหญ่ได้มาจากแหล่งธรรมชาติที่หลากหลาย อาทิเช่น ธัญพืช น้ำนมวัว ปลาทะเล และสาหร่ายทะเล ซึ่งนับว่ามีความปลอดภัยระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากโปรตีนจากแหล่งต่างๆ มีความแตกต่างในแง่ของชนิด จำนวน และการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2551) ทำให้คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ รวมถึงคุณสมบัติทางชีวภาพมีความแตกต่างกัน ดังนั้นหากต้องนำโปรตีนไฮโดรไลเสทจากแหล่งธรรมชาติใดๆ ไปใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะในเชิงสุขภาพ โปรตีนไฮโดรไลเสทนั้นๆ ควรได้รับการศึกษาวิจัยอย่างถ่องแท้และเป็นระบบก่อน

โปรตีนไฮโดรไลเสทกับระบบภูมิคุ้มกัน

นอกจากคุณสมบัติทางชีวภาพที่ได้กล่าวไปแล้ว โปรตีนไฮโดรไลเสทยังมีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกัน มีรายงานว่ามาจากหลายแหล่งทั้งจากสัตว์และพืชต่างๆ ดังนี้

1. โปรตีนนม (milk proteins)

โดยส่วนใหญ่แล้วโปรตีนนมประกอบด้วยกรดอะมิโนมากกว่า 150 หน่วย คุณสมบัติของโปรตีนนมขึ้นอยู่กับกรดอะมิโนที่ประกอบในโมเลกุล ตลอดจนการจัดเรียงลำดับในสายโพลีเปปไทด์ โปรตีนนมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เคซีน (casein) และโปรตีนเวย์ (whey protein) (Madureira, et al., 2007)

1.1 เคซีน (casein)

เคซีนเป็นโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นในต่อมน้ำนมและเป็นโปรตีนที่มีประมาณ 80% ของโปรตีนนมทั้งหมด เคซีนอยู่ในสภาพของไมเซลล์ (micelle) แต่ละไมเซลล์ประกอบด้วยเคซีนชนิด alpha-s (α_s), beta (β), kappa (κ) และ gamma (γ) ในจำนวนที่แตกต่างกันออกไป ในทางอุตสาหกรรมจะเตรียมเคซีนจากหางนม หรือนมพร่องมันเนย โดยใช้วิธีตกตะกอนด้วยกรด หรือด้วยวิธีการทำให้เกิดการสร้างกรดแลคติกในน้ำนมด้วยแบคทีเรีย หรืออาจใช้วิธีเติมเอนไซม์เรนเนท (rennet) เคซีนเมื่อถูกทำให้ตกตะกอนแล้วจะถูกกรองแยกออกมาทำให้แห้ง หรืออาจทำให้เป็นเกลือเคซีเนต (caseinate) ด้วยการเติมสารละลายด่าง หากใช้เอนไซม์ตกตะกอน พบว่า เคซีนจะถูกเปลี่ยนไปเป็น พาราเคซีน (ซึ่งพบในเนยแข็งทั่วๆ ไป) (วรรณา ตั้งเจริญชัย และวิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ, 2531) มีการนำโปรตีนเคซีนมาศึกษาฤทธิ์ทางด้านภูมิคุ้มกัน โดยการนำเปปไทด์ Tyr – Gly และ Tyr – Gly – Gly ที่ได้จากการย่อยสลาย κ- casein และ α– lactalbumin ด้วยเอนไซม์เปปซินมาทดสอบการเจริญของ human peripheral blood mononuclear cell (PBMC) พบว่า เปปไทด์ทั้งสองสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ PBMC ได้ 90% และ 35 % ตามลำดับและในการศึกษาฉบับเดียวกันยังได้นำ β – casomorphin – 7 และ β – casokinin – 10 จาก β – casein มาศึกษา และพบว่าเปปไทด์ทั้งสองตัวดังกล่าวที่ความเข้มข้นต่ำสามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ PBMC ได้ ในขณะที่เปปไทด์ที่ความเข้มข้นสูง ($\geq 10^{-7}$ mol/l) พบว่า มีฤทธิ์ในการกระตุ้น PBMC การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การใช้เปปไทด์ชนิดเดียวกันแต่มีความเข้มข้นต่างกัน อาจทำให้ภูมิคุ้มกันมีการตอบสนองที่แตกต่างกันออกไปด้วย (Kayser and Meisel, 1996)

