

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

การทดสอบเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์นั้น ถูกออกแบบขึ้นเพื่อประเมินผลกระทบของสารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดหรือสารเคมีต่ออวัยวะเป้าหมายที่สำคัญของระบบสืบพันธุ์ที่ไปลดความสมบูรณ์ในเพศชายโดยมีผลต่อการสร้างอสุจิ การเจริญและการทำงานของอสุจิโดยตรง หรืออาจมีผลต่อการทำงานของ epididymis และการหลั่งสารจากต่อมช่วยสืบพันธุ์ ซึ่งวิธีการทดสอบพิษต่อระบบสืบพันธุ์จากการตรวจสอบน้ำหนักของอวัยวะ กระบวนการสร้างอสุจิ คุณภาพของอสุจิ รวมถึงการตรวจสอบลักษณะพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อ โดย parameters ที่กล่าวมาข้างต้นถือเป็นการตรวจสอบขั้นพื้นฐานในการประเมินความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Zenick *et al.*, 1994) ในการศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินความเป็นพิษของหนอนตายหยากที่เป็นพิษกำจัดแมลงชีวภาพต่อระบบสืบพันธุ์โดยทำการป้อนสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แก่หนูขาวเพศผู้แล้วทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของอัณฑะและต่อมช่วยสืบพันธุ์ ความหนาแน่นของอสุจิ ระดับของ MDA ในเนื้อเยื่ออัณฑะ และลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่ออัณฑะและต่อมช่วยสืบพันธุ์

5.1 ผลต่อน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์และต่อมช่วยในการสืบพันธุ์

การเปลี่ยนแปลงค่าของน้ำหนักอัณฑะและต่อมช่วยสืบพันธุ์รวมถึงตัวชี้คุณภาพของอสุจิ (sperm quality) ถือเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญที่ใช้ตรวจสอบความเสียหายโดยตรงต่อเนื้อเยื่ออัณฑะและต่อมช่วยสืบพันธุ์ที่อาจเกิดจากสารประกอบสำคัญที่อยู่ในสารสกัดหรือสารเคมี (Creasy, 2003) จากการศึกษาผลของสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW ต่อน้ำหนักของอัณฑะและต่อมช่วยสืบพันธุ์ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งผลของการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะสามารถบ่งชี้ถึงสถานะต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในอวัยวะได้

การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวอาจบ่งบอกถึงภาวะการอักเสบในร่างกาย (inflammation) หรืออาจไปเพิ่มกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำให้มีความสามารถในการหลั่งสารเพิ่มขึ้น อีกทั้งอาจเป็นตัวชี้วัดการบวมของอวัยวะได้ (Yakubu and Afolayan, 2009) จากการศึกษาผลของพืชชนิด *Fadogia agrestis* ต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศผู้ พบว่าเมื่อได้รับสารสกัดจากพืชชนิดนี้ที่ขนาดต่ำ (18 mg/kg BW) มีผลไปเพิ่มอัตราส่วนน้ำหนัก prostate gland และน้ำหนักอัณฑะต่อน้ำหนักตัว ซึ่งการเพิ่มของน้ำหนัก prostate gland นั้นอาจมีผลทำให้

ความสามารถในการสร้าง prostatic fluid เพิ่มขึ้น (จากการเพิ่มระดับของ calcium, citrate และ phosphate ion) เช่นเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักร seminal vesicle อาจทำให้ความสามารถในการหลั่ง seminal fluid เพิ่มขึ้น โดยอยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมน testosterone (Dadoune, 1985)

