บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

โซมาโตสะแตติน (somatostatin, SRIF) หรือ growth hormone-inhibiting hormone เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนมีกรดอะมิโน 14 ตัวเป็นองค์ประกอบ (S-14) มีมวลโมเลกุล 1,637.9 ดาลตัน (ภาพที่ 1) โซมาโตสะแตตินยังมีผลไปยับยั้งการหลั่งสารในระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) ระบบย่อยอาหารและการทำหน้าที่ของระบบประสาท. ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว SRIF มีผลไปยับยั้ง growth hormone (GH) หรือ somatotropic hormone (STH) และ thyroid stimulating hormone (TSH) อินซูลิน (insulin) และ กลูคากอน (glucagon) (Bass *et al.*, 1987) เซลล์ที่สังเคราะห์โซมาโตสะแตตินอยู่ใน periventricular nucleus เหนือ optic chiasm ส่วนปลายประสาทอยู่ทั่วไปในรอบนอกของมีเดียนเอมิเนนส์

โซมาโตสะแตติน ที่พบในสมองส่วนใหญ่เป็นชนิด S-14 ส่วนที่พบในระบบย่อยอาหารเป็นชนิดที่มีกรดอะมิโน 28 ตัว (S-28) สำหรับชนิดที่พบในสมองทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนจากระบบประสาท (neurohormone) ที่แท้จริงคือสังเคราะห์ในเซลล์ประสาทแล้วถูกหลั่งเข้าสู่กระแสเลือดในมีเดียนเอมิเนนส์เพื่อไปมีผลยับยั้งเซลล์ที่หลั่ง STH ในต่อมใต้สองส่วนหน้า ส่วน S-28 ที่พบในลำไส้หรือตับอ่อน มักทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงหรือพาราไครน์ (paracrine) มากกว่า คือมีผลต่อเซลล์ข้างเคียง และมีผลแบบออโตไครน์ต่อเซลล์ที่หลั่งตัวเองอีกด้วย เนื่องจากโซมาโตสะแตตินมีอยู่หลายแหล่งในร่างกายจึงมีหน้าที่ต่างๆ กันแล้วแต่ออกฤทธิ์ที่ระบบไหน ดังตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าโซมาโตสะแตตินมีผลเป็นแบบยับยั้งไม่ว่าที่อวัยวะเป้าหมายใด

การสังเคราะห์โซมาโตสะแตติน เริ่มต้นจากพรีโพรโซมาโตสะแตติน (preprosomatostatin) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 116 หน่วย โดยมีโมเลกุลของโซมาโตสะแตติน อยู่ทางปลายสุดด้านคาร์บอกซิล (carboxyl terminal) ของส่วนที่เรียกว่าพรีรีเจี่ยน (pre-region) โดยจากพรีโพรโซมาโตสะแตติน ถูกสังเคราะห์ในเอ็นโดพลาสมิคเรติคูลัม (endoplasmic reticolum) ของเซลล์ประสาทและ อีพิทีเรียลเซลล์ (epitherial cells)

การควบคุมการหลั่งโซมาโตสะแตตินจากไฮโปธาลามัส Sheppard *et al.* (1979) พบว่าเมื่อซับสแตนท์-พี (substance P) และนิวโรเทนซิน (neurotensin) สูงขึ้นในหนูตัวใหญ่ (rat) จะมีการหลั่งโซมาโตสะแตตินจากไฮโปธาลามัสสูงขึ้น และ STH ลดลง Abe *et al.* (1978) พบว่าการฉีด กูลคากอน (glucagon) เข้าเส้นเลือดดำในหนูตัวใหญ่ ทำให้ระดับของโซมาโตสะแตตินในพลาสม่าสูงขึ้น Iversen *et al.* (1978), Patel *et al.* (1978) พบว่าในหนูตัวใหญ่ระดับของ K^+ ที่สูงขึ้นมีผลทำให้

การหลั่งโซมาโตสะแตตินจาก neurohypophysis และ stalk median eminence สูงขึ้น แต่ถ้าปราศจาก Ca^{2+} ระดับของ K^{+} ที่สูงก็จะไม่มีผลต่อการหลั่งโซมาโตสะแตติน

ตารางที่ 1. ฤทธิ์ของโซมาโตสะแตตินต่อระบบฮอร์โมน และ exocrine secretions

Endocrine	Nonendocrine
ยับยั้งการหลั่ง	ยับยั้งการหลั่ง
STH	gastric acid secretion
TSH	gastric emtrying rate
ACTH	pancreatic exocrine funtion
	Volume, electrolyte, and enzyme content
	Gallbladder contraction
Gastrin	intestinal motility
CCK	intestinal absorption of nutrients
Secretin	splanchnic blood flow
VIP	liver metabolism
GIP	renal water reabsorption
Insulin, glucagon, GHRH	activity of some CNS neurons

ที่มา: อรวรรณ (2537)

