

บทที่ 4 ผลการวิจัย

1. ค่าชีวเคมีที่บ่งชี้การทำงานของตับและไต

จากการทดสอบผลของสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW ต่อค่าชีวเคมีทางคลินิกที่บ่งชี้การทำงานของตับและไตของหนูขาวเพศผู้พบว่า สารสกัดรากหนอนตายหยากทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าชีวเคมีที่บ่งชี้การทำงานของตับ ซึ่งได้แก่ ค่า AST, ALT และ ALP ให้แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และค่าเหล่านี้ยังอยู่ในช่วงของค่ามาตรฐานของหนูทดลอง คือ อยู่ในช่วง 50 - 150, 10 - 40 และ 30 - 130 IU/L ตามลำดับ (Sharp and La Regina, 1998) (ตาราง 3)

ส่วนค่า BUN และ creatinine ซึ่งเป็นค่าชีวเคมีที่บ่งชี้การทำงานของไตนั้นพบว่า ทุกกลุ่มการทดลองมีค่าไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน และค่าทั้งหมดยังคงอยู่ในช่วงปกติเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของหนูทดลอง คือ อยู่ในช่วง 12.0 - 25.8 และ 0.4 - 2.3 mg/dl ตามลำดับ (Sharp and La Regina, 1998) (ตาราง 3)

ตาราง 3 ค่าชีวเคมีคลินิกในซีรัมของหนูขาวที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

ขนาดของ สารสกัด (mg/kgBW)	ค่าชีวเคมีที่บ่งชี้การทำงานของตับและไต				
	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
control	136.67 ± 24.49	28.83 ± 2.23	96.83 ± 7.68	20.08 ± 2.38	0.70 ± 0.03
A300	107.25 ± 18.12	25.25 ± 2.63	96.60 ± 16.55	19.46 ± 3.80	0.64 ± 0.04
A500	115.50 ± 16.70	23.00 ± 2.31	92.25 ± 16.77	19.88 ± 2.68	0.69 ± 0.04
S300	129.25 ± 13.40	27.75 ± 0.50	103.40 ± 10.53	21.56 ± 3.21	0.71 ± 0.05
S500	108.80 ± 16.27	28.67 ± 5.72	84.00 ± 9.43	23.10 ± 3.99	0.68 ± 0.06
ค่ามาตรฐาน	50 - 150	10 - 40	30 - 130	12.0 - 25.8	0.4 - 2.3

2. กิจกรรมของเอนไซม์ cholinesterase

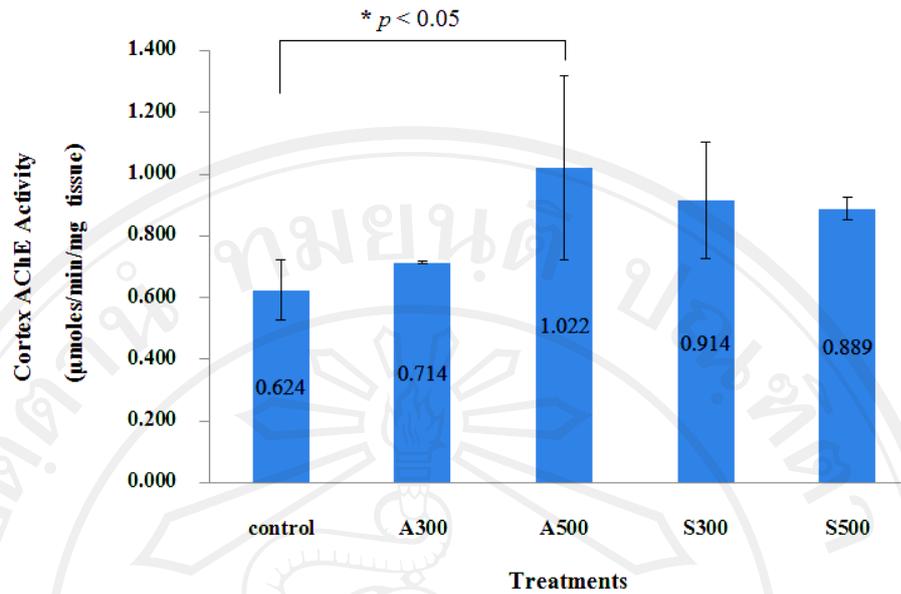
2.1 กิจกรรมของเอนไซม์ acetylcholinesterase

ผลการทดสอบสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในสมอง ซีรัม และเม็ดเลือดแดงของหนูขาวพบว่า สารสกัดรากหนอนทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้มีผลเพิ่มกิจกรรมของ AChE ในเนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex และ hippocampus เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกิจกรรมของ AChE ในสมองทั้งสองส่วนมีค่ามากที่สุดและแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในหนูที่ได้รับสารสกัดชนิด *S. aphylla* ขนาด 500 mg/kgBW ส่วนกิจกรรมของ AChE ในเม็ดเลือดแดงนั้นกลับพบว่า สารสกัดทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้มีผลลดกิจกรรมของ AChE ในเม็ดเลือดแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในซีรัมนั้นพบว่าสารสกัดทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ AChE ให้แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม (ตาราง 4 และภาพ 15 - 18)

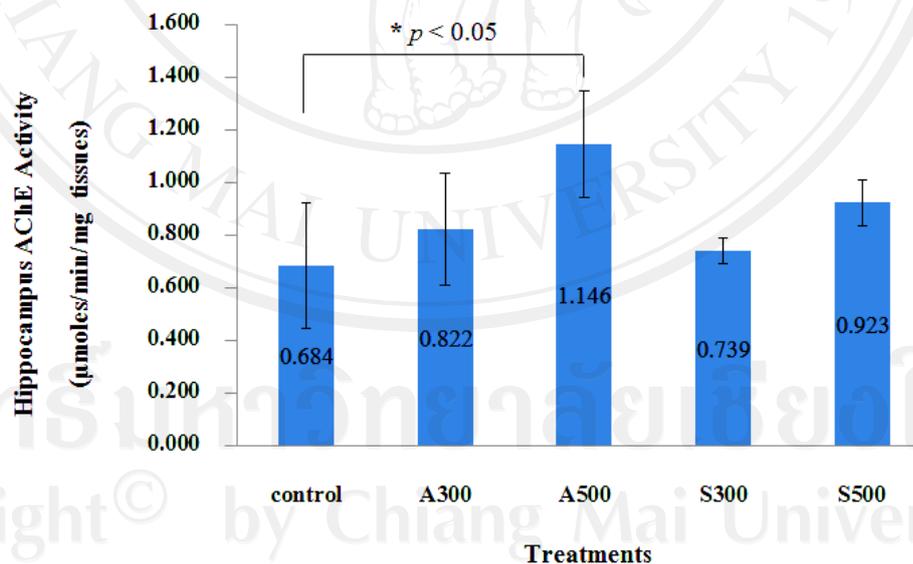
ตาราง 4 กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในเนื้อเยื่อสมอง ซีรัม และเม็ดเลือดแดงของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

