

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับจระเข้

1.1 วงศ์สกุลและชนิดพันธุ์

จระเข้ เป็นสัตว์เลื้อยคลานที่มีกระดูกสันหลัง ที่เริ่มมีวิวัฒนาการทางด้านกายวิภาคศาสตร์ เป็นพวก สัตว์เลือดเย็น ที่มีหัวใจครบทั้ง 4 ห้อง โดยพบว่ามีกระจายอยู่ทั่วโลกในเขตประเทศเมืองร้อน สามารถ จำแนกชนิดโดยอาศัยรูปร่างลักษณะทั้งลำตัว และอาศัยความแตกต่างในเฉพาะบางส่วน เช่นรูปร่างของปาก เกล็ด และลักษณะของฟัน เป็นต้น สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 วงศ์ ได้แก่

1.1.1 วงศ์จระเข้ (Crocodylidae)

พบอาศัยอยู่ในประเทศเขตร้อนทั่วทุกทวีป มีลักษณะเด่นที่แปลกไปกว่าจระเข้วงศ์อัลลิเกเตอร์และ ไคแมน ตรงที่มีฟันซี่ที่ 4 ของปากโผล่ออกมาให้เห็นเวลาหุบปากและมีปากที่ยาวกว่า จระเข้วงศ์นี้มีทั้งหมด 3 สกุล และ 13 ชนิดพันธุ์ ประกอบด้วย

1. สกุล *Crocodylus* มี 11 ชนิดพันธุ์ ได้แก่

- 1.1. จระเข้แม่น้ำไนล์ (*Crocodylus niloticus*) พบอาศัยอยู่ทั่วไปในทวีปแอฟริกา จากแม่น้ำไนล์ถึงจีนักดลงไปทางตอนใต้ไปจดแหลมกู๊ดโฮป และเกาะมาดากัสกา จระเข้สายพันธุ์นี้มีขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 3.60 เมตร
- 1.2. จระเข้ปากยาวแอฟริกา (*Crocodylus cataphractus*) พบอาศัยอยู่ลุ่มแม่น้ำคองโกถึงจีนักด และบริเวณลุ่มแม่น้ำในป่าดงดิบของแอฟริกาตะวันตก และแอฟริกากลาง จระเข้สายพันธุ์นี้มีลักษณะจมูกยาวแหลม ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.80 เมตร
- 1.3. จระเข้อินเดีย (*Crocodylus palustris*) พบอาศัยในลุ่มแม่น้ำฮีสลัม ประเทศอินเดีย ปากีสถาน อิหร่าน เนปาล ศรีลังกา บางกเทศ และมาเลเซีย จระเข้สายพันธุ์นี้มีลักษณะจมูกสั้นแต่กว้าง หัวเป็นรูปสามเหลี่ยม ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 3 เมตร
- 1.4. จระเข้แม่น้ำจืดหรือจระเข้ไทย (*Crocodylus siamensis*) เป็นชนิดพันธุ์ที่พบอาศัยอยู่ตาม ห้วย หนอง คลอง บึง และในแม่น้ำประเทศไทย ลาว กัมพูชา บอร์เนียว และชวา ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 3.5-4.0 เมตร
- 1.5. จระเข้แม่น้ำเค็มหรือจระเข้ไคเคียม (*Crocodylus porosus*) พบกระจายอยู่อย่างกว้างขวางตั้งแต่อ่าวเบงกอล ตามชายฝั่งทะเลประเทศอินเดีย ศรีลังกา ไทย มาเลเซีย

และฟิลิปปินส์ ขึ้นไปจนถึงตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 5.50 เมตร

- 1.6. จระเข้นิวกินี (*Crocodylus novaeguineae*) พบว่ามี 2 ชนิดพันธุ์ย่อย คือ ชนิดที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดในเกาะนิวกินีและหมู่เกาะอู มีขนาดโตเฉลี่ย 2.4 เมตร และอีกชนิดพบอาศัยในเกาะลูซอน มินโดโร และอีกหลายๆเกาะในฟิลิปปินส์ มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.50-1.80 เมตร
- 1.7. จระเข้ออสเตรเลีย (*Crocodylus johnsoni*) พบอาศัยอยู่บริเวณแม่น้ำลำธาร บริเวณภาคเหนือของออสเตรเลีย มีลักษณะปากยาวคล้ายตะโขง มีขนาดลำตัวโดยเฉลี่ย 1.80 เมตร
- 1.8. จระเข้อเมริกา (*Crocodylus acutus*) เป็นจระเข้น้ำเค็ม อาศัยอยู่ในอเมริกากลางบริเวณชายฝั่งเม็กซิโก มีลักษณะส่วนหัวหน้ากระบอกตาค่อนข้างกว้าง และค่อยๆ เล็กลงเรื่อยลงยาวไปทางปลายจมูกดูเป็นรูปสามเหลี่ยม มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 5.70 เมตร
- 1.9. จระเข้โมเรลิต (*Crocodylus moreletii*) อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืด ในอเมริกากลางของมหาสมุทรแอตแลนติก มีจมูกยาวเป็นรูปไข่ ส่วนหางเป็นรูปสามเหลี่ยม มีขนาดตัวโดยเฉลี่ย 1.90 เมตร
- 1.10. จระเข้คิวบา (*Crocodylus rhombifer*) อาศัยในแหล่งน้ำจืดเฉพาะบึงชาปาต้า และบึงลาเนียร์ในเกาะคิวบา มีขนาดตัวโดยเฉลี่ย 3.60 เมตร
- 1.11. จระเข้โอริโนโก (*Crocodylus intermedius*) พบในกลุ่มน้ำโอริโนโกในเวเนซุเอลา และในโคลัมเบียทางด้านตะวันออก มีลักษณะจมูกที่แหลมคล้ายจระเข้ปากยาวแอฟริกา มีขนาดตัวโดยเฉลี่ย 5.50 เมตร

2. สกุล *Osteolaemus*

พบว่ามีเพียงชนิดพันธุ์เดียว คือ จระเข้แควแอฟริกา (*Osteolaemus tetraspis*) เป็นชนิดพันธุ์จระเข้ที่พบอาศัยในบึง และลำธารตามป่าดิบชื้นในแอฟริกาตะวันตก และแอฟริกากลาง มีขนาดลำตัวโดยเฉลี่ย 1.80 เมตร

3. สกุล *Tomistoma*

มีเพียงชนิดเดียว คือ ตะโขงหรือจระเข้ปากกระทุงเหว (*Tomistoma schlegelii*) พบอาศัยอยู่ทางภาคใต้ของประเทศไทย มาเลเซีย บอร์เนียว และสุมาตรา มีลักษณะปากยาวเรียวเล็ก มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 3.80 เมตร

1.1.2 วงศ์อัลลิเกเตอร์และไคแมน (Alligatoridae)

พบอาศัยในทวีปอเมริกาเหนือและทวีปอเมริกาใต้ โดยจะเข้าในวงศ์นี้จะมีประเภทที่มีปากใหญ่ปานๆ ที่เรียกว่า Alligator และจะเข้าที่มีขนาดเล็ก และไม่ดุร้ายเรียกว่า Caiman มีทั้งหมด 4 สกุล และ 7 ชนิดพันธุ์

