

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลค่อน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์และต่อมช่วยการสืบพันธุ์

เมื่อครบกำหนดระยะเวลา 45 วัน ในการป้อนสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. ahylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แก่หนูทดลอง แล้วนำหนูมาผ่าตัดและเก็บอวัยวะสืบพันธุ์และต่อมช่วยสืบพันธุ์ ได้แก่ อัณฑะ (testes) หลอดเก็บอสุจิ (epididymis) ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) ต่อมลูกหมาก (prostate gland) มาชั่งน้ำหนักเพื่อเปรียบเทียบผลในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าน้ำหนักของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากทุกกลุ่มการทดลองและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 3 และภาพ 6, 7)

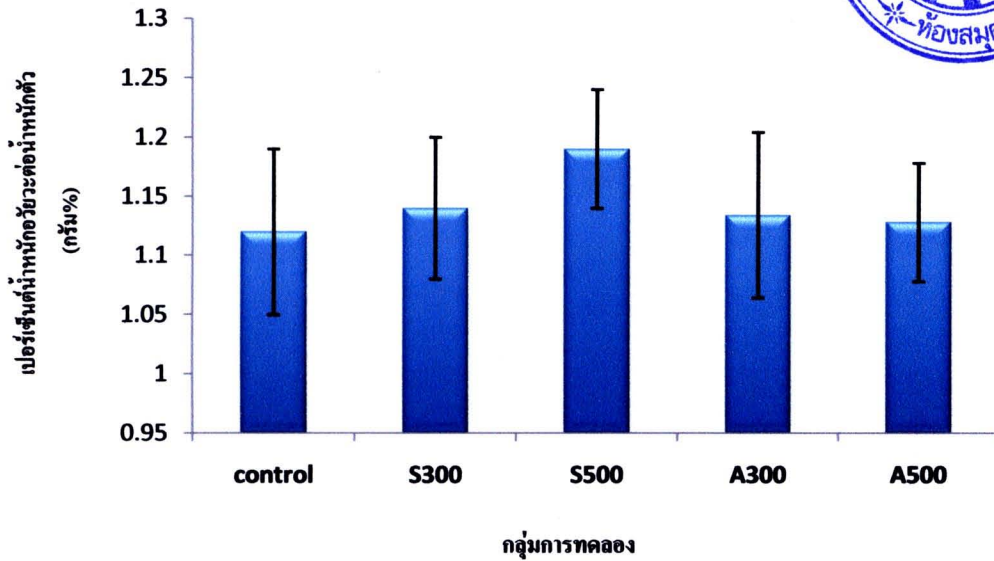
ตาราง 3 น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์และต่อมช่วยการสืบพันธุ์ของหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. ahylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นระยะเวลา 45 วัน

กลุ่มการทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว (g%)			
	Testes	Seminal vesicle	Prostate gland	Epididymis
กลุ่มควบคุม	1.12±0.07 ^{NS}	0.22±0.05 ^{NS}	0.06±0.02 ^{NS}	0.12±0.01 ^{NS}
<i>Stemona</i> sp. 300 mg/kg BW	1.14±0.06 ^{NS}	0.23±0.06 ^{NS}	0.08±0.01 ^{NS}	0.12±0.01 ^{NS}
<i>Stemona</i> sp. 500 mg/kg BW	1.19±0.05 ^{NS}	0.24±0.06 ^{NS}	0.09±0.02 ^{NS}	0.13±0.01 ^{NS}
<i>S. ahylla</i> 300 mg/kg BW	1.13±0.07 ^{NS}	0.24±0.04 ^{NS}	0.08±0.02 ^{NS}	0.12±0.01 ^{NS}
<i>S. ahylla</i> 500 mg/kg BW	1.12±0.05 ^{NS}	0.21±0.11 ^{NS}	0.07±0.02 ^{NS}	0.12±0.01 ^{NS}

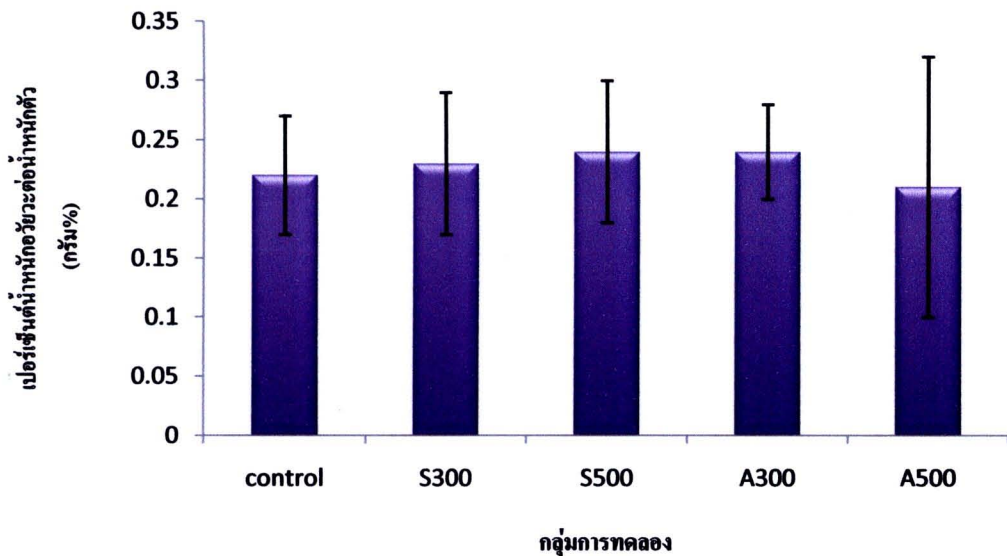
NS : non significant difference



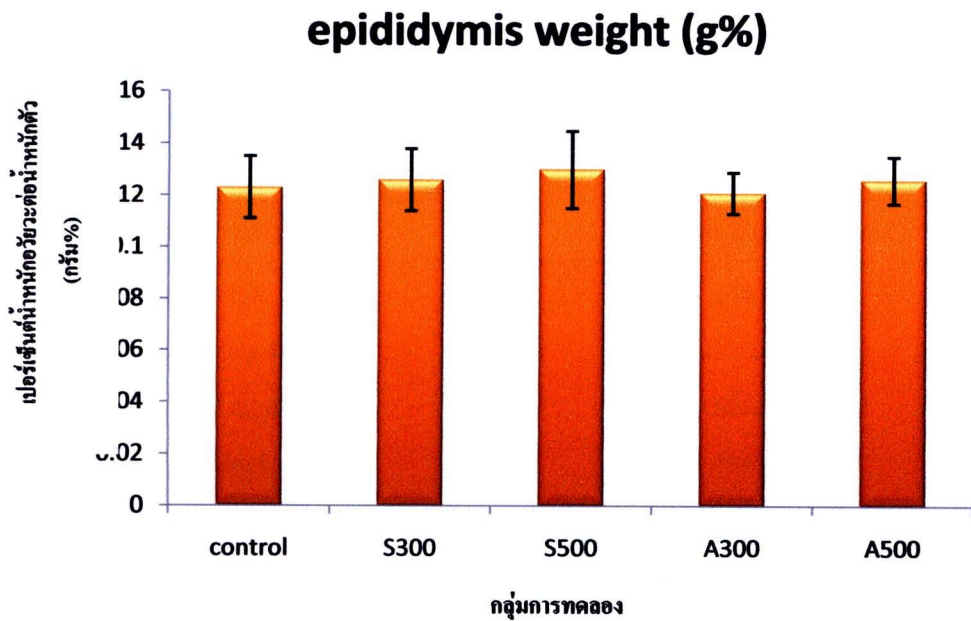
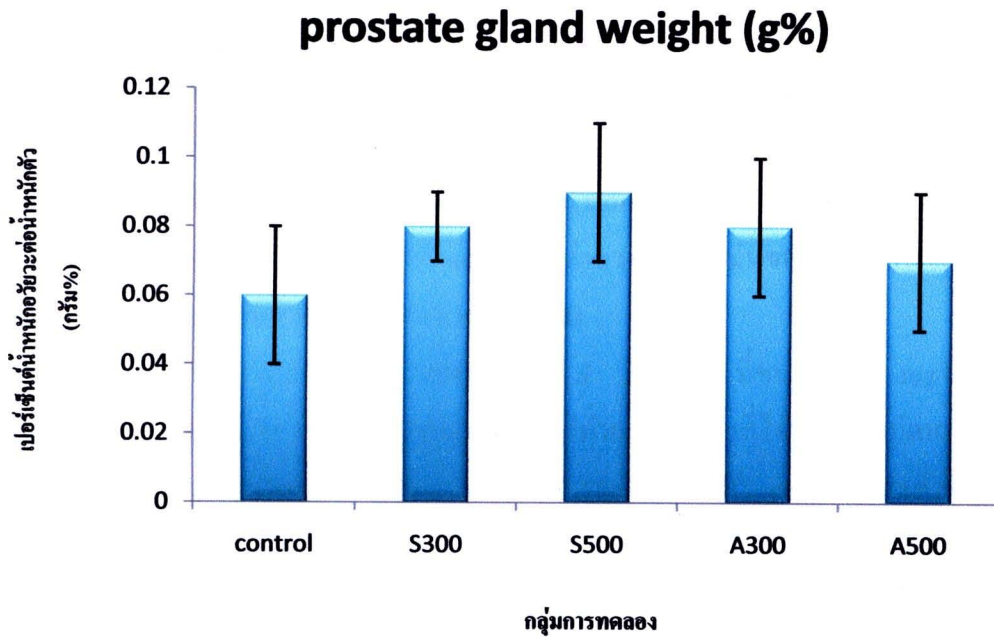
testicular weight (g%)