กลุ่มทดลอง	กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ($\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$ tissues or ml serum)			
	cerebral cortex	hippocampus	serum	red blood cells
Control	0.624 \pm 0.098 ^a	0.684 \pm 0.239 ^a	0.232 \pm 0.020 ^a	0.180 \pm 0.039 ^a
A300	0.714 \pm 0.004 ^{ab}	0.822 \pm 0.214 ^{ab}	0.215 \pm 0.040 ^a	0.055 \pm 0.003 ^b
A500	1.022 \pm 0.298 ^b	1.146 \pm 0.202 ^b	0.216 \pm 0.031 ^a	0.077 \pm 0.016 ^b
S300	0.914 \pm 0.189 ^{ab}	0.739 \pm 0.049 ^a	0.250 \pm 0.030 ^a	0.047 \pm 0.002 ^b
S500	0.889 \pm 0.035 ^{ab}	0.923 \pm 0.089 ^{ab}	0.224 \pm 0.040 ^a	0.090 \pm 0.021 ^b

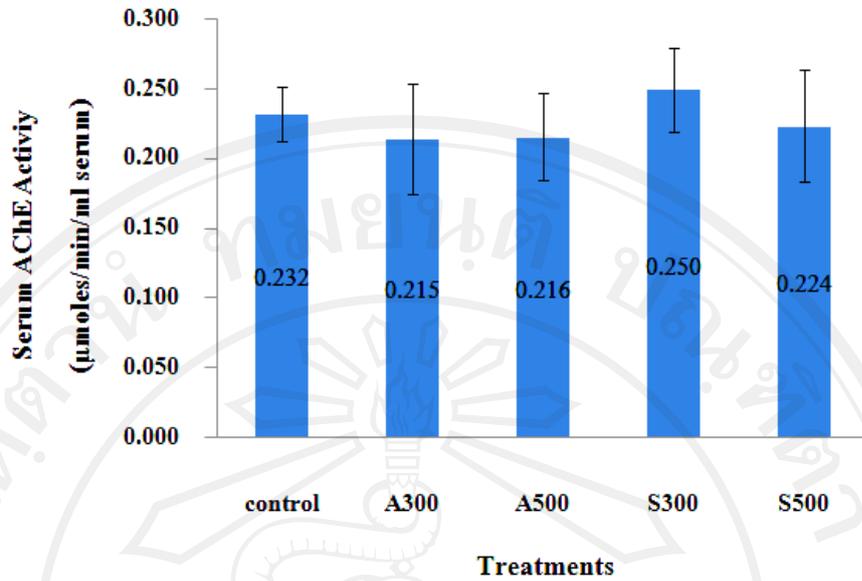
a และ b หมายถึง ค่าที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$



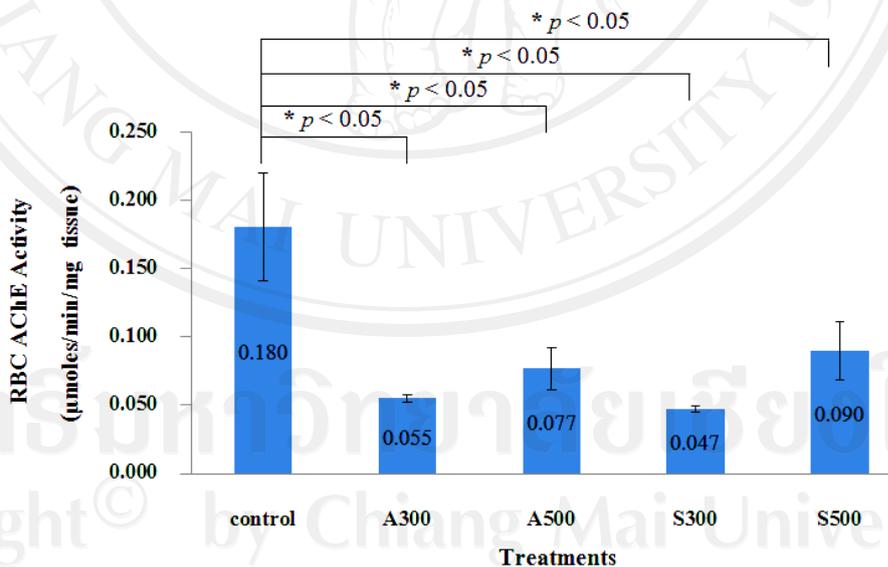
ภาพ 15 กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในสมองส่วน cerebral cortex ของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น



ภาพ 16 กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในสมองส่วน hippocampus ของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น



ภาพ 17 กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในซีรัมของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้น้ำกลั่น



ภาพ 18 กิจกรรมของเอนไซม์ AChE ในเม็ดเลือดแดงของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้น้ำกลั่น

