

สารบัญ

	หน้า
<b>หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต</b>	
<b>สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์</b>	
ฤทธิ์ของสารสกัดหมาก มะขาม และควาดอง ที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ตับ <i>OPISTHORCHIS VIVERRINI</i>	1
ผู้วิจัย: จารวี วรรณชาติ	
ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารอนุพันธ์ซาลิโคนในการยับยั้งการเติบโตของ ซีสต์ในโรคถุงน้ำในไต	3
ผู้วิจัย : พิระฉัตร วีระพันธ์	
ความชุกของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนล่างของประเทศไทย	7
ผู้วิจัย: รุ่งนลิน บัณฑุพาณิชย์	

## บทคัดย่อ

- เรื่อง : ฤทธิ์ของสารสกัดหมาก มะขาม และควาตอง ที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวของ พยาธิใบไม้ตับ *OPISTHORCHIS VIVERRINI*
- ผู้วิจัย : จารวี วรรณชาติ
- ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
- สาขาวิชา : ชีวเวชศาสตร์
- อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนา เล็กสมบุรณ์
- อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นงนุช กัณหารัตน์  
: ดร.นันทยา กระสวยทอง
- คำสำคัญ : *Opisthorchis viverrini*, การเคลื่อนไหว, สารสกัด

โรคพยาธิใบไม้ตับ เกิดจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ซึ่งยังเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุข โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ปัจจุบันมีการนำสมุนไพรมาใช้เพื่อรักษาโรคต่างๆ กันอย่างกว้างขวาง การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหมาก มะขาม และควาตอง ซึ่งคาดว่าจะมีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อและส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวอ่อนและระยะตัวเต็มวัย ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง โดยการประเมินค่าร้อยละการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวอ่อนในหลอดทดลอง ซึ่งผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหมากและควาตอง ให้ผลดีในการลดการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ตับ จึงนำผลไปสู่การศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยศึกษาการออกไข่ของพยาธิใบไม้ตับ ด้วยวิธี Modified Formalin Technique และตรวจนับจำนวนของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวเต็มวัยที่ได้จากสัตว์ทดลอง ศึกษาปริมาณของสารสื่อประสาท ด้วยเครื่อง High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยา ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมากสามารถลดการออกไข่ที่ปนออกมากับอุจจาระ และสามารถลดจำนวนของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวเต็มวัยที่นับได้จากสัตว์ทดลองได้ดีที่สุด เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสารสื่อประสาทจากพยาธิใบไม้ตับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดควาตอง พบปริมาณของสาร Dopamine มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดหมาก ส่วน Acetylcholine พบในปริมาณที่น้อยมาก และการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่าขนาดตัวและการเปลี่ยนแปลงของผิวพยาธิใบไม้ตับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเนื่องจากสารสกัดที่ใช้ทดสอบทั้งหมดนี้ยังไม่ทราบถึงสารประกอบและกลไกที่มีผลต่อพยาธิเป็นที่แน่ชัด จึงควรจะต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

## ABSTRACT

TITLE : THE EFFECT OF *ARECA CATECHU* L., *TAMARINDUS INDICA* LINN. AND *HOUTTUYNIA CORDATA* THUNB. EXTRACTS ON MOTILITY OF *OPISTHORCHIS VIVERRINI*

AUTHOR : CHARAWI WANNACHAT

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : BIOMEDICAL SCIENCE

ADVISOR : ASST. PROF. RATANA LEKSOMBOON, Ph.D.

CO- ADVISORS : ASST. PROF. NONGNUCH KANHARAT, Ph.D.  
: NANTAYA KRASUAYTHONG, Ph.D.