1.2 โปรตีนเวย์ (whey proteins)

โปรตีนเวย์เป็นโปรตีนที่มีความทนต่อกรด แต่ไม่ทนต่อความร้อน โปรตีนเวย์ประกอบด้วย β-lactoglobulin และ α-lactalbumin ประมาณ 50% และ 12% ตามลำดับรวมทั้งโปรตีนอื่นในปริมาณเล็กน้อย

1.2.1 β-lactoglobulin เป็นโปรตีนเวย์ที่เป็นไดเมอร์ (dimer) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 36,000 Da แต่ละเส้นเปปไทด์จะมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 136 หน่วย แต่ละไดเมอร์ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง สามารถตกตะกอนโปรตีนชนิดนี้ได้ด้วย

แมกนีเซียมซัลเฟต และแอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังพบว่า โปรตีนชนิดนี้มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ ถูกทำลายโดยความร้อนได้ง่าย มีบทบาทที่สำคัญต่อกลิ่น–รส ของผลิตภัณฑ์นมประเภท fluid dairy foods β-lactoglobulin (β–LG) ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันในหลอดทดลองโดยทำการแยก splenic single cell จากม้ามของหนูสายพันธุ์ BALB/c แล้วนำมาบ่มแต่ละการทดสอบร่วมกับ 1) β-lactoglobulin 2) casein 3) mix 1: α-lactalbumin (α–LA), β-LG, bovine serum albumin (BSA) และ bovine gammaglobulin (60% β-LG) 4) mix 2: α-LA, β-LG, BSA (75% β-LG) และ 5) Immunocal®แล้วนำน้ำเลี้ยงเซลล์มาวัดปริมาณ IgM ด้วยวิธี ELISA พบว่าเมื่อบ่ม splenic single cell ด้วย β–LG มีฤทธิ์ในการเพิ่มปริมาณ IgM ที่สร้างจาก splenic single cell มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับบ่มด้วยโปรตีนอื่นจากน้ำนม (Wong, et al., 1998)

1.2.2 α-lactalbumin เป็นโปรตีนที่พบเป็นอันดับสองในโปรตีนเวย์ α-lactalbumin ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นอยู่มาก จึงเป็นแหล่งของกรดอะมิโนที่ดีสำหรับเด็ก (Matsumoto, et al., 2001) Wong, et al. (1997) ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของ α-lactalbumin ในหลอดทดลองโดยหาปริมาณไซโตไคน์ชนิด IL-1β จากน้ำเพาะเลี้ยงเซลล์ sheep macrophage ที่บ่มร่วมกับ α-lactalbumin ในสภาวะที่มี ConA (3.9 μg/ml) นาน 12 ชั่วโมง พบว่า α-lactalbumin มีฤทธิ์เพิ่มการสร้าง IL-1β จาก macrophage ดังกล่าว

2. โปรตีนธัญพืช (grain proteins)

ในบรรดาธัญพืชทั้งหลาย ถั่วเมล็ดแห้งและพืชน้ำมัน เป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ แหล่งของโปรตีนจากถั่วเมล็ดแห้งและพืชน้ำมันที่นิยมนำมาทำเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสทคือ ถั่วเหลือง (soybean) พืชตระกูลถั่วลันเตา (peas) (Periago, et al., 1998) และเมล็ด rapeseed (*Brassica napus*)

2.1 ถั่วเหลือง (soybean)

