

# รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

## โครงการวิจัย

"การศึกษาผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรเม่า ต่ออาการทางคลินิก ระดับอัตราส่วน CD4:CD8 และ Virus Load ในเลือดของแมวที่ติดเชื้อโรคมะเร็งภูมิคุ้มกันบกพร่อง: A Placebo-controlled Double-blind Study"

"The Therapeutic Effect of *Antidesma acidum* on Clinical Signs, CD4+:CD8+ Ratios and Virus Load in Cats Infected with Naturally Acquired Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Infection: A Placebo-controlled Double-blind Study."

## คณะผู้วิจัย

- รศ. สพ.ญ. ดร. รสมา ภูสุนทรธรรม (หัวหน้าโครงการ)  
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รศ. ดร. สัมพันธ์ วงศ์เสรีพัฒนา (ที่ปรึกษาโครงการ)  
ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รศ. น.สพ. ดร. คณิตศักดิ์ อรวิระกุล (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รศ. สพ.ญ. ดร. สันนิภา สุรทัตต์ (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รศ. สพ.ญ. ดร. ศิรินทร หยิบไซคอนันต์ (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ผศ. น.สพ. พินิจ ภูสุนทรธรรม (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ผศ. น.สพ. ดร. เดชฤทธิ์ นิลอุบล (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อ.สพ.ญ. ดร. จุฑาทิพย์ เขียวเจริญ (ผู้ร่วมวิจัย)  
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทนำ

โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวหรือโรคเอดส์แมวถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1986 ที่มลรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา โรคนี้มีสาเหตุจากการติดเชื้อ Feline immunodeficiency virus (FIV) ไวรัสนี้มีเซลล์เป้าหมายคือ T-lymphocytes (Pedersen et al., 1987) ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อไวรัส Human immunodeficiency virus (HIV) ที่ทำให้เกิดโรคเอดส์ในคน เชื้อ FIV นี้อยู่ใน Lentivirinae subfamily ของ Retroviridae โรคเอดส์แมวนี้จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับโรคที่เกิดจากเชื้อ Lentivirus ในสัตว์อื่น เช่น ไนแคะ (Maedi-Visna Virus, MVV) และแพะ (Caprine Arthritis/Encephalitis Virus, CAEV) และเช่นเดียวกับคน (HIV) โดยที่เชื้อ FIV นี้จะไม่สามารถก่อให้เกิดโรคในคนได้ (Yamamoto et al., 1989) เนื่องจากเชื้อ Lentivirus นี้มีความจำเพาะต่อชนิดของสัตว์และคน เมื่อไวรัสเข้าสู่ร่างกายจะมีระยะฟักตัวอยู่ระยะหนึ่งโดยไม่มีการแสดงอาการใด ๆ หรือทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างเรื้อรังในบางระยะของการติดเชื้อ

เชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคนี้เป็นสมาชิกของกลุ่ม Lentivirus ซึ่งเป็น RNA ไวรัสซึ่งมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ "Reverse Transcriptase" ซึ่งมีหน้าที่ในการเปลี่ยน RNA ของไวรัสให้เป็น Double-stranded DNA ซึ่งเรียกว่า "Provirus" ซึ่งมีความสามารถในการ integrate เข้าสู่ host cells chromosomal DNA และทำให้ host cell ผลิต DNA ของไวรัสออกมาได้

## ระบาดวิทยาและการแพร่เชื้อ

โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวเป็นโรคที่สามารถตรวจพบได้ในแมวป่วยทั่วโลกมานานกว่า 25 ปี ความชุกของการติดโรคนี้ในแมวปกติของประเทศสหรัฐอเมริกา มีค่าเท่ากับ 1.5-3.0 % และมีความชุกเท่ากับ 7-15 % ในแมวป่วยที่แสดงอาการป่วยทั่วไป (Barr, 1994) ในทางตรงกันข้ามพบว่าความชุกของโรคนี้สูงถึง 29% ในแมวปกติของประเทศญี่ปุ่น และกว่า 44% ของแมวป่วยเหล่านี้ให้ผลบวกต่อการตรวจทดสอบ FIV (Ishida, 1989) สำหรับในประเทศไทยรสมาและคณะในปี พ.ศ. 2542 ได้ทำการศึกษาความชุกของโรค FIV ในแมวที่ป่วยด้วยโรคเรื้อรังนานกว่า 2 สัปดาห์ขึ้นไปที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่ามีความชุกเท่ากับ 39.42% สาเหตุที่ทำให้ความชุกของโรค FIV ในประเทศแถบเอเชียมีค่าสูงกว่าประเทศในแถบอื่นของโลกอาจเนื่องมาจากการเลี้ยงแมวอย่างหนาแน่น และมักจะเลี้ยงแบบปล่อยของประเทศในแถบเอเชีย (Ishida, 1989)

เมื่อพิจารณาถึงเพศกับโอกาสการติดเชื้อโรค FIV พบว่าแมวเพศผู้มีโอกาสสูงกว่าแมวเพศเมียถึง 3 เท่าที่จะสามารถติดเชื้อโรค FIV นอกจากนี้แมวที่เลี้ยงปล่อย (free-roaming) ก็มีโอกาสมากกว่าที่จะติดเชื้อโรค FIV มากกว่าแมวที่เลี้ยงแต่ในบ้าน (strictly indoor) ขณะเดียวกันแมวพันธุ์แท้ที่มักจะเลี้ยงกันเป็นจำนวนมากๆ ก็มีโอกาสเป็นโรค FIV น้อยกว่าแมวพันธุ์ผสมจากการศึกษาพบว่าโรค FIV สามารถเกิดในแมวที่มีอายุเฉลี่ยประมาณ 5 ปี (Barr, 1994; Ishida, 1989) และโอกาสของการเกิดโรค FIV เนื่องจากแมวตัวผู้มักจะมี territorial aggression และมักจะ

ต่อสู้กันเป็นประจำ จึงมักเกิดการบาดเจ็บและเกิดแผลจากการกัดกันได้ ขณะเดียวกันแมวที่เลี้ยงปล่อยก็มีโอกาสสูงที่จะไปสัมผัสกับแมวที่ติดเชื้อ FIV ได้ง่าย

การแพร่เชื้อที่สำคัญของโรค FIV คือผ่านทางบาดแผลที่กัดกันของแมว เพราะเชื้อไวรัสจะอยู่ในน้ำลายของแมวที่ติดเชื้อ FIV ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการแพร่กระจายของเชื้อผ่านทาง การผสมพันธุ์ แต่มีการศึกษาของ Sparger ในปี 1993 พบว่าสามารถตรวจพบ virus RNA และ proviral DNA ในตัวอย่างที่ได้จากแมว FIV-seronegative cats ที่เลี้ยงร่วมกับแมวที่ติดเชื้อ FIV นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบการติดเชื้อ FIV ในแมวเพศเมียผ่านการผสมเทียมจาก semen ของแมวเพศผู้ที่ติดเชื้อ FIV (Jordan, 1996) อย่างไรก็ตามการแพร่กระจายของเชื้อ FIV โดยธรรมชาติผ่านทาง การผสมพันธุ์ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมาก

การแพร่กระจายของเชื้อ FIV จากแม่แมวสู่ลูกแมว (off spring) ผ่านทางรกหรือผ่านทาง น้ำนมสามารถพบได้แต่ไม่บ่อยนัก จากการทดลองพบว่าเชื้อสามารถแพร่กระจายผ่านรกของแม่แมวที่ติดสัมผัสโรค FIV ขณะตั้งท้องหรือขณะให้นมลูก (Wasmoen, 1992) อย่างไรก็ตามตัวอ่อน (fetus) และลูกแมวที่สัมผัสต่อเชื้อ FIV ก่อนที่ร่างกายของลูกแมวเองจะได้รับภูมิคุ้มกันโรคจากแม่ จะมีโอกาสสูงมากที่จะติดเชื้อไวรัสตัวนี้ สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่าการมี humoral และ cellular immune response ที่ดี และ/หรือ low viremia ในแม่แมวจะสามารถช่วยป้องกันการติดเชื้อโรค FIV ของลูกแมวได้ เชื้อ FIV มีหลายสายพันธุ์ (strain) ใน FIV ที่มีสายพันธุ์ที่รุนแรงจะทำให้แม่แมวมียุติ load สูงในกระแสเลือด และจำนวนของ CD4<sup>+</sup>T-Lymphocyte ในเลือดที่ลดลงกว่าปกติและทำให้เกิดโรค FIV ในลูกแมวได้ (O'Neil, 1996)

### ระบบภูมิคุ้มกันโรคและพยาธิสภาพของการเกิดโรค

#### I. การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการติดเชื้อโรค FIV ในแมวป่วย

การศึกษาในแมวที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ FIV โดยการทดลองพบว่า แมวที่ได้รับเชือนี้จะสร้าง Neutralizing Antibody ภายใน 3-4 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ และสามารถแยกเชื้อไวรัสจากแมวที่ติดเชื้อนี้ได้แม้ว่าแมวจะมีระดับของภูมิคุ้มกันแบบ Neutralizing Antibody อยู่ในระดับสูงมากก็ตาม ภูมิคุ้มกันของร่างกายที่สร้างในช่วงแรกจะเป็น antibody ต่อ envelope glycoprotein และ major core proteins ต่อมา 4-8 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ FIV แมวป่วยจึงจะมีการสร้าง antibody ต่อ transmembrane protein และ pol gene ระดับของภูมิคุ้มกันโรคในแมวที่ติดเชื้อ FIV จะอยู่ในระดับสูงเป็นเดือนหรือเป็นปีได้หลังจากการติดเชื้อ แมวส่วนใหญ่มักจะมีระดับของภูมิคุ้มกันของร่างกายสูงภายในอาทิตย์แรกๆของการติดเชื้อ แต่ก็มักมีแมวบางตัวที่การตอบสนองและสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่ดีและสร้างช้ากว่าปกติ แมวที่ได้รับเชือบางตัวอาจไม่สร้าง antibody เลยโดยเฉพาะแมวที่อยู่ในระยะสุดท้ายของการเกิดโรคหรือ terminal stage ของโรค FIV (Barr, 1994)

สำหรับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกายในรูป Cellular immune response นั้น พบว่า สามารถพบได้ตั้งแต่ช่วงแรกของการติดเชื้อ FIV การเกิดภูมิคุ้มกันเฉพาะของร่างกายในแบบ Virus-specific cytotoxic T-cells เป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันการเจริญของเชื้อ FIV แบ่งตัวและควบคุมการติดเชื้อไวรัสเข้าสู่กระแสเลือด (Viremia) โดยเฉพาะในแมวที่ติดเชื้อ FIV และอยู่ในระยะไม่แสดงอาการผิดปกติ (asymptomatic stage) (Beatty, 1996) ส่วนในแมวที่ติดเชื้อ FIV อย่างเรื้อรังจะมีภูมิคุ้มกันของร่างกายผ่าน CD8<sup>+</sup>T-cells ในการยับยั้งการทำงานของเชื้อไวรัสในการทดลองที่ใช้ FIV-infected lymphocyte culture (Jeng, 1996) โดยที่ CD8<sup>+</sup>T-cells จะยับยั้งการติดเชื้อ FIV ของแมวป่วยโดยทำให้เกิด direct cytotoxic effect บนเซลล์ที่ติดเชื้อ FIV โดยการสร้างสาร cytokines ซึ่งเป็น soluble factors ออกมาทำลายเชื้อ FIV ในเซลล์ที่ติดเชื้อ (Jeng, 1996)

#### **พยาธิวิทยาภูมิคุ้มกันของการติดเชื้อ FIV (Immunopathogenesis of FIV Infection) ในแมวป่วย**

การเกิดพยาธิสภาพในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในแมวที่ติดเชื้อ FIV มีความคล้ายกัน การติดเชื้อ HIV ในคน (Willett, 1997) ข้อแตกต่างหนึ่งที่พบระหว่าง FIV และ HIV คือการติดเชื้อของ HIV ในคนที่ส่วนของ human lymphocytes นั้นจะจำเพาะในส่วนของ CD4<sup>+</sup> cell เท่านั้น แต่ในแมวที่ติดเชื้อ FIV นั้น เชื้อ FIV มักจะก่อให้เกิดความผิดปกติของทั้ง CD4<sup>+</sup>(helper) และ CD8<sup>+</sup>(Cytotoxic) T Lymphocytes ของแมวป่วย ในแมวที่ทำการทดลองให้ติดเชื้อ FIV ในระยะสั้นจะพบว่าอัตราส่วน CD8<sup>+</sup> : CD4<sup>+</sup> จะลดลงเล็กน้อยเนื่องจากอาจมีการเพิ่มของ CD8<sup>+</sup> cells เมื่อใดก็ตามที่แมวติดเชื้อ FIV นานกว่า 18 เดือน ก็มักจะพบว่าอัตราส่วนของ CD4<sup>+</sup> : CD8<sup>+</sup> จะลดลงอย่างเด่นชัด ถ้าหากแมวมีการติดเชื้อ FIV นานกว่า 25 เดือนขึ้นไป ก็มักจะตรวจพบการลดลงของ CD4<sup>+</sup>T-Lymphocyte ในขณะที่ปริมาณของ CD8<sup>+</sup> cells ลดลงน้อยมากหรือแทบไม่ลดลงเลย (Barr, 1994; Willett, 1997)

ในแมวที่มีการติดเชื้อ FIV นั้น จำนวน peripheral blood mononuclear cells (PBMC) เช่น Lymphocytes จะลดลงเมื่อเทียบกับจำนวน PBMC ของแมวในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้มีการติดเชื้อ FIV เมื่อแมวมีการติดเชื้อ FIV เป็นระยะเวลานานภูมิคุ้มกันของร่างกายของแมวจะไม่สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย T-dependent antigen ได้ แต่ยังสามารถที่จะตอบสนองต่อการกระตุ้นของ T-independent antigen ได้ (Willett, 1997) เซลล์ T-Lymphocyte ใหม่ที่ไม่เคยถูกกระตุ้นด้วย antigen มาก่อนจะมีการแบ่งตัวลดลงในระยะเวลาเพียง 5 สัปดาห์หลังมีการติดเชื้อ FIV ในขณะที่การตอบสนองของ memory T-cells จะสูญเสียหน้าที่ในระยะท้ายของการติดเชื้อ (Bishop, 1992) เซลล์ที่มีการติดเชื้อ FIV จะสร้างสาร cytokines เช่น tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 (IL-1) และ IL-6 ร่วมกับการลดลงของการตอบสนองของ PBMC cells (Willett, 1997)

นอกจากผลกระทบของการติดเชื้อ FIV ต่อจำนวนและการทำงานของเซลล์ Lymphocytes แล้วนั้น พบว่าเชื้อ FIV สามารถมีผลต่อ macrophages, megakaryocytes และ mononuclear cells ที่บริเวณไขกระดูก มีการศึกษาพบว่าเซลล์ macrophage จัดเป็นแหล่งรวม (reservoir) ของเชื้อไวรัส HIV ในคน และมีผู้คาดเดาว่า macrophage ก็น่าจะเป็นแหล่งรวมของเชื้อไวรัส FIV ในแมวด้วยเช่นกัน Brunner และ Pederson ในปี 1989 พบว่าเซลล์ macrophage ในระยะแรกของการติดเชื้อ FIV จะช่วยปลดปล่อยเชื้อไวรัส FIV และช่วยในการเพิ่มจำนวนของเชื้อ FIV ในเลือด แมวมากกว่าเซลล์ macrophage ที่ได้จากการติดเชื้อในระยะท้ายของโรค FIV ซึ่งจะไม่ปลดปล่อยไวรัสออกมาอีกแล้ว (Brunner and Pederson, 1989)

### ประสาทพยาธิวิทยาของการติดเชื้อ FIV ในแมวป่วย (Neuropathogenesis of FIV Infection)

Phillips และคณะในปี 1994 สามารถแยกเชื้อไวรัส FIV ได้จากน้ำไขสันหลัง สมองใหญ่ (Cerebral cortex) บริเวณ caudate nucleus สมองส่วนกลาง (midbrain) สมองน้อย (Cerebellum) รวมทั้งส่วนหน้าและส่วนท้ายของบริเวณก้านสมอง (brain stem) (Phillips, 1994) แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัส FIV สามารถเข้าสู่สมองของสัตว์ป่วยได้ตั้งแต่วัยแรกของการติดเชื้อ และเชื้อไวรัสนี้จะก่อให้เกิดพยาธิสภาพในสมองส่วนกลางได้ตั้งแต่วันที่ 2 เดือนแรกของการติดเชื้อ FIV (Hurtel *et al.*, 1992) แมวที่ติดเชื้อจะแสดงอาการผิดปกติของสมองเช่น เกิด delay pupillary response เกิดภาวะรูม่านตาต่างขนาด (anisocoria) จะทำให้เกิดการตอบสนองของการมองเห็นและการได้ยินที่ผิดปกติไป เกิด delay righting reflex เกิดการเพิ่มของการส่งผ่านในกระแสประสาทรับความรู้สึกและของไขสันหลัง รวมทั้งเกิดความผิดปกติในการนอนหลับของสัตว์ป่วย (disturbed sleep patterns) (Phillips, 1994; Henriksen, 1995; Phillips, 1996; Podell, 1993) เมื่อแมวติดเชื้อ FIV เสียชีวิตและได้รับการชันสูตรซากมักจะตรวจพบ perivascular infiltrates ของ mononuclear cells เกิด diffuse gliosis, glia nodules และ white matter pallor (Phillips, 1994; Hurtel, 1992) พยาธิสภาพที่กล่าวเหล่านี้มักตรวจพบในบริเวณ caudate nucleus สมองส่วนกลางและบริเวณส่วนหน้าของก้านสมอง (rostral of brain stem)

เมื่อเชื้อไวรัส FIV เข้าสู่ร่างกายแมว เชื้อจะเข้าสู่เซลล์ของสมองที่สำคัญคือ เซลล์ microglia และเซลล์ astrocytes เชื้อไวรัสจะไม่เข้าสู่ neuron ของสมองโดยตรง แต่จะก่อให้เกิดการตายของ neuron จากการติดเชื้อ FIV นี้ได้โดยไม่ทราบสาเหตุที่ชัดเจน (Meeker, 1997; Zenger, 1997) มีผู้ตั้งสมมุติฐานว่าการที่ neuron ตายจากการติดเชื้อ FIV อาจเนื่องมาจากการสร้างสารที่เป็นพิษ (toxic products) ที่หลั่งมาจากเซลล์ microglia หรือสารกลุ่ม cytokines ที่มีการสร้างหลังการติดเชื้อ FIV ปกติเซลล์ Astrocytes เป็นเซลล์ของสมองที่สำคัญในการควบคุมปริมาณของสาร glutamate ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มักจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาท จนทำให้ถึงตายได้ ควบคุมไม่ให้ปริมาณของ glutamate มากเกินไป เมื่อเซลล์สมองมีการติดเชื้อ FIV จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพของเซลล์ Astrocytes ในการเก็บกักสาร glutamate ลดลง ทำให้

สาร glutamate ก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ประสาทอื่นๆ (Zenger, 1997) นอกจากนี้การติดเชื้อ FIV จะทำให้เซลล์ microglia สร้างสารที่เป็นพิษ เช่น TNF- $\alpha$ , IL-1, quinolinate, eicosanoids, และสาร Ntox ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ในสมอง

ตารางที่ 1 แสดงโรคและความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ FIV และ FeLV ในแมว

Immunosuppression with opportunistic infections
Gingivitis/stomatitis (FIV > FeLV)
Myeloproliferative disease/erythroleukemia (FIV > > FeLV)
Lymphosarcoma/lymphoid leukemias (FIV > > FeLV)
Diarrhea/panleukopenia-like syndrome
Weight loss/cachexia
Chronic fever
Glomerulonephritis
Anterior uveitis/pars planitis/glaucoma (FIV > > FeLV)
Behavioral changes/dementia/peripheral neuropathies
Hypergammaglobulinemia (FIV > FeLV)
Hemolytic anemias/aplastic anemias (FeLV > > FIV)
Lymphopenia/neutropenia
Thrombocytopenia (FeLV > > FIV)
Abortion/fetal resorptions/thymic atrophy (FeLV > > FIV)
Chronic progressive polyarthritis

ที่มา : Barr, M.C., Phillips, T.R. 2000. FIV and FIV-related disease. *In*: Ettinger SJ, Feldman EC (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders. 435.

## อาการ

แมวที่ติดเชื้อ FIV จะแสดงอาการออกได้เป็นหลายระยะ ระยะแรกเรียกว่า ระยะเฉียบพลัน (acute phase) ระยะที่สองเรียกว่า ระยะไม่แสดงอาการ (Asymptomatic phase) ระยะที่สามเรียกว่า "Generalized Lymphadenopathy" ระยะที่สี่เรียกว่า "AIDS-related complex (ARC)" และระยะสุดท้ายคือระยะที่ห้าเรียกว่า "Terminal phase" (English, 1995) โดยมีลักษณะอาการผิดปกติของระยะต่างๆดังต่อไปนี้คือ

### 1. ระยะเฉียบพลัน (Acute phase)

แมวป่วยในระยะเฉียบพลันมักจะมีไข้ (fever) เบื่ออาหาร อาการมักจะไม่ค่อยรุนแรงจนทำให้เจ้าของสังเกตเห็น นอกจากนี้อาจมีอาการผิดปกติอื่นๆ เช่น acute enteritis, ช่องปากอักเสบ

(Stomatitis), ผื่นหนังอักเสบ (dermatitis) เยื่อบุตาขาวอักเสบ (Conjunctivitis) และมีโรคของทางเดินระบบหายใจ ในระยะนี้มักจะมีระยะเวลาเป็นวันถึงเป็นสัปดาห์ บางครั้งเจ้าของแมวป่วยอาจไม่พบความผิดปกติเลย

### 2. ระยะไม่แสดงอาการ (Asymptomatic phase)

แมวป่วยในระยะที่ 2 นี้มักจะไม่มีแสดงอาการผิดปกติใดๆให้เห็นเลย โดยอาจกินเวลาเป็นเดือนหรือเป็นหลายปี

### 3. ระยะ Generalized Lymphadenopathy

แมวป่วยในระยะที่ 3 นี้มักจะมีอาการขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองทั่วร่างกาย

### 4. ระยะ AIDS-related complex (ARC)

แมวป่วยที่เข้าสู่ระยะที่ 4 นี้ มักจะแสดงอาการผิดปกติตามการติดเชื้อโรคที่เป็น opportunistic infections การเกิดเนื้องอก (neoplasia) ตลอดจนความผิดปกติของร่างกายอื่นๆที่ก่อให้เกิดความผอมแห้งของร่างกาย (ดังแสดงในตารางที่ 1.2) โดยปกติมักจะตรวจพบอาการช่องปากอักเสบ (stomatitis) ได้เสมอในทุกๆระยะของแมวที่ป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV แมวป่วยด้วยเชื้อ FIV หากมีการติดเชื้อ Calicivirus (Reubel *et al.*, 1994; Tenorio *et al.*, 1991) และ/หรือ เชื้อ Herpes virus ร่วมด้วยมักจะแสดงอาการป่วยของโรคที่รุนแรงกว่าปกติ (Reubel *et al.*, 1992)

แมวป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV มักจะแสดงอาการผิดปกติที่ตาของแมว (English *et al.*, 1990; Lappin *et al.*, 1992; O'Neil *et al.*, 1991) ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในส่วนหน้าและส่วนท้ายของตา เช่น การตรวจพบ Anterior Uveitis จากแมวติดเชื้อ FIV ที่มีการติดเชื้อ Toxoplasmosis ร่วมด้วยการตรวจพบต้อหิน (Glaucoma) ซึ่งอาจเกิดร่วมหรือไม่ร่วมกับ uveitis ก็ได้ (English *et al.*, 1990; O'Neil *et al.*, 1991) นอกจากนี้อาจตรวจพบ pars planitis ซึ่งคือการ infiltration ของเซลล์เม็ดโลหิตขาวโดยเฉพาะ plasma cells เข้าไปในส่วน vitreous ซึ่งอยู่ด้านหลังของเลนส์ตา การตรวจพบ focal retinal degeneration และอาจตรวจพบ inner retinal hemorrhage ในแมวป่วย(English *et al.*, 1990)

นอกจากนี้แมวป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV อาจแสดงอาการผิดปกติเนื่องมาจากระบบหายใจของร่างกาย ซึ่งอาจมีสาเหตุเกิดจาก การติดเชื้อแบคทีเรีย โปรโตซัว และ fungi ซึ่งเกิดจาก opportunistic infection ในรายที่มีการติดเชื้อจาก Toxoplasmosis นั้น แมวจะแสดงอาการผิดปกติรุนแรงมากขึ้นหากเป็นการติดเชื้อร่วมกันของ FIV กับ Toxoplasmosis (Davidson *et al.*, 1993)