1. สกุลอัลลิเกเตอร์ (Alligator) มี 2 ชนิดพันธุ์ ได้แก่
 - a. อัลลิเกเตอร์อเมริกา (*Alligator mississippiensis*) พบอาศัยในประเทศสหรัฐอเมริกาทางภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงใต้ จะเข้าชนิดนี้มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 2.40-3.00 เมตร
 - b. อัลลิเกเตอร์จีน (*Alligator sinensis*) พบในประเทศจีนแถบลุ่มน้ำแยงซีเกียง มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.20 เมตร
2. สกุลไคแมน (Caiman) มี 2 ชนิดพันธุ์ ได้แก่
 - a. ไคแมนอเมริกาใต้ (*Caiman crocodilus*) พบแถบตอนเหนือของอเมริกากลางและตอนกลางของอเมริกาใต้ มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 2.40 เมตร
 - b. ไคแมนบราซิล (*Caiman latirostris*) พบในทวีปอเมริกาใต้ เช่น บราซิล อาร์เจนตินา และโบลิเวีย มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.80 เมตร
3. สกุล Paleosuchus มี 2 ชนิดพันธุ์
 - a. ไคแมนแกระ (*Paleosuchus palpebrosus*) พบในทวีปอเมริกาใต้ แถบลุ่มน้ำอะเมซอนและลุ่มน้ำโอริโนโค มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.05 เมตร
 - b. ไคแมนหน้าเรียบ (*Paleosuchus trigonatus*) พบในทวีปอเมริกาใต้ แถบลุ่มน้ำอะเมซอนมีขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.20 เมตร
4. สกุล Melanosuchus มีเพียงชนิดพันธุ์เดียว คือ

ไคแมนดำ (*Melanosuchus niger*) พบอาศัยในทวีปอเมริกาใต้ แถบลุ่มแม่น้ำอะเมซอน และกิอานาร์ มีขนาดตัวเฉลี่ย 4.50 เมตร

1.1.3 วงศ์ตะโขงอินเดีย (Gravialidae)

จะเข้าในวงศ์นี้มีปากเล็ก ยาวเรียว และมีอยู่เพียงสกุลและพันธุ์เดียว คือ ตะโขงอินเดีย (*Gravialidae gangeticus*) อาศัยในประเทศอินเดีย มีขนาดลำตัวเฉลี่ย 2.80 เมตร

1.2 การสืบพันธุ์ของจระเข้

จระเข้เพศเมีย อวัยวะสืบพันธุ์ แบ่งได้เป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ

1. รังไข่

รังไข่จะมีจำนวน 2 อัน รูปร่างรี และแบนสีขาว เนื้อค่อนข้างแน่นแข็ง ติดอยู่กับไตทั้ง 2 ข้าง โดยแขวนลอยได้กระตุกส่วนหลังส่วนเอว เมื่ออยู่ในฤดูผสมพันธุ์ รังไข่จะขยายตัวและมีถุงไข่อ่อนอยู่บนผิวเป็นจำนวนมาก

2. ท่อนำไข่

ท่อนำไข่ของจระเข้ ได้แก่ ส่วนที่เห็นเป็นท่อแบนๆ รูปตัววาย (Y) แยกเป็น 2 ปีกถัดจากรังไข่ทั้งสองข้าง ท่อนำไข่จะเปิดออกสู่บริเวณช่องขับถ่ายร่วม ด้านล่างของลำตัวตรงตำแหน่งโคนหางของจระเข้

จระเข้เพศผู้ อวัยวะสืบพันธุ์ แบ่งได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ คือ

1. อัณฑะ

อัณฑะของจระเข้มีจำนวน 2 อัน อยู่ในช่องท้องบริเวณใกล้กับไตซึ่งติดอยู่ด้านหลัง มีหน้าที่ผลิตน้ำเชื้อ

2. ท่อนำน้ำเชื้อ

เป็นท่อที่ต่อจากอัณฑะมายังอวัยวะเพศในช่องขับถ่ายร่วม ทำหน้าที่เป็นทางขนส่งน้ำเชื้อจากอัณฑะเพื่อออกผ่านทางอวัยวะผสมพันธุ์

3. อวัยวะเพศผู้

มีลักษณะเป็นแท่งยาวปลายแหลมขยายออกเล็กน้อย โดยมีรอยคอดก่อนถึงส่วนขยาย มีร่องเปิดด้านบน เพื่อให้ น้ำเชื้อซึ่งผ่านมาจากท่อนำน้ำเชื้อไหลออกขณะทำการผสมพันธุ์ โดยปกติแล้ว อวัยวะเพศผู้จะพับซ่อนตัวอย่างในช่องขับถ่ายร่วม และจะโผล่ออกมาเมื่อถึงเวลาผสมพันธุ์เท่านั้น

1.3 สรีรวิทยาการสืบพันธุ์

จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย มีฤดูผสมพันธุ์ราวเดือนพฤศจิกายน โดยจระเข้เพศเมียจะถึงวัยเจริญพันธุ์ที่อายุระหว่าง 7 ถึง 11 ปี (เฉลี่ยราว 9-10 ปี) ทั้งนี้มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ คือ รังไข่ก่อนถึงฤดูผสมพันธุ์จะมีการสร้างไข่ซึ่งอยู่ในถุงไข่ ขึ้นเป็นเมือกกลมๆ จำนวนมากบนรังไข่ทำให้ดูว่ารังไข่เหมือนพวงองุ่น เริ่มขยายตัวและมีไข่เกิดขึ้นประมาณ 8-12 ฟองต่อหนึ่งข้าง เมื่อจระเข้ทำการผสมพันธุ์กันแล้วไข่ที่ตกจากรังไข่ลงมาอยู่ในท่อนำไข่ซึ่ง ณ จุดนี้ น้ำเชื้อจากจระเข้เพศผู้ที่เข้ามาผ่านทางอวัยวะเพศของตัวเมียเคลื่อนเข้าสู่ท่อนำไข่ทั้งสองข้าง ทันทีที่ไข่สุกตกมาพบตัวเชื้อก็จะเกิดการปฏิสนธิขึ้น ซึ่งไข่ที่ผสมแล้วเหล่านี้จะคงอยู่ในท่อนำไข่ทั้งซ้ายขวาตลอดไปจนถึงระยะเวลาวางไข่ จากนั้นจะมีการพัฒนาไข่ขาวออกมาห้อมล้อมไข่และในระยะสุดท้ายจึงมีการพัฒนาเปลือกไข่ห่อหุ้มชั้นนอกสุด ขณะเดียวกันตัวอ่อนของจระเข้ก็เริ่มมีการพัฒนาตัวโดยการแบ่งเซลล์ขึ้นมา จากการศึกษา

พบว่าน้ำเชื้อของจระเข้เพศผู้สามารถเข้าไปรอการตกไข่ของตัวเมียใน รังไข่ได้นานตั้งแต่ 1 เดือน ถึง 1 เดือนครึ่ง แม่จระเข้ที่ตั้งท้องแล้วจะเริ่มหาและทำการพูนดินตลอดจนวัสดุต่างๆ เป็นรัง โดยจะวางไข่ ประมาณเดือนมีนาคม และเมษายน ทันทีที่ไข่ออกมาจากตัวแม่จระเข้แล้ว ตัวอ่อนภายในไข่จะขยับ ตำแหน่งมาอยู่บริเวณที่สูงสุดหรือเหนือสุดของไข่แดงไม่จมอยู่ด้านล่างหรือทางต่ำ ซึ่งจะคงอยู่ ณ ตำแหน่งนี้ตลอดไป ขณะที่ฟักไข่นั้นจะไม่มีการขยับตัวเลย ไข่จระเข้ที่ออกมาใหม่ๆ จะมีเปลือกที่ค่อนข้างโปร่งแสง แต่ภายในวันเดียวจะพบว่ามีการเคลือบผิวที่บางบริเวณเหนือตำแหน่งที่ตัวอ่อน อยู่แล้วค่อยๆ ขยายวงกว้างออกเป็นแนวโอบลงมา 2 ข้างของไข่ ระยะก่อนฟักออกเป็นตัวเปลือกจะ ค่อนข้างบางลงกว่าเดิม ทั้งนี้เนื่องจากการดึงแคลเซียมจากเปลือกไข่ไปใช้พัฒนาโครงสร้างของจระเข้ ด้วยสาเหตุนี้ลูกจระเข้จึงสามารถเจาะเปลือกไข่ออกมาได้ง่ายขึ้น และก็ยังมียาวช่วยเจาะเปลือกอีก อันหนึ่งซึ่งเรียกว่า "ฟันเจาะไข่" เป็นอวัยวะที่งอกออกมาจากผิวหนังบริเวณเหนือปาก ใช้เจาะเปลือกไข่ ให้เป็นรู จากนั้นอวัยวะนี้ก็จะหายไปภายหลัง