ผลของโซมาโตสะแตตินกับ STH

จากตารางที่ 1 และภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าโซมาโตสะแตตินมีผลโดยตรงไปยับยั้งการหลั่ง STH จากต่อม pituitary gland โดย Makoto *et al.* (1988) ได้ศึกษาผลของโซมาโตสะแตตินในหนูพันธุ์ Wistar ตัวผู้โดยการเพาะเลี้ยง anterior pituitary ร่วมกับโซมาโตสะแตตินพบว่าการหลั่ง STH น้อยกว่ากลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ GRF และจากงานทดลองของ Brazeau *et al.* (1973) พบว่าฉีดโซมาโตสะแตติน 10 ไมโครกรัมให้หนูตัวโตทำให้ระดับของ STH ในพลาสม่าลดลง และ Turner and Tennenbaum (1995) ได้ฉีดโซมาโตสะแตติน 25 และ 50 ไมโครกรัมให้หนูพันธุ์ Sprague-Dawley พบว่าระดับ STH ในพลาสม่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

ผลของโซมาโตสะแตตินในด้านอื่น

โซมาโตสะแตตินมีผลต่อระบบต่างๆ ในร่างกายหลายระบบ ดังรายงานการศึกษาของ Bryce *et al.* (1975) โดยการฉีดโซมาโตสะแตติน 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวให้แกะตัวผู้พบว่า STH อินซูลิน กูลคากอล และกูลโคสในพลาสม่าลดลง และจากงานทดลองของ Davis (1975) ได้ฉีดโซมาโตสะแตติน 250 ไมโครกรัม ให้แกะตัวเมียพบว่า ระดับของ STH โปรแลคติน (prolactin) ไทรอยด์สติมูเลติงฮอร์โมน (thyroid stimulating hormone) ในพลาสม่าลดลง

Somatotropic hormone (STH)

STH สร้างจากเซลล์ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (pars distalis) มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าโซมาโตโทรปิน (somatotropin หรือ somatotropic hormone, STH) เดิมมีการสกัดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองคนตายใหม่ ๆ มารักษาผู้ป่วยที่ขาด STH แต่ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ STH จากวิธีการ recombinant DNA สามารถนำมาใช้ในทางคลินิกได้

STH เป็นเปปไทด์ มีน้ำหนักโมเลกุล 21,500 ดาลตัน ประกอบด้วย กรดอะมิโน 191 ตัว ในสารสกัดจากต่อมใต้สมองคน พบ STH ที่มีกรดอะมิโนน้อยกว่านี้ ค่าครึ่งชีวิตของ STH ในเลือดนานประมาณ 20-50 นาที การหลั่ง STH ลดลงตามวัย ในชายวัยหนุ่มการหลั่ง STH ลดลงตามวัย ในชายวัยหนุ่มการหลั่ง STH มีค่าประมาณ 550 ไมโครกรัม/วัน แต่เมื่อวัยกลางคนลดลงเหลือประมาณ 200 ไมโครกรัม/วันการควบคุมการหลั่ง STH เกิดขึ้นตลอดวันเป็นการหลั่งพื้นฐาน (basal secretion) ปริมาณการหลั่ง STH เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 70 ของปริมาณการหลั่งฮอร์โมนทั้งวันเมื่อเวลา 30-60 นาที หลังการหลับ (ขั้น 3 หรือขั้น 4) ลักษณะการหลั่งเป็น diurnal rhythm เช่นเดียวกับการหลั่งโปรแลกติน ระดับ STH ในพลาสมาทารกแรกเกิดสูง 180 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แล้วลดลงภายใน 2-3 สัปดาห์ต่อมา อัตราการหลั่ง STH เพิ่มขึ้นสูงเมื่อเข้าสู่วัยรุ่นโดยสูงกว่าระยะก่อนเข้าสู่วัยรุ่น 7 เท่า ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการหลั่ง STH คือ โซมาโตสะแตตินและจีอาร์เอช (GRH, growth hormone stimulating hormone) ที่สร้างจากไฮโปทาลามัส (รูปที่ 2) นอกจากนี้มีปัจจัยอื่นมีผลต่อการหลั่ง STH (ตารางที่ 2) สารออกฤทธิ์คล้ายแคทีโคลามีน (cathe colamine) ที่จับกับตัวรับแอลฟา คือ clonidine มักถูกนำมาใช้กระตุ้นให้ต่อมใต้สมองหลั่ง STH