seminal vesicle weight (g%)



ภาพ 6 น้ำหนักของ testes และ seminal vesicle ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาขชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน



ภาพ 7 น้ำหนักของ prostate gland และ epididymis ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาก ชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นระยะเวลา 45 วัน

4.2 ผลต่อความหนาแน่นของอสุจิ

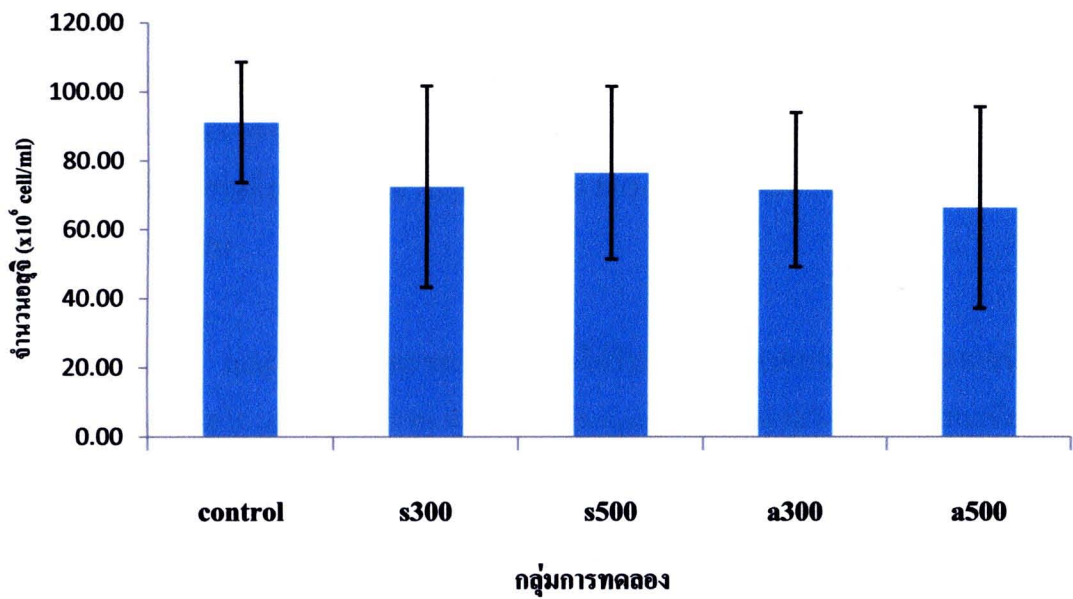
จากการตรวจสอบผลของสารสกัดหนอนตายหยาขชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW พบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาขทุกกลุ่มการทดลองมีค่าความหนาแน่นของอสุจิลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($91.17 \pm 17.49 \times 10^6$ cell/ml) เมื่อพิจารณาในพืชแต่ละชนิดจะเห็นได้ว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาขชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 300 mg/kg BW ($72.52 \pm 29.23 \times 10^6$ cell/ml) มีค่าความหนาแน่นของอสุจิต่ำกว่าในกลุ่มที่ได้รับที่ขนาด 500 mg/kg BW ($76.60 \pm 25.14 \times 10^6$ cell/ml)

ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาขชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW ($66.65 \pm 27.27 \times 10^6$ cell/ml) มีค่าความหนาแน่นของอสุจิต่ำกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาขชนิด *S. aphylla* ขนาด 300 mg/kg BW ($71.75 \pm 22.41 \times 10^6$ cell/ml) และต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าของความหนาแน่นของอสุจิตทุกกลุ่มการทดลองมาทดสอบหาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ปริมาณอสุจิของหนูที่ได้รับสารสกัดทุกกลุ่มการทดลองและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 4 และภาพ 8) แม้ว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาขชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* มีแนวโน้มทำให้ความหนาแน่นของอสุจิลดลง

ตาราง 4 ค่าความหนาแน่นอสุจิของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาขชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mean $\pm$ SD)

กลุ่มการทดลอง	ปริมาณอสุจิ ($\times 10^6$ cell/ml)
กลุ่มควบคุม	91.17 ± 17.49^{NS}
<i>Stemona</i> sp. 300 mg/kg BW	72.52 ± 29.23^{NS}
<i>Stemona</i> sp. 500 mg/kg BW	76.60 ± 25.14^{NS}
<i>S. aphylla</i> 300 mg/kg BW	71.75 ± 22.41^{NS}
<i>S. aphylla</i> 500 mg/kg BW	66.65 ± 27.27^{NS}

NS : non significant difference



ภาพ 8 จำนวนอสุจิของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

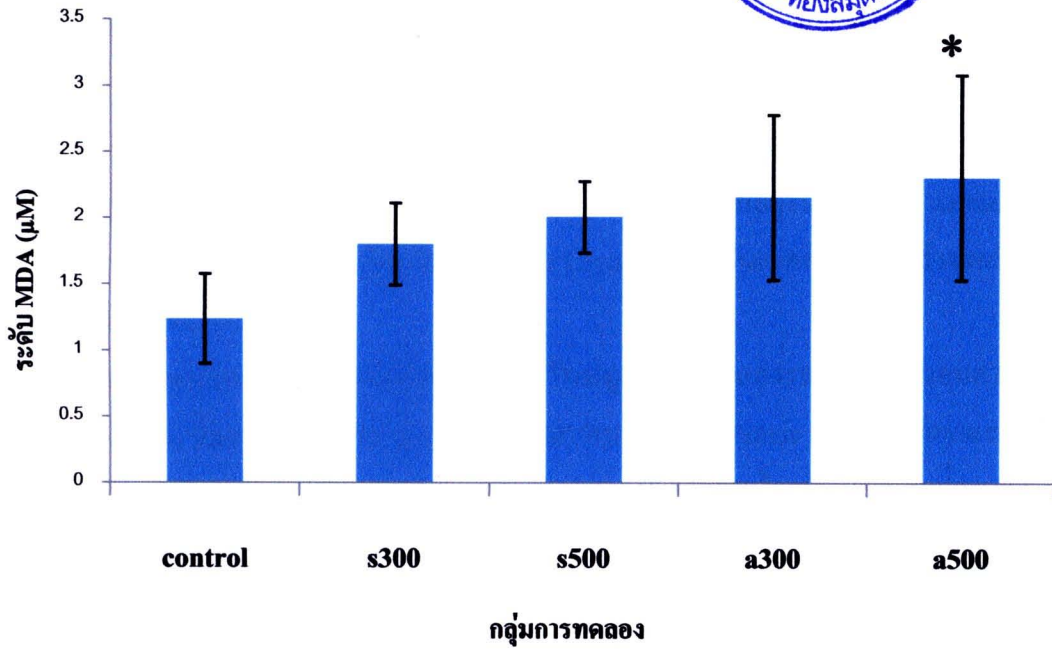
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ก่ออนุมูลอิสระของสารสกัดจากหนอนตายหยากในอัมตะของหนูขาว