1.4 การกำหนดเพศของจระเข้

จระเข้เป็นสัตว์เลื้อยคลานที่มีการกำหนดเพศในระยะเป็นตัวอ่อนด้วยอุณหภูมิ จากการทดลองและวิจัย พบว่า ถ้าอุณหภูมิฟักไข่ที่ 30 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ลูกจระเข้ที่ออกมาส่วนใหญ่จะเป็นเพศเมีย หากอยู่ ระหว่าง 32 ถึง 33 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่จะเป็นเพศผู้ แต่ถ้าประมาณ 31 องศาเซลเซียสแล้ว ปริมาณลูก จระเข้ที่ออกมาจะมีสัดส่วนเพศผู้และเพศเมียเท่าๆ กัน

1.5 โรคของจระเข้

โรคในจระเข้พอจะแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ โรคไม่ติดเชื้อ และโรคติดเชื้อ โรคไม่ ติดเชื้อเกิดได้จากสาเหตุดังต่อไปนี้

1. สิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม

- อุณหภูมิ จระเข้จำเป็นต้องใช้แหล่งพลังงานความร้อนจากภายนอก คือ แสงแดด ในการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่ร่างกาย เช่นนอนอาบแดด ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมสบายตัวกับจระเข้ จะอยู่ระหว่าง 32 องศาเซลเซียส สำหรับจระเข้ขนาดเล็ก และ 30 องศาเซลเซียสสำหรับ จระเข้ขนาดใหญ่
- คุณภาพของน้ำ น้ำที่เหมาะสมสำหรับจระเข้ที่สุดคือ น้ำสะอาด มีปริมาณแอมโมเนียต่ำ สิ่ง ปฏิกูล สารพิษ หรือสิ่งปลอมปนอื่น ๆ ต้องมีน้อยที่สุด แหล่งน้ำเสียจะเป็นแหล่งสะสมของ เศษอาหารและสิ่งขับถ่ายซึ่งทำให้มีแอมโมเนียสูงขึ้น จะเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง และตาจระเข้เป็นอย่างมาก โอกาสติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนที่มีอยู่อย่างมากในแหล่งน้ำ จึงมีสูง การจะให้น้ำสะอาดอยู่เสมอควรจะต้องมีการถ่ายน้ำให้น้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ ทั้งนี้

จำเป็นต้องได้รับการตรวจคุณภาพน้ำอยู่เป็นระยะ ๆ บางแห่งเปลี่ยนน้ำทุกวัน จึงพบว่า อัตราการเจริญเติบโตของจระเข้เป็นไปอย่างรวดเร็ว แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงการเปลี่ยนน้ำด้วยว่า ต้องทำอย่างค่อยเป็นค่อยไป ไม่เอะอะโหมครมจนเกิดความตื่นตกใจแก่จระเข้และเพิ่มความเครียดขึ้นได้

- จำนวนจระเข้ในบ่อเลี้ยง จำนวนจระเข้หรือประชากรจระเข้ที่เลี้ยงในแต่ละบ่อ จำเป็นต้องมีสัดส่วนที่พอเหมาะกับขนาดบ่อเลี้ยงหากจระเข้แออัดเกินยอมทำให้เกิดการต่อสู้แย่งแย่งอาหารกัน อาจเกิดแผลและเกิดโรคติดเชื้อบนผิวหนังได้ง่าย นอกจากนี้อาจทำให้ดูแลไม่ทั่วถึง มีอัตราการผสมติดต่ำ เพราะเกิดการแย่งแย่งในการผสมพันธุ์และการกคชีตามลำดับชั้น รวมถึงการจับหรือการขนย้ายจะทำได้ลำบากขึ้น
- สถานที่เลี้ยง อาจมีแตกต่างกันไป เช่น บ่อน้ำธรรมชาติ บ่อดิน บ่อซีเมนต์ จนถึงอ่างไฟเบอร์กลาส ฯลฯ แตกต่างกันไปตามฐานะทางเศรษฐกิจ วัตถุประสงค์ของการเลี้ยง และเทคโนโลยีของแต่ละฟาร์ม แต่สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงคือ
 - ก. ขนาด ความต้องการพื้นที่ของจระเข้หนึ่งตัวคือ ขนาดของจระเข้ 3 เท่า ของความยาวของจระเข้ มีอัตรา ส่วนพื้นที่บ่อเท่ากับพื้นน้ำ หรืออย่างน้อย 2 ใน 3 ของพื้นที่น้ำ ส่วนความลึกของน้ำอย่างต่ำ 60 เซนติเมตร
 - ข. พื้นผิว เนื่องจากจระเข้เป็นสัตว์ที่คลานบนดินและได้น้ำ โอกาสสัมผัสกับพื้นผิวจึงมีเกือบตลอดเวลา ฉะนั้นความเรียบหรือหยาบของพื้นผิวจึงมีความสำคัญ เพราะสามารถทำให้หนังท้องจระเข้เกิดรอยขีดข่วนจนถึงบาดเจ็บ และมีการติดเชื้อเกิดขึ้นได้ ราคาหนังจระเข้จะตกลงการมีตำหนิดังกล่าวเกิดขึ้น พื้นผิวซีเมนต์ขัดเรียบจึงเหมาะกว่าพื้นผิวอย่างอื่น

2. อาหารไม่เหมาะสม

อาหารที่ให้ควรจะมีคุณสมบัติในทุก ๆ อย่างทั้งปริมาณและคุณภาพ หากสองสิ่งนี้มีมากหรือน้อยเกินไปจะขาดคุณสมบัติในสารอาหารและองค์ประกอบต่าง ๆ ทำให้เกิดปัญหาและโรคต่าง ๆ

3. อาการแคระแกรน

เกิดได้กับลูกจระเข้อายุ 6 - 8 อาทิตย์ ลูกจระเข้จะมีอาการเจริญเติบโตเมื่อดูจากน้ำหนักและความยาวลำตัวต่ำกว่าลูกจระเข้ตัวอื่น ๆ ที่เลี้ยงในรุ่นเดียวกัน ลูกจระเข้จะไม่กินอาหารแข็งขีมี ผอมลง มีบางตัวที่ยังกินอาหารตามปกติ แต่ขนาดคงเดิม สาเหตุของการแคระแกรนยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่อาจพอสันนิษฐานได้ว่าเป็นผลสืบเนื่องมาจากพันธุกรรม ความผิดปกติแต่กำเนิด สภาพแวดล้อม อาหาร และเชื้อโรค ซึ่งมักมีความเกี่ยวข้องซึ่งกันและกัน การป้องกันโรคนี้นี้ยังไม่ประสบผลสำเร็จนัก เท่าที่พอช่วยลูกจระเข้ได้โดยการ

ป้อนอาหารสำเร็จรูปผ่านท่อลงไปยังกระเพาะอาหาร ส่วนผสมของอาหารได้แก่ ปลาบดละเอียดทั้งตัว 250 กรัม ผสมน้ำสะอาด 250 มิลลิลิตร และเติมวิตามินรวมชนิดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ป้อนอาหารเหล่านี้ด้วยขนาด 250 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัวกระชัง 1 กิโลกรัม อาทิตย์ละ 2 วัน พร้อมทั้งฉีดวิตามินอีและซีลีเนียมให้เดือนละครั้ง

1.6 ความพิการแต่กำเนิด

ลักษณะความพิการที่เป็นมาแต่กำเนิด เช่น ปากแหว่ง เพดานโหว่ หลังคด หางค้วน ไข่แดงไม่เข้าท้อง ผงงหน้าท้องไม่ปิด ไม่มีลูกตา ฯลฯ เหล่านี้มักเกิดจากการจัดการไม่ดี มี 3 กรณีคือ