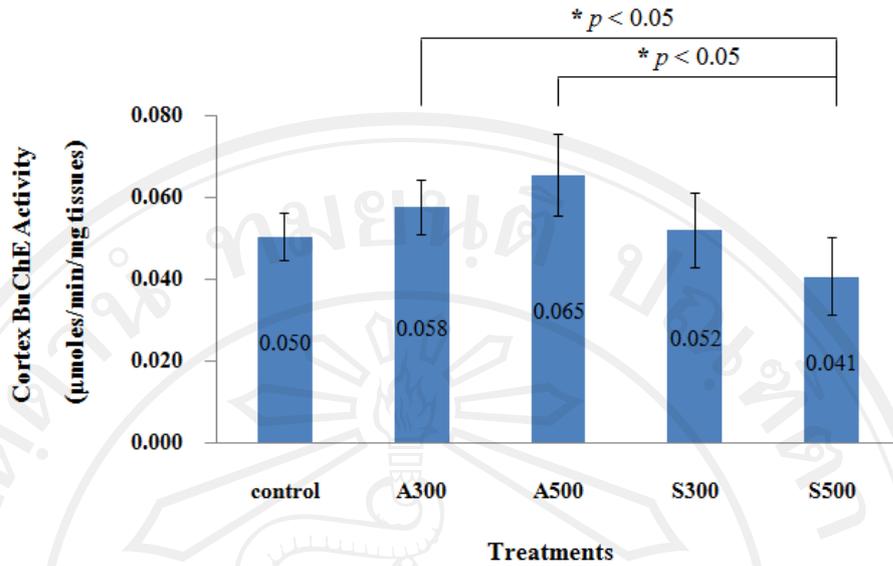
2.2 กิจกรรมของเอนไซม์ butyrylcholinesterase

ผลของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อกิจกรรมของเอนไซม์ BuChE พบว่าสารสกัดชนิด *S. aphylla* ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW มีผลทำให้เกิดการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ทั้งในสมองส่วน cerebral cortex และ hippocampus โดยค่าของกิจกรรมนั้นได้เพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัดที่ใช้ (dose dependent manner) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในสมองส่วน hippocampus ของหนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 500 mg/kgBW ซึ่งมีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.070 ± 0.010 $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$ tissues นอกจากนี้สารสกัดทั้งสองชนิดยังมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในเม็ดเลือดแดง และให้ผลที่ชัดเจนแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่รับสารสกัดชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 300 mg/kgBW ส่วนสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. นั้นพบว่าสารสกัดทั้งสองขนาดที่ใช้ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในเนื้อสมองทั้งสองส่วนและเม็ดเลือดแดงให้แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม แต่ที่ขนาด 500 mg/kgBW มีแนวโน้มทำให้กิจกรรมมีค่าลดลงแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในซีรัมนั้นพบว่าสารสกัดรากหนอนตาย หยากทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ให้ต่างไปจากกลุ่มควบคุม (ตาราง 5 และภาพ 19 - 22)

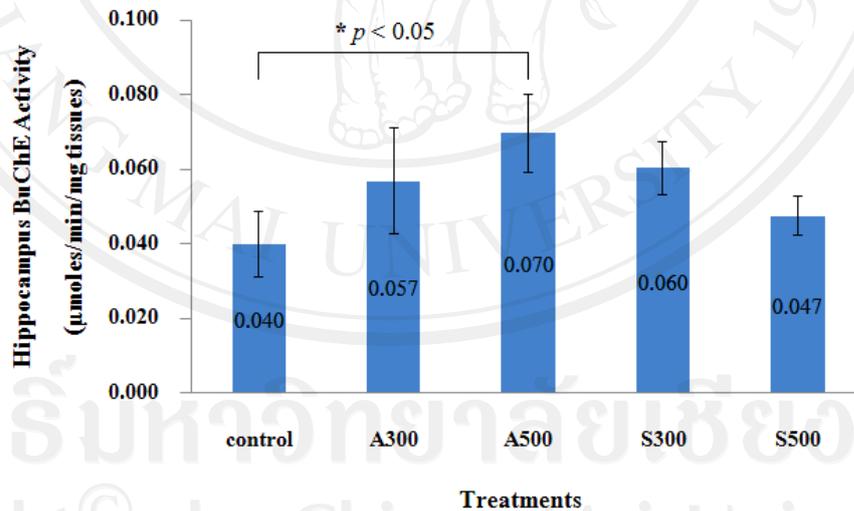
ตาราง 5 กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในเนื้อเยื่อสมอง ซีรัม และเม็ดเลือดแดงของหนูขาวที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

กลุ่มทดลอง	กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ($\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$ tissues or ml serum)			
	cerebral cortex	hippocampus	serum	red blood cells
Control	0.050 ± 0.006^{ab}	0.040 ± 0.009^a	0.087 ± 0.009^a	0.106 ± 0.015^a
A300	0.058 ± 0.007^b	0.057 ± 0.014^{ab}	0.093 ± 0.014^a	0.052 ± 0.020^b
A500	0.065 ± 0.010^b	0.070 ± 0.010^b	0.078 ± 0.014^a	0.071 ± 0.016^{ab}
S300	0.052 ± 0.009^{ab}	0.060 ± 0.007^{ab}	0.091 ± 0.013^a	0.074 ± 0.019^{ab}
S500	0.041 ± 0.010^a	0.047 ± 0.005^a	0.076 ± 0.022^a	0.093 ± 0.009^a

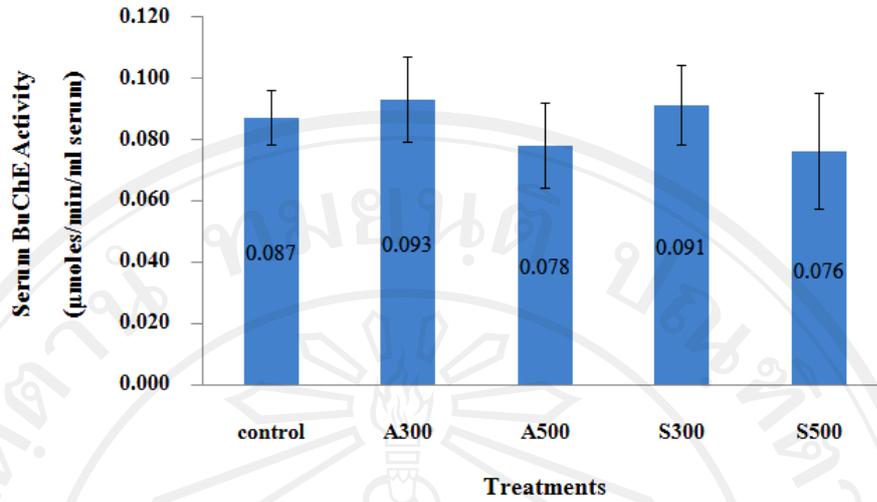
a และ b หมายถึง ค่าที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$