จากการทดสอบฤทธิ์ก่ออนุมูลอิสระในเนื้อเยื่ออัมตะของหนูขาวทุกกลุ่มการทดลองด้วยวิธี MDA หลังจากได้รับสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน พบว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน จะมีปริมาณ MDA เท่ากับ 2.01 ± 0.27 μM และ 2.31 ± 0.77 μM ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 300 มก/กก ที่มีปริมาณ MDA เท่ากับ 1.80 ± 0.31 μM และ 2.16 ± 0.62 μM ตามลำดับ และเมื่อนำมาทดสอบหาความแตกต่างทางสถิติพบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW มีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P \leq 0.05$) (ตาราง 5 และภาพ 9) ในขณะที่หนูทดลองกลุ่มอื่นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ละระดับ MDA ในอัมตะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัดที่ได้รับ

ตาราง 5 ระดับ MDA (μM) ในอัมตะของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

กลุ่มการทดลอง	ระดับ MDA (μM)
กลุ่มควบคุม	1.24 ± 0.33^a
<i>Stemona</i> sp. 300 mg/kg BW	1.80 ± 0.31^{ab}
<i>Stemona</i> sp. 500 mg/kg BW	2.01 ± 0.27^{ab}
<i>S. aphylla</i> 300 mg/kg BW	2.16 ± 0.62^{ab}
<i>S. aphylla</i> 500 mg/kg BW	2.31 ± 0.77^b

a, b หมายถึงค่าที่แสดงความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมทางสถิติที่ $p \leq 0.05$



ภาพ 9 ระดับ MDA ในอวัยวะของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (* หมายถึงกลุ่มที่แสดงความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมทางสถิติที่ $p \leq 0.05$)

4.4 การตรวจสอบผลทางเนื้อเยื่อ

4.4.1 เนื้อเยื่ออัณฑะ (Testes)

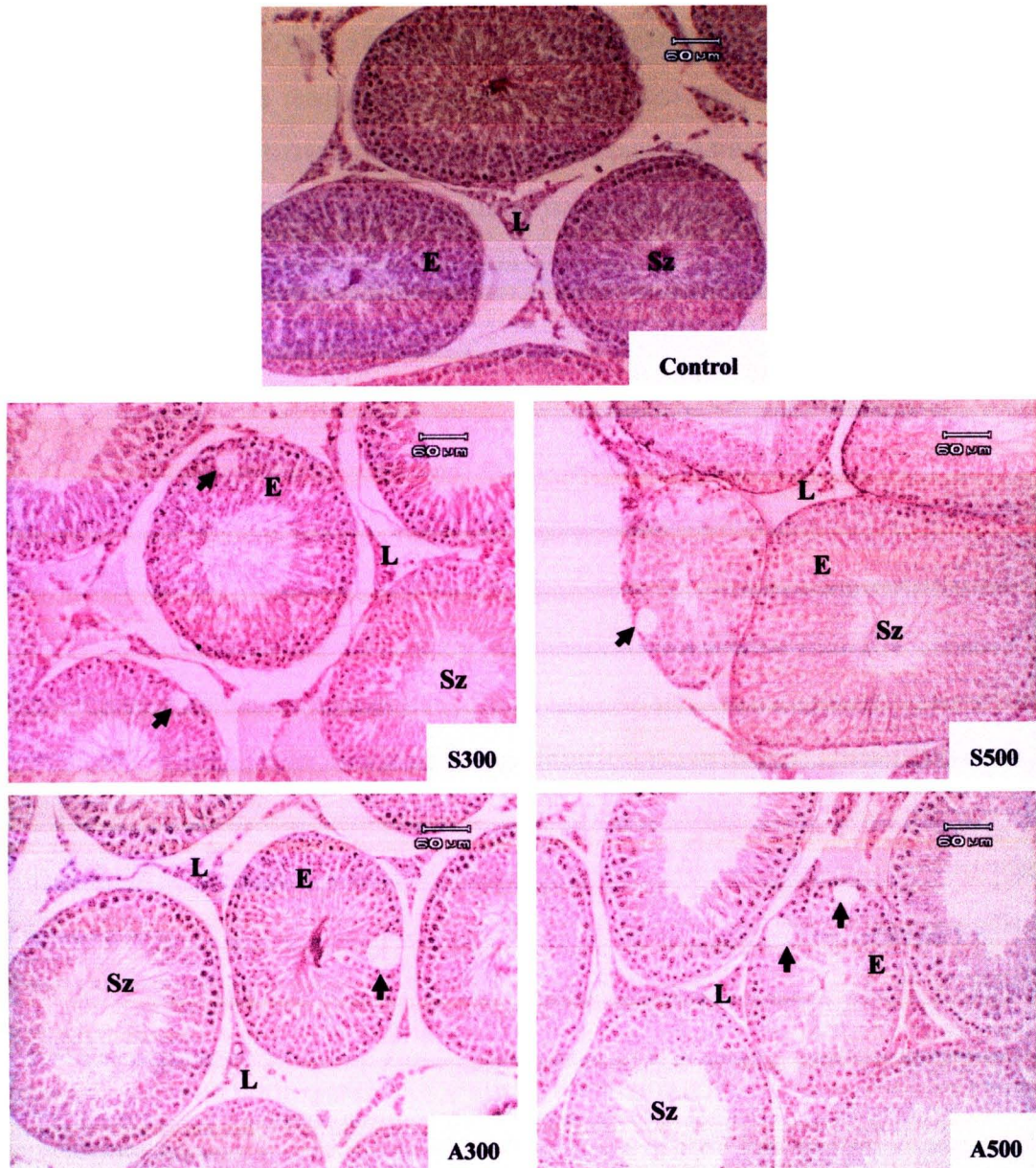
จากภาพ 10 แสดงลักษณะเนื้อเยื่อ testes ของหนูขาวในกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัด (กลุ่มควบคุม) ที่กำลังขยายต่ำ พบว่าภายในเนื้อเยื่อ testes ประกอบด้วยท่อกลมขนาดเล็กที่ขดอยู่ภายในจำนวนมาก (seminiferous tubule) มีการเรียงตัวอย่างสม่ำเสมอ เซลล์ภายในท่อนี้ประกอบด้วย germ cell ที่อยู่ในชั้นต่างๆ ของกระบวนการสร้างอสุจิ (spermatogenesis) โดยสังเกตบริเวณกลางท่อจะพบอสุจิ (spermatozoa) บรรจุกว้างเต็ม นอกจากนี้มีเซลล์ที่แทรกอยู่ระหว่างท่อ seminiferous tubule ที่เรียงตัวเป็นรูปร่างสามเหลี่ยมคือ กลุ่มของ Leydig cell เป็นเซลล์ที่มีการสร้างฮอร์โมนที่สำคัญในเพศชายคือ testosterone

ลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ testes ในหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW พบว่า seminiferous tubule มีลักษณะเป็นท่อกลม ที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบซึ่งคล้ายคลึงกับกลุ่มควบคุม ภายในท่อ seminiferous tubules ประกอบด้วย germ cell ซึ่งเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่อยู่ในระยะต่างๆ ของกระบวนการสร้างอสุจิ และพบอสุจิอยู่บริเวณกลางท่อ อย่างไรก็ตามในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. ตรวจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ testes โดยตรวจพบการเกิดแควิวโอล ที่มีลักษณะเป็นวงใสขนาดใหญ่แทรกอยู่บริเวณชั้น epithelium อยู่ติดกับผนังของท่อ seminiferous tubule โดย การเกิดแควิวโอลนั้น จะเกิดในบางบริเวณของชั้น epithelium เท่านั้น ซึ่งแสดงถึงการเกิดความเสียหายเพียงเล็กน้อยต่อเนื้อเยื่ออัณฑะ

นอกจากนี้การตรวจสอบลักษณะของเนื้อเยื่อ testes ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ทั้ง 2 ขนาด พบว่าลักษณะของ seminiferous tubule มีลักษณะคล้ายคลึงกับกลุ่มควบคุม คือ มีลักษณะเป็นท่อกลม ภายในมี germ cell ที่ประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในระยะต่างๆ บรรจุกว้างภายในและบริเวณกลางท่อ seminiferous tubules มีอสุจิบรรจุอยู่ แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW พบความหนาแน่นของอสุจิที่บรรจุอยู่ภายในท่อบางที่มีความหนาแน่นน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาก *S. aphylla* ขนาด 300 mg/kg BW และกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ในการตรวจสอบบริเวณ germ cell epithelium ตรวจพบการเกิด vacuole แทรกอยู่ภายในอย่างชัดเจน โดยแทรกอยู่ในบางบริเวณและบางท่อของ seminiferous tubule