1. พันธุกรรม หมายถึงการผสมพันธุ์ในสายเลือดชิด เช่น พ่อผสมลูก ลูกผสมแม่ ฯลฯ ไม่มีการจัดการเรื่องสายพันธุ์ที่แน่ชัดเนื่องจากปล่อยเลี้ยงบ่อรวมกันจำนวนมากทำให้ไม่สามารถควบคุมการผสมพันธุ์ได้ จึงเกิดปัญหาตามมา
2. การจัดการฟักไข่ที่ไม่เหมาะสม ไม่ถูกวิธี ความชื้นไม่พอหรือความร้อนสูงเกินไป มีผลทำให้ไข่แดงไม่เข้าท้อง เกิดความพิการต่าง ๆ นานาได้เสมอ
3. สารพิษบางชนิดตกค้างมากับอาหารที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กระชังและถ่ายทอดมาถึงลูกทำให้เกิดความผิดปกติในการพัฒนาการของตัวอ่อน เช่น พิษของโลหะหนักต่าง ๆ พวกปรอท สังกะสี และตะกั่ว ซึ่งบางครั้งก็ปนเปื้อนมากับน้ำที่ใช้เลี้ยงกระชังได้

1.7 การใช้ประโยชน์จากกระชัง

1. หนัง ราคาซื้อขายหนังกระชังจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของหนัง โดยหนังแผ่นท้องจะแพงกว่าหนังแผ่นหลัง เพราะหนังแผ่นท้องนำมาใช้สะดวกกว่าเนื่องจากหนังแผ่นหลังต้องถากให้ได้ความหนาตามกำหนดเสียก่อน ซึ่งก็นับว่ายากอยู่พอสมควร และหนังส่วนนี้มีสีสันทสวยงามดูส่วนท้องไม่ได้ อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างเรื่องสีสันทของหนังกระชังก็ไม่ได้เป็นการแสดงว่าเป็นหนังที่ด้อยคุณภาพแต่ประการใด
2. เนื้อ สามารถขายได้ในรูปเนื้อสดและเนื้อแห้ง ซึ่งเป็นที่นิยมของชาวเอเชีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งชาวจีน เนื่องจากถือว่ามีความสมบูรณ์ในการเป็นยารักษาโรคได้ ตลาดในไทยนั้นนิยมเนื้อสดเพื่อใช้ปรุงอาหาร เช่น ผัด ต้ม ทอด เนื่องจากรสชาติดีมาก คล้ายกับหมูปนไก่ อีกทั้งยังมีไขมันต่ำอีกด้วย ชาวจีนใช้เนื้อกระชังเป็นส่วนประกอบเข้ากับตัวยาสมุนไพรเพื่อใช้รักษาโรคหอบหืด ดังนั้นมูลค่าเนื้อแดงจึงเกือบจะเท่าหนัง ปัจจุบันมีการทำเป็นเนื้อกระป๋องในรูปเนื้อกระชังคูน และเนื้อกระชังรสต่าง ๆ อีกด้วย
3. กระดูกและฟัน ใช้เป็นส่วนผสมของยากระดูกอ่อนเด็กอ่อนและยังทำเป็นเครื่องประดับ

4. อู้งมืออู้งเท้าของจระเข้ เมื่อถลกหนังออกแล้วนำมาทำเป็นพวงกุญแจ หรือนำมาทำเป็นที่เกาหลังก็ได้
5. ไขมัน ในต่างประเทศมีการนำไขมันจระเข้ไปใช้ในหลายรูปแบบ เช่น จีนและสิงคโปร์ นิยมนำไปใช้เป็นน้ำมันทาผิวหนังสำหรับรอยฟกช้ำ น้ำร้อนลวก ไฟลวก ใช้ทำยารักษาโรคผิวหนัง และแผลสด ที่ออสเตรเลียนำไขมันจระเข้เข้าไปใช้เป็นส่วนผสมหลักของน้ำมันและครีมบำรุงผิวกันแดด
6. เครื่องใน เดิมทีเครื่องในจะเข้มันถูกทอดทิ้ง โดยใช้เป็นอาหารแก่จระเข้หมุนเวียนกลับลงไปอีก แต่ปัจจุบันสามารถนำมาขายได้ทั้งหมด (หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต ดี ลำไส้ ฯลฯ) เนื่องจากมีผู้นำไปใช้เป็นยาแผนโบราณและยาจีน ตลอดจนกระดูกและเลือดก็เช่นเดียวกัน
7. ลูกจระเข้ตัวเล็ก ๆ ที่ตายก็ยังสามารถนำมาสตัฟฟายเป็นเครื่องประดับบ้านที่มีราคาสูง

2. โครงสร้างของฮีโมโกลบิน

ฮีโมโกลบิน เป็นรงควัตถุที่ใช้ในการหายใจ (respiratory pigment) มีความสามารถรวมตัวกับแก๊สต่างๆได้ เช่น

- รวมตัวกับออกซิเจน ได้เป็น ออกซีฮีโมโกลบิน (oxyhemoglobin)
- คาร์บอนไดออกไซด์
- คาร์บอนมอนอกไซด์

ถ้าไม่มีฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแล้วจะพบว่าใน 100 มิลลิลิตรของเลือดจะขนส่งออกซิเจนได้เพียง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แต่ถ้ามีฮีโมโกลบินอยู่จะพบว่า ขนส่งออกซิเจนได้ถึง 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ฮีโมโกลบิน เป็นโปรตีนขนาดใหญ่ ประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย

แต่ละหน่วยย่อยประกอบไปด้วย

- โปรตีน (โกลบิน)
- ฮีม (heme)

มีเหล็กเป็นองค์ประกอบ และเหล็กนี้ทำหน้าที่จับออกซิเจนใน 1 โมเลกุลของฮีโมโกลบินประกอบด้วย 4 โกลบิน และ 4 ฮีม แต่ละฮีมจะจับออกซิเจนได้ 2 อะตอม



รูปที่ 1 โครงสร้างของฮีโมโกลบิน

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โปรตีนฮีโมโกลบินประกอบด้วยสี่เส้นของสายโพลิเปปไทด์ ซึ่งจะมีสายของแอลฟา (2α) สองสาย และสายบีต้า (2β) สองสาย จากการศึกษาฮีโมโกลบินพบว่าแต่ละสายของแอลฟาและบีต้าจะมีโครงรูป (conformation) เหมือนกับไมโอโกลบินถึงแม้ไม่พบกรดอะมิโนที่มีความเหมือนกันมาก แสดงถึงสายวิวัฒนาการซึ่งอาจจะมาจากแบบ ancestral จากโครงสร้างของฮีโมโกลบินพบว่าแต่ละเส้นของโกลบินจะมีฮีมเป็นหมู่ prosthetic ที่ฝังอยู่ส่วน crevice ในขณะที่สับยูนิตทั้งสี่หน่วยจะเพ็คแน่นเข้าหากันซึ่งจะพบว่าความแตกต่างของแต่ละหน่วยอยู่ที่แรงที่ดึงดูดแต่ละสับยูนิต

ได้มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาหน้าที่ของฮีโมโกลบินที่ทำหน้าที่เป็นสาร antimicrobial ตัวอย่างเช่น Fogaca et al. (1999) แยกเปปไทด์จากเลือดของเห็บวัว พบว่าเปปไทด์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และ เห็บ ซึ่งเปปไทด์ที่แยกได้ คือส่วนของลำดับกรดอะมิโน 33-61 ในสายแอลฟาของฮีโมโกลบิน

Mak et al. (2004) ทำการศึกษาสายเปปไทด์ของฮีโมโกลบินจากเลือดประจำเดือนของมนุษย์ พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แต่จะออกฤทธิ์ได้ดีในกลุ่มของแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	
ห้องสมุดวิจัย	
วันที่.....	25 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน.....	247512
เลขเรียกหนังสือ.....	

