



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

ปริญญา

ชีววิทยา

สัตววิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพแบบเฉียบพลันของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบ
หญ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. โดยการกิน

Acute Histopathology Changes on Rat Oral Administrated with Crude Extract of
Purple Fleabane *Vernonia cinerea* Less.

นามผู้วิจัย นางสาวศจี วรามิตร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์กัณทิมาณี ประเดิมวงศ์, วท.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์กรรณิกา ชัชวาลวานิช, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์มณจันทร์ เมฆธน, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพแบบเฉียบพลันของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบหญ้าดอกขาว

Vernonia cinerea Less. โดยการกิน

Acute Histopathology Changes on Rat Oral Administrated with Crude Extract of
Purple Fleabane *Vernonia cinerea* Less.

โดย

นางสาวศจี วรามิตร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศจี วรามิตร 2556: การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพแบบเฉียบพลันของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบ
ของหัวดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. โดยการกิน ปริญญุทวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา) สาขา
ชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์
กันทิมาณี ประเดิมวงศ์, วท.ค. 142 หน้า

หัวดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. เป็นสมุนไพรที่นำมาใช้ช่วยยอคนูหรี จึงได้ทดสอบผลเฉียบพลัน
ของสารสกัดหัวดอกขาวด้วยน้ำความเข้มข้น 20, 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมใน
หนูขาวทั้ง 2 เพศที่กินสารสกัดติดต่อกันนาน 7 วัน พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต
และค่าโลหิตวิทยา แต่ที่ 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้หนูมีความกระตือรือร้นมาก
ขึ้น การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพบที่ตับที่ทุกความเข้มข้น ยกเว้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี
vesicular body ในเซลล์ central vein ร่วมกับการเสื่อมแบบมีแผลวโอลที่เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้น ในไต
พบ Bowman's capsule สลาย โดยเซลล์ตายแบบ necrosis แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ความ
เข้มข้น 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมตามลำดับ เซลล์ proximal และ distal tubule ตาย
รุนแรงมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นด้วย ที่ม้ามพบ giant cell ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การได้รับสารพิษมีจำนวนเพิ่มขึ้น
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื้อเยื่อกระเพาะ
อาหารที่ทุกความเข้มข้น มี mucous cell และ epithelial cell ลอกหลุดออกมาใน lumen การตายของเซลล์รุนแรง
ลึกลงไปถึง gastric gland เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1
กิโลกรัม สามารถเพิ่มจำนวน spermatogenic cell ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น
สูงขึ้นมีผลเป็นพิษต่อ spermatogenic cell อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับที่รังไข่พบว่าทุก
ความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มจำนวน primordial follicle และ unilaminar primary follicle ในขณะที่ mature
follicle มีแนวโน้มลดลง แต่จำนวน corpus luteum ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงถึงการยับยั้งพัฒนาการ
ของ primordial follicle จากการทดลองในครั้งนี้ความเข้มข้นสารสกัดน้อยที่สุดที่หนูทดลองเกิดการระคายเคือง
ที่กระเพาะอาหาร คือ 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ดังนั้นเมื่อปรับใช้ในคนควรมีความเข้มข้นน้อยกว่า
3.24 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม หรือประมาณ 0.32 กรัมวัตถุบแห้ง แต่อย่างไรก็ตามอาจนำความ
เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มาปรับใช้ให้เหมาะสมในการเพิ่มการสร้างอสุจิได้

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Sajee Waramit 2013: Acute Histopathology Changes on Rat Oral Administrated with Crude Extract of Purple Fleabane *Vernonia cinerea* Less. Master of Science (Biology), Major Field: Biology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Assistant Professor Kantimanee Pradermwong, Ph.D. 142 pages.

Vernonia cinerea Less. (VC) is a medicinal plant having various applications including smoking cessation. Toxicity test of VC aqueous extract was not clearly shown. Acute toxicity test of VC extract was carried out on both sexes of albino rats by orally given 20, 100, 500 and 2,500 mg/kg/bw for 7 consecutive days. A control group was received only distilled water comparable to the experiment animals. From this study, every concentration did not cause any changes on body weight and blood parameters but rats received 500 and 2,500 mg/kg showed hyper activity. Histological studies showed vesicular bodies and vacuolar degeneration of hepatocytes surround each central vein including focal necrotic areas with inflammatory cell infiltration except 20 mg/kg treated rats. Bowman's capsule degeneration with necrosis was significantly observed ($P < 0.05$) in rat treated with VC 100 and 2500 mg/kg, necrosis of proximal and distal tubule lining was also noticed. In spleen, increasing in numbers of the giant cells, which indicated the toxicity, was significantly noticed ($P < 0.05$) in 500 and 2,500 mg/kg. Mucous cells and epithelial lining of the stomach were found sloughing off into the lumen with necrosis of mucous neck cells and parietal cells. This extract showed dose dependent except in reproductive organs. In testis, significant increase ($P < 0.05$) in the number of spermatogenic cells was observed only in 100 mg/kg VC treated rats while the greater concentrations revealed opposite result. The result suggests that VC 100 mg/kg promotes spermatogenesis. In ovary, all concentrations of VC were inclined to increase the number of primordial and unilaminar primary follicles whereas the number of mature follicles decreased. However, it did not affect the number of corpus luteum. From this present study, the results suggest that the lowest-observed-adverse-effect level (LOAEL) of VC aqueous extract is 20 mg/kg. So the recommend concentration used in human is less than 3.24 mg/kg which equals to 0.32 g dry weight of whole plant. Anyhow, 100 mg/kg of VC may probably be a spermatogenic inducer in human when adjusts to the appropriate concentration.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.กันทิมาณี ประเดิมวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ให้คำแนะนำเอาใจใส่ในการแก้ไขปัญหาระหว่างการทำวิทยานิพนธ์อย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ.กรรณิกา ชัชวาลวานิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ฤทธิ์ วัฒนชัยยิ่งเจริญ ที่ให้คำแนะนำจนทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และให้ความอนุเคราะห์สารสกัดหญ้าดอกขาวตลอดระยะเวลาทำวิจัย ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุรพล อาจสูงเนิน ที่ให้คำแนะนำและช่วยตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ โครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) สำหรับการสนับสนุนด้านเงินทุนวิจัย

ขอขอบพระคุณ อ.ตุลารัฐ ทุมมากรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและร่วมแก้ไขปัญหาต่างๆระหว่างการทำวิจัย และขอขอบคุณ คุณอุษา สุวรรณสรวล สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขอขอบคุณ คุณกมลพร มาแสวง, คุณเกสินี สุทธิชาติ และคุณกัญชลิ จงรักวิทย์ สำหรับความช่วยเหลือทางด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการให้คำปรึกษาด้านเทคนิคการวิจัยและให้ข้อมูลในด้านต่าง ๆ

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องในครอบครัวทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นที่ปรึกษาและให้กำลังใจเสมอมา

ศศิ วรามิตร

เมษายน 2556

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	32
ผลการทดลอง	40
วิจารณ์ผลการทดลอง	82
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	96
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	99
ภาคผนวก	115
ภาคผนวก ก ข้อมูลจากการทำวิจัย	116
ภาคผนวก ข การเตรียมน้ำยาคงสภาพและสีย้อม	135
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	142

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารเคมีที่พบในสารสกัดหญาดอกขาวจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน	6
2	น้ำหนักของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่เวลา 0, 7 และ 14 วัน และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	40
3	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและความเข้มข้นของฮีโมโกลบินของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาว	42
4	จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิดของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาว	42
5	น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัม หลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาว	44
6	การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	46
7	การเปลี่ยนแปลงของ glomerulus ที่พบในหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	52
8	จำนวน giant cell ที่พบในม้ามของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	59
9	จำนวน spermatogenic cell ปกติและตายแบบ necrosis ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	72
10	เปอร์เซ็นต์ follicle ระยะต่างๆและ corpus luteum ที่พบในรังไข่ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	77

ตารางผนวกที่

ก1	น้ำหนักของหนูทดลองที่เวลา 0, 7 และ 14 วัน และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	117
ก2	ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินของหนูทดลอง	119

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก3	จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิดของหนูเพศผู้และเพศเมีย	121
ก4	น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัม	123
ก5	การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่พบในหนูขาวที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	125
ก6	การเปลี่ยนแปลงของ glomerulus ที่พบในหนูที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	127
ก7	จำนวน giant cell ที่พบในม้ามของหนูทดลอง	129
ก8	จำนวน spermatogenic cell และ spermatogenic cell ที่เกิด necrosis ของหนู ที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	131
ก9	เปอร์เซ็นต์ follicle ระยะต่างๆและ corpus luteum ที่พบในรังไข่	133
ข1	การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนทางพยาธิเทคนิค	136

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 เนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มควบคุม	48
2 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	48
3 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	48
4 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	50
5 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	50
6 เนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มควบคุม	54
7 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	54
8 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	56
9 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	58
10 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	58
11 เนื้อเยื่อ้ามของหนูกลุ่มควบคุม	62
12 เนื้อเยื่อ้ามของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	62
13 เนื้อเยื่อดอมไทมัสของหนูกลุ่มควบคุม	62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14 เนื้อเยื่อต่อมไทมัสของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	62
15 เนื้อเยื่อปอดของหนูกลุ่มควบคุม	64
16 เนื้อเยื่อปอดของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	64
17 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูกลุ่มควบคุม	67
18 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	67
19 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	67
20 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	69
21 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	69
22 seminiferous tubule ของหนูกลุ่มควบคุม	74
23 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	74
24 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	74
25 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	74
26 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
27 follicle ระยะต่างๆของหนูลดลง	79
28 เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูกลุ่มควบคุม	81
29 รังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	81
30 รังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	81
31 รังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม	81

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพแบบเฉียบพลันของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบ
 หนุ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. โดยการกิน

**Acute Histopathology Changes on Rat Oral Administrated with Crude Extract
 of Purple Fleabane *Vernonia cinerea* Less.**

คำนำ

มนุษย์ได้รู้จักนำเอาพืชสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคเป็นเวลานานแล้ว โดยเฉพาะประเทศที่อยู่ในเขตเส้นศูนย์สูตรที่มีพืชสมุนไพรค่อนข้างหลากหลาย ดังเช่นประเทศไทย และในปัจจุบันก็มีการนำพืชสมุนไพรมาใช้อย่างกว้างขวาง อีกทั้งยังมีการศึกษาวิจัยทางด้านคุณสมบัติตลอดจนความเป็นพิษ เพื่อจะได้ยารักษาโรคที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการรักษา

หนุ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* Less อยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นพืชสมุนไพรที่แพร่กระจายอยู่ในแถบเมืองร้อน โดยเฉพาะแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Rastogi and Mehrotra, 1991) พืชชนิดนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคแบบแผนโบราณและในปัจจุบันก็มีการประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคแบบแผนปัจจุบันกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น (นริศรา, 2541; ภาควิชาเภสัชศาสตร์, 2543) ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย (Gupta *et al.*, 2003a) ต้านมาลาเรีย (Chea *et al.*, 2006) ลดอาการอักเสบ (Mazumder *et al.*, 2003) ลดไข้ (Gupta *et al.*, 2003b) รวมทั้งยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ (Kuo *et al.*, 2003) และที่สำคัญในปัจจุบันมีการนำหนุ้าดอกขาวมาใช้เป็นสมุนไพรช่วยในการลดน้ำหนักกันอย่างแพร่หลาย (ปรีดา, 2549)

เนื่องจากประโยชน์ในการรักษาโรคของหนุ้าดอกขาวมีมากมาย แต่การนำมาใช้รักษาโรคในมนุษย์นั้น จำเป็นจะต้องมีการศึกษาวิจัยและค้นคว้าอย่างละเอียดถึงความเป็นไปได้ในการเกิดพิษต่อมนุษย์ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง เพื่อให้เกิดความปลอดภัยมากที่สุดต่อผู้ใช้ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดน้ำของหนุ้าดอกขาวต่อหนู

ขาว ซึ่งผลการศึกษาจะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับหญ้าดอกขาวในด้านอื่น ๆ และเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรชนิดนี้ได้อย่างปลอดภัย รวมทั้งเป็นข้อมูลพื้นฐานในอุตสาหกรรมอาหารและยา เพื่อลดความสูญเสียและผลกระทบต่างๆ ที่อาจจะเกิดตามมา ภายหลังจากการใช้สมุนไพรชนิดนี้



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของสารสกัดเห็ดดอกขาวต่อการเจริญเติบโตของหนูขาว
2. ศึกษาผลของสารสกัดเห็ดดอกขาวต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของหนูขาว
3. ศึกษาผลของสารสกัดเห็ดดอกขาวต่อระบบเลือดของหนูขาว
4. ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเห็ดดอกขาวต่อ ตับ ไต ม้าม ต่อมไทมัส ปอด กระเพาะอาหาร อวัยวะและรังไข่ของหนูขาว

การตรวจเอกสาร

หญ้าดอกขาว

1. ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

หญ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. หรือ *Cyanthilium cinereum* Less. H. Rob. (Guha *et al.*, 2011) อยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นพืชสมุนไพรที่แพร่กระจายอยู่ในแถบเมืองร้อนโดยเฉพาะแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชื่อสามัญ คือ Purple Fleabane (วิทช์, 2531) Little Ironweed หรือ Sahdevi (Rastogi and Mehrotra, 1991) ในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาคและมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละสถานที่ ได้แก่ หญ้าละออง หมอน้อย หญ้าสามวัน ถั่วสะเดิน เสือสามขา หนาดนา ขางหางจ้าว เขียวหังเช่า ฝรั่งเศส ก้านรูป (วิทช์, 2531; วงศ์สถิตย์ และคณะ, 2539)

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

หญ้าดอกขาวเป็นไม้ล้มลุก สูง 20-50 เซนติเมตร ลำต้นตรง แตกกิ่งก้านเล็กน้อยและมีขนอ่อนปกคลุม ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับกัน รูปไข่ รูปวงรีแคบ รูปใบหอกหรือรูปแถบ ใบบริเวณโคนต้นมีขนาดใหญ่กว่าใบที่ปลายยอด ใบที่โคนต้นกว้าง 1.5-3.5 เซนติเมตร ยาว 3-8.5 เซนติเมตร ใบที่บริเวณปลายยอดกว้าง 0.3-1.5 เซนติเมตร ยาว 1-7 เซนติเมตร ปลายใบมนหรือแหลม โคนใบมนหรือแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อย ดอกออกเป็นช่อหรือเป็นกระจุกแน่นที่ปลายกิ่ง แยกเป็นแขนงรูปคล้ายช่อเชิงหลั่น กว้าง 5-15 เซนติเมตร ยาว 5-35 เซนติเมตร ช่อบีประดับรูปคล้ายระฆัง 4 ชั้น ดอกย่อยมีประมาณ 20 ดอก สีม่วงแล้วค่อยๆ จางลง ลักษณะของดอกคล้ายดอกดาวเรือง ผลมีขนที่ข้อเป็นสีขาว ข้างในผลมีเมล็ดเดี่ยวรูปทรงกระบอกแคบ สีนํ้าตาลเข้ม ยาว 1.5-2 มิลลิเมตร หนาน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร เปลือกแข็งและแห้ง ไม่แตก มีสัน 4-5 สัน (วิทช์, 2531; วงศ์สถิตย์ และคณะ, 2539; สมสุข, 2542)

3. การใช้ประโยชน์ทางแพทย์พื้นบ้าน

หญ้าดอกขาวถูกนำมาใช้ทางการแพทย์พื้นบ้านในการรักษาโรคต่างๆ มาเป็นเวลานาน ส่วนที่ใช้แตกต่างกันไปในแต่ละโรคและแต่ละพื้นที่ สรรพคุณของหญ้าดอกขาว ได้แก่

ราก	มีสรรพคุณ แก้บวม น้ำ ขับพยาธิ ขับปัสสาวะ แก้ชางตะกั่ว แก้ท้องผูก
ลำต้น	มีสรรพคุณ แก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้นมคัด แก้บวม ดูดหนอง
ใบ	มีสรรพคุณ พอกแผล ถอนพิษ แก้อักเสบ ลดบวม แก้ตาแดง ตาแฉะ ตาฟาง แก้หิด แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ รักษาสะเก็ดเงิน แก้บิด แก้กลากเกลื้อน รักษาหลอดลมอักเสบ แก้ไข้ แก้ระดูขาว รักษาผื่นเรื้อรัง
ดอก	มีสรรพคุณ แก้เยื่อตาอักเสบ แก้ไข้ รักษาโรคข้อรูมาตอยด์
เมล็ด	มีสรรพคุณ ขับพยาธิ บำรุงธาตุ แก้ปวดท้อง ท้องอืด แก้ปัสสาวะขัด แก้ไอ รักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ แก้โรคผิวหนังเรื้อรัง แก้พิษ
ส่วนเหนือดิน	มีสรรพคุณ ลดความดันโลหิต รักษาข้ออักเสบ รักษาตับอักเสบ รักษาโรคหอบ แก้ไข้ รักษาปอดอักเสบ
ทั้งต้น	มีสรรพคุณ แก้ไข้ รักษาตับอักเสบ ลดความดันโลหิต รักษาโรคหอบ แก้ท้องเสีย รักษาแผลบวมอักเสบ มีหนอง ช่วยให้ออกง่ายขึ้น ทำให้ไม่ยาก
ไม่ระบุส่วน	มีสรรพคุณ รักษาโรคห่อนสมรรถภาพทางเพศในผู้ชาย

(นริศรา, 2541; ภาควิชาเภสัชศาสตร์, 2543; Husian *et al.*, 1992)

4. องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากหญ้าดอกขาว

สารสกัดหญ้าดอกขาวประกอบด้วยสารเคมีที่สำคัญหลายชนิด แตกต่างกันไปตามตัวทำละลายที่ใช้สกัด สารเคมีที่ค้นพบแล้วแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารเคมีที่พบในสารสกัดหยาบดอกขาวจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน

ตัวทำละลาย	สารที่พบ	เอกสารอ้างอิง
Benzene	flavonoids, tannins, terpenoids	Gupta <i>et al.</i> , 2003a
Chloroform	flavonoids, tannins	Gupta <i>et al.</i> , 2003a
	alkaloids, saponins, steroids	Iwalewa <i>et al.</i> , 2003
Dichloromethane	vernolide C, vernolide D, piptocarphin D, 8 α -tigloyloxy-hirsutinolide, 8 α -tigloyloxy-hirsutinolide-13-O-acetate, hirsutinolide-13-O-acetate	Chea <i>et al.</i> , 2006
Ethanol	alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, tannins vernolide A, vernolide B vernocinolide A , vernolide D, 8 α -tigloyloxy-hirsutinolide, 8 α -tigloyloxy-hirsutinolide-13-O-acetate, 8 α -[2-methylacryloyloxy]-hirsutinolide, 8 α -[2-methylacryloyloxy]-hirsutinolide-13-O- acetate	Latha <i>et al.</i> , 1998 Kuo <i>et al.</i> , 2003 Chen <i>et al.</i> , 2006
Hexane	8 α -hydroxyhirsutinolide, 8 α -hydroxyl-1-O- methylhirsutinolide, 8 α -tigloyloxyhirsutinolide, 8 α -tigloyloxyhirsutinolide-13-O-acetate, 8 α - (2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-O- acetate, 8 α -(2-methylacryloyloxy)-1 α - methoxyhirsutinolide-13-O-acetate, vernolide-B, hirsutinolide-13-Oacetate, vernolide-A	Youn <i>et al.</i> , 2012

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	สารที่พบ	เอกสารอ้างอิง
Methanol	apigenin, apigenin-7-O-glucoside, luteolin, luteolin-7-O-glucoside flavonoids, tannins phenylpropanoids, triterpenoids terpenoids steroids β -sitosterol, lupeol stigmasterol, 12-oleanen-3-ol-3 β -acetate	Ku <i>et al.</i> , 2002 Gupta <i>et al.</i> , 2003a Gupta <i>et al.</i> , 2003b Iwalewa <i>et al.</i> , 2003 Mazumder <i>et al.</i> , 2003 Shah <i>et al.</i> , 2010 Haque <i>et al.</i> , 2012
Petrol	26-methylheptacosanoic acid, sitosterol, stigmasterol, stigmast-5,17(20)-dien-3 β -ol	Misra <i>et al.</i> , 1984c
Petroleum ether	α -amyrin, α -amyrin acetate, β -amyrin, β -amyrin acetat, δ -amyrin acetate, 3 β -acetoxyurs-13(18)-ene 24-hydroxytaraxer-14-ene flavonoids, tannins, terpenoids alkaloids, saponins, steroids	Misra <i>et al.</i> , 1984a Misra <i>et al.</i> , 1984b Gupta <i>et al.</i> , 2003a Iwalewa <i>et al.</i> , 2003
น้ำ	flavonoids, saponins, tannins, mucilage	Sangeetha <i>et al.</i> , 2011
ไม่กล่าวถึง	luteolin-4-O-glucoside, chlorogenic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, 4,5-dicaffeoylquinic acid, methyl caffeate	Abeysekera <i>et al.</i> , 1999

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สารสกัด	สารที่พบ	เอกสารอ้างอิง
ไม้กวาดถึง (ต่อ)	luteolin-7-O-glucoside, luteolin-7-O-galactoglucoside, luteolin-7-O-glucoglucoside, quercetin-3-O-glucoside, quercetin-3-O-rhamnoglucoside, quercetin-7-O-glucoside 3-O-rhamnoside	Mabry <i>et al.</i> , 1975
	(+)-lirioresinol B, stigmasterol-3-O- β -D-glucoside, 4-sulfo-benzocyclobutene	Zhu <i>et al.</i> , 2008
	(-)-clovane-2,9-diol, caryolane-1,9 β -diol, chrysoeriol, hyperin, lupeol acetate, quercetin, thermopsoside	Zhu <i>et al.</i> , 2009

5. การใช้ประโยชน์ที่เกี่ยวข้องกับการอดบุหรี่

โรงพยาบาลอุ้มทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของหญ้าดอกขาวในการเลิกบุหรี่ โดยเปรียบเทียบผลการลดสูบบุหรี่ของประชาชนในเขตอำเภออุ้มทอง ใช้หญ้าดอกขาวและยาหลอก คือ ใบเตยหอมและเก็กฮวย พบว่าหญ้าดอกขาวสามารถลดการสูบบุหรี่ได้ (นริศรา, 2541)