### 5. ระยะสุดท้าย (Terminal stage)

แมวป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV ที่อยู่ระยะสุดท้าย (Terminal phase) มักจะมีร่างกายอยู่ในสภาพทรุดโทรม (wasting) นอกจากนี้มีรายงานพบว่าแมวที่ติดเชื้อ FeLV และ FIV ร่วมกันมักจะเกิดมีโอกาสมันจะมีเนื้องอก Lymphoma มากกว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV แต่เพียงอย่างเดียว (Shelton *et al.*, 1990) โดยพบว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV มักจะเกิดเนื้องอก Lymphoma แบบ B-cell tumors (Callanan *et al.*, 1996; Poli *et al.*, 1994; Terry *et al.*, 1995)

## การตรวจวินิจฉัย

### การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

แมวที่ติดเชื้อ FIV ในระยะเฉียบพลัน (acute phase) มักจะตรวจพบจำนวนเม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโทรฟิลต์ลดลง (Neutropenia) และจำนวนเม็ดโลหิตของชนิดลิมโฟซัยท์ลดลง (Lymphopenia) ซึ่งค่าทั้งสองนี้จะกลับสู่ปกติเมื่อแมวป่วยเข้าสู่ระยะที่ไม่แสดงอาการ (Asymptomatic phase) (Linenberger and Abkowitz, 1995; Mandell *et al.*, 1992) ซึ่งในระยะนี้ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าอื่นๆมักอยู่ในช่วงค่าปกติ (Mandell *et al.*, 1992; Linenberger *et al.*, 1991; Shelton *et al.*, 1995) แมวติดเชื้อ FIV ที่เริ่มแสดงอาการผิดปกติมักจะตรวจพบภาวะโลหิตจาง (anemia) เซลล์เม็ดโลหิตมีจำนวนต่ำลง (cytopenia) จำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโทรฟิลต์มักจะลดลง (Neutropenia) และจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟซัยท์ลดลง (Lymphopenia) ในหนึ่งส่วนสามของแมวป่วยด้วย FIV (Shelton *et al.*, 1991; Shelton *et al.*, 1990; Sparks *et al.*, 1993) ในแมวป่วยด้วย FIV อย่างเดียวและไม่มีโรคอื่นๆแทรกซ้อนเลยมักจะตรวจพบ ภาวะโลหิตจาง จำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวรวมลดลง (leukopenia) และมีจำนวนเกล็ดเลือดลดลง (thrombocytopenia) (Hart and Nolte, 1994)

สำหรับค่าทางเคมีคลินิกของแมวที่ป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV นั้น ส่วนหนึ่งมักจะขึ้นอยู่กับโรคหรือความผิดปกติที่เกิดร่วมกับ FIV เป็นส่วนใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับแมวปกติพบว่า แมวป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV นาน 9 เดือน มักจะตรวจพบการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนกลอบบูลิน (globulin) ในซีรัม กลูโคส ไตรกลีเซอไลด์ ยูเรีย และค่าครีอะทีนิน และมักจะพบการเพิ่มขึ้นของค่า cholesterol ในซีรัม (Hoffman-Lehmann *et al.*, 1997)

### การตรวจโดยการใช่วิทยาเซรุ่ม (Serologic Testing)

การตรวจวินิจฉัยแมวป่วยด้วยการติดเชื้อไวรัส FIV สามารถกระทำได้โดยการทดสอบเพื่อหาภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการติดเชื้อ FIV (FIV-specific antibodies) ในเลือดหรือในน้ำลายของแมวป่วยโดยการตรวจด้วยวิธีการ ELISA (Philpott *et al.*, 1992) นอกจากนี้ยังมีการตรวจวินิจฉัยด้วยการใช้ Fluores-cent Antibody Test (FA Test) และการตรวจยืนยันด้วย Western Blot รวมทั้ง PCR ที่มักจะทำในต่างประเทศที่มีห้องปฏิบัติการวิจัยขนาดใหญ่

ในแมวป่วยที่อยู่ในระยะติดเชื้อแบบเฉียบพลัน (acute phase) อาจจะให้ผลการตรวจสอบด้วย ELISA Test เป็นผลลบลง (false negative) ได้เนื่องจากแมวยังไม่สร้างภูมิคุ้มกันแอนติบอดีต่อเชื้อ FIV ในแมวก่อนหน้านี้ควรจะทำทดสอบซ้ำในอีก 6-8 สัปดาห์ต่อมาอีกครั้ง นอกจากนี้การใช้ Whole blood ในการทดสอบอาจให้ผลบวกลง (false positive) จึงควรที่จะทดสอบแมวป่วยโดยใช้ซีรัมแทน whole blood ในการทดสอบ

แมวส่วนใหญ่มักจะสร้างแอนติบอดีของร่างกายต่อการติดเชื้อ FIV ภายใน 8 สัปดาห์ หลังการติดเชื้อ FIV แต่จากการทดลองพบว่าบางครั้งแมวป่วยด้วยโรค FIV อาจจะไม่สร้างแอนติบอดีต่อ



เชื้อ FIV กว่า 6 เดือนหรือนานกว่านั้น (Pederson and Barlough, 1991) โดยทั่วไปแม้ว่าแม่วะจะอยู่ในระยะไม่แสดงอาการ (asymptomatic stage) แต่ก็สามารถตรวจพบ FIV-specific antibodies ได้ในบางรายที่แม่วะป่วยไม่แสดงอาการและแม่วะไม่มีการสร้างแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ อาจมีความจำเป็นที่จะต้องใช้วิธีการตรวจด้วย PCR ในการตรวจวินิจฉัย (O'Neil *et al.*, 1997) เช่น ลูกแม่วะที่ติดเชื้อ FIV แต่แรกคลอด และยังไม่มีการสร้างแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ FIV จะต้องใช้การตรวจด้วย PCR ในการวินิจฉัยโรคเท่านั้น (O'Neil *et al.*, 1997) นอกจากนี้แม่วะป่วยด้วยการติดเชื้อ FIV บางตัวที่อยู่ในระยะสุดท้ายของการเกิดโรค (Terminal stage) อาจจะไม่มีการสร้างแอนติบอดีของร่างกายต่อการติดเชื้อโรคเหลืออยู่เลย จำเป็นต้องใช้การวินิจฉัยด้วย Western Blot ในการช่วยวินิจฉัย (Diehl *et al.*, 1995) หรือใช้ PCR ตรวจสอบ pro virus (Tomonaga and Mikami, 1996) สำหรับการตรวจด้วยวิธีการใช้วิธี Flow cytometric analysis เพื่อใช้ในการตรวจเม็ดโลหิตขาวชนิด lymphocyte ในเลือดของแม่วะป่วยด้วยโรค FIV นั้นจะพบว่าแม่วะป่วยด้วยโรค FIV มักจะมีอัตราส่วนของ  $CD_4^+/CD_8^+$  ลดลงกว่าแม่วะปกติ แม้ว่าบางครั้งแม่วะอาจจะยังไม่มีการสร้างแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ FIV โดยตรงเลยก็ตาม แต่วิธีการนี้ยังเป็นวิธีการที่ใช้ในการวิจัยเป็นส่วนใหญ่

การแปลผลการตรวจวินิจฉัยโรค FIV ในลูกแม่วะโดยการทดสอบ ELISA เพื่อหา FIV-specific antibodies อาจให้ผลบวกปลอม (false positive) เนื่องจากลูกแม่วะที่เกิดจากแม่แม่วะที่ติดเชื้อ FIV จะได้รับแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ FIV ผ่านทาง Maternal antibody จากน้ำนมแม่ จึงควรทำการทดสอบลูกแม่วะดังกล่าวอีกครั้งหลังอายุ 6 เดือน ลูกแม่วะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบในครั้งที่ 2 จะแสดงให้เห็นว่าผลการวินิจฉัยครั้งแรกก่อน 6 เดือนเป็นผลจาก maternal antibody จากแม่ แต่หากว่าการทดสอบที่อายุ 6 เดือนยังคงเป็นผลบวกอีกครั้งก็แสดงว่าลูกแม่วะน่าจะป่วยด้วย การติดเชื้อ FIV ซึ่งควรที่จะทดสอบยืนยันด้วย Western Blot อีกครั้ง ในแม่วะตัวใดก็ตามที่แสดงอาการทางคลินิกที่ผิดปกติและสัตว์แพทย์ได้ทดสอบด้วย ELISA Test แล้วพบว่าให้ผลลบ อาจจะเป็นผลลบปลอมและควรที่จะทำการทดสอบซ้ำด้วย ELISA Test อีกใน 6-8 สัปดาห์ต่อมา

### การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา (Pathologic Findings)

แม่วะป่วยด้วยโรค FIV จะมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาหลายอย่าง เช่น แม่วะป่วยในระยะเฉียบพลันมักจะมี hyperplasia ของต่อมน้ำเหลืองทั่วร่างกาย ส่วนแม่วะป่วยด้วยโรค FIV ในระยะสุดท้ายมักจะพบความเสียหายในส่วนของ follicle และจำนวนเซลล์ของต่อมน้ำเหลืองมีจำนวนลดลง นอกจากนี้แม่วะป่วยด้วยโรค FIV อาจตรวจพบ lymphoid interstitial pneumonitis นอกจากนี้การติดเชื้อ FIV อาจทำให้เกิด glomerulosclerosis และ tubulointerstitial infiltrates ที่ไตของแม่วะป่วยด้วย FIV (Poli *et al.*, 1993) นอกจากนี้อาจเกิดพยาธิสภาพ(ดังแสดงในตาราง 1.2)

ตารางที่ 2 แสดงบริเวณและความผิดปกติทางพยาธิวิทยาในแมวป่วยด้วยโรค FIV

บริเวณ	ความผิดปกติทางพยาธิวิทยา
Lymph node	Follicular involution Follicular hyperplasia Follicular plasmacytosis
Thymus	Cortical involution, atrophy
Intestinal tract	Villous blunting Pyrogranulomatous colitis Lymphoplasmacytic stomatitis
Liver	Periportal hepatitis
Bone marrow	Myeloid hyperplasia
Kidney	Interstitial nephritis Glomerulosclerosis
Central nervous system	Perivascular cuffing Gliosis
Lung	Interstitial pneumonia

ที่มา : Sellon, R.K. 1998<sup>a</sup>. Feline immunodeficiency virus infection. In: Greene CE (ed.): Infectious Diseases of Dog and Cat. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia : WB Saunders. 89.

### การรักษา

ปัจจุบันยังไม่มี การรักษาจำเพาะที่ให้ผลร้อยเปอร์เซ็นต์ในการรักษาระยะยาวในแมวที่ป่วยด้วยโรค FIV มีการทดลองมากมายที่ได้มีการลองใช้ยาฆ่าเชื้อไวรัส FIV เช่น azidothymidine (AZT) และ phosphonylmethoxyethyladenine (PMEA) ในตัวสัตว์ป่วยเองและในหลอดทดลอง (Philpott *et al.*, 1992; Egberink *et al.*, 1990; Hart and Nolte, 1995; Hartmann, 1996b; Hartmann *et al.*, 1992; Smyth *et al.*, 1994; Vahlenkamp *et al.*, 1995) ขนาดของยา AZT และ PMEA ที่สามารถใช้ในการรักษาแมวป่วยด้วยโรค FIV นี้ได้ (ดังแสดงในตาราง 1.3)

ตารางที่ 3 แสดงชื่อยา ขนาดของยา วิธีการให้ยา และการออกฤทธิ์ของยาที่สามารถนำมาใช้รักษา แมวป่วยด้วยโรค FIV

ชื่อยา	ขนาดยา <sup>a</sup>	การให้ยา	ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (ชั่วโมง)	ระยะเวลาการให้ยาดังกล่าว (สัปดาห์)
<b>Antiviral</b>				
AZT <sup>b</sup>	15 mg/kg	PO, SC <sup>c</sup>	12	
<b>Cytopenias</b>				
Erythropoietin	100 IU/kg	SC	48	2 <sup>d</sup>
Granulocyte colony-stimulating factor	5 µg/kg	SC	12	1-2
<b>Stomatitis</b>				
Metronidazole	5 mg/kg	PO	8	2-4
Clindamycin	12.5 mg/kg	PO	8	2-4
Prednisone	mg/kg	PO	12	2-4
Bovine lactoferrin	5 mg/kg 40 mg/kg	Topically to oral cavity	24	prn

<sup>a</sup> ให้ยาตามขนาดของยาในแต่ละช่วงของวันตามที่กำหนด

<sup>b</sup> ควรตรวจค่า CBC เพื่อป้องกันการเกิดภาวะโลหิตจางแบบ Heinz body anemia.

<sup>c</sup> สำหรับการให้ด้วยการกิน ควรให้โดยป้อน gelatin capsules หากต้องการให้ทางใต้ผิวหนังควรทำให้เจือจางด้วย lyophilate ใน 5 ml sodium chloride.

<sup>d</sup> ให้ยาจนกระทั่งมีค่า PCV ที่ต้องการ

ที่มา : Sellon, R.K. 1998<sup>b</sup>. Feline immunodeficiency virus infection. In: Greene CE (ed.): Infectious Diseases of Dog and Cat. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia : WB Saunders. 90.

### การป้องกันโรค (Prevention)

แมวป่วยด้วยโรค FIV ควรได้รับการทำหมัน และควรจะทำกรงกักบริเวณไม่ให้ไปแพร่กระจายเชื้อแก่แมวตัวอื่นๆ ควรทำการแยกแมวป่วยออกจากแมวอื่นๆ ในบ้าน ปัจจุบันมีการผลิตวัคซีนป้องกันโรค FIV ให้แก่แมวที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยง สำหรับประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนป้องกันโรคนี้อยู่ระหว่างการศึกษา เนื่องจากเชื้อไวรัส FIV ที่เป็นสาเหตุของโรคมีหลาย

subtype และแตกต่างกันในแต่ละประเทศที่มีการติดเชื้อไวรัส จึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปในด้านประสิทธิภาพของวัคซีน และการฉีดวัคซีน FIV ให้แก่แมวจะกระทบต่อการตรวจวินิจฉัยโรค FIV ซึ่งต้องอาศัยการทดสอบด้วย ELISA เพื่อหาแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ การฉีดวัคซีนจะทำให้ไม่สามารถทราบว่ามีแมวติดเชื้อ FIV จริงหรือมีแอนติบอดีต่อการฉีดวัคซีน ซึ่งจำเป็นต้องยืนยันการติดเชื้อด้วยวิธีการ Western Blot หรือ PCR ต่อไป

#### **ความสำคัญทางด้านสาธารณสุข (Public Health Consideration)**

เชื้อไวรัส FIV มีความจำเพาะและจะก่อให้เกิดโรคมุมักมีกันบกพร่องเฉพาะในแมวเท่านั้น จนถึงปัจจุบันยังไม่มีรายงานการติดเชื้อโรค FIV ในคนแต่อย่างใด

### มูลเหตุจูงใจของโครงการวิจัย

สัตว์ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวนมากมักจะแสดงอาการป่วยของระบบทางเดินหายใจ ช่องปากอักเสบ ระบบทางเดินอาหาร และ/หรือ ระบบขับถ่ายปัสสาวะอย่างเรื้อรัง เมื่อรักษาอาการของโรคหายไประยะหนึ่ง สัตว์ก็มักจะกลับมาเป็นโรคนั้นอีกโดยไม่ทราบสาเหตุ เพราะการรักษาส่วนใหญ่เป็นการรักษาตามอาการและการรักษาเพื่อพยุงสภาพสัตว์เป็นหลัก ทำให้เกิดความเสียหาย สุขภาพสัตว์ทรุดโทรมอย่างรวดเร็วและเจ้าของสัตว์ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษาเป็นอย่างมาก เป็นการสิ้นเปลืองทางเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง จากการศึกษาเบื้องต้นในปี พ.ศ. 2540 ในแมวที่ป่วยด้วยโรคเรื้อรังเกิน 2 สัปดาห์ขึ้นไป คณะผู้วิจัยได้ตรวจพบว่า 32.0% ของแมวที่ป่วยด้วยโรคเรื้อรังดังกล่าว ตรวจพบหลักฐานการปรากฏแอนติบอดีบ่งชี้การติดเชื้อโรคมูมิคัมกันบกพร่องในแมว (FIV) (รสมาและคณะ, 2541)

ในการรักษาโรค AIDS ในคนและการรักษาการติดเชื้อไวรัสในกลุ่ม Retrovirus ในแมว พบว่ายาที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อได้คือ ยา AZT (Zidovudine, Retrovir) เนื่องจากมีรายงานว่า 2 ปีหลังการค้นพบ HIV นักวิจัยพบว่ายา AZT สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ HIV ใน Cell Culture (Mitsuya, et al., 1985) ยาชนิดนี้ออกฤทธิ์เป็น reverse transcriptase inhibitor ยับยั้งการเปลี่ยน RNA ของไวรัส FeLV และ FIV ไปเป็น DNA ใน host cells ยาตัวนี้สามารถป้องกันภาวะ persistent FeLV infection ได้หากมีการใช้ยาตั้งแต่เชื้อเริ่มเข้าสู่ร่างกาย (viral inoculation) (Mathes et al, 1992; Mathes et al, 1996) ขนาดของยาที่ใช้คือ 5 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง วันละ 2 ครั้ง อาการข้างเคียงที่พบจากการใช้ยาตัวนี้คือ ภาวะโลหิตจาง โดยมักจะมีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) ต่ำกว่า 20% ซึ่งหากพบอาการข้างเคียงแล้ว สัตวแพทย์ต้องหยุดการใช้ยาทันที แล้วสามารถกลับมาใช้ยาใหม่เมื่อค่า PCV ของแมวดีขึ้น ยา AZT ไม่สามารถทำให้ภาวะ viremia กลับคืนสู่สภาพปกติได้ จึงไม่แนะนำให้ใช้กับแมวที่ยังไม่แสดงอาการป่วย (Mc Cow, 1994) สำหรับในประเทศไทย คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้ยา Zidovudine (AZT) ต่ออาการทางคลินิกในแมวที่ติดเชื้อโรคมูมิคัมกันบกพร่องโดยธรรมชาติ พบว่า ยา AZT ในขนาด 5 mg/kg โดยการกินวันละ 2 ครั้ง ทำให้อาการทางคลินิกที่แมวแสดงออกดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รสมาและคณะ 2545) มักพบอาการข้างเคียงคือภาวะโลหิตจางในแมว จึงไม่สามารถใช้ยาตัวนี้รักษาแมวป่วยในระยะยาวได้ แมวป่วยส่วนใหญ่จึงมักจะกลับมาแสดงอาการป่วยของโรคได้อีก

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น ทางกลุ่มผู้ศึกษาจึงมีความสนใจแนวทางในการแก้ปัญหาโดยการทดลองใช้สารสกัดสมุนไพรเมาเพื่อต่อต้านเชื้อ FIV ในแมวที่ป่วย ซึ่งมีราคาถูกและสามารถหาได้ภายในประเทศไทย จากการศึกษาของกัมมมาและคณะ (2544) พบว่าสมุนไพรเมา (*Antidesma acidum* RetZ) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV ในคน ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะทดสอบความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นในการใช้สมุนไพรเมาในแมว และเป็นข้อมูลการวิจัยในการใช้สมุนไพรชนิดนี้ในการรักษาโรค FIV ในแมว

### ความเป็นมาของสมุนไพรเม่า และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปี 1992 สมบัติ สนั่นเสียง, สุรเดช มหารมณ และคณะ (Smidt Snansiang) ให้ความสนใจประโยชน์ของสมุนไพรในการนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ ได้ใช้ความพยายามที่จะสกัดสาร methoxy flavone จากสมุนไพรหลายชนิด ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ในลักษณะของ extra verrucidal effect เป็นการทำลายต่อต้าน virus นอกจาก host cell และได้พบสาร flavonoids และ phenolics ที่ได้สกัดจากต้นเม่า (เต็ม สมิตินันท์ 2523) ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Antidesma acidum* Retz (วงศ์ Euphobiaceae) ซึ่งมีสารที่นำมาใช้ในการรักษาโรคไข้หวัดใหญ่ และโรคเรื้อรัง นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในการแก้เสมหะ ฟอกเลือด (ส่วนผล, ราก) บำรุงไต ขับปัสสาวะ แก้กษาว (ส่วนรากและลำต้น) (คุณสมบัติทางยาของสมุนไพร) โดยมากพบตามป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้งแถบชายแดนภาคตะวันออกเฉียงเหนือติดกับชายแดนเขมร ได้มีชาวบ้านนำเอามา (ส่วนรากและลำต้น) มาต้ม และดื่มแทนน้ำทุกวัน ในขณะที่เป็นโรคไข้หวัดใหญ่ ซึ่งอาการไข้จะหายเป็นปกติ และบริเวณที่ริมฝีปากก็หายเป็นปกติ นอกจากนี้ยังสามารถสกัดสารอื่นๆ นอกจาก Flavonoids และ phenolics ได้แก่ Anthocyanin, B-sitosterol, Tannins, Sigmasterol และ Triterpenes (สุรเดช มหารมณ และภาสกริ มหารมณ) ในรูปของผลซึ่งได้อัดเป็นเม็ด (Tablet) และใช้สารละลายจากลำต้น เมล็ดและรากเป็น solution ต่อมาในปี 1994 สุรเดช มหารมณ ได้นำสารสกัดที่แยกได้มาทดลองรักษาในไก่ ซึ่งป่วยเป็นโรคไข้หวัดที่เกิดจากเชื้อไวรัส โดยให้ดื่มแทนน้ำติดต่อกัน 2 วัน ผลปรากฏว่าไก่ทุกตัวหายเป็นปกติและรอดชีวิตทุกตัว และได้นำไปใช้ในการรักษาโรคท้องร่วงในสุนัข ซึ่งพบว่าสามารถรักษาหายได้ (Smidt Snansiang)

ต่อมาในปี 1994 สุรเดช มหารมณ ได้นำสารละลายที่แยกสารประกอบ flavonoids และ phenolics ที่ใช้ในการรักษาผู้ติดเชื้อ HIV และผู้ป่วยเอดส์หลายราย พบว่า สามารถลดจำนวน viral load อย่างมีนัยสำคัญ และไม่ปรากฏว่ามี side effect ใดๆ รวมทั้งผลกระทบต่ออวัยวะอื่นๆ ของร่างกาย เช่น ตับและไต เป็นต้น หลังจากนั้นในปี 1998 สุรเดช มหารมณ และพญ. ภาสกริ มหารมณ (สุรเดช มหารมณ และภาสกริ มหารมณ, Suradej Maharom, Pasri Maharom) ได้นำมาใช้เป็นยารักษาผู้ป่วยติดเชื้อ HIV อย่างจริงจัง โดยได้ผลิตออกมาในรูปยาเม็ดและยาน้ำ มีผู้ป่วยทั้งหมด 56 คน ผลปรากฏว่า viral load ลดลง และสามารถยืดอายุขัยของผู้ป่วยบางรายที่ติดเชื้อ HIV รุนแรงจนเกิดโรคติดเชื้อฉวยโอกาส (opportunistic disease) แทรกแซง และในปีเดียวกันหลังจากได้รับใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณ (สุรเดช มหารมณ) ที่ G269/41 แล้ว นายแพทย์สมบัติ สนั่นเสียง (สุรเดช มหารมณ และภาสกริ มหารมณ) ได้นำยานี้ไปรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ HIV จำนวน 20 ราย และผู้ป่วยในขั้น ARC (AIDS Related Complex) จำนวน 10 ราย ผลปรากฏว่า overall health ดีขึ้นทุกราย และผู้ป่วยเอดส์ (Full Brown AIDS) สามารถรอดชีวิตอยู่ได้เป็นปี และเสียชีวิตลงด้วยโรค opportunistic disease เช่น Kaposi Sarcoma, TB, Encephalitis ฯลฯ