Nedjar-Arroume et al. (2008) ศึกษาคุณสมบัติฮีโมโกลบินของวัวในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยพบว่ามีส่วนสายแอลฟา (α -chain) และสายบีตา (β -chain) ของฮีโมโกลบินที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *Micrococcus luteus* A270, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* และ *Salmonella enteritidis*

3. การศึกษาเกี่ยวกับ Antimicrobial proteins หรือ peptides

3.1 Antimicrobial proteins

โปรตีนที่มีความสามารถในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย หรือ Antimicrobial protein นั้นเป็นกลุ่มโปรตีนของไลโซไซม์ (lysozyme or muramidase; EC3.2.1.17) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกค้นพบโดยบังเอิญโดย Alexander Fleming ในปี ค.ศ.1922 โดยที่ Lysozyme มาจากคำว่า “lyso” หมายถึงมีสมบัติเป็นเอนไซม์ ซึ่งเขาสังเกตว่าเมื่อหยดน้ำมูก (Nasal mucus) ลงไปในสารละลายแบคทีเรีย พบว่าความขุ่นของสารละลายลดลงอย่างรวดเร็ว จึงได้ตั้งข้อสันนิษฐานว่าอาจมีสารที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียได้และจากการทำบริสุทธิ์ Fleming ก็ทราบว่าเอนไซม์ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายเซลล์แบคทีเรียแตก (lysis) จึงได้ตั้งชื่อตามสมบัติของเอนไซม์คือ “Lysozyme”



รูปที่ 2 โครงสร้างลำดับกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของไลโซไซม์

ไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางทั้งทางโครงสร้าง กลไกการทำงาน สมบัติทางเคมี หรืออื่นๆ ซึ่งปัจจุบันสามารถจำแนกไลโซไซม์ออกเป็น 3 type ด้วยกัน ตามจำนวนและองค์ประกอบคือ

1. Chicken type lysozyme (C-type) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 129 –130 โมเลกุล พบมากในไข่ขาวของไข่ไก่ ซึ่งมีลักษณะเป็นสายเดี่ยว (Single chain) มีน้ำหนักโมเลกุล

ประมาณ 14 kDa ขนาดโมเลกุล $45 \times 30 \times 30 \text{ \AA}$ ประกอบด้วยโดเมน(Domain) สองโดเมนที่เป็น α -helix และตามด้วย β -sheet และในโมเลกุลประกอบด้วย 4 Disulfide bond ระหว่าง Cystein ตำแหน่งที่ 64 และ 80, 76 และ 94, 6 และ 127, 30 และ 15

2. Goose type lysozyme (G-type) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 185 โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 21 kDa และประกอบด้วย 2 Disulfide bond
3. Phage type lysozyme (T4-type) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 165 โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 18 kDa

นอกจากไลโซไซม์แล้ว ยังมีการศึกษาโปรตีนกลุ่มอื่น ที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ Bactericidal/permeability increasing

3.2 Antimicrobial peptides

เปปไทด์ที่มีความสามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหรือ Antimicrobial peptides นั้นเริ่มมีการศึกษาดังแต่ในศตวรรษที่ 19 โดย Ehrlich, Metchnikov และ Petterson ซึ่งเป็นการศึกษาด้านเทคนิคง่าย ๆ โดยในปี 1879 Ehrlich ได้ทำการศึกษา Cytoplasmic granules ของเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเทคนิคการย้อมสีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์พบว่าโปรตีนที่เป็นเบสและเป็นการอยู่จำนวนมาก ในปี 1883 Metchnikov ได้ทำการศึกษาและพบว่ามีการทำลายเชื้อแบคทีเรียของเซลล์ฟาโกไซต์ในปี 1895 Kanthack และ Hardy พบการทำลายเชื้อแบคทีเรียและสิ่งแปลกปลอมที่เรียกว่า Phagocytosis และในปีต่อมา Petterson ได้ทำการศึกษาและพบว่าสารสกัดจากหนองของคนมีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียซึ่งพบว่าเป็นการทำงานของโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสโดยการทำการศึกษาร่วมกับ Protamines ในสเปิร์มของปลาแซลมอนซึ่งในระยะเริ่มแรกของการศึกษา Antibacterial proteins หรือ peptides นั้นได้มีสมมติฐานว่า ในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอม ซึ่งเป็นการทำงานของโปรตีนหรือเปปไทด์ที่มีความเป็นบวกจากกรดอะมิโนของเม็ดเลือดขาว ในปี 1956 Shames และ Watson พบว่าสารสกัดจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระต่ายมีเปปไทด์ที่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เปปไทด์ที่พบนี้มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่คล้ายกับฮิสโตนซึ่งจะมีคุณสมบัติเป็นบวกและสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา

Defensin เป็นเปปไทด์ที่พบว่ามีฤทธิ์ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียตัวแรกที่ทราบคุณสมบัติต่างๆ โดยพบว่าประกอบด้วยอาร์จินีน 25% และซิสเทอีน 3.5 % สามารถทำลายแบคทีเรียแกรมลบคือ *E.coli* ซึ่งการทำงานของ Defensin จะเป็นการเข้าไปทำลายเซลล์แบคทีเรียให้สูญเสียสมดุลการเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์และเกิดการตายในที่สุด

นอกจากนี้ มีงานวิจัยมากมายที่มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มโปรตีนและเปปไทด์จากสิ่งมีชีวิตตั้งแต่พวกโปรคาริโอตจนกระทั่งพวกยูคาริโอต พืช สัตว์ และมนุษย์ โดยในปัจจุบันได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถึงระดับของโครงสร้าง ส่วนประกอบของโมเลกุล กลไกการทำลายหรือการต้านเชื้อ และสารบางกลุ่มก็ได้มีการนำมาใช้ใน clinical trial ถึงเฟส 3 แล้ว เช่น Indolicidin, defensin สำหรับความเป็นไปได้ในด้านเชิงพาณิชย์ ในปัจจุบันพบว่าในต่างประเทศมีการศึกษาหรือนำสารโปรตีนและเปปไทด์ต่างๆไปทดลองทางคลินิกเรียบร้อยแล้วดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 โปรตีนและเปปไทด์ต่างๆที่ทดลองทางคลินิก

Synthetic compound	Company	AMP type (Species)	Clinical trial outcomes	Planned clinical trials
Pexiganan (MSI-78)	Genaera Plymouth Meeting, PA (formerly Magainin Pharmaceutical Inc.)	Magainin 2 (Xenopus frog)	No advantage over conventional antibiotics in a Phase III trial for topical Rx of diabetic foot ulcers. Failed to gain FDA approval.	None.
Iseiganan (IB-367)	Intrabiotics Pharmaceuticals, Inc. Mountainview, CA	Protegrin (Pig)	Failed two Phase III trials as mouthrinse for stomatitis in highrisk patients. Failed Phase III trial as aerosolized Rx in ventilator-associated pneumonia.	Phase IIa trial as aerosolized Rx for CF patients with chronic respiratory infections.
Omiganan (MBI-226)	Microbiologix Biotech Vancouver, BC	Indolicidin (Bovine)	Failed Phase III trial as topical Rx to prevent or reduce venous catheter-related bloodstream infections.	Repeat Phase III trial to confirm reduction in catheter colonization and local infections under consideration.
MBI 594AN	Microbiologix Biotech Vancouver, BC, Canada	Indolicidin (Bovine)	Phase IIb trial showed efficacy as topical Rx for acne.	Phase III trial.
P113 P113D	Demegen, Pittsburgh, PA Dow Pharmaceutical Sciences, Patuloma, CA	Histatins (Human)	Completed Phase II trial as mouthrinse for oral candidiasis in HIV patients.	Inhalation Rx for Pseudomonas infections in CF patients under consideration.
XMP.629	Xoma (US) Berkeley, CA	BPI (Human)	Failed Phase III trial as topical Rx for acne.	None at present time.
Neuprex (rBPI21)	Xoma (US) Berkeley, CA	BPI (Human)	Failed Phase III trial as adjunctive parenteral Rx to reduce mortality in pediatric meningococemia.	Planned Phase I/II trial to reduce inflammatory complications in pediatric open heart-surgery patients.

ที่มา: Y, Gerold Gardon, Eric G. Romonoski and Alison M macdermot, 2005 Eye Current Research.