การลดลงของน้ำหนักรอวัยวะ อาจเกิดจากการหดตัวของเซลล์ (cell constriction) การลดลงของปริมาณโปรตีน DNA และ RNA ที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการเจริญของอวัยวะ รวมถึงการบกพร่องของฮอร์โมน testosterone หรือสารที่มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ (antifertile agents) (Moore and Dalley, 1999) แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในสารสกัดพืช *Solanum lycocarpum* ที่ประกอบด้วยสารสำคัญหลักหลายชนิดได้แก่ alkaloid, flavonoid, steroid และ tannin (Dixit *et al.*, 1989; Hiremath *et al.*, 1997; Rajasekaran *et al.*, 1998) มีผลทำให้น้ำหนักร seminal vesicle และ prostate gland ของหนูขาวลดลง ซึ่งในพืชชนิดนี้และหนอนตายหยากมีสารประกอบหลักที่เหมือนกัน คือ alkaloid (Ye *et al.*, 1994) เป็นไปได้ว่าหากได้รับสารสกัดหนอนตายหยากที่ขนาดและระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น อาจส่งผลทำให้น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ลดลงได้

ผลของสารจากสกัดจากหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิดในการวิจัยครั้งนี้ ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ สามารถสันนิษฐานในเบื้องต้นได้ว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิด อาจไม่มีผลกระทบโดยตรงต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ เมื่อพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอวัยวะสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามการตรวจสอบเพียง parameter เดียว ไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนถึงพิษของสารสกัดที่ใช้ทดสอบ จึงควรตรวจสอบถึงผลต่อ parameters อื่นๆ ที่สำคัญต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ต่อไป เพื่อยืนยันถึงความปลอดภัยของหนอนตายหยากในการวิจัยครั้งนี้

5.2 ผลต่อความหนาแน่นของอสุจิ

จากการตรวจสอบค่าความหนาแน่นของอสุจิในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิด มีค่าความหนาแน่นของอสุจิลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW มีค่าความหนาแน่นอสุจิต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง การลดลงของค่าความหนาแน่นอสุจิจากการได้รับสารสกัดหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิดนั้น อาจเป็นผลกระทบจากสาร alkaloid ที่เป็นสารสำคัญหลักในหนอนตายหยาก (Ye *et al.*, 1994) ที่อาจไปขัดขวาง blood-testis barrier และไปรบกวนการทำงานของ germ epithelium (testicular epithelium) ส่งผลกระทบโดยตรงต่อ

กระบวนการสร้างอสุจิ (spermatogenesis) ภายในท่อ seminiferous tubules ของอัณฑะ (spermatogenesis) (Dua and Vaidya, 1996)

สาร alkaloid ที่เป็นสารสำคัญในสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) อาจส่งผลต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์และต่อมไร้ท่อของเพศผู้ โดยการศึกษาสารสกัดพืช *Catha edulis* ที่มีสารประกอบหลักคือ flavonoids และ alkaloid มีผลทำให้อสุจิมีรูปร่างผิดปกติและลดจำนวนอสุจิใน vas deferens และ epididymis ของหนูถีบจักร (Qureshi *et al.*, 1988) รวมถึงการได้รับสารสกัดจาก *Aegle marmelos* (Rutaceae) ที่มีสารประกอบ alkaloid อยู่เป็นจำนวนมาก ส่งผลทำให้น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ ต่อมช่วยสืบพันธุ์ และจำนวนอสุจิลดลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อความสมดุลของระบบต่อมไร้ท่อในเพศผู้ ซึ่งการทำงานของฮอร์โมนมีความสำคัญต่อความสมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เป็นอย่างมาก โดยเริ่มต้นจากฮอร์โมน gonadotropin จากต่อมใต้สมอง มีอิทธิพลต่อการเจริญและ maturation ของอัณฑะที่ถูกควบคุมด้วยฮอร์โมน testosterone (Ojeda and Urbanski, 1994)