สำหรับผลของยาสมุนไพรต่อเชื้อ HIV พบว่ามีผลต่อจำนวนเชื้อไวรัส และปริมาณของ viral load มีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ต้องคำนึงถึง stage ของผู้ป่วยในการรักษาด้วย ถ้ามี opportunistic disease เกิดขึ้น จำเป็นต้องใช้ยารักษาโรคเฉพาะโรคร่วมด้วย เช่น วัณโรค ต้องใช้ยา antituberculous drug ร่วมด้วยจึงสามารถช่วยให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นได้ นอกจากนี้ผลข้างเคียงของการใช้ยาที่สกัดจากสมุนไพรมะเมาะ โดยได้ตรวจด้าน blood chemistry ของผู้ติดเชื้อ HIV ก่อนและหลังให้ยา ในระยะเวลา 5 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ blood chemistry รวมทั้ง electrolyte ด้วย รวมถึงผู้ป่วยทุกรายมีน้ำหนักและมีความอยากอาหารเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์และแพทย์ชาวญี่ปุ่น (Ishitsuka *et al.*, 1982; Kuroyanagi *et al.*, 1987; Takeshi *et al.*, 1982; Takeshi *et al.*, 1985) ที่ได้นำเอา methoxy flavone จากสมุนไพรตัวอื่นๆ ซึ่งองค์ประกอบส่วนหนึ่งของสมุนไพรชนิดนี้ ได้นำมาทดลอง จนพบว่าเป็น Extra verrucidal effect ที่จะนำมาใช้เป็น indicator หรือ marker สำคัญต่อการพัฒนาสารประกอบดังกล่าวนี้ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคเกี่ยวกับเชื้อไวรัสที่มี virulent สูง เช่น HIV ได้อย่างต่อเนื่อง นับได้ว่ายาสมุนไพรเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่ง แม้ว่าจะยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับด้านเภสัชวิทยา เภสัชจลนศาสตร์ และพิษวิทยา ของสมุนไพรยามะเมาะอย่างละเอียดทั้งในประเทศและต่างประเทศก็ตาม

เมาหลวงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Antidesma acidum* RetZ. จัดว่าอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae (เต็ม, 2523) มีชื่อเรียกอื่นๆ ได้แก่ เม่าควาย เม่าแดง เม่าสร้อย เป็นต้น ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูง 2-6 เมตร ลำต้นเดี่ยว เนื้อไม้แข็ง กิ่งแตกแขนงเป็นพุ่มทรงกลม กิ่งอ่อนและยอดอ่อนมีขน ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับ เป็นรูปวงรีหรือรูปไข่ ดอกมีสีขาวอมเหลือง ขนาดเล็ก ออกเป็นช่อที่ซอกใบและปลายกิ่ง แต่ละช่อประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมาก หลังดอกร่วงจะติดผลซึ่งมีลักษณะกลม ขนาดเล็ก ฉ่ำน้ำ ผลอ่อนสีเขียวอมขาว เมื่อสุกจะเป็นสีแดงแกมม่วงหรือสีม่วงเข้ม มีเมล็ดเดี่ยวขนาดเล็ก และใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์ สามารถพบต้นเม่าขึ้นตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง และป่าโปร่งทั่วไป ฤดูกาลที่เก็บส่วนขยายพันธุ์ คือ เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคม ฤดูกาลเก็บเกี่ยวเพื่อใช้ประโยชน์ คือ ฤดูฝน

การใช้ประโยชน์ของเม่าสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การใช้ประโยชน์ทางอาหาร และการใช้ประโยชน์ทางยา (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2542)

- การใช้ประโยชน์ทางอาหาร

ผลสุก	รับประทานเป็นผลไม้สด ทำแยม ทำไวน์และน้ำผลไม้ พบว่ามีวิตามินเอ อี และซีสูง
ยอดอ่อนและใบอ่อน	เป็นผักสดรับประทานร่วมกับน้ำพริก หรือนำมาแกงกับเห็ดหอมหรือเห็ดห่านสีเหลืองขาว มีรสเปรี้ยว

- การใช้ประโยชน์ทางยา

ลำต้นและราก	ต้มน้ำดื่ม ขับปัสสาวะ บำรุงไต แก้กษัย แก้มดลูก
-------------	--

	อีกเสบซ้ำบวมและมดลูกพิการ แก้กตขาว ช่วยขับ โลหิตและน้ำคาวปลา แก้ปวดเมื่อยตามร่างกายและเส้น เอ็นพิการ
ใบ	แก้โลหิตจาง ช่วยให้เลือดไหลเวียนดี มักใช้ต้มน้ำให้ สตรีหลังคลอดดื่มและอาบ
ผล	เป็นยาระบาย ขับเสมหะ แก้ไอ

ส่วนต่าง ๆ ของต้นเม่าสามารถนำมาสกัดสารได้หลายชนิด โดยพบว่าสารสำคัญในการออกฤทธิ์ ได้แก่ methoxy flavone และ phenolics นอกจากนี้ยังสามารถสกัดสารอื่น ๆ ได้แก่ anthocyanin,  $\beta$ -sitosterol, tannins, stigmasterol และ triterpenes

โสภิต ธรรมอารี และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั่วไป และพิษวิทยาของสมุนไพรมะพร้าวโดยสกัดสารจากรากและเปลือกต้นเม่า พบว่าสารสกัดในขนาด 30 60 และ 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวในหนูขาวได้ สารสกัดในขนาด 50 100 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลต่อแรงบีบของหัวใจ อัตราการเต้นของหัวใจ และแรงบีบตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ สารสกัดในขนาด 30 60 และ 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลในการเสริมฤทธิ์ในการนอนหลับของ pentobarbiturate สารสกัดในขนาด 50 100 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีผลต่อการบีบตัวของหลอดลม และไม่สามารถลดฤทธิ์ของ histamine ได้เมื่อให้ร่วมกัน สารสกัดในขนาด 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดการเคลื่อนที่ของผงถ่านในหนูทดลองได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองใน isolated ileum มีผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้ส่วน ileum

นอกจากนี้เนื่องจากโรค HIV ในคน และ FIV จัดอยู่ในกลุ่มไวรัสเดียวกัน ผลของการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการรักษาโรค FIV ในแมวและยังนำผลงานวิจัยที่ได้เป็นแนวทางในการค้นคว้าวิจัยตัวยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค HIV ในคนได้ต่อไปในอนาคต

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดสมุนไพรมะพร้าวในแมว
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังของสารสกัดสมุนไพรมะพร้าวในแมว
3. เปรียบเทียบผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรมะพร้าวต่อการเปลี่ยนแปลงของอาการทางคลินิก ของแมวที่ติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง
4. เปรียบเทียบผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรมะพร้าวต่อระดับอัตราส่วนของ CD4:CD8 ในเลือดของแมวที่ติดเชื้อโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง
5. เปรียบเทียบผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรมะพร้าวต่อระดับ Virus Load ในเลือดของแมวที่ติดเชื้อโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง



## ทฤษฎี สมมติฐานหรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

### (Conceptual Framework)

สัตว์ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวนมากมักจะแสดงอาการป่วยของโรคเรื้อรังของระบบทางเดินหายใจ ช่องปากอักเสบ ระบบทางเดินอาหาร และ/หรือ ระบบขับถ่ายปัสสาวะ เมื่อรักษาอาการของโรคหายไประยะหนึ่ง สัตว์ก็มักจะกลับมาเป็นโรคนั้นอีกโดยไม่ทราบสาเหตุ เพราะการรักษาส่วนใหญ่เป็นการรักษาตามอาการและการรักษาเพื่อพุงสภาพสัตว์เป็นหลัก ทำให้เกิดความเสียหาย สุขภาพสัตว์ทรุดโทรมอย่างรวดเร็วและเจ้าของสัตว์ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษาเป็นอย่างมาก เป็นการสิ้นเปลืองทางเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง จากการศึกษาเบื้องต้นในปี พ.ศ. 2540 ในแมวที่ป่วยด้วยโรคเรื้อรังเกิน 2 สัปดาห์ขึ้นไป คณะผู้วิจัยได้ตรวจพบหลักฐานการปรากฏแอนติบอดีบ่งชี้การติดเชื้อโรคมูมิคัมกันบกพร่องในแมว (FIV) ในแมวที่แสดงอาการทางคลินิกของโรคเรื้อรังเท่ากับ 32.0% (รสมาและคณะ, 2541)

สำหรับในประเทศไทย คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของการใช้ยา Zidovudine (AZT) ต่ออาการทางคลินิกในแมวที่ติดเชื้อโรคมูมิคัมกันบกพร่องโดยธรรมชาติ พบว่า ยา AZT ในขนาด 5 mg/kg โดยการกินวันละ 2 ครั้ง ทำให้อาการทางคลินิกของแมวดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รสมาและคณะ, 2545) การศึกษาในครั้งนั้นใช้เฉพาะอาการทางคลินิกเป็นตัวประเมินประสิทธิภาพของยา และขาดการศึกษาในรูปของ Placebo-controlled Double-blind Study จึงทำให้การประเมินผลการรักษาของยาอย่างแท้จริงทำได้ยาก

นอกจากนี้การใช้ยา AZT สามารถก่อให้เกิดอาการข้างเคียงในแมวได้ง่ายกว่าการใช้ยาในคน (Hartmann et al, 1995) จึงมีผู้คิดค้นที่จะใช้ยา AZT ร่วมกับยาตัวอื่นเพื่อลดความเป็นพิษของยาที่มักเกิดขึ้นในแมว คณะผู้วิจัยได้ทำการวิจัยเรื่อง "การศึกษาผลของการใช้ยา AZT ร่วมกับ Human Interferon Alpha ต่ออาการทางคลินิกและระดับอัตราส่วน CD4:CD8 ในเลือดของแมวที่ติดเชื้อโรคมูมิคัมกันบกพร่อง: A Placebo-controlled Double-blind Study" ในระหว่างปี พ.ศ. 2545 - 2546 ผลจากการทดลองในระยะแรกชี้ให้เห็นความเป็นไปได้ของการใช้ยา 2 ตัวร่วมกันในการรักษาแมวป่วยด้วยโรค FIV เพื่อเป็นการลดความเป็นพิษของยาในแมวและเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการซื้อยาเนื่องจากยา AZT มีราคาแพงและมักพบอาการข้างเคียงคือภาวะโลหิตจาง จึงไม่สามารถใช้ยาตัวนี้รักษาแมวป่วยในระยะยาวได้ แมวป่วยส่วนใหญ่จึงมักจะกลับมาแสดงอาการป่วยของโรคได้อีก ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยสมุนไพรเพื่อค้นหายาใหม่มารักษาโรค และมีสมุนไพรไทยกว่า 18 ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV ต้านเชื้อฉวยโอกาส และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย (เอมอร, 2543) โครงการวิจัยในครั้งนี้จะมุ่งหวังที่จะศึกษาถึงความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรเมาในแมวและเปรียบเทียบผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรเมาต่ออาการทางคลินิกและการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วน CD4:CD8 และจำนวน Virus Load ในแมวป่วยด้วยการติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง (FIV) โดยทำการศึกษาในรูปแบบของ Placebo-controlled Double Blind Study

## ระเบียบวิธีวิจัย

### 1. สัตว์ทดลอง

- 1.1 แมวทดลองที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเม่าคือ แมวเพศผู้จำนวน 8 ตัว และแมวเพศเมียจำนวน 8 ตัว
- 1.2 แมวป่วยที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2551 โดยไม่จำกัด เพศ พันธุ์ และอายุ ที่ได้รับการตรวจร่างกายทั่วไปและได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นจากสัตวแพทย์ประจำโรงพยาบาลสัตว์เล็ก ร่วมกับ ได้รับการทดสอบหาแอนติบอดีต่อโรค FIV ด้วยการทดสอบ ELISA Test และให้ผลลบเมื่อทำการทดสอบหาแอนติเจนต่อโรค FeLV แมวเหล่านี้จะถูกจัดว่าเป็นแมวที่ป่วยด้วยโรค FIV จะถูกจัดเข้าในการทดลอง

### 2. วิธีการศึกษา

#### 2.1 การเตรียมสารทดสอบ (Test Compound)

เม่าที่เลือกศึกษาคือ เม่าหลวง *Antidesma Acidum* การเตรียมสารสกัดสมุนไพรเม่า ทำโดยการหมักผงแห้งของรากเม่ากับ 95% ethanol แยกส่วน ethanol ทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิต่ำภายใต้สุญญากาศ ได้สิ่งสกัดหรือ crude extract มีลักษณะขุ่นเหนียว สีน้ำตาล เวลาใช้รับประทาน นำมาละลายกับ 5% Tween 80 ได้เป็น solution สีน้ำตาลซึ่งจะทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางกายภาพและเคมี แสดงถึง กระสวน (Pattern) คุณลักษณะ เฉพาะด้านคุณภาพ (quality specification) และควบคุมคุณภาพ โดยตรวจด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) และได้ chromatogram แสดงลักษณะของ ส่วนประกอบในสิ่งสกัด TLC fingerprint

#### 2.2 วิธีการเตรียมสารสกัดสมุนไพรเม่าเพื่อใช้ในการทดสอบ

- 1) ตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายสารสกัดสมุนไพรเม่าในการศึกษาในครั้งนี้คือ 5% Tween 80
- 2) เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรเม่าที่ใช้ในสัตว์ทดลองในขนาด 240mg/kg/BW ของสมุนไพรเม่าที่ใช้ในคนขนาด 60mg/kg ต่อวัน

#### 2.3 การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดสมุนไพรเม่าในแมว

- 1) แมวปกติที่ผ่านการตรวจคัดกรอง (screening test) โรคติดเชื้อต่าง ๆ ด้วยชุดทดสอบ FIV และ FeLV แล้วให้ผลลบ จำนวน 8 ตัว (เพศผู้ 4 ตัว เพศเมีย 4 ตัว)

- 2) ชั่งน้ำหนักแมว เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกโดยละเอียด (CBC, BUN, creatinine, AST, ALT, ALP, glucose)
  - 3) ป้อนสารสกัดสมุนไพรจากรากและเปลือกต้นเหมายแก่แมวทุกตัว ในขนาด 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลานาน 7 วัน
  - 4) สังเกตและบันทึกอาการแสดงของแมวใน 6 ชั่วโมงแรกหลังได้รับสารสกัดอย่างใกล้ชิด  
อาการที่สังเกตมีดังต่อไปนี้
    1. Skin and fur
    2. Eyes and mucous membrane
    3. Respiratory system
    4. Circulatory system
    5. Somatomotor activity and behavior pattern
    6. Tremors, convulsions, salivation, diarrhea, lethargy and coma
  - 5) แมวที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง จะทำการผ่าชันสูตรซาก
  - 6) แมวที่รอดชีวิตจะทำการสังเกตพฤติกรรมของแมวทุกวันใน 7 วันแรก ชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยาโดยละเอียดหลังป้อนสารสกัด 7 วัน และ 14 วัน (วันที่ 8 และ 15 ของการทดลอง) โดยสังเกตพฤติกรรมของแมวในระหว่างที่ทำการทดสอบไปด้วย
  - 7) หากแมวได้รับสารสกัดสมุนไพรจากรากและเปลือกต้นเหมายในขนาดดังกล่าวแล้วไม่ตาย จะทำการทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังต่อไป
- 2.4 การทดสอบเปรียบเทียบผลของสารสกัดสมุนไพรเหมายและยา AZT ต่ออาการทางคลินิก ระดับ  $CD4^+ : CD8^+$  และ virus load ในเลือดของแมวที่ป่วยด้วยการติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง (FIV)
- 1) ทำการบันทึกประวัติและข้อมูลของแมวที่ป่วยด้วยโรค FIV อย่างละเอียด ได้แก่ลักษณะที่อยู่อาศัย ลักษณะการเลี้ยงดู อาหาร ประวัติการทำวัคซีน ประวัติการป่วย

- 2) แมวที่ป่วยด้วยโรค FIV ทั้งหมดจะถูกกำหนดหมายเลขประจำตัวและจะถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มทดลอง 3 กลุ่มโดยการสุ่มแบบ simple random sampling กลุ่มละ 10 ตัว โดยแบ่งเป็น

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม เป็นแมวที่จะได้รับ placebo ในการรักษาตลอดระยะเวลา 21 วัน

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลอง เป็นแมวที่จะได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่า ในขนาด 120 mg/kg โดยการกิน เป็นระยะเวลา 21 วัน

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มทดลอง เป็นแมวที่จะได้รับยา AZT ในขนาด 5 mg/kg โดยการกิน เป็นระยะเวลา 21 วัน

โดยที่ทั้งเจ้าของแมวและสัตวแพทย์ที่ให้การรักษจะถูกปิดบังไม่ให้ทราบว่าแมวตัวนั้นได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มการทดลองกลุ่มใด และกำลังได้รับยาชนิดใด ในขณะทำการศึกษาผลของการใช้ยา (Double-blind Study)

- 3) แมวในแต่ละกลุ่มจะได้รับการตรวจร่างกายโดยละเอียดและจดบันทึกผลการตรวจร่างกายในแบบฟอร์มประเมินสุขภาพก่อนการรักษาและในวันที่ 0,7,14, และ 21 ของการรักษา โดยเฉพาะผลของการใช้ยาต่ออาการทางคลินิกจะประเมินจากสภาพของช่องปาก(oral cavity) และจากสภาพทั่วไปของแมว การประเมินจากสภาพของช่องปากในแมวที่ป่วยด้วยโรค FIV นั้นจะให้คะแนนตั้งแต่ -1 ถึง 2 โดยที่ค่า 0 หมายถึงช่องปากปกติ ค่า 2 หมายถึงมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นรุนแรงภายในช่องปาก ส่วนการประเมินสุขภาพทั่วไปในแมวป่วยจะประเมินจากการชั่งน้ำหนักตัวแมวป่วย ความอยากอาหาร ตลอดจนสุขภาพขน โดยจะให้คะแนนตั้งแต่ -1 ถึง 2 เช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น
- 4) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีคลินิกในวันที่ 0,7,14, และ 21 ของการรักษา ได้แก่ Complete Blood Count (CBC), Blood Urea Nitrogen (BUN), Creatinine, Alanine aminotransferase (ALT), Alkaline phosphatase (ALP)
- 5) ทำการเก็บซีรัมเพื่อหาอัตราส่วน CD4+ต่อCD8+ในเลือดแมวป่วยก่อนและหลังได้รับการรักษาโดยใช้วิธี Whole Blood Lysis (WBL) ซึ่งมีวิธีการดังนี้
- เจาะเลือดแมวทั้งสามกลุ่ม ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อตัว เก็บโดยใส่สารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA) โดยจะเก็บเลือดไว้ไม่เกิน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

- นำเลือดมาปั่นด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที (400 g) 5 นาที จากนั้นใช้ Pipette ดูดส่วนพลาสมาทิ้งไป
- เติมน้ำยา PBS (Phosphate Buffer Saline) 3 มิลลิลิตร แล้วปั่นล้างด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที (400 g) 5 นาที จากนั้นใช้ Pipette ดูด Supernatant ทิ้งไป
- เติมน้ำยา PBS 2 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เตรียมหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด นำเลือดที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองทั้งสาม หลอดละ 100 ไมโครลิตร
- จากนั้น เติม Monoclonal Antibody ดังนี้  
หลอดที่ 1 เติม Mouse IgG FITC-PE (Opticlone™) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น (Vertex) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที  
หลอดที่ 2 เติม Mouse Anti-Feline CD4: FITC (MCA 1346F)\* (CD4<sup>+</sup> maker) 10 ไมโครลิตร และ Mouse Anti-Feline CD5 (MCA 20388)\* (Pan T cell maker) 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น (Vertex) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เติมน้ำยา PBS เพื่อปั่นล้างด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที จากนั้นเติม Goat Anti mouse IgG1: RPE ปริมาตร 5 ไมโครลิตรเพื่อย้อมสี Mouse Anti-Feline CD5 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เติมน้ำยา PBS ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเพื่อปั่นล้างอีกครั้งด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที  
หลอดที่ 3 เติม Mouse Anti-Feline CD4: FITC (MCA 1346F) (CD4<sup>+</sup> maker) 10 ไมโครลิตร และ Mouse Anti-Feline CD8 (MCA 1347PE) (CD8<sup>+</sup> maker) 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น (Vertex) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที
- จากนั้นเติมน้ำยา Lysis Buffer (Becton®) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทั้งสาม เพื่อให้เม็ดเลือดแดงแตก โดยจะสังเกตได้จากสีภายในหลอดทดลองจะเป็นสีแดงใส ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมน้ำยา PBS ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเพื่อปั่นล้างด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที 5 นาที จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวทิ้งทั้งหมด
- เติมน้ำยา PBS ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเพื่อปั่นล้างอีกครั้งด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที 5 นาที จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวทิ้งทั้งหมด

- ทำการ Fixed เซลล์ โดยเติม 1 % Paraformaldehyde 300 ไมโครลิตร เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
  - จากนั้นนำสารละลายทั้งสามหลอดไปตรวจโดยเครื่อง Flow Cytometer (ภายใน 7 วันหลังจากการเตรียมข้างต้น) เพื่อคำนวณอัตราส่วนระหว่าง CD4<sup>+</sup> กับ CD8<sup>+</sup> ต่อไป
  - สรุปผลการศึกษา โดยทำการประเมินปริมาณของ T-lymphocyte และหาระดับของอัตราส่วน CD4<sup>+</sup> ต่อ CD8<sup>+</sup> ในแมวกกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบพร้อมก็นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน
- 6) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดก่อนและหลังการรักษาเพื่อหา Virus Load ตามวิธีของ Kamp และคณะในปี 1999

#### 12.1 การวิเคราะห์ผล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพจากประวัติของแมวที่ตรวจพบการติดเชื้อ FIV โดยการทดสอบแบบไคสแควร์ (Chi square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนข้อมูลเชิงปริมาณก่อนและหลังการรักษาในแมวแต่ละกลุ่มจะถูกทดสอบด้วย paired t-test นอกจากนี้ข้อมูลระหว่างกลุ่มการทดลองทั้งสามกลุ่มจะถูกทดสอบทางสถิติด้วย ANOVA test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

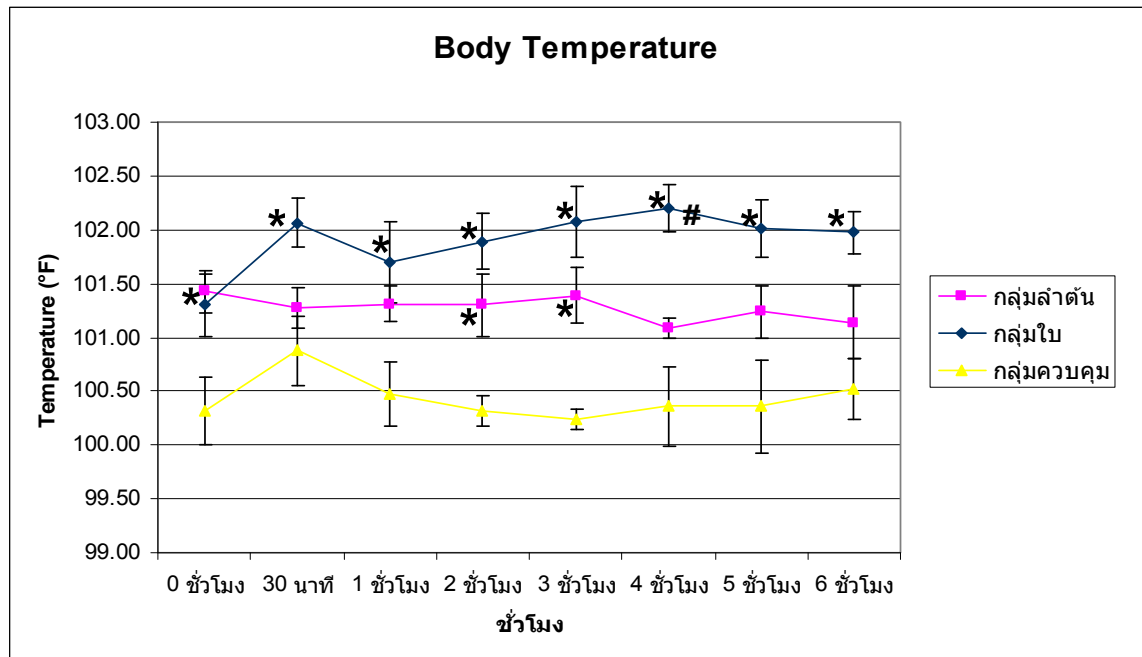
ส่วนที่ 1 การศึกษาในแมวปกติที่ได้รับสารสกัดหยาบเม่า  
ส่วนใบและส่วนลำต้น

## ผลการทดลอง

### ส่วนที่ 1 ผลการศึกษาและวิจารณ์การศึกษาพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลัน ในแมวปกติที่ได้รับสารสกัดหยาบเมา

จากผลการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรเมา (*Antidesma acidum*) ในระยะเฉียบพลัน ที่มีต่ออุณหภูมิร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการหายใจของแมวปกติ โดยทำการป้อนสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบและส่วนลำต้นในวันที่ 0 ของการทดลอง ในขนาด 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวสัตว์ เป็นช่วงเวลา คือ 0 ชั่วโมง 30 นาที 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง 4 ชั่วโมง 5 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง พบว่า ในชั่วโมงที่ 0, 2 และ 3 แมวที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบมีอุณหภูมิร่างกายที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนในนาที่ 30 ชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 พบว่าแมวที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนลำต้นมีอุณหภูมิร่างกายที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และในชั่วโมงที่ 4 พบว่าแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบมีอุณหภูมิร่างกายที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสมุนไพรเมาส่วนลำต้น