การศึกษา antimicrobial peptide ในอดีตเริ่มมีการศึกษาในสัตว์กลุ่มแมลง และในช่วง 10 ปี ที่ผ่านมามีการศึกษา antimicrobial peptide เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยมีการศึกษาในสัตว์ชั้นสูง เช่น ในสุกร หรือแม้แต่ในมนุษย์ ปัจจุบันมีการจัดแบ่ง antimicrobial peptide ออกได้เป็นประเภทต่างๆ เช่น amphipathic and hydrophobic α -helices, β -Sheet peptides and small proteins, peptides with irregular amino acid

composition, peptides with thio-ether rings, peptaibols และ microcyclic cystine knot pepides ตัวอย่างของ antimicrobial peptide บางกลุ่มที่กล่าวมาแสดงในตารางที่ 2

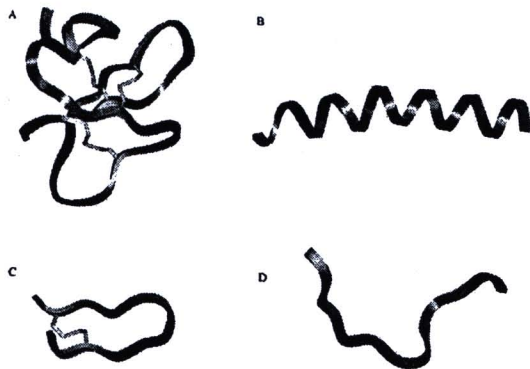
ตารางที่ 2 แสดง antimicrobial peptide ในกลุ่ม α-helical และ β-sheet

peptide	source	primary structure ^a
α-helical		
magainin 1	<i>Xenopul laevis</i>	H ₂ N-GIGKFLHSAGKFGKAFVGEIMKS-COOH
magainin 2		H ₂ N-GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS-COOH
PGLa		H ₂ N-GMASKAGAIAGKIAKVALKAL-NH ₂
cecropin P1	porcine small intestines	H ₂ N-SWLSKTAKKLENSAKKRIS E GIAIAIQGGPR-COOH
β-sheet		
tachyplesin I ^b	<i>Tachypleus tridentatus</i>	H ₂ N-KWCFRVCYRGIC Y RRCR-NH ₂
tachyplesin II		H ₂ N-RWCFRVCYRGIC Y RKCR-NH ₂
tachyplesin III	<i>Tachypleus gigas</i>	H ₂ N-RWCFRVCYRGIC Y RKCR-NH ₂
polyphemusin I	<i>Limulus polyphemus</i>	H ₂ N-RRWCFRVCYRGFCYRKCR-NH ₂
polyphemusin II		H ₂ N-RRWCFRVCYKGF C YRKCR-NH ₂
protegrin-1	porcine leukocytes	H ₂ N-RGGRLCYCRRRFCVCVGR-NH ₂

ซึ่งกลุ่ม cationic antimicrobial peptide สามารถแบ่งออกเป็นอีก 3 กลุ่มใหญ่คือ linear peptides forming α-helical structures, cysteine-rich open-ended peptides containing single or several disulfide bridges และ molecules rich in specific amino acids such as proline, glycine ซึ่งตัวอย่างของ antimicrobial peptides ในกลุ่มนี้แสดงในตารางที่ 3 ตัวอย่างลักษณะโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 3

ตารางที่ 3 ตัวอย่างของ Cationic antimicrobial peptides (ดัดแปลงจาก Vizioli J. and Salzet M., (2002))

Structure and representative peptides	Organism	Antimicrobial activity
Linear α-helix peptides		
Cecropins	Insects, pig	Bacteria, fungi, virus, protozoa, metazoa
Clavanin, styelin	Tunicates	Bacteria
Magainin, dermaseptin	Amphibians	Bacteria, protozoa
Buforins	Amphibians	Bacteria, fungi
Linear peptides rich in certain amino acids		
Pro-rich:		
drosocin, metchnikowins,	Fruit fly	Bacteria
pyrrhocoricin,	Hemipteran	Bacteria, fungi
metanikowin		
Gly-rich:		
dipthericins, attacins	Dipterans	Bacteria
His-rich:		
histatin	Human	Bacteria, fungi
Try-rich:		
indolicidin	Cattle	Bacteria
Single disulfide bridge		
Thanatin	Hemipteran	Bacteria, fungi
Brevinins	Frog	Bacteria
Two disulfide bridges		
Tachyplesin II	Horseshoe crab	Bacteria, fungi, virus
Androctonin	Scorpion	Bacteria, fungi
Protegrin I	Pig	Bacteria, fungi, virus
Three disulfide bridges		
α -Defensins	Mammals	Bacteria, fungi
β -Defensins	Mammals	Bacteria, fungi
Defensins	Insects	Bacteria, fungi, protozoa
Penaeidins	Shrimp	Bacteria, fungi
More than three disulfide bridges		
Tachycitin	Horseshoe crab	Bacteria, fungi
Drosomycin	Fruit fly	Fungi
Gambicin	Mosquito	Bacteria, fungi, protozoa
Heliomicin	Lepidopteran	Bacteria, fungi
Defensins	Plants	Fungi



รูปที่ 3 แสดง Molecular models ของ antimicrobial peptides ในแต่ละกลุ่ม

- (A) human α -defensin-2, which forms a triple-stranded β -sheet structure (containing a small α -helical segment at the N-terminus) stabilized by three cysteine disulphide bridges.
- (B) The amphipathic α -helical structure of magainin 2
- (C) The β -turn loop structure of bovine battenecin.
- (D) The extended boat-shaped structure of bovine indolicidin.

ที่มา: คัดแปลงจาก Zhao H. 2003

Non-cationic antimicrobial peptide

ซึ่งตัวอย่างของ antimicrobial peptides ในกลุ่มนี้แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ตัวอย่างของ Non-cationic antimicrobial peptides (คัดแปลงจาก Vizioli J. and Salzet M., (2002))

Structure and representative peptides	Organism	Antimicrobial activity
Anionic peptides		
Neuropeptide derived:		
Enkephalin	Bovine, human,	Bacteria
Peptide B	Bovine, human, leech, mussel	Bacteria
Aspartic acid rich:		
H-GDDDDDD-OH	Ovine	Bacteria
Dermcidin	Human	Bacteria
Aromatic dipeptides		
N-B-alanyl-5-S-glutathionyl-3,4-dihydroxyphenylalanine	Flesh fly	Bacteria, fungi
p-Hydroxycinnamaldehyde	Saw fly	Bacteria, fungi
Peptides derived from oxygen-binding proteins		
Hemocyanin derived	Shrimp	Bacteria
Hemoglobin derived	Tick	Bacteria
Lactoferrin	Human	Bacteria, virus

Antimicrob

เราจะใช้กลไกการเข้า

ทำลายเซลล์ที่และมีการใช้เวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า มีขั้นตอนกลไกดังนี้

Antimicrobial peptide ที่กล่าวถึงทั้งหมดนี้ทำหน้าที่ฆ่าเซลล์แบคทีเรียโดยอาจจะใช้กลไกการเข้าทำลายเซลล์ที่และมีการใช้เวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า มีขั้นตอนกลไกดังนี้

1. **Attraction** การเข้าจับของ antimicrobial peptide กับเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งพบว่าน่าจะเกิดจากแรง electrostatic ระหว่างประจุของเปปไทด์กับเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งพบว่า antimicrobial peptide ที่เป็นประจุบวก จะเข้าจับกับผิวด้านนอกของแบคทีเรียที่มีประจุลบ (LPS ของ Gram-negative) และ teichoic acid ที่อยู่บนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย
2. **ขั้น Attachment** เป็นขั้นตอนที่สำคัญของ antimicrobial peptide ที่จะผ่านเข้าไปหาเซลล์เมมเบรน ซึ่งจากการศึกษาพบว่า น่าจะเกี่ยวกับการ concentration ของ เปปไทด์ โครงสร้าง 2 มิติ ที่จะถูกฝังลงไปใน lipid head group ในสภาพที่ไม่ทำงานแล้วทำให้เมมเบรนยืดออก ซึ่งจะทำให้เมมเบรนบางตัว ซึ่งมีความจำเพาะกับเปปไทด์และ concentration ของ เปปไทด์ด้วย
3. **ขั้นการสอด** antimicrobial peptide แล้วทำให้เกิด membrane permeability จากการทดลองจะพบว่า ถ้าความเข้มข้นของ antimicrobial peptide/ lipid น้อย เปปไทด์จะจับแบบขนานกับ lipid bilayer และถ้ามีความเข้มข้นของเปปไทด์สูงขึ้น เปปไทด์จะถูกสอดเข้าไปในเมมเบรน และเมื่อความเข้มข้นของเปปไทด์สูงขึ้นมาก เปปไทด์จะสอดเข้าไปในเมมเบรนและสร้างเป็นรูขึ้น ซึ่งจะมีหลายแบบจำลองของการเกิดขึ้น