ผลของสารสกัดจากหนอนตายหยาก *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW ต่อเนื้อเยื่อ testes สามารถสรุปได้ว่าความผิดปกติของเนื้อเยื่อ testes ที่ตรวจพบในทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทั้ง 2 ชนิดคือ การเกิดแควิวโอลแทรกอยู่ภายใน germ cell epithelium ซึ่ง

ลักษณะดังกล่าวจึงมีการตรวจสอบภายใต้กล้องขยายที่สูงขึ้นต่อไป เพื่อยืนยันถึงความผิดปกติของเนื้อเยื่อ testes ที่ตรวจพบในครั้งนี้



ภาพ 10 ลักษณะ seminiferous tubules ของเนื้อเยื่อ testes เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Steomona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW (H&E, 10X)

(E = epithelium, Sz = Spermatozoa, L = Leydig cell, arrow = Vacuolization)



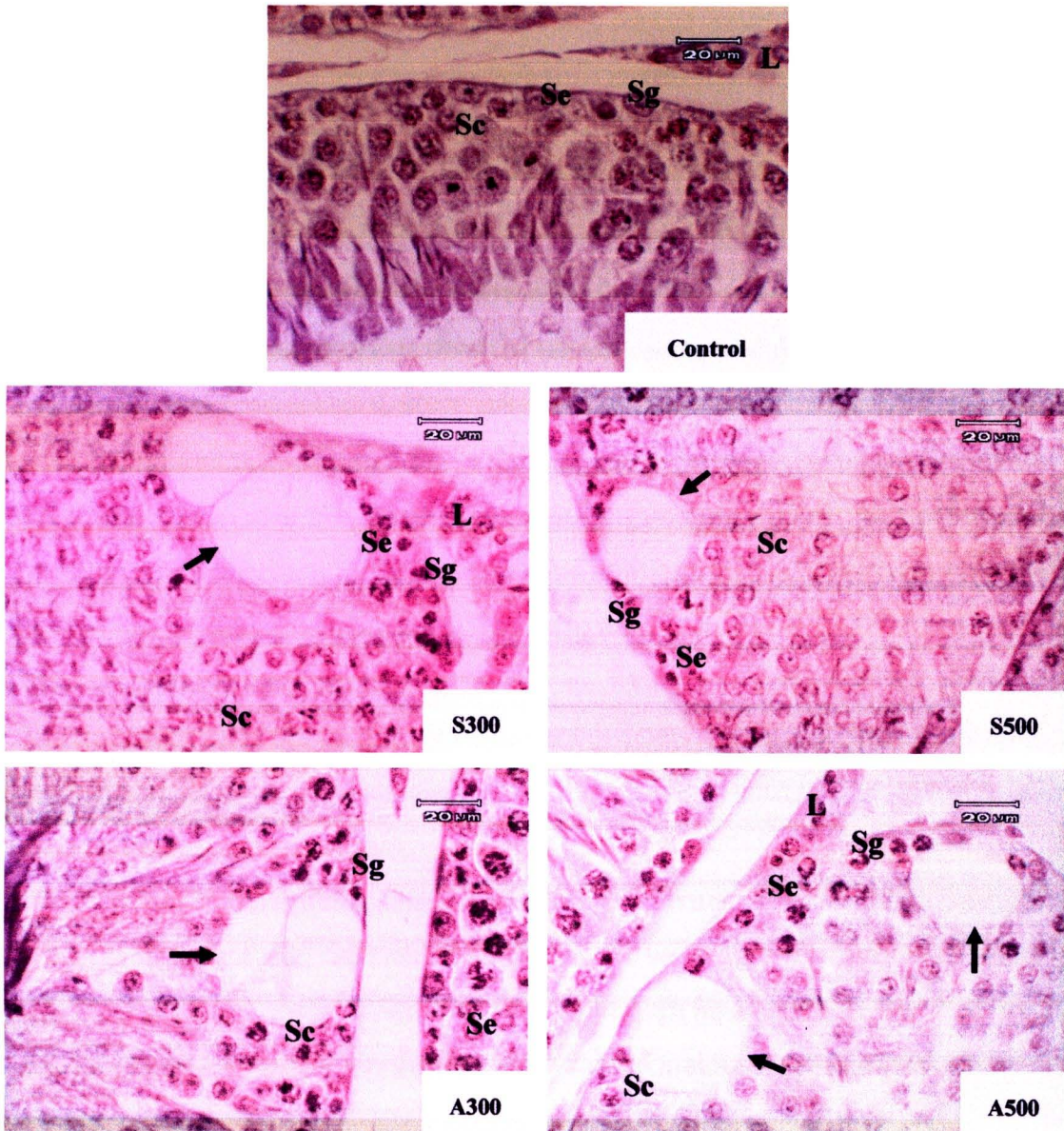
จากภาพ 11 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อเยื่อ testes ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW ที่กำลังขยายสูงขึ้นไป พบว่าลักษณะเนื้อเยื่อ testes ของกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาก (กลุ่มควบคุม) ภายในท่อ seminiferous tubule มีเซลล์ที่มีรูปร่างกลมมีขนาดแตกต่างกันในชั้น epithelium คือเซลล์ที่มีการพัฒนาเพื่อเปลี่ยนแปลงเป็นอสุจิ เซลล์ที่มีรูปร่างกลมขนาดเล็ก อยู่ติดกับผนังของท่อ seminiferous tubule คือ เซลล์ spermatogonia มีนิวเคลียสเป็นวงรี มีนิวเคลียสอัดกันแน่นอยู่กลางเซลล์ ถัดลงมาจะพบเซลล์จากการแบ่งตัว (mitotic) ของ spermatogonia คือ primary spermatocytes มี nucleus ขนาดใหญ่ มีโครโมโซมกระจายอยู่กลางเซลล์เป็นจำนวนมาก ทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ สำหรับ secondary spermatocytes มีขนาดเล็กกว่า มักไม่พบเนื่องจากกระบวนการ Meiosis II เกิดขึ้นเร็วมาก ถัดลงมาบริเวณกลางๆ ท่อ seminiferous tubule จะพบ spermatid และ spermatozoa บรรจบอยู่ภายใน ส่วนภายนอกท่อ seminiferous tubules จะพบ Leydig cell เป็นเซลล์รูปสามเหลี่ยมที่มีนิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ แทรกตัวอยู่ระหว่างท่อ seminiferous tubules

จากการตรวจสอบลักษณะของเนื้อเยื่อ testes ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW พบว่ามีลักษณะของเซลล์ภายในชั้น germinal epithelium ของ seminiferous tubules คล้ายคลึงกับกลุ่มควบคุม มี Leydig cell แทรกอยู่ในช่องว่างระหว่าง seminiferous tubules แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. นั้นตรวจสอบพบลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อ testes คือ พบการแทรกของแควิวโอลภายในชั้น epithelium ภายใน seminiferous tubule ซึ่งความเสียหายที่ตรวจพบดังกล่าวเกิดขึ้น ในบางบริเวณและบางท่อของ seminiferous tubule เท่านั้น

เมื่อตรวจสอบลักษณะทางพยาธิสภาพในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากตายหยากชนิด *S. aphylla* ทั้ง 2 ขนาด พบว่าลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ระยะต่างๆ ภายใน seminiferous tubules มีลักษณะคล้ายคลึงกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และกลุ่มควบคุม แต่เมื่อตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ testes พบการเกิดแควิวโอลเป็นวงใสขนาดใหญ่แทรกอยู่ระหว่างชั้น epithelium ตำแหน่งของการเกิดแควิวโอลจะอยู่ชิดกับผนังของท่อ seminiferous tubule ซึ่งความเสียหายที่เกิดขึ้นจะพบในบางตำแหน่งและบางท่อของ seminiferous tubule เท่านั้น ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ที่อยู่ติดกับแควิวโอล ยังมีการเรียงตัวที่ปกติ

ดังนั้นในการตรวจสอบผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ testes หลังจากได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิด พบว่าลักษณะของเซลล์ภายใน germ cell epithelium ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ตรวจพบการเกิดแควิวโอลแทรกอยู่ภายในชั้น epithelium ซึ่งเกิดใน