ศักดิ์วิชา และ มนัชยา (2539) ศึกษารูปแบบการบำบัดผู้ติดบุหรี่ด้วยการใช้หญ้าดอกขาว และธรรมชาติบำบัดที่โรงพยาบาลเทิง จังหวัดเชียงราย กับอาสาสมัคร 62 คน ใช้สมุนไพรหญ้าดอกขาวในรูปชาชงซองละ 4 กรัม แต่ละซองมีปริมาณหญ้าดอกขาว 2.86 กรัม ชงครั้งละ 1 ซองต่อน้ำ 1 แก้ว ดื่มวันละ 3 ครั้งหลังอาหารติดต่อกันนาน 15 วัน เมื่อติดตามผลครบ 4 เดือนพบว่า มีผู้เลิกสูบบุหรี่ได้ 43 คน คิดเป็น 69.35 เปอร์เซ็นต์ เหตุผลสำคัญในการเลิกสูบบุหรี่ คือ ชาดื่ม กินอาหารไม่อร่อย และไม่อยากสูบบุหรี่ อาสาสมัคร 39 ราย มีอาการคลื่นไส้เล็กน้อย เหม็นกลิ่นบุหรี่ สูบแล้วรู้สึกอยากอาเจียน อีก 3 ราย มีอาการไอลดลง ไม่อยากสูบบุหรี่และเหม็นกลิ่นบุหรี่ 1 ราย ส่วน

อาสาสมัครที่ไม่สามารถเลิกสูบบุหรี่ได้มี 19 ราย คิดเป็น 30.65 เปอร์เซ็นต์ ให้เหตุผลว่า คีมีชาหญ้า ดอกขาวแล้วไม่มีอาการใดๆ เหมือนคีม้ำธรรมชาติ

ผศ.ดร.สมฤทัย จิตภักดิ์บัณฑิต อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทดสอบประสิทธิผลของหญ้าดอกขาวในการช่วยเลิกสูบบุหรี่ โดยใช้แบบสอบถามทางการแพทย์ในอาสาสมัครที่ติดบุหรี่ 20 คน ให้คีมีชาแฟผสมหญ้าดอกขาว เลิกบุหรี่วันละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน ติดตามผลโดยให้ทำแบบสอบถามชุดเดิม ผลการทดสอบพบว่าอาสาสมัคร 2 คน เลิกบุหรี่ได้ในเวลา 1 เดือน ขณะที่ 18 คนที่เหลือสูบบุหรี่น้อยลง จากวันละ 1-2 ซอง เหลือต่ำกว่า 4 มวน ซึ่งอาสาสมัครต่างก็รู้สึกพอใจที่สามารถลดการสูบลงได้ โดยไม่ฝืนใจตนเอง (ผู้จัดการออนไลน์, 2551)

Wongwiwatthananukit *et al.* (2009) ศึกษาประสิทธิผลของหญ้าดอกขาวในการช่วยอดบุหรี่เปรียบเทียบกับยาหลอก คือ ชาใบหม่อน ในอาสาสมัคร 64 คน แต่ละคนคีมีชาวันละ 3 ครั้ง หลังอาหาร ติดต่อกันนาน 14 วัน ผลการเลิกบุหรี่ได้จากการรายงานโดยตัวผู้สูบบุหรี่เองและยืนยันผลด้วยการตรวจนิโคตินในปัสสาวะ พบว่าอัตราการเลิกบุหรี่อย่างต่อเนื่อง (Continuous Abstinence Rate; CAR) และอัตราการเลิกบุหรี่ตลอด 1 สัปดาห์ก่อนวันประเมินผล (Point Prevalence Abstinence Rate; PAR) ของกลุ่มที่ได้คีมีชาหญ้าดอกขาวมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มที่ได้คีมีชาใบหม่อน อย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกตลอดระยะเวลาการติดตามผล แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาการไม่พึงประสงค์ที่พบมาก คือ ชาลิ้น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เวียนศีรษะและใจสั่น แต่อัตราการเกิดไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้คีมีชาหญ้าดอกขาวกับกลุ่มที่ได้คีมีชาใบหม่อน ส่วนอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นสาเหตุให้สามารถเลิกสูบบุหรี่ได้ คือ อาการเหม็นกลิ่นบุหรี่ ซึ่งเกิดในกลุ่มที่ได้คีมีชาหญ้าดอกขาวมากกว่ากลุ่มที่ได้คีมีชาใบหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากอัตราการเลิกบุหรี่ของกลุ่มที่ได้คีมีชาหญ้าดอกขาวซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ได้คีมีชาใบหม่อนตลอดระยะเวลาการติดตามผล แสดงให้เห็นว่าหญ้าดอกขาวมีประสิทธิภาพในการช่วยอดบุหรี่และมีความสำคัญทางคลินิกในการนำมาใช้เป็นแนวทางรักษาผู้เสพติดบุหรี่ได้

Leelarungrayub *et al.* (2010) ศึกษาผลของหญ้าดอกขาวต่อการลดน้ำหนักตัวร่วมกับการออกกำลังกายของผู้สูบบุหรี่ 120 คน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ดื่มชาหญ้าดอกขาว กลุ่มที่ดื่มชาหญ้าดอกขาวและออกกำลังกาย และกลุ่มที่ออกกำลังกายเพียงอย่างเดียว โดยอาสาสมัครจะดื่มชาหญ้าดอกขาว 3 วันต่อสัปดาห์ นาน 2 เดือน ส่วนการออกกำลังกายจะเป็นไปตามโปรแกรมที่กำหนด สัปดาห์ละ 3 วัน นาน 2 เดือน เปรียบเทียบอัตราการสูบบุหรี่ในแต่ละวัน พบว่าเมื่อครบ 2 เดือน อาสาสมัครในทุกกลุ่มมีอัตราการสูบบุหรี่ลดลง ยกเว้นกลุ่มควบคุม ผู้ที่ดื่มชาหญ้าดอกขาวมีอาการข้างเคียง คือ รู้สึกเฟื่องและชาที่ลิ้น คลื่นไส้ อาเจียน รวมทั้งปวดศีรษะ อย่างไรก็ตามอาการเหล่านี้หายไปหลังจากสัปดาห์แรกของการทดลอง ทั้งยังพบว่ากลุ่มที่ดื่มชาหญ้าดอกขาวสามารถยับยั้งใจไม่ให้สูบบุหรี่ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าการได้รับหญ้าดอกขาวช่วยลดอัตราการสูบบุหรี่ต่อวันได้แต่ไม่มีผลต่อระดับ beta-endorphin การออกกำลังกายทำให้ผู้สูบบุหรี่มีกิจกรรมอื่นทำ ซึ่งนำไปสู่การลดน้ำหนักได้ ระดับ beta-endorphin เพิ่มขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้ oxidative stress เพิ่มขึ้นด้วย การได้รับหญ้าดอกขาวร่วมกับการออกกำลังกาย ช่วยลดอัตราการสูบบุหรี่ลงได้ ทั้งยังช่วยเพิ่มระดับ beta-endorphin และสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อีกด้วย

6.ฤทธิ์ทางชีวภาพ

6.1 ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

สารสกัดหญ้าดอกขาวสามารถยับยั้ง oxidative burst ของ activated polymorphonuclear leucocyte ได้ โดยเฉพาะ luteolin, luteolin 7-O-glucoside, chlorogenic acid และ 3,5-dicaffeoylquinic acid ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 9, 10, 13 และ 13 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (Abeysekera *et al.*, 1999) สารสกัดของหญ้าดอกขาวด้วย methanol 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีฤทธิ์ด้านการอักเสบแบบเฉียบพลันที่เกิดจากการได้รับ carrageenin, histamine และ serotonin ได้ 47.9, 51.8 และ 54.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เทียบกับความสามารถของ phenylbutazone ซึ่งมีค่าเท่ากับ 61.1, 64.6 และ 59.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดหญ้าดอกขาวยังสามารถต้านการอักเสบแบบเรื้อรังได้ด้วย โดยสารสกัด methanol ของหญ้าดอกขาว 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมสามารถยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากการผ่าตัดแล้วใส่ cotton pellet

10 มิลลิกรัม เข้าในรังไข่ของหนูขาวได้ 47.9 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ phenylbutazone สามารถยับยั้งได้ 56.3 เปอร์เซ็นต์ (Mazumder *et al.*, 2003) สารสกัด hexane จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 12.5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีฤทธิ์ด้านการอักเสบได้ โดยลดระดับ interleukin-6 ซึ่งเป็น pro-inflammatory cytokine ชนิดหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดนี้ไม่มีผลต่อระดับ TNF- α และ interleukin-10 ซึ่ง interleukin-10 ทำหน้าที่เป็น anti-inflammatory cytokine โดยยับยั้งการปล่อย TNF- α ของแมคโครฟาจ (Laosim *et al.*, 2011) เช่นเดียวกับ Youn *et al.* (2012) ที่พบว่า 8 α -tigloyloxyhirsutinolide-13-O-acetate, 8 α -(2-methylacryloyloxy)-1 α -methoxyhirsutinolide-13-O-acetate, vernolide-B, hirsutinolide-13-Oacetate และ vernolide-A ที่ได้จากสารสกัด hexane ของหญ้าดอกขาวสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.0, 1.5, 1.2, 2.7 และ 2.4 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ แสดงถึงสารเหล่านี้มีฤทธิ์ลดการอักเสบได้

6.2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา

สารสกัดหยาบหญ้าดอกขาวที่สกัดด้วย benzene มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยสารสกัด 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้เทียบเท่ากับการใช้ chloramphenicol (Gupta *et al.*, 2003a) เช่นเดียวกับ Prabhat *et al.* (2008) ที่พบว่าสารสกัดหญ้าดอกขาวด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi* และ *Escherichia coli* ได้ 30, 27.78, 41.18 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ ampicillin ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารสกัดหญ้าดอกขาวด้วยน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*, *Botryodiplodia theobromae* และ *Pestalotiopsis theae* ได้ 23.9, 33.3, 20.3 และ 29.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในเวลา 3 วัน (Iqbal *et al.*, 2001)

6.3 ฤทธิ์ยับยั้งหนอนพยาธิ (helminth)

สารสกัดหญ้าดอกขาวด้วย chloroform และ ethanol ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม มีฤทธิ์ยับยั้งหนอนพยาธิ *Pheretima prosthuma* ได้ โดยสารสกัดด้วย chloroform ใช้เวลา

3.24 และ 61.16 นาที ส่วนสารสกัดด้วย ethanol ใช้เวลา 1.52 และ 50.64 นาที ในการทำให้
หนอนพายุเป็นอัมพาตและตาย ตามลำดับ หลังจากสัมผัสสารสกัด (Ushasri *et al.*, 2012)

6.4ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

8 α -tigloyloxy-hirsutinolide-13-O-acetate, 8 α -(4-hydroxymethacryloyloxy)-
hirsutinolide-13-O-acetate และ vernolide-D เป็นสารสกัดหญาดอกขาวที่สกัดด้วย
dichloromethane มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียได้ โดยมี IC₅₀ ต่อ *Plasmodium falciparum* เท่ากับ 3.9, 3.7
และ 3.5 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ แต่ก็ยังน้อยกว่า chloroquine ที่มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.52 ไมโครโม
ลาร์ (Chea *et al.*, 2006)

6.5ฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง

vernolide-A และ vernolide-B เป็นสารสกัดหญาดอกขาวด้วย ethanol มีฤทธิ์ยับยั้ง
เซลล์มะเร็งได้ โดย vernolide-A มีประสิทธิภาพยับยั้ง tumor cell ได้สูงกว่า vernolide-B โดยมีค่า
ED₅₀ ต่อ KB (oral epidermoid carcinoma), DLD-1 (colon adenocarcinoma), NCI-661 (lung large
cell carcinoma) และ Hela (cervix epithelioid carcinoma) เป็น 0.02, 0.05, 0.53 และ 0.04
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน vernolide-B มีค่า ED₅₀ ต่อ KB, NCI-661 และ Hela เท่ากับ
3.78, 5.88 และ 6.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Kuo *et al.*, 2003) นอกจากนี้ 8 α -
tiogloyloxyhirsutinolide, 8 α -tigloyloxyhirsutinolide-13-O-acetate, 8 α -(2-methylacryloyloxy)-
hirsutinolide-13-O-acetate และ vernolide-A จากสารสกัดหญาดอกขาวด้วย hexane สามารถยับยั้ง
การเพิ่มจำนวนของ stably-transfected human embryonic kidney cell 293 ได้ โดยสารสกัดมีผล
ยับยั้งการทำงานของ TNF- α และ NF-KB มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 3.1, 1.9, 0.6, 5.2 และ 1.6 ไมโครโมลาร์
ตามลำดับ Youn *et al.* (2012)

เมื่อนำสารสกัดหญาดอกขาวที่สกัดด้วย ethanol, chloroform และ petroleum ether มา
ตรวจสอบการยับยั้ง Dalton's Ascitic Lymphoma (DAL) ในหนูทดลอง พบว่าสารสกัดหญาดอก

ขาวทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดจำนวนเซลล์มะเร็งในหนูทดลอง ทำให้หนูทดลองที่เป็นมะเร็งมีชีวิตอยู่ได้นานขึ้น ช่วยเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดงและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน รวมทั้งรักษาจำนวนเกร็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยสารที่สกัดจาก ethanol และ chloroform มีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดจาก petroleum ether (Sangeetha and Venkatarathinakumar, 2011)

6.6ฤทธิ์การลดไข้

สารสกัดหยาบหน้าดอกขาวด้วย methanol สามารถลดไข้ในหนูขาวที่ได้รับยีสต์มานาน 19 ชั่วโมงได้ โดยเริ่มเห็นผลตั้งแต่ 1 ชั่วโมงหลังได้รับสารสกัด และสารสกัดหน้าดอกขาวขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดไข้ได้มากที่สุด อุณหภูมิลดลงเทียบเท่ากับการได้รับพาราเซตามอล 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Gupta *et al.*, 2003b)

6.7ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารสกัดหน้าดอกขาวด้วยน้ำ ความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ได้ดีกว่าสารสกัดหน้าดอกขาวด้วย hexane ที่ความเข้มข้นเดียวกัน และหน้าดอกขาวที่สกัดด้วย chloroform น้ำ hexane และ methanol ความเข้มข้น 25-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถกำจัด 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้ ในขณะที่สารสกัดหน้าดอกขาวด้วย hexane ความเข้มข้น 100-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกำจัด hydrogen peroxide (H_2O_2) ได้ (Guha *et al.*, 2011)

6.8ฤทธิ์ลดระดับกลูโคสในเลือด

Haque *et al.* (2013) ได้ป้อน alloxan monohydrate solution ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมให้หนูทดลอง จนมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อ

เดซิลิตร หลังจากนั้นป้อนหญ้าดอกขาวที่สกัดด้วย methanol ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นสามารถลดระดับกลูโคสในเลือดของหนูทดลองได้ โดยสารสกัดความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถลดระดับกลูโคสของหนูทดลองได้ 35.20 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 3 ชั่วโมง

6.9 ฤทธิ์เป็นยานอนหลับ

หนูทดลองที่ได้รับยานอนหลับ pentobarbital ขนาด 35 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และ ถูกป้อนด้วยสารสกัด ethanol จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นอนหลับนานกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ 31.43 และ 60.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด (Sathyanathan *et al.*, 2012)

7. การศึกษาทางพิษวิทยา

ในระดับเซลล์ มีการศึกษาและพบว่า สารสกัด ethanol จากหญ้าดอกขาว 2 ชนิด คือ vernolide-A และ vernolide-B มีความเป็นพิษต่อ human tumor cell line โดย vernolide-A จะมีประสิทธิภาพยับยั้ง tumor cell ก่อนข้างมาก มีค่า ED_{50} ต่อ KB, DLD-1, NCI-661 และ Hela เป็น 0.02, 0.05, 0.53 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน vernolide-B มีประสิทธิภาพยับยั้ง tumor cell ไม่มากเท่า vernolide-A โดยมีค่า ED_{50} ต่อ KB, NCI-661 และ Hela เท่ากับ 3.78, 5.88 และ 6.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Kuo *et al.*, 2003) สารสกัดหญ้าดอกขาวด้วย hexane ความเข้มข้น 0.19-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลต่อการตายของ human peripheral blood mononuclear cells เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี MTT (Laosim *et al.*, 2011)

ในสัตว์ทดลอง เริ่มมีการรายงานถึงความเป็นพิษของหญ้าดอกขาวโดย Dhare *et al.* (1968) ได้ใช้หญ้าดอกขาวที่สกัดด้วย ethanol 50 เปอร์เซ็นต์ ฉีดเข้าช่องท้องของหนูถีบจักร ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 400 หรือ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และความเข้มข้นสูงสุดไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้เกิดอาการเป็นพิษ คือ 500

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อมา Muir (1981) ได้ศึกษาฤทธิ์การกดประสาทส่วนกลางในหนูถีบจักร พบว่าฤทธิ์การกดประสาทส่วนกลางของหญ้าดอกขาวเป็นผลที่ตามมาจากฤทธิ์ในการแก้ปวด ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครั้งหนึ่ง มีค่าเท่ากับ 1.874 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

สารสกัด methanol จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ป้อนให้หนูถีบจักรทั้งสองเพศเพียงครั้งเดียว แล้วสังเกตอาการผิดปกติรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม 14 วัน พบว่าหนูทดลองทุกตัวไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ และไม่มีพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปจากช่วงก่อนได้รับสารสกัด น้ำหนักตัวและสัดส่วนของน้ำหนักอวัยวะต่างๆ ได้แก่ หัวใจ ไต ตับ ปอด ม้าม เทียบกับน้ำหนักตัว ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัด พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตับ ไต ปอดและม้าม ของกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัด ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูถีบจักร (Latha *et al.*, 2010) เช่นเดียวกับ Pratheeshkumar and Kuttan (2010) ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัด methanol จากหญ้าดอกขาวต่อ Balb/c mice พบว่าสารสกัดความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่แสดงความเป็นพิษต่อหนูทดลอง สารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดความเป็นพิษที่ไม่รุนแรง แต่เมื่อให้สารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่งผลให้หนูทดลองมีพฤติกรรมที่เชื่องช้ากว่าปกติ (hypo activity) น้ำหนักตัวและสัดส่วนน้ำหนักอวัยวะเทียบกับน้ำหนักตัวลดลง แต่ระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับและไตมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และหนูทดลองตาย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Alexeeff *et al.* (2002) ได้กล่าวถึงระดับความเป็นพิษของสารสกัดหญ้าดอกขาวว่า ปริมาณสารสกัดที่ไม่ทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการผิดปกติให้เห็น (no-observed-adverse-effect-level; NOAEL) คือ 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนปริมาณสารสกัดน้อยที่สุดที่ทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการผิดปกติให้เห็นได้ (lowest-observed-adverse-effect level; LOAEL) คือ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่เมื่อหนูทดลองได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวด้วย methanol ความเข้มข้น 100, 500, 1,000 และ 3,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว และสังเกตอาการ 48 ชั่วโมง ไม่พบอาการผิดปกติ และไม่มีหนูทดลองตายในการตรวจสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันครั้งนี้ (Haque *et al.*, 2013)

ส่วนสารสกัด ethanol จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 5-2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าไม่มีความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อหนูขาว ไม่พบความผิดปกติของลักษณะขน ตา ผิวหนัง ตลอดจนพฤติกรรมการกินน้ำและอาหาร การหายใจ การนอน เช่นเดียวกันกับการศึกษาความเป็นพิษแบบเรื้อรังพบว่าหนูขาวที่ได้รับสารสกัด ethanol จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกันนาน 6 สัปดาห์ ไม่แสดงพฤติกรรมที่บ่งบอกถึงความผิดปกติ อัตราการกินน้ำและอาหาร น้ำหนักตัว ความเข้มข้นของ ฮีโมโกลบิน จำนวนเม็ดเลือดขาว คือ ลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล โมโนไซต์และอีโอซิโนฟิล ตลอดจน ระดับ serum glutamate oxaloacetate transaminase (SGOT), serum glutamate pyruvate transaminase (SGPT), alkaline phosphatase (ALP), creatinine, urea และ glucose ไม่แตกต่างจาก หนูกลุ่มควบคุม (Aruna *et al.*, 2012)

สัตว์ทดลอง

หนูขาว *Rattus norvegicus* เป็นหนูที่มีขนาดใหญ่ หางยาว ขนสีขาวทั้งตัว ตาสีแดง พันธุ์ที่นิยมใช้ในการทดลองทั่วไปเป็นพันธุ์วิสตา (Wistar) หรือพันธุ์สปราก-ดอว์เลย์ (Sprague-Dawley) เนื่องจากมีขนาดใหญ่กว่าหนูเมาส์ (mouse) จึงต้องใส่ในกรงที่มีขนาดใหญ่และมีความแข็งแรง หนูขาวมีอุณหภูมิของร่างกายวัดทางทวารหนัก 38.2 องศาเซลเซียส อัตราการเต้นของหัวใจ 123-124 ครั้งต่อนาที อัตราการหายใจ 66-114 ครั้งต่อนาที น้ำหนักตัวเมื่อโตเต็มวัยในเพศผู้ 200-400 กรัม ส่วนในเพศเมีย 250-300 กรัม อายุเฉลี่ย 3-3.5 ปี อายุเมื่อพร้อมผสมพันธุ์ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ประมาณ 100 วัน ระยะเวลาการเป็นสัด 5 วัน มีช่วงเป็นสัด 13-15 ชั่วโมง เมื่อเกิดปฏิสนธิแล้วมีระยะตั้งท้องประมาณ 20-22 วัน จำนวนลูกต่อครอกประมาณ 8-12 ตัว และอายุเมื่อหย่านม 21 วัน (ปานเทพ, 2535)

การทดลองทางวิทยาศาสตร์การแพทย์นิยมใช้หนูขาว เพราะมีขนาดตัวพอเหมาะ เลี้ยงง่าย สุขภาพร่างกายแข็งแรง สามารถจับต้องและทนทานต่อการทดลอง นอกจากนี้ยังนิยมใช้ในงานตรวจสอบทางชีววิทยาเกี่ยวกับปัจจัยด้านอาหาร ฮอโมนของต่อมไร้ท่อ การศึกษาด้านพิษวิทยา

การวิจัยโรคมะเร็ง ด้านวิทยาคูมกัน และด้านผลของกัมมันตภาพรังสีต่อระบบทางชีววิทยาอีก ด้วย (ปานเทพ, 2535; เสรี, 2543)

1. ตับ

ตับเป็นอวัยวะที่อยู่ในช่องท้องใต้กะบังลม ด้านล่างติดกับอวัยวะภายใน คือ กระเพาะอาหาร ม้าม ลำไส้เล็กส่วน duodenum ลำไส้ใหญ่ส่วน colon และไตข้างซ้าย ผิวด้านนอกมี capsule หุ้ม เป็นเนื้อเยื่อประสานบางๆ (Komarek *et al.*, 2000) ตับของหนูขาวแบ่งออกเป็น 4 lobe คือ median lobe, right lateral lobe, large left lobe และ small caudate lobe โดย right lateral lobe ยังแบ่งออกเป็นอีก 2 lobe ย่อย คือ cranial lobe กับ caudal lobe (Hofstetter *et al.*, 2006)

เนื้อเยื่อตับประกอบด้วย 2 ส่วนหลักๆ ได้แก่ parenchymal cell คือเซลล์ตับ (hepatocyte) และ nonparenchymal cell เซลล์ตับมีรูปหลายเหลี่ยมและเรียงตัวในแนวรัศมีเป็นแผ่นแบน (plate) มีทิศออกจาก central vein ระหว่างแผ่นมีไซนัสซอยด์ (sinusoid) เป็นหลอดเลือดฝอยขยายใหญ่ไปด้วย endothelium ชนิดที่มีรูพรุนมากมาย ระหว่างเซลล์ตับที่อยู่ติดกันมีท่อน้ำดีขนาดเล็ก (bile canaliculi) เป็นทางผ่านของน้ำดีไปยังท่อน้ำดี (bile duct) ที่บริเวณ portal area ระหว่างเซลล์ตับและไซนัสซอยด์มีช่องว่างอยู่ เรียกว่า space of Disse (กรรณิกา, 2546; Komarek *et al.*, 2000)

nonparenchymal cell ได้แก่ ท่อน้ำดี endothelial cell ที่บุอยู่ที่ผนังไซนัสซอยด์ เป็นเซลล์ที่มีรูพรุนและทำให้มีการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเซลล์ตับกับเลือดในไซนัสซอยด์ Kupffer cell เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เปลี่ยนแปลงมาจากโมโนไซต์ (monocyte) บริเวณผิวเซลล์มีไมโครวิลไล (microvilli) และมีความสามารถเก็บกินสิ่งแปลกปลอมได้ เซลล์นี้จะอยู่ที่ผนังไซนัสซอยด์ Stellate cell (fat-storing cell หรือ Ito cell หรือ perisinusoidal lipocyte) กระจายอยู่ตาม space of Disse มีหน้าที่เก็บสะสมวิตามิน เอ ซึ่งละลายในไขมัน นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการควบคุมขนาดของไซนัสซอยด์ และการเกิดเยื่อพังผืด (fibrosis) (กมลฤช, 2550; Komarek *et al.*, 2000)

หน้าที่สำคัญของตับ แบ่งออกเป็น 4 หน้าที่ตามรายงานของกนกธร (2543) กรรณิกา (2546) และคมกฤษ (2550) คือ

1. สร้างน้ำดี (bile) และกรดน้ำดี (bile acid) ซึ่งน้ำดีที่ได้จะช่วยในการย่อยไขมัน ช่วยปรับสภาพความเป็นกรดของอาหารที่ผ่านมาจากกระเพาะอาหาร รวมทั้งช่วยในการขับของเสียต่างๆ ออกจากร่างกาย เช่น โคเลสเตอรอล บิลิรูบินและสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ เป็นต้น หนูขาวไม่มีถุงน้ำดี (gall bladder) ดังนั้นท่อน้ำดีจากตับแต่ละ lobe จะรวมกันเป็น common bile duct แล้วเปิดเข้าสู่ descending duodenum ที่ระยะ 25 มิลลิเมตรจาก pyloric sphincter แต่อย่างไรก็ตามท่อนี้ไม่ได้มีหน้าที่เพิ่มความเข้มข้นของน้ำดีเหมือนกับถุงน้ำดีในสัตว์ชนิดอื่น (Hofstetter *et al.*, 2006)

2. เก็บสะสมสารอาหาร คือ ไขมันในรูป triglyceride และคาร์โบไฮเดรตในรูปของไกลโคเจน โดยจะนำกลูโคสออกจากกระแสเลือดมาเก็บไว้ที่เซลล์ตับในรูปของไกลโคเจนหรือกรดไขมัน และจะถูกนำกลับมาใช้เมื่อร่างกายต้องการ นอกจากนี้ตับยังสังเคราะห์โปรตีนที่สำคัญในกระแสเลือด คือ albumin, prothrombin, fibrinogen และ lipoprotein โดยโปรตีนส่วนใหญ่สร้างจากเซลล์ตับ ส่วนน้อยประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ สร้างจาก Kupffer cell

3. ทำลายพิษ (detoxification) จากสารพิษและยา โดยกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) เมทิลเลชัน (methylation) หรือคอนจูเกชัน (conjugation) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดขรุขระ (rough endoplasmic reticulum)

4. เก็บกินสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายโดย Kupffer cell

หนูขาวที่อายุมากขึ้นอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของตับได้ เช่น เกิด lipofuscin pigment ในเซลล์ตับ หรือเกิด hemosiderin pigment ในเซลล์ตับและ Kupffer cell เซลล์ตับเพิ่มขนาดและปริมาตรของนิวเคลียส หรือมีจำนวนนิวเคลียสเพิ่มขึ้น เกิด pseudoinclusion bodies ในนิวเคลียส (Irisarri and Holander, 1994) นอกจากนี้ยังอาจเกิดเยื่อพังผืดที่ท่อน้ำดี (cholangiofibrosis) และ biliary cysts ขึ้นได้ โดยเฉพาะในหนูเพศเมีย (Parker and Gibson, 1995)

2. ไต

ไตของหนูขาวอยู่ในช่องท้องตำแหน่งใกล้กับกระดูกสันหลัง ไตข้างซ้ายจะค่อนข้างยาวกว่าไตข้างขวา ภายนอกมีเยื่อหุ้ม (renal capsule) และฝังอยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน ไตแต่ละข้างประกอบด้วย cortex เป็นเนื้อไตส่วนนอก ได้แก่ glomerulus ท่อนหน่วยไตส่วนต้น (proximal tubule) และท่อนหน่วยไตส่วนท้าย (distal tubule) รวมกันเรียกว่า cortical labyrinth อีกส่วนคือ medulla เป็นเนื้อไตส่วนใน และกรวยไต (renal pelvis) (Komarek *et al.*, 2000)

หน่วยทำงานของไต คือ uriniferous tubule ประกอบด้วย 2 ส่วนที่มีกำเนิดต่างกัน ดังรายงานของกนกธร (2543) ส่วนที่หนึ่งคือ หน่วยไต (nephron) ทำหน้าที่กรองของเหลวออกจากเลือด แล้วผ่านกระบวนการดูดกลับของสาร (reabsorption) และการขับทิ้ง (secretion) กับส่วนที่สองคือ ท่อรวม (collecting tubule) ทำหน้าที่ดูดน้ำกลับจากการกรอง โดยหน่วยไตจะประกอบด้วย glomerulus ที่อยู่ภายใน Bowman's capsule และท่อนหน่วยไต (renal tubule)

glomerulus เป็นกลุ่มของหลอดเลือดฝอยที่ขดตัวไปมา มีรูปกลมอยู่ภายใน Bowman's capsule ที่ประกอบด้วยผนัง 2 ชั้น คือ parietal layer และ visceral layer ระหว่างผนังทั้ง 2 ชั้น มีช่องว่างอยู่ เรียกว่า Bowman's space โดย parietal layer อยู่ด้านนอก เชื่อมเป็น simple squamous epithelium ซึ่งจะหนาตัวขึ้นในบริเวณที่อยู่ใกล้กับ urinary pole ส่วน visceral layer อยู่ติดกับ glomerulus ประกอบด้วย visceral cells ที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยมีแขนยื่นยาวออกมา ล้อมรอบหลอดเลือดฝอยของ glomerulus ไว้ และมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ เรียกว่า podocyte ทำให้ glomerulus มีผนังการกรอง 3 ชั้นด้วยกัน คือ glomerular endothelium, basement membrane และ podocyte layer (Hofstetter *et al.*, 2006)

ท่อนหน่วยไตส่วนต้นเป็นท่อขดทำหน้าที่ดูดกลับโซเดียม กรดอะมิโน กลูโคสและน้ำ เซลล์เยื่อบุท่อช่วงแรกเป็น simple cuboidal epithelium และช่วงท้ายเป็น simple columnar epithelium มีนิวเคลียสกลมและอยู่กลางเซลล์ ปลายขอบบนของเซลล์มี brush border ที่มีไมโครวิลไลยื่นเข้าไปภายใน lumen ของท่อ

ท่อหน่วยไตส่วนท้าย ทำหน้าที่ดูดน้ำกลับภายใต้การควบคุมของฮอร์โมน aldosterone (ADH) และช่วยรักษาสมดุลของกรดต่างในเลือด เซลล์เยื่อบุผิวของท่อเป็น simple cuboidal epithelium นิวเคลียสอยู่ก่อนไปด้านฐานของเซลล์ ไม่มี brush border และท่อมี lumen ขนาดใหญ่

กรรณิกา (2546) และอนุเทพ (2550) กล่าวถึงบทบาทหน้าที่ที่สำคัญของไตไว้ดังนี้

1. สร้างปัสสาวะเพื่อกำจัดของเสียที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ไม่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ยูเรีย (urea) และกรดยูริก (uric acid) เป็นต้น
2. ควบคุมสมดุลกรดเบส โดยใช้ไบคาร์บอเนตเป็นตัวปรับจากการกรอง
3. ควบคุมปริมาณสารน้ำในร่างกาย โดยการทำหน้าที่ร่วมกันของระบบประสาท ระบบต่อมไร้ท่อและระบบไหลเวียน การรักษาหน้าที่บริเวณท่อหน่วยไตส่วนต้นและส่วนปลาย จะอาศัยขบวนการดูดกลับถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ของสารที่กรองผ่าน glomerulus และกระบวนการ counter current ที่ loop of Henle
4. รักษาสมดุลของโพแทสเซียมนอกเซลล์ผ่านการดูดกลับแบบ passive ที่ท่อหน่วยไตส่วนต้นและการขับทิ้งที่ท่อหน่วยไตส่วนปลายภายใต้อิทธิพลของ aldosterone
5. สร้างฮอร์โมน ได้แก่ erythropoietin ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดงในไขกระดูก เมื่อระดับออกซิเจนในกระแสเลือดลดลง rennin-angiotensin สร้างที่ Juxta glomerular apparatus มีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว ช่วยรักษาความดันเลือด นอกจากนี้ยังมี calcitriol ซึ่งเป็น active form ของวิตามินดี เปลี่ยนรูปที่ไต มีฤทธิ์เพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้

ในภาวะปกติหนูขาวเพศผู้มีแนวโน้มน้ำที่จะเกิด hyaline droplet ในเซลล์เยื่อบุท่อหน่วยไตส่วนต้น (proximal tubular cell) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของ α_2 microglobulin (Read, 1991) ในขณะที่หนูขาวเพศเมียมีโอกาสเกิดการสะสมของเกลือแคลเซียม (nephrocalcinosis)

ค่อนข้างสูง ส่วนหนูขาวที่อายุมากมีโอกาสดเกิดการฝ่อลีบของท่อหน่วยไต (tubular atrophy) ได้ใน หนูขาวทั้งสองเพศ (Komarek *et al.*, 2000)

3. ม้าม

ม้ามเป็นอวัยวะน้ำเหลืองที่มีขนาดใหญ่ที่สุด อยู่ในช่องท้องส่วนบนระหว่างกระเพาะอาหารและไตข้างซ้าย ติดต่อกับตับ พื้นผิวด้านนอกมี capsule ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อประสาน (connective tissue) ที่มีกล้ามเนื้อเล็กน้อยหุ้มอยู่ และเกิดเป็น trabeculae แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อ ทำให้เนื้อเยื่อม้ามแบ่งออกเป็นส่วนๆ แต่ไม่สมบูรณ์ เรียกว่า parenchyma หรือ splenic pulp (Komarek *et al.*, 2000) บริเวณข้างของม้ามเป็นทางเข้าของเส้นประสาทและหลอดเลือดแดง แต่เป็นทางออกของหลอดเลือดดำและหลอดน้ำเหลือง (กรรณิกา, 2546)

เนื้อเยื่อม้าม แบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกคือ white pulp เป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อน้ำเหลืองเรียงตัวอยู่รอบๆ หลอดเลือดแดงชื่อ central artery เซลล์ในบริเวณนี้ส่วนใหญ่เป็น lymphocyte ขนาดเล็ก ส่วนที่ 2 คือ red pulp เป็นเนื้อเยื่อส่วนมากของม้าม อยู่ระหว่าง white pulp แต่ละอัน red pulp ประกอบด้วยส่วนสำคัญคือ reticular tissue และ venous sinus (Komarek *et al.*, 2000)

ม้ามมีหน้าที่สำคัญ 3 ประการ ตามรายงานของกรรณิกา (2546) และ คมกฤษและอัจฉริยา (2550) ดังต่อไปนี้

1. กรองเลือดและทำลายเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุ หรือเม็ดเลือดแดงที่มีความผิดปกติโดยกระบวนการ phagocytosis ซึ่งจากวิธีนี้จะสามารถเปลี่ยนฮีโมโกลบินเป็นฮีมาทอยดินได้ และเก็บสะสมธาตุเหล็กไว้ใช้สร้างเม็ดเลือดแดงต่อไป นอกจากนี้ที่โครงสร้าง red pulp ของม้ามมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ จึงสามารถซึมซับเก็บเม็ดเลือดแดงไว้ได้มาก และส่งกลับคืนสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตเมื่อร่างกายมีความต้องการ

2. สร้างเม็ดเลือดนอกไขกระดูก โดยเฉพาะเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ซึ่งสร้างจากบริเวณ white pulp แล้วเคลื่อนต่อไปยัง red pulp จากนั้นจึงเข้าสู่กระแสเลือด

3. ระบบภูมิคุ้มกัน ม้ามเป็นอวัยวะสำคัญในการสร้างแอนติบอดีทั้งจากพลาสมาเซลล์ภายในม้ามเอง หรือ memory B-cell ที่ถูกสร้างและส่งออกปจากม้าม

ความผิดปกติของม้าม มีได้หลายลักษณะด้วยกัน ตามรายงานของคมกฤษและอัจฉริยา (2550) คือ

1. การขยายขนาดของม้าม เกิดได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น เลือดคั่งอย่างเฉียบพลัน (acute congestion) เลือดคั่งเรื้อรัง (chronic congestion) ซึ่งในกรณีนี้ม้ามจะมีขนาดใหญ่ขึ้นแต่แข็ง เพราะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกเข้ามาและมีสิโมติเคอรีนสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก หรืออีกกรณีหนึ่งคือ ม้ามมีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากเซลล์ในม้ามเพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งมีทั้งการเพิ่มจำนวนของ lymphocyte ใน white pulp เรียกว่า follicular hyperplasia และการเพิ่มจำนวนของ reticular cell ใน red pulp

2. การอักเสบอย่างเฉียบพลัน (acute splenitis) มักเกิดจากการติดเชื้อ โดยม้ามขยายขนาดและเกิดจุดเนื้อตายเล็กๆ เป็นหย่อมๆ ในเนื้อม้าม พบนิวโทรฟิลเข้าสะสม และถ้าเป็นการติดเชื้ออย่างรุนแรงอาจมีการตายของ lymphocyte ใน germinal center และเซลล์ที่ตายจะถูกกำจัดไปอย่างรวดเร็ว ทำให้เห็นบริเวณ germinal center ว่างเปล่า

3. เนื้อตายเนื่องจากการขาดเลือด (splenic infarction) เป็นรอยโรค (lesion) ที่มักพบที่ขอบของม้าม เกิดขึ้นเนื่องจากการขาดเลือดมาเลี้ยง เช่น กรณีที่เกิดสิ่งอุดตันในหลอดเลือด (thrombosis) ทำให้เนื้อเยื่อม้ามที่รับเลือดจากหลอดเลือดนั้นตาย

4. การเกิดโรคในทางเสื่อมของม้าม (degenerative disease of spleen) พบม้ามฝ่อลีบ (splenic atrophy) ซึ่งอาจเกิดตามอายุขัยหรืออาจเกิดร่วมกับสภาวะขาดอาหาร โดยจะพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกอยู่ในไขสัน

4. ต่อมไทมัส

เป็นต่อมแรกที่เจริญขึ้นในตอนเป็นเอ็มบริโอเพื่อทำหน้าที่เป็นอวัยวะของระบบภูมิคุ้มกัน มีกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อ 2 ชนิด คือ เอนโดเดิร์ม (endoderm) ซึ่งจะเจริญเป็นร่างแหของ reticular cell และมีโซเดิร์ม (mesoderm) คือส่วนที่เป็น lymphocyte (กนกธร, 2543)

ต่อมไทมัสของหนูขาวอยู่ในช่องอกส่วนบน บริเวณหลังกระดูกอก (sternum) ด้านบนติดกับกล่องเสียง (larynx) และด้านล่างติดกับหัวใจ เป็นอวัยวะที่มี capsule หุ้ม และเนื้อเยื่อประสานของ capsule จะแทรกเข้าไปในเนื้อต่อม แบ่งต่อมออกเป็น lobe เล็กๆ ที่ไม่ได้แยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์ แต่ละพูแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ cortex และ medulla (กรรณิกา, 2546; Komarek *et al.*, 2000)

medulla ประกอบด้วย epithelial reticular cell จำนวนมาก บางส่วนที่เสื่อมสภาพจะมี keratohyalin granule กับ cytokeratin filament สะสมอยู่มากและเกิดเป็น Hassall's bodies ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของต่อมไทมัส แต่ในหนูขาว Hassall's bodies ไม่มีรูปร่างลักษณะที่แน่ชัด เหมือนกับในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น อีกทั้งยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่นอน (กนกธร, 2546; Komarek *et al.*, 2000) ส่วน cortex เป็นบริเวณที่มี lymphocyte อยู่หนาแน่น และมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง ส่วนมากเป็น naïve T-lymphocyte (คมกฤษ และอัจฉริยา, 2550; Komarek *et al.*, 2000)

ต่อมไทมัสทำหน้าที่สร้าง T-lymphocyte ซึ่งต่อมาจะเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะน้ำเหลืองอื่นๆ โดยเฉพาะต่อมน้ำเหลืองและม้าม (กรรณิกา, 2546) นอกจากนี้ยังสร้างฮอร์โมนหลายชนิด เช่น thymosin และ thymopoietin ซึ่งควบคุมพัฒนาการของ T-lymphocyte (คมกฤษ และอัจฉริยา, 2550)

หนูขาวที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ ต่อมาโคมะจะฝ่อลีบลงไปเรื่อยๆ เชื่อว่ากระบวนการนี้อยู่ภายใต้การควบคุมของ beta-adrenoceptor receptor ที่เฉพาะเจาะจงกับ glucocorticoid (Pazirandeh *et al.*, 2004; Plecas-Solarovic *et al.*, 2004)

5. ปอด

ปอดเป็นอวัยวะที่อยู่ในช่องอก ปกคลุมด้วยเยื่อหุ้มปอดที่เป็นเนื้อเยื่อประสานบางๆ ปอดของหนูขาวแบ่งออกเป็น 5 lobe คือ หนึ่ง lobe ทางด้านซ้าย และ 4 lobe ทางด้านขวา ซึ่งประกอบด้วย cranial lobe, middle lobe, accessory lobe และ caudal lobe (Hofstetter *et al.*, 2006) ในหนูขาวแรกเกิดปอดยังไม่พัฒนาเต็มที่ ยังไม่มี alveoli กับ alveolar duct แต่จะเจริญขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่ออายุ 4 วัน และเมื่อครบ 7 วันปอดจะมีลักษณะภายนอกเหมือนเจริญเต็มที่แล้ว แต่ยังไม่มีความสมบูรณ์ ซึ่งจะเริ่มพบในวันที่ 10 จนเมื่อ 3 สัปดาห์ปอดจึงจะเจริญเต็มที่ (Schittny *et al.*, 1998; Bruce *et al.*, 1999)

หนูขาวโตเต็มวัย ในปอดมีเซลล์ทั้งหมดประมาณ 9 ล้านเซลล์ โดย 74 เปอร์เซ็นต์ เป็น alveolar tissue และที่เหลือเป็น nonalveolar tissue (Stone *et al.*, 1992) alveoli คือ ถุงลมขนาดเล็กเป็นบริเวณที่เกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ผนังบุด้วยเยื่อหุ้มชนิด simple squamous epithelium บริเวณนี้ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ type I alveolar cell ลักษณะแบน พบได้มาก ทำหน้าที่เป็น barrier ที่บางที่สุดเพื่อให้แก๊สผ่านได้ และอีกชนิดคือ type II alveolar cell พบแทรกอยู่ระหว่าง type I alveolar cell รูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ทำหน้าที่สร้างสารออกมาเคลือบผิวด้านในของถุงลม เพื่อลดแรงตึงผิว ป้องกันไม่ให้ถุงลมแฟบเมื่อหายใจออก (กรรณิกา, 2546; Hofstetter *et al.*, 2006) สารเคลือบนี้ในหนูขาวส่วนมากจะเป็น polyunsaturated phospholipid (Postle *et al.*, 2001)

alveolar wall เป็นโครงสร้างของผนังถุงลมที่เกิดการแลกเปลี่ยนแก๊ส ประกอบด้วยผนัง 3 ชั้น คือ type I alveolar cell ตรงกลางคือ basement membrane และอีกด้านหนึ่งเป็น endothelial cell ของหลอดเลือดฝอย (capillary) ผนังทั้ง 3 ชั้นนี้บางมาก ในหนูขาว alveolar wall หนาประมาณ 1.5

ไมโครเมตร และที่ alveolar space ไม่มีของเหลวหรือสิ่งแปลกปลอมตกค้างอยู่ (Kikkawa, 1970; Harrison, 1974)

เซลล์เยื่อของ bronchi และ bronchiole ที่อยู่ในปอดของหนูขาวเรียงตัวเป็นชั้นเดียว โดยเฉพาะที่ respiratory bronchiole เซลล์เยื่อผิวหนังด้านที่ติดกับหลอดเลือดเป็น high cuboidal epithelium ในขณะที่ด้านตรงข้ามเซลล์เยื่อผิวหนังจะบางลงอย่างชัดเจน (Hofstetter *et al.*, 2006) เซลล์ชนิดอื่นๆ ที่พบในปอด ได้แก่ goblet cell ทำหน้าที่สร้างสารเมือก พวัก mucin และ glycoprotein (Rogers, 1994) ciliated cell ทำหน้าที่โบกพัดสารเมือกและดักจับสิ่งแปลกปลอม basal cell เชื่อว่าจะแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบ Clara cell และ neurosecretory cell อีกด้วย (Komarek *et al.*, 2000; Hofstetter *et al.*, 2006)

ความผิดปกติที่มักเกิดกับปอดของหนูขาวคือ เกิดการสะสมของ intra-alveolar foam cell เรียกว่า alveolar histiocytosis หรือ alveolar lipodosis (Komarek *et al.*, 2000)

6. กระเพาะอาหาร

กระเพาะอาหารวางตัวอยู่ในแนวขวางทางด้านซ้ายของช่องท้องและต่ำกว่าตับ พื้นผิวนอกส่วนมากของกระเพาะอาหารจะถูกตับปกคลุมอยู่ หลอดอาหารจะเชื่อมต่อเข้ากับบริเวณตรงกลางของด้านโค้งของกระเพาะอาหาร (Komarek *et al.*, 2000)

กระเพาะอาหารของหนูขาวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ forestomach หรือ nonglandular portion ต่อมาเป็น glandular portion และสุดท้ายเป็น pyloric portion โดยลักษณะทางจุลกายวิภาคของแต่ละส่วนก็จะเหมือนกับสัตว์ฟันแทะชนิดอื่นๆ (DeSesso and Jacobson, 2001)

forestomach เป็นบริเวณที่ไม่มีต่อมสำหรับสร้างสารหลั่งออกมา เยื่อผิวหนังเป็นชนิด stratified squamous epithelium และมี fold ยื่นขึ้นมาเหมือนกับที่พบใน rumen ส่วนนี้เป็นเหมือนบริเวณสำหรับเก็บสะสมอาหาร (Komarek *et al.*, 2000; Hofstetter *et al.*, 2006)

glandular portion มี gastric pit ที่มีเยื่อผิวเป็นชนิด simple columnar epithelium กระจาเพาะอาหารส่วนนี้มีต่อมทำหน้าที่สร้างสารหลั่งหลายชนิด โดยฐานของต่อมจะประกอบด้วย chief cell (zymogenic cell) ทำหน้าที่สร้าง pepsinogen ซึ่งต่อมาจะถูกเปลี่ยนให้เป็น pepsin โดยกรดไฮโดรคลอริกอีกทอดหนึ่ง parietal (oxyntic) cell ทำหน้าที่สร้างกรดไฮโดรคลอริก และสุดท้ายคือ enteroendocrine cell ทำหน้าที่สร้างแกสตริน (gastrin) ฮีสตามีน (histamine) กลูคาγον (glucagon) และโซมาโทสแตติน (somatostatin) นอกจากนี้ glandular portion ยังมี fold หรือ rugae ที่เห็นได้ชัดกว่า forestomach อีกด้วย (Komarek *et al.*, 2000; Hofstetter *et al.*, 2006)

pyloric portion มีเยื่อผิวเป็น simple columnar epithelium มี pyloric glands ที่เป็น coiled mucous gland และไม่พบ parietal cell ในกระเพาะอาหารส่วนนี้ (Smith and Calhoun, 1968; Brown and Hardisty, 1990)

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั่วไป gastric gland จะสร้างและหลั่งเอนไซม์สำหรับย่อยโปรตีนได้ 4 ชนิด คือ pepsinogen A, pepsinogen C, cathepsin D และ cathepsin E แต่ในหนูขาวสามารถสร้างและหลั่งได้เพียงแค่ pepsinogen C, cathepsin D และ cathepsin E เท่านั้น (Senoo, 2000)

ชั้นกล้ามเนื้อของกระเพาะอาหารของหนูขาวประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเรียงตัว 3 ชั้น โดยชั้นในสุดเรียงตัวแบบเฉียง (oblique) ชั้นกลางเรียงตัวเป็นวงกลม และชั้นนอกเรียงตัวแบบตามยาว (Komarek *et al.*, 2000)

หนูขาวที่อายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงที่กระเพาะอาหาร คือ gastric gland จะขยายตัวออก มีขนาดใหญ่กว่าเดิม (Komarek *et al.*, 2000)

7. อัณฑะ

อัณฑะทั้งคู่ของหนูขาวอยู่ในถุงอัณฑะ (scrotal sac) มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น คือ thick tunica albuginea อยู่ติดกับอัณฑะ และ thin tunica vaginalis อยู่ติดกับบริเวณด้านในของถุงอัณฑะ หนูขาว

ที่โตเต็มวัยมีท่อสร้างอสุจิ (seminiferous tubule) ประมาณ 20 ท่อต่ออณูท่อที่จะขดไปมาปลายสุดทั้งสองข้างต่อกับ rete testis ภายในท่อสร้างอสุจิประกอบด้วย germ cell (spermatogenic cell) ระยะต่างๆ ที่เรียงตัวอยู่เป็นชั้นๆ ได้แก่ spermatogonia, spermatocyte และ spermatid ส่วนอสุจิจะถูกส่งจากท่อสร้างอสุจิผ่านทาง rete testis ไปยังท่อเก็บอสุจิ (epididymis) นอกจากนี้ภายในท่อสร้างอสุจิยังมี Sertoli cell อยู่ด้วย เซลล์นี้ทำหน้าที่สร้างอาหารให้แก่อสุจิ กำจัดชิ้นส่วนของไมโทพลาสซึมที่หลุดออกจาก spermatid ขณะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (spermiogenesis) และสร้างของเหลวเข้าสู่ท่อสร้างอสุจิ เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ของอสุจิ ระหว่างท่อสร้างอสุจิแต่ละท่อเป็นเนื้อเยื่อประสานที่เรียงกันอย่างหลวมๆ มีหลอดเลือด หลอดน้ำเหลือง เส้นประสาท และ Leydig cell (interstitial cell) ทำหน้าที่สร้างและหลั่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) (กรรณิกา, 2546; Komarek *et al.*, 2000)

กระบวนการสร้างอสุจิไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมๆ กันในทุกส่วนของท่อสร้างอสุจิ แต่เกิดในลักษณะคล้ายคลื่น (wavelike) ทำให้แต่ละบริเวณของท่อสร้างอสุจิมีกระบวนการสร้างอสุจิอยู่ในระยะที่แตกต่างกัน (กรรณิกา, 2546) ในหนูขาวการสร้างอสุจิ 1 รอบ ประกอบด้วย 14 ระยะ ใช้เวลา 12 วัน และการสร้างอสุจิของหนูขาวแต่ละครั้งต้องใช้ 4 รอบ จึงจะเสร็จสิ้นการสร้างอสุจิอย่างแท้จริง นั่นคือ จาก spermatogonium จะผ่านกระบวนการต่างๆ จนได้เป็นอสุจิต้องใช้เวลาดังกล่าวทั้งหมด 48 วัน (Maeda *et al.*, 2000) อสุจิของหนูขาวมีความยาวประมาณ 150-200 ไมครอน ส่วนหัวมีลักษณะคล้ายตะขอ (hook-shaped) (Eddy and O'Brien, 1994) เมื่อตัดท่อสร้างอสุจิตามขวาง (cross-section) ในหนึ่งท่อจะพบ germ cell ทั้งหมดอยู่ในระยะเดียวกันหรือระยะที่ต่อเนื่องกันเท่านั้น (Sharpe, 1994)

เนื่องจากอณูท่อเป็นทั้งต่อมมีท่อและต่อมไร้ท่อ หน้าที่ของอณูท่อจึงแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ หน้าที่ของส่วนที่มีท่อคือสร้างเซลล์สืบพันธุ์หรืออสุจิ (spermatozoa) แล้วส่งออกไปทางท่อนำน้ำเชื้อ (male genital duct) และหน้าที่ของส่วนที่เป็นต่อมไร้ท่อคือสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน แล้วส่งเข้าสู่กระแสเลือด (กรรณิกา, 2546)

หนูขาวที่อายุมากมีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะได้ดังนี้ เกิดการฝ่อลีบของท่อ (tubular atrophy) และเกิดการอักเสบของหลอดเลือดแดงขนาดกลาง (polyarteritis) รวมทั้งอาจเกิดการอัดตัวกันแน่นของอสุจิร่วมกับมีการสะสมของเกลือแคลเซียม (dystrophic calcification) (Komarek *et al.*, 2000) การฝ่อลีบของท่อมักจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนมากขึ้นของ Leydig cell (Takahashi *et al.*, 1992) ส่วนในหนูขาวอายุน้อย (10-12 สัปดาห์) สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงที่อวัยวะได้เช่นกัน โดยจะเกิดการเสื่อมสลายของท่อ (tubular degeneration) และมีเซลล์สืบพันธุ์ตกค้างอยู่ในท่อ (spermatid retention) (Lee *et al.*, 1993)

8. รังไข่

รังไข่ทั้งคู่ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อไขมันที่บริเวณปลายด้านล่างของไต ผิวด้านนอกปกคลุมด้วยเซลล์เยื่อแบบ cuboidal หรือ columnar เพียงแค่ชั้นเดียว เนื้อเยื่อรังไข่แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ cortex เป็นส่วนนอก ประกอบด้วย stroma ที่มี ovarian follicle อยู่เป็นจำนวนมาก และถัดเข้ามาเป็น medulla ประกอบด้วยเนื้อเยื่อประสานที่เรียงกันอย่างหลวมๆ มีหลอดเลือด หลอดน้ำเหลืองและเส้นประสาทอยู่ (กรรณิกา, 2546; Komarek *et al.*, 2000; Hofstetter *et al.*, 2006)

follicle ในหนูขาวแบ่งได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ primordial follicle เป็น follicle ในระยะแรก ประกอบด้วย primary oocyte ที่มี follicular cell เป็น simple squamous epithelium เพียงชั้นเดียว ล้อมรอบ follicle ระยะนี้มีขนาด 25-30 ไมโครเมตร ส่วน oocyte ใน follicle มีขนาด 18-20 ไมโครเมตร ระยะต่อมาคือ growing follicle ในระยะนี้ follicular cell มีการเปลี่ยนแปลงและมีจำนวนขึ้นมากขึ้น follicle มีขนาด 30-400 ไมโครเมตร ส่วน oocyte ใน follicle มีขนาด 40-60 ไมโครเมตร และระยะสุดท้ายคือ Graafian follicle เป็นระยะที่ follicle เจริญเต็มที่ ภายในมีช่องว่างขนาดใหญ่เกิดขึ้น เรียกว่า antrum ในระยะนี้ follicle มีขนาด 650-700 ไมโครเมตร ส่วน oocyte มีขนาด 80-90 ไมโครเมตร (Komarek *et al.*, 2000)

รังไข่ทำหน้าที่เป็นต่อมไร้ท่อในการสร้างฮอร์โมนและเป็นต่อมมีท่อในการสร้างไข่ ฮอร์โมนที่สร้างจากรังไข่ ได้แก่ estrogen ซึ่งสร้างจาก growing follicle และ progesterone ซึ่งสร้าง

จาก corpus luteum โดย estrogen จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมีย รวมทั้งต่อมไขมัน ในขณะที่ progesterone จะทำให้ uterine gland สร้างสารหล่อลื่น และผนังมดลูกหนาตัวเตรียมพร้อมสำหรับการฝังตัวของตัวอ่อน (กรรณิกา, 2546)

ในหนูขาวที่อายุมาก มักจะเกิดการสะสมของ ceroid pigment ในรังไข่ และรังไข่จะค่อยๆ ฝ่อลีบลง (Komarek *et al.*, 2000)

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์

เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม เมื่อเกิดอันตรายไปรบกวนสภาวะปกติของเซลล์ เซลล์จะมีปฏิกิริยาตอบสนองต่ออันตรายเหล่านั้น โดยขึ้นอยู่กับประเภท ระยะเวลา และความรุนแรงของอันตรายที่ได้รับ รวมทั้งสภาพของเซลล์เอง การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ เกิดขึ้นเนื่องจากการตอบสนองของร่างกายเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอมเช่น เชื้อโรค และสารพิษ เป็นต้น ซึ่งการตอบสนองนั้นเกิดจากหน่วยที่เล็กที่สุดคือเซลล์ เมื่อเซลล์ได้รับอันตรายจะมีการตอบสนองดังต่อไปนี้ (Kumar *et al.*, 2005a)

1. การปรับตัวระดับเซลล์ (cellular adaptation)

เป็นการปรับตัวของเซลล์ เมื่อเซลล์ได้รับอันตรายประเภทที่สามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติได้ เซลล์มีการปรับตัวโดยปรับเปลี่ยนระดับความสมดุลในเซลล์ขึ้นใหม่ โดยอาจเปลี่ยนแปลงลักษณะ โครงสร้าง หรือการทำงานของเซลล์ การปรับตัวของเซลล์มีหลายรูปแบบ ดังรายงาน Kumar *et al.* (2005a)

1.1 การฝ่อลีบของเซลล์ (atrophy) คือ ภาวะที่เซลล์สูญเสียสารที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ ส่วนประกอบโครงสร้างภายในเซลล์ลดลง ไม่พบสารสะสมภายในเซลล์ นิวเคลียสและนิวคลีโอลัสมีขนาดเล็กและติดสีเข้ม มีผลทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง และอวัยวะนั้นมีขนาดเล็กลง การทำงานของเซลล์ลดน้อยลงด้วย

1.2. การเพิ่มขนาดของเซลล์ (hypertrophy) คือ ภาวะที่เซลล์มีการสร้างองค์ประกอบของเซลล์เพิ่มขึ้น เช่น ออร์แกเนลต่าง ๆ รวมทั้งสารบางอย่าง เช่น โปรตีน และไขมัน เป็นต้น มีผลทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น รูปร่างลักษณะของเซลล์ยังคงคล้ายกับเซลล์ปกติ เกิดเนื่องมาจากเซลล์ต้องทำงานเพิ่มขึ้นหรือได้รับการกระตุ้นจากฮอร์โมน

1.3. การเพิ่มจำนวนของเซลล์ (hyperplasia) คือ การที่เซลล์ชนิดเดียวกันมีจำนวนเพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์ได้รับการกระตุ้นให้ทำงานมากขึ้น หรือเป็นการตอบสนองต่ออันตรายที่กระทำต่อเซลล์ที่โตเต็มที่ มีผลทำให้อวัยวะนั้นมีขนาดใหญ่กว่าปกติโดยเซลล์ที่เพิ่มขึ้นมาใหม่ทำหน้าที่คล้ายเซลล์ปกติมาก

2. การเสื่อมของเซลล์ (cell degeneration)

เป็นการตอบสนองของเซลล์เมื่อได้รับอันตรายหรือเกิดการบาดเจ็บ มีการเปลี่ยนแปลงหลายรูปแบบ (Kumar *et al.*, 2005a) ได้แก่

2.1. การเสื่อมของเซลล์จากการสะสมน้ำไว้ในเซลล์ (hydropic degeneration) เนื่องจากเซลล์สะสมน้ำไว้ในไซโทพลาสซึมอย่างต่อเนื่องจนทำให้เซลล์ขยายขนาดขึ้น น้ำที่เข้ามาภายในเซลล์นี้ สามารถเข้าไปในออร์แกเนลได้ หากน้ำเข้าไปสะสมภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม อาจทำให้หลอดขาดออกเป็นชิ้นๆได้

2.2. การเสื่อมของเซลล์จากการสะสมแวคิวโอล (vacuolar degeneration) เนื่องจากเกิดแวคิวโอลขึ้นภายในไซโทพลาสซึม ในแวคิวโอลนี้บรรจุสารใดก็ได้ เมื่อคู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบแวคิวโอลขนาดเล็ก อาจเกิดจากชิ้นส่วนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมพองตัวออก

2.3. การเสื่อมของเซลล์ที่เกิดกับเนื้อเยื่อประสาน (hyaline degeneration) เนื่องจากความผิดปกติในการขนส่งโปรตีนออกนอกเซลล์ ทำให้มองเห็นเป็นปื้นรูปร่างไม่แน่นอนขมดสีชมพูอยู่ในไซโทพลาสซึม นิวเคลียสยังคงทำหน้าที่ตามปกติ เซลล์และเนื้อเยื่อจึงไม่ตาย

2.4. การเสื่อมของเซลล์จากการสะสมไขมัน (fatty degeneration หรือ fatty change)

เนื่องจากความผิดปกติในการสะสมไตรกลีเซอไรด์ภายในเซลล์ พบในเซลล์ที่ทำหน้าที่เมแทบอลิซึมไขมันโดยตรง คือ เซลล์ตับ อาจเกิดจากการได้รับสารพิษ ขาดโปรตีน โรคอ้วน โรคเบาหวาน และภาวะขาดออกซิเจน เป็นต้น ตามปกติกรดไขมันจากหลอดเลือดถูกนำเข้าสู่เซลล์ตับเพื่อสร้างเป็นไตรกลีเซอไรด์ แล้วส่งออกนอกเซลล์ ดังนั้นถ้าไม่สามารถส่งไขมันออกไปนอกเซลล์ได้ จะเก็บสะสมไว้ในเซลล์ เมื่อมีปริมาณมากก็จะไปเบียดออร์แกเนลล์ต่าง ๆ จนไม่สามารถทำงานได้ และตายในที่สุด

3. การตายของเซลล์แบบ necrosis

เป็นการตายของเซลล์เนื่องจากเซลล์ได้รับอันตรายหรือเกิดการบาดเจ็บจนไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้ มีการเปลี่ยนแปลงภายในไซโทพลาซึม สูญเสียไกลโคเจน รวมทั้งโปรตีนในไซโทพลาซึมเสียสภาพทำให้จับกับสลิโอโซมได้ดีขึ้น จึงติดสลิโอโซมเพิ่มขึ้น เอนไซม์หลายชนิดจากไลโซโซมออกมาย่อยโปรตีน กรดนิวคลีอิก และออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ภายในเซลล์กลายเป็นเศษเล็ก ๆ สามารถจำแนกการตายของเซลล์จากการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสได้ดังนี้ โครมาตินภายในนิวเคลียสรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนอัดกันแน่นและเกาะติดอยู่กับเยื่อหุ้มนิวเคลียสหรือนิวคลีโอลัส เรียกว่า pyknosis ต่อจากนั้นโครมาตินอาจสลายตัว เรียกว่า karyolysis เกิดจากเอนไซม์ DNAase จากไลโซโซมมาย่อย หรือโครมาตินอาจแตกตัวออกเป็นชิ้น ๆ เรียกว่า karyorrhexis ในที่สุดนิวเคลียสจะสลายไป รวมทั้งเยื่อหุ้มเซลล์แตกออกจนไม่เห็นโครงสร้างเดิม (Kumar *et al.*, 2005a)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

หนูขาวสายพันธุ์วิสตาห์ เพศผู้จำนวน 25 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 115.45 กรัม และเพศเมีย 25 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 110.82 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม เลี้ยงในกรงที่ทำจากเหล็กไร้สนิม กรงละ 2-3 ตัว ภายในห้องปฏิบัติการเลี้ยงสัตว์ทดลอง ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อุณหภูมิ 24 ± 2 องศาเซลเซียส ปรับมืด-สว่าง ความชื้นสัมพัทธ์ ใช้อุณหภูมิเป็นวัฏจักรนอน ให้น้ำและอาหารเม็ดสำเร็จรูปอย่างไม่จำกัดทุกวัน วันละ 1 ครั้ง พักหนูก่อนการทดลอง 7 วัน เพื่อให้หนูทดลองปรับตัวเข้ากับห้องปฏิบัติการ

2. สารสกัด

สารสกัดหยาุดอกขาวที่สกัดด้วยน้ำ เป็นผลิตภัณฑ์สกัด สี่เขียวเข้มแถมน้ำตาล โดยพืชแห้ง 200 กรัมสกัดได้สาร 12.5 กรัมได้รับความอนุเคราะห์สารสกัดจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

3. วิธีการทดลอง

3.1 นำสารสกัดหยาุดอกขาวมาเจือจางในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 20, 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ป้อนสารสกัดหยาุดอกขาวที่ละลายในน้ำให้หนูทดลองทางปากโดยใช้ stomach tube

3.2 แบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วย หนูเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 5 ตัว ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น เพื่อควบคุมปัจจัยความเครียด เนื่องจากการป้อนสาร

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลองที่ 1 ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มทดลองที่ 2 ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มทดลองที่ 3 ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มทดลองที่ 4 ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

3.3 หนูทดลองทุกตัวได้รับสารสกัดหญาดอกขาว และน้ำกลั่นสำหรับกลุ่มควบคุม ในเวลา 10.00-11.00 น. ของทุกวัน ก่อนให้น้ำและอาหาร ติดต่อกันนาน 7 วัน เมื่อครบแล้วหยุดให้สารสกัดเป็นเวลา 7 วันติดต่อกัน และในวันที่ 15 สลับหนูทดลองด้วยไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดและเนื้อเยื่อไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อต่อไป

4. วิธีทดสอบผลของสารสกัด

4.1 ผลต่อการเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักหนูทดลองทุกวัน วันละ 1 ครั้ง ก่อนป้อนสารสกัด เปรียบเทียบน้ำหนักของหนูทดลองทั้ง 5 กลุ่ม ที่ชั่งในวันที่ 0, 7 และ 14 ของการทดลอง รวมทั้งหาผลต่างของน้ำหนัก

ระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 14 นำไปวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหนูทดลองทั้ง 5 กลุ่ม

4.2 ผลต่อการตายและพฤติกรรม

สังเกตการตาย และการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม คือ อัตราการกินน้ำและอาหาร ตลอดจนความกระตือรือร้นต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงภายนอก คือ ขน ผิวหนัง และตา ของหนูทดลองทุกตัวตามวิธีการของ Latha *et al.* (2010) นับตั้งแต่วันแรกที่ได้รับสารสกัด จนถึงวันเก็บตัวอย่าง โดยสังเกตทุกวันก่อนและหลังป้อนสารสกัด เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างหนูทดลองทั้ง 5 กลุ่ม

4.3 ผลทางโลหิตวิทยา

4.3.1 การเจาะเลือดจากหัวใจ

ในวันที่ 15 ของการทดลอง นำหนูทดลองด้วยการดมไธเอทิลอีเทอร์แล้วเปิดช่องอกของหนูเจาะเก็บเลือดจากหัวใจ ใช้กระบอกฉีดยาคูดเลือดให้ได้ประมาณ 3 มิลลิลิตร ปล่อยให้เลือดแข็งแล้วนำเลือดใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นจึงนำไปตรวจสอบผลทางโลหิตวิทยาดังต่อไปนี้

4.3.2 การตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit)

ใช้ heparinized capillary tube คูดเลือดให้ได้ประมาณ 2 ใน 3 ของหลอด ปิดปลายหลอดด้วยดินน้ำมัน ปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่อง Hematocrit Centrifuge (Hettich Zentrifugen, universal 16R) ด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที (rpm) นาน 10 นาที อ่านค่าด้วย Microhematocrit Reader บันทึกปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าที่ได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (สุทธิพรณ, 2547)

4.3.3 การวัดปริมาณฮีโมโกลบิน (Hemoglobin)

ใช้ปิเปตดูดเลือด 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี Drabkin's solution บรรจุอยู่ 5 มิลลิลิตร เป่าเบาๆ ให้น้ำยาผสมกับเลือด ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Spectronic 20 genesys) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ใช้ Drabkin's solution เป็น blank จากนั้นนำค่าที่อ่านได้มาเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบิน (กุลนภา, 2547)

4.3.4 การนับจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิด (Differential White Blood Cell Count)