คณะวิจัยของ Yamagushi (1993) ได้รายงานฤทธิ์ของเปปไทด์จากถั่วเหลืองต่อระบบภูมิคุ้มกันในหนูสายพันธุ์ Fisher โดยทำการศึกษาความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม (sheep red blood cells: SRBC) ของ macrophages พบว่า macrophages จากหนู ซึ่งได้รับเปปไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน มีความสามารถในการจับกิน SRBC ได้ดีขึ้น นอกจากนี้ Chen, et al. (1995) ได้รายงานผลการศึกษาซึ่งนำโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลืองมาทดสอบความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ splenocyte และพบว่าเปปไทด์จากถั่วเหลืองสามารถเพิ่ม proliferation index ได้ นอกเหนือจากการนำเอนไซม์เปปซินมาใช้แล้ว การศึกษาต่อมาได้มีการนำเอนไซม์อื่นมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลือง ซึ่งรายงานการศึกษาของ Kong (2008) ได้นำโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลืองที่เตรียมจากการย่อยสลาย

ด้วยเอนไซม์ alcalase, alcalase+flavourzyme และ papain มาทดสอบความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ splenic lymphocyte ของหนูสายพันธุ์ BALB/c พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลืองที่ถูกเตรียมด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 แบบ มีฤทธิ์เสริมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี ConA จากการศึกษาฉบับเดียวกันนี้ ยังพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลืองที่ถูกเตรียมด้วยเอนไซม์ alcalaseส่งผลให้ peritoneal macrophage มีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมได้เพิ่มขึ้น ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วเหลืองมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์ในระบบทั้ง adaptive และ innate immunity

2.2 ถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลือง (yellow field pea seeds)

Ndiaye, et al. (2011) ทำการทดสอบฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดพืชตระกูลถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลืองที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์ thermolysin โดยการให้หนูสายพันธุ์ BALB/c ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลือง ปริมาณ 100 µg/วัน เป็นเวลา 2, 5 และ 7 วันติดต่อกัน พบว่า ภายหลังจากหนูได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลืองนาน 5 วัน macrophage ของหนูดังกล่าว มีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า IgA+ cells รวมถึงจำนวน IFN-γ+ cells, IL-4+ cells และ IL-10+ cells ในลำไส้เล็กในหนูกลุ่มดังกล่าว ยังมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นด้วย การศึกษาฉบับเดียวกันนี้ ยังได้รายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจากถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลืองสามารถกระตุ้นให้ murine macrophage cell line (RAW 264.7) มีการสร้างไซโตไคน์ชนิด IL-6 เพิ่มขึ้นอีกด้วย แสดงให้เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดพืชตระกูลถั่วลันเตาพันธุ์สีเหลืองส่งเสริมการทำงานของภูมิคุ้มกันทั้งแบบ innate และ adaptive immunity

3. โปรตีนจากปลา หอยและสาหร่ายทะเล (sea fish, shellfish and algae)

3.1 ปลาทะเล (sea fish)

ปลาชนิดต่างๆ เป็นหนึ่งในแหล่งอาหารประเภทโปรตีน รายงานการวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาชนิดต่างๆ อาทิ เช่น จากปลา *Merluccius productus* โดยทำการศึกษาในหนู BALB/c และได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาดังกล่าวในปริมาณ 0.20, 0.25 และ 0.30 mg/ml นาน 2, 5 และ 7 วันในขณะที่กลุ่มควบคุมได้รับเฉพาะน้ำกลั่น จากการศึกษา พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา *M. productus* เมื่อให้แก่หนูในปริมาณ 0.30 mg/ml สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของ macrophage, เพิ่มจำนวนเซลล์ที่สร้าง IgA และเพิ่มปริมาณไซโตไคน์ชนิด IL-4, IL-6 และ IL-10 (Duarte, et al., 2006) นอกจากนี้ Yang, et al. (2009) ศึกษาเปปไทด์ขนาดเล็กที่ได้จากปลา Chum Salmon (MOP) ในหนูสายพันธุ์ ICR โดยให้หนูได้รับสาร MOP ในปริมาณ 0.22, 0.45 และ 1.35 g/kg/BW