บางตำแหน่งและบางท่อของ seminiferous tubule ซึ่งลักษณะของความผิดปกติที่เกิดขึ้นอาจส่งผลต่อเนื้อเยื่ออัณฑะเพียงเล็กน้อยเท่านั้น



ภาพ 11 ลักษณะ seminiferous tubules เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แสดงลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ระยะต่าง ๆ และตำแหน่งการเกิด vacuole ในชั้น epithelium (H&E, 40X)

(Sg = Spermatogonia, Sc = Spermatocytes, Se = Sertoli cells,
L = Leydig cell, arrow = Vacuolization)

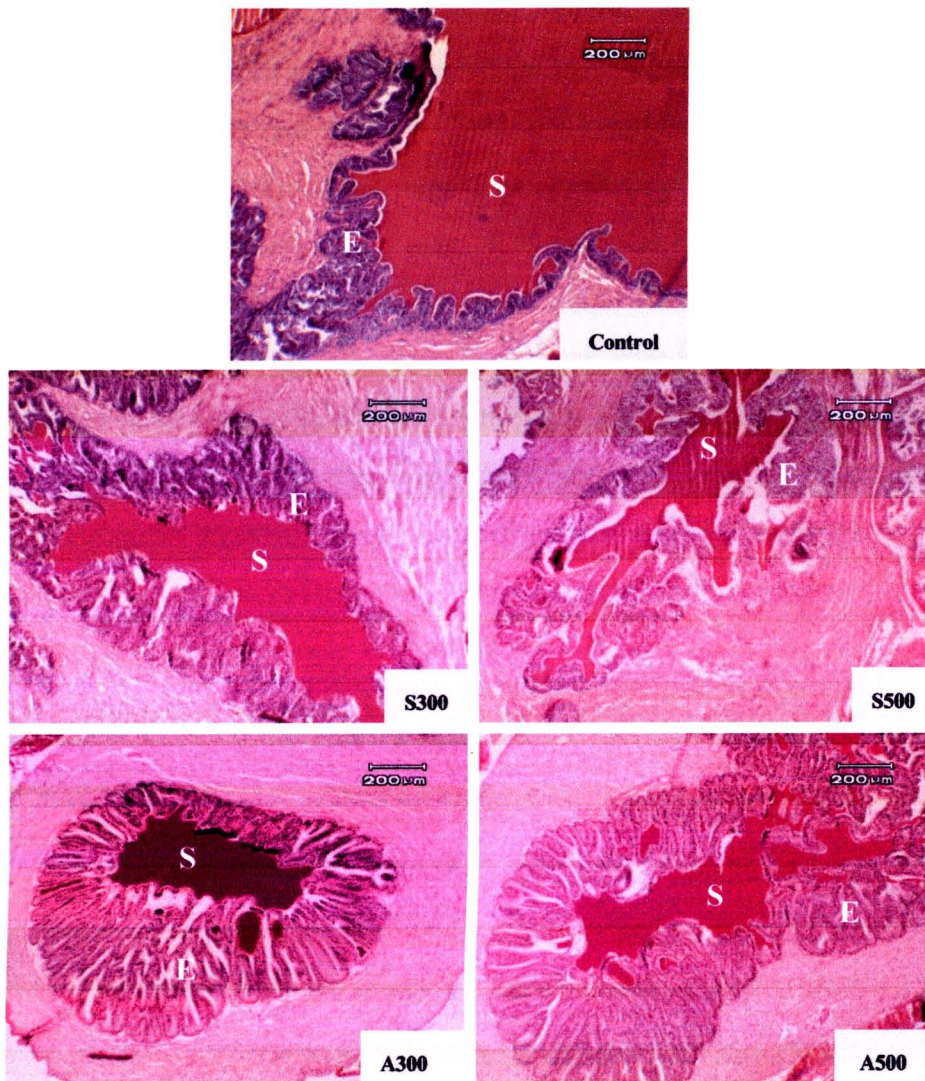
4.4.2 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (Seminal vesicle)

จากภาพ 12 แสดงการตรวจสอบผลของสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 mg/kg BW และ 500 mg/kg BW ต่อความผิดปกติของเนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) พบว่าลักษณะเนื้อเยื่อ seminal vesicle ที่กำลังขยายตัวของกลุ่มควบคุม พบชั้น mucosa ประกอบด้วย epithelium บุบริเวณขอบชั้นในของช่องที่บรรจุของเหลว ซึ่งมีการพับซ้อนและยื่นเป็นหยักแคบๆ และแตกแขนงเข้าไปภายในช่องว่างของถุง ทำให้ช่องว่างภายในมีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ มีชอกและส่วนเว้าภายในมากมาย เซลล์ของชั้น mucosa มีการสร้างและหลั่งสารที่เป็นน้ำเลี้ยงอสุจิ แล้วเก็บไว้ในช่องว่างภายในต่อม เมื่อย้อมด้วยสี H&E จะพบว่าสารที่คงอยู่ภายในช่องว่างจะติดสีแดงเข้ม นอกจากนี้จะมี smooth muscle จำนวนมาก ล้อมรอบภายนอกช่องว่างของ seminal vesicle เพื่อให้ seminal vesicle หดตัวในช่วงระหว่างที่มีการหลั่งสาร seminal fluid

จากการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อ seminal vesicle ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. ทั้ง 2 ขนาด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าลักษณะของชั้น mucosa มีความสูงของเซลล์ในชั้น epithelium คล้ายคลึงกันกับกลุ่มควบคุม ภายในช่องว่างมีการย้อมติดสีแดงของ seminal fluid แสดงถึงความสามารถของการหลั่งสารที่เป็นปกติเช่นเดียวกัน แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 300 mg/kg BW ตรวจพบการเกิดลักษณะทางพยาธิสภาพคือ การเกิดเวกิวโอลแทรกอยู่บริเวณชั้น epithelium โดยความผิดปกตินี้จะเกิดในบางบริเวณของชั้น epithelium เท่านั้น แสดงให้เห็นถึงผลกระทบอย่างอ่อนต่อเนื้อเยื่อ seminal vesicle

ส่วนลักษณะทางเนื้อเยื่อ seminal vesicle ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *S. aphylla* ทั้ง 2 ขนาด พบว่ามีลักษณะของเนื้อเยื่อ seminal vesicle คล้ายคลึงกันกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. และกลุ่มควบคุม คือ ตรวจพบ seminal fluid ภายในช่องว่างของ seminal vesicle และชั้น mucosa มีการเรียงตัวและความสูงของเซลล์เช่นเดียวกันกับควบคุม

โดยสรุปลักษณะทางเนื้อเยื่อ seminal vesicle ของทุกกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จะเห็นได้ว่าผลของสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *S. aphylla* ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ seminal vesicle เมื่อพิจารณาถึงความสูงและการจัดเรียงตัวของเซลล์ รวมถึงการพบ seminal fluid คงอยู่ภายในช่องว่าง แต่ในสารสกัดหนอนตายหายา *Stemona* sp. ตรวจพบความเสียหายเพียงเล็กน้อย จากการเกิด vacuole แทรกอยู่ในบางบริเวณของชั้น epithelium ใน seminal vesicle



ภาพ 12 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แสดงลักษณะ epithelium (H&E, 4X)