KEYWORDS : *OPISTHORCHIS VIVERRINI*, MOTILITY, EXTRACT

Opisthorchiasis caused by *O. viverrini* is a serious public health problem in the northeastern part of Thailand. Nowadays, Thai medicinal plants are used in the prevention and treatment of several diseases. In this study, *in vitro* and *in vivo* effects of crude extracts from *A. catechu* L., *T. indica* Linn. and *H. cordata* Thunb. possibly affecting the motility of *O. viverrini* were investigated. *In vitro* experiments revealed the exposure of the newly excysted juvenile (NEJ) *O. viverrini* on relative motility (RM) assay. Results showed that mean RM values of *A. catechu* L., and *H. cordata* Thunb. treated groups in NEJ of *O. viverrini* were the most effective. Therefore, these results led to an animal model. Egg laying of *O. viverrini* using a modified formalin technique was studied and the amount of adult worms was counted. The amount of neurotransmitters by HPLC and a surface of adult *O. viverrini* via SEM were studied. The results showed that *A. catechu* L., decreased egg per gram of feces and correlated with worm burden from infected hamsters. Dopamine found of in *H. cordata* Thunb. was higher than in *A. catechu* L. treated group while only a small amount of Acetylcholine was found in liver fluke. The body size of worms and damaged tegument surface of liver flukes were not significantly different. For all tested crude extracts, their compounds and mechanisms affecting the worms were unclear. Therefore, further studied are required.

### บทคัดย่อ

เรื่อง : ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารอนุพันธ์ซาลิโคนในการยับยั้งการเติบโตของ  
 ซีสต์ในโรคถุงน้ำในไต

ผู้วิจัย : พิระฉัตร วีระพันธ์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา : ชีวเวชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เชาวลิต ยั่วจิตร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภรณ์ แคนดี

คำสำคัญ : สารอนุพันธ์ซาลิโคน, โปรตีน AMPK, การเจริญของซีสต์ในเซลล์ MDCK,  
 โปรตีน CFTR, โปรตีน mTOR/S6K

โรคถุงน้ำในไตชนิดพันธุกรรมเด่นเป็นโรคทางพันธุกรรมของไตที่พบมากที่สุด ซึ่งลักษณะของโรคเกิดจากการพัฒนาของซีสต์ขึ้นที่ท่อไต โรคถุงน้ำในไตชนิดพันธุกรรมเด่น มีสาเหตุเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน *PKD1* และ *PKD2* ส่งผลให้โปรตีน polycystin 1 และ 2 ทำงานผิดปกติ พยาธิสรีรวิทยาของโรคถุงน้ำในไตเกี่ยวข้องกับ 2 กระบวนการคือการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ท่อไตเพื่อการสร้างถุงซีสต์ขึ้นและการหลั่งสารน้ำเข้าสู่ถุงซีสต์ โรคถุงน้ำในไตสามารถพัฒนาเป็นสภาวะไตวายเรื้อรังได้ซึ่งผู้ป่วยต้องได้รับการฟอกไตและการเปลี่ยนถ่ายไต ปัจจุบันนี้ยังไม่มีการรักษาที่มีประสิทธิภาพ สารซาลิโคนสกัดได้จากธรรมชาติ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารซาลิโคนมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยามากมายเช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการติดเชื้อ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านโรคหัวใจหลอดเลือดด้วย สารอนุพันธ์ของซาลิโคน (สารไอโซลิวิลิดิจีนิน) สามารถชะลอการเจริญเติบโตของถุงซีสต์ในเซลล์โมเดลโรคถุงน้ำในไต MDCK ผ่านการยับยั้งการทำงานของโปรตีนขนส่งคลอไรด์ CFTR วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและกลไกการออกฤทธิ์ของสารอนุพันธ์ซาลิโคนในการชะลอการเจริญเติบโตของซีสต์ในเซลล์โมเดลโรคถุงน้ำในไต MDCK ผลการทดลองพบว่า จากสารอนุพันธ์ซาลิโคน 5 ตัว (CHAL-005, 006, 007, 011, 025) มีสาร CHAL-005 และ 025 ที่สามารถชะลอการเติบโตของซีสต์ในเซลล์โมเดลโรคถุงน้ำในไต MDCK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสาร CHAL-005 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของถุงซีสต์ที่ดีที่สุดและปราศจากฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์ท่อไต MDCK นอกจากนี้สาร CHAL-005 ยังสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างซีสต์อีกด้วย ทำการศึกษากลไกของสาร CHAL-005 ต่อการแบ่งเซลล์ท่อไต MDCK ใหม่ โดยวิธี BrdU cell proliferation assay พบว่าสาร CHAL-005 สามารถลดการแบ่งเซลล์ใหม่ได้ เมื่อทำการวัดการแสดงออกของโปรตีนด้วยวิธี western blot พบว่า สาร CHAL-005