ผลทางสรีระวิทยาของ STH

STH ต่อการเจริญเติบโต

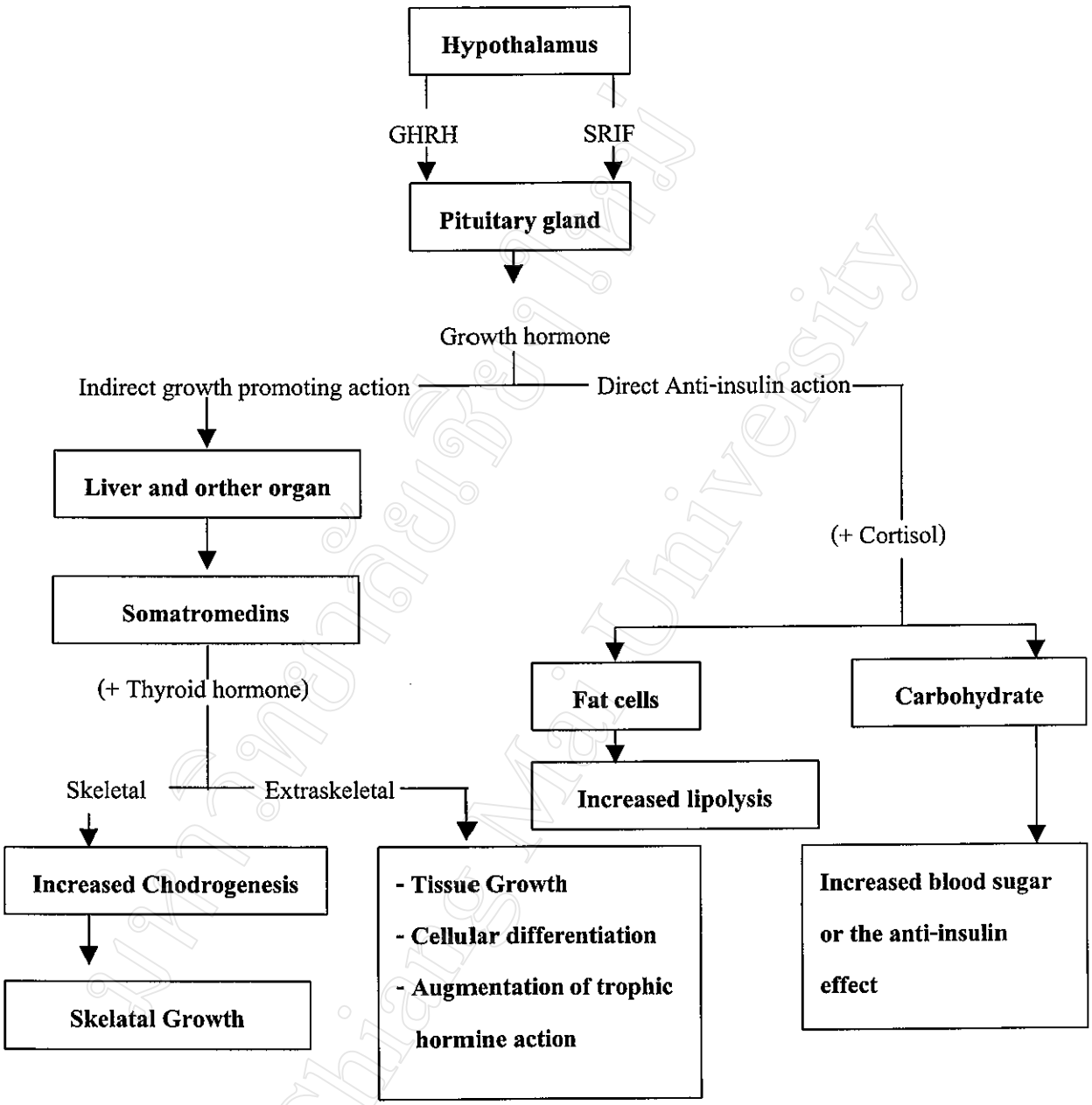
STH มีผลเด่นในการกระตุ้นการเติบโตหลังการคลอด การออกฤทธิ์กระตุ้นการเติบโตโดยเฉพาะที่กระดูกต้องอาศัยตัวกลาง (mediator) คือ โซมาโตมีดินซี (somatomedin C) หรือที่เรียกอีกชื่อว่าไอจีเอฟ-1 (IGF-I)

ตารางที่ 2. แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการหลั่ง somatotropic hormone

ปัจจัยที่เกี่ยวกับ	ผลกระตุ้น	ผลยับยั้ง
ระบบประสาท (Neurogenic)	การหลับขั้น 3, 4	การหลับขั้น REM*
	ความเครียด	ผลกระทบทางอารมณ์
	α adrenergic agonist	α adrenergic antagonist
	β adrenergic antagonist	β adrenergic agonist
	Acetylcholine agonist	Acetylcholine antagonist
	Dopamine agonist	
Metabolism	การลดระดับกลูโคสในเลือด	การเพิ่มระดับกลูโคสในเลือด
	การอดอาหาร	โรคอ้วน (Obessity)
	การลดระดับกรดไขมันในเลือด	การเพิ่มระดับกรดไขมันในเลือด
	ภาวะเบาหวานที่ควบคุมไม่ได้	
ฮอร์โมน	GRH	SRIF
	การละระดับ IGF-I	การเพิ่มระดับ IGF-I
	Estrogen	ต่อมไทรอยด์ทำงานน้อย
	Glucagon	การเพิ่มระดับ cortisol
	AVP (arginine vasopresin)	

ที่มา: อรวรรณ (2537)

* Rapid Eye Movement



ภาพที่ 2. แผนภาพผลทางสรีระวิทยาของ STH ผลกระตุ้นการเติบโตจัดเป็นผลทางอ้อม และผลต่อเม ตาบอลิซึมที่เป็นผลทางตรง (อรวรรณ, 2537).