นำเลือดที่เจาะได้ไปผสมกับน้ำอะลูมิเนียมอะซิเตต ทิ้งไว้ให้แห้ง ตรึงสภาพโดยจุ่มใน methanol ทิ้งให้แห้ง จากนั้นนำไปย้อมสี Wright-Giemsa แล้วมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิด โดยนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด 100 เซลล์ต่อ 1 สไลด์ ต่อหลอดลอง 1 ตัว (ไพเกษม, 2547)

4.4 ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะ

4.4.1 ขนาดของอวัยวะ (Relative Organ Weight)

หลังจากสับหนูทดลองด้วยไคเอทิลอีเทอร์ และเก็บเลือดแล้ว ผ่าเปิดหน้าท้อง เก็บตัวอย่างอวัยวะที่ต้องการศึกษา นำตับ ไต ม้าม และอวัยวะของหนูทดลองแต่ละตัวไปชั่งน้ำหนัก เนื่องจากรังไข่ของหนูทดลองทุกตัวมีขนาดเล็กและมีไขมันห่อหุ้มหนาแน่นมากไม่สามารถนำมาชั่งน้ำหนักได้ จึงไม่ได้ชั่งน้ำหนักรังไข่ นำค่าน้ำหนักที่ชั่งมาคำนวณหาสัดส่วนน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม แล้วนำข้อมูลที่ได้อ้างอิงทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสัดส่วนน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวระหว่างหนูทดลองทั้ง 5 กลุ่ม

4.4.2 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

หลังจากชั่งน้ำหนักอวัยวะในข้อ 4.4.1 แล้ว นำอวัยวะทั้งหมด ได้แก่ ตับ ไต ม้าม ต่อมไทมัส กระเพาะอาหาร ปอด อวัยวะและรังไข่ ล้างด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วคงสภาพใน neutral buffered formalin ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ให้มีขนาด 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำประปา โดยเปิดให้น้ำประปาไหลผ่านตลอดเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

นำเนื้อเยื่อผ่านกระบวนการพาราฟินเทคนิคตามวิธีของ Spencer and Bancroft (2008) ตั้งแต่กระบวนการกำจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อจนถึงการแทรกซึมด้วยพาราพลาสติก (paraplast) ในเครื่อง Automatic Tissue Processor (Shadon Citadel 2000) จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ได้ไปฝังในพาราพลาสติกด้วยเครื่อง Tissue Embedding Center (Leica EG1160) ตัดเป็นแผ่นบางๆ (section) ด้วย rotary microtome (Leica RM2145) ให้มีความหนา 5 ไมโครเมตร ลอยในอ่างน้ำอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ตัดแล้วไปติดบนสไลด์ ย้อมสี Hematoxylin & Eosin เพื่อนำไปตรวจการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อด้วยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย Best'Carmine เพื่อดูการสะสมไกลโคเจน (Mollary, 1942)

4.4.3 การวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

4.4.3.1 เนื้อเยื่อตับ

นับจำนวนเซลล์ตับที่มีขนาดใหญ่ (hypertrophy) เซลล์ตับที่มี 2 นิวเคลียส (binucleated cell) เซลล์ตับที่นิวเคลียสเกิด pyknosis และเซลล์ตับที่ตายแบบ necrosis จากตับของหนูแต่ละตัว ตัวละ 3 บริเวณ แต่ละบริเวณมีพื้นที่ 600×800 ไมโครเมตร

4.4.3.2 เนื้อเยื่อไต

นับจำนวน glomerulus ที่หดตัวและ glomerulus ที่สลายตัว จากไตของหนูแต่ละตัว ตัวละ 3 บริเวณ แต่ละบริเวณมีพื้นที่ 3000×4000 ไมโครเมตร

4.4.3.3 เนื้อเยื่อ้าม

นับจำนวน giant cell จาก้ามของหนูแต่ละตัว ตัวละ 3 บริเวณ แต่ละบริเวณมีพื้นที่ 600×800 ไมโครเมตร

4.4.3.4 เนื้อเยื่ออัณฑะ

นับจำนวน spermatogenic cell 5 ระยะ แต่ละระยะมีลักษณะดังต่อไปนี้

ก. spermatogonium เป็นเซลล์รูปร่างรี อยู่ชั้นนอกสุดของ seminiferous tubule วางตัวแนวนอนติดกับ basal lamina

ข. primary spermatocyte เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรี ขนาดใหญ่กว่า spermatogonium มักพบนิวเคลียสอยู่ในระยะใดระยะหนึ่งของ karyokinesis อยู่ในบริเวณถัดเข้ามาจาก spermatogonium

ค. spermatid stage I (round spermatid) เซลล์รูปร่างกลม ขนาดเป็นหนึ่งในสี่ของ primary spermatocyte นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ อยู่ในบริเวณต่อจาก primary spermatocyte

ง. spermatid stage II (elongated spermatid) เซลล์รูปร่างรี นิวเคลียสรี อยู่เกือบชิดด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ อยู่ใกล้ lumen ของ seminiferous tubule

จ. spermatid stage III (nuclear condensed spermatid) นิวเคลียสอัดตัวแน่น ติดสีเข้ม แทบไม่เห็นบริเวณของไซโทพลาสซึม เนื่องจากไซโทพลาสซึมส่วนเกินถูกกำจัดออกไปเกือบหมดแล้ว เซลล์ระยะนี้อยู่ใกล้ lumen มากที่สุด

นับจากอันทะของหนูแต่ละตัว ตัวละ 10 บริเวณ แต่ละบริเวณมีพื้นที่ 200×200 ไมโครเมตร

4.4.3.5 เนื้อเยื่อรังไข่

นับจำนวน follicle ระยะต่างๆ โดยปรับปรุงจากวิธีของ Hirshfield and Midgley (1978) และ Koji *et al.* (2007) ดังต่อไปนี้

ก. primordial follicle ประกอบด้วย oocyte ที่ถูกล้อมรอบด้วย follicular cell ชนิด simple squamous epithelium เพียงชั้นเดียว

ข. unilaminar primary follicle ประกอบด้วย oocyte ที่ถูกล้อมรอบด้วย follicular cell ชนิด cuboidal epithelium เพียงชั้นเดียว

ค. multilaminar primary follicle ประกอบด้วย oocyte ที่ถูกล้อมรอบด้วย follicular cell ชนิด cuboidal epithelium หลายชั้นเรียกว่า granulosa cell แต่ยังไม่มีช่องว่างระหว่าง granulosa cell

ง. secondary follicle stage I พบช่องว่างขนาดเล็กระหว่าง granulosa cell หลายบริเวณ follicle มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 400 ไมโครเมตร

จ. secondary follicle stage II ระหว่าง granulosa cell พบช่องว่างขนาดใหญ่กว่า secondary follicle stage I ขนาดของ follicle มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 400 ไมโครเมตร

ฉ. mature follicle พบช่องว่างขนาดใหญ่ระหว่าง granulosa cell เพียงแค่ช่องเดียว และ oocyte ถูกดันไปติดอยู่ที่ผนังด้านใดด้านหนึ่งของ follicle โดย follicle มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 600 ไมโครเมตร

ซ. corpus luteum ประกอบด้วย granulosa lutein cell จำนวนมาก ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และไซโทพลาสซึมติดสีชมพู อาจพบบริเวณที่เป็นช่องว่างและมีเลือดคั่งอยู่

ซ. atretic follicle ภายใน follicle พบ granulosa cell ตายเป็นจำนวนมาก และขอบเขตของ follicle ไม่เรียบ ในบาง follicle อาจพบการเสื่อมสลาย oocyte ด้วย

แล้วนำ follicle แต่ละระยะมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวน follicle ที่พบทั้งหมด

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย one-way ANOVA เปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Tukey Range Test และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างเพศด้วย Independent t-test

6. สถานที่และระยะเวลาทำวิจัย

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ เริ่มทำวิจัยตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2552 ถึงสิ้นเดือนตุลาคม 2555 รวมเวลาทั้งสิ้น 3 ปี 4 เดือน

ผลการทดลอง

1. ผลต่อการเจริญเติบโต

เมื่อชั่งน้ำหนักหนูเพศผู้และเพศเมียกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้น ในวันที่ 0, 7 และ 14 ของการทดลอง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งสองเพศ ส่วน น้ำหนักตัวหนูทั้งสองเพศระหว่างการทดลองเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มและไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 น้ำหนักของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวที่เวลา 0, 7 และ 14 วัน และ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg/day)	เพศ	น้ำหนัก (g)			
		0	7	14	น้ำหนักเพิ่มขึ้น
0	ผู้	117.64±1.80	170.88±2.46	207.98±3.35	90.34 ±2.08
	เมีย	108.04±3.31*	146.38±2.65*	165.70±2.25*	57.66 ±1.65*
20	ผู้	114.06±1.27	170.12±2.04	201.88±3.05	87.82±2.46
	เมีย	110.36±1.98	145.80±3.07*	162.54±4.43*	52.18±2.82*
100	ผู้	116.90±2.08	174.98±3.66	209.42±5.52	92.52±4.12
	เมีย	108.56±2.63*	144.88±4.26*	164.82±5.63*	56.26±4.00*
500	ผู้	116.92±0.89	176.06±3.48	202.80±3.11	85.88±2.84
	เมีย	116.44±2.96	149.68±3.49*	166.02±3.93*	49.58±1.59*
2500	ผู้	111.72±3.06	174.34±2.76	204.00±4.56	92.28±7.31
	เมีย	110.70±3.75	142.82±3.40*	158.12±4.42*	47.42±3.40*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเพศผู้และเพศเมีย ($P < 0.05$)

2. ผลต่อการตายและการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม

จากระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 15 วัน ไม่มีหนูทดลองตาย หนูเพศผู้และเพศเมียทุกกลุ่ม กินน้ำและอาหารได้ในปริมาณไม่แตกต่างกัน แต่หนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีความกระตือรือร้นและเคลื่อนไหวมากกว่าหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนลักษณะภายนอก คือ ขน ผิวหนัง และตา ของหนูทดลองเพศผู้และเพศเมียทุกกลุ่ม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งก่อนและหลังได้รับสารสกัดหญาดอกขาวและไม่แตกต่างจากวันแรกที่เริ่มได้รับสารสกัด

3. ผลทางโลหิตวิทยา

3.1 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) และความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin)

เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นของหนูเพศผู้และเพศเมียหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) เช่นเดียวกับกับความเข้มข้นของฮีโมโกลบินของหนูเพศผู้และเพศเมียหลังจากได้รับสารสกัดหญาดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

3.2 จำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิด (Differential White Blood Cell Count)

จำนวนลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล โมโนไซต์ อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้กับเพศเมียในกลุ่มเดียวกัน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและความเข้มข้นของฮีโมโกลบินของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg/day)	เพศ	ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น(%)	ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน(g%)
0	ผู้	61.80±3.75	13.26±2.45
	เมีย	58.93±3.92	19.18±1.91
20	ผู้	57.10±3.21	16.46±1.98
	เมีย	47.80±3.66	15.46±1.61
100	ผู้	50.00±2.71	17.21±1.50
	เมีย	63.40±3.26	16.11±1.60
500	ผู้	61.40±4.33	16.84±1.14
	เมีย	47.70±3.39	16.60±1.90
2500	ผู้	49.60±3.29	14.07±1.27
	เมีย	60.27±4.03	16.25±1.09

ตารางที่ 4 จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิดของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg/day)	เพศ	จำนวนเม็ดเลือดขาว (เซลล์)				
		ลิมโฟไซต์	นิวโทรฟิล	โมโนไซต์	อีโอซิโนฟิล	เบโซฟิล
0	ผู้	74.20±1.37	17.00±1.76	7.60±1.07	1.00±1.00	0.20±0.67
	เมีย	73.80±1.33	16.80±1.72	8.20±1.28	1.20±1.14	0.00±0.00
20	ผู้	74.60±1.35	17.20±1.14	7.00±1.19	1.00±0.84	0.20±0.67
	เมีย	73.60±1.70	17.00±1.53	8.00±1.26	1.20±0.91	0.00±0.00
100	ผู้	75.00±0.84	16.80±1.39	7.00±0.84	1.20±1.14	0.00±0.00
	เมีย	73.40±0.95	16.80±0.91	8.40±1.35	1.40±1.40	0.00±0.00
500	ผู้	74.20±1.22	17.20±1.14	7.20±1.34	1.20±1.05	0.20±0.67
	เมีย	72.60±1.16	18.00±1.26	8.00±1.00	1.40±1.07	0.00±0.00
2500	ผู้	73.00±0.84	17.80±1.22	8.20±1.39	1.00±0.84	0.00±0.00
	เมีย	73.80±1.39	17.80±1.22	7.20±0.91	1.20±1.05	0.00±0.00

4. ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะ

4.1 ขนาดของอวัยวะ (Relative Organ Weight)

น้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัด
หญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้กับเพศเมีย
ในกลุ่มเดียวกัน (ตารางที่ 5)

น้ำหนักไตต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัด
หญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้กับเพศเมีย
ในกลุ่มเดียวกัน (ตารางที่ 5)

น้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัด
หญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้กับเพศเมีย
ในกลุ่มเดียวกัน (ตารางที่ 5)

น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสาร
สกัดหญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัม หลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว
(ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg/day)	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)			
		ตับ	ไต	ม้าม	อวัยวะ
0	ผู้	4.48±0.05	0.85±0.04	0.32±0.02	1.28±0.06
	เมีย	4.38±0.13	0.81±0.03	0.30±0.01	-
20	ผู้	4.10±0.15	0.87±0.03	0.33±0.02	1.31±0.08
	เมีย	4.21±0.16	0.91±0.02	0.32±0.01	-
100	ผู้	4.33±0.19	0.89±0.03	0.35±0.02	1.46±0.06
	เมีย	3.88±0.14	0.85±0.04	0.31±0.02	-
500	ผู้	4.08±0.07	0.84±0.03	0.29±0.02	1.36±0.09
	เมีย	3.99±0.11	0.85±0.03	0.28±0.01	-
2500	ผู้	4.10±0.10	0.82±0.02	0.31±0.01	1.29±0.06
	เมีย	3.84±0.13	0.85±0.03	0.28±0.02	-

4.2 พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

4.2.1 พยาธิสภาพของตับ

จากการตรวจสอบเนื้อเยื่อตับของหนูที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวทุกความเข้มข้น พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมีลักษณะไม่แตกต่างกันระหว่างหนูเพศผู้และเพศเมีย แต่มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดดังนี้

เซลล์ตับของหนูทดลองทุกกลุ่ม พบแวคิวโอลขนาดแตกต่างกันอยู่ในไซโทพลาสซึม เมื่อตรวจสอบด้วยการย้อมสี Best'Carmine พบว่าภายในแวคิวโอลไม่มีไกลโคเจนสะสมอยู่ ดังนั้นแวคิวโอลที่มีลักษณะบุนจิงน่าจะเป็นชนิด vesicular body มีไขมันสะสมอยู่ภายใน

ส่วนเวคิวโอลที่มีลักษณะใสเป็นเวคิวโอลที่เกิดจากการขาดหลุดของออร์แกเนลล์ ได้แก่ เอนโดพลาสมิก เรติคิวลัมชนิดหยาบ หรือ กอลจิบอดี

กลุ่มเซลล์ตับรอบ central vein ของหนูทุกตัวในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาว 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี vesicular body ขนาดแตกต่างกันอยู่ในไซโทพลาสซึมมากกว่าเซลล์ในบริเวณอื่น เซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (hypertrophy) เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส เซลล์ที่เกิด pyknosis และเซลล์ที่เกิด necrosis มีจำนวนไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 1A, 1B, 12A และ 2B)

หนูทุกตัวในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาว 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม รอบๆ central vein พบเซลล์ตับที่มี vesicular body ขนาดแตกต่างกันอยู่ในไซโทพลาสซึมกระจายวงกว้างกว่าที่พบในกลุ่มควบคุม และพบในบริเวณอื่นเพิ่มขึ้นด้วย พบกลุ่มเม็ดเลือดขาว ได้แก่ lymphocyte และ plasma cell อยู่รวมกัน 7-20 เซลล์ใน sinusoid และบริเวณ central vein เซลล์ที่มีขนาดใหญ่และเซลล์ที่เกิด pyknosis มีจำนวนไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสและเซลล์ที่เกิด necrosis มีจำนวนมากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 3A และ 3B)

หนูทุกตัวในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาว 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เริ่มพบการเสื่อมสลายแบบมีเวคิวโอล (vacuolar degeneration) ของเซลล์ตับที่อยู่รอบ central vein เป็นบริเวณกว้างและพบเซลล์ตับที่มี vesicular body หนาแน่นกระจายอยู่รอบ portal area บริเวณ central vein และ sinusoid มีกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ประกอบด้วย lymphocyte และ plasma cell มีจำนวนมากกว่าที่พบในหนูที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และเริ่มพบ macrophage อยู่ด้วย เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส มีจำนวนไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม ส่วนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เซลล์ที่เกิด pyknosis และเซลล์ที่เกิด necrosis มีจำนวนมากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 4A และ 4B)

หนูทุกตัวในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม การเสื่อมสลายแบบมีแวกิวโอลของเซลล์ตับพบได้เป็นบริเวณกว้างทั้งรอบ central vein และ portal area ยังคงพบกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่บริเวณ central vein และ sinusoid แต่บางกลุ่มเซลล์ส่วนใหญ่เป็น macrophage เกือบทั้งหมด เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสและเซลล์ที่เกิด pyknosis มีจำนวนไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม ส่วนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และเซลล์ที่เกิด necrosis มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 5A, 5B และ 5C)

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	เซลล์ที่มี ขนาดใหญ่	เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส	เซลล์ที่เกิด pyknosis	เซลล์ที่เกิด necrosis
0	ผู้	1.80±0.23	7.94±0.99	1.27±0.54	8.27±0.70
	เมีย	1.54±0.13	8.80±0.51	1.13±0.25	7.33±0.45
20	ผู้	3.00±0.41	8.40±0.87	1.40±0.29	9.40±0.66
	เมีย	2.73±0.36	8.47±0.65	1.73±0.51	12.13±1.26
100	ผู้	3.47±0.64	12.53±0.78*	2.33±0.24	17.07±0.99*
	เมีย	3.80±0.46	13.80±0.78*	2.67±0.33	18.80±0.51*
500	ผู้	7.27±0.49*	9.93±0.94	2.80±0.34*	26.13±1.65*
	เมีย	6.87±0.81*	10.07±0.49	2.93±0.36*	29.80±2.85*
2500	ผู้	5.73±0.78*	10.67±0.41	2.46±0.23	56.20±4.04*
	เมีย	5.47±0.70*	11.07±0.40	2.40±0.32	52.00±3.42*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มควบคุม

1A เซลล์ตับรอบ central vein (CV) มี vesicular body (V) ขนาดแตกต่างกันใน

ไซโทพลาสซึม

1B ภาพขยายเซลล์ตับรอบ central vein (CV) แสดง vesicular body (V) ขนาดแตกต่างกัน

ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อ

น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

2A เซลล์ตับรอบ central vein (CV) ที่มี vesicular body (V) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

2B ภาพขยายของเซลล์ตับรอบ central vein (CV) มี vesicular body (V) อยู่ใน

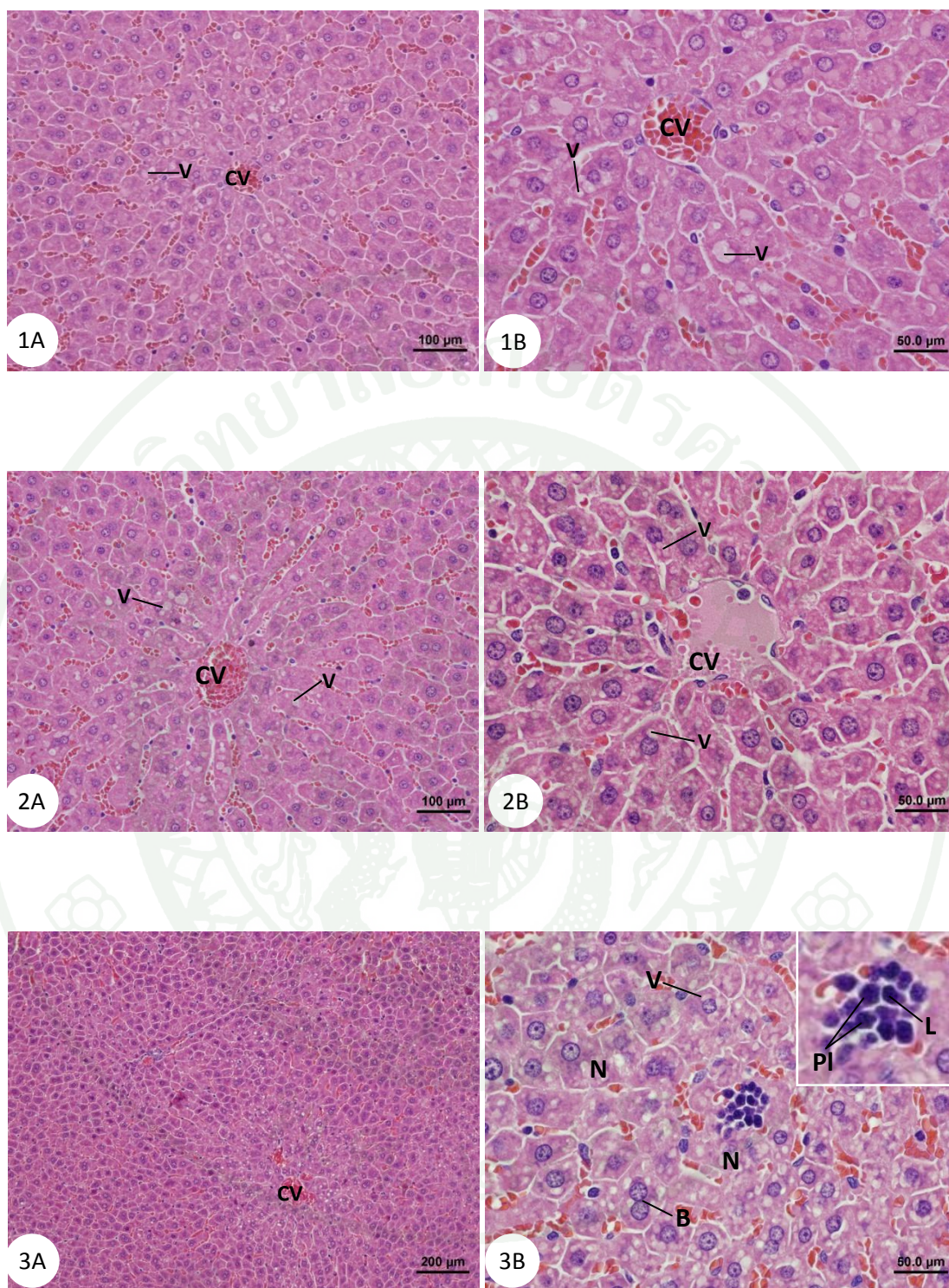
ไซโทพลาสซึม

ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อตับของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อ