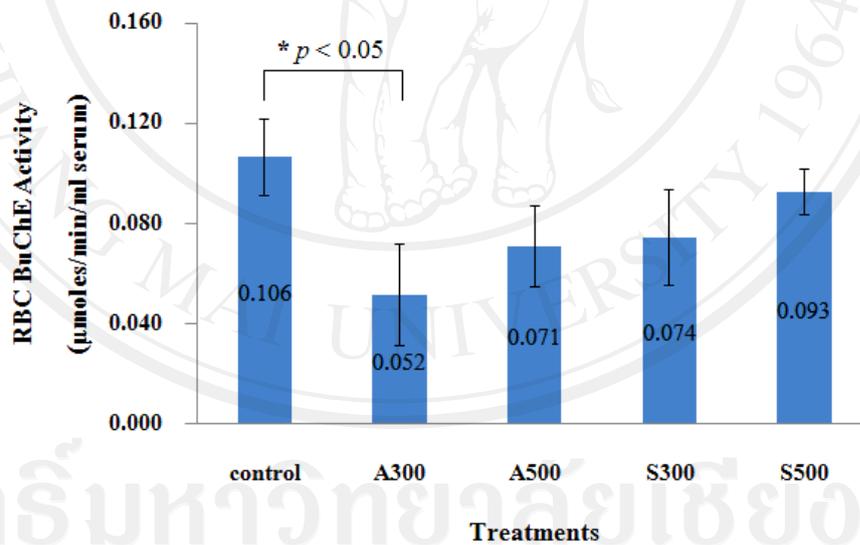
ภาพ 19 กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในสมองส่วน cerebral cortex ของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น



ภาพ 20 กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในสมองส่วน hippocampus ของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น



ภาพ 21 กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในซีรัมของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

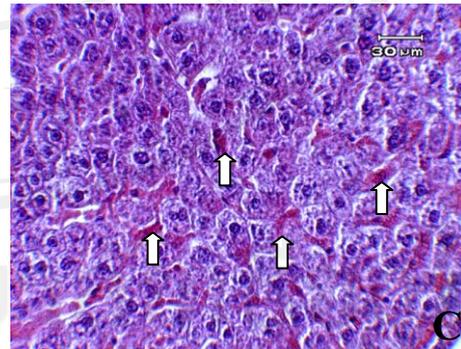
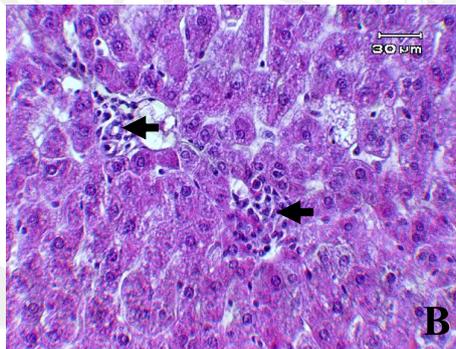
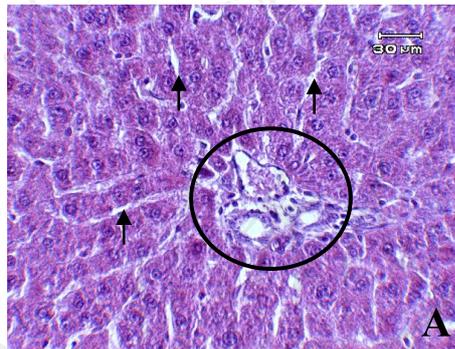


ภาพ 22 กิจกรรมของเอนไซม์ BuChE ในเม็ดเลือดแดงของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

3. การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

3.1 เนื้อเยื่อตับ

สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ต่อเนื้อเยื่อตับของหนูขาวเพศผู้นั้น พบว่าสารสกัดรากหนอนตายหยากทั้งสองชนิด ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับให้แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อตับของหนูที่ได้รับสารสกัดทั้งสองชนิดมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน โดยมีร่องรอยของการเกิดการอักเสบอย่างอ่อน (mild inflammation) คือ มีการแทรกซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (mononuclear cell infiltration) รอบๆ hepatic triad (ภาพ 23B) และมีเลือดออก (haemorrhage) แทรกอยู่ตาม hepatic sinusoid (ภาพ 23C) ซึ่งในที่นี้ได้เลือกภาพที่แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนมานำเสนอ



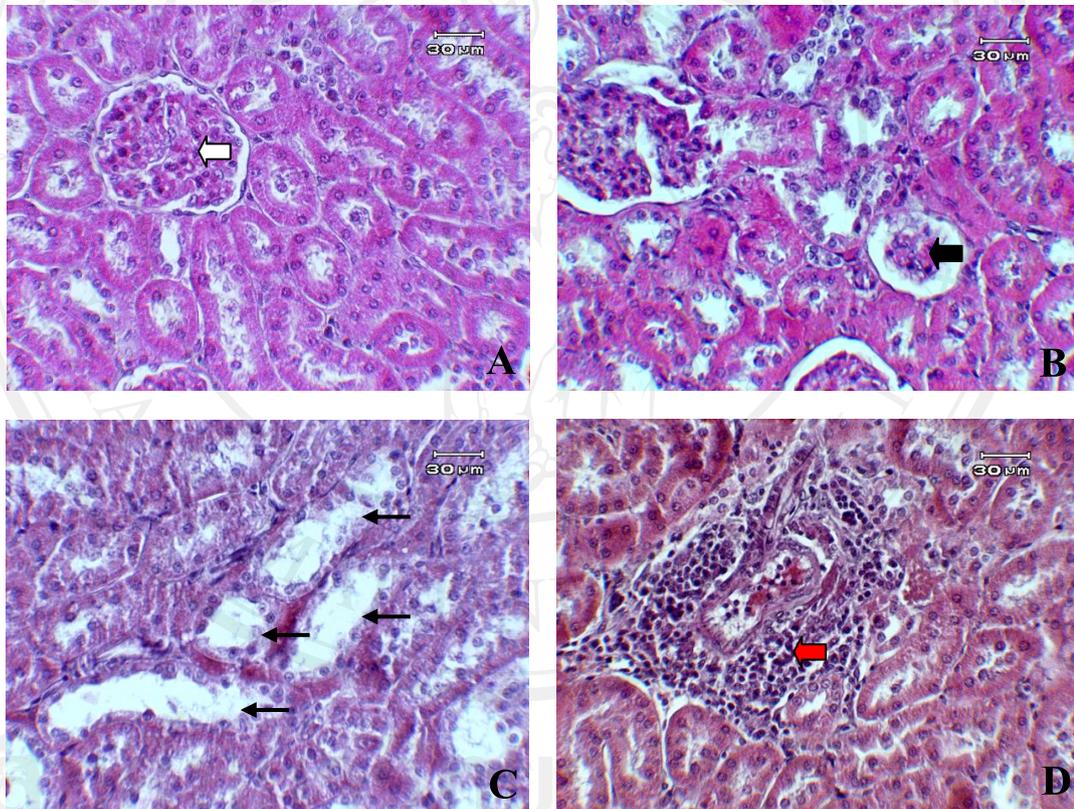
ภาพ 23 เนื้อเยื่อตับของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ขนาด 300 mg/kgBW (B) และ *Stemona* sp. ขนาด 300 mg/kgBW (C) เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A) (H & E)