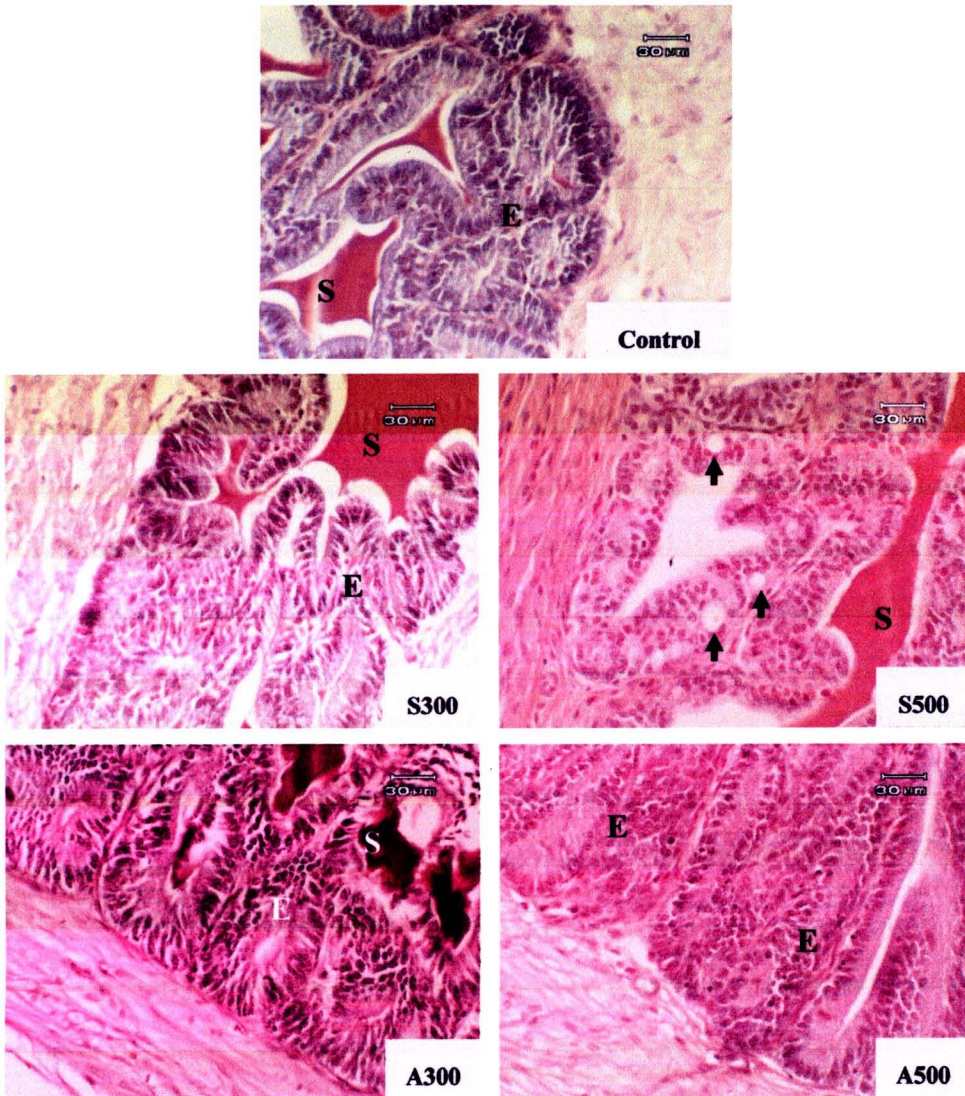
(E = Epithelium, S = Secretion)

จากภาพ 13 แสดงการตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) ที่กำลังขยายสูงขึ้น พบว่าในกลุ่มควบคุมตรวจพบชั้น mucosa มีการจัดเรียงตัวของเซลล์อย่างเป็นระเบียบ โดยเซลล์ชั้น epithelium มีการเรียงตัวแบบ pseudostratified columnar epithelium มองเห็นการพับซ้อนของชั้น epithelium อย่างชัดเจน ภายในช่องว่างของ seminal vesicle มีการหลั่งสาร seminal fluid (ย้อมติดสีแดง) แทรกอยู่ภายใน และบริเวณฐานของชั้น epithelium มี smooth muscle ล้อมรอบอยู่จำนวนมาก

จากการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อ seminal vesicle ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. พบว่าชั้น epithelium มีการพับซ้อนเป็นจำนวนมาก โดยความสูงและการจัดเรียงตัวของเซลล์มีขนาดไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม ภายในช่องว่างมี seminal fluid บรรจุอยู่จำนวนมาก แต่เมื่อตรวจสอบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 500 mg/kg BW ตรวจพบการเกิด vacuole เห็นเป็นวงกลมใส แทรกอยู่ภายในชั้น epithelium ความผิดปกติของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นตรวจพบการเกิดในบางบริเวณของ epithelium เท่านั้น อีกทั้งภายในช่องว่างของ seminal vesicle ที่ล้อมรอบด้วยชั้น epithelium ที่ตรวจพบแควิวโอและไม่พบการคั่งของ seminal fluid อยู่ภายใน

ในการตรวจสอบลักษณะของเนื้อเยื่อ seminal vesicle ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *S. aphylla* พบว่ามีลักษณะของชั้น mucosa มีการเรียงตัวของเซลล์ที่คล้ายกับกลุ่มควบคุม และตรวจพบสาร seminal fluid ภายในช่องว่าง จากการตรวจสอบข้างต้นสรุปได้ว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. โดยเฉพาะที่ขนาดสูงๆ ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างอ่อน (mild) ต่อเนื้อเยื่อ seminal vesicle จากการเกิด vacuole ในชั้น epithelium แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *S. aphylla* ไม่มีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อ seminal vesicle หลังจากได้รับสารสกัดชนิดนี้เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม





ภาพ 13 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แสดงลักษณะ epithelium และตำแหน่งการเกิด vacuole ในชั้น epithelium (H&E, 20X)

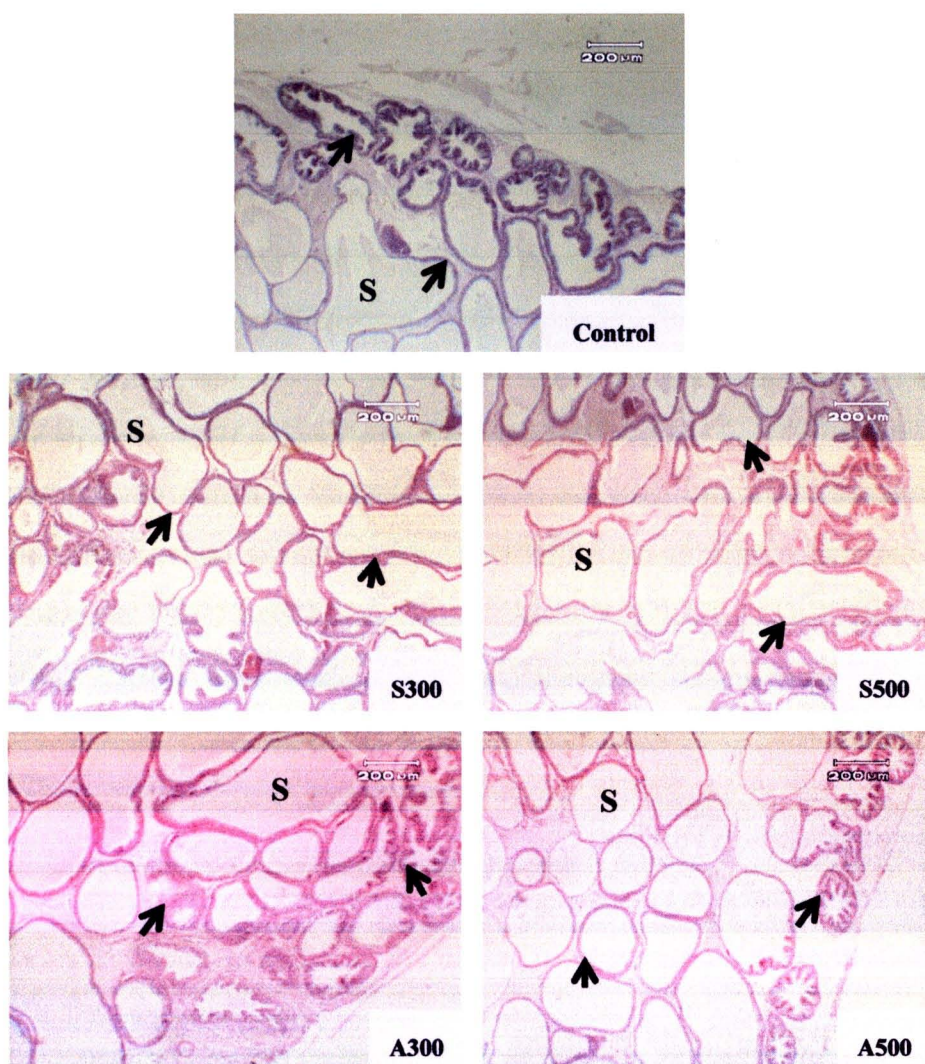
(E = Epithelium, S = Secretion, arrow= Vacuolization)

4.4.2 เนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก (Prostate gland)