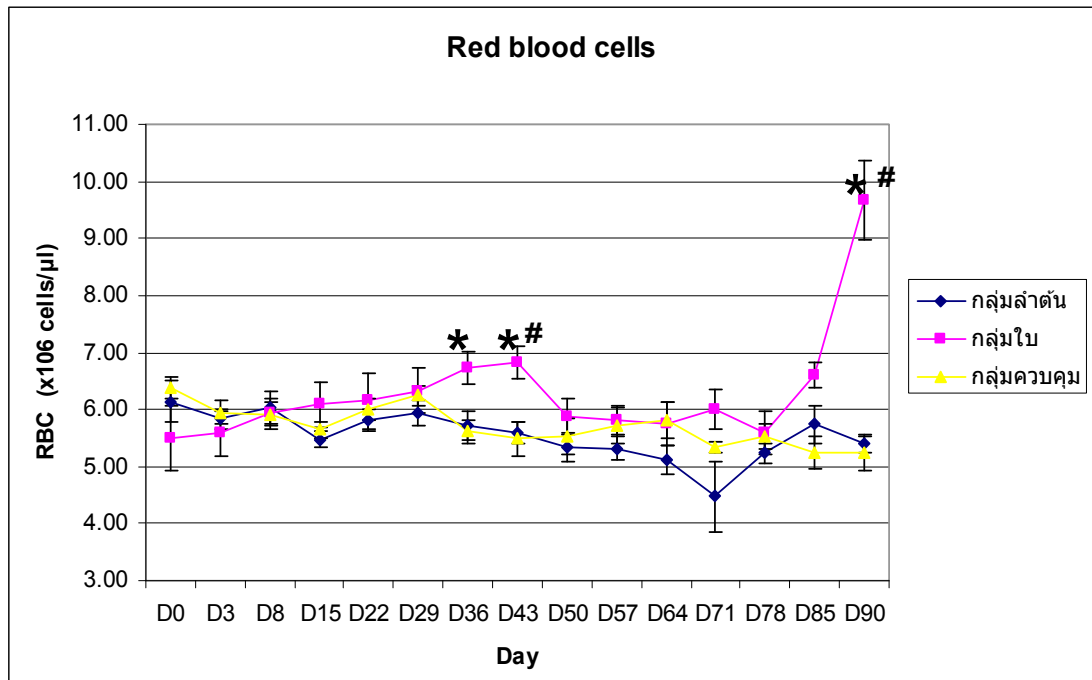
กราฟที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิร่างกายเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มแมวปกติที่ได้รับสารสกัดเมาส่วนใบ ลำตัน ในขนาด 120 mg/kg และกลุ่มควบคุมในวันที่ 0 ของการทดลอง ในช่วงเวลา 0 ชั่วโมง, 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง 5 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง (ตามลำดับ)

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเมาส่วนใบและส่วนลำตัน

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรเมาที่มีต่อหน้าหนักตัว ค่าโลหิตวิทยา และค่าเคมีคลินิก โดยทำการป้อนสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบและส่วนลำตัน ในขนาด 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมหน้าหนักตัวสัตว์ เป็นเวลา 90 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าหน้าหนักตัวในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบ และในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนลำตันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับหน้าหนักตัวของแมวในกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาค่าโลหิตวิทยาของแมวทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าจำนวนเม็ดโลหิตแดงในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในวันที่ 36, 43 และวันที่ 90 ของการศึกษา และพบว่าจำนวนเม็ดโลหิตแดงในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนใบ ในวันที่ 43 และวันที่ 90 ของการศึกษาพบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาส่วนลำตันในช่วงวันเดียวกัน

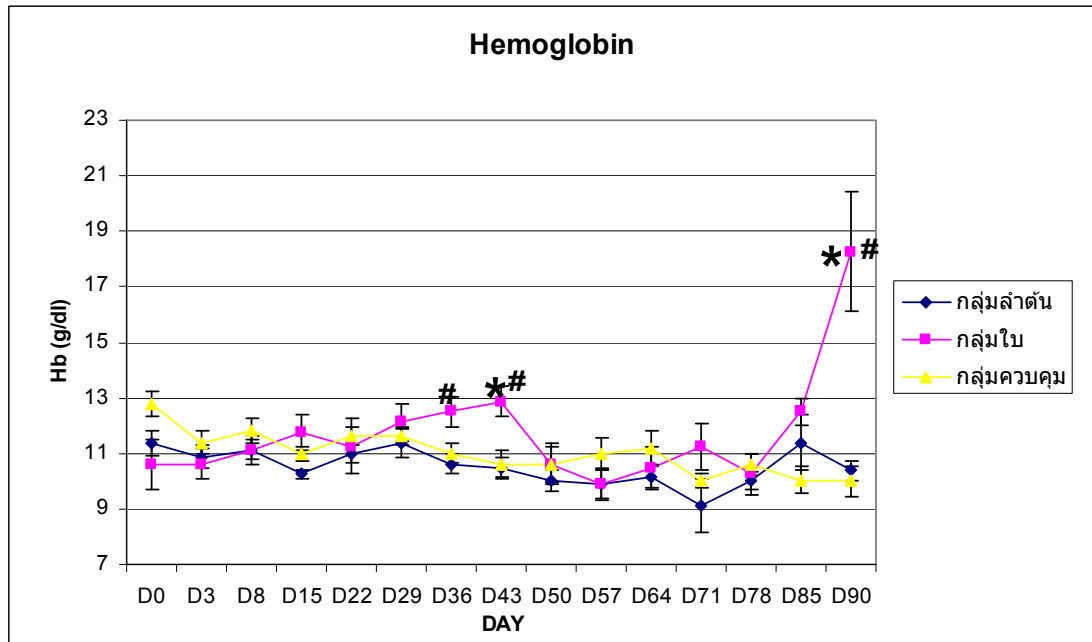


กราฟที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตแดงเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำตัน ไบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนไบและส่วนลำตัน

เมื่อพิจารณาค่าฮีโมโกลบินในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 43 และวันที่ 90 ของการศึกษาพบว่ามีความสูงชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าค่าฮีโมโกลบินในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 36, 43 และวันที่ 90 ของการศึกษา

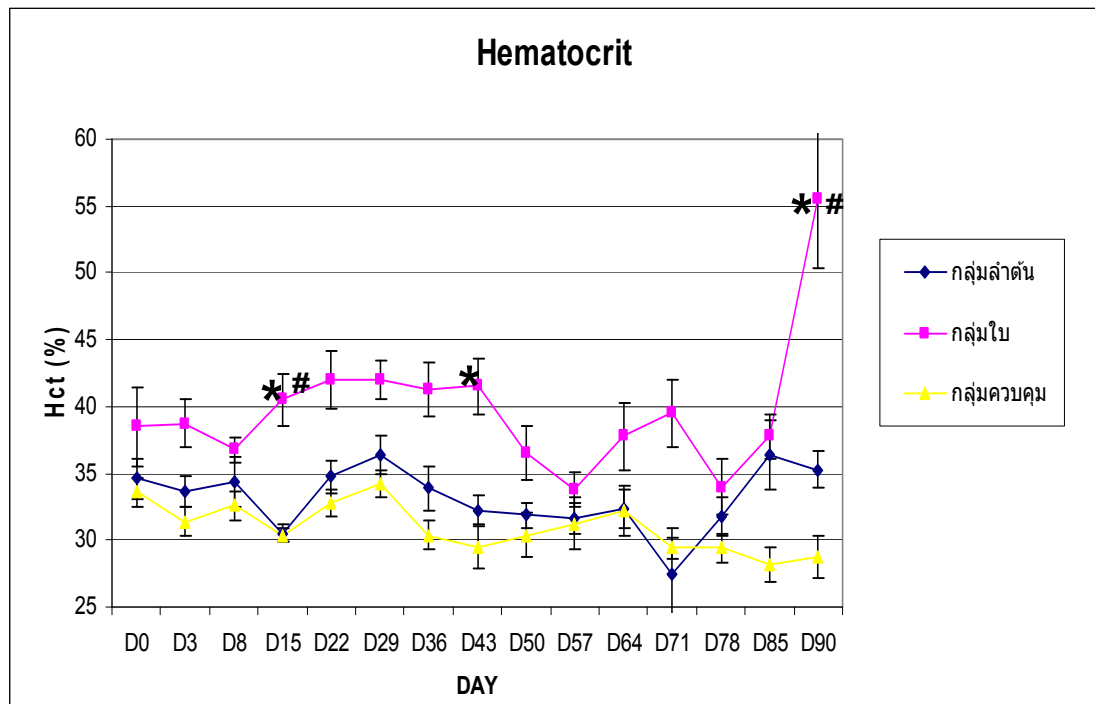


กราฟที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแมวที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

เมื่อพิจารณาค่าฮีมาโตคริตในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 15, 43 และ วันที่ 90 ของการศึกษาพบว่ามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบค่าฮีมาโตคริตในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 15 และวันที่ 90 ของการศึกษาพบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น

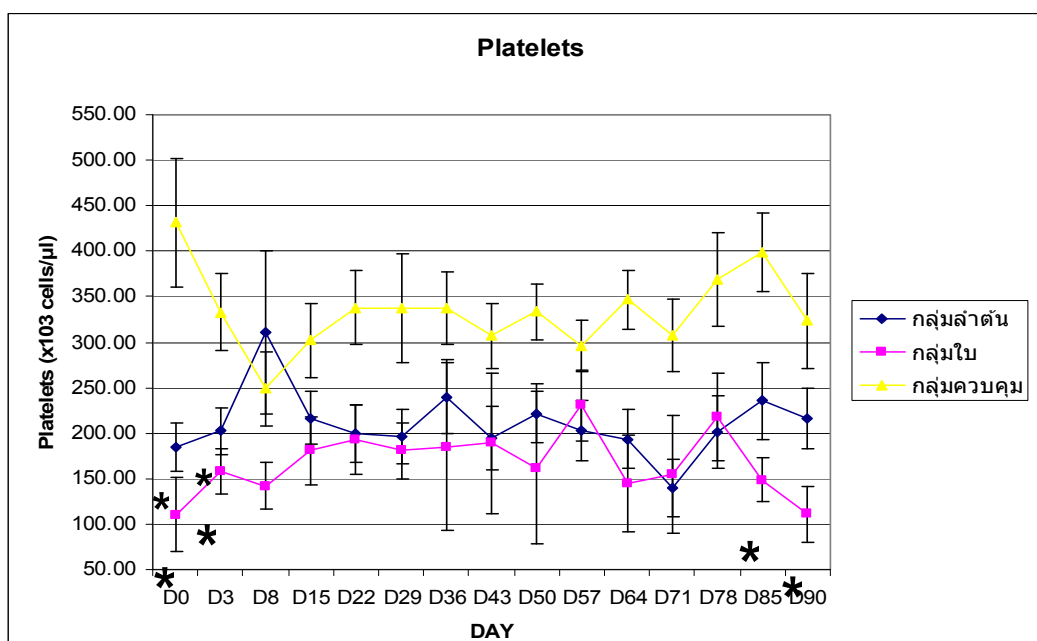


กราฟที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของฮีมาโตคริตเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแมวที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

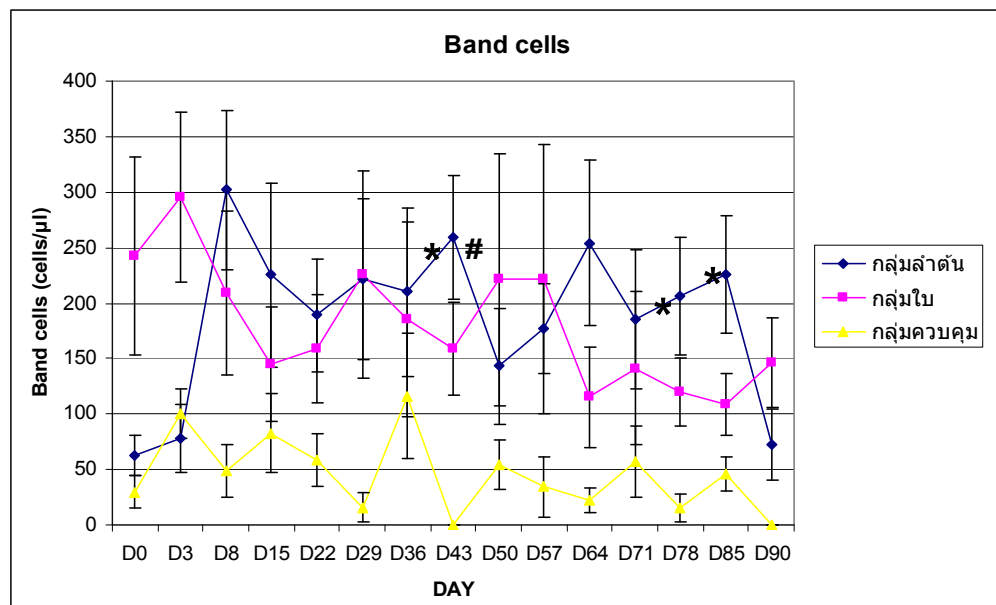
เมื่อพิจารณาจำนวนเกล็ดเลือดในแมวกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 0 และวันที่ 3 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าจำนวนเกล็ดเลือดในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 0, 3, 85 และวันที่ 90 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของเกล็ดเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์อ่อนของเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโทรฟิลในแมวกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 43, 78 และ 85 ของการศึกษาพบว่ามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าจำนวนเซลล์อ่อนของเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโทรฟิลในแมวกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 43 ของการศึกษาพบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น

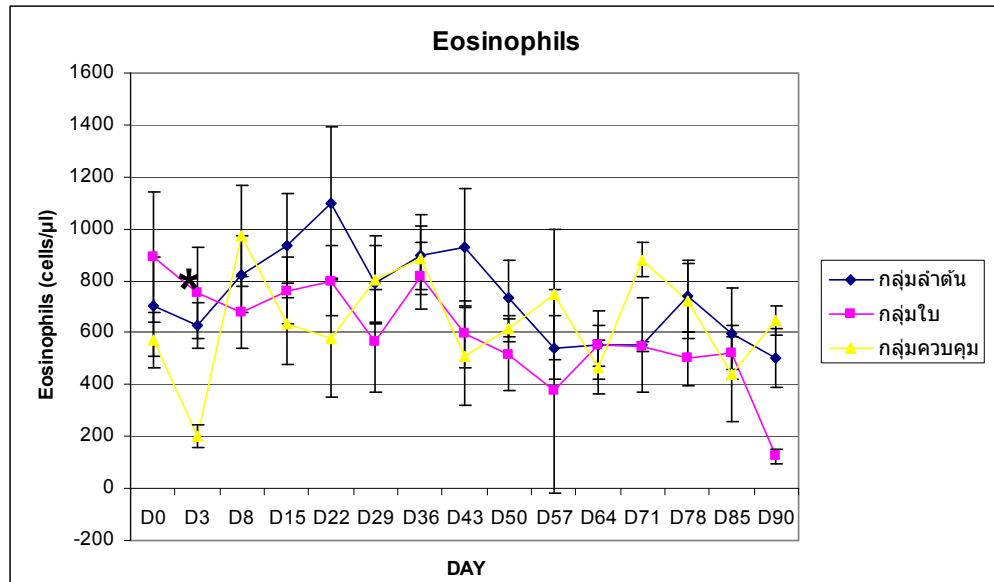


กราฟที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดแบนด์เซลล์เปรียบเทียบระหว่างแมวกทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแมวกที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

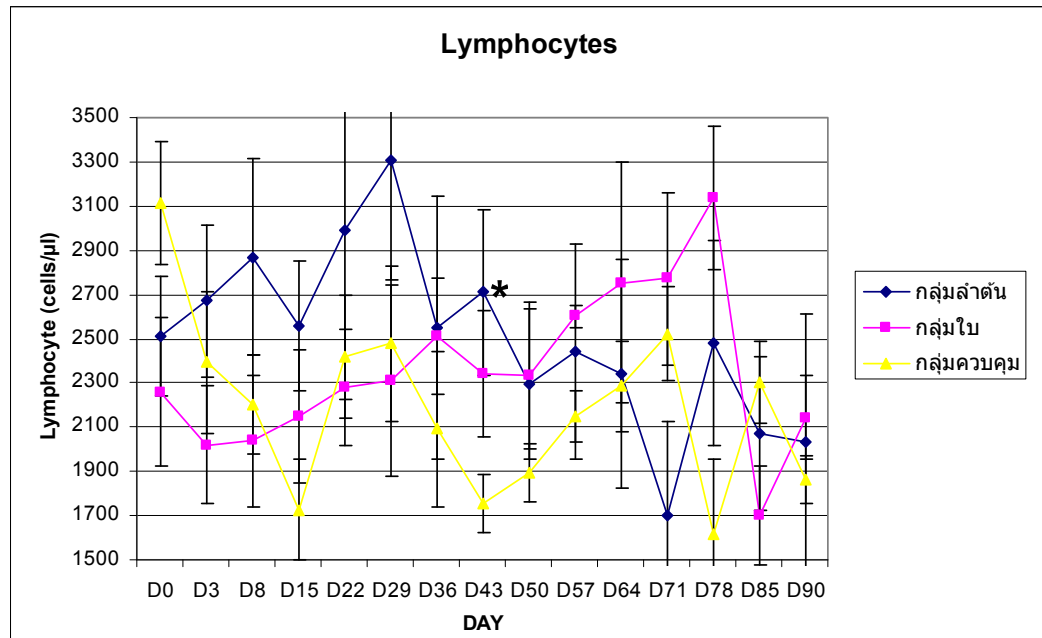
เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิลในแมวกัดกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 3 ของการศึกษาพบว่ามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิลเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์ ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรส่วนลำต้น ในวันที่ 43 ของการศึกษาพบว่ามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

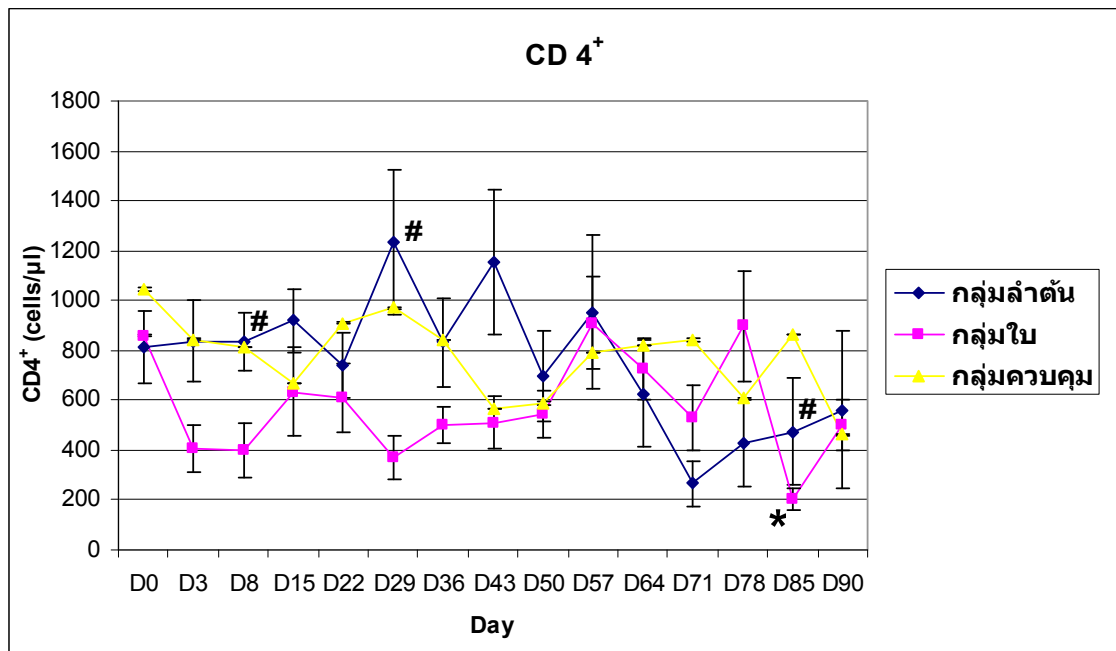


กราฟที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 85 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 8, 29 และวันที่ 85 ของการศึกษาพบว่ามีความสูงกว่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ



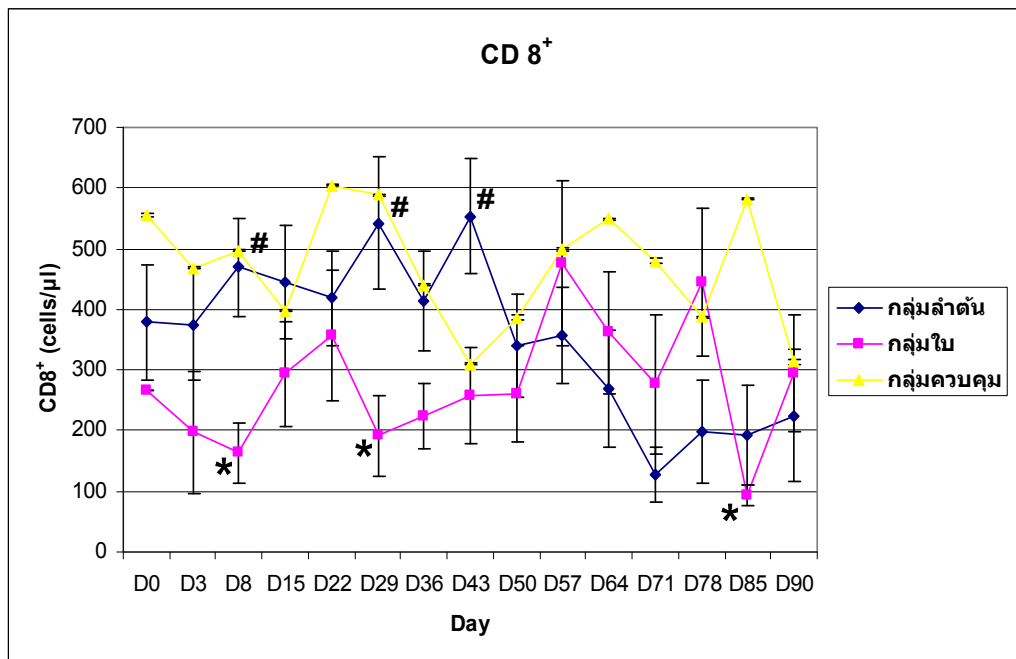
กราฟที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม)

ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 8, 29 และวันที่ 85 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนต้น ในวันที่ 8, 29, และวันที่ 43 ของการศึกษาพบว่ามีความสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