ฮอร์โมน testosterone นั้นมีความสำคัญต่อ sexual maturation พฤติกรรมทางเพศ กระบวนการสร้างอสุจิ การเปลี่ยนแปลงและการ maturation ของต่อมช่วยสืบพันธุ์ ซึ่งการสังเคราะห์และหลั่งฮอร์โมน testosterone ขึ้นอยู่กับการควบคุมของฮอร์โมน gonadotropin จากต่อมใต้สมอง คือ FSH และ LH ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้มีความสำคัญต่อการทำงานของอัณฑะและกระบวนการสร้างอสุจิ (Connell and Eikness, 1968; Johnson and Ewing, 1971; Hansson *et al.*, 1973) โดยการหลั่งฮอร์โมน FSH (Dohler and Wuttke, 1974) มีผลต่อท่อ seminiferous tubule ในกระบวนการสร้างอสุจิ ในขณะที่ฮอร์โมน LH มีผลไปกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน testosterone ซึ่งมีผลโดยตรงต่อ Leydig cell (Ojeda and Urbanski, 1994)

จากผลความหนาแน่นอสุจิที่ลดลงนั้น อาจสันนิษฐานได้ว่าผลของสารสกัดจากหนอนตายหยากในการทดสอบครั้งนี้ อาจมีผลต่อการสร้างฮอร์โมน steroid (ฮอร์โมนเพศผู้) (Elbetieha *et al.*, 2001) ส่งผลกระทบโดยตรงต่ออัณฑะ และการลดลงของน้ำหนักและขนาดของอัณฑะทำให้อสุจิใน seminiferous tubules ที่มี germinal epithelium น้อยลงในเสียสภาพ ประสิทธิภาพในการผลิตอสุจิ ลดลงทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณอสุจิ ผลความหนาแน่นอสุจิที่ลดลงนั้นสอดคล้องกับการได้รับสารสกัดจากพืชและสารเคมีหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดจากพืช *Terminalia chebula* (Krishnamoorthy *et al.*, 2007), *Tripterygium wilfordii* (Qian *et al.*, 1986), *Azadirachta indica* (Sathiyaraj *et al.*, 2010) จากความสัมพันธ์ของระบบต่อมไร้ท่อและความสมบูรณ์ในเพศชายที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นจึงควรตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเพศผู้ร่วมด้วย เพื่อใช้

ขึ้นจนถึงผลกระทบของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อการทำงานของระบบคอมไพ์ท้อที่อาจส่งผลต่อคุณภาพอสุจิและความสมบูรณ์เพศชายอีกด้วย

5.3 ผลต่อระดับ MDA ในอัมชะ

การตรวจวัดระดับ MDA ของเซลล์ถือเป็นวิธีการหนึ่งในการวิเคราะห์ถึงระดับ Lipid peroxidation จากการเกิดภาวะ oxidative stress ในเนื้อเยื่อของอวัยวะ ผลลัพธ์จากการเกิดปฏิกิริยา Lipid peroxidation คือ สารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) โดยตรวจวัดด้วยการเติมกรดไทโอบาร์บิทริกในสภาวะกรด สาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทริก ได้เป็นสารมีสีชมพูเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (โอภาและคณะ, 2549) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW มีผลทำให้ระดับ lipid peroxidation ในอัมชะสูงขึ้น จากการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ในเนื้อเยื่ออัมชะเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW พบการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ MDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเพียงกลุ่มเดียวเท่านั้น การเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ของเนื้อเยื่ออัมชะ บ่งชี้ถึงการเพิ่มขึ้นของการเกิด Lipid peroxidation ภายในเซลล์และการเกิดภาวะ oxidative stress ได้ (Halliwell and Chirica, 1993)