ทาง intragastric เป็นเวลา 4 สัปดาห์และทดสอบการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ splenic lymphocyte พบว่า ลิมโฟไซต์ของหนูกลุ่มที่ได้รับสาร MOP มีความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีความสามารถในการทำงานของ NKcell และการหลั่งไซโตไคน์ชนิด IL-2, IFN-γ, IL-5 และ IL- 6 เพิ่มขึ้นในหนูกลุ่มที่ได้รับ MOP นี้ด้วย

3.2 หอยทะเล (shell fish)

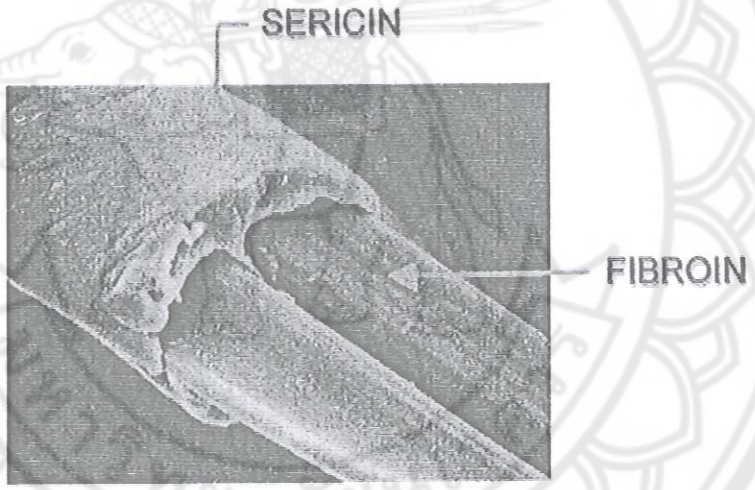
Wang, et al. (2010) ทำการทดสอบฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของโปรตีนจากหอย *Crassostrea gigas* ซึ่งผ่านการ hydrolysis ด้วยเอนไซม์โปรตีเอส ในหนูสายพันธุ์ BALB/c โดยการเหนี่ยวนำให้หนูเป็นมะเร็งด้วยการฉีด Sarcoma S-180 ก่อนหลังจากนั้น จึงให้หนูได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทในปริมาณ 0.25, 0.5 และ 1 mg/g BW ทางปากภายหลังจากหนูได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจาก *C. gigas* นาน 14 วัน พบว่า ก้อนของเซลล์มะเร็งมีขนาดเล็กลงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น โดย macrophage ของหนูดังกล่าว มีดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม ซึ่งได้แก่ เม็ดเลือดแดงจากไก่ (chicken erythrocyte) เพิ่มมากขึ้นนอกจากนั้นยังพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจาก *C. gigas* มีฤทธิ์เสริมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ และยังทำให้การทำงานของ NK cell มีประสิทธิภาพมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งแต่ไม่ได้รับสารโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหอย *C. gigas*

3.3 สาหร่ายทะเล (seaweed)

สาหร่ายจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้เป็นการใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์เพื่อผลิตชีวมวล (Morris, et al., 2009) สาหร่ายจึงเหมาะในการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนในเชิงพาณิชย์ เช่น อาหารเสริมสุขภาพ (food supplement) มีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสทจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* มาทำการทดสอบฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันในหนูสายพันธุ์ BALB/c เพศเมีย อายุ 8 สัปดาห์ โดยทำให้หนูอยู่ในภาวะอดอาหารก่อนเป็นเวลา 3 วัน และศึกษาการฟื้นกลับคืนของระบบภูมิคุ้มกันของหนู เมื่อได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากสาหร่าย Chlorella (Cv-PH) พบว่า การที่หนูได้รับ Cv-PH ปริมาณ 500 mg/kg BW เป็นระยะเวลา 8 วันนี้นอกจากจะมีปริมาณ macrophage ที่เพิ่มขึ้นแล้ว ความสามารถในการทำงาน ซึ่งวัดจากปริมาณของเอนไซม์ acid phosphatase ใน macrophage ก็เพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่อดอาหารแต่ไม่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากสาหร่าย Chlorella (Cv-PH) อีกทั้งโปรตีนไฮโดรไลเสทจากสาหร่ายยังมีฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองโดยการสร้างแอนติบอดีแบบ T-dependent และทำให้เกิดการตอบสนอง delayed-type hypersensitivity (DTH) ได้อีกด้วย (Morris, et al., 2007)