ที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100  $\mu\text{M}$  สามารถลดการแสดงออกของโปรตีน CFTR, ERK1/2, และ S6K ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่าสาร CHAL-005 สามารถกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน AMPK ได้อีกด้วย จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสาร CHAL-005 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเซลล์โมเดลโรคถุงน้ำในไต MDCK ได้โดยออกฤทธิ์ผ่านการกระตุ้นการแสดงออกของ AMPK และส่งผลต่อการลดการแสดงออกของโปรตีน CFTR, ERK1/2 และ mTOR/S6K ดังนั้นสารอนุพันธ์ชาโลโคนจึงสามารถนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคถุงน้ำในไตได้

## ABSTRACT

TITLE : PHARMACOLOGICAL EFFECT OF CHALCONE DERIVATIVE ON  
CYST PROGRESSION IN POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE

AUTHOR : PEERACHAT VEERAPHAN

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : BIOMEDICAL SCIENCES

ADVISOR : ASST. PROF. CHAOWALIT YUAJIT, Ph.D.

CO-ADVISOR : ASST. PROF. SUWAPORN DAENDEE, Ph.D.

KEYWORDS : CHALCONE DERIVATIVE, AMPK, MDCK CYST ENLARGEMENT,  
CFTR, MTOR/S6K

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), the most common renal genetic disorder, characterized by the development and progressive enlargement of fluid-filled cyst along the renal tubules. This disease caused by mutations of either *PKD1* or *PKD2* genes encoded polycystin 1 (PC1) and polycystin 2 (PC2) proteins, respectively. Renal cyst progression is associated with two pathogenic mechanisms including epithelial cell proliferation and transepithelial fluid secretion. One-half of ADPKD patients progress to end-stage renal disease (ESRD) and required renal hemodialysis or renal replacement therapy. Currently, there is no effective treatment for ADPKD. Chalcone is a plant-derived compound that has a wide range of biological activities such as antitumor, antioxidant, anti-infective, anti-inflammation, and antidiarrheal effect. Previously, it was found that chalcone derivative, isoliquiritigenin (ISLQ) could slow MDCK cyst growth by inhibiting CFTR channel activity. The purpose of this study was to investigate the pharmacological effect and detailed mechanism of chalcone derivatives to slow cyst progression in a Madin-Darby canine kidney (MDCK) cyst model (*in vitro* model of PKD). The result showed that among 5 compounds of chalcone derivatives tested (CHAL-005, 006, 007, 011, 025), CHAL-005 and CHAL-025 (100  $\mu$ M) strongly retard MDCK cyst growth. CHAL-005 was found to be the most potent for inhibiting MDCK cyst growth in a dose-dependent manner without cytotoxicity. In addition, CHAL-005 (100  $\mu$ M) also inhibited MDCK cyst formation. BrdU

cell proliferation assay demonstrated that CHAL-005 at a dose of 100  $\mu$ M decreased MDCK cell proliferation compared with that of control. Using western blot analysis, it was found that CHAL-005 at doses of 10, 50, 100  $\mu$ M significantly reduced CFTR, ERK1/2, and S6K proteins expression in MDCK cell monolayers. Interestingly, CHAL-005 activated phosphorylation of AMP kinase protein expression in a dose dependent manner. Taken together, these results indicated that CHAL-005 retards MDCK cyst growth through the activation of AMPK expression which further suppresses CFTR expression and reduces ERK1/2 and mTOR/S6K signaling pathways. Therefore, chalcone derivatives could be used as a plant-based drug candidate for the treatment of polycystic kidney disease.