Lipid peroxidation ที่เกิดขึ้นบริเวณผนังเซลล์นั้น มีผลทำให้เกิดการสร้าง ROS ที่เป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของ peroxidation บริเวณที่เกิดปฏิกิริยานี้ส่วนใหญ่คือ บริเวณของผนังเซลล์ที่มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจำนวนมาก ซึ่งหากมีการสร้าง ROS มากเกินไป อาจมีผลไปลดประสิทธิภาพในการป้องกันจากสารอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และชักนำให้เกิดความเสียหายของเซลล์อย่างถาวร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอัมชะ อีกทั้งยังมีผลต่อรูปร่างและการทำงานของอสุจิอีกด้วย (Alvarez *et al.*, 1995; Koizumi and Li, 1992) อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงระดับของ MDA สัมพันธ์กันกับการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ glutathione peroxidase และระดับของ glutathione ซึ่งการลดลงนี้แสดงให้เห็นถึงการทำงานของกลไกของร่างกายในการป้องกันการถูกทำลายจากสารอนุมูล (Rosenblum *et al.*, 1989) และเนื่องจากชั้นผนังเซลล์ในอัมชะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่เป็นจำนวนมาก เป็นองค์ประกอบขั้นต้นที่สำคัญในการทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์จากการเกิด peroxidation ได้ ดังนั้นหากไม่มีการป้องกันจากสารต้านอนุมูลอิสระของเซลล์ ทำให้อัมชะมีความเหมาะสมในการถูกทำลายจากปฏิกิริยา peroxidation ได้เพิ่มสูงขึ้น จากข้อมูลข้างต้นจะทำให้เห็นได้ว่าการตรวจสอบระดับ MDA ในอัมชานั้น สามารถบ่งชี้ถึงภาวะการเกิด oxidative stress ได้ จากผลการทดลองพบว่าที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ที่ขนาดสูง (500 mg/kg BW) มีการเพิ่ม



ของระดับ MDA สูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาดต่ำ (300 mg/kg BW) ดังนั้นสรุปได้ว่า สารประกอบที่อยู่ภายในหนอนตายหยากอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของระดับ MDA ในอวัยวะ ซึ่งมีการเพิ่มของระดับ MDA ตามขนาดของสารสกัดที่ได้รับ (dose-dependent) ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในพืชชนิด *Erythrina fusca* Lour. ที่มีสารประกอบหลักคือ alkaloid เช่นเดียวกันกับหนอนตายหยาก ที่พบว่ามีการเพิ่มระดับ MDA ในซีรัมและในเนื้อเยื่อสมองเพิ่มขึ้น รวมถึงตรวจพบความเสียหายของเนื้อเยื่อสมองอีกด้วย (Debnath *et al.*, 2010) ดังนั้นหากได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากที่ขนาดสูงและได้รับเป็นระยะเวลานาน สาร alkaloid ปริมาณสูงในสารสกัดอาจส่งผลกระทบต่ออวัยวะสืบพันธุ์ จากการเปลี่ยนแปลงระดับ MDA และอาจสามารถตรวจสอบยืนยันได้จากการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อร่วมด้วย

5.4 ผลต่อลักษณะทางเนื้อเยื่อของอวัยวะและต่ออวัยวะสืบพันธุ์

การตรวจสอบลักษณะทางเนื้อเยื่อรวมถึงน้ำหนักของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์สามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ถึงความเป็นพิษของสารที่ใช้ทดสอบได้ ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจสอบผลทางเนื้อเยื่อของ testes, seminal vesicle, prostate gland และ epididymis จากการได้รับสารสกัดหนอนตายหยาก *Stemona* sp. และ *S. aphylla* ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW ตรวจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่ออวัยวะ จากการเกิดแควิวโอล (vacuolation) แทรกอยู่ภายในชั้น epithelium ของท่อ seminal vesicle ทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย รวมถึงตรวจพบในเนื้อเยื่อ seminal vesicle เฉพาะในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยาก *Stemona* sp. ที่ขนาด 500 mg/kg BW เท่านั้น แต่การตรวจสอบในเนื้อเยื่อ epididymis และ prostate gland ไม่พบการเปลี่ยนแปลงหลังจากได้รับสารสกัดจากหนอนตายหยากทั้งสองชนิด

โดยลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้น ถือเป็นหนึ่งในการตอบสนองจากสิ่งสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อทั้งการทำงานและรูปร่างของเซลล์ การเกิดแควิวโอลสามารถนำไปสู่การตายเซลล์ได้ในที่สุด จากการตรวจพบแควิวโอลใน seminiferous tubules หลังจากได้รับสารสกัดหนอนตายหยากทั้ง 2 ชนิด อาจเกิดมาจากการผิดปกติของ sertoli cell ส่วนใหญ่ การเกิดแควิวโอลภายใน sertoli cell เป็นการตอบสนองทางรูปร่างต่อสารพิษหรือสารเคมีของเซลล์ อาจแควิวโอลที่มีขนาดใหญ่หรือมีการเกิดกระจายอยู่ในบางบริเวณของเนื้อเยื่อ ซึ่งการเกิดแควิวโอลของ sertoli cell นั้น คล้ายคลึงกับการได้รับสารกำจัดแมลงหลายชนิด ได้แก่ 2,5-hexanedione (Chapin *et al.*, 1983), cyclohexylamine (Creasy *et al.*, 1990), 1,3-dinitrobenzene (Blackburn *et al.*, 1988), tri-ocresyl phosphate (Somkuti *et al.*, 1991), and phthalate esters (Creasy *et al.*, 1987) ผลต่อเนื่องหลังจากการเกิดแควิวโอล ทำให้ตรวจพบการบวมของเซลล์ เซลล์สืบพันธุ์เสียสภาพ พบการเรียงตัวอย่าง

ไม่เป็นระเบียบ รวมถึงพบการหลุดออกของเซลล์สืบพันธุ์ ความเสียหายที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลจากการเสียหายของ Sertoli cell ที่มีส่วนเกี่ยวข้องสำคัญต่อกระบวนการสร้างอสุจิ ถึงแม้ว่าจะไม่มีการตรวจพบการตายของเซลล์ แต่กระบวนการ metabolism และกลไกการทำงานของ Sertoli cell อาจถูกรบกวนได้ง่ายและส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์สืบพันธุ์ หากมีการเสียหายของเนื้อเยื่ออย่างรุนแรงหรือมีระยะเวลานาน อาจเป็นไปได้ว่าการทำงานของ Sertoli cell ถูกทำลายอย่างถาวร และกระบวนการสร้างอสุจิไม่สามารถคืนสภาพได้หรือทำงานได้ไม่สมบูรณ์ (Dianne, 2001)

ลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่ตรวจพบใน testes จากการทดสอบสารสกัดจากหนอนตายหายากที่อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของอวัยวะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการสร้างอสุจิภายใน seminiferous tubules ให้ผลคล้ายคลึงกับการเสียหายของ sertoli cell และพบอสุจิที่ไม่เจริญเต็มที่ภายในท่อ seminiferous tubules หลังจากการได้รับสารกำจัดแมลง pirimiphos-methyl ในกลุ่ม organophosphate ส่งผลทำให้ความหนาแน่นและการเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Ngoula *et al.*, 2007) และการได้รับสาร fluoride (Wah *et al.*, 2006)

นอกจากการตรวจสอบความเสียหายของเนื้อเยื่ออวัยวะที่มีผลกระทบต่อความหนาแน่นของอสุจิแล้ว การตรวจวัดระดับของฮอร์โมนที่สำคัญในเพศชายสามารถใช้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์กับคุณภาพอสุจิ ซึ่งกระบวนการสร้างอสุจิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขึ้นอยู่กับการผลิตฮอร์โมน testosterone จาก Leydig cell ที่ตอบสนองจากการกระตุ้นของฮอร์โมน FSH และ LH โดย FSH จะเข้าจับกับ Sertoli cells กระตุ้นให้มีการหลั่ง testosterone และ LH กระตุ้นการสร้าง testosterone ของ Leydig cell ใน testes (Kackar *et al.*, 1997) ซึ่งการลดลงของระดับฮอร์โมน testosterone, FSH และ LH ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ จำนวนและรูปร่างของอสุจิ จากการได้รับสารกำจัดแมลง Chlorpyrifos Methyl, Diazinon และ Profenofos ซึ่งเป็นสารเคมีในการกำจัดแมลงในกลุ่ม organophosphorus (Zidan, 2009) ถึงแม้ว่าในการวิจัยครั้งนี้ไม่มีการตรวจสอบถึงการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนที่สำคัญในเพศผู้ แต่จากผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ testes จากการเกิดแควิวโอลภายในท่อ seminiferous tubules และการลดลงของค่าความหนาแน่นอสุจิ อาจเป็นไปได้ว่าสาร alkaloid ที่เป็นสารสำคัญที่ในสารสกัดจากหนอนตายหายากนั้น อาจมีผลรบกวนการทำงานของฮอร์โมนผ่านทาง hypothalamo-pituitary-gonadal axis (Sarkar *et al.*, 2000; Gore, 2001)