กล่าวมาแล้วนอกจากนี้การออกฤทธิ์ของ STH ยังต้องการ permissive effect จากไทรอยด์ฮอร์โมน ด้วย ไอจีเอฟ-1 มีลำดับกรดอะมิโนเหมือนกับโปรอินซูลิน จึงสามารถจับกับตัวรับอินซูลินที่เซลล์เมมเบรนได้ (เกิด crossover) และอินซูลินเองก็จับกับตัวรับไอจีเอฟ-1 ได้เช่นกัน เซลล์ร่างกายเด็กมีความไวต่อการตอบสนองฤทธิ์ของไอจีเอฟ-1 มากกว่าเซลล์ผู้ใหญ่ ในเด็กที่ต่อมใต้สมองทำงานลดลง ระดับไอจีเอฟเพิ่มขึ้นหลังการให้ STH 6-8 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นไปได้นาน 16-28 ชั่วโมงต่อมา

Holder *et al.* (1980) พบว่าการฉีด bovine STH ให้แก่หนู ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ทุกวันเป็นเวลา 3 วันทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้น และมีการนำ SO_4^{2-} เข้ากระดูกอ่อน (cartilage) มากขึ้น เพื่อนำไปเป็นโครงสร้างของกระดูก

Chung *et al.* (1985) ได้ฉีด porcine STH ให้แก่สุกรเพศผู้ แล้วพบว่าอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น 4 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีการเจริญของกระดูกอ่อน (cartilage) และกล้ามเนื้อมากขึ้น

ผลของเพศต่อการหลั่ง STH และการเจริญเติบโต

โดยทั่วไปพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของเพศผู้จะสูงกว่าเพศเมีย ทั้งน้ำหนักตัวและรูปร่าง จึงได้มีการศึกษาของ Painson and Tannenbaum (1991) โดยฉีด GRF ปริมาณ 1 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัวให้หนูพันธุ์ Sprague dawley พบว่าหนูเพศผู้ตอบสนองต่อ GRF ดีกว่าเพศเมีย จากงานทดลองของ Birge *et al.* (1967) ได้ทดลองในหนูพันธุ์ Sprague dawley พบว่าหนูตัวผู้ที่โดนตัดอัณฑะมีน้ำหนักน้อยกว่าหนูกลุ่มที่ไม่โดนตัดอัณฑะ แต่ในหนูตัวเมียที่โดนตัดมดลูกมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกลับหนูกลุ่มที่ไม่โดนตัดมดลูก หนูตัวผู้ที่โดนตัดอัณฑะเมื่อได้รับการฉีดเอสโตรเจนมีน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มที่โดนตัดอัณฑะแต่ไม่ได้รับเอสโตรเจน แต่เมื่อได้รับการฉีดเทสโทสเตอโรนพบว่าน้ำหนักเพิ่มขึ้น และพบว่าหนูที่ได้รับเอสโตรเจนมี STH น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ และหนูตัวเมียที่โดนตัดมดลูกมี STH หลั่งเพิ่มมากขึ้น และจากงานทดลองของ Burek and Frohman (1970) ได้ศึกษาการหลั่ง STH จาก pituitary gland *in vitro* พบว่าหนูตัวใหญ่เพศผู้มีการหลั่ง STH มากกว่าเพศเมีย และจากงานทดลองของ Frantz and Rabkin (1965) ได้ทำการศึกษาในผู้หญิงพบว่าในวันที่มีการตกไข่ (ovulation) ระดับของ STH ลดลง

ผลของ STH ต่อการเจริญของกระดูก

การกระตุ้นการเจริญเติบโตของกระดูกโดย STH นั้น อาศัยตัวกลางคือ IGF-I (insulin-like growth factor-I) ที่สร้างจากตับและเซลล์กระดูกอ่อนเอง เพื่อเร่งการสร้างคอลลาเจน (collagen) ให้เป็น bone matrix ในกระดูกแข็ง และเร่งการสร้าง epiphyseal chondrocytes สำหรับการเจริญของ