ซึ่งกลไกการเข้าทำลายเชื้อแบคทีเรียของ antimicrobial peptides นั้นมี 2 กลไก คือ

1. **membranolytic mechanism** เป้าหมายการทำลายเชื้อของ antimicrobial peptides จะอยู่ที่เซลล์เมมเบรน แล้วรบกวนการผ่านเข้าออกของสาร ทำให้เกิดรูที่เมมเบรน ส่งผลให้เกิดการแตกของเซลล์ และตายในที่สุด
2. **nonmembranolytic mechanism** เป้าหมายการทำลายเชื้อ antimicrobial peptides ในกลไกนี้ไม่ได้อยู่ที่เมมเบรนของเซลล์ แต่จะมีเป้าหมายการทำลายที่ intracellular molecule ที่อยู่ในเซลล์ เช่น DNA/RNA หรือโปรตีน โดยจะทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ ทำให้เชื้อตายได้

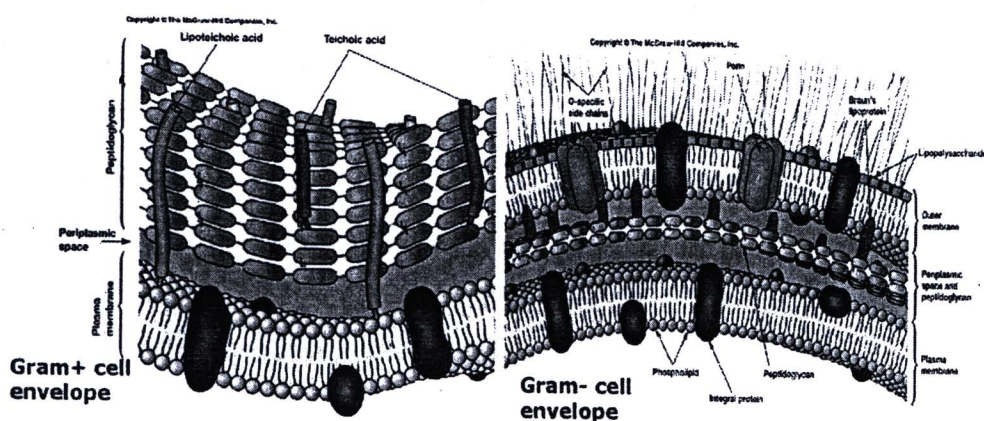
ประสิทธิภาพการทำลายหรือด้านการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียของ antimicrobial peptides ได้อย่างจำเพาะนั้น สามารถพิจารณาได้จากส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ โครงสร้าง องค์ประกอบพื้นฐานเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย โครงสร้างและสมบัติพื้นฐานของ antimicrobial peptides

3.3 โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย

โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบมีส่วนประกอบที่ใกล้เคียงกันนั่นคือ ชั้น Phospholipid bilayer ที่ประกอบไปด้วยฟอสโฟไลปิดหลายชนิด ได้แก่ Phosphatidylglycerol



(PG), Cardiolipin (CL; effectively a dimer of PG), Phosphatidylserine (PS), Phosphatidylcholine (PC), Phosphatidylethanolamine (PE) เป็นต้น มีโปรตีน lipoprotein lipopolysaccharides แทรกอยู่หรือเกาะอยู่ที่ผิวนอก และชั้นของเพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycans) อาจจะมี Teichoic acid ที่มีความเป็นลบค่อนข้างสูงเป็นตัวเชื่อม Peptidoglycans monomer อยู่ในรูปของ Ribitol Teichoic acid และ Glycerol Teichoic acid ข้อแตกต่างระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบโดยทั่วไป คือแบคทีเรียแกรมบวกจะมีชั้นของเพปทิโดไกลแคนที่หนากว่าอยู่ที่เชื่อมหุ้มชั้นนอก เชื่อมหุ้มด้านในเป็นชั้นของ Phospholipid bilayer ส่วนในแกรมลบจะประกอบด้วยเยื่อหุ้มทั้งด้านนอกและด้านในประกอบด้วย Phospholipid bilayer ที่มี Lipopolysaccharides เป็นองค์ประกอบสำคัญ ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 เปรียบเทียบโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (ซ้าย) และแบคทีเรียแกรมลบ (ขวา)

สมบัติของ Antimicrobial peptides ที่ทำให้มีประสิทธิภาพและความจำเพาะต่อเซลล์แบคทีเรีย

1. Conformation

Antimicrobial peptides ที่ค้นพบจำนวนมากมีความแตกต่างในส่วนของลำดับกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบ ที่มา พันธะเคมีที่เชื่อมต่อกันภายในโมเลกุลและที่ปฏิสัมพันธ์กับสารที่ล้อมรอบ จึงทำให้มีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาโครงสร้าง 3 มิติแล้วจะสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ แบบ α -helix peptides และแบบ β -sheet peptides นอกจากนี้ยังแบ่งเป็นกลุ่มย่อยโดยอาศัยลักษณะโครงสร้างได้อีกเช่น จำแนกตามการมีหมู่อะมิโนบางหมู่ที่มีความหนาแน่นมากกว่าหมู่อื่นๆ ภายในโมเลกุลเช่น Proline, Arginine หรือ Tryptophane

โครงสร้างแบบ α -helix peptides นั้นจะสามารถฟอร์มโครงสร้างได้เมื่ออยู่ในสารละลายและเข้าทำปฏิสัมพันธ์กับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ในขณะที่โครงสร้างแบบ β -sheet ซึ่งเป็นโครงสร้างในระดับทุติย

ภูมิอิทธิกรหนึ่ง ก็จะมีการแสดงสมบัติที่คล้ายกัน นั่นคือมีส่วนที่เป็น Amphipathic ซึ่งจะมีความแตกต่างของสมบัติที่เป็น hydrophobic และ hydrophilic ของโมเลกุล

2. Charge

Antimicrobial peptides ทัวไปจะมีประจุเป็นบวกอยู่ระหว่าง +2 ถึง +9 ซึ่งความมีประจุสุทธิดังกล่าว จะสามารถทำให้เปปไทด์เข้าไปสร้างแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับเซลล์เมมเบรนด้านนอกของแบคทีเรียแกรมลบ ที่ประกอบด้วยฟอสโฟไลปิดที่มีประจุลบ (Acidic phospholipid) คือ Phosphatidylglycerol (PG), Phosphatidylcholine(PS) และ Cardiolipin(CL) และสามารถสร้างแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับเซลล์เมมเบรนด้านนอกของแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวกเนื่องจากมี LPS (Lipopolysaccharide) และ Teichoic หรือ Teichuronic ซึ่งเป็นกลไกเริ่มต้นในการเข้าทำลายเชื้อแบคทีเรีย

3. Hydrophobic

เปปไทด์ที่มีส่วนประกอบที่เป็นหมู่อะมิโนที่มี R-Side Chain ยาวหรือมีวงแหวนเบนซีน(Benzene ring) จะมีความเป็น Hydrophobic สูง ซึ่งจะสามารถเข้าไปยึดเกาะกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี ดังที่ได้กล่าวมาแล้วถึงการศึกษาเกี่ยวกับ Antimicrobial peptides และสมบัติพื้นฐานของเปปไทด์ซึ่งจะส่งผลต่อกลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย สามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่

