

วีรศักดิ์ แต่งพันธ์ 2554: Respiratory Burst Activity ของแมคโครฟาจปลานิล

Oreochromis niloticus Linn. ที่ถูกกระตุ้นด้วยแบคทีเรีย *Mycobacterium lacticola* และ

Escherichia coli ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สัตววิทยา) สาขาสัตววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา

ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์กนกทิมาณี ประเดิมวงศ์, วท.ด. 112 หน้า

Mycobacterium lacticola เป็นแบคทีเรียชนิดทนกรดที่พบได้ในดินและน้ำ ในปี 2004 มีรายงานการก่อโรคเป็นครั้งแรกในคน จึงได้ตรวจสอบการด้านการติดเชื้อ *M. lacticola* ของ macrophage ด้วยกระบวนการ respiratory burst โดยใช้ macrophage ของปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่แยกได้จากไตส่วนต้นเป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ และเปรียบเทียบกับ การตอบสนองของ macrophage ต่อกรดไมโคลิก (mycolic acid) และลิพโพลีแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide; LPS) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนของ *M. lacticola* และ *E. coli* ตามลำดับ โดยบ่ม macrophage กับ *M. lacticola*, *E. coli* กรดไมโคลิก และ LPS นาน 60 นาที โดยเซลล์ที่ไม่เติมเชื้อและตัวกระตุ้นเป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นวัดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระจากส่วนไตด้วยวิธี phenol red method, Griess reaction assay และ superoxide anion assay ตามลำดับ พบว่ากรดไมโคลิกกระตุ้นให้ macrophage ปล่อยไนตริกออกไซด์ออกมาได้มากที่สุดมีความเข้มข้น 4.44 ± 1.4 รองลงมาคือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน มีความเข้มข้น 2.19 ± 0.2 และ 2.09 ± 0.15 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน *E. coli* และ LPS กระตุ้นให้ macrophage ปล่อยซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ออกมาได้มากที่สุดมีความเข้มข้น 29.63 ± 0.71 และ 29.54 ± 1.56 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือไนตริกออกไซด์ 16.52 ± 0.28 และ 17.09 ± 0.69 และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10.87 ± 0.05 และ 11.06 ± 0.16 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการปล่อยอนุมูลอิสระออกมาจาก macrophage ที่กระตุ้นด้วย *M. lacticola* วัดกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลพิษได้แก่ glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) จากส่วนไตของเซลล์ที่ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที ด้วยวิธี colorimetric assay, Cayman's catalase assay และ RANSOD ตามลำดับ พบว่า macrophage ที่กระตุ้นด้วยกรดไมโคลิกมีกิจกรรมของ SOD สูงขึ้นมากที่สุด ความเข้มข้น 124.67 ± 3.65 รองลงมาคือ GSH-Px 124 ± 11.67 และ CAT 115.69 ± 1.67 มิลลิวินิต ตามลำดับ ส่วน *E. coli* และ LPS มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงขึ้นแต่ไม่แตกต่างกัน โดย GSH-Px มีความเข้มข้น 280.48 ± 3.91 และ 275.67 ± 13.07 CAT มีความเข้มข้น 258.48 ± 0.99 และ 255.26 ± 3.16 ส่วน SOD มีความเข้มข้น 256.99 ± 5.07 และ 250.48 ± 4.20 มิลลิวินิต ตามลำดับ แต่ macrophage ที่กระตุ้นด้วย *M. lacticola* พบกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม