

การต่อต้านพิษสารตะกั่วโดยการเสริมซีลีเนียมต่อการแสดงออก mRNA ของ inflammatory cytokine genes ในเนื้อเยื่อของไก่

The antagonistic lead poison by supplemented selenium on mRNA expression of anti-inflammatory cytokine genes in chicken tissues

วรชานันท์ เทพวิบูลย์

Worachatanan Tapviboon

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการต่อต้านพิษสารตะกั่วโดยการเสริมซีลีเนียมต่อการแสดงออก mRNA ของ inflammatory cytokine genes ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน อวัยวะและม้าม ของไก่ โดยรวบรวมและศึกษาเอกสารวิจัยจำนวน 3 ฉบับ ที่ตีพิมพ์ในระหว่างปี ค.ศ 2016 – 2020 ซึ่งในกลุ่มการทดลองมีกลุ่มทดลอง ได้แก่ งานทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุมได้รับ Se 0.2 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 1 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Se 0.2 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. และ กลุ่ม Se + Pb ได้รับ Se 1 มก./กก. Pb 350 มก./กก. (Zheng et al., 2016) ซึ่งในงานทดลองที่ 2 มีปริมาณที่ใช้เหมือนกันในงานทดลองที่ 1 คือ กลุ่ม Se + Pb แต่ในส่วนของกลุ่มควบคุมได้รับ Se 1 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Pb 350 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 1 มก./กก. (Wang et al., 2017) และ งานทดลองที่ 3 กลุ่มควบคุมได้รับ Se 0.2 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Pb 150 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 2 มก./กก. และ กลุ่ม Se + Pb ได้รับ Se 2 มก./กก. Pb 150 มก./กก. (Jiayong et al., 2020) พบว่าระดับการแสดงออกของ mRNA ของ anti-inflammatory cytokine genes ได้แก่ NF- κ B และ TNF- α ในการเก็บตัวอย่างวันที่ 90 พบผลลัพธ์ไปในทิศทางเดียวกันว่าการใช้ซีลีเนียมเสริมในอาหาร ซึ่งทำการศึกษาในกลุ่มทดลอง Se + Pb ที่ได้รับ Selenium ในระดับ 1-2 มก./กก. และ กลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 150-350 มก./กก. มีผลต่อระดับ inflammatory cytokine mRNA อย่างชัดเจน ดังนั้นการเสริมซีลีเนียมจึงสามารถบรรเทาความเป็นพิษของสารตะกั่วในเนื้อเยื่อของไก่

คำสำคัญ : Selenium Lead acetate Inflammatory damage

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อเศรษฐกิจและความมั่นคงทางอาหาร อย่างไรก็ตาม ปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักในอาหารและสิ่งแวดล้อมยังคงเป็นความท้าทายโดยเฉพาะสารตะกั่ว (Lead: Pb) ซึ่งในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในฟาร์มเชิงพาณิชย์ มักพบว่ามีปริมาณสารตะกั่วตกค้างในเนื้อไก่ทั่วไป: มักพบปริมาณตะกั่ว ไม่เกิน 0.01 - 0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเครื่องในไก่ (ตับ/ไต) สูงกว่าเนื้อไก่เล็กน้อย โดยอาจพบในช่วง 0.02 - 0.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (กรมปศุสัตว์. 2566) ปริมาณสารตะกั่วตกค้างมาสู่ผู้บริโภคอยู่ที่ประมาณ 2 ไมโครกรัม (USEPA. 1989). ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตลดลงและอาจตกค้างมาสู่ผู้บริโภคและกลไกที่สำคัญในการก่อพิษของสารตะกั่วคือการกระตุ้นให้เกิด ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) โดยการสร้างอนุมูลที่ไวต่อออกซิเจน (Reactive Oxygen Species: ROS) ที่มากเกินไป (Flora et al., 2012; Zhang et al., 2020) นำไปสู่การสร้างความเสียหายในระดับเซลล์และการกระตุ้นกระบวนการอักเสบ (Inflammation) ภายในเนื้อเยื่อและกลไกการอักเสบระดับโมเลกุลผ่านกระบวนการส่งสัญญาณของ Nuclear Factor-kappa B (NF- κ B) เมื่อเซลล์ได้รับความเสียหายจากอนุมูล NF- κ B จะถูกกระตุ้นและเคลื่อนตัวเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อทำหน้าที่เป็น Transcription factor สั่งการให้มีการเพิ่มการแสดงออกของยีน (Upregulation of mRNA expression) (Liu et al., 2012; Chen et al., 2022) TNF- α เป็นเครื่องมือหลักในการบ่งชี้ความเสียหายและยีนการแสดงออกของการอักเสบภายในอวัยวะที่สำคัญของไก่ได้ เช่น กระดูกอ่อน อังทะ และม้าม มีการค้นพบงานวิจัยที่ยืนยันว่าการชักนำความเป็นพิษโดยสารตะกั่วสามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน NF- κ B และ TNF- α

ซึ่งซีลีเนียม (Selenium: Se) เป็นแร่ธาตุรองที่จำเป็นต่อร่างกายและมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเป็นองค์ประกอบหลักของเอนไซม์กลุ่ม Selenoproteins เช่น Glutathione peroxidase (GPx) ซึ่งทำหน้าที่กำจัด ROS และรักษาสมดุล Redox ภายในเซลล์ (Surai, 2006) การเสริมซีลีเนียมในอาหารไก่มีศักยภาพในการต้านพิษตะกั่วผ่าน 2 กลไกหลัก คือ 1) การจับกับตะกั่วโดยตรงเพื่อลดการดูดซึมและการสะสม และ 2) การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของ NF- κ B pathway ส่งผลให้การสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบลดลง (Li et al., 2017; Wang et al., 2023)

ดังนั้นสัมมนาฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการต่อต้านพิษสารตะกั่วโดยการเสริมซีลีเนียมต่อการแสดงออก mRNA ของ inflammatory cytokine genes ในเนื้อเยื่อของไก่

Effects of Dietary Selenium Supplementation Against Lead Toxicity on the mRNA Expression Levels of NF-kB and TNF- α in the Meniscus and Sword Cartilage of Chickens

mRNA expression levels of NF-KB and TNF- α

จากการศึกษาวิจัยทั้ง 3 ฉบับ ได้แก่ Zheng et al., (2016), Wang et al., (2017) และ Jiayong et al., (2020) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมซีลีเนียมต่อระดับการแสดงออก mRNA ของยีน NF-KB และ TNF- α โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่เสริมซีลีเนียมจาก งานทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุมได้รับ Se 0.2 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 1 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Se 0.2 มก./กก. Pb 0.5 มก./กก. และกลุ่ม Se + Pb ได้รับ Se 1 มก./กก. Pb 350 มก./กก. (Zheng et al., 2016) ซึ่งในงานทดลองที่ 2 มีปริมาณที่ใช้เหมือนกันในงานทดลองที่ 1 คือ กลุ่ม Se + Pb แต่ในส่วนของกลุ่มควบคุมได้รับ Se 0.49 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Pb 350 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 1 มก./กก. (Wang et al., 2017) และ งานทดลองที่ 3 กลุ่มควบคุมได้รับ Se 0.2 มก./กก. กลุ่ม Pb ได้รับ Pb 150 มก./กก. กลุ่ม Se ได้รับ Se 2 มก./กก. และ กลุ่ม Se + Pb ได้รับ Se 2 มก./กก. Pb 150 มก./กก. (Jiayong et al., 2020) ซึ่งจากทั้ง 3 งานวิจัยที่มีผลลัพธ์ไปในทิศทางเดียวกัน พบว่าการใช้ซีลีเนียมเสริมในอาหารไก่ Se อยู่ในระดับ 1-2 มก./กก. และ Pb อยู่ในระดับ 150-350 มก./กก. มีผลต่อ cytokine mRNA ทำให้ระดับการแสดงออก mRNA ของยีน NF-KB และ TNF- α ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญและในส่วนของลักษณะโครงสร้างพิเศษของกระดูกอ่อน Meniscus คือมีเส้นใยคอลลาเจนชนิดที่ 1 หนาแน่นมากเรียงตัวเป็นวงกลมเพื่อรับแรงบิดและแรงกดในข้อเข่า ส่วน Sword Cartilage มีเส้นใยคอลลาเจนชนิดที่ 2 ละเอียดกว่าและกระจายตัวสม่ำเสมอในพื้นที่ดูเหมือนแก้วแต่ไม่มีศักยภาพในการต่อต้านสารตะกั่วและขับออกได้ด้วยตนเอง ซึ่งหน้าที่ของกระดูกอ่อนไก่ทั้ง Meniscus และ Sword Cartilage มีกลไกการรับมือกับสารตะกั่วคือ การกักเก็บตะกั่วที่สะสมในกระดูกอ่อนจะไปกระตุ้นยีนอย่าง NF-KB และ TNF- α ทำให้กระดูกอ่อนเกิดการบาดเจ็บในระดับเนื้อเยื่อซึ่งซีลีเนียมสามารถช่วยต้านฤทธิ์ในรูปของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเข้าไปลดระดับ mRNA ของ NF-KB และ TNF- α ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนให้กลับสู่สภาวะปกติจากภาวะตะกั่วเป็นพิษได้และในส่วนของอวัยวะมีหน้าที่สร้างอสุจิและฮอร์โมนเพศ ซึ่งภายในเซลล์อวัยวะมีการแบ่งตัวสูงมากและเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated fatty acids) สูง ทำให้อวัยวะเป็นอวัยวะที่อ่อนแอต่อการต่อต้านพิษจากสารตะกั่วได้ง่าย ปกติอวัยวะจะมี Blood-testis barrier (ด่านกั้นเลือด-อวัยวะ) ที่เกิดจาก tight junction ระหว่าง Sertoli cells ซึ่งทำหน้าที่คัดกรองสารแปลกปลอมไม่ให้เข้าถึงเซลล์สืบพันธุ์ได้ง่ายเกินไป แต่ตะกั่วมักจะทะลุผ่านแนวกันนี้ได้หากได้รับในปริมาณมากหรือสะสมเป็นเวลานาน อาจจะทำให้เกิดการอักเสบโดยไปเพิ่มระดับยีน NF-KB และ TNF- α และสารเหล่านี้จะไปทำลายกระบวนการสร้างอสุจิ ซึ่งซีลีเนียมจะเข้าไปลดการแสดงออกของยีน NF-KB และ TNF- α เพื่อปกป้องเซลล์อวัยวะไม่ให้ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระและในส่วนของม้ามทำหน้าที่กรองของเสียโดยการไหลผ่าน Ellipsoids และ การดักจับ (Phagocytosis) และสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อเฝ้าระวังและทำลายสารพิษหรือสิ่งแปลกปลอมต่างๆ หากม้ามมีการขยายตัวสามารถบ่งชี้ถึงความเสียหายของระบบภูมิคุ้มกันได้ ซึ่งซีลีเนียมจะเข้าไปช่วยเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทรงพลังเข้าไปจับกับตะกั่วโดยตรงเพื่อลดการดูดซึมและการ

สะสมสารตะกั่วใน กระดูกอ่อน อวัยวะและม้าม ซีลีเนียมมีกลไกจับสารตะกั่วผ่านการสร้าง Pb Se complex ลด Pb อิสระในเซลล์และลด oxidative stress

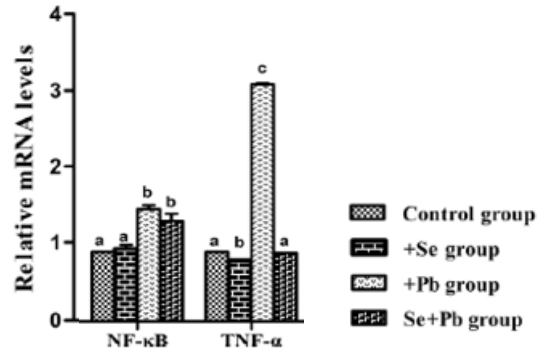


Fig. 1 Effects of dietary Se against Pb toxicity on mRNA levels of inflammatory cytokine genes in the meniscus cartilage of chickens. Bars with different lowercase letters are statistically significantly different ($P < 0.05$) in the same gene. Each value was expressed as the mean \pm SD ($n = 6$)

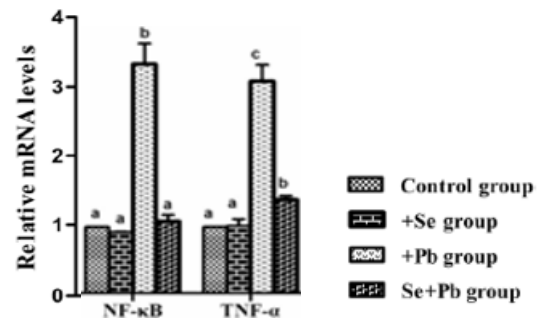


Fig. 2 Effects of dietary Se against Pb toxicity on mRNA levels of inflammatory cytokine genes in the sword cartilage of chickens. Bars with different lowercase letters were statistically significantly different ($P < 0.05$) in the same gene. Each value was expressed as the mean \pm SD ($n = 6$)
Source: (Zheng et al., 2016)

Dietary selenium supplementation alleviates lead-induced toxicity on mRNA expression levels of NF- κ B and TNF- α genes in the chicken testis

ระดับการแสดงออก mRNA ของยีน NF- κ B และ TNF- α

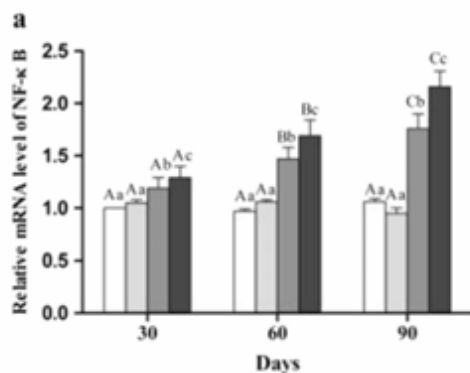


Fig. 3 NF- κ B mRNA in chicken testes. a NF- κ B mRNA level Bars represent mean \pm SD. Bars with different uppercase letters are significantly different in the same group at different time points ($P < 0.05$). Bars with different lowercase letters are significantly different in different groups at the same time point ($P < 0.05$)

Source: (Wang et al., 2017)

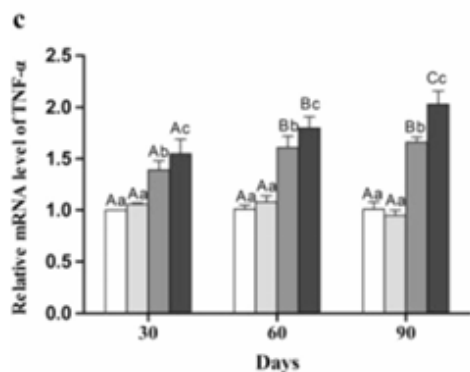


Fig. 4 TNF- α mRNA in chicken testes. c TNF- α mRNA level. Bars represent mean \pm SD. Bars with different uppercase letters are significantly different in the same group at different time points ($P < 0.05$). Bars with different lowercase letters are significantly different in different groups at the same time point ($P < 0.05$)

Source: (Wang et al., 2017)

Antagonistic effects of selenium against lead toxicity on the mRNA expression levels of NF- κ B and TNF- α genes in chicken spleen

ผลกระทบของการได้รับ Se, Pb และ Se + Pb ต่อระดับ mRNA ของยีน NF- κ B และ TNF- α

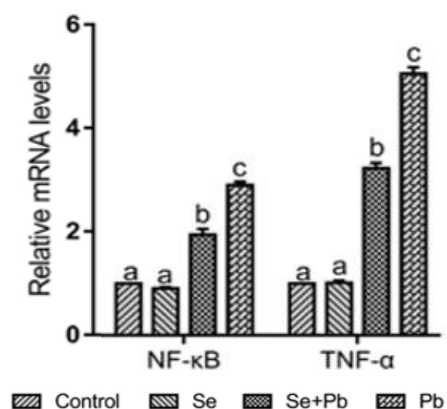


Fig. 4. Effect of Se, Pb and Se p Pb exposure on the MAPK/NF- κ B pathway. A: The mRNA levels of NF- κ B and TNF- α were detected by qRT-PCR. B–G The data are presented as the mean \pm SD (n = 3). Bars that do not share the same letters are significantly different (p < 0.05) from each other.