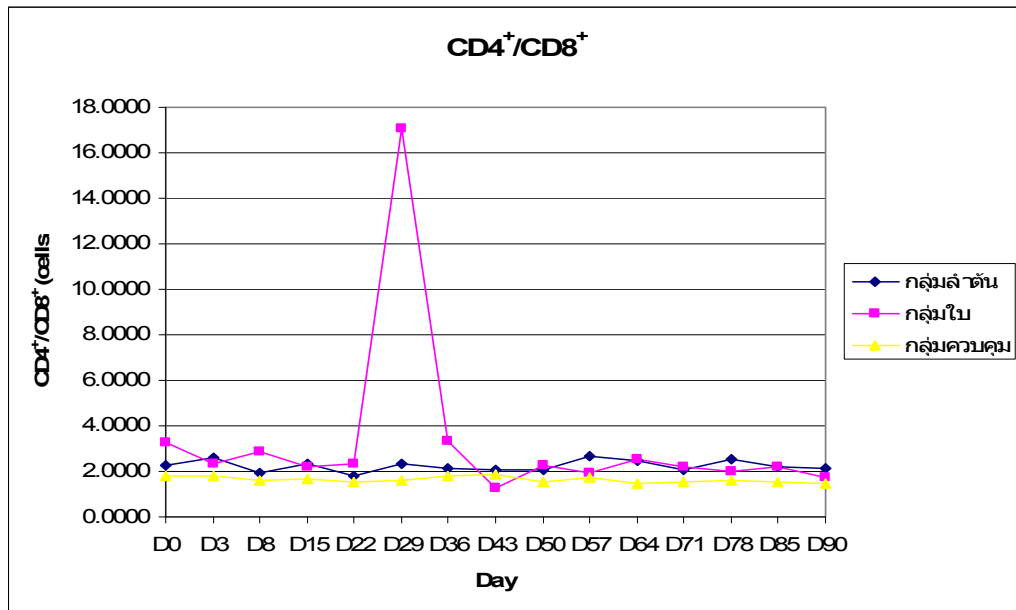


กราฟที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

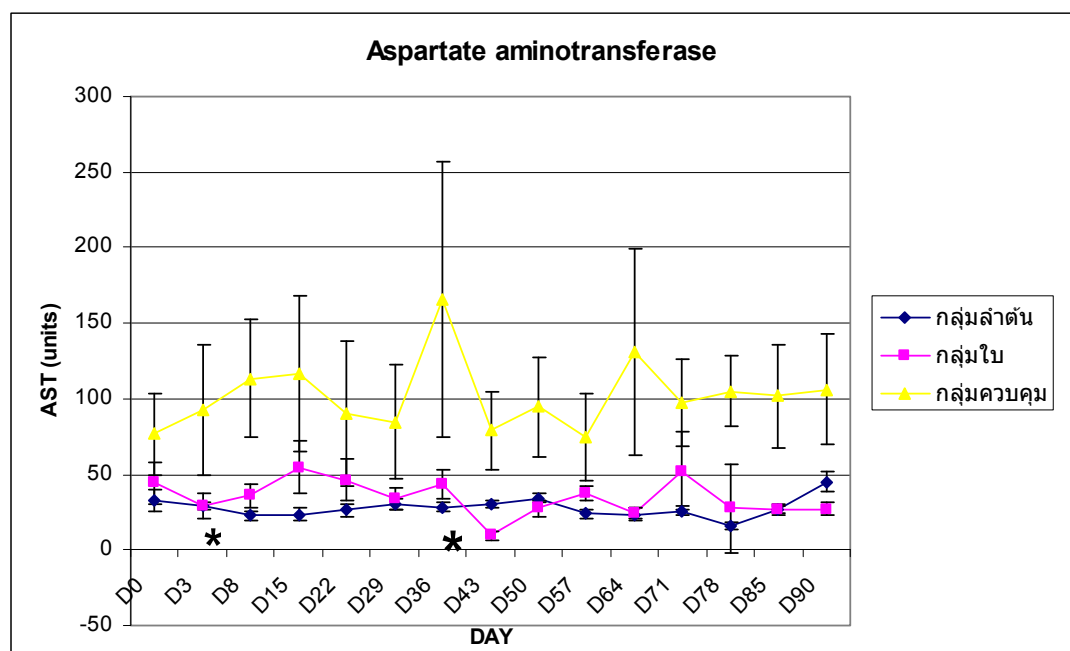
# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแมวที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซตชนิด  $CD4^+/CD8^+$  ในแมวกัดกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบและในแมวกัดกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้นพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซตชนิด  $CD4^+/CD8^+$  เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

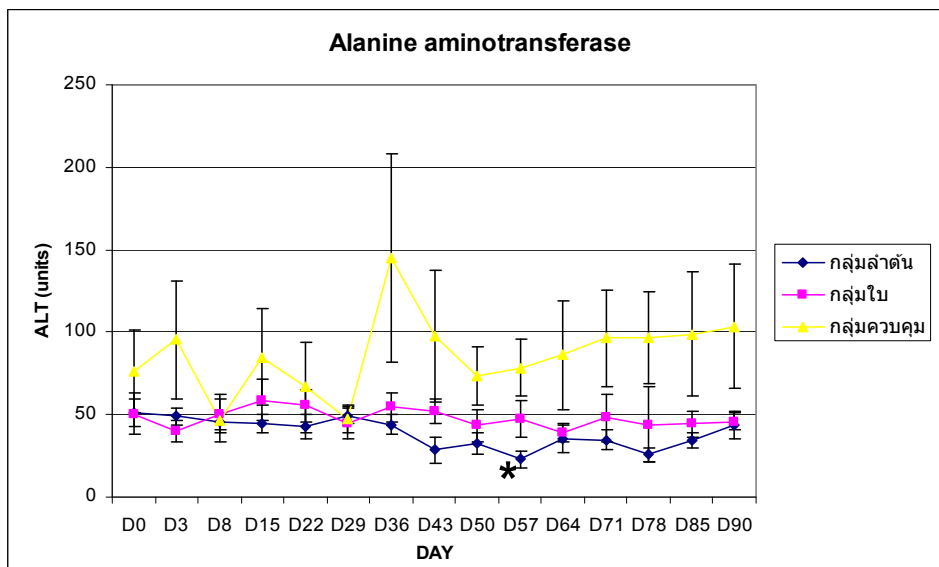
ส่วนค่าเคมีคลินิกจะพบว่า ค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส (Aspartate Aminotransferase; AST) ของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 8 ของการศึกษาพบว่ามีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่า ค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส ในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 43 ของการศึกษาพบว่ามีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ aspartate aminotransferase (AST) ในกระแสเลือด เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

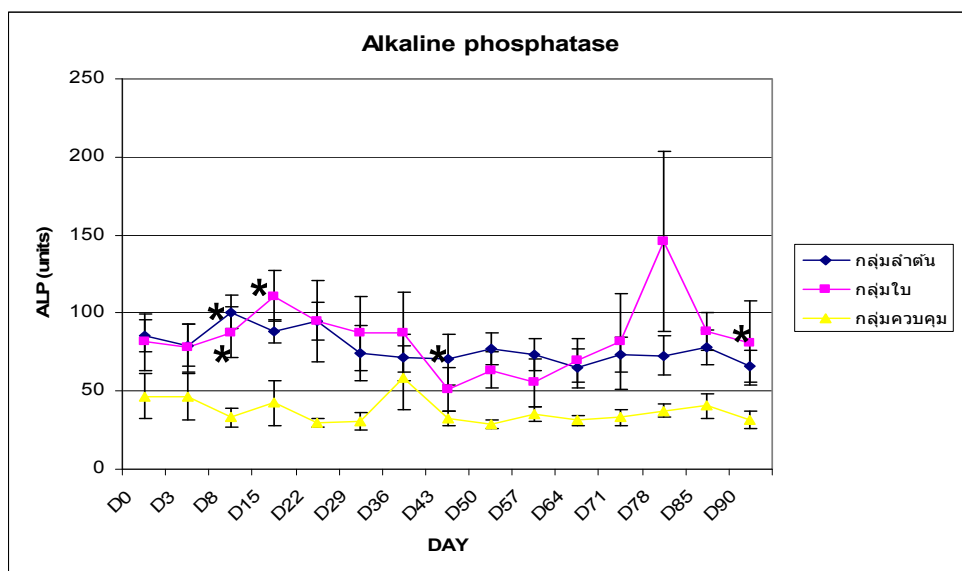
เมื่อพิจารณาค่าเอนไซม์อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส (Alanine Aminotransferase; ALT) ของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 57 ของการศึกษาพบว่า มีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ alanine aminotransferase (ALT) ในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

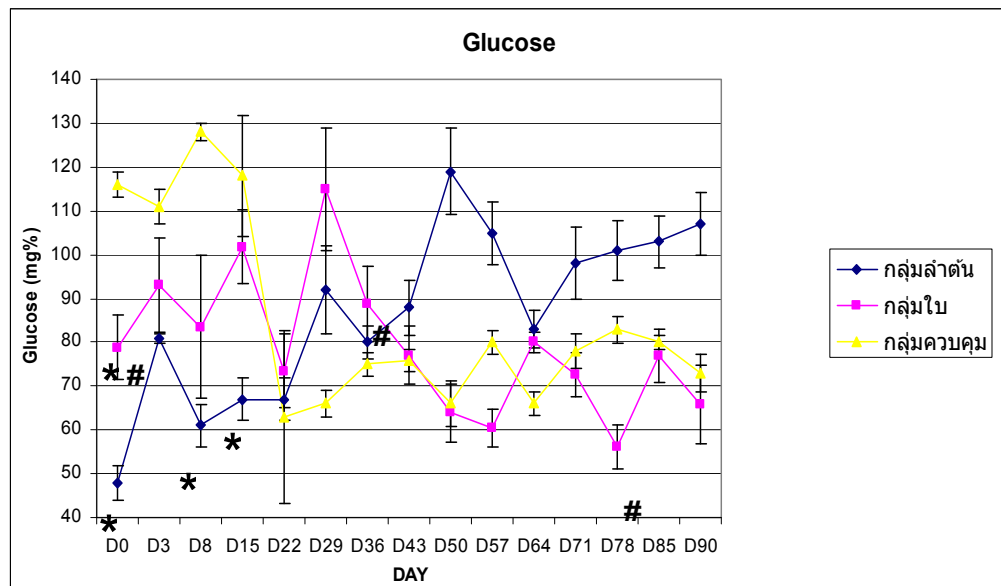
เมื่อพิจารณาค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (Alkaline Phosphatase; ALP) ของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 8 และวันที่ 50 ของการศึกษาพบว่ามีความสูงชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่าเอนไซม์เอแอลพีของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 8, 15 และวันที่ 90 ของการศึกษาพบว่ามีความสูงชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 14 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ alkaline phosphatase (ALP) ในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 0, 8 และวันที่ 15 ของการศึกษาพบว่ามีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อพิจารณาผลการได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ พบว่าค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 0 ของการศึกษาพบว่ามีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 0, 36 ของการศึกษาพบว่ามีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น และในวันที่ 78 ของการศึกษาพบว่ามีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น

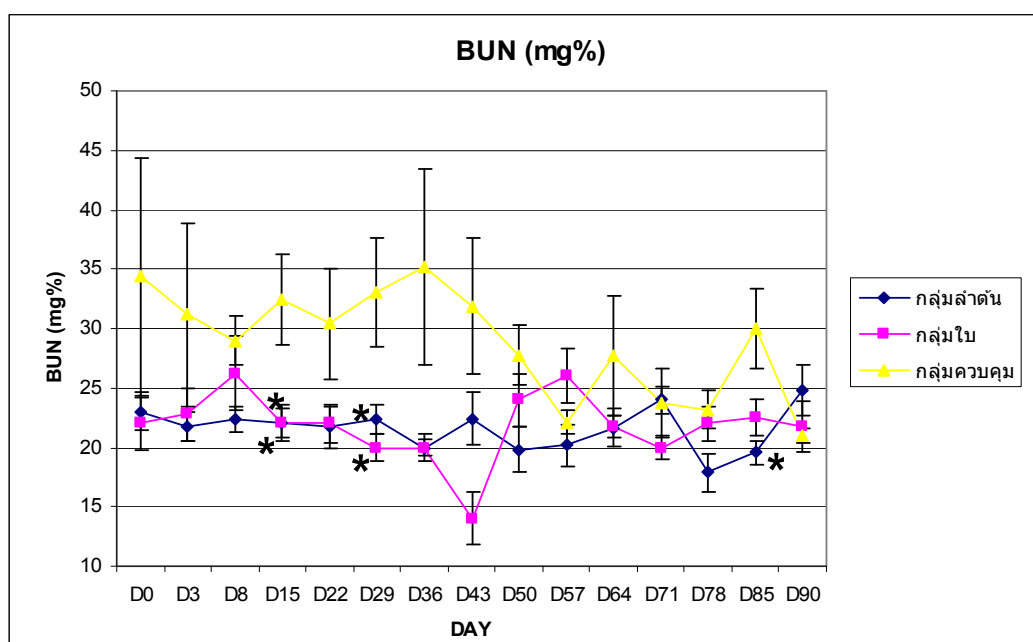


กราฟที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น

เมื่อพิจารณาระดับยูเรียในกระแสเลือด (Blood Urea Nitrogen; BUN) ของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 15, 29 และวันที่ 85 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับค่าระดับยูเรียในกระแสเลือด ของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 15 และวันที่ 29 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

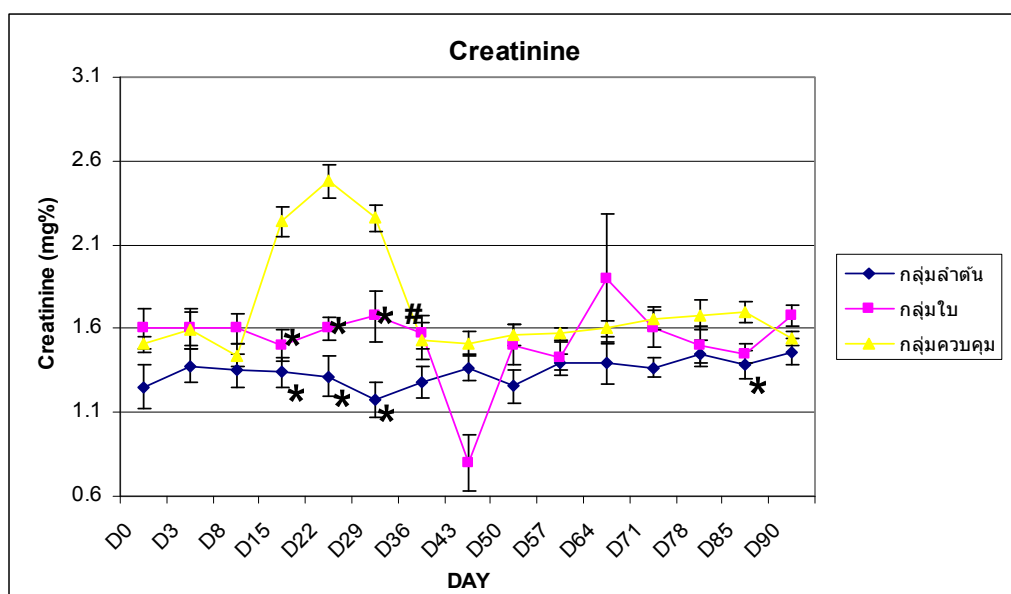


กราฟที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับยูเรียในกระแสเลือด (BUN) เปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้นใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



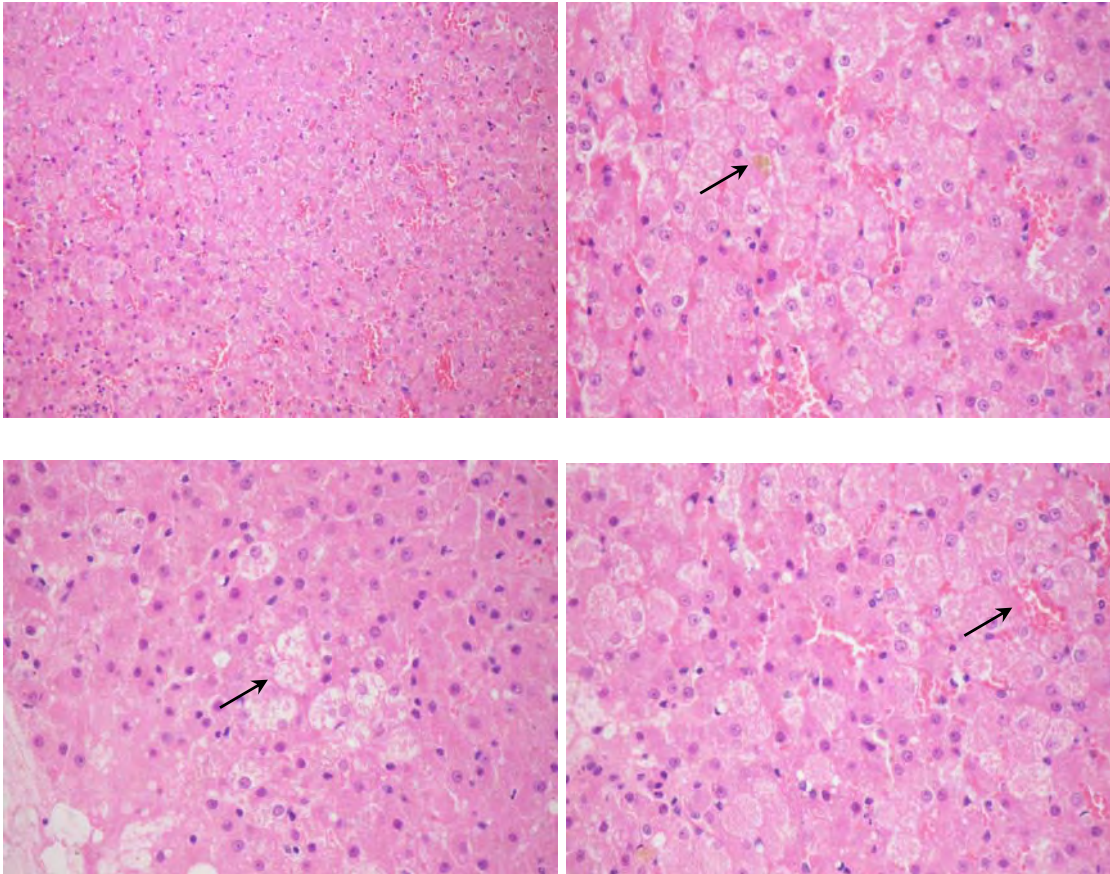
เมื่อพิจารณาค่าครีเอตินีนของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น ในวันที่ 15, 22, 29 และวันที่ 85 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ค่าครีเอตินีนของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 15, 22 และวันที่ 29 มีความต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และนอกจากนี้ค่าครีเอตินีนในแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ในวันที่ 29 ของการศึกษาพบว่ามีความต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



กราฟที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับครีเอตินีนในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวทั้ง 3 กลุ่ม (ลำต้น ใบ และควบคุม) ในวันที่ 0 ถึง 90 ของการทดลอง

หมายเหตุ: \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

# =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเม่าส่วนใบและส่วนลำต้น



รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับของแมวกุ่มมทดลอง พบการคั่งเลือดระหว่างเซลล์ตับระดับอ่อน ร่วมกับมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด นิวโทรฟิล จำนวนเล็กน้อย และการขยายขนาดของเซลล์ Kupffer's cell พบการเสื่อมของเซลล์ตับแบบดึงน้ำเข้าเซลล์โดยเฉพาะรอบเส้นเลือด Central vein โดยเซลล์ตับขยายขนาด พบการตกตะกอนของโปรตีนในไซโตพลาสซึม ร่วมกับขนาดของนิวเคลียสที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ยังตรวจพบการสะสมของของเม็ดสีน้ำดีภายในท่อน้ำดีฝอย กระจายทั่วไป บริเวณ Portal และท่อน้ำดี ไม่พบการรอยโรคใด

รูปภาพที่ 1 revealed centrilobular hydropic degeneration (pale area) (HE staining, bar = 50  $\mu$ m)

รูปภาพที่ 2 revealed diffuse hydropic degeneration of hepatocytes and bile stasis in bile canaliculi (arrow) (HE staining, bar = 25  $\mu$ m)

รูปภาพที่ 3 revealed diffuse hydropic degeneration of hepatocytes (arrow) (HE staining, bar = 25  $\mu$ m)

รูปภาพที่ 4 revealed diffuse hydropic degeneration of hepatocytes and sinusoidal congestion (arrow) (HE staining, bar = 25  $\mu$ m)

เมื่อพิจารณาถึงรูปร่างของเม็ดโลหิตแดง (Blood morphology) พบว่าให้ผลที่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มของแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบ ลำต้น และกลุ่มควบคุม ดังที่แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบรูปร่างของเม็ดโลหิตแดงของแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเม่าส่วนใบ และลำต้นในขนาด 120 mg/kg และกลุ่มควบคุมในวันที่ 0 และวันที่ 90 ของการทดลอง

รูปร่างของเม็ดโลหิตแดง	วันที่ 0			วันที่ 90		
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มใบ	กลุ่มลำต้น	กลุ่มควบคุม	กลุ่มใบ	กลุ่มลำต้น
Microcyte*	5/5 ตัว (100%)	4/8 ตัว (50%)	0/8 ตัว (0%)	4/5 ตัว (80%)	6/8 ตัว (75%)	7/8 ตัว (87.5%)
Macrocyte*	5/5 ตัว (100%)	4/8 ตัว (50%)	1/8 ตัว (12.5%)	1/5 ตัว (20%)	6/8 ตัว (75%)	5/8 ตัว (62.5%)
Hypochromic*	0/5 ตัว (0%)	1/8 ตัว (12.5%)	0/8 ตัว (0%)	0/5 ตัว (0%)	0/8 ตัว (0%)	0/8 ตัว (0%)
Poikilocytosis*	2/5 ตัว (40%)	0/8 ตัว (0%)	6/8 ตัว (75%)	3/5 ตัว (60%)	2/8 ตัว (25%)	3/8 ตัว (37.5%)

\* พบระดับความรุนแรงเฉลี่ยที่ < +1 หรือ น้อยกว่า 25% ต่อกำลังขยาย 1,000 เท่า (อ้อยทิพย์, 2003)

## วิจารณ์

ผลการทดลองให้สารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบและส่วนลำต้นในขนาด 120 mg/kg แก่แมวปกติ เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 90 วัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักร่างกายที่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการศึกษา ผลที่ได้แตกต่างกับการศึกษาก่อนหน้าในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV ซึ่งพบว่าหลังจากได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าเป็นเวลา 5 เดือน ผู้ป่วยทุกรายมีน้ำหนักและมีความอยากอาหารเพิ่มขึ้น (อุษณี, 2002) เนื่องจากแมวที่ศึกษาในส่วนนี้เป็นแมวปกติ จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาเรื่องน้ำหนักตัวในแมวป่วยที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าต่อไป

เมื่อพิจารณาถึงค่าโลหิตวิทยาของการศึกษานี้พบว่าสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบมีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา พบว่าสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบมีผลในการเพิ่มจำนวนเม็ดโลหิตแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต ของแมวปกติที่ได้รับสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดโลหิตแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต หรือการเกิดภาวะ erythrocytosis สามารถแบ่งออกได้เป็น absolute erythrocytosis และ relative erythrocytosis ซึ่ง absolute erythrocytosis หมายถึงการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดโลหิตแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต อันเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของกระบวนการสร้างเม็ดโลหิต

แดงอย่างแท้จริง (Villiers, 2005) ส่วน relative erythrocytosis เกิดจากปริมาตรของพลาสมาในระบบเลือดลดลง ซึ่งพบได้ในกรณีขาดน้ำ ภาวะเลือดข้น (hemoconcentration) หรือปริมาตรของเลือดลดลง (hypovolemia) ทำให้จำนวนเม็ดโลหิตแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต มีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่มวลรวมของเม็ดเลือดแดงยังคงที่ (เจลีเยว, 2005) นอกจากนี้ภาวะ absolute erythrocytosis สามารถแบ่งออกเป็น primary absolute erythrocytosis หรือเรียกอีกอย่างได้ว่า polycythemia vera ซึ่งเกิดจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ตั้งต้นในการสร้างเม็ดเลือด (neoplastic myeloproliferative disorder) และ secondary absolute erythrocytosis ซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของการหลั่งฮอร์โมนอีริโทรพอยอิติน (erythropoietin) ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการสร้างเม็ดโลหิตแดงในไขกระดูก (Karen, 2005) จากการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยคาดว่าผลจากการศึกษาที่ได้นำจะระบุว่าเป็นการเกิดภาวะ absolute erythrocytosis เนื่องจากไม่พบภาวะแห้งน้ำในแมวปกติทั้งหมดที่การศึกษา และพบการเปลี่ยนแปลงด้านขนาดของเม็ดโลหิตแดงแต่ไม่ได้มีการวินิจฉัยแยกแยะถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะ absolute erythrocytosis ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตถึงผลของสารสกัดสมุนไพรเม้าต่อการเปลี่ยนแปลงของการสร้างเม็ดโลหิตแดงในแมว

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  พบว่าสารสกัดสมุนไพรเม้าส่วนใบมีผลทำให้ปริมาณเซลล์เม็ดโลหิตขาวลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ในแมวปกติมีระดับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ในแมวปกติที่ได้รับสารสกัดหยาดสมุนไพรเม้าส่วนลำต้นนั้นพบว่ามีความ  $CD4^+$  ในกระแสเลือดสูงกว่ากลุ่มแมวปกติที่ได้รับสารสกัดส่วนใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ส่วนสารสกัดสมุนไพรส่วนลำต้นมีผลในการเพิ่มค่าปริมาณเม็ดโลหิตขาวโดยพิจารณาจากค่าปริมาณเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์ในแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์นั้นเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเม้าส่วนลำต้นเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immunomodulatory agent) ผลการศึกษาในครั้งนี้แตกต่างกับการทดลองของ กัมมมาล (2003) ที่พบว่าสารสกัดสมุนไพรเม้าไม่มีผลในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์แต่พบว่าเพิ่มระดับของ interferon- $\gamma$  และ interleukin-2 ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบในระบบภูมิคุ้มกัน ส่วนกลไกในการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต นอกจากนี้การตรวจพารามิเตอร์อื่นๆที่เกี่ยวข้องที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น natural killer cell activity และ สารสื่ออักเสบ (cytokine) ชนิดต่างๆ ก็เป็นสิ่งที่ต้องศึกษาต่อไปในอนาคตด้วยเช่นกัน