กระดูกอ่อนที่ปลายกระดูกยาว (epiphysial plate) ส่วน STH นั้นจะมีฤทธิ์ทางตรงไปกระตุ้นการเจริญของ longitudinal bone โดยกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของ epiphyseal growth plate precursor cells และฤทธิ์ทางอ้อมจะไปเพิ่มการตอบสนองต่อ IGF-I และเพิ่มปริมาณของ IGF-I เพื่อกระตุ้นการขยายตัวและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ chondrocyte (Olle *et al.*, 1987) ดังนั้นการวัดการเจริญของกระดูกอ่อนที่ปลายกระดูกยาว (tibia test) จึงเป็นการวัดผลของ STH ทางตรงวิธีหนึ่ง (Ailabouni *et al.*, 1966)

Schally *et al.* (1968) พบว่าเมื่อให้ porcine growth hormone releasing factor (pGRF) แก่สุกรพบว่ามีการหลั่งของ STH สูงขึ้น และมีผลทำให้ความยาวของกระดูกอ่อนที่ปลายกระดูกยาวเพิ่มมากขึ้น

ผลของ STH ต่อปริมาณไขมัน

จากภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ทางตรงของ STH ทำให้ขบวนการย่อยสลายไขมัน (lipolysis) ในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจากงานทดลองของ Smith and Kasson (1990) ได้ทำการฉีด recombinant porcine somatotropin (rpSt) ให้กับสุกรลูกผสมพบว่าสุกรมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) แต่การเจริญลดลงเมื่อหยุดฉีด rpSt ไปแล้ว 10 วัน ($P<0.05$) ซากของสุกรที่ได้รับการฉีด rpSt มีเนื้อแดงมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่จะมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อหยุดการฉีด rpSt แล้ว 10 วัน ($p<0.05$) และพบว่าสุกรที่ได้รับ rpSt มีระดับ IGF-I สูงขึ้นด้วย

Harris *et al.* (1993) ได้ทำการฉีด porcine somatotropin (pST) ให้สุกรน้ำหนักประมาณ 77 กิโลกรัม พบว่าการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นไขมันลดลงเป็น 86 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยน กลูโคสเป็นคาร์บอนไดออกไซด์เหลือเพียง 79 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการสังเคราะห์ไขมันมีเพียง 79 เปอร์เซ็นต์ Lee *et al.* (1994) ได้ทดลองในสุกรตัวผู้และตัวเมีย โดยได้รับการฉีด pST 3 มิลลิกรัม/วัน พบว่าไขมันสันหลังลดลง blood urea nitrogen ลดลง ระดับของอินซูลิน และกูลโคสในพลาสม่าสูงขึ้น โดยผลการทดลองที่ได้คล้ายกับงานของ Evock-Clover *et al.* (1992)

Lee *et al.* (2000) ได้ทดลองในสุกรตัวผู้ โดยฉีด pST 4 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าไขมันสันหลังลดลง 43 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น 27 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการสังเคราะห์ไขมัน (lipogenesis) ลดลง 68 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 4 ของการทดลอง และลดลง 69 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของการทดลอง

Azain *et al.* (1992) ทำการฉีด pST 2 มิลลิกรัมต่อวันให้สุกร พบว่าไขมันสันหลังในสุกรตัวเมียลดลงมากกว่าสุกรตัวผู้ และ blood urea nitrogen ในสุกรเพศเมียก็มีน้อยกว่าเพศผู้ และ Etherton

et al. (1986) ได้ฉีด human GRF ให้แก่สุกรแล้วพบว่า ระดับของ STH ในพลาสม่าสูงขึ้น ทำให้ปริมาณไขมันสันหลังลดลง มวลของกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น คุณภาพซากดีขึ้น

ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโซมาโตสะแตตินต่อ STH

มีงานที่กระตุ้นการผลิตแอนติบอดีต่อ โซมาโตสะแตตินในร่างกายสัตว์โดย Arimura *et al.* (1975) เนื่องจากโซมาโตสะแตตินเป็นเพ็บไทด์ขนาดเล็ก (ภาพที่ 1) ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน จึงต้องทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นโดยการเชื่อม (conjugate) กับโปรตีนขนาดใหญ่ เช่น อัลฟ่าโกลบูลิน (α - globulin) จากซีรั่มของคน (Human serum α-globulin, HSG) จึงจะสามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อโซมาโตสะแตติน (anti-SRIF) ในกระต่ายได้ การวัดผลการทำงานของ anti-SRIF อาจทำได้โดยการสกัด anti-SRIF จากสัตว์ชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดแล้วฉีดเข้าเส้นเลือดให้สัตว์ตัวรับ (passive immunization, PI) หรือใช้แอนติเจนที่เตรียมเช่นเดียวกับงานของ Arimura *et al.* (1975) ฉีดกระตุ้นการสร้าง anti-SRIF ในสัตว์โดยตรง วิธีนี้เรียกว่า (active immunization, AI) ในการทำ PI ต่อ SRIF ในไก่เล็กฮอร์นเพศผู้อายุ 6 สัปดาห์ ทำให้ระดับฮอร์โมน STH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<.05$) (Harvey and Hall, 1987; Spencer *et al.*, 1986) และทำให้ระดับน้ำตาลกลูโคส (glucose), กรดไขมัน (fatty acid), และกรดอะมิโน (amino acid) ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมี นัยสำคัญ ($P<0.05$) (Hall *et al.*, 1986) นอกจากนี้มีรายงานการทำ AI ต่อต้านฮอร์โมนโซมาโต- สะแตตินใน ไก่กระทงสายพันธุ์ Ross-1 เมื่ออายุ 8, 22, และ 36 วัน ทำให้น้ำหนักตัวไก่เพิ่มขึ้น 15 % ($p<0.05$) (Spencer *et al.*, 1986) ส่วนการทดลองในแกะ การทำ AI ต่อต้านฮอร์โมนโซมาโตสะแตตินทำให้ระดับฮอร์โมน STH ในเลือดเพิ่มขึ้น (Varner *et al.*, 1980; Spencer *et al.*, 1983) และน้ำหนักตัวของสัตว์เพิ่มขึ้น (Spencer *et al.*, 1983; Chaplin *et al.*, 1984; Spencer *et al.*, 1986; Larrveld *et al.*, 1986) ดังนั้นการที่จะปรับปรุงไก่พื้นเมืองให้มีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้นอาจทำได้โดยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านฮอร์โมนโซมาโตสะแตติน ซึ่งจะทำให้ไก่พื้นเมืองมีการหลั่ง STH เพื่อมากระตุ้นการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง โดยปราศจากการยับยั้งจากฮอร์โมนโซมาโตสะแตติน

Lam *et al.* (1986) ได้ใช้ไก่พันธุ์เนื้อลูกผสมเพศผู้ ให้ passive immunized ต่อต้าน SRIF พบว่าสามารถเพิ่มระดับของฮอร์โมน thyroxine (T4) และ tri-iodothyronine (T3) ภายใน 10 นาทีหลังฉีด ส่วน Jacovidou and Patel (1987) ได้กระตุ้นภูมิคุ้มกันต้าน SRIF ในหนูตัวโตพบว่าระดับ STH ใน พลาสม่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (40.5 $\pm$ 3.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ 12.5 $\pm$ 1.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ, $P<0.01$) นอกจากนี้ Van Kessel *et al.* (1990) ได้กระตุ้นภูมิคุ้มกันต้าน SRIF ในแกะที่ตั้งท้องนาน 4 สัปดาห์ พบว่าลูกแกะจากแม่ที่ได้รับการทำภูมิคุ้มกันต้าน SRIF มีระดับ T3 ในพลาสม่ามากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และมีน้ำหนักหลังคลอดสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

กลไกการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจน

เนื่องจากโซมาโตสะแตตินเป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่มีขนาดเล็ก (ภาพที่ 1) โดยตามปกติแล้ว เมื่อโซมาโตสะแตตินเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ สัตว์จะไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมาต่อต้านได้ โซมาโตสะแตตินจึงไม่มีคุณสมบัติ immunogenicity คือความสามารถทางธรรมชาติที่จะชักนำให้เกิดการสร้างแอนติบอดี และ T lymphocyte ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจน หรือเรียกได้ว่า โซมาโตสะแตตินเป็นแฮบเทน (hapten) ดังนั้นเมื่อต้องการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโซมาโตสะแตตินจึงจำเป็นที่จะต้องทำให้ร่างกายสามารถเห็นโซมาโตสะแตตินเป็นแอนติเจน จึงต้องนำโซมาโตสะแตตินมาเชื่อม (conjugated) กับสารที่มีมวลโมเลกุลขนาดใหญ่ สารแปลกปลอม โปรตีน หรือโมเลกุลพาหะ (carier molecule) เช่น human serum albumin (HSA), bovine serum albumin (BSA), โปรตีนจากเลือดปู (Keyhole Limpets Hemocyanin, KLH)

การเปลี่ยนคุณสมบัติของโซมาโตสะแตตินให้เป็นแอนติเจน

Spencer and Garsen (1983) ใช้โซมาโตสะแตติน 2 มิลลิกรัม ละลายใน 2 มิลลิลิตรของ 0.1 % ของแอมโมเนียม อะซีเทรท (ammonium acetrate) ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.0 เติม 10 มิลลิกรัม ของ human serum albumin เติม 1.3 มิลลิลิตร ของ 0.02 M กูลตาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) เขย่าทิ้งไว้ 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จึงทำให้โซมาโตสะแตตินเปลี่ยนคุณสมบัติจากแฮปเทนกลายเป็นแอนติเจน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดการเปลี่ยนแฮบเทนให้มีคุณสมบัติของ immunogenicity คือเมื่อแฮปเทนมีมวลโมเลกุลมากกว่า 10,000 ดาลตัน จะเปลี่ยนคุณสมบัติทาง immunogenicity ได้ (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2530)