โปรตีนจากรังไหม

โปรตีนธรรมชาติที่ได้จากรังไหมประกอบด้วย ซิริซินประมาณ 25-30% และไฟโบรอินประมาณ 70-75% โดยซิริซินทำหน้าที่เสมือนกาวปกป้องและห่อหุ้มเส้นใยไฟโบรอินที่อยู่ข้างใน (ภาพ 1) ให้มีความแข็งแรงทำให้ยึดเหนี่ยวเส้นใยไฟโบรอินให้คงสภาพรังไหมไว้ได้ (Sonjui, et al., 2009) สามารถพบซิริซินได้ทั้งในเส้นไหมสีเหลืองทอง และเส้นไหมสีขาวในเส้นไหมสีเหลืองทองจะมีโปรตีนซิริซินสูงถึง 38% ในขณะที่เส้นไหมสีขาวพบซิริซินได้ประมาณ 20-25% (Sonthisombat and Speakman, 2004) ซิริซินเป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 10–300 kDa ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันทางเคมี (functional group) จำพวกกลุ่มไฮดรอกซิล (hydroxyl group) กลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl group) และกลุ่มอะมิโน (amino group) ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงและส่งผลให้มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลสูง (Zhang, 2002)



ภาพ 2 ส่วนประกอบของเส้นไหม

ที่มา: http://www.dermasolutionshop.com/index

ในซิริซินประกอบไปด้วยกรดอะมิโนถึง 17 ชนิด ดังแสดงในตาราง 1 โดยชนิดที่พบมากได้แก่ เซอรีน (serine) และไกลซีน (glycine) ซึ่งมีประมาณ 31 % และ 19.1 % ตามลำดับ

ตาราง 1 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนซิริซิน

ชนิดของกรดอะมิโนที่พบในซิริซิน	Molar percent
Asp	17.8
Thr	8
Ser	31
Glu	4.4
Pro	0.4
Gly	19.1
Ala	3.8
Cys	< 0.05
Val	3.1
Met	< 0.05
Ile	0.4
Leu	0.8
Tyr	3.3
Phe	0.2
His	1.0
Lys	2.7
Arg	3.9

ที่มา: Kato, et al., 1998

ในอุตสาหกรรมการผลิตผ้าไหม จะมีการกำจัดน้ำเสียซึ่งมีส่วนประกอบของไฟโบรอิน (75–83%) และซิริซิน (17–25%) ออกของเสียเหล่านั้นในประเทศไทย มีปริมาณสูงถึง 36.6 ตัน ในทุกๆ ปี (Prommuak, et al., 2008) ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมหากขาดการบำบัดที่ถูกวิธี อย่างไรก็ตามมีการศึกษาวิจัยมากมายที่ระบุว่า ซิริซิน ซึ่งเป็นของไม่มีประโยชน์จากอุตสาหกรรมการผลิตผ้าไหม กลับมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย อาทิเช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Rajendran, et al., 2011) และต้านอนุมูลอิสระ (Kato, et al., 1998) ป้องกันมะเร็ง (Zhaorigetu, et al., 2001) และช่วยลดคอเลสเตอรอล (Limpeanchob, et al., 2010) เป็นต้น

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของซิริซิน

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacterial activity)

Rajendran, et al. (2011) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซิริซิน จากไหมสายพันธุ์ *Bombyx mori* โดยทำการสกัดซิริซินด้วยเอทานอล แล้วนำสารสกัดซิริซินที่ได้มาเคลือบบนผ้า cotton และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* และแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี agar diffusion พบว่า ซิริซินสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้โดยการเกิดโซนใส (inhibition zone) ขนาด 28 mm และ 30 mm ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าซิริซินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบดังกล่าว