← hepatic sinusoid, ⇐ haemorrhage, ◀ mononuclear cell infiltration

○ portal triad

3.2 เนื้อเยื่อไต

สำหรับผลของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อเนื้อเยื่อไตของหนูนั้นพบว่า สารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อไตที่คล้ายคลึงกัน โดยทำให้เกิดการฝ่อตัวของ glomerulus (contracted glomerulus) ซึ่งจะเห็นว่า glomerulus มีขนาดเล็กและมีช่องว่างระหว่าง glomerulus กับ Bowman's capsule กว้าง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพ 24A และ 24B) มีการขยายตัวของท่อไต (dilated tubules) ทำให้เซลล์บุท่อไตมีลักษณะต่ำกว่าปกติ (low cuboidal epithelium) (ภาพ 24C) ตลอดจนทำให้เกิดการแทรกซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาวรอบๆ หลอดเลือด (ภาพ 24D)

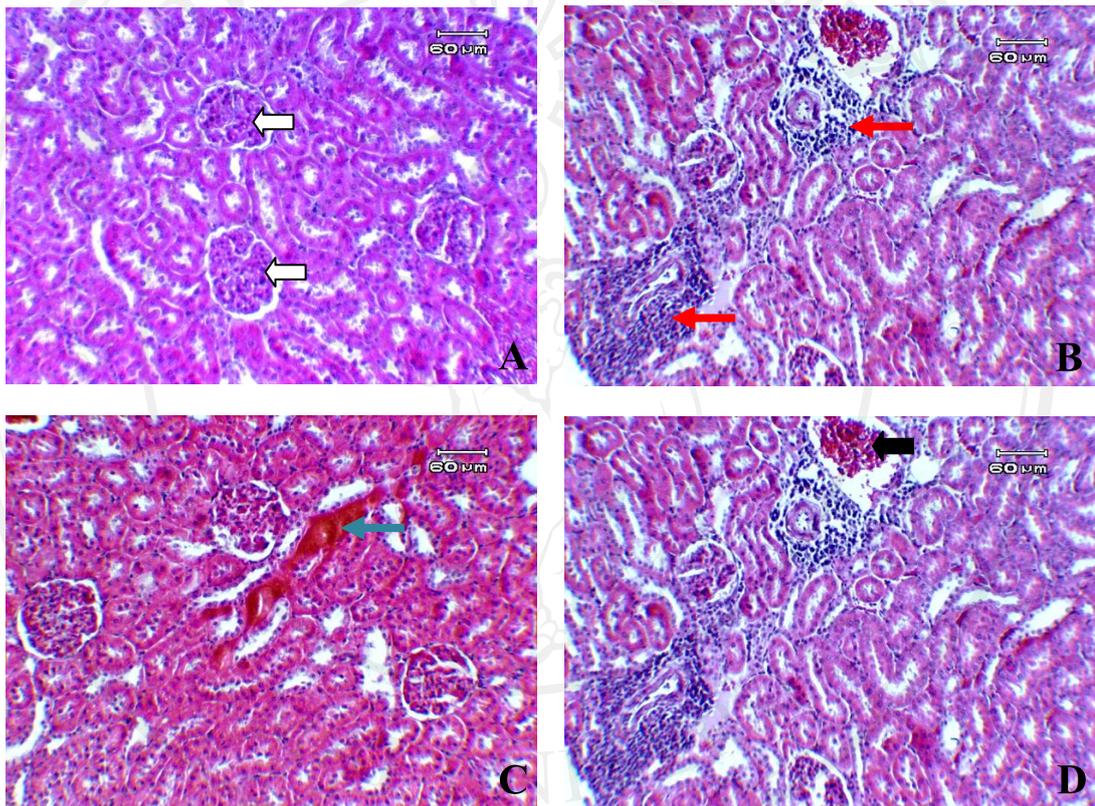


ภาพ 24 เนื้อเยื่อไตของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ขนาด 500 mg/kgBW (B และ C) และ 300 mg/kgBW (D) เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A) (H & E)

☐ normal glomerulus, ◼ contracted glomerulus, ◀ mononuclear cell infiltration,

◀ dilated tubules

ส่วนความเสียหายที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อไตของหนูที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตายหายากชนิด *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW นั้นก็พบว่ามีความเสียหายที่ความคล้ายคลึงกัน คือ มีการเกิดการแทรกซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาวกระจายรอบหลอดเลือดและท่อไต (ภาพ 25B) มีการหดตัวของ glomerulus (ภาพ 25D) อีกทั้งยังทำให้เกิดเลือดคั่ง (blood congestion) อีกด้วย (ภาพ 25C)