จากภาพ 14 การตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อ prostate gland ในกลุ่มควบคุมที่กำลังขยายตัว พบว่าประกอบด้วยท่อที่มีบุด้วยเซลล์หลากหลายรูปแบบ จึงทำให้ท่อมีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกัน โดยมีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือรี อาจมีการพับซ้อนของชั้น epithelium เข้าไปภายใน ทำให้ช่องว่างมีรูปร่างไม่แน่นอน ซึ่งช่องว่างภายในท่อ prostate gland นั้นมีการบรรจุของเหลว (prostatic fluid) และภายนอกท่อจะถูกล้อมรอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบจำนวนมาก

เมื่อพิจารณาความผิดปกติของเนื้อเยื่อ prostate gland ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. พบว่าภายในบรรจุท่อจำนวนมากที่มีรูปร่างหลากหลายเช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม รวมถึงในบริเวณกลางท่อมี prostatic fluid คั่งอยู่ภายในเป็นจำนวนมาก ใน กลุ่ม ที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *S. aphylla* ต่อลักษณะเนื้อเยื่อ prostate gland พบว่าลักษณะและรูปร่างของท่อภายใน prostate gland คล้ายคลึงกันกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการสร้าง prostatic fluid ยังเป็นปกติ จากการพบ prostatic fluid คั่งอยู่บริเวณกลางท่อ

จากผลการตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ prostate gland ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาทั้ง 2 ชนิดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สามารถสรุปได้ว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหายา ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเนื้อเยื่อของ prostate gland เมื่อดูจากความสูงของเซลล์ในชั้น epithelium และ prostatic fluid ที่บรรจุอยู่บริเวณกลางท่อที่คล้ายคลึงกันกับกลุ่มควบคุม



ภาพ 14 ลักษณะเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก (prostate gland) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW (H&E, 4X) (arrow = Epithelium, S = Secretion)

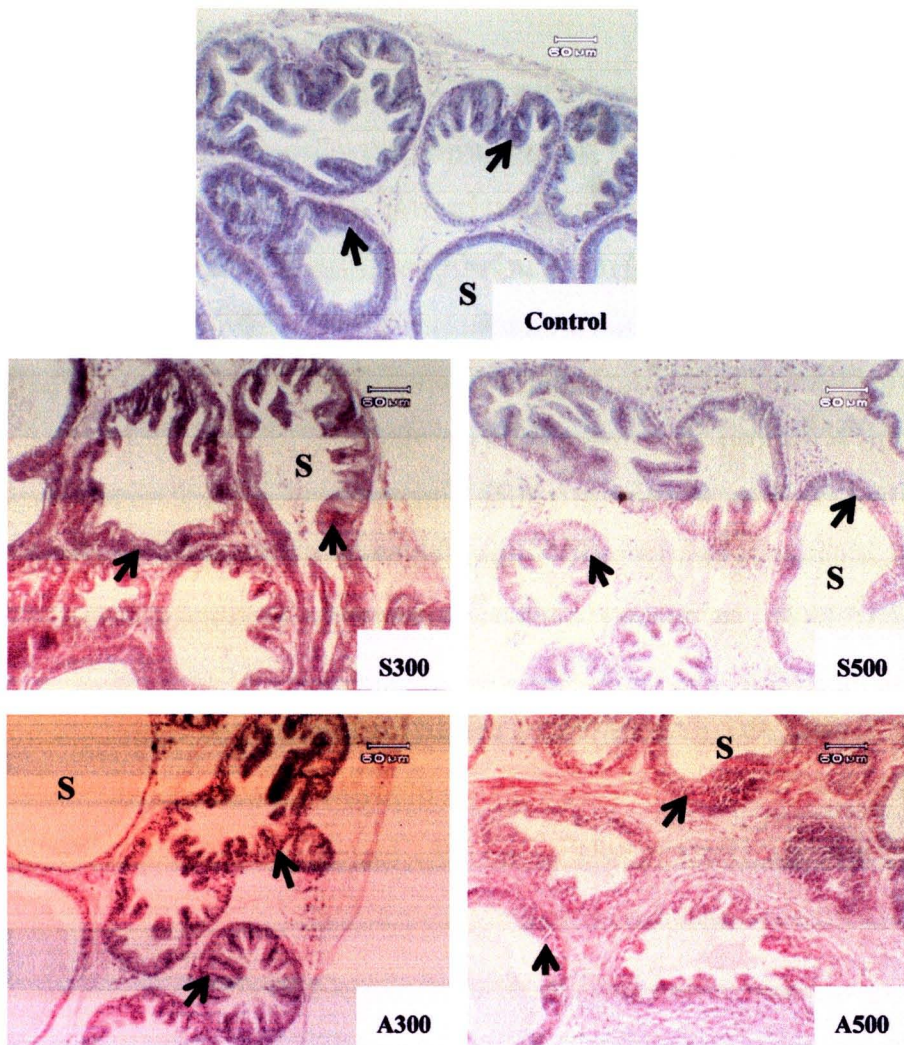
จากภาพ 15 เมื่อเพิ่มกำลังขยายในการตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ prostate gland หลังจากได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 mg/kg BW และขนาด 500 mg/kg BW พบว่า ในกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยา (กลุ่มควบคุม) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อผิวหนังที่บุด้วยเซลล์หลายชั้นแบบ pseudostratified columnar epithelium สังเกตได้ในเนื้อเยื่อที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ มีการพับซ้อนของชั้น epithelium หลายชั้น ทำให้มองเห็นเป็นหยักและหนากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อที่บุเพียงชั้นเดียว ภายในจะบรรจุของเหลว (prostatic fluid) โดยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (stroma) ที่อยู่ช่อง Lumen เป็น dense connective tissue ที่มี collagen fiber, elastic network และ smooth muscle จำนวนมาก

จากการตรวจสอบลักษณะความผิดปกติเนื้อเยื่อ prostate gland ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาชนิด *Stemona* sp. พบว่าประกอบด้วยท่อที่บุด้วยเซลล์หลายชั้น (pseudostratified columnar epithelium) ที่มีการพับซ้อนและยื่นเข้าไปภายในท่อจำนวนมาก มีการเรียงตัวของเซลล์อย่างเป็นระเบียบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และภายในท่อมีการคั่งของ prostatic fluid

ส่วนการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อของ prostate gland ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาชนิด *S. aphylla* พบว่าลักษณะของท่อที่อยู่ภายใน prostate gland มีความสูงและการจัดเรียงตัวของเซลล์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ภายในท่อบรรจุของเหลว prostatic fluid อยู่ภายใน

ผลจากการตรวจสอบความผิดปกติของ prostate gland หลังจากได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาทั้ง 2 ชนิด สรุปได้ว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อลักษณะเนื้อเยื่อของ prostate gland





ภาพ 15 ลักษณะเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก (prostate gland) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW (H&E, 10X)

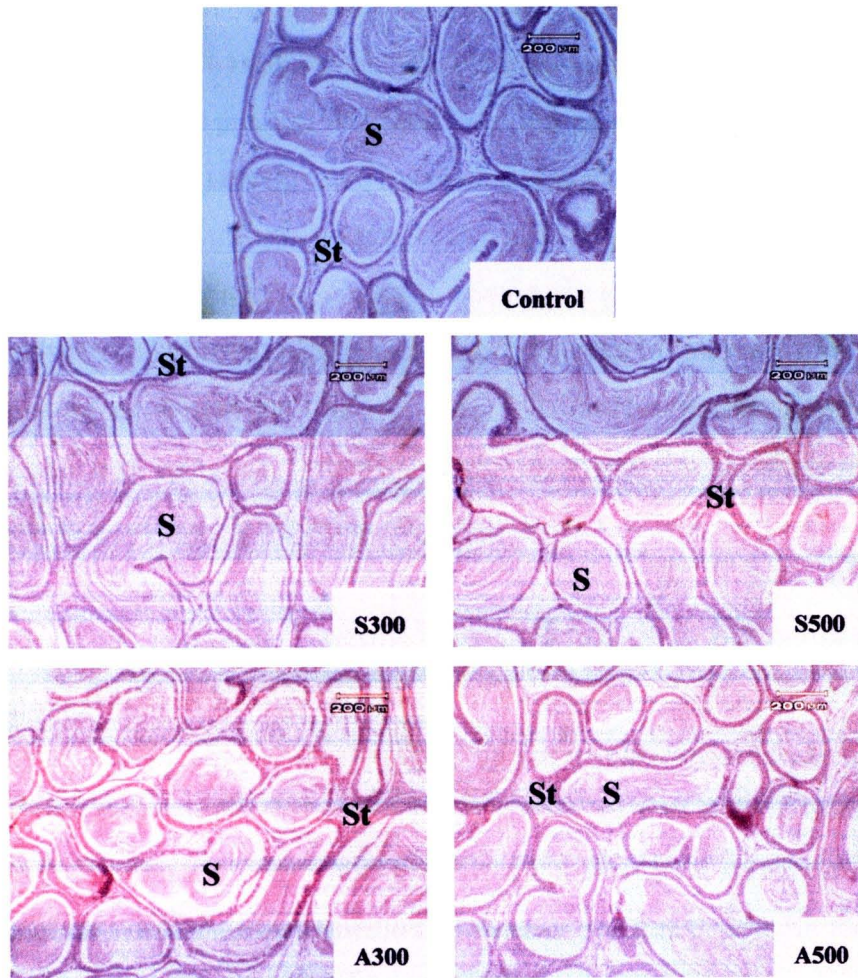
(arrow = Epithelium, S = Secretion)