เมื่อพิจารณาถึงค่าเคมีคลินิกพบว่าแมวปกติที่ได้รับการบ่อนสารสกัดสมุนไพรเม้าส่วนลำต้นมีผลทำให้มีค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส และ อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนสารสกัดสมุนไพร

เม่าส่วนใบมีผลทำให้ค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรสของแมวปกติ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้จะอยู่ในเซลล์ตับ ถ้าเซลล์ตับมีการเสียหาย ระดับของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจะเพิ่มขึ้นในกระแสโลหิต เอนไซม์อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส มีความจำเพาะต่อตับซึ่งแตกต่างกับเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส ที่พบว่ามีความจำเพาะต่อตับน้อยกว่าแต่มีความไวในการตรวจพบมากกว่า เนื่องจากสามารถพบเอนไซม์นี้ได้ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง ไต และสมอง (Gunew, 2003) การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดสมุนไพรม่าส่วนใบและส่วนลำต้นมีผลช่วยลดค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส และ อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส แสดงถึงว่าสารสกัดสมุนไพรม่าทั้งส่วนใบและลำต้นมีฤทธิ์ในการลดเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับตับในแมวปกติ สำหรับผลในแมวป่วยน่าจะมีการศึกษาต่อไป และอาจนำผลที่ได้ไปประยุกต์ใช้เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ป่วยที่มีค่าเอนไซม์ตับสูงได้ในอนาคต

ปกติในแมวมี่เอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส เป็นองค์ประกอบอยู่ในผนังของท่อน้ำดีที่อยู่ภายในเซลล์ตับ และนอกจากนี้ยังสามารถพบอนุพันธ์ของเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (isoenzyme) ได้ในตับ กระจก ไต ลำไส้ และรก โดยเอนไซม์ที่พบภายในเซลล์ตับมีค่าครึ่งชีวิตสั้นประมาณ 6 ชั่วโมง ดังนั้นจึงไม่เป็นที่นิยมในการนำมาเป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการบ่งบอกการเสียหายของเซลล์ตับ แต่การเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส เพียงเล็กน้อยสามารถบ่งบอกถึงความผิดปกติของท่อน้ำดีได้ ถึงแม้ว่าค่าที่เพิ่มขึ้นนี้จะยังคงอยู่ในช่วงที่ปกติก็ตาม (Gunew, 2003) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าแมวปกติทั้งที่ ได้รับสารสกัดสมุนไพรม่าส่วนใบและส่วนลำต้นมีผลทำให้ค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส ที่สูงขึ้นนี้ยังอยู่ในช่วงที่ปกติ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรม่าส่วนใบและส่วนลำต้นอาจไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของน้ำดี ซึ่งควรตรวจวัดระดับของเอนไซม์แกมมา กลูตามีนทรานสเฟอเรส (gamma-glutamyltransferase; GGT) ประกอบด้วยในแมวเนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่บ่งชี้ภาวะความผิดปกติของท่อน้ำดีในแมว (Stonehewer, ) และนอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส ในแมวไม่ได้ขึ้นอยู่กับที่ได้รับสารสเตียรอยด์ (Villiers, 2005) ซึ่งแตกต่างจากในสุนัขที่ได้รับสารสเตียรอยด์นั้นจะมีผลทำให้เอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตสของสุนัข มีระดับสูงขึ้นโดยตรง Singh และ Sandhu (2007) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสเตียรอยด์ที่เป็นส่วนประกอบของสมุนไพรม่าที่ใช้ในทางการแพทย์พบว่า มีสารประกอบสเตียรอยด์หลายชนิดที่อยู่ภายในพืชสมุนไพรม่า เช่น สารประกอบ Beta-sitosterol ซึ่งเป็นสารประกอบสเตียรอยด์ที่มักจะนำมาทำการรักษา โดยพบอยู่ในพืชสมุนไพรม่าจำนวนมากรวมทั้ง *Serenoa Repens* (Saw Palmetto) หรือสารประกอบ *Smilax officinalis* ที่พบอยู่ใน *Rubus idaeus* (Raspberry) เป็นต้น สารประกอบสเตียรอยด์เหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบและระงับอาการปวด รวมทั้งมีผลทำให้ค่าเอนไซม์เอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส ในสุนัขมีค่าสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงระดับยูเรียในกระแสเลือดและค่าครีเอตินิน พบว่าแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรส่วนใบและส่วนลำต้นมีผลในการช่วยลดระดับยูเรียในกระแสเลือดและค่าครีเอตินินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนกลไกในการทำงานของสมุนไพรในการลดค่า creatinine และผลต่อการทำงานของไตจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

เมื่อพิจารณาถึงรูปร่างของเม็ดโลหิตแดง พบว่าแมวปกติกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนใบตรวจพบลักษณะเม็ดโลหิตแดงซึ่งมีขนาดไม่เท่ากัน (anisocytosis) โดยเป็นเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดเล็กกว่าปกติ (microcyte) คิดเป็น 75% ของจำนวนแมวทั้งหมดในวันที่ 90 ของการทดลอง และเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ (macrocyte) คิดเป็น 75% ของจำนวนแมวทั้งหมดในวันที่ 90 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบเม็ดโลหิตแดงที่มีรูปร่างผิดปกติชนิด echinocyte (crenated cell หรือ burr cell) stomatocyte และ tear drop คิดเป็น 25% ของจำนวนแมวทั้งหมด ในวันที่ 90 ของการทดลอง ส่วนกลุ่มแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าส่วนลำต้นตรวจพบเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดเล็กกว่าปกติ (microcyte) คิดเป็น 87.5% ของจำนวนแมวทั้งหมด และพบเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ (macrocyte) คิดเป็น 62.5% ของจำนวนแมวทั้งหมด ในวันที่ 90 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบเม็ดโลหิตแดงที่มีรูปร่างผิดปกติ เช่น echinocyte stomatocyte และ tear drop โดยคิดเป็น 37.5% ของจำนวนแมวทั้งหมด เมื่อพิจารณาถึงรูปร่างของเม็ดโลหิตแดงในกลุ่มควบคุมพบเม็ดโลหิตแดงมีขนาดไม่เท่ากัน (anisocytosis) โดยเป็นเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดเล็กกว่าปกติ คิดเป็น 80% ของจำนวนแมวทั้งหมด และเม็ดโลหิตแดงที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ คิดเป็น 20% ของจำนวนแมวทั้งหมด ในวันที่ 90 ของการทดลอง และนอกจากนี้ยังพบเม็ดโลหิตแดงที่มีรูปร่างผิดปกติชนิด echinocyte คิดเป็น 60% ของจำนวนแมวทั้งหมด ในวันที่ 90 ของการทดลอง ซึ่งตรวจพบจำนวนของเม็ดโลหิตแดงที่มีรูปร่างแตกต่างกันดังที่กล่าวในระดับความรุนแรงเฉลี่ยอยู่ที่น้อยกว่า +1 หรือน้อยกว่าร้อยละ 25 ต่อกำลังขยาย 1,000 เท่า ซึ่งเป็นจำนวนที่น้อยมากจึงไม่ถือเป็นความผิดปกติที่เกิดจากการที่แมวปกติเหล่านี้ได้รับการป้อนสารสกัดจากพืชสมุนไพรเม่า

รูปร่างของเม็ดโลหิตแดงของแมวปกติจะมีขนาดเล็กกว่าในสุนัข โดยมีขนาด  $5.5 - 6 \mu\text{m}$  และมักจะพบลักษณะเป็นหนามแหลมกระจายสม่ำเสมอบนผิวเม็ดโลหิตแดง เรียกว่า echinocyte และติดสีขาวกลางเซลล์เล็กน้อย (central pallor) (Rebar, 2001) โดยทั่วไปสาเหตุส่วนใหญ่ที่อาจตรวจพบเซลล์ชนิด echinocyte คือเกิดจากการสเมียร์เลือดที่แห้งช้า ทำให้เม็ดเลือดแดงเหี่ยว (เจลียว, 2005) และยังสามารถพบลักษณะที่เม็ดเลือดแดงเรียงซ้อนกันคล้ายตั้งเหรียญ (rouleaux formation) ได้ในแมวที่ปกติ (Feldman, 2000) ซึ่งถ้าพบลักษณะนี้มากในแมว อาจเกิดจากความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาเพิ่มขึ้นโดยส่วนที่เพิ่มอาจจะเป็นกลอบูลิน หรือไฟบริโนเจน (เจลียว, 2005) นอกจากนี้ยังสามารถพบเม็ดโลหิตแดงที่ยังคงมีบางส่วนของนิวเคลียสหลงเหลืออยู่ (Howell-Jolly bodies) โดยจะพบลักษณะเป็นจุดกลมขนาดเล็กที่อาจจะแยกได้ยากจากตะกอนสีที่

เกิดขึ้นจากขั้นตอนการย่อยสลาย ซึ่งพบได้ 1% ของจำนวนเม็ดโลหิตแดง และพบลักษณะ [Heinz bodies](#) ซึ่งเกิดจากส่วนของโปรตีนฮีโมโกลบินที่ถูกทำลาย มีลักษณะกลม ขนาดเล็ก ยื่นออกมาจากผิวของเซลล์เม็ดโลหิตแดงและมีสีที่จางกว่าสีของเม็ดโลหิตแดง โดยสามารถพบได้น้อยกว่า 5% ของจำนวนเม็ดโลหิตแดงในแมวที่ปกติ (Feldman, 2000)

โดยสรุปผลจากการป้อนสารสกัดสมุนไพรแก่แมวปกติทั้งส่วนใบและส่วนลำต้นในขนาด 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมวันละครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 90 วัน ไม่มีผลที่เป็นพิษหรือผลข้างเคียงใดๆต่อร่างกายของแมว เมื่อพิจารณาจากค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก รวมทั้งไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวของแมวตลอดระยะเวลา 90 วันที่ทำการศึกษา ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดสมุนไพรส่วนใบมีผลในการเพิ่มจำนวนเม็ดโลหิตแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต และมีผลในการช่วยลดค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส ส่วนสารสกัดสมุนไพรส่วนลำต้นมีผลในการเพิ่มค่าปริมาณเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์ และเซลล์อ่อนของเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโทรฟิล ซึ่งเซลล์ทั้งสองชนิดนี้เป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย อาจสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพรส่วนลำต้นมีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และนอกจากนี้สมุนไพรส่วนใบและส่วนลำต้นยังมีผลในการช่วยลดค่าเอนไซม์แอสพาเตต อะมิโนทรานสเฟอเรส และ อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส และยังมีผลในการช่วยลดระดับยูเรียและค่าครีเอตินินในเลือด จึงอาจจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์ป่วยที่มีค่าเอนไซม์ตับสูง หรือสัตว์ป่วยที่อยู่ในภาวะ azotemia ได้ในอนาคต อย่างไรก็ตามก็ควรจะมีการศึกษาต่อไปในอนาคตถึงสารที่ออกฤทธิ์ในสมุนไพรเพื่อที่จะนำไปอธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุล ถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก เพื่อจะได้พัฒนาสมุนไพรมาใช้รักษาสัตว์ป่วยในอนาคต

ส่วนที่ 2 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบสมุนไพรมะเขือใน  
แมวป่วยที่ติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง



## ส่วนที่ 2 ผลของการศึกษาสารสกัดหยาบเม่าในแมวป่วยด้วยโรคภูมิคุ้มกัน

### บทพร้อม

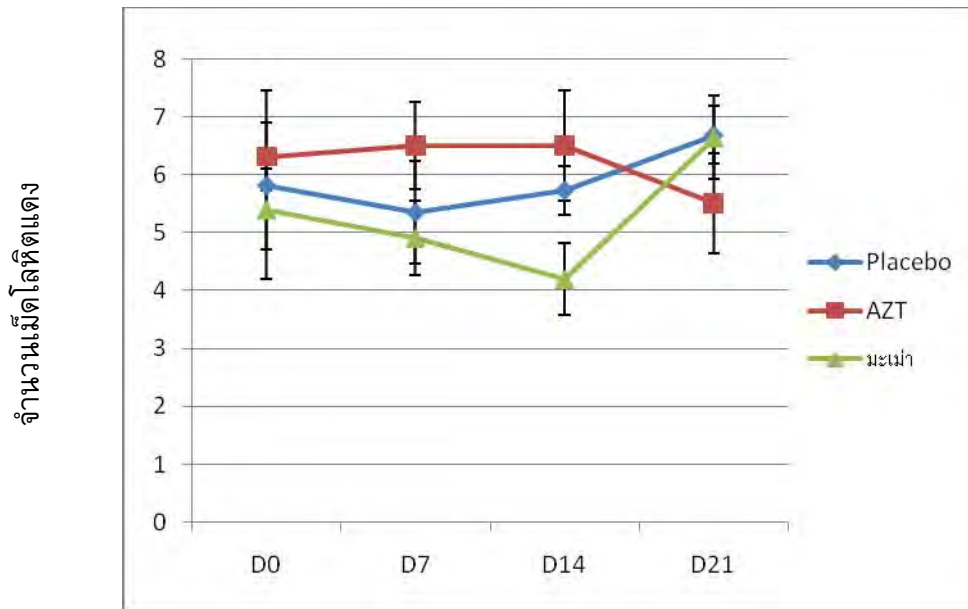
จากผลการศึกษาแมวป่วยที่ติดเชื้อโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (FIV) ที่เข้าร่วมโครงการจำนวนทั้งหมด 12 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 7 ตัว (58.3%) และเพศเมีย 5 ตัว (41.7%) อายุเฉลี่ยของแมวในการศึกษารั้งนี้เท่ากับ 5.8 ปี หลังจากสุ่มตัวอย่างแบ่งแมวออกเป็น 2 กลุ่ม พบว่าแมวป่วยในกลุ่มที่ได้รับยา AZT มีจำนวน 7 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 2 ตัว ส่วนกลุ่มแมวป่วยที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่ามีจำนวน 7 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 4 ตัว เพศเมีย 3 ตัว แมวป่วยส่วนใหญ่แสดงอาการป่วยด้วยโรคเรื้อรังทางระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ เหงือกอักเสบจำนวน 10 ตัว (83.3%) ช่องปากอักเสบจำนวน 5 ตัว (41.7%) และพบอาการผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ 1 ตัว (8.3%)

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรเม่า (*Antidesma acidum retz*) ที่มีต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของแมวป่วยที่ติดเชื้อโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยทำการป้อนสารสกัดส่วนลำต้นในขนาด 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวสัตว์ และกลุ่มที่ได้รับยา AZT ขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ให้แก่แมวป่วยเป็นเวลา 21 วัน พบว่าค่าโลหิตวิทยาของกลุ่มแมวป่วยที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าไม่มีค่าแตกต่างกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กราฟที่ 1) ส่วนเมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดโลหิตขาวรวม และเม็ดโลหิตขาวบางชนิดในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่า และในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยา AZT ในวันที่ 21 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  และอัตราส่วนระหว่างทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ต่อ  $CD8^+$  ในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยาหลอก กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าและในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยา AZT ในวันที่ 21 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 ของการทดลอง รวมทั้งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสามกลุ่มในวันที่ 21

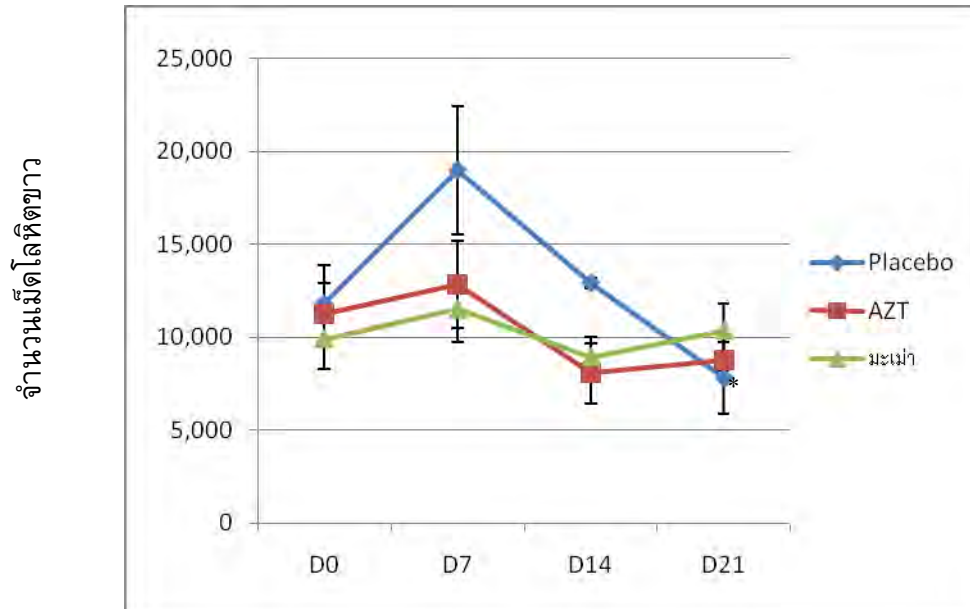
เมื่อพิจารณาค่าเคมีคลินิก ได้แก่ เอมไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ปริมาณยูเรีย และครีเอตินีนในกระแสเลือดในแมวทั้งสามกลุ่มพบว่า ค่าเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส ของแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าในวันที่ 21 เพิ่มขึ้นแต่ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 ของการทดลอง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรสระหว่างทั้งสามกลุ่มในวันที่ 21 ของการทดลองแล้ว ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด และพบว่าค่าครีเอตินีนในวันที่ 7 และ 21 ของแมวป่วยที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าสูงกว่าแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยา AZT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่าเคมีคลินิกอื่นๆ ในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่า และในแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยา AZT ในวันที่ 21 นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 ของการทดลอง

กราฟที่ 18 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตแดงเปรียบเทียบระหว่างแม่วัยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแม่วัยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแม่วัยที่ได้รับยา AZT  
 มะเเฒ่า = กลุ่มแม่วัยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเเฒ่า

กราฟที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวเปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



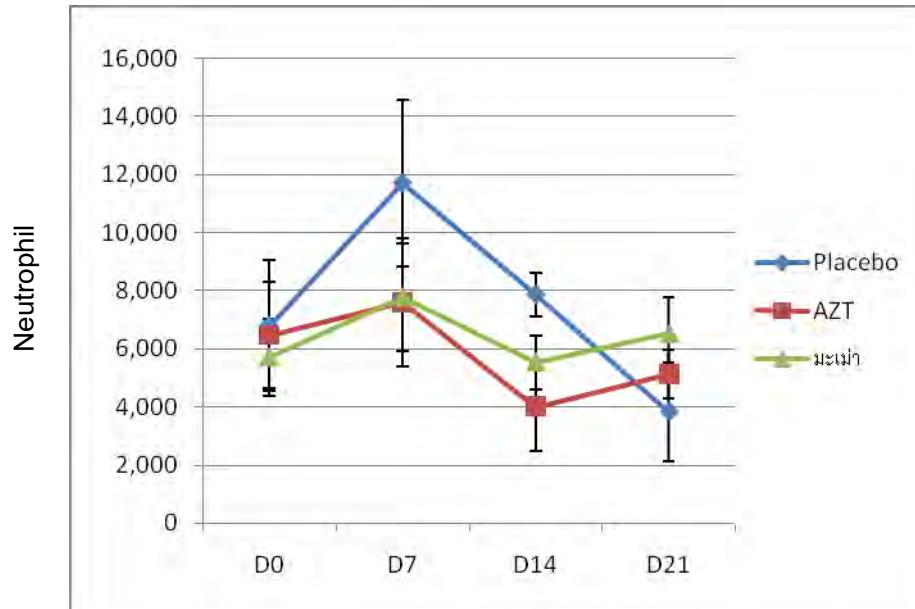
Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก

AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT

มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

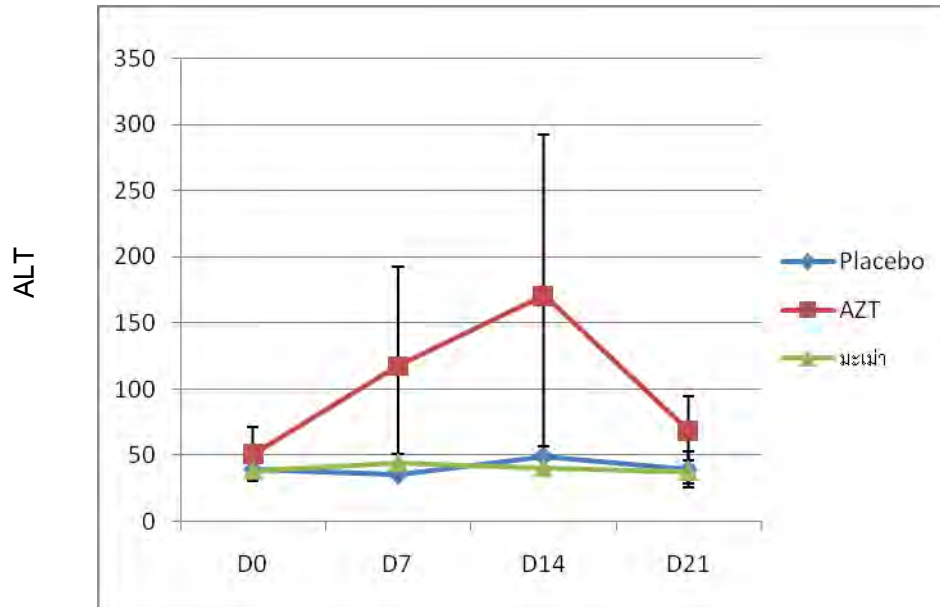
\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง D0 กับ D21 ในกลุ่มเดียวกัน

กราฟที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ Neutrophil ในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



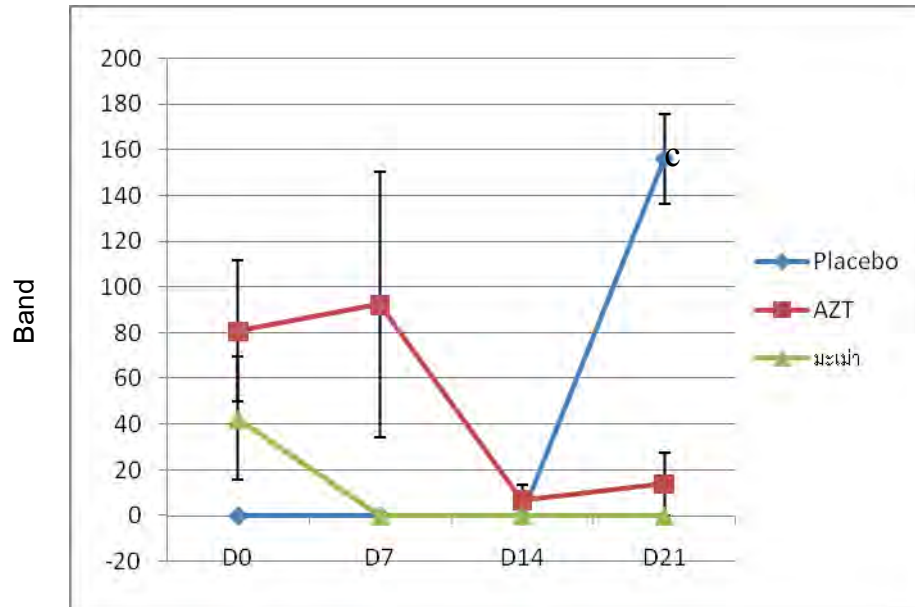
Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 21 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ alanine aminotransferase (ALT) ในกระแสเลือด เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

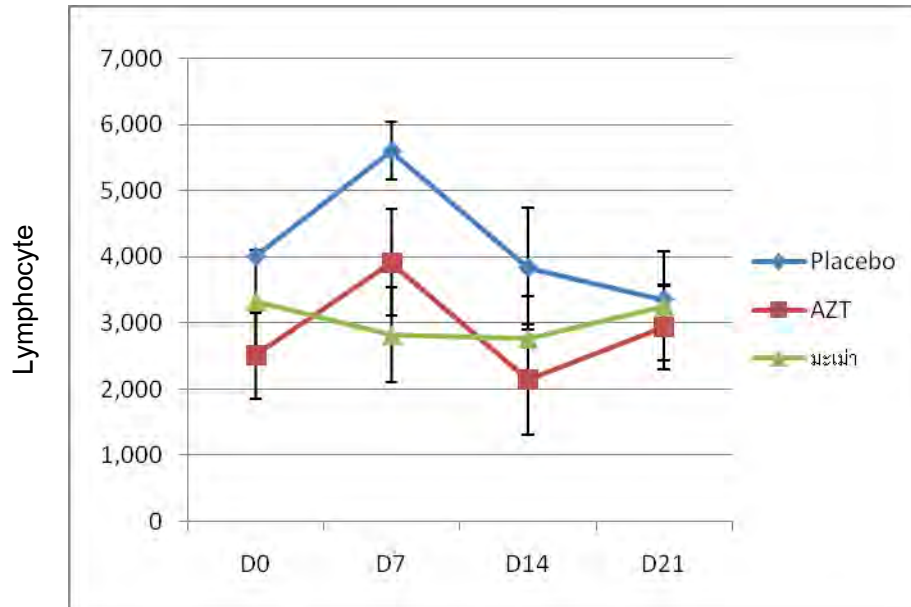
กราฟที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดแบนด์เซลล์เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