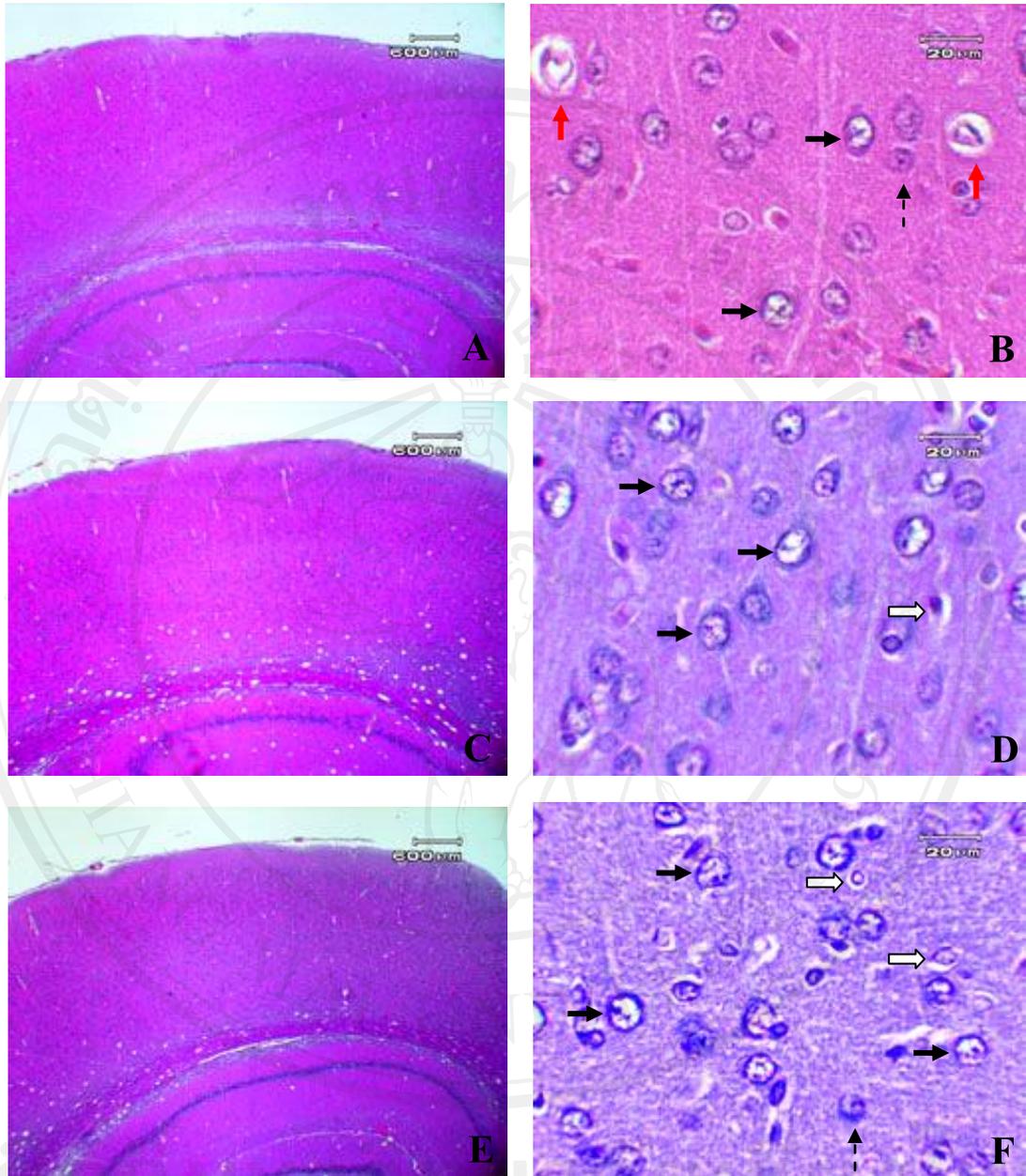
ภาพ 25 เนื้อเยื่อไตของหนูขาวเพศผู้ที่ป้อนด้วยสารสกัดรากหนอนตายหายากชนิด *Stemona* sp. ขนาด 300 (C) และ 500 mg/kgBW (B และ D) เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A) (H & E)

◁ normal glomerulus, ◼ contracted glomerulus, ◄ mononuclear cell infiltration,
◄ blood congestion

3.3 เนื้อเยื่อสมอง

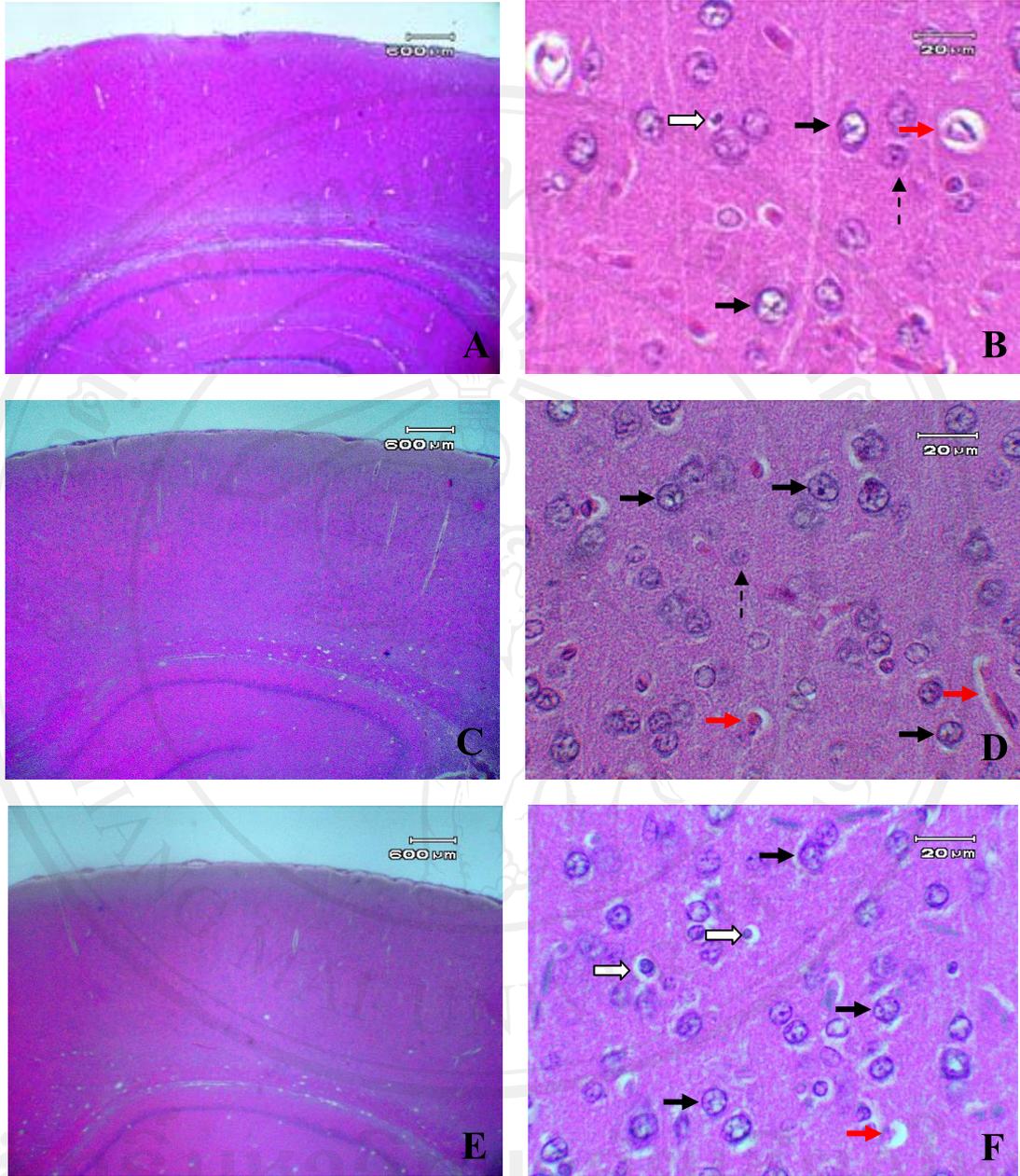
เนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex และ hippocampus ของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* และ *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW ไม่พบว่ามีความผิดปกติเกิดขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยในสมองส่วนของ cerebral cortex นั้นมีการเรียงตัวของชั้นเซลล์ที่เป็นปกติ แต่ละชั้นประกอบไปด้วยเซลล์ประสาท (neuron) และเซลล์ค้ำจุนเซลล์ประสาท (neuroglia) ที่เป็นปกติ เซลล์ประสาทมีนิวเคลียสกลม ภายในบรรจุเส้นใยโครมาตินที่ย้อมติดสีเข้ม neuroglia มีขนาดกว่าเซลล์ประสาท นิวเคลียสติดสีเข้มชัดเจน (ภาพ 26 และ 27)