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

มีการศึกษาวิจัยหลายฉบับที่บ่งชี้ว่า ซิริซินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Kato, et al. (1998) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของซิริซินในหลอดทดลอง โดยใช้เซลล์สมองของหนูสายพันธุ์ Wistar เพศผู้มาปั่นละเอียด (homogenized) แล้วนำมาบ่มในสภาวะที่มีซิริซิน หรือไม่มีซิริซิน เมื่อครบเวลานำมาวิเคราะห์หาปริมาณ lipid peroxidation ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) และวิธี conjugated diene พบว่า ซิริซินปริมาณ 0.3% สามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ในเซลล์สมองของหนูเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่บ่มเซลล์สมองร่วมกับ bovineserum albumin (BSA) แทนซิริซิน และเมื่อทดสอบการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนสในการเปลี่ยนสารตั้งต้นจาก dihydroxyphenylalanine ไปเป็น dopachrome พบว่า ซิริซินปริมาณ 0.5% และ 1.0% สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ซึ่งเอนไซม์นี้ทำให้เกิดการสร้างของเมลานินและทำให้ผิวพรรณหมองคล้ำไม่สดใส (มานิตา หาญพานิชเจริญ, 2546)

ฤทธิ์ในการรักษาความชุ่มชื้นและลดริ้วรอย (skin moisturizer และ antiwrinkle activity)

เนื่องจากซิริซินประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดเซอรีนมากที่สุดในธรรมชาติเซอรีนเป็นกรดอะมิโนที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาความชุ่มชื้น ดังนั้นซิริซินจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารรักษาความชุ่มชื้น (skin moisturizer) และสารลดริ้วรอย (antiwrinkle agent) Padamwar, et al. (2005) ทำการทดลองที่สนับสนุนคุณสมบัติในการรักษาความชุ่มชื้นของซิริซินเจลพบว่าซิริซินเจลทำหน้าที่เก็บรักษาความชุ่มชื้น โดยช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากผิวหนัง (excessive transepidermal water loss) และเมื่อประเมินรอยแตกของผิวหนังด้วยเทคนิคscanning electron microscope (SEM) ก็พบว่า ซิริซินสามารถลดรอยแตกของผิวหนังเมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังปกติที่ไม่ได้รับซิริซิน

ฤทธิ์ในการลดไขมัน (lipid reduction effects)

การเพิ่มระดับของคลอเลสเตอรอลในเลือดเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางหลอดเลือดได้ มีการศึกษาฤทธิ์ของซิริซินในการลดคลอเลสเตอรอลในเลือด ในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley **เพศผู้ (น้ำหนักเฉลี่ย** 200-250 g) **โดยให้หนูได้รับสารอาหารที่มีคลอเลสเตอรอลสูงทุกวัน** ทาง intragastric **เป็นเวลา** 14 **วันพร้อมทั้งได้รับซิริซินทุกวันในปริมาณ** 10, 100, 1000 mg/kg BW ผลการศึกษาพบว่า หนูที่ได้รับสารอาหารที่มีคลอเลสเตอรอลสูงและให้ซิริซิน (10, 100, 1000 mg/kg BW/day) ควบคู่ไปด้วยจะมีปริมาณ total serum cholesterol ลดลงการศึกษาใน หลอดทดลอง (*in vitro*) ก็พบว่า ซิริซินที่ความเข้มข้น 25 และ 50 µg/ml สามารถยับยั้ง cholesterol uptake ใน Caco-2 cells ได้ถึง 30% และเมื่อศึกษาการละลายของ cholesterol micellar ก็ยังพบว่า cholesterol micellar สามารถละลายได้น้อยลงเมื่อมีซิริซินผลการศึกษา เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของซิริซินในการลดระดับคลอเลสเตอรอล (Limpeanchob, et al., 2010) สอดคล้องกับงานวิจัยอีกฉบับที่ทำการศึกษาในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley ซึ่งพบว่าซิริซินไม่เพียงแต่ลดระดับคลอเลสเตอรอล แต่ยังลดค่าไตรกลีเซอไรด์ phospholipids และกรดไขมันอื่นๆ นอกจากนี้ การได้รับซิริซินยังส่งผลลดปริมาณ low density lipoprotein (LDL) ซึ่งการมีไขมันชนิดนี้ มีความสัมพันธ์ชัดเจนกับการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ซิริซิน จึงนับเป็น สารที่มีคุณประโยชน์ในการช่วยลดไขมันในเลือดได้ (Okazaki, et al., 2010)

ฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็ง (cancer prevention)

ซิริซินเป็นโปรตีนมีลักษณะเป็นกากใย (fiber) การบริโภคกากใยนั้นเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า ช่วยลดอุบัติการณ์ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ ได้มีการทดลองเพื่อยืนยันว่า ซิริซินมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยทำการทดสอบในหนู CD-1 เพศผู้ โดยให้ซิริซินแก่หนูปริมาณ 30 g/kg BW ทุกวันเป็นเวลา 115 วัน และทำการให้สาร 1,2 dimethylhydrazine (DMH) เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ ในหนู สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตั้งแต่สัปดาห์แรกที่ให้ซิริซินจนถึงสัปดาห์ที่ 10 จากนั้นทำการวัด การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งที่แยกได้จากลำไส้ใหญ่ (colonic cell) พบว่า หนูที่ถูก เหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ เมื่อได้รับซิริซินจะมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ลดน้อยลงและยังพบว่าการแสดงออกของยีน *c-myc* และ *c-fos* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด มะเร็งลดลง นอกจากนี้จากการศึกษาค่าของ 8-hydroxydeoxy-guanosine (8-OHdG) กับ 4-hydroxynonenal (4-HNE) ซึ่งเป็น marker ของ oxidative stress ก็พบว่า การได้รับซิริซิน ยังสามารถยับยั้ง 8-OHdG และ 4-HNE ได้อีกด้วยผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ซิริซินสามารถ ยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยไปลด oxidative stress การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง และยับยั้งการสร้าง inducible nitric oxide synthase (iNOS) (Zhaorigetu, et al., 2001)

ฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunological effects)

ด้วยคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลายของโปรตีนไหม ทำให้โปรตีนไหมถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ รวมไปถึงการนำโปรตีนในไหมอย่างซิริซิน ไปใช้ประโยชน์เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอาง อย่างไรก็ตาม การกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น การก่อให้เกิดการอักเสบ รวมถึงการเกิดภาวะภูมิแพ้ต่อโปรตีนซิริซิน อาจนำมาซึ่งข้อจำกัดในการนำซิริซินไปใช้ประโยชน์ดังกล่าว จึงมีการศึกษาผลของซิริซินต่อการสร้าง proinflammatory cytokine ชนิด TNF-α จาก alveolar macrophage cell line (NR 8383) และ mouse monocyte cell line (J774.2) ในสภาวะที่มี Lipopolysaccharide และพบว่า ซิริซินมีฤทธิ์เสริมการสร้าง TNF- α ในเซลล์ทั้งสอง (Panilaitis, et al., 2003) ถึงกระนั้นก็ตามจากงานวิจัยโดย Aramwit, et al. (2009) ซึ่งทำการศึกษาบทบาทของซิริซินต่อการสร้างไซโตไคน์ชนิด TNF-α (Tumor necrosis factor-alpha) และ IL-1β จาก cell line ทั้งสองข้างต้น และพบว่าซิริซินนั้นสามารถกระตุ้นให้เซลล์ NR 8383 และ J774.2 มีการสร้าง TNF-α และ IL-1β ในปริมาณ 500 และ 350 pg/ml ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณไซโตไคน์ที่หลั่งออกมานี้เป็นปริมาณที่น้อยกว่า 100 ng/ml ซึ่งเป็นปริมาณที่ได้มีรายงานก่อนหน้านี้ว่า ไม่มีความเป็นพิษ และไม่น่าจะก่อให้เกิดการอักเสบได้อีก การศึกษาหนึ่งที่ศึกษาฤทธิ์ของซิริซินต่อภูมิคุ้มกันในหนูสายพันธุ์ Sprague Dawley ที่ได้รับไขมันในปริมาณสูง และได้รับซิริซินปริมาณ 40 g/kg BW ทำการทดลอง 3 สัปดาห์ โดยทุกสัปดาห์ทำการเก็บอุจจาระเพื่อหาปริมาณ Immunoglobulin A (IgA) ด้วยวิธี ELISA และเก็บเลือดจากหนูทาง abdominal aorta เพื่อหาค่าไขมันชนิดต่างๆ ในเลือด พบว่า นอกจากซิริซินจะมีผลช่วยลดไขมันและคลอเลสเตอรอลแล้ว ซิริซินยังมีฤทธิ์เพิ่ม IgA ในอุจจาระเป็นดัชนีบ่งบอกถึงซิริซินมีฤทธิ์เพิ่มระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้ (Okazaki, et al., 2011)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของซิริซินไฮโดรไลเสท

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

โปรตีนไหมถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาต่อมาภายหลังมีรายงานการวิจัยที่นำซิริซินมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase, trypsin, neutrase, bromelin, papain และ flavourzyme ให้ได้เป็นซิริซินไฮโดรไลเสทแล้วนำมาศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging พบว่า ซิริซินไฮโดรไลเสทดังกล่าวสามารถ scavenge ABTS และ DPPH ได้ (Fan, et al., 2010) งานวิจัยอีกฉบับหนึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของซิริซินไฮโดรไลเสท ที่ได้มาจากการย่อยซิริซินด้วยเอนไซม์โปรตีเอส P (ภายใต้สภาวะ pH

เท่ากับ 8.40 อุณหภูมิ 43.97 °C และมีอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้นเท่ากับ 3:100) โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 250-4000 Da ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของซิริซินไฮโดรไลเสทด้วยวิธี reducing power assay และทดสอบการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนสในการเปลี่ยนสารตั้งต้นจาก dihydroxyphenylalanine ไปเป็น dopachrome ผลการศึกษาพบว่า ซิริซินไฮโดรไลเสทที่ความเข้มข้น 10 mg/ml สามารถยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้มากกว่า 50 % แสดงให้เห็นว่าซิริซินไฮโดรไลเสทมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Wu, et al., 2008)

ฤทธิ์ต้านเบาหวาน (antidiabetic)

ฤทธิ์ของโปรตีนไฮโดรไลเสท E5K6 ซึ่งได้มาจากการย่อยโปรตีนรังไหมด้วยเอนไซม์โปรตีเอส-N (ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 53-55 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง) ต่อการลดระดับน้ำตาล และค่าไขมันในเลือด (lipid profile) ถูกศึกษาในหนูสายพันธุ์ C57BL/KsJ-db/db ซึ่งเป็นหนูเบาหวานเนื่องจากมีการกลายพันธุ์ (mutation) ของยีน leptin receptor หนูดังกล่าวจะได้รับ E5K6 ปริมาณ 0.1 และ 0.2 g/kg BW วันละหนึ่งครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในการทดลองนี้มีหนูกลุ่มควบคุม ซึ่งได้รับน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว ภายหลังจากหนูได้รับสารครบในแต่ละสัปดาห์ หนูทุกกลุ่มจะถูกเก็บเลือดที่หางเพื่อนำมาหาระดับน้ำตาล และไขมันในเลือด (lipid profile) พบว่า หนูที่ได้รับE5K6 ปริมาณ 0.1 และ 0.2 g/kg BW มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลง และมีระดับอินซูลินในเลือดเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้พบว่า E5K6 ที่หนูได้รับปริมาณ 0.2 g/kg BW สามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลและไขมันชนิด low-density lipoprotein ได้อีกด้วย (Jung, et al., 2010)