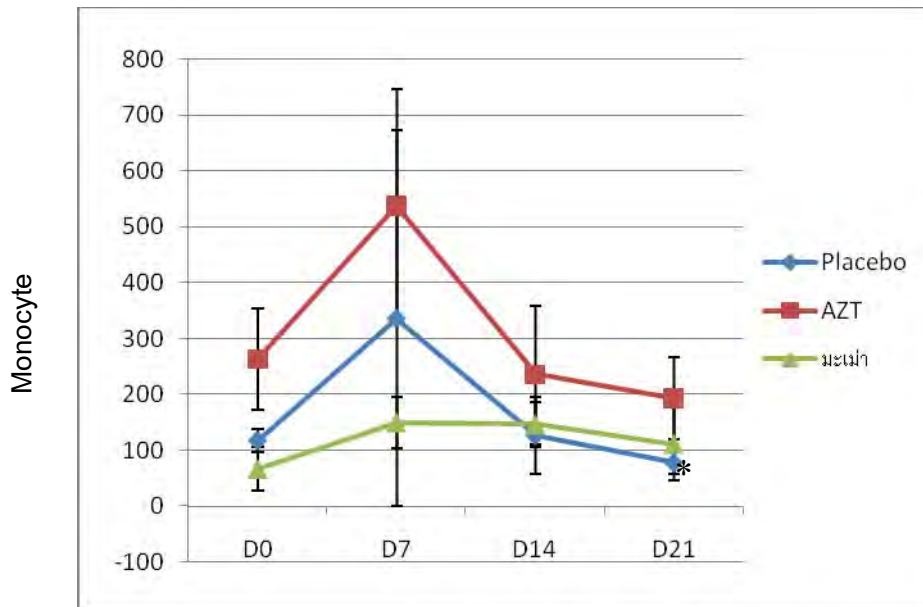
c =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นใน D21

กราฟที่ 23 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 24 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดโมโนไซต์ (Monocyte) เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง

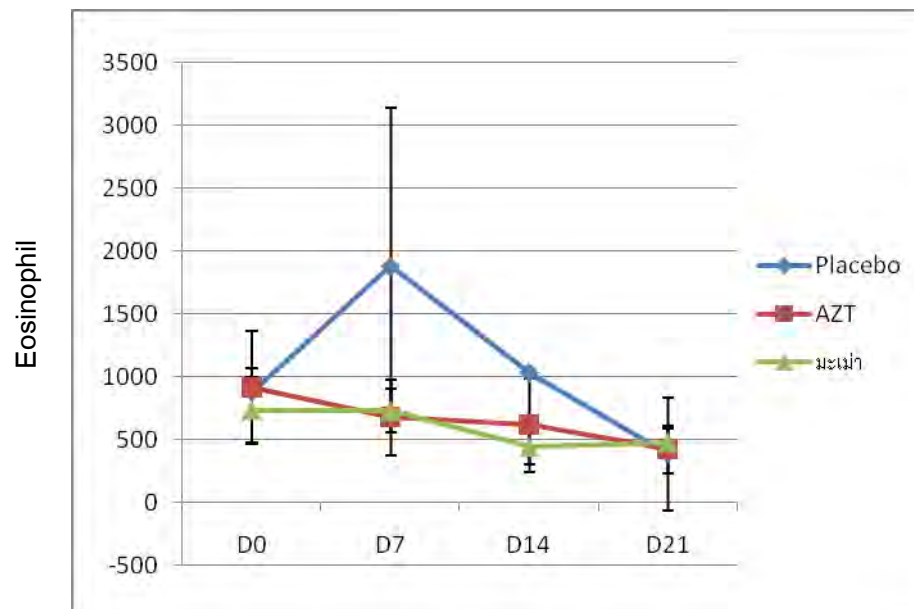


Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเเฒ่า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเเฒ่า

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง D0 กับ D21

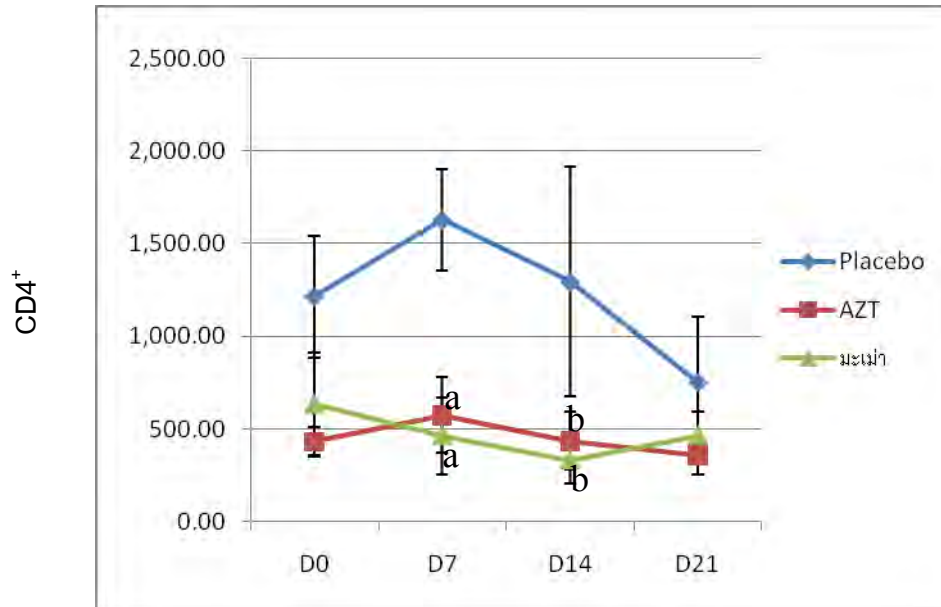


กราฟที่ 25 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิลเปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเเฒ่า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเเฒ่า

กราฟที่ 26 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซต์ชนิด CD4<sup>+</sup> เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง

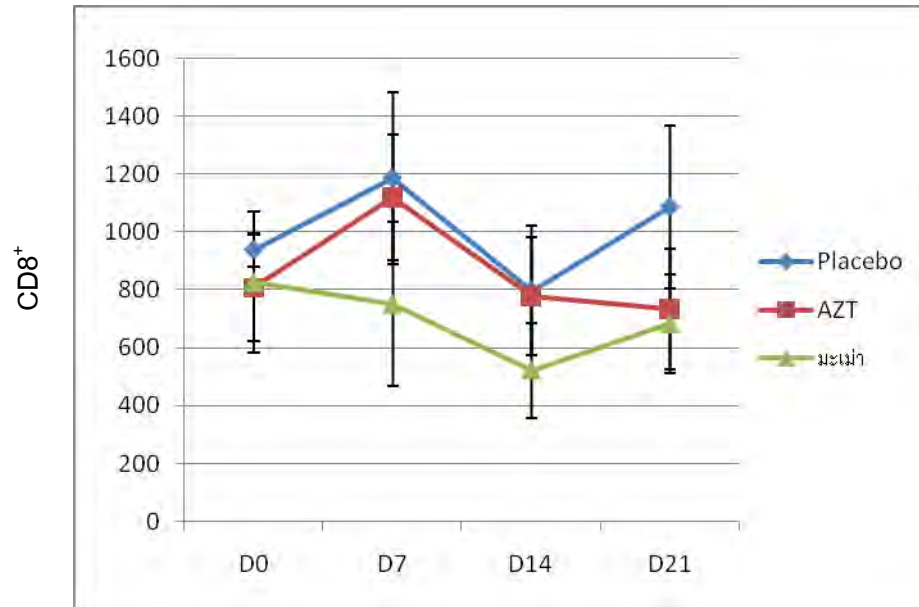


Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

a =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ placebo

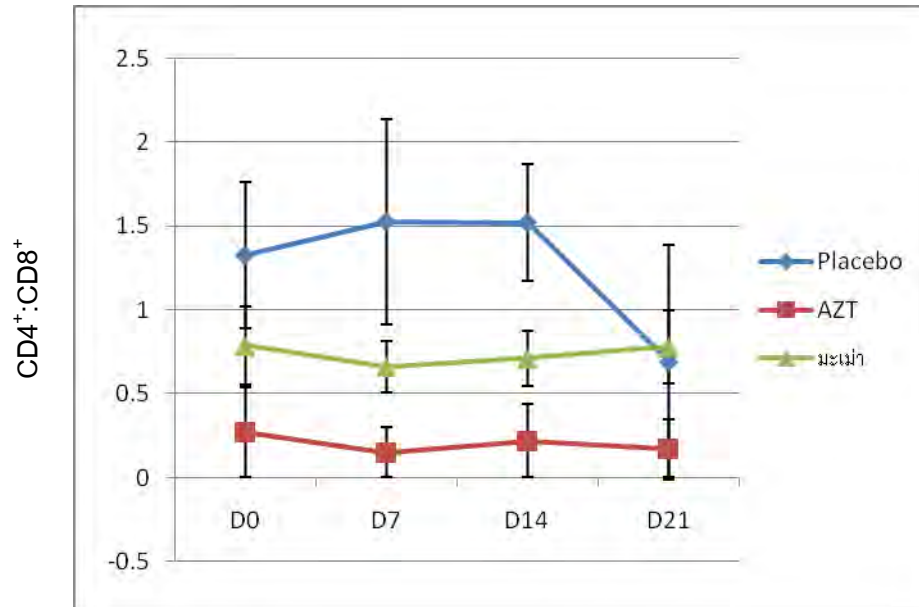
b =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ placebo

กราฟที่ 27 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซต์ชนิด CD8<sup>+</sup> เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



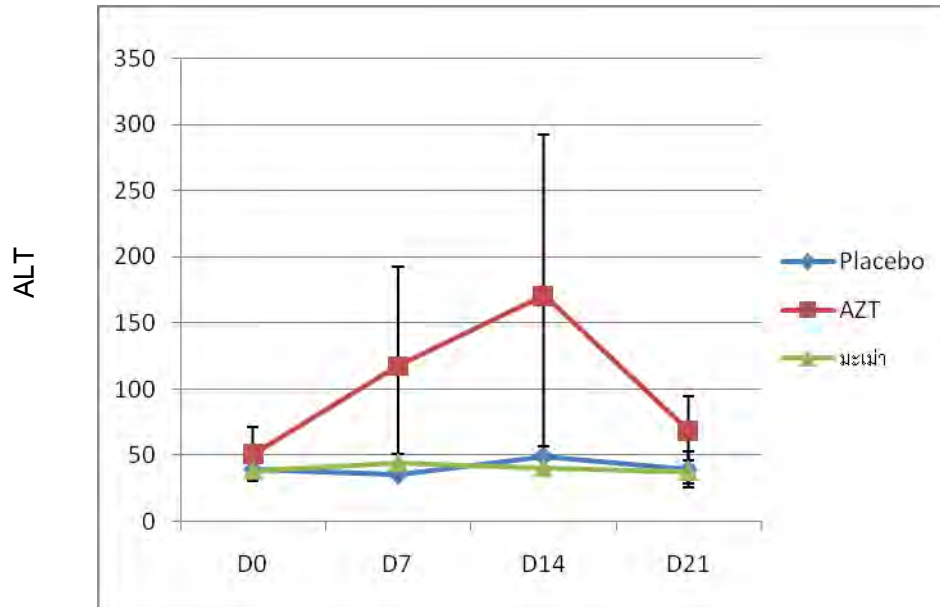
Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 28 แสดงค่าเฉลี่ยของทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  /  $CD8^+$  เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



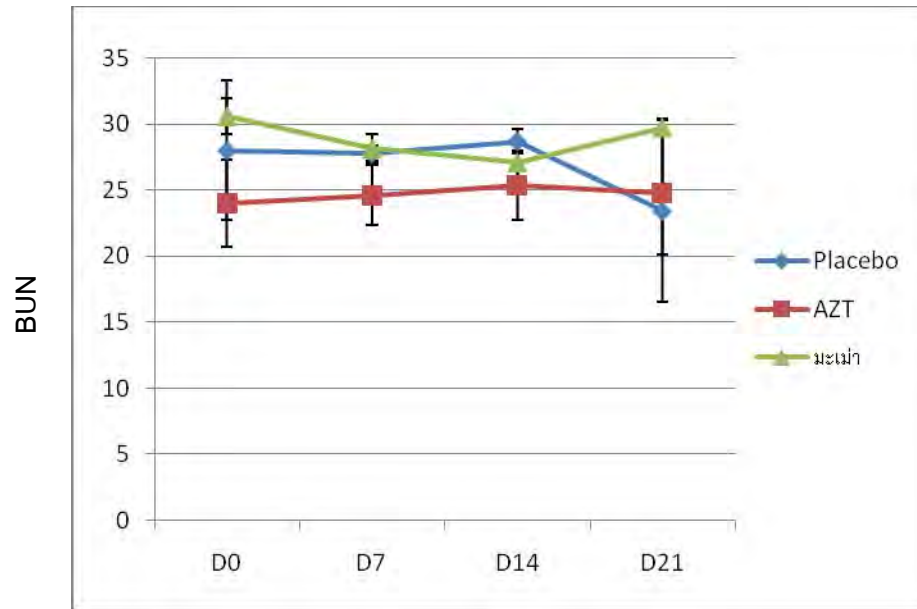
Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 29 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับ alanine aminotransferase (ALT) ในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



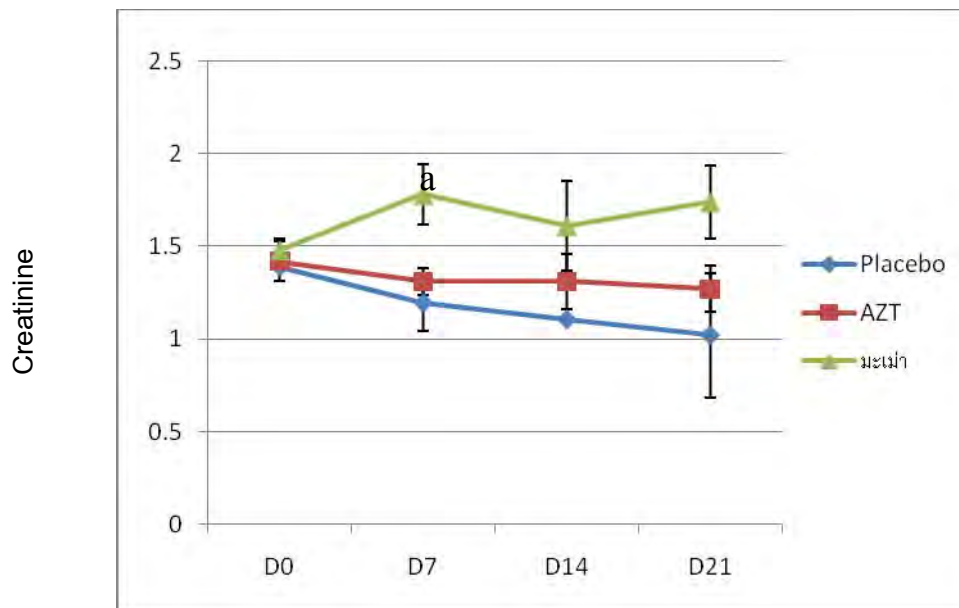
Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 30 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับยูเรียในกระแสเลือด (BUN) เปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก  
 AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT  
 มะเฝ้า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเฝ้า

กราฟที่ 31 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับครีอาตินินในกระแสเลือดเปรียบเทียบระหว่างแมวป่วยทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 0 ถึง 21 ของการทดลอง



Placebo = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยาหลอก

AZT = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับยา AZT

มะเเฒ่า = กลุ่มแมวป่วยที่ได้รับการป้อนสารสกัดมะเเฒ่า

a =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ placebo

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบสมุนไพรมะเเฒ่าในแมวป่วยที่ติดเชื้อโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ในส่วนที่ 2 นี้พบว่าแมวเพศผู้มีการติดเชื้อโรคไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องสูงกว่าตัวเมีย 1.4 เท่า ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งพบว่าแมวเพศผู้มีโอกาสติดเชื้อโรคไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องสูงกว่าตัวเมีย 2 เท่า (รสมาและคณะ, 2545) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมวเพศผู้ที่ถูกเลี้ยงรวมกันหลายตัว และเลี้ยงแบบปล่อยจึงทำให้มีโอกาสกัดกันและแพร่เชื้อผ่านทางน้ำลาย (Bennett and Smyth, 1992) นอกจากนี้พบว่าแมวส่วนใหญ่ที่เข้าร่วมโครงการแสดงอาการเหงือกอักเสบ (83.3%) และอาการปากอักเสบ (41.7%) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ เมื่อเปรียบเทียบผลการใช้ยา AZT กับการใช้สมุนไพรมะเเฒ่าในแมวป่วยที่ส่วนใหญ่แสดงอาการช่องปากอักเสบ พบว่าการใช้ยา AZT ทำให้แมวป่วยมีอาการช่องปากและเหงือกอักเสบลดลง ส่วนแมวที่ได้รับสมุนไพรมะเเฒ่าในแมวเป็นเวลา 21 วัน ตรวจพบว่าแมวป่วยส่วนใหญ่ยังคงมีช่องปากอักเสบเช่นเดิม

จากผลการทดลองให้สารสกัดสมุนไพรเม่าแก่แมวป่วยที่ติดเชื้อโรคมุมิคุ้มกันบกพร่อง (FIV) พบว่าแมวป่วยกลุ่มนี้มีปริมาณเม็ดโลหิตแดงในแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าในวันที่ 14 นั้นลดลงแม้ว่าจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเม็ดโลหิตแดงในวันที่ 0 ของการทดลองก็ตาม อาจเป็นเพราะจากการสูดตัวอย่าง โดยแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่ามีปริมาณเม็ดโลหิตแดงในวันที่เริ่มต้นการศึกษาอยู่ในระดับต่ำกว่ากลุ่มที่ทดลองอื่นๆ จึงทำให้มีแนวโน้มที่จะเกิดภาวะโลหิตจางได้ง่ายกว่าแมวในกลุ่มอื่น สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า

เมื่อพิจารณาปริมาณเม็ดโลหิตขาวทั้งในแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าและกลุ่มที่ได้รับยา AZT ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง และพบว่าปริมาณเม็ดโลหิตขาวของแมวทั้งสามกลุ่มอยู่ในช่วงปกติตลอดการทดลอง แมวในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกมีแนวโน้มที่จะมีค่า WBC เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการรักษา นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์ ในแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าก่อนและหลังการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของคณะผู้วิจัยในช่วงแรกซึ่งพบว่าเซลล์อ่อนของนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์ของแมวที่มีสุขภาพดีซึ่งได้รับสารสกัดสมุนไพรนั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และต่างจากการทดลองในหนู โดยธรรมชาติและคณะทำการทดลองในหนูและพบว่าสารสกัดสมุนไพรเม่าทำให้ค่าเม็ดโลหิตขาวรวมในหนูมีค่าสูงขึ้น (ธรรมชาติและคณะ) แต่พบว่าเซลล์อ่อนของนิวโทรฟิลจะเพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการศึกษาคือในวันที่ 43, 78 และ 85 หลังจากได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่า ส่วนปริมาณลิมโฟไซต์นั้นจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 43 ของการศึกษา แต่ในการทดลองครั้งนี้แมวได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าเพียง 21 วัน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าระยะเวลาในการรับสมุนไพรสั้นเกินไป จึงยังไม่เห็นผลของสารสกัดสมุนไพรเม่าต่อการเพิ่มขึ้นของเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ส่วนปริมาณโมโนไซต์และอีโอซิโนฟิลในการทดลองครั้งนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองครั้งที่ผ่านมาก็คือ แมวปกติที่ได้รับสมุนไพรเม่าเป็น..... ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สุรศักดิ์และคณะ, 2007)

เมื่อพิจารณาปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  และปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  ในแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่า พบว่าปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ตลอดการทดลองนั้นค่อนข้างต่ำ ส่วนปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  อยู่ในระดับปกติเมื่อเทียบกับการศึกษาหาปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิดต่างๆด้วยวิธี flow cytometry ของ Dean และคณะ (1991) เนื่องจากเซลล์เป้าหมายของเชื้อไวรัสโรคมุมิคุ้มกันบกพร่อง คือ ทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ซึ่งมีหน้าที่สำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในการกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (humoral immunity) และภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ (cell-mediated immunity) ต่อไป ไวรัสจะเข้าไปแอบแฝงและเพิ่มจำนวนในทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  (Hosie et al., 2009) ส่งผลให้เกิดการลดลงของปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของกระบวนการ apoptosis ของร่างกายหลังจากการติดเชื้อ ทำให้อายุการทำงานของทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  สั้นลง ดังนั้นค่าอัตราส่วน



ระหว่างทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ต่อ  $CD8^+$  จึงมีค่าลดลง (Hartmann, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ซึ่งพบว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV ทั้งสามกลุ่มมีค่าอัตราส่วนระหว่างทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ต่อ  $CD8^+$  ลดลง แต่เมื่อพิจารณาปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD8^+$  และอัตราส่วนระหว่างทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ต่อ  $CD8^+$  ของแมวก่อนที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนและหลังการทดลอง บ่งบอกว่าสารสกัดสมุนไพรอาจไม่การมีผลต่อเพิ่มปริมาณทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  เนื่องจากการใช้สมุนไพรนั้นอาจมีผลช่วยกระตุ้นเฉพาะระบบภูมิคุ้มกันแบบ Innate Immunity เนื่องจากสารเหล่านี้มักมีคุณสมบัติเป็น PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) ที่สามารถตรวจจับได้โดย pattern recognition receptors (PRRs) ของ innate immunity cell เช่น Dendritic cell หรือ Macrophage ส่งผลให้เซลล์เหล่านี้ทำงานได้ดีขึ้น และยังสามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งของ Type I IFN ซึ่งส่งผลให้ innate immunity cell ต่างๆสามารถทำงานได้ดีขึ้น ปัญหาต่างๆที่เกิดจากการติดเชื้อแทรกซ้อนจึงลดลง นอกจากนี้ Type I IFN ยังมีฤทธิ์ต้านไวรัสโดยตรง โดยจะกระตุ้นให้เกิดภาวะ anti-viral state ในเซลล์ข้างเคียง ทำให้มีการทำลาย viral mRNA เกิดการยับยั้งขบวนการ replication และการสร้างโปรตีนของทั้งไวรัสและเซลล์ที่ติดเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบ Innate Immunity อย่างเดียวนั้นอาจไม่เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อ เนื่องจากกลไกที่สำคัญในการลดจำนวนเชื้อในร่างกายได้แก่การทำงานของ adaptive immunity ซึ่งการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบ adaptive immunity นี้จะไม่เกิดขึ้นหากไม่มีการนำเสนอ antigen ร่วมกับ co-stimulatory signal ซึ่งได้จาก PRRs ดังนั้นการได้รับแต่สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น สมุนไพร โดยไม่ได้รับ antigen ใดๆจึงไม่เกิดประโยชน์ในแง่การทำงานของ adaptive immunity (สันนิษา, 2006) แต่ในแมวที่ป่วยด้วยโรคไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องที่มีเชื้ออยู่ในร่างกายอยู่แล้ว แต่กลับพบว่าภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่สามารถทำงานได้ตามปกติและไม่มีการกระตุ้นการทำงานของ adaptive immunity อาจเกิดจากการที่เซลล์เป้าหมายของไวรัส ทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ทำให้ ทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ลดลงและไม่สามารถรับการกระตุ้นจาก Antigen Presenting Cell ได้ ดังนั้นการได้รับสารสกัดสมุนไพรเม่าซึ่งเป็นสารที่กระตุ้น Innate Immunity จึงไม่สามารถเพิ่ม ทีลิมโฟไซต์ชนิด  $CD4^+$  ได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสมุนไพรเม่ามีสารประกอบหลายชนิดและหนึ่งในส่วนประกอบนั้นคือ flavonoid ซึ่งจากการศึกษาของ Havsteen (2002) พบว่าสาร flavonoid มีฤทธิ์ในการกระตุ้น NK-cell และทีลิมโฟไซต์ โดยเชื่อว่า flavonoid มีฤทธิ์ในการลด COX ส่งผลให้ prostaglandin ซึ่งเป็นสารกีดการทำงานของทีลิมโฟไซต์มีปริมาณลดลง และหากมองในแง่ของการใช้ flavonoid ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ซึ่งตามทฤษฎีแล้ว flavonoid นั้นควรจะสามารถช่วยในการป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ HIV ได้เนื่องจาก flavonoid สามารถยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase ช่วยเหนี่ยวนำให้เกิด IFN และยับยั้งเอนไซม์ protease ซึ่งใช้ในขั้นตอนการ