ส่วนในเนื้อเยื่อสมองส่วน hippocampus นั้นก็พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิด ทุกขนาดที่ใช้ไม่มีผลทำให้เกิดความเสียหายในเนื้อเยื่อสมองส่วนนี้เช่นเดียวกัน จากภาพ 28 และ 29A, C และ E รูปแบบการเรียงตัวของเซลล์ประสาทที่เป็นปกติในส่วนของ CA1, CA2 และ CA3 ตลอดทั้งในส่วนของ dentate gyrus และเมื่อตรวจสอบด้วยกำลังขยายสูงพบว่าเซลล์ประสาทมีลักษณะที่เป็นปกติดังสังเกตพบในเนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex ซึ่งเซลล์ประสาทที่เห็นในบริเวณนี้ส่วนใหญ่เป็น pyramidal neuron ที่มีนิวเคลียสกลมใส ภายในมีเส้นใยโครมาตินกระจายอยู่ทั่วไป และไซโตพลาสซึมย้อมติดสีเข้มรอบๆ นิวเคลียส (ภาพ 29B, D และ F)



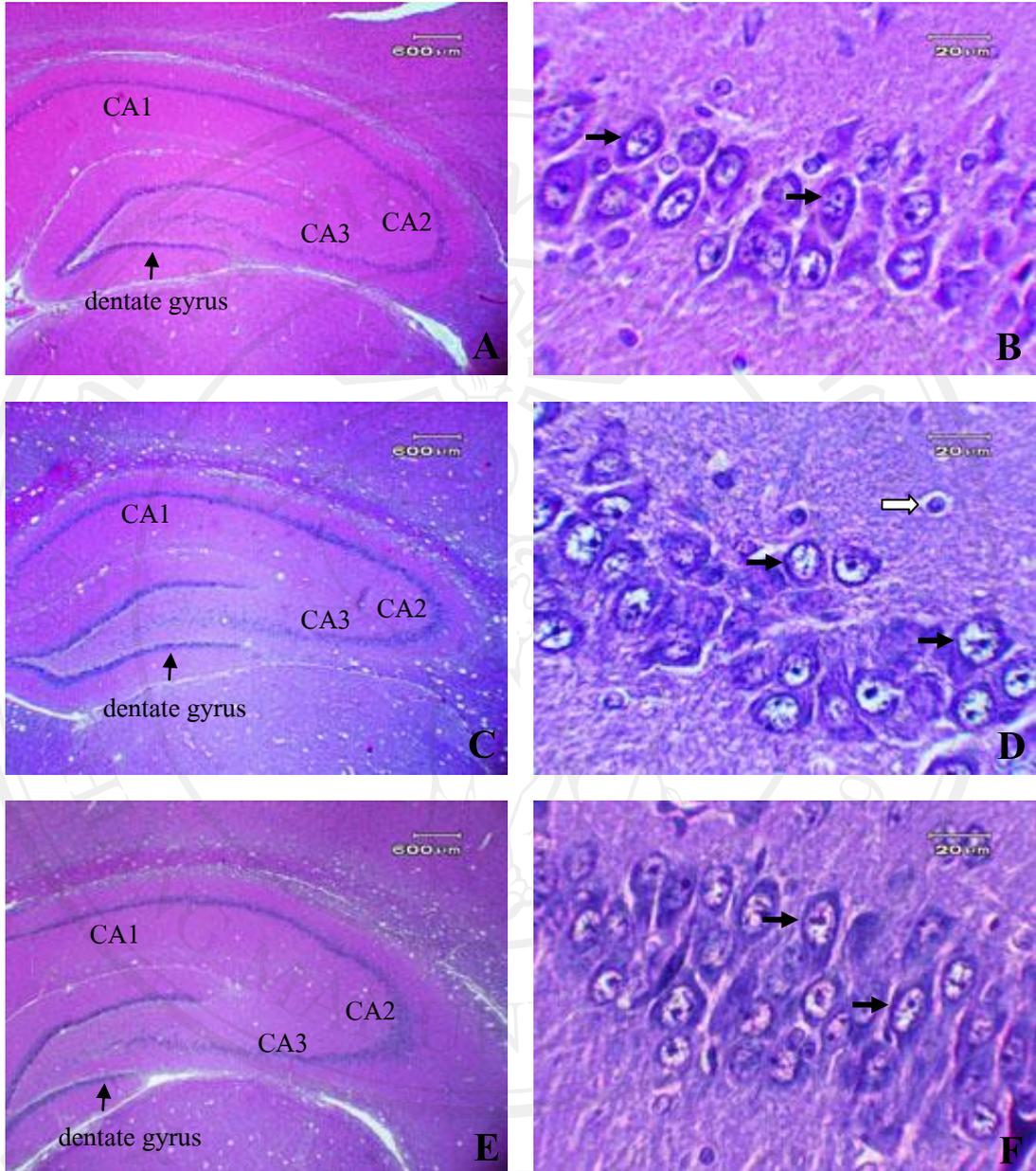
ภาพ 26 ลักษณะเนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex ของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตาย
 พืชชนิด *S. aphylla* ขนาด 300 (C และ D) และ 500 mg/kgBW (E และ F) เป็นเวลา 45
 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A และ B) (H & E)