น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

3A เซลล์ตับที่มี vesicular body ขนาดแตกต่างกันในไซโทพลาสซึมกระจายเป็นบริเวณกว้างมากขึ้นรอบ central vein (CV)

3B กลุ่ม lymphocyte (L) และ plasma cell (Pl) แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับ (ภาพขยาย) เซลล์ตับที่มี vesicular body ขนาดแตกต่างกันในไซโทพลาสซึมและบริเวณที่เซลล์ตายแบบ necrosis (N) มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น



ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อตับของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม
ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

4A เซลล์ตับที่มี vesicular body (V) ขนาดแตกต่างกันในไซโทพลาสซึมกระจายเป็น
บริเวณกว้างมากขึ้น รอบ central vein (CV)

4B เซลล์ตับที่เกิด vacuolar degeneration (VD) เซลล์ตับที่มี vesicular body (V) ในไซ
โทพลาสซึมและบริเวณเซลล์ตับที่ตายแบบ necrosis (N)

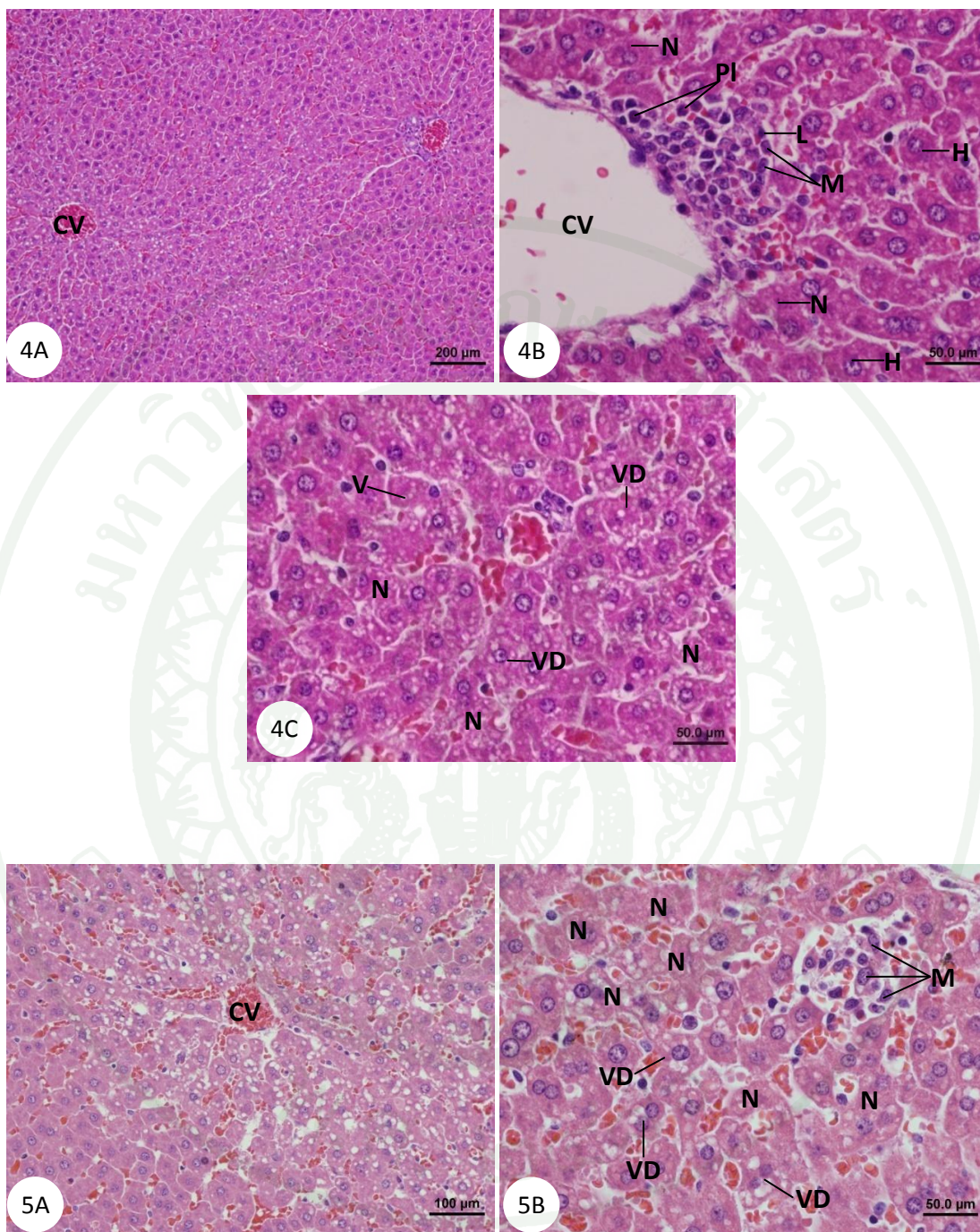
4C กลุ่ม lymphocyte (L), plasma cell (PI) และ macrophage (M) แทรกในเนื้อเยื่อตับ
เซลล์ตับที่มีขนาดใหญ่ (H) และบริเวณที่เซลล์ตับตายแบบ necrosis (N)

ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อตับของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500
มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

5A รอบ central vein (CV) เซลล์ตับที่มี vesicular body ขนาดแตกต่างกันใน
ไซโทพลาสซึมหนาแน่นกระจายเป็นบริเวณกว้างมากขึ้น และพบบริเวณที่เกิด
vacuolar degeneration

5B ภาพขยายเซลล์ตับรอบ central vein (CV) ที่เกิด vacuolar degeneration (VD)

5C กลุ่ม macrophage (M) แทรกในเนื้อเยื่อตับ บริเวณที่เซลล์ตับตายแบบ necrosis (N)
และเซลล์ตับที่เกิด vacuolar degeneration (VD)



4.2.2 พยาธิสภาพของไต

จากการตรวจสอบเนื้อเยื่อไตของหนูทดลองทั้ง 2 เพศ พบความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันระหว่างเพศ และพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงได้ในหนูทุกตัวทั้งเพศผู้และเพศเมีย ดังนี้

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม บาง glomerulus สลายตัว (glomerular degeneration) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 7) ส่วน proximal และ distal tubular epithelial cell ตายเพียงบางเซลล์ ซึ่งมีลักษณะการตายไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 6A, 6B, 7A และ 7B)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เริ่มพบ glomerulus หดตัว (shrinkage) ส่วน glomerulus ที่สลายมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7) การสลายตัวของ glomerulus รุนแรงกว่าที่พบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากพบ glomerulus สลายทั้งอันและมีเซลล์ของ parietal layer ตายร่วมด้วย นอกจากนี้ Bowman's capsule บางอันมีการซ่อมแซม parietal layer โดยพบ epithelial cell ขนาดเล็กเพิ่มขึ้น proximal และ distal tubular epithelial cell เกิด necrosis เพิ่มขึ้น พบเซลล์ตายทั้งท่อจำนวนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม บางท่อพบ tubular epithelial cell มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ติดสีจาง พบเป็นกลุ่มอยู่รอบ glomerulus (ภาพที่ 8A, 8B, 8C และ 8D)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม glomerulus ที่หดเล็กลงและสลายตัวมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7) และมีความรุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากพบ glomerulus ที่สลายตัวหมดทั้งอันจนเห็นเป็นเพียงช่องว่างมีจำนวนมากขึ้น ยังคงพบเซลล์ของ parietal layer ตายและ parietal layer ที่มีการซ่อมแซม แต่พบได้น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม proximal และ distal tubular epithelial cell

เกิด necrosis แบบทั้งท่อมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ยังคงพบท่อที่ tubular epithelial cell มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ติดสีจางอยู่รวมเป็นกลุ่มรอบ glomerulus แต่จำนวนท่อต่อกลุ่มน้อยกว่าที่พบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 9A, 9B, 9C และ 9D)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหนุ้าดอกขาว 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เกิดความเสียหายของ glomerulus รุนแรงที่สุด glomerulus ที่หดเล็กลงและสลายตัว มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7) glomerulus ที่สลายตัวทั้งหมดจนพบแต่เพียงช่องว่างมีมากที่สุด proximal และ distal tubular epithelial cell เกิด necrosis แบบทั้งท่อกระจายเป็นบริเวณกว้างมากขึ้นและมีความรุนแรงมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่พบกลุ่มท่อที่ tubular epithelial cell มีนิวเคลียสขนาดใหญ่รวมทั้งการซ่อมแซม parietal layer ในกลุ่มทดลองความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 10A และ 10B)

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของ glomerulus ในหนูหลังจากได้รับสารสกัดหนุ้าดอกขาวความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	หัตถ์		สลายตัว	
	เพศผู้ (ตัว)	เพศเมีย (ตัว)	เพศผู้ (ตัว)	เพศเมีย (ตัว)
0	0.00±0.00	0.00±0.00	1.20±0.45	1.13±0.08
20	0.00±0.00	0.00±0.00	1.60±0.29	1.87±0.44
100	1.47±0.20	1.13±0.31	4.27±0.81*	6.00±1.12*
500	2.47±0.39*	2.20±0.17*	6.27±0.88*	5.20±0.39*
2500	4.87±0.81*	3.93±0.65*	11.07±0.83*	9.06±0.88*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มควบคุม

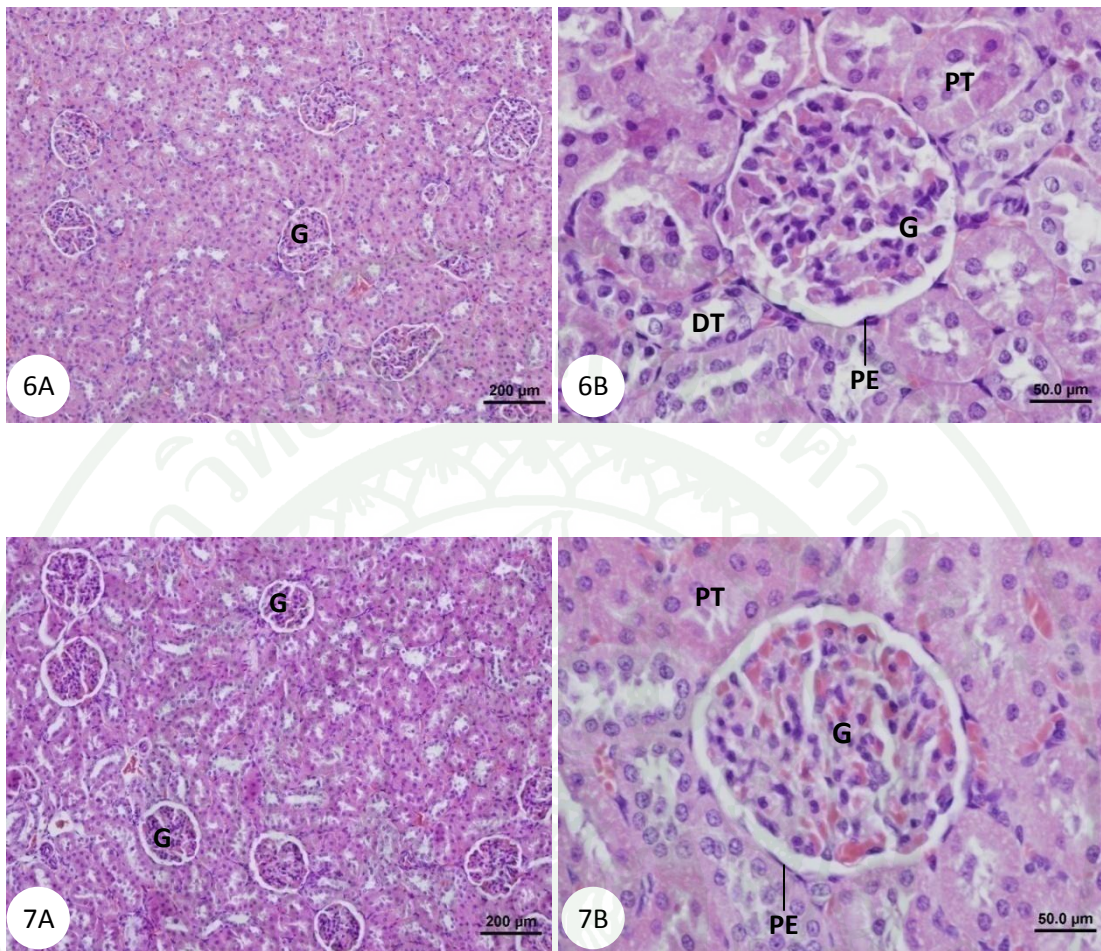
6A glomerulus (G)

6B glomerulus (G) ภายใน Bowman's capsule ที่เห็น parietal layer (PE) ชัดเจน, proximal tubule (PT) ที่เซลล์มีขนาดใหญ่ และ distal tubule (DT) ที่ epithelial cell มีรูปร่าง cuboid

ภาพที่ 7 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

7A glomerulus (G) ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

7B ภาพขยาย glomerulus (G), parietal layer (PE) ที่มีเซลล์เรียงตัวชั้นเดียว และ proximal tubule (PT) ที่มี epithelial cell ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม



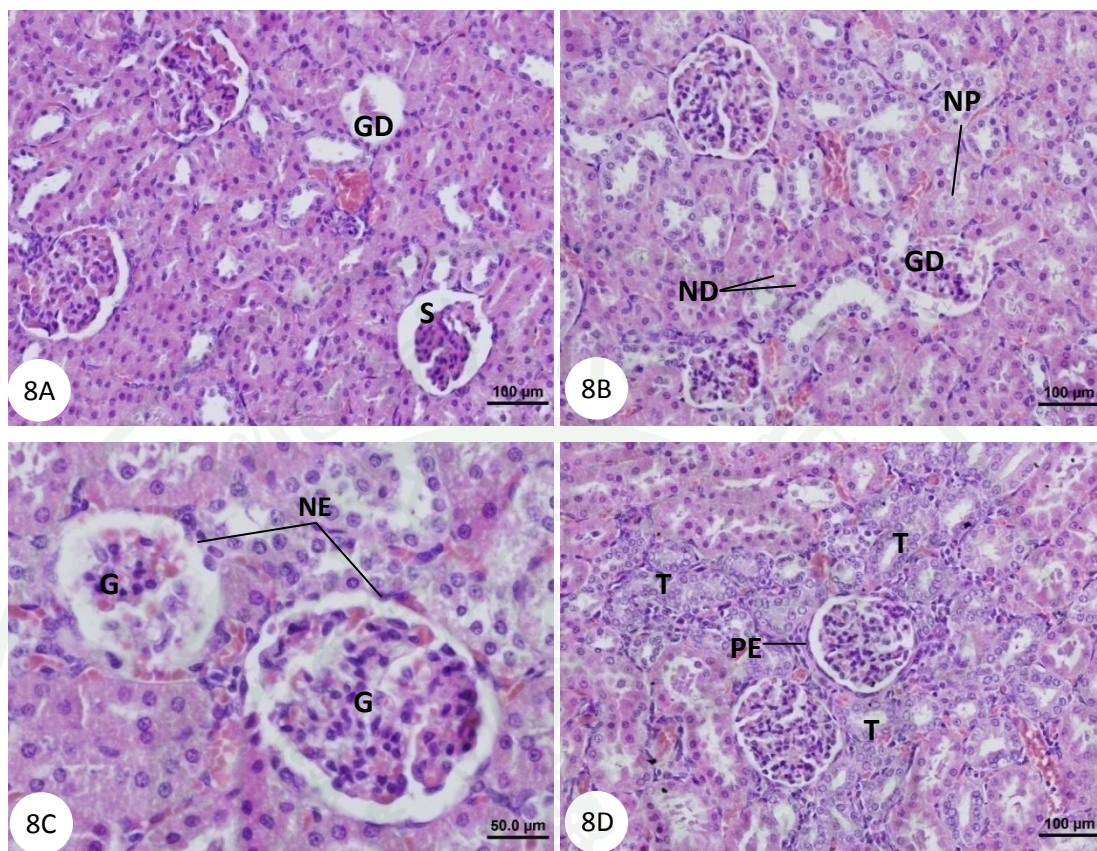
ภาพที่ 8 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

8A glomerulus ที่สลายตัว (GD) เห็นเศษเซลล์อยู่ภายใน และ glomerulus ที่เริ่มหดตัว (S)

8B glomerulus ที่กำลังสลายตัว (GD) ภายในมีเซลล์ที่ตายแบบ necrosis, proximal tubular epithelial cell (NP) และ distal tubular epithelial cell (ND) ที่ตายแบบ necrosis

8C Bowman's capsule กำลังสลายตัว มี epithelial cell ที่บุ parietal layer (PE) และ glomerulus (G) ที่ตายแบบ necrosis

8D กลุ่มท่อ (T) ที่ epithelial cell ติดสีจาง มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ กระจายเป็นหย่อม และ parietal layer (PE) ที่มีการซ่อมแซม



ภาพที่ 9 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

9A glomerulus ที่สลายตัว (GD) และ glomerulus ที่หดตัวแน่น (S)

9B glomerulus ที่สลายตัว (GD) มีเศษเซลล์อยู่ภายใน, glomerulus ที่หดตัวแน่น (S), proximal tubular epithelial cell (NP) และ distal tubular epithelial cell (ND) ที่ตายแบบ necrosis

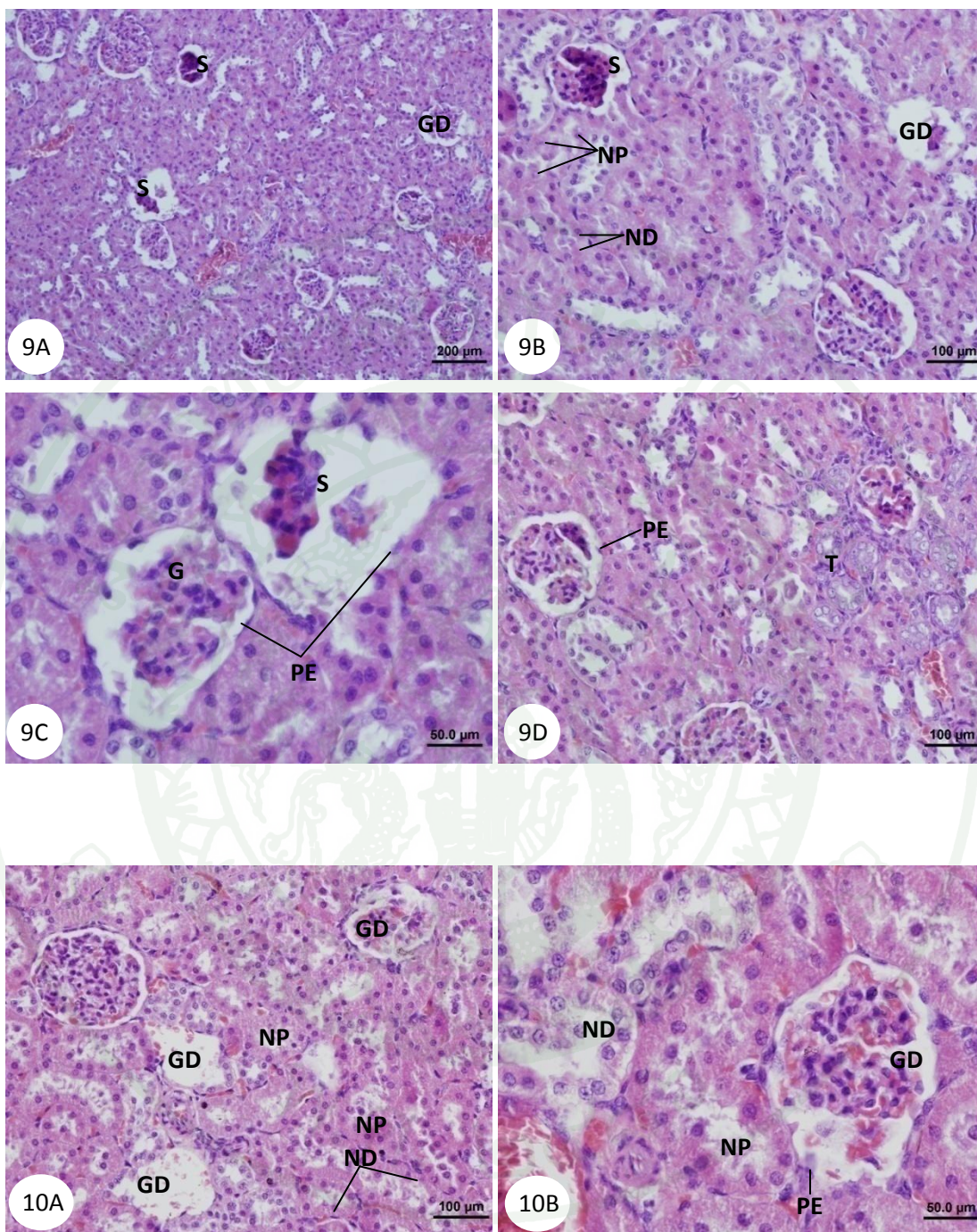
9C Bowman's capsule ที่กำลังสลาย มี parietal layer (PE) ตายแบบ necrosis, glomerulus (G) ตายแบบ necrosis และ glomerulus ที่หดตัว (S)

9D tubular epithelial cell ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ (T) และ parietal layer (PE) ที่เกิด necrosis

ภาพที่ 10 เนื้อเยื่อไตของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

10A glomerulus ที่สลายตัว (GD) รุนแรง บางอันเหลือเพียงเศษเซลล์, proximal tubular epithelial cell (NP) และ distal tubular epithelial cell (ND) ที่ตายแบบ necrosis

10B Bowman's capsule ที่กำลังสลาย มี glomerulus ที่กำลังสลาย (GD) เซลล์ parietal layer (PE) บางเซลล์ตายแบบ necrosis



4.2.3 พยาธิสภาพของม้าม

เนื้อเยื่อม้ามของหนูทุกกลุ่มมี white pulp ขนาดไม่สม่ำเสมอ พบทั้งขนาดเล็กและใหญ่อยู่ปะปนกัน และกระจายตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยขนาด ปริมาณและการกระจายตัวของ white pulp รวมทั้งอัตราส่วนของ white pulp ต่อ red pulp ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน ไม่พบบริเวณที่มีเซลล์ตาย และลักษณะเนื้อเยื่อม้ามของหนูเพศผู้กับเพศเมียในกลุ่มเดียวกันก็ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 11A และ 12A)

ในเนื้อเยื่อม้ามพบ giant cell ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทั้ง 4 ความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบจำนวน giant cell ที่พบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่ามีมากกว่าในกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีจำนวน giant cell มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จำนวน giant cell ระหว่างเพศผู้และเพศเมียในกลุ่มเดียวกันไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 8 และภาพที่ 11B และ 12B)