เตรียมสารตั้งต้นของเปลือกหุ้มไวรัส แต่อย่างไรก็ตามในขณะนี้ก็ยังไม่มีการศึกษาผลของ flavonoid ต่อผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV อย่างชัดเจน (Brinkworth et al., 1992) และถึงแม้ว่าสารสกัดสมุนไพรจะมี flavonoid เป็นส่วนประกอบและปริมาณของ flavonoid ในมะเมาะยังไม่ทราบปริมาณที่แน่ชัด และสารที่ป้อนให้แมวไม่ใช้สารสกัดบริสุทธิ์จึงอาจทำให้การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร

สำหรับค่าเคมีคลินิกนั้นพบว่าค่าเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส หลังการทดลองของแมวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง แต่ยังมีค่าที่อยู่ในเกณฑ์ปกติ และพบว่าค่าครีเอตินีนของแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาะสูงกว่าแมวป่วยกลุ่มที่ได้รับยา AZT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นเพราะสารสกัดสมุนไพรเมาะที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นสารสกัดหยาบ และขั้นตอนในการเตรียมสารสกัด อาจมีความแตกต่างกันจึงทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้มีความแตกต่างจากการศึกษาในแมวปกติก่อนหน้า ซึ่งพบว่าค่าครีเอตินีนไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงต้นของการทดลอง แต่ลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง ส่วนค่าครีเอตินีนในวันที่ 28 ของแมวกลุ่มที่ได้รับยา AZT ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 ของการทดลอง เนื่องจากหยุดยา AZT ได้เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมา (รสมาและคณะ, 2003) ที่กล่าวไว้ว่ายา AZT นั้นมีความเป็นพิษต่อไตในแมวเมื่อหยุดยาค่า Creatinine จึงลดลง ส่วนค่าเคมีคลินิกอื่นๆ ได้แก่ ค่าเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ปริมาณยูเรียในกระแสเลือดอยู่ในเกณฑ์ปกติตลอดการทดลอง และไม่พบเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญภายหลังการทดลอง โดยการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแมวปกติที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเมาะสามารถลดค่าเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส ปริมาณยูเรียในกระแสเลือด และค่าครีเอตินีนในแมวปกติได้ ดังนั้นสารสกัดสมุนไพรเมาะจึงน่าจะมีศักยภาพที่จะสามารถใช้ในแมวที่มีค่าเอนไซม์ตับสูงหรืออยู่ในภาวะ azotemia ได้

โดยสรุปจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการป้อนสารสกัดสมุนไพรเมาะให้แก่แมวที่ติดเชื้อโรคไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง ขนาด 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวสัตว์ เป็นเวลา 21 วันนั้นไม่ทำให้ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของแมวที่ป่วยเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับแมวที่ได้ยา AZT และมีผลเทียบเคียงกับการใช้ยา AZT ในการรักษา ซึ่งจะต้องมีการใช้ยาอย่างต่อเนื่องและมีการศึกษาพบว่าผลข้างเคียงจากการใช้ยา AZT ในระดับที่สูงเป็นระยะเวลานาน คือ ทำให้เกิดพิษต่อตับและไต ดังนั้นสมุนไพรเมาะจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมการติดเชื้อแทรกซ้อน ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่แน่ชัดและทราบกลไกการออกฤทธิ์ของสมุนไพรชนิดนี้อย่างแท้จริง ควรมีการศึกษาถึงสารประกอบแต่ละชนิดของสมุนไพรชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

- กัมมมาล กุมาร ปาวา. 2003 (2546). การศึกษาสมุนไพรไทยในการรักษาโรคเอดส์เพื่อพัฒนาเป็นยาอุตสาหกรรม หน้า ก, 3-5. คุณสมบัติทางยาของสมุนไพร "มะเเฒ่า".
- เต็ม สมิตินันท์, 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์ ชื่อพื้นเมือง) กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ.
- เจลิยว ศาลากิจ. 2005 (2548). โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 119.
- นงลักษณ์ สุขวาณิชย์ศิลป์ และบพิตร กลางกัลยา. 2000 – 2001 (2543-2544). รายงานผลการศึกษาโครงการการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาสมุนไพร. กรุงเทพฯ : บริษัทเอสอาร์ ฟรินดิง แมสโปรดักส์ จำกัด.
- รสมา ภูสุนทรธรรม คณิศศักดิ์ อรวีระกุล ภาวนา อุทัยโชติวรรณ กาญจน์ เชื้อศิริ. 1999 (2542). ความชุกของโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวที่แสดงอาการทางคลินิกของโรคเรื้อรัง เวชสารสัตวแพทย์ 28(3): 77-88.
- รสมา ภูสุนทรธรรม, คณิศศักดิ์ อรวีระกุล, ภาวนา อุทัยโชติวรรณ, กาญจน์ เชื้อศิริ. 1998(2541). "ความชุกของโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวที่แสดงอาการทางคลินิกของโรคเรื้อรัง" เวชสารสัตวแพทย์ 28(3):77-88.
- รสมา ภูสุนทรธรรม, พินิจ ภูสุนทรธรรม, ภาวนา อุทัยโชติวรรณ, พิทชา พรหมิงมาศ, จุฑาทิพย์ เขียวเจริญ, ธาเรีย เกียรติทอง. 2002(2545). " ผลของการใช้ยา Zidovudine (AZT) ในการรักษาแมวที่ติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง" สัตวแพทยสาร 53(1):45-53.
- สุรเดช มหารมณ และภาศรี มหารมณ. เอกสารสิทธิบัตรการประดิษฐ์ องค์ประกอบทางเภสัชกรรมสำหรับโรคเอดส์. (ดูเอกสารแนบหมายเลข 3 ในภาคผนวกรายงานครั้งที่ 1).
- สุรเดช มหารมณ และภาศรี มหารมณ. รายงานการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัส. (ดูเอกสารแนบหมายเลข 4 ในภาคผนวกรายงานครั้งที่ 1).
- สุรเดช มหารมณ. ใบอนุญาต อย. สมุนไพร (ส.ต.ญ.) ที่ G 269/41 และ G 446/41 (ดูเอกสารแนบหมายเลข 6 ในภาคผนวกรายงานครั้งที่ 1).
- วันดี กฤษณพันธ์. 1995 (2538). สมุนไพรสารพัดประโยชน์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- อ้อยทิพย์ ณ ถลาง. 2003 (2546). การตรวจทางพยาธิวิทยาคลินิก. กรุงเทพฯ : รุ่งศิลป์การพิมพ์. หน้า 15.
- อุษณี ขวัญสังข์. 2002 (2545). การศึกษาด้านเภสัชวิทยาของสมุนไพรเฒ่า หน้า ง, 1-4, 63-65, 78-79.
- เอมอร โสมนะพันธ์ สมุนไพรและผักพื้นบ้านกับโรคเอดส์และโรคฉวยโอกาส สรุปรายงานการ

สัมมนาวิชาการ เรื่องการดูแลผู้ติดเชื้อเอดส์ด้วยสมุนไพรและผักพื้นบ้าน สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 19-21 เมษายน, 2542-3: 35-53.

- Barr, M.C. 1994. Feline viral diseases. In : Ettinger S.J. Feldman E.C. (eds.) Textbook of Veterinary Internal Medicine, 4th ed. Philadelphia : WB Saunders. 409-439.
- Barr, M.C., Phillips, T.R. 2000. FIV and FIV-related disease. *In*: Ettinger SJ, Feldman EC (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders. 435.
- Beatty, J.A. 1996. A longitudinal study of feline immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes in experimentally infected cats, using antigen-specific induction. *J Virol.* 70:6199.
- Beebe, A.M. 1992. Detection of feline immunodeficiency virus infection in bone marrow of cats. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:37.
- Bishop, S.A. 1992. An early defect in primary and secondary T cell responses in asymptomatic cats during acute feline immunodeficiency virus (FIV) infection. *Clin Exp Immunol.* 90:491.
- Brunner, D. and Pederson, N.C. 1989. Infection of peritoneal macrophages in vitro and in vivo with feline immunodeficiency virus. *J Virol.* 63:5483.
- Callanan, J.J., Jones, B.A. and Irvine, J. 1996. Histologic classification had immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. *Vet Pathol.* 33:264-272.
- Cummins KM, et al. 1988. Oral use of human alpha interferon in cats. *J Biol Response Mod* 7:513.
- Davidson, M.G., Rottman, J.B. and English, R.V. 1993. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am J Pathol.* 143:1486-1497.
- Dawson, S., Smyth, N.R. and Bennett, M. 1991. Effect of primary-stage feline immunodeficiency virus infection on subsequent feline calicivirus vaccination and challenge in cats. *AIDS.* 5:747-750.
- Diehl, L.J., Mathiason-Dubard, C.K. and O'Neil, L.L. 1995. Longitudinal assessment of feline immunodeficiency virus kinetics in plasma by use of a quantitative competitive reverse transcriptase PCR. *J Virol.* 69:2328-2332.
- English, R.V., Davidson, M.G. and Nasisse, M.P. 1990. Intraocular disease associated with feline immunodeficiency virus infection in cats. *J Am Vet Med Assoc* 196:1116-1119.
- English, R.V. 1995. Feline immunodeficiency virus. In : Bonagura JD (ed.), *Kirk's current veterinary therapy.* Philadelphia : WB Saunders. 280-286.
- Egberink, H., Borst, M. and Niphuis, H. 1990. Suppression of feline immunodeficiency virus

- infection in vivo by 9-(2-phosphonomethoxyethyl) adenine. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:3087-3091.
- Feldman, B., Zinkl, J. and Jain, N. 2000. Normal hematology of the cat. In: *Veterinary Hematology*. 1064.
- Gobert, J.M., Remington, K.M. and Zhu, Y.Q. 1994. Multiple-drug-resistant mutants of feline immunodeficiency virus selected with 2',3'-dideoxyinosine alone and in combination with 3'-azido-3'-deoxythymidine. *Antimicrob Agents Chemother.* 38:861-864.
- Gunew, M. 2003. "Feline liver disease." [Online]. Available: <http://www.vin.com/Members/SearchDB/rounds/lc030628.htm>
- Hart, S.W. and Nolte, I. 1994. Hemostatic disorders in feline immunodeficiency virus-positive cats. *J Vet Int Med* 8:355-362.
- Hart, S.W. and Nolte I. 1995. Long-term treatment of diseased, FIV-seropositive field cats with azidothymidine (AZT). *Zentralb Veterinamed* 42:397-409.
- Hartmann, K. 2005. Feline Immunodeficiency Virus Infection and Related Diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6<sup>th</sup> ed: Elsevier Saunders. 659-662.
- Hartmann K, Donath A, Kraft W. 1995a. AZT in the treatment of Feline Immunodeficiency virus infection, part 1. *Feline Practice* 23(5): 16-21.
- Hartmann K, Donath A, Kraft W. 1995b. AZT in the treatment of Feline Immunodeficiency virus infection, part 2. *Feline Practice* 23(6): 13-20.
- Hartmann FG, Thum I, Ackley C. 1992. Decline in CD4+ cell numbers in cats with naturally acquired feline immunodeficiency virus infection. *J Virol* 86:1484-1482.
- Hartmann, K., Donath, A. and Beer, B. 1992. Use of two virustatica (AZT, PMEA) in the treatment of FIV and FeLV seropositive cats with clinical symptoms. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:167-175.
- Hartmann, K. 1996<sup>a</sup>. AZT in the treatment of feline immunodeficiency virus infection: part I. *Feline Pract* 23(5):16-21.
- Hartmann, K. 1996<sup>b</sup>. AZT in the treatment of feline immunodeficiency virus infection: part II. *Feline Pract* 23(6):13-20.
- Hayes, K.A., Wilkinson, J.G. and Frick, R. 1995. Early suppression of viremia by ZDV does not alter the spread of feline immunodeficiency virus infection in cats. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 9:114-122.
- Henriksen, S.J. 1995. Feline immunodeficiency virus as a model for study of lentivirus infection of the central nervous system. *Curr Top Microbiol Immunol.* 202:167.
- Hoffman-Lehmann, R., Holznagel, E. and Ossen, P. 1997. Parameters of disease progression

- in long-term experimental feline retrovirus (feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus) infections, hematology, clinical chemistry, and lymphocyte subsets. *Clin Diagn Lab Immunol.* 4:33-42.
- Hurtrel, M. 1992. Comparison of early and late feline immunodeficiency virus encephalopathies. *AIDS.* 6:399.
- Ishida, T. 1989. Feline immunodeficiency virus infection in cats of Japan. *JAVMA.* 194:221.
- Ishitsuka H., Ohsawa C., Ohiwa T., Umeda I suharay. Antipicomavirus favone Ro-09-0179. *Antimicrob Agents Chemother* 1982.
- Jeng, C.R. 1996. Evidence for CD8<sup>+</sup> antiviral activity in cats infected with feline immunodeficiency virus. *J Virol.* 70:2474.
- Jenson, D. 2006. "CATNIP: The Magical Herb for Cats." [Online]. Available: <http://www.hdw-inc.com/catnip.htm>
- Jordan, H.L. 1996. Transmission of feline immunodeficiency virus in domestic cats via artificial insemination. *J Virol.* 70:8224.
- Karen, S., Kenneth, L. and Heather, T. "An Overview of Erythrocytosis in Dogs and Cats" [Online]. Available: <http://www.vet.uga.edu/VPP/clerk/strait/index.php>
- Kamp W, Schokker J, Cambridge E, De Jong S, Schuurman R, De Groot T, Boucher CA. 1999. Effect of weekly adefovir (PMEA) infusions on HIV-1 virus load: results of a phase II study. *Antivir Ther* 4(2):101-7.
- Kuroyanagi M., Sato M., Ueno A., Nishi K. Flavonoids from *Andrographis paniculata*. *Chem Pharm Bull* 1987.
- Lappin, M.R., Marks, A. and Greene, C.E. 1992. Serologic prevalence of selected infectious diseases in cats with uveitis. *J Am Vet Med Assoc.* 201:1005-1009.
- Lawrence, C.E., Callanan, J.J. and Willett, B.J. 1995. Cytokine production by cats infected with feline immunodeficiency virus: a longitudinal study. *Immunology.* 85:568-574.
- Lehman, R., Von, B.B. and Niederer, E. 1992. Immunization-induced decreased of the CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> ratio in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:199-214.
- Linenberger, M.L., Shelton, G.H. and Persik, M.T. 1991. Hematopoiesis in asymptomatic cats infected with feline immunodeficiency virus. *Blood.* 78:1963-1968.
- Linenberger, M.L. and Abkowitz, J.L. 1995. Haematological disorders associated with feline retrovirus infections. *Baillieres Clin Haematol.* 8:73-112.
- Mandell, C.P., Sparger, E.E. and Pedersen, N.C. 1992. Long-term hematological changes in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus (FIV). *Comp Hematol Int.* 2:8-17.

- Meeker, R.B. 1997. Cortical cell loss in asymptomatic cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 13:1131.
- Meers, J., del Fiero, G.M. and Cope, R.B. 1993. Feline immunodeficiency virus infection: plasma, but not peripheral blood mononuclear cell virus titer, is influenced by zidovudine and cyclosporine. *Arch Virol*. 132:67-81.
- Mitsuya H, Weinhold KJ, Fuman PA, et al. 1985. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U) : An antiviral agent that inhibits infectivity and cytopathic effect of Human T-Lymphocyte Virus Type III/Lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 82:7096-7100.
- Miyazawa, T. 1994. The genome of feline immunodeficiency virus. *Arch Virol* 134:221.
- Mathes LE, et al. 1992. Pre and postexposure chemoprophylaxis: Evidence that 3-(azido-3-dideoxythymidine inhibits feline leukemia virus disease by a drug-induced vaccine response. *Antimicrob Agents Chemother* 36:2715.
- Mathes LE, et al. 1996. Evidence that high-dose zidovudine at time of retrovirus exposure reduces antiviral efficacy. *Antimicrob Agents Chemother* 40:2183.
- Mc Cow DL. 1994. Advances in therapy for retroviral infection. In: August JR (ed). *Consultations in Feline Internal Medicine-2*. Philadelphia, WB Saunders 21:25.
- O'Neil, S.A., Lappin, M.R. and Reif, J.S. 1991. Clinical and epidemiologic aspects of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasmosis gondii* coinfections in cats. *J Am Anim Hosp Assoc*. 27:211-220.
- O'Neil, L.L. 1996. Frequent perinatal Transmission of feline immunodeficiency virus by chronically infected cats, *J Virol*. 70:2894.
- O'Neil, L.L., Burkhard, M.J. and Obert, L.A. 1997. Regression of feline immunodeficiency virus infection. *AIDS Res Hum Retrovir*. 13:713-718.
- Pederson, N.C. and Barlough, J.E. 1991. Clinical overview of feline immunodeficiency virus. *J Am Vet Med Assoc*. 199:1298-1305.
- Pedersen N.C., Ho E., Brown M.L. and Yamamoto J.K. 1987. Isolation of a T-Lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science*. 235-790-793.
- Phillips, T.R. 1994. Neurological abnormalities associated with feline immunodeficiency virus infection. *J Gen Virol* 979.
- Phillips, T.R. 1996. Neurologic dysfunctions caused by a molecular clone of feline immunodeficiency virus, FIV-PPR. *J Neurovirol*. 2:388.
- Philpott, M.S., Ebner, J.P. and Hoover, E.A. 1992. Evaluation of 9-(2-phosphonomethoxyethyl)

- adenine therapy for feline immunodeficiency virus using a quantitative polymerase chain reaction. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:155-166.
- Podell, M. 1993. AIDS-associated encephalopathy with experimental feline immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 6:758.
- Poli, A., Gianelli, C. and Pistello, M. 1992. Detection of salivary antibodies in cats infected with feline immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol.* 30:2038-2041.
- Poli, A., Abramo, F. and Taccini, E. 1993. Renal involvement in feline immunodeficiency virus infection: a clinicopathologic study. *Nephron.* 64:282-288.
- Poli, A., Abramo, F. and Baldinotti, F. 1994. Malignant lymphoma associated with experimentally induced feline immunodeficiency virus infection. *J Comp Pathol* 110:319-328.
- Rebar, A., Macwilliams, P., Feldman, B., Metzger, F., Pollock, R. and Roche, J. 2001. Erythrocytes. In: *A Guide to Hematology in Dogs and Cats.* 34.
- Remington, K.M., Chesebro, B. and Wehrly, K. 1991. Mutants of feline immunodeficiency virus resistant to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *J Virol.* 65:308-312.
- Remington, K.M., Zhu, Y.Q. and Phillips, T.R. 1994. Rapid phenotypic reversion of zidovudine-resistant feline immunodeficiency virus without loss of drug-resistant reverse transcriptase. *J Virol.* 68:632-637.
- Reubel, G.H., George, J.W. and Barlough, J.E. 1992. Interaction of acute feline herpesvirus-1 and chronic feline immunodeficiency virus infections in experimentally infected specific pathogen free cats. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:95-119.
- Reubel, G.H., George, J.W. and Higgins, J. 1994. Effect of chronic feline immunodeficiency virus infection on experimental feline calicivirus-induced disease. *Vet Microbiol* 39:335-351.
- Shelton, G.H., Grant, C.K. and Cotter, S.M. 1990. Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection and their relationships to lymphoid malignancies in cats: a retrospective study (1968-1988). *J Acquir Immune Defic Syndr.* 3:623-630.
- Shelton, G.H., Linenberger, M.L. and Grant, C.K. 1990. Hematologic manifestations of feline immunodeficiency virus. *Blood.* 76:1104-1109.
- Shelton, G.H., Linenberger, M.L. and Abknowitz, J.L. 1991. Hematologic abnormalities in cats seropositive for feline immunodeficiency virus. *J Am Vet Med Assoc.* 199:1353-1357.
- Shelton, G.H., Linenberger, M.L. and Persik, M.T. 1995. Prospective hematologic and clinicopathologic study of asymptomatic cats with naturally acquired feline immunodeficiency virus infection. *J Vet Intern Med.* 9:133-140.
- Sellon, R.K. 1998<sup>a</sup>. Feline immunodeficiency virus infection. In: Greene CE (ed.): *Infectious*



- Diseases of Dog and Cat. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia : WB Saunders. 89.
- Sellon, R.K. 1998<sup>b</sup>. Feline immunodeficiency virus infection. In: Greene CE (ed.): Infectious Diseases of Dog and Cat. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia : WB Saunders. 90.
- Singh, A. and Sandhu, A. 2007. "Distribution of Steroid like Compounds in Plant Flora." [Online]. Available: <http://www.siu.edu/~ebi/leaflets/steroid.htm>
- Smidt Snansieng The efficacy of extracts from *Antidesma acidum* Retz Stilaginaceae in reducing viral load of HIV/AIDS patients.
- Smyth, N.R., Bennett, M. and Gaskell, R.M. 1994. Effect of 3' azido -2'-3' deoxythymidine (AZT) on experimentally feline immunodeficiency virus infection in domestic cats. *Res Vet Sci.* 57:220-224.
- Sparks, A.H., Hopper, C.D. and Millard, W.G. 1993. Feline immunodeficiency infection: clinicopathologic findings in 90 naturally occurring cases. *J Vet Int Med.* 7:85-90.
- Stonehewer, J. . The liver and pancreas. In: *Feline medicine and therapeutic.* ed
- Suradej Maharom, Pasri Maharom. Herbal therapeutic product for AIDS patients: A study project report 1997-1998. (ตุ๊กเอกสารแนบหมายเลข 5 ในภาคผนวกในรายงานครั้งที่ 1)
- Takeshi M., Tanoka Y. Antiviral substance from root of *Paconia* spp. *Planta Medica* 1982.
- Takeshi M., Tanoka Y., Teckeshara M., Nonaka G.I., Nishioka I. Structure and activity antitherapeutic activity the tannins. *Phytochemistry* 1985.
- Tenorio, A.P., Franti, C.E. and Madewell, B.R. 1991. Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. *Vet Immunol Immunopathol.* 29:1-14.
- Terry, A., Callanan, J.J. and Fulton, R. 1995. Molecular analysis of tumours from feline immunodeficiency virus (FIV)-infected cats: an indirect role for FIV? *Int J Cancer* 61:227-232.
- The prevalence of feline immunodeficiency virus infection in cats with chronic diseases. *Thai J Vet Med.*28(3):77-88.
- Tomonaga, K. and Mikami, T. 1996. Detection of feline immunodeficiency virus transcripts by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. *Vet Microbiol.* 48:337-344.
- Vahlenkamp, T.W., de Ronde, A., and Balzarini, J. 1995. (R) -9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2-6-diaminopurine is a potent inhibitor of feline immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 39:746-749.
- Villiers, E. 2005. Disorder of erythrocyte. In: *BSAVA manual of canine and feline clinical pathology.* 2<sup>nd</sup> ed: British Small Animal Veterinary Association. 33-57.
- Wasmoen, T. 1992. Transmission of feline immunodeficiency virus from infected queens to kittens. *Vet Immunol Immunopathol.* 35:83.

- Weiss RC, et al. 1991. Low-dose orally administered alpha interferon treatment for feline leukemia virus infection. *JAVMA* 199:1477.
- Willett, B.J. 1997. FIV infection of the domestic cat: An animal model for AIDS. *Immunol Today*. 18:182.
- Yamamoto J.K., Hansen H., Ho W.E., Morishata T.Y., Okuda T., Sawa T.R., Nakamura R.M. and Pederson N.C. 1989. Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cat from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *J Am Vet Med Assoc*. 194(2) : 213-220.
- Yates, K.M., Rosenberg, L.J. and Harris, C.K. 1992. Pilot study of the effect of acemannan in cats infected with feline immunodeficiency virus. *Vet Immuno Immunopathol*. 35:177-189.
- Zeidner NS, et al. 1990. Alpha interferon (2b) in combination with zidovudine for the treatment of presymptomatic feline leukemia virus-induced immunodeficiency syndrome. *Antimicrob Agents Chemother* 34:1749.
- Zenger, E. 1997. Cellular mechanisms of feline immunodeficiency virus (FIV)-induced neuropathogenesis. *Front Biosci*. 2:D527.