→ neuron, - - → neuroglia, ⇨ myelinated axon, → blood vessel



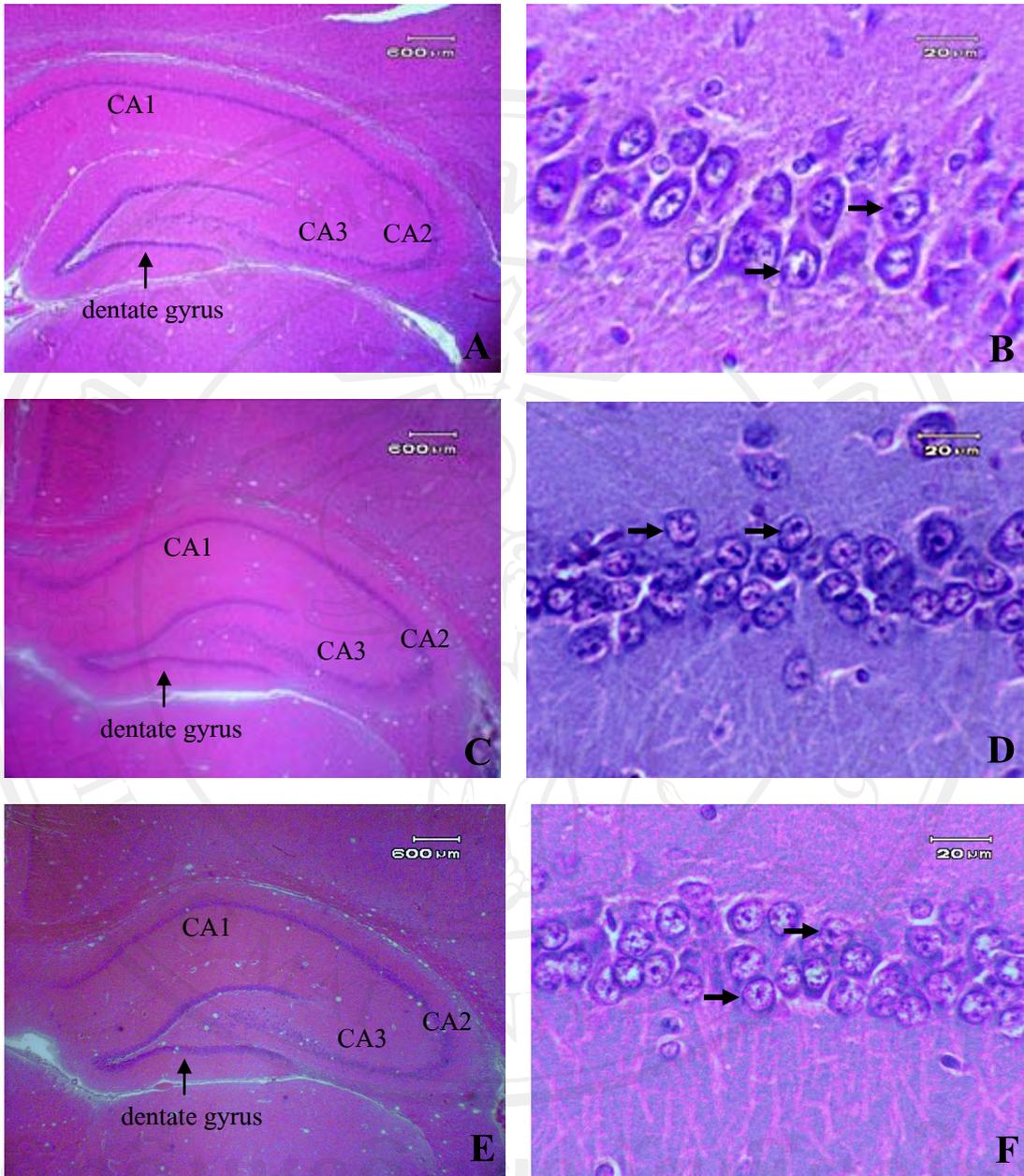
ภาพ 27 ลักษณะเนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex ของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตาย
 หยากชนิด *Stemona* sp. ขนาด 300 (C และ D) และ 500 mg/kgBW (E และ F) เป็นเวลา 45
 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A และ B) (H & E)

→ neuron, - - → neuroglia, ⇔ myelinated axon, → blood vessel



ภาพ 28 ลักษณะเนื้อเยื่อสมองส่วน hippocampus ของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW (C และ E) เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้น้ำกลั่น (A) ส่วน B, D และ F แสดงบริเวณ CA1 ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 300 และ 500 mg/kgBW ตามลำดับ (H & E)

➔ pyramidal neuron, ⇔ myelinated axon



ภาพ 29 ลักษณะเนื้อเยื่อสมองส่วน hippocampus ของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดรากหนอนตายหยาท ชนิด *Stemona* sp. ขนาด 300 และ 500 mg/kgBW (C และ E) เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (A) ส่วน B, D และ F แสดงบริเวณ CA1 ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 300 และ 500 mg/kgBW ตามลำดับ (H & E)

→ pyramidal neuron