ตารางที่ 8 จำนวน giant cell ที่พบในม้ามของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg/day)	จำนวน giant cell (เซลล์)	
	เพศผู้	เพศเมีย
0	1.18±0.53	1.06±0.57
20	1.52±0.52	1.32±0.36
100	1.72±0.60	1.76±0.39
500	1.92±0.33*	1.80±0.52*
2500	2.78±1.04*	2.90±1.09*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

4.2.4 พยาธิสภาพของต่อมไทมัส

ลักษณะเนื้อเยื่อของต่อมไทมัสของหนูทั้งสองเพศที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมทั้งบริเวณ cortex และ medulla โดยไม่พบลักษณะผิดปกติและไม่พบบริเวณที่ลิมโฟไซต์ตาย ลักษณะเนื้อเยื่อไม่แตกต่างกันระหว่างหนูเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 13 และ 14)

4.2.5 พยาธิสภาพของปอด

เยื่อปอดแบบ simple cuboidal epithelium บริเวณ respiratory bronchiole รวมทั้งบริเวณ alveolar duct และบริเวณถุงลมที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาบดอกขาวทุกความเข้มข้น มีลักษณะปกติเหมือนกลุ่มควบคุม ไม่พบบริเวณเซลล์ตาย และไม่มี ความแตกต่างระหว่างหนูเพศผู้กับหนูเพศเมีย (ภาพที่ 15A, 15B, 16A และ 16B)

ภาพที่ 11 เนื้อเยื่อม้ามของหนูกลุ่มควบคุม

11A red pulp (R) และ white pulp (W) ที่กระจายตัวไม่เป็นระเบียบ

11B giant cell (GC) ที่พบในบริเวณ red pulp

ภาพที่ 12 เนื้อเยื่อม้ามของหนูกลุ่มหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

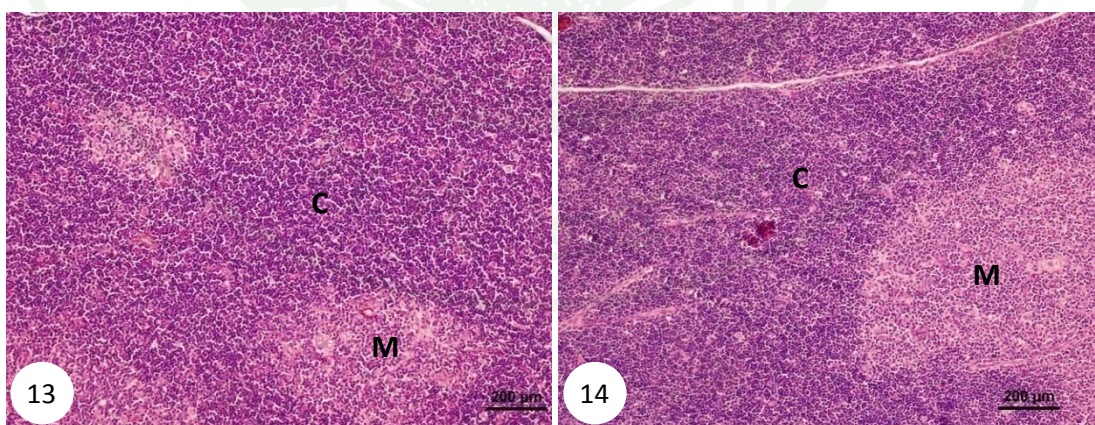
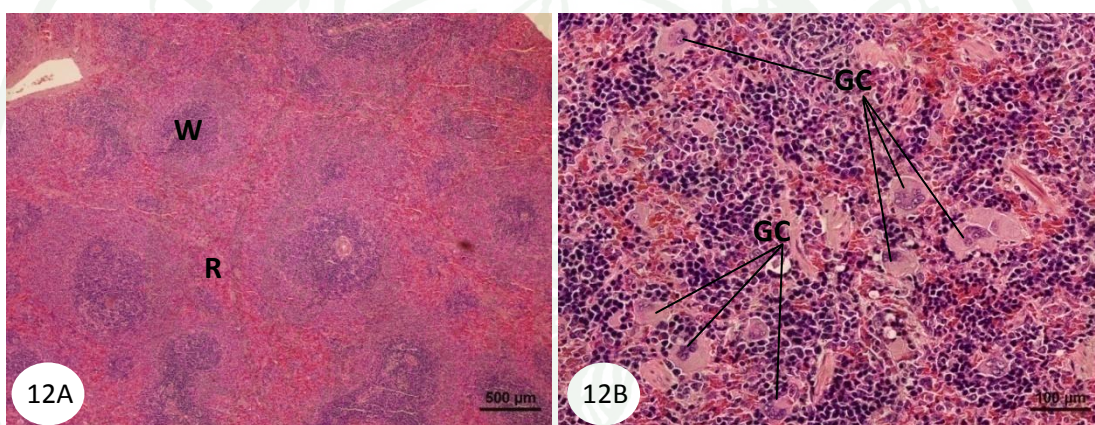
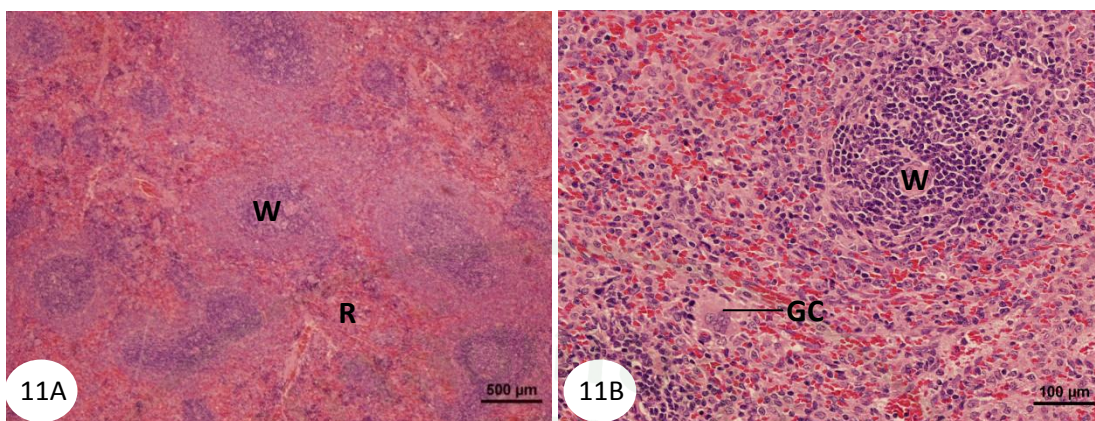
12A red pulp (R) และ white pulp (W) กระจายตัวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

12B giant cell (GC) จำนวนมากกระจายอย่างหนาแน่นในบริเวณ red pulp และ white pulp

ภาพที่ 13 เนื้อเยื่อต่อมไทมัสของหนูกลุ่มควบคุม แสดงบริเวณ cortex (C) และ medulla (M)

ภาพที่ 14 เนื้อเยื่อต่อมไทมัสของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดงบริเวณ cortex (C) และ medulla (M) ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 15 เนื้อเยื่อปอดของหนูกลุ่มควบคุม

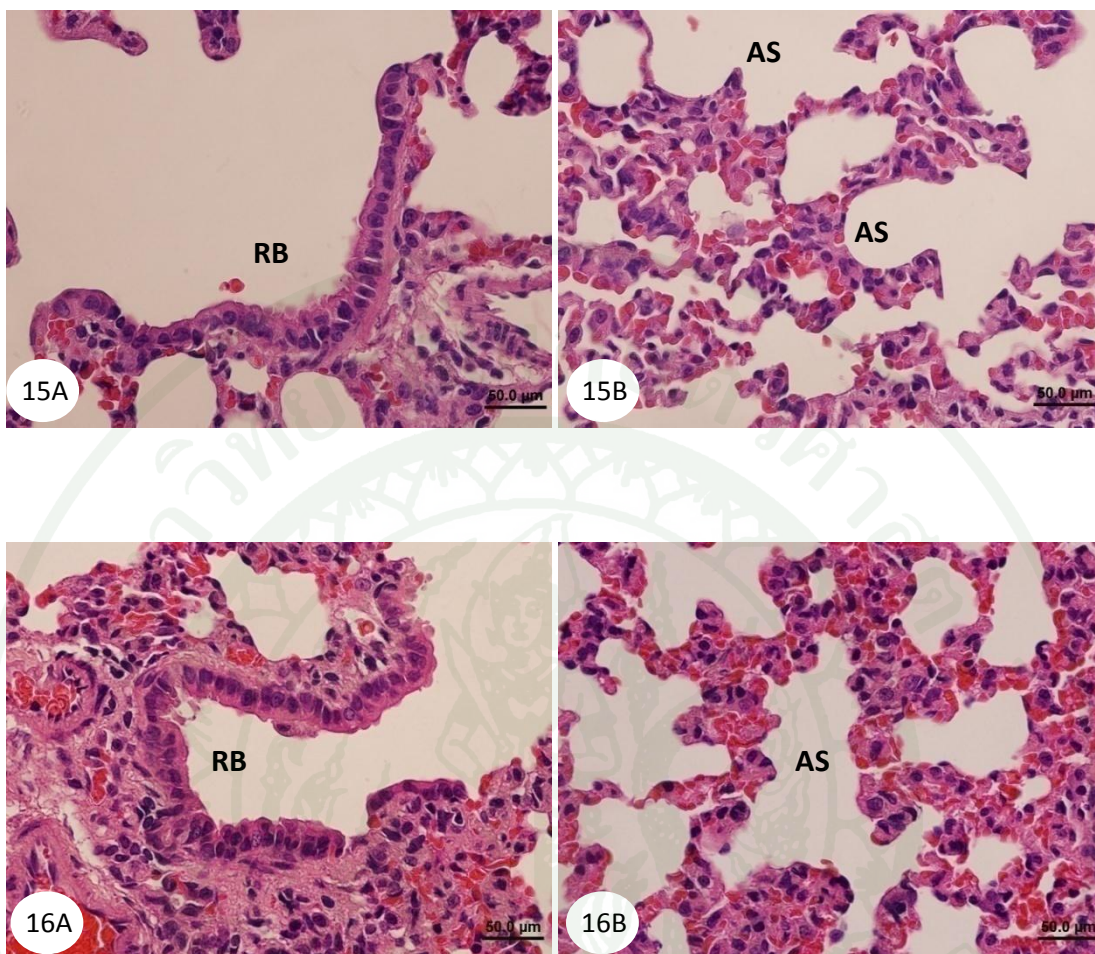
15A respiratory bronchiole (RB) ที่มี epithelial cell ปกติ

15B บริเวณถุงลม (AS) ที่มี epithelial cell ปกติ

ภาพที่ 16 เนื้อเยื่อปอดของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

16A respiratory bronchiole (RB) ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

16B บริเวณถุงลม (AS)



4.2.6 พยาธิสภาพของกระเพาะอาหาร

หนูทดลองทั้งสองเพศและทุกตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ผนังชั้น mucosa บูด้วย simple columnar epithelial cell มี epithelial cell ตายหลุดออกไปพร้อมกับ mucus และที่ cup-shaped zone มี mucus ที่หลั่งจาก surface mucous cell มากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุม พบ surface mucous cell และ parietal cell บางเซลล์ตาย (ภาพที่ 17A, 17B, 18A และ 18B)

หนูทดลองทั้งสองเพศและทุกตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ cup-shaped zone มี mucus ที่หลั่งจาก surface mucous cell ปริมาณน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และในบางบริเวณไม่พบ mucus ปกคลุม เริ่มพบกลุ่ม epithelial cell บางบริเวณฝ่อลง นิวเคลียสติดสีเข้ม แล้วหลุดออกพร้อมกับ epithelial cell อื่น พบ mucous cell และ parietal cell ที่ตายเป็นบริเวณกว้าง มีความรุนแรงมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 19A และ 19B)

หนูทดลองทั้งสองเพศและทุกตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ cup-shaped zone มี epithelial cell และ mucous cell ที่ฝ่อรุนแรงกว่าที่พบในกลุ่มที่ได้รับสาร 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และหลุดหลุดออกไปใน lumen รวมทั้ง parietal cell ตาย พยาธิสภาพที่พบรุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 20A และ 20B)

หนูทดลองทั้งสองเพศและทุกตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาว 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม epithelial cell และ mucous cell ตายและหลุดออกมาอยู่ใน lumen ของกระเพาะอาหาร รุนแรงกว่าที่พบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยบริเวณที่เซลล์ตายลึกลงมาถึงบริเวณ mucous neck cell ของ gastric gland (ภาพที่ 21A และ 2B)

ภาพที่ 17 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูกลุ่มควบคุม

17A โครงสร้างชั้น mucosa ของกระเพาะอาหาร

17B ภาพขยายของภาพ 17A แสดง cup-shaped zone (CZ), epithelial cell (E), mucous cell (MC) และ parietal cell (PC) ที่เป็นปกติ

ภาพที่ 18 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

18A โครงสร้างชั้น mucosa ของกระเพาะอาหาร ปกคลุมด้วย mucus (M) หนามากกว่ากลุ่มควบคุมในภาพ 17A

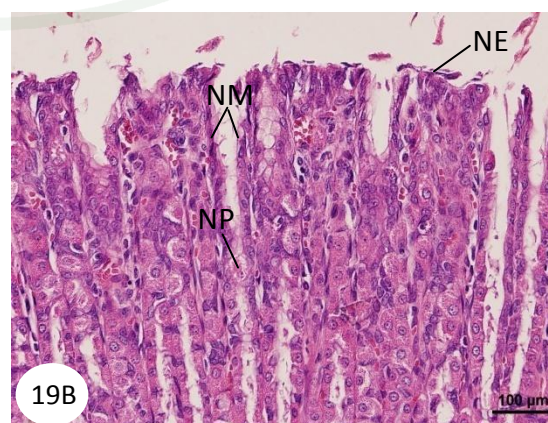
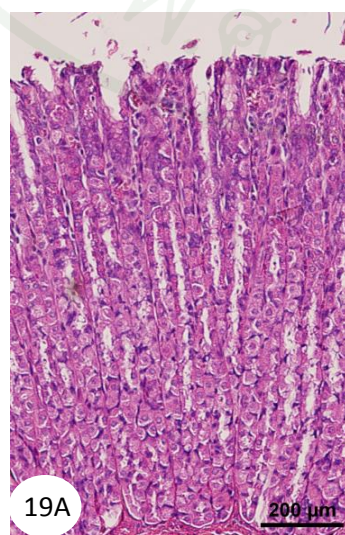
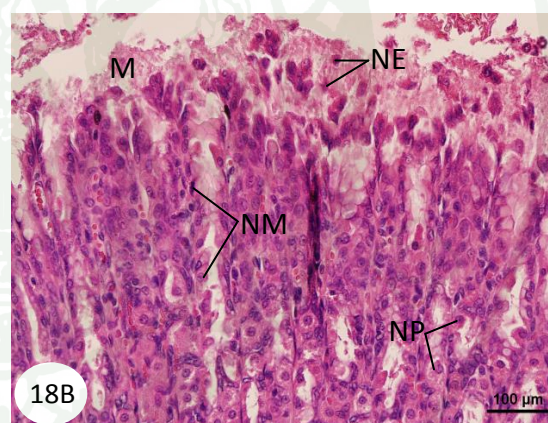
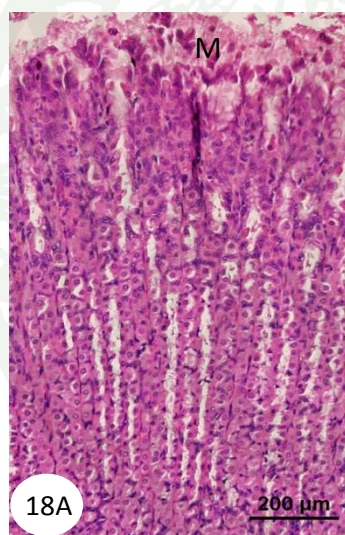
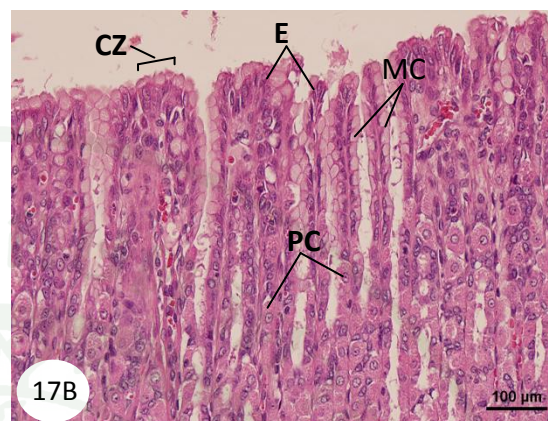
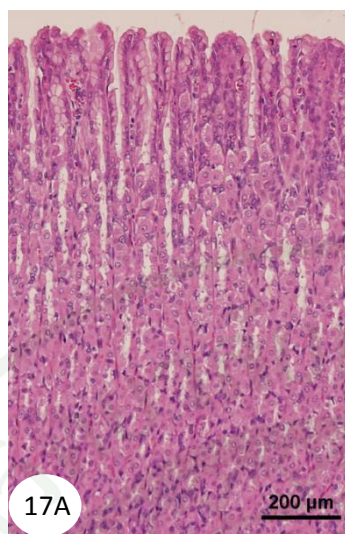
18B ภาพขยายของภาพ 18A แสดง parietal cell ที่ตายแบบ necrosis (NP) epithelial cell (NE) และ mucous cell (NM) ที่ตายแบบ necrosis แล้วหลุดลอยออกไปใน lumen

ภาพที่ 19 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

19A โครงสร้างชั้น mucosa ของกระเพาะอาหาร

19B ภาพขยายของภาพ 19 A แสดง epithelial cell ไม่เห็น mucus ปกคลุม (NE), mucous cell (NM) และ parietal cell (NP) ที่ตายแบบ necrosis เป็นบริเวณกว้าง



ภาพที่ 20 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

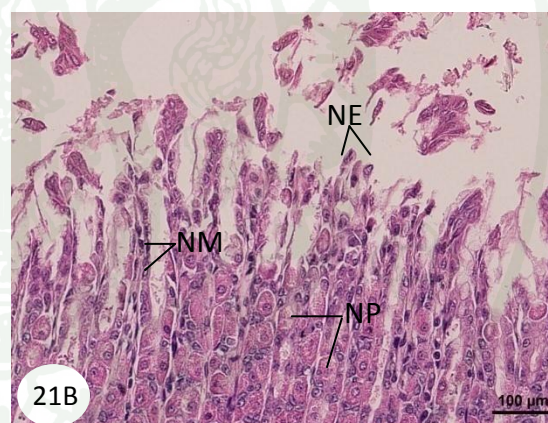
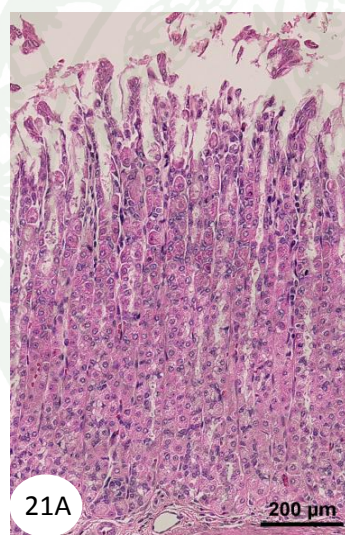
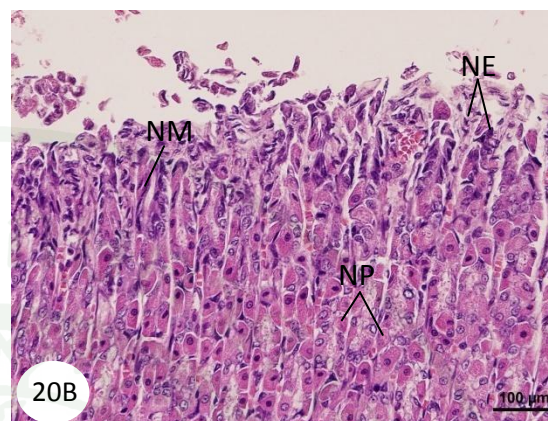
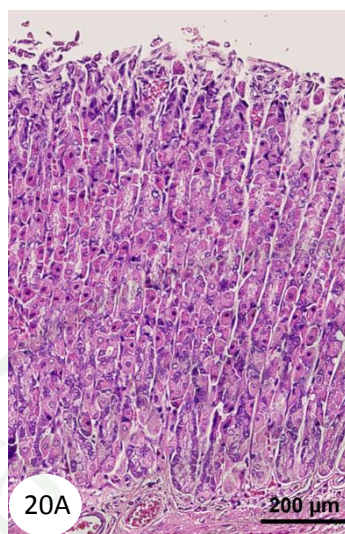
20A โครงสร้างชั้น mucosa ของกระเพาะอาหาร

20B ภาพขยายของภาพ 20 A epithelial cell (NE), mucous cell (NM) และ parietal cell (NP) ที่ฝ่อและตายแบบ necrosis แล้วหลุดหลุดออกไปใน lumen รุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในภาพ 19B

ภาพที่ 21 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

21A โครงสร้างชั้น mucosa ของกระเพาะอาหาร

21B ภาพขยายของภาพ 21 A แสดง epithelial cell (NE), mucous cell (NM) และ parietal cell (NP) ตายแบบ necrosis และหลุดหลุดออกไปใน lumen มีความรุนแรงมากที่สุด



4.2.7 พยาธิสภาพของอวัยวะ

หนูทดลองทุกตัวที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ภายใน seminiferous tubule พบ spermatid stage I มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte กับ spermatogonium ที่มีจำนวนใกล้เคียงกัน และ spermatid stage III ตามลำดับ ส่วน spermatid stage II มีจำนวนน้อยที่สุด โดย spermatogenic cell ทุกระยะมีจำนวนไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ตาย พบว่า spermatogonium ตายมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte, spermatid stage I และ spermatid stage II ตามลำดับ ส่วน spermatid stage III ไม่พบเซลล์ตาย และ spermatogenic cell ทุกระยะมีจำนวนเซลล์ตายไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 22 และ 23)

หนูทดลองทุกตัวที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าจำนวน spermatid stage I มีมากที่สุดใน seminiferous tubule รองลงมาคือ primary spermatocyte กับ spermatid stage III ที่มีจำนวนใกล้เคียงกัน และ spermatogonium ตามลำดับ ในขณะที่ spermatid stage II พบน้อยที่สุด และจำนวน spermatogenic cell ทุกระยะเพิ่มขึ้นกว่าที่พบในกลุ่มควบคุม โดย spermatid stage I และ spermatid stage III มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ตาย พบว่า spermatogonium ตายมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte, spermatid stage I และ spermatid stage II ตามลำดับ ส่วน spermatid stage III ไม่พบเซลล์ตาย ซึ่ง spermatogenic cell ทุกระยะมีจำนวนเซลล์ตายไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 24)