3.1 Initial peptide Interactions with membrane with membrane targets

เกิดแรง Electrostatic interaction ระหว่าง Cationic antimicrobial peptides ซึ่งมีประจุสุทธิเป็นบวก และ LPS ที่เชื่อมของแบคทีเรียซึ่งมีประจุลบทำให้เกิดการยึดเหนี่ยวเข้าหากันได้โดยง่าย ในกระบวนการเกิดแรงระหว่างกันนี้จะต้องไม่มีอะไรมาขัดขวางการเข้ายึดเกาะกันระหว่างเปปไทด์ กับเชื้อหุ้มด้วย

3.2 Events Subsequent to Initial Membrane Binding

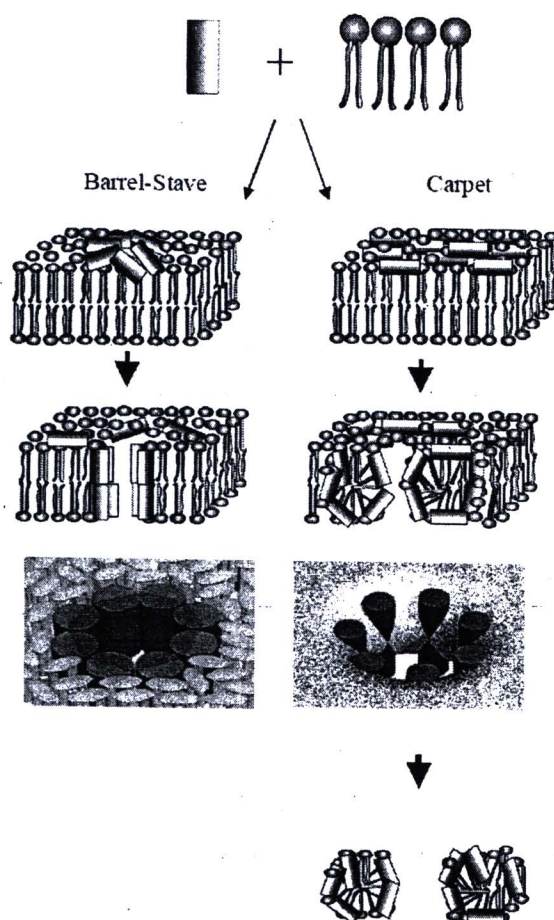
ในขั้นนี้จะเกิดกลไกการทำลายแบคทีเรียใน 3 ลักษณะได้แก่

3.1.1 The Barrel-Stave Mechanism ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากที่ α -helix peptides หรือ β -sheet peptides เกิดแรงยึดเหนี่ยวและอยู่บนผนังด้านนอกของเซลล์แบคทีเรียจากนั้น จากนั้นจะใช้สมบัติของโมเลกุลที่เป็น Hydrophobic แทรกผ่านชั้น เมมเบรนจากผนังด้านนอกเข้าสู่เชื่อมหุ้มด้านในของเซลล์ ประกอบกับผนังด้านในของพวกแบคทีเรียจะมีส่วนประกอบที่เป็น PG, CL และ PS อยู่มาก จึงช่วยดึงดูดโมเลกุลของเปปไทด์เข้าสู่ด้านใน

3.1.2 The Toroidal Pore or Wormhole Mechanism เกิดในลักษณะที่คล้ายกับ The Barrel-Stave Mechanism แต่จะแตกต่างกันตรงที่มีการรวมกลุ่มเป็น supramolecular หรือ Toroidal pore complex จากนั้นจะเข้ายึดเหนี่ยวที่ผิวเชื่อมหุ้มแบคทีเรียและใช้ความเป็น Hydrophobic ภายในโมเลกุลแทรกเข้าไปในชั้นของเยื่อ

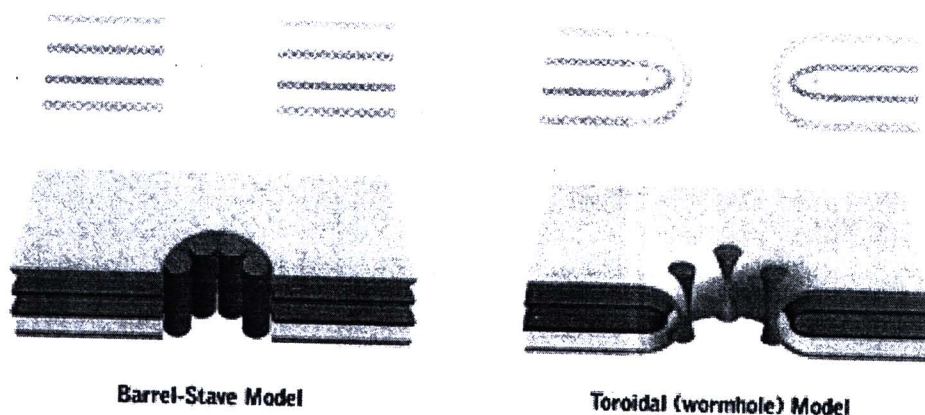
หุ้ม ในขณะที่เดียวกันก็จะเกิดการผลักกันระหว่างโมเลกุลเปปไทด์ทำให้เกิดเป็นรู (pore) ที่เยื่อหุ้ม ลักษณะนี้จะเกิดในบริเวณเยื่อหุ้มที่มี Trans membrane protein อยู่ค่อนข้างน้อย

3.1.3 The Carpet Mechanism เป็นกลไกที่ไม่มีความจำเพาะ เมื่อโมเลกุลของ Antimicrobial peptides เกาะที่ผนังเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกสะสมในลักษณะของการปูพรมแล้วจะเกิดการสอดแทรกของโมเลกุลเข้าสู่เยื่อหุ้มด้วยสมบัติ Hydrophobic ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Membrane fluidity หรือขัดขวาง รบกวนการส่งสารผ่านเข้าออกเซลล์ ทำให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติไป



รูปที่ 5 แสดงลักษณะแบบจำลอง barrel -stave (ซ้าย) และแบบจำลอง Carpet (ขวา)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Zhao H. 2003



รูปที่ 6 แสดงลักษณะแบบจำลอง barrel-stave (ซ้าย) และแบบจำลอง toroidal pore (ขวา)

ที่มา: คัดแปลงจาก Qian S. et.al., 2008.

3. Mechanism of cell Death

หลังจากที่ Antimicrobial peptides ได้ก่อให้เกิดความเสียหายและความผิดปกติต่างๆต่อเซลล์ เช่น เซลล์เสีย Membrane fluidity เสียสมดุลระหว่างไอออนต่างๆ สูญเสียสารชีวเคมีต่างๆออกนอกเซลล์ เกิดการแตก (lysis) ของเซลล์ ในที่สุดก็จะตายไป

จะเห็นได้ว่า กลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอาจจะเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการสร้าง ion channel การสร้างรูที่เมมเบรน หรือการเกิดความเสียหายกับเมมเบรน แต่ก็ไม่ได้หมายความว่ากลไกต่างๆเหล่านี้จะเกี่ยวข้องสัมพันธ์ในทุกเปปไทด์

Selsted et al., 1992 ค้นพบว่า indolicidin ซึ่งแยกได้จากไซโตพลาสซึมของ neutrophils ของวัว (bovine) ในความเข้มข้น 10 mg/ml สามารถทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ indolicidin นี้เป็นเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน tryptophan อยู่ในอัตราส่วนที่สูงมาก ซึ่งโดยปกติโปรตีนหรือเปปไทด์จะมีปริมาณของกรดอะมิโนชนิดนี้อยู่ในสัดส่วนที่น้อยมาก

Benincasa et. al., 2003 ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ α -helical cathelicidin peptides 2 ชนิด คือ BMAP-27 และ BMAP-28 พบว่า BMAP-27 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี ส่วน BMAP-28 นั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ อีกทั้งยังพบว่า BMAP-28 นั้นมีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อไวรัส human herpes simplex virus type 1 (HSV-1) ได้ในการทดลองแบบ *in vitro*