Source: (Jiayong et al., 2020)

สรุป

จากการรวบรวมและศึกษาเอกสารวิจัยจำนวน 3 ฉบับ ที่ตีพิมพ์ในระหว่างปี ค.ศ. 2016 – 2020 ที่ศึกษาผลของการเสริมซีลีเนียมร่วมกับการได้รับสารตะกั่ว พบว่าผลลัพธ์ไปในทิศทางเดียวกันว่าการใช้ซีลีเนียมเสริมในอาหาร ซึ่งทำการศึกษาในกลุ่มทดลอง Se + Pb ที่ได้รับ Se ในระดับ 1-2 มก./กก. และ กลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 150-350 มก./กก. มีผลต่อระดับ inflammatory cytokine mRNA อย่างชัดเจน พบว่า ซีลีเนียมมีบทบาทสำคัญในการบรรเทาความเป็นพิษของสารตะกั่วในเนื้อเยื่อของไก่ผ่านกลไกของการจับกับตะกั่วโดยตรงเพื่อลดการดูดซึมและการสะสม โดยปกติการได้รับตะกั่วจะก่อให้เกิดการกระตุ้นกระบวนการอักเสบในระดับโมเลกุล ซึ่งแสดงออกผ่านการเพิ่มขึ้นของระดับ mRNA ของยีน NF- κ B และ TNF- α ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน อذنหะ และม้ามของไก่ ขณะที่การเสริมซีลีเนียมสามารถลดการแสดงออกของยีนดังกล่าวลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ Pb เพียงอย่างเดียว

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. (2566). สรุปข้อมูลจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย ปี 2566. กรุงเทพฯ: ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204-7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Flora, S. J., Gupta, R., & Tiwari, A. 2012. Toxicity of free radicals and role of antioxidants. In *Oxidative Stress and Nanotechnology: Methods and Protocols* (pp. 163-197). Humana Press.
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2(1), 1-9.
- Li, S., Zhao, H., Wang, Y., Shao, Y., & Xing, M. 2017. Selenium alleviates lead-induced inflammation by suppressing the NF- κ B pathway in the cartilage tissue of chickens. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 172, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.04.010>
- Surai, P. F. 2006. *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). 1989. *Interim guidance on establishing soil lead cleanup levels at Superfund sites*. OSWER Directive #9355.4-02. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
- Wang, Y., Wang, K., Huang, H., Gu, X., & Teng, X. 2017. “ Alleviative effect of selenium on inflammatory damage caused by lead via inhibiting inflammatory factors and heat shock proteins in chicken testes. ” *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 14197–14205. DOI: 10.1007/s11356-017-8785-z.
- Wang, L., Zhang, Z., Yao, H., & Pan, J. 2023. Selenium yeast mitigates lead-induced immune toxicity by regulating the Nrf2/NF- κ B signaling pathways and inhibiting the NLRP3 inflammasome in chicken bursa of Fabricius. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 251, 114526. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114526>
- Zheng, S., Song, H., Gao, H., Liu, C., Zhang, Z., & Fu, J. 2016. “ The antagonistic effect of selenium on lead-induced inflammatory factors and heat shock protein mRNA level in chicken cartilage tissue. ” *Biological Trace Element Research*, 173(2), 400–408. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0630-6>.

- Zhang, J., Wang, S., Hao, X., Sun, G., & Xu, S. 2020. “ The antagonistic effect of selenium on lead-induced necroptosis via MAPK/NF-**KB** pathway and HSPs activation in the chicken spleen. ” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 204,111049.
- Zhang, H., Li, W., Zhou, Z., & Zhang, J. 2020. Lead exposure induces oxidative stress and DNA damage in various tissues. *Journal of Applied Toxicology*