จากผลการตรวจสอบตัวชี้วัดทั้งหมดที่ใช้ในการประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากหนอนตายหายากต่อระบบสืบพันธุ์หนูขาวเพศผู้ นั้น สารสกัดจากหนอนตายหายากชนิด *Stemona* sp. มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้น้อยกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหายากชนิด *S. aphylla* โดยเฉพาะที่ขนาด 500 mg/kg BW จากการตรวจวัดค่าความหนาแน่นของอสุจิ ระดับ

MDA ของอัมชะ และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเนื้อเยื่อ ซึ่งพบว่าในกลุ่มนี้มีค่าความหนาแน่นของอสุจิน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง สัมพันธ์กับการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อของ epididymis ที่มีความหนาแน่นของอสุจิบริเวณกลางท่อค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การลดลงดังกล่าวอาจเกี่ยวเนื่องกับการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับ MDA ในอัมชะแสดงให้เห็นถึงการเกิด oxidative stress ขึ้นในเนื้อเยื่ออัมชะ ซึ่งขบวนการดังกล่าวนี้จะทำให้ขบวนการขนส่งสารของเซลล์เกิดความผิดปกติ จนนำไปสู่การเกิดแควิโอลในเนื้อเยื่ออัมชะได้ (Oguz and Kus, 2008) สอดคล้องกันกับการศึกษาผลของยา cyclophosphamide ต่อคุณภาพของอสุจิและลักษณะทางเนื้อเยื่อของอัมชะหนูขาว ผลของยาชนิดนี้มีผลต่อจำนวนและรูปร่างของอสุจิ และทำให้ระดับ MDA ในอัมชะเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้จากการตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่ออัมชะ ตรวจพบการเสียหายของท่อ seminiferous tubules พบการตายแบบ necrosis ของเซลล์ อสุจิในอยู่ภายในท่อไม่สามารถเจริญได้เต็มที่ พบการคั่งของเลือด การเกิดแควิโอล ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางท่อ seminiferous tubule ลดลง และพบการฝ่อของเนื้อเยื่ออัมชะ (Ceribasi *et al.*, 2010) โดยการเกิดแควิโอลของ sertoli cell อาจเป็นหนึ่งในการตอบสนองของเซลล์ที่กล่าวมาข้างต้น อาจสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ในอัมชะ ที่อาจไปรบกวนการทำงานของเซลล์จากภาวะ oxidative stress ดังนั้นหากได้รับสารสัคคินหรือสารเคมีในระยะยาว อาจส่งผลกระทบทำให้เซลล์เสียหายและเกิดการตายได้