4.4.4 เนื้อเยื่อหลอดเก็บอสุจิ (Epididymis)

จากภาพ 16 การตรวจสอบหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากทุกกลุ่มการทดลองพบว่า เมื่อตรวจสอบหนูในกลุ่มควบคุมที่กำลังขยายตัว จะเห็นเป็นท่อที่มีรูปร่างค่อนข้างกลมอยู่ภายใน และมีอสุจิที่รับมาจากกระบวนการสร้างอสุจิของท่อ seminiferous tubules บรรจุอยู่เต็มกลางท่อ ภายนอกท่อมีก้านเนื้อเรียบหุ้มท่ออยู่เป็นจำนวนมาก (stroma)

เมื่อพิจารณากลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. พบว่าท่อภายใน epididymis มีอสุจิบรรจุอยู่อย่างหนาแน่นบริเวณกลางท่อ และก้านเนื้อที่ล้อมรอบอยู่ภายนอกท่อมียะห้วงไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม และเมื่อพิจารณาเนื้อเยื่อ epididymis ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* พบว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 500 mg/kg BW ปริมาณของอสุจิที่อยู่ภายในท่อมีความหนาแน่นน้อยกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 300 mg/kg BW และกลุ่มควบคุม แต่ลักษณะและรูปร่างของท่อรวมถึงระยะห่างของ stroma ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

จากการตรวจสอบข้างต้น สรุปได้ว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ epididymis แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาก *S. aphylla* โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ขนาด 500 mg/kg BW ความหนาแน่นของอสุจิที่อยู่ภายในท่อน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง



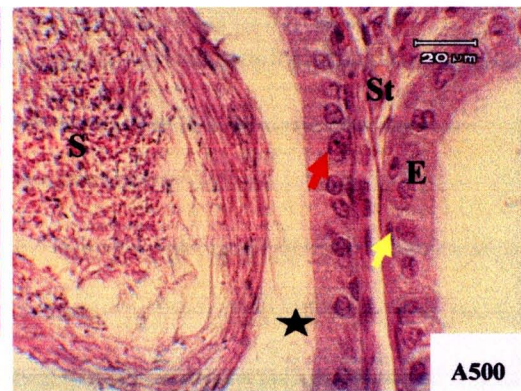
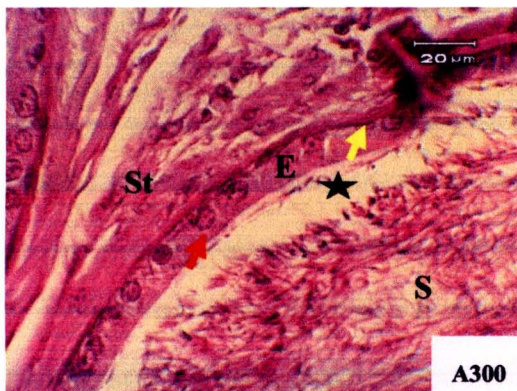
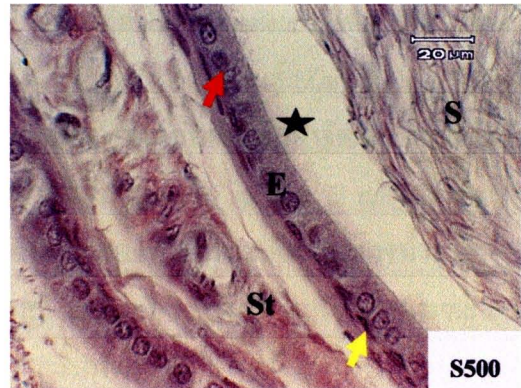
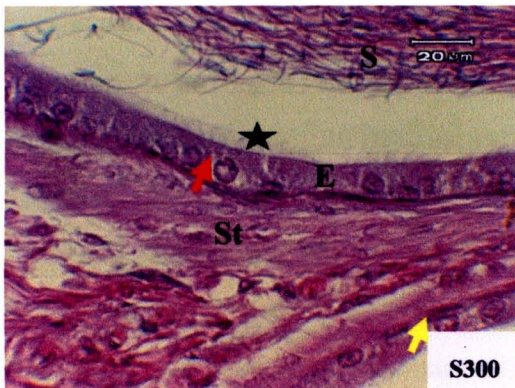
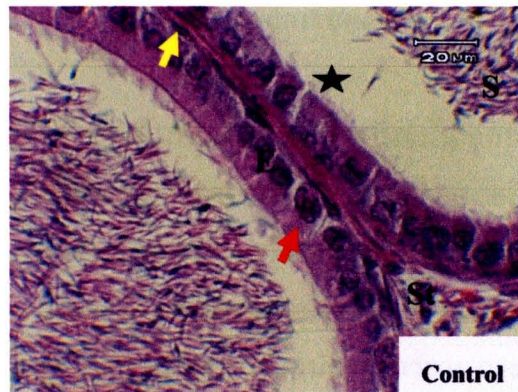
ภาพ 16 ลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดเก็บอสุจิ (epididymis) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนดาขยาชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW (H&E, 4X) (S = Sperm, St = Stroma)

จากภาพ 17 การตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อ epididymis ที่กำลังขยายสูงขึ้นพบว่าในกลุ่มควบคุม ลักษณะของเยื่อของ epididymis เป็นแบบ pseustratified columnr epithelium ประกอบด้วย เซลล์ 2 ชนิดคือ principal และ basal cells โดย principal cell มีรูปร่างทรงกระบอก (columnar) สลับกับเซลล์รูปร่างทรงลูกบาศก์ (cuboidal) บริเวณ free surface ของแต่ละเซลล์มี non-motile stereocilia มีลักษณะเป็นเส้นสั้นๆ และบางมาก ภายในหลอดเก็บอสุจิพบอสุจิจำนวนมากอัดแน่นอยู่บริเวณกลางท่อ ภายนอกท่อล้อมด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (stroma)

จากการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อ epididymis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารจากสกัดหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า ความสูงของเซลล์ในชั้น epithelium มีขนาดใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม มีการเรียงตัวของเซลล์ที่เป็นระเบียบบริเวณ free surface มี stereocilia อยู่เป็นกระจุก บริเวณกลางท่อมืออสุจิบรรจุอยู่อย่างหนาแน่น

สำหรับเนื้อเยื่อ epididymis ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ทั้ง 2 ขนาด พบว่า ลักษณะของเซลล์ในชั้น epithelium มีลักษณะและความสูงของเซลล์ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม พบการจัดเรียงตัวของเซลล์อย่างเป็นระเบียบ แต่ความยาวของ stereocilia บริเวณ free surface ของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาดสูง จะสั้นกว่าและพบในบางบริเวณเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้พบอสุจิบรรจุอยู่ภายในท่อของ epididymis

สรุปได้ว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ทั้งสองขนาด พบว่าการตรวจสอบความสูงและการเรียงตัวของเซลล์มีลักษณะคล้ายคลึงกันในทุกกลุ่มการทดลอง ยกเว้นใน stereocilia บริเวณ free surface ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกกลุ่มการทดลองที่สังเกตเห็นพบ stereocilia เป็นกระจุก หรือพบบางบริเวณเท่านั้น



ภาพ 17 ลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดเก็บอสุจิ (epididymis) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนดาหยาก *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW (H&E, 40X)

(E = Epithelium, S = Sperm, St = Stroma, Star = Stereocilia,
Red arrow = Principal cell, Yellow arrow = Basal cells)