## บทคัดย่อ

เรื่อง : ความชุกของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในชนเผ่าที่อาศัยอยู่ใน  
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย

ผู้วิจัย : รุ่งนลิน บัณฑุพาณิชย์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา : ชีวเวชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รสริน การเพียร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา แสงจิตต์

คำสำคัญ : ธาลัสซีเมีย, ฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ, ชนเผ่า, ความชุก, ความถี่ของยีน

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเป็นหนึ่งในพื้นที่ที่มีปัญหาเรื่องธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ การศึกษาความชุกของธาลัสซีเมียในกลุ่มชาติพันธุ์หรือชนเผ่าโดยเฉพาะตอนล่างของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีจำนวนน้อยมาก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มชาติพันธุ์ สี่ชนเผ่า ได้แก่ ลาว เขมร ส่วย และเยอ ที่อาศัยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาคือ ชนเผ่าลาว จำนวน 165 คน เขมร จำนวน 145 คน ส่วย จำนวน 134 คน และเยอ จำนวน 101 คน ตามลำดับ ผลการศึกษาพบกลุ่มชาติพันธุ์ที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูง (มากกว่าร้อยละ 50) ได้แก่ เขมร ส่วย และเยอ เขมรเป็นกลุ่มชาติพันธุ์ที่พบความชุกของอัลฟาธาลัสซีเมีย 2 (3.7 kb deletion) มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 48.28 อัลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิด 4.2 kb deletion พบเฉพาะในกลุ่มชาติพันธุ์เยอ ฮีโมโกลบินคอนแอสตันท์สปริงและฮีโมโกลบินปากเซ พบได้สูงในเยอและส่วย จากการศึกษาที่พบอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในความชุกที่สูง (ร้อยละ 7.46) ในกลุ่มชาติพันธุ์ส่วย ดังนั้นคู่สมรสที่เป็นกลุ่มชาติพันธุ์ส่วยควรได้รับการตรวจคัดกรองก่อนวางแผนการตั้งครรภ์เพื่อป้องกันและควบคุมโรคฮีโมโกลบินบาร์ทสไฮดรอพฟีทาลิส การศึกษานี้ไม่พบอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด THAI deletion และเบต้าธาลัสซีเมีย ข้อมูลแผนภูมิย่อยของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะมีประโยชน์ในด้านการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมและการรณรงค์ให้ความรู้ซึ่งควรทำโดยใช้ภาษาที่เหมาะสม และจัดในระดับหมู่บ้าน ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ระยะยาวในการดำเนินงานเพื่อลดปัญหาโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในพื้นที่



## ABSTRACT

TITLE : PREVALENCE OF THALASSEMIA AND HEMOGLOBINOPATHIES  
 AMONG MINORITY IN THE LOWER NORTHEASTERN THAILAND

AUTHOR : ROONGNALIN BUNTHUPANICH

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : BIOMEDICAL SCIENCES

ADVISOR : ASST. PROF. ROSSARIN KARNPEAN, Ph.D.

CO-ADVISOR : ASST. PROF. KANJANA PANGJIT, Ph.D.

KEYWORDS : THALASSEMIA, HEMOGLOBINOPATHIES, MINORITY,  
 PREVALENCE, GENE FREQUENCY

The Northeast (NE) of Thailand is one of the burden areas of thalassemia and hemoglobinopathies. The surveys of prevalence among minorities within the region, especially in the lower parts, have been limited. This study aimed to survey for thalassemia and hemoglobinopathies by taking ethnicity into account. People from four ethnic groups (Laos, Khmer, Suay and Yer) inhabiting the lower region of NE Thailand were selected as the study population. Subjects from each ethnic group were recruited for the study with the following numbers: Laos (165), Khmer (145), Suay (134) and Yer (101). The results demonstrated that there was an extremely high prevalence of Hb E (>50%) in the Khmer, Suay and Yer ethnic groups. The Khmer ethnic group had the highest prevalence of  $\alpha^+$ -thalassemia (3.7 kb deletion) for 48.28%.  $\alpha^+$ -Thalassemia (4.2 kb deletion) was restricted in the Yer ethnic group. Yer and Suay had a high incidence of Hb Constant Spring as well as Hb Paksé. As the prevalence  $\alpha^0$ -thalassemia is relatively high in Suay (7.46%), couples who are members of the Suay ethnic population should be recommended to take a haematological screening prior to planning for a pregnancy in order to control the Hb Bart's hydrops fetalis. No occurrence of  $\alpha^0$ -thalassemia (THAI deletion) and  $\beta$ -thalassemia were observed in this study. The micromapping of thalassemia and hemoglobinopathies herein will be helpful for genetic counseling and public education campaigns. It should be carried out in the appropriate languages for each

organized village. This information will benefit the long-term effort to reduce the burden of severe thalassemia disease in the region.