สารประกอบที่อยู่ภายในสารสัคคินจากหนอนตายหยาก อาจส่งผลทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยการชักนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation มีผลต่อทั้งลักษณะทางโครงสร้างและหน้าที่ของอัมชะ จากการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ ROS ที่สามารถชักนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ทำให้ประสิทธิภาพในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระในร่างกายลดลง ส่งผลทำให้สารชีวโมเลกุลต่างๆ (ไขมัน, โปรตีน และ DNA) ในร่างกายถูกทำลาย และจากการเสียหายของสารชีวโมเลกุลจำพวกไขมัน ทำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำลายชั้นผนังเซลล์และการแลกเปลี่ยนประจุภายในเซลล์ส่งผลทำให้เซลล์เสียหายและมีสารอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นโดยผลลัพธ์สุดท้ายเซลล์จะถูกทำลายและเสียหายในที่สุด และอาจเป็นไปได้ว่าสารสัคคินจากหนอนตายหยากอาจส่งผลกระทบต่อระบบต่อมไร้ท่อและยังส่งผลต่อการป้องกันสารอนุมูลอิสระในเซลล์อีกด้วย ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตอสุจิลดลง นำไปสู่ภาวะความไม่สมบูรณ์ในเพศชายได้

การตรวจสอบความเป็นพิษของหนอนตายหยากแต่ละชนิดต่อระบบสืบพันธุ์นั้น มีความจำเป็นอย่างยิ่งก่อนที่จะมีประยุกต์ใช้ในชีวิตจริง เพราะมนุษย์มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ หากสารสัคคินจากพืชที่ใช้ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ไม่ว่าจะเป็นคุณภาพอสุจิหรือลักษณะทางเนื้อเยื่อของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ อาจส่งผลกระทบต่อการปฏิสนธิได้ ดังนั้นจึงมีการตรวจสอบ

ถึงความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชต่อระบบต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต เพื่อเป็นเครื่องยืนยันถึงความปลอดภัยของสารสกัด ดังนั้นในการเลือกใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากเพื่อเป็นพืชทางเลือกทดแทนการใช้สารเคมีฆ่าแมลง จึงควรมีการตรวจสอบถึงความเป็นพิษเช่นเดียวกัน จากการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดหนอนตายหยาก *S. aphylla* โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ขนาด 500 mg/kg BW น้ำหนักตัว ส่งผลต่อน้ำหนักอวัยวะและต่อมช่วยสืบพันธุ์ ความหนาแน่นของอสุจิ ระดับของ MDA ในอวัยวะมากที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยแนะนำให้สารสกัดจากหนอนตายหยาก *Stemoma* sp. มีความปลอดภัยต่อระบบสืบพันธุ์มากกว่า *S. aphylla* อย่างไรก็ตามหากมีการใช้สารสกัดที่ขนาดต่ำกว่าการทดลองนี้อาจมีความปลอดภัยต่อตัวเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภคมากขึ้น

อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดจากหนอนตายหยากในการวิจัยครั้งนี้กับสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* ซึ่งเป็นชนิดที่นิยมนำมาใช้ในการกำจัดแมลงอีกชนิดหนึ่ง โดยความเป็นพิษของสารสกัดจากหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* จากการศึกษาโดยอภิฤทธ์ (2551) ที่ป้อนสารสกัดให้แก่หนูขาวที่ขนาด 10 และ 50 mg/kg BW ส่งผลทำให้น้ำหนักของ seminal vesicle ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมทางเพศ ความหนาแน่นของอสุจิและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubules ซึ่งขนาดของหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* ที่ใช้ป้อนแก่หนูขาวนั้นมีขนาดต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของสารสกัดจากหนอนตายหยากที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าหากมีการให้สารสกัดหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* ที่ขนาดสูงขึ้น และเพิ่มระยะเวลาในการรับสารสกัด อาจส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ที่รุนแรงมากกว่าสารสกัดจากหนอนตายหยาก *Stemona* sp. และ *S. aphylla* แต่ถึงอย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการยืนยันที่ชัดเจนถึงผลกระทบของสารสกัดจากหนอนตายหยาก จึงควรมีการวิจัยเพิ่มเติมถึงผลกระทบของสารสกัดหนอนตายหยากต่อระดับฮอร์โมนเพศของหนูและสารชีวเคมีอื่นๆ ในร่างกายที่ใช้บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพหรือผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ต่อไป