การทำให้โซมาโตสะแตตินเปลี่ยนคุณสมบัติจากแฮปเทนกลายเป็นแอนติเจน นอกจาก HAS แล้วสามารถที่จะเปลี่ยนโมเลกุลพาหะเป็นโปรตีนชนิดอื่นได้เช่น Magnan *et al.* (1995) ใช้ boine serum albumin เชื่อมกับโซมาโตสะแตติน หรือ Varner, Davis and Reeves (1980) ใช้ egg albumin เชื่อมกับโซมาโตสะแตติน

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อแฮปเทนเปลี่ยนคุณสมบัติเป็นแอนติเจนแล้วเข้าสู่ในร่างกายของสัตว์ (immunization) จะเกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันนั้นเรียกว่า immune response แบ่งออกได้ 2 วิธี (Abbas *et al.,* 1994) คือวิธีการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific or native immune response) เป็นการตอบสนองแบบง่ายๆ เกิดขึ้นเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอมเป็นครั้งแรกหรือทำงานร่วมกับระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ และวิธี

การตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immune response) เกิดขึ้นเมื่อร่างกายไม่สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นออกไปได้โดยวิธีไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งแบ่งการตอบสนองเป็นสองส่วนคือ humoral immunity (HMI) โดยใช้แอนติบอดีเป็นตัวกำจัดแอนติเจนแปลกปลอม มี B cells และ plasma cells เป็นผู้รับผิดชอบ และ cell mediated immunity (CMI) ตอบสนองโดยการทำหน้าที่ของ T cells เช่น Cytolytic T lymphocytes, natural killer cells และ phagocytes

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ (Abbas *et al.*, 1994) ดังนี้ ระยะที่หนึ่ง (cognitive phase) มีการจับกันระหว่างแอนติเจนกับตัวรับที่มีความจำเพาะเจาะจงของลิมโฟซัยท์ที่เจริญเต็มที่ โดยที่ B lymphocytes จะปล่อยแอนติบอดีออกมาสู่ผิวหน้าของเซลล์และสามารถจับกับอนุภาคแปลกปลอม โพลีแซคคาไรด์ หรือไขมันในรูปที่ละลายน้ำได้ ส่วน T lymphocytes ที่มีคุณสมบัติในการยอมรับลำดับของเปปไทด์ที่สั้นๆ ของแอนติเจน ที่เป็นโปรตีน และยิ่งกว่านั้น T lymphocytes ที่มีคุณสมบัติในการยอมรับและตอบสนองต่อแอนติเจนที่เป็นเปปไทด์จะไปแสดงบนผิวหน้าของเซลล์อื่นๆ ด้วย ระยะที่สอง (activation phase) เป็นลำดับของเหตุการณ์ต่อมาของการเกิดการเหนี่ยวนำลิมโฟซัยท์ด้วยแอนติเจนที่จำเพาะเจาะจง ลิมโฟซัยท์จะมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญสองประการ คือ เกิดการแบ่งตัว (proliferation) มีการขยายจำนวน ของลิมโฟซัยท์ที่จำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจน และขยายการป้องกัน (amplification) ให้มากขึ้น และลิมโฟซัยท์จะพัฒนาจากเซลล์ที่มีหน้าที่ยอมรับ (recognition) ไปสู่เซลล์ที่มีหน้าที่กำจัดแอนติเจน จากนั้น B lymphocytes เปลี่ยนแปลงจาก antigen-recognizing B lymphocytes เป็น antibody-secreting cells และหลั่งแอนติบอดีเพื่อกำจัดแอนติเจนที่ละลายน้ำ T lymphocytes บางเซลล์พัฒนาเป็นเซลล์ที่กระตุ้น phagocytes เพื่อกำจัดจุลชีพที่อยู่ระหว่างเซลล์ (extracellular mocrobes) และ T lymphocytes บางตัวทำหน้าที่โดยตรงโดยการทำให้เซลล์แตก (lysis) เช่นไวรัสในขบวนการ activation ของลิมโฟซัยท์มีสัญญาณมากระตุ้นอยู่สองชนิดคือ แอนติเจน และ helper cells ระยะ สุดท้าย (effector phase) เป็นระยะที่ลิมโฟซัยท์ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน ทำหน้าที่กำจัดแอนติเจนโดย effector cells การทำงานต้องมี non-lymphoids cells และกลไกการป้องกันอื่นร่วมด้วย เป็นการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง ขบวนการ phagocytosis หรือเกิดขึ้นเมื่อพวก neutrophilic และ machophage จะเคลื่อนตัวไปหาสิ่งแปลกปลอม แล้วประกบติดต่อมาจะกลืนกิน แล้วจึงมีการย่อย ด้วยกลไกหลายอย่างภายในเซลล์ แล้วจึงปล่อยสิ่งแปลกปลอมที่ถูกทำลายแล้วออกสู่นอกเซลล์ มีโปรตีนในเลือดที่เรียกว่า complement ช่วยในการทำให้เซลล์แตก และ phagocytosis ของเชื้อจุลชีพ แอนติบอดีชนิดอื่นๆ กระตุ้น mast cells ให้เกิด degranulation แล้วปล่อย mediator เพื่อต่อสู้กับการติดเชื้อและตอบสนองต่อการอักเสบอย่างเฉียบพลัน T lymphocytes หลั่ง cytokines ซึ่งเป็นโปรตีนฮอร์โมนกระตุ้นขบวนการ phatokitosis และเกิดการอักเสบอย่างเฉียบพลัน phagocytes,

complement, mast cells, cytokines และ leukocytes ที่ทำให้เกิดการอักเสบ ทุกตัวล้วนเป็นการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะต่อแอนติเจนทั้งสิ้น

เทคนิคแอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

เทคนิคทีใช้หาปริมาณสารที่มีปริมาณน้อยที่นิยมใช้กันมานาน คือ เทคนิคเรดิโออิมมูโนแอสเซ (Dobson, 1983) ซึ่งอาศัยหลักการของปฏิกิริยาการจับกันของแอนติเจนกับแอนติบอดีโดยใช้ตัวติดตามปฏิกิริยาเป็นสารกัมมันตรังสี ได้แก่ ตริเตียม (^{3}H) ไอโอดีน (^{125}I) คาร์บอน (^{14}C) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีข้อดีคือ มีความแม่นยำถูกต้องสูงสามารถหาสารที่มีอยู่เป็นจำนวนน้อยได้ มีความจำเพาะเจาะจงสูง แต่มีข้อเสียคือ ผู้ปฏิบัติงานมีความเสี่ยงต่อการได้รับอันตรายจากสารกัมมันตรังสีเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ปัญหาการกำจัดขยะที่มีการปนเปื้อนสารกัมมันตรังสีมีข้อจำกัดในการใช้งานมากเช่นข้อกฎหมายในการใช้สารกัมมันตรังสี และเครื่องมือที่ใช้ที่มีราคาแพงมากทำให้การประยุกต์ใช้ในฟาร์มเป็นไปได้ยาก ต่อมาได้มีการคิดค้นเทคนิค ELISA ขึ้นมาทดแทนเทคนิค RIA ซึ่งอาศัยหลักการในการทำปฏิกิริยาคล้ายคลึงกับเทคนิค RIA จะแตกต่างกันที่ตัวติดตามปฏิกิริยา โดยเทคนิค ELISA ใช้เอนไซม์เป็นตัวติดตามปฏิกิริยาแทนสารกัมมันตรังสี โดยนำแอนติเจนหรือแอนติบอดีติดบนพื้นผิวตัวกลาง (solid-phase) ที่สามารถดูดติดแอนติเจนหรือแอนติบอดีได้ เช่น โพลีสไตรีน (polystylene) โพลีไวนิล (polyvinyl) เทคนิคนี้อาศัยหลักการของปฏิกิริยาสองชนิดคือ ปฏิกิริยาของแอนติเจน แอนติบอดี และเอนไซม์ (enzyme) กับ สับสเตรท (substrate) โดยแอนติบอดีจะไปจับกับแอนติเจนที่เชื่อมติดกับพื้นผิวตัวกลางจากนั้นล้างส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีออกไป แล้วอาศัยแอนติบอดีอีกตัวที่เชื่อมกับเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อแอนติบอดีตัวแรกที่ใส่ลงไป เช่น แอนติบอดีจากกระต่ายที่ต้านแอนติบอดีจากไก่ (แอนติบอดีตัวแรกเปรียบเสมือนแอนติเจนเพื่อให้แอนติบอดีตัวที่สองมาจับ) หลังจากผ่านขั้นตอนการล้างส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกไปแล้ว ก็จะวัดการทำงานของเอนไซม์โดยการเติมสับสเตรทลงไป แล้วจึงนำมาวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้น จะได้สัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารที่ต้องการหา (มณีวรรณ, 2531; Crowther, 1995; Catty, 1989)

ในปัจจุบันเทคนิค ELISA เป็นที่นิยมแพร่หลายในการวัดสารปริมาณน้อย เช่น วัดปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว (Crowther, 1995) ใช้วัดปริมาณฮอร์โมนชนิดต่างๆ เช่น ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในโคนมที่ตั้งท้อง (Chang, 1983; Kasson, 1993) ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำลาย (Tallon *et al.*, 1984) ข้อดีของเทคนิค ELISA คือ มีความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน มีความไวสูง ประหยัดเวลาในการวัด อุปกรณ์ในการใช้งานมีราคาไม่แพง รวมถึง

การพัฒนาในการไปใช้ในรูปแบบสำเร็จรูปเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับการปฏิบัติงานในฟาร์มหรือนอกห้องปฏิบัติการได้เป็นอย่างดี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University