หนูทดลองทุกตัวที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ spermatid stage I มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte, spermatogonium spermatid stage II และ III ตามลำดับ โดย spermatogonium มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม primary spermatocyte และ spermatid stage III มีจำนวนลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ spermatid stage I มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุม ส่วน spermatid stage II มีจำนวนไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ตาย พบว่า

spermatid stage I ตายมากที่สุด รองลงมาคือ spermatogonium กับ primary spermatocyte มีจำนวนใกล้เคียงกัน และ spermatid stage II มีจำนวนเซลล์ตายน้อยที่สุด ส่วน spermatid stage III ไม่พบเซลล์ตาย โดย spermatogonium, primary spermatocyte และ spermatid stage I มีจำนวนเซลล์ตายมากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 25)

หนูทดลองทุกตัวที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัม น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ภายใน seminiferous tubule พบ spermatid stage I มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte, spermatogonium, spermatid stage II และ spermatid stage III ตามลำดับ โดย spermatogonium, primary spermatocyte และ spermatid stage III มีจำนวนน้อยกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วน spermatid stage I และ II มีจำนวนไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ตาย พบว่า spermatid stage I ตายมากที่สุด รองลงมาคือ primary spermatocyte กับ spermatogonium ที่มีจำนวนเซลล์ตายใกล้เคียงกัน และ spermatid stage II ตามลำดับ ส่วน spermatid stage III ไม่พบเซลล์ตาย โดย spermatogonium, primary spermatocyte และ spermatid stage I มีจำนวนเซลล์ตายมากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 26)

ตารางที่ 9 จำนวน spermatogenic cell ปกติและตายแบบ necrosis ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg)	spermatogonium		Primary spermatocyte		Spermatid stage I		Spermatid stage II		Spermatid stage III	
	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis
0	10.92±0.54	0.84±0.19	12.08±0.32	0.40±0.06	15.59±1.89	0.20±0.13	5.52±0.93	0.16±0.07	9.20±1.69	0.00±0.00
20	10.48±0.15	0.72±0.23	10.80±0.21	0.44±0.15	14.66±1.57	0.28±0.10	8.48±0.55	0.20±0.06	10.24±1.57	0.00±0.00
100	12.64±0.56	0.68±0.22	13.56±0.99	0.36±0.22	24.28±1.67*	0.28±0.12	11.28±1.99*	0.12±0.05	13.64±1.80	0.00±0.00
500	8.92±0.36	2.64±0.53*	9.32±0.52*	2.72±0.27*	22.36±1.86	7.28±1.82*	5.60±0.48	1.16±0.44	1.76±0.72*	0.00±0.00
2,500	7.48±0.84*	3.60±0.21*	8.40±0.65*	3.72±0.26*	15.08±1.27	15.84±0.63*	4.04±0.29	1.08±0.36	1.72±0.50*	0.04±0.04

หมายเหตุ * มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

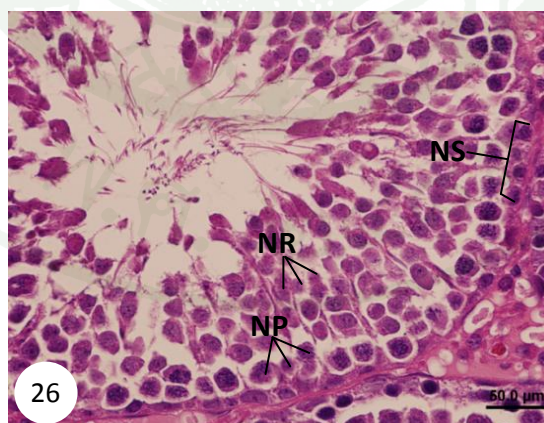
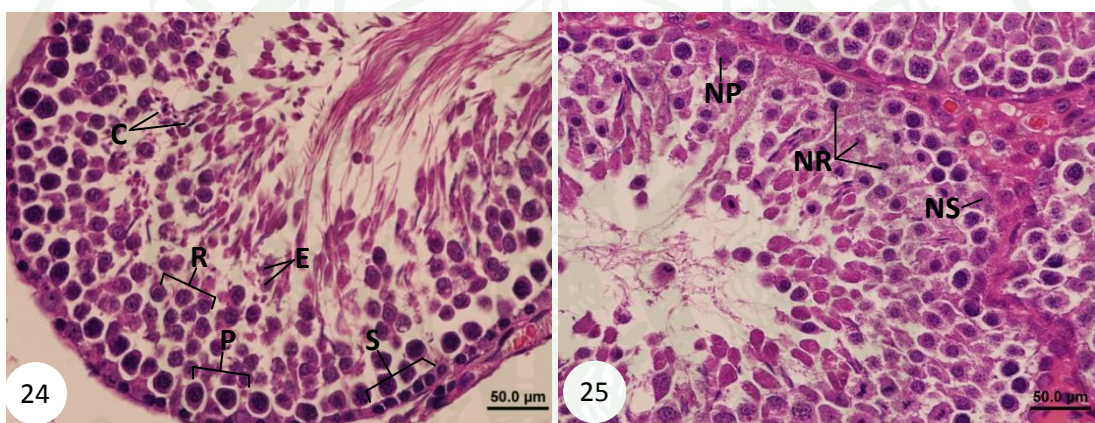
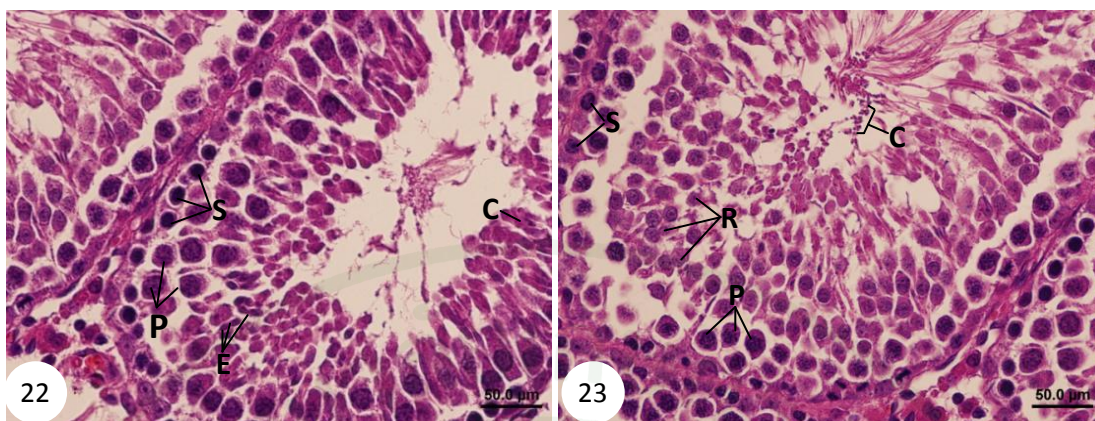
ภาพที่ 22 seminiferous tubule ของหนูกลุ่มควบคุม แสดง spermatogonium (S), primary spermatocyte (P), spermatid stage II (E) และ spermatid stage III (C)

ภาพที่ 23 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดง spermatogonium (S), primary spermatocyte (P), spermatid stage I (R) และ spermatid stage III (C)

ภาพที่ 24 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดง spermatogonium (S), primary spermatocyte (P), spermatid stage I (R), spermatid stage II (E) และ spermatid stage III (C)

ภาพที่ 25 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดง spermatogonium ที่ตายแบบ necrosis (NS), primary spermatocyte ที่ตายแบบ necrosis (NP) และ spermatid stage I ที่ตายแบบ necrosis (NR)

ภาพที่ 26 seminiferous tubule ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แสดง spermatogonium ที่ตายแบบ necrosis (NS), primary spermatocyte ที่ตายแบบ necrosis (NP) และ spermatid stage I ที่ตายแบบ necrosis (NR)



4.2.8 พยาธิสภาพของรังไข่

ภายในรังไข่ของหนูทดลองทุกตัว บริเวณ cortex พบ follicle ระยะแตกต่างกันหลายระยะ รวมทั้ง corpus luteum กระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนบริเวณ medulla พบเนื้อเยื่อประสานเรียงกันอย่างหลวมๆ มีหลอดเลือด หลอดน้ำเหลืองและเส้นประสาทแทรกอยู่

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ primordial follicle มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ secondary follicle stage I, unilaminar primary follicle, corpus luteum, multilaminar primary follicle และ secondary follicle stage II ตามลำดับ ส่วน mature follicle พบน้อยที่สุด ซึ่งจำนวน follicle แต่ละระยะนี้มีจำนวนไม่แตกต่างทางสถิติกับที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10 และภาพที่ 28)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ primordial follicle มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ unilaminar primary follicle, secondary follicle stage I, corpus luteum, multilaminar primary follicle และ secondary follicle stage II ตามลำดับ ส่วน mature follicle พบน้อยที่สุด ซึ่งจำนวน follicle แต่ละระยะนี้มีจำนวนไม่แตกต่างทางสถิติกับที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10 และภาพที่ 29)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ secondary follicle stage I มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ primordial follicle, corpus luteum, unilaminar primary follicle, multilaminar primary follicle และ secondary follicle stage II ตามลำดับ ส่วน mature follicle พบน้อยที่สุด ซึ่งจำนวน follicle แต่ละระยะนี้มีจำนวนไม่แตกต่างทางสถิติกับที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10 และภาพที่ 30)

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ primordial follicle มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ secondary follicle stage I, corpus luteum, unilaminar primary follicle, multilaminar primary follicle และ secondary

follicle stage II ตามลำดับ ส่วน mature follicle พบน้อยที่สุด ซึ่งจำนวน follicle แต่ละระยะนี้มีจำนวนไม่แตกต่างทางสถิติกับที่พบในกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10 และภาพที่ 31)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวน atretic follicle พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีจำนวน atretic follicle ไม่แตกต่างจากที่พบในกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีจำนวน atretic follicle มากกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ follicle ระยะต่างๆและ corpus luteum ที่พบในรังไข่ของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน
(ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนค่าเฉลี่ย)

ความเข้มข้น (mg/kg)	Primordial follicle	Unilaminar follicle	Multilaminar follicle	Secondary follicle I	Secondary follicle II	Mature follicle	Corpus luteum	Atretic follicle
0	15.702±7.71	9.16±3.65	10.87±2.77	25.16±4.28	8.91±2.54	4.71±1.66	19.83±4.82	5.66±2.12
20	22.75±4.30	15.51±2.77	9.91±1.79	21.15±5.64	8.88±2.06	3.80±1.85	11.12±0.96	6.87±2.13
100	24.44±5.02	21.00±4.72	7.45±2.23	19.33±3.98	4.80±1.81	5.04±1.03	11.34±5.18	6.60±2.12
500	18.50±7.71	13.29±3.85	11.80±6.04	27.30±4.39	3.77±1.16	2.00±1.49	17.46±4.55	5.87±1.80
2500	22.56±4.60	13.59±4.59	11.44±4.26	19.31±6.66	5.57±0.61	0.00±0.00	18.91±6.27	8.62±3.50

ภาพที่ 27 follicle ระยะต่างๆของหนูกทดลอง

27A primordial follicle (P), unilaminar primary follicle (U) และ multilaminar primary follicle (MU)

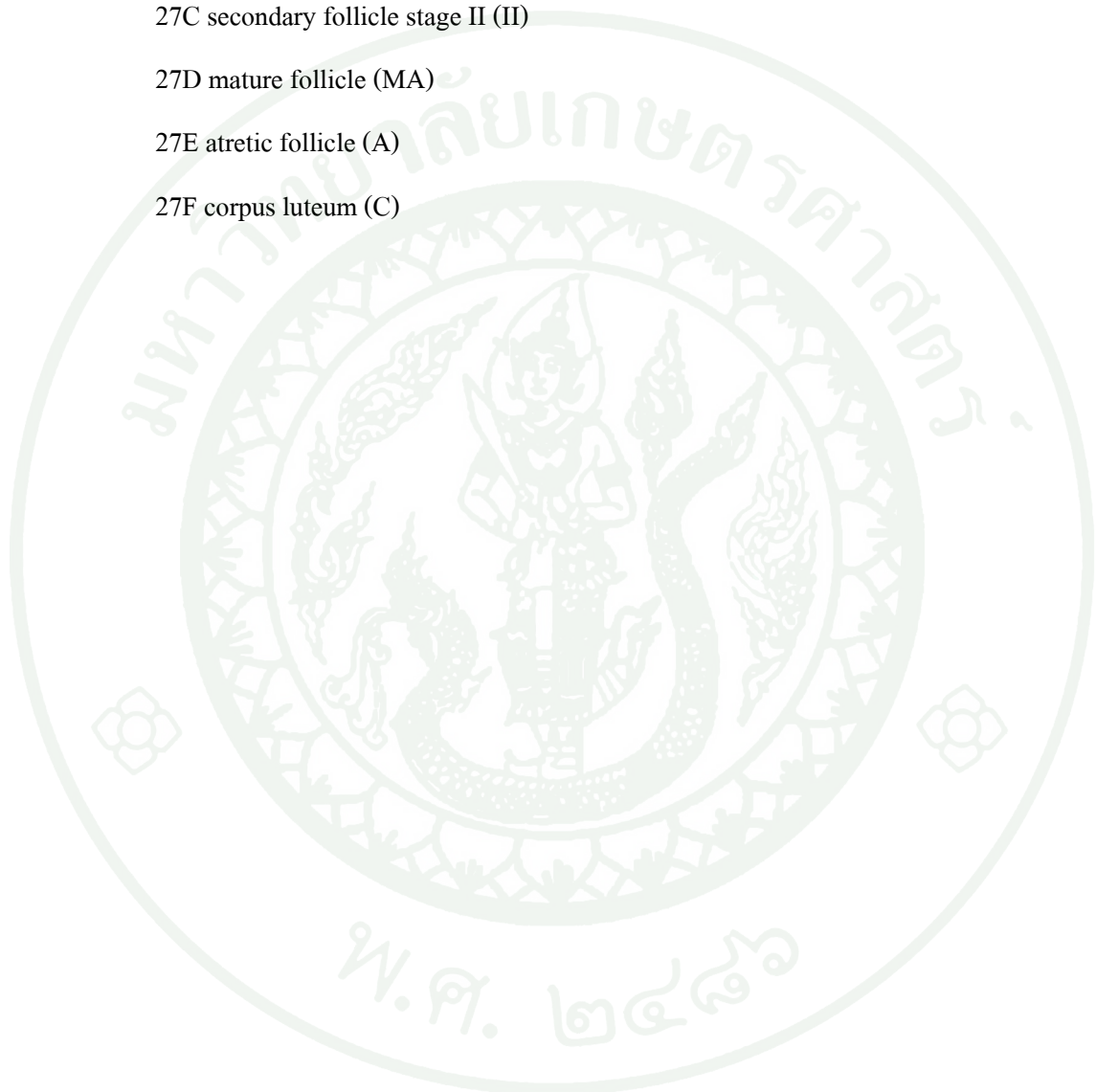
27B secondary follicle stage I (I)

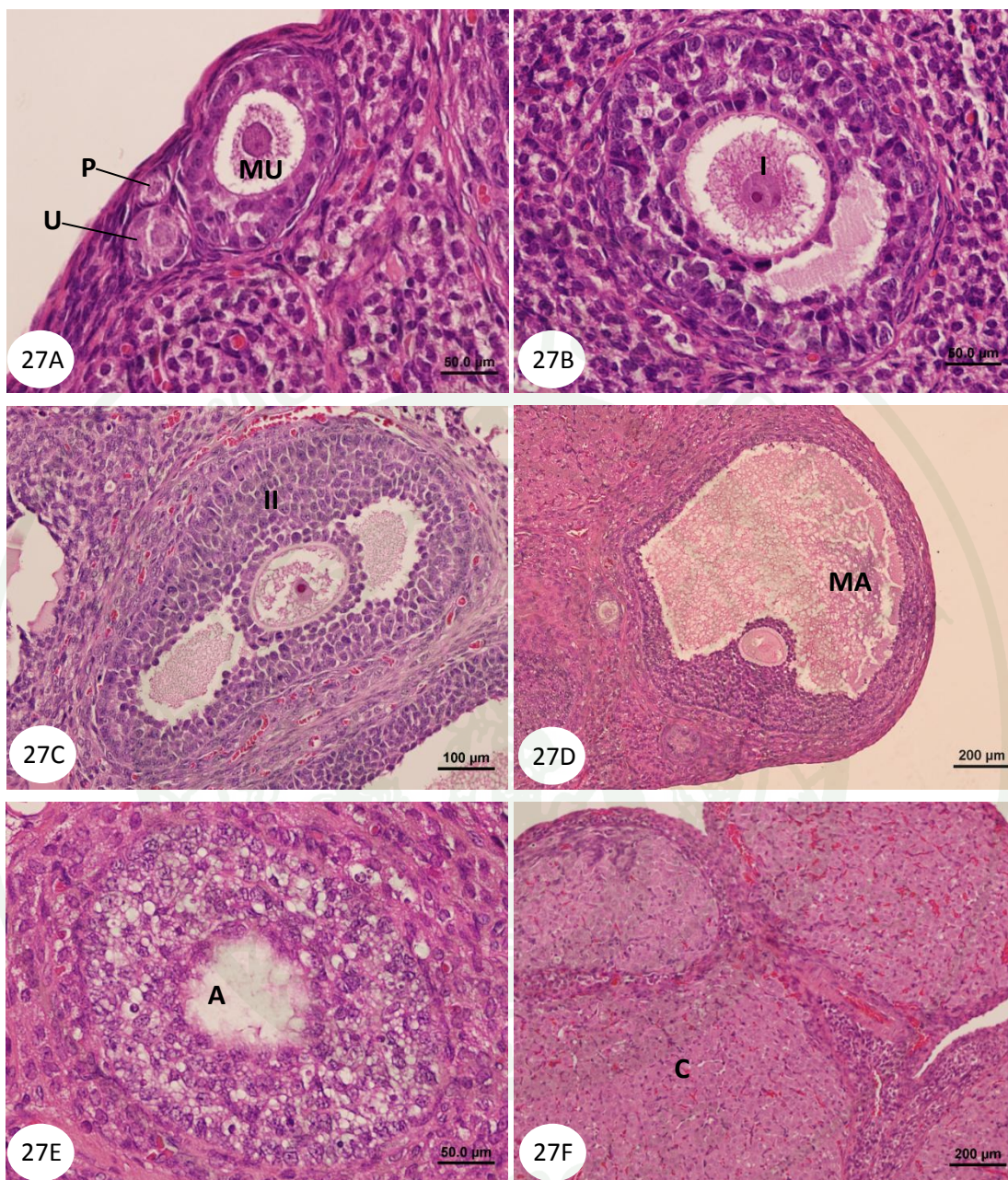
27C secondary follicle stage II (II)

27D mature follicle (MA)

27E atretic follicle (A)

27F corpus luteum (C)



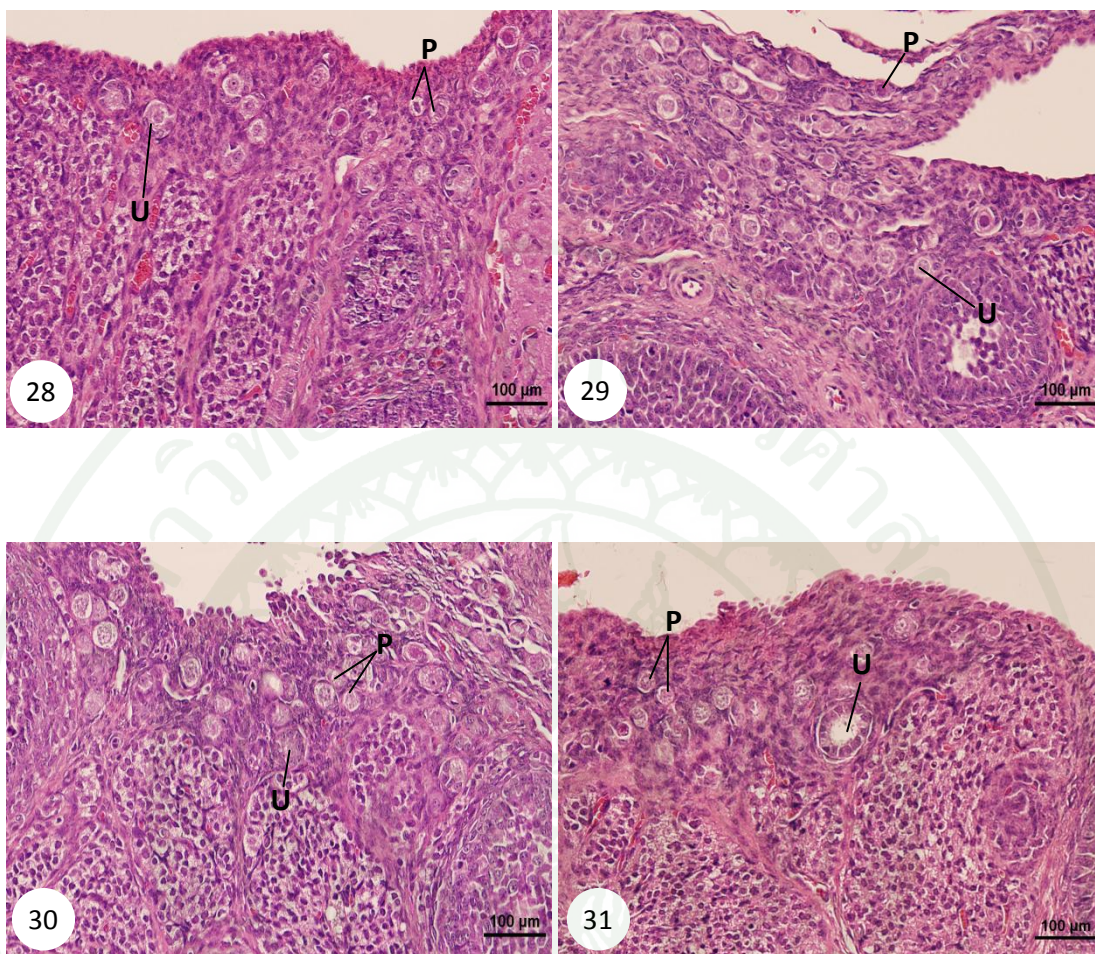


ภาพที่ 28 เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูกลุ่มควบคุม แสดง primordial follicle (P) และ unilaminar primary follicle (U)

ภาพที่ 29 เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี primordial follicle (P) และ unilaminar primary follicle (U) จำนวนมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม ในภาพที่ 28

ภาพที่ 30 เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี primordial follicle (P) และ unilaminar primary follicle (U) จำนวนมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม ในภาพที่ 28

ภาพที่ 31 เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูหลังจากได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี primordial follicle (P) และ unilaminar primary follicle (U) จำนวนมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม ในภาพที่ 28



วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลต่อการเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตของหนูทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองเพศในแต่ละกลุ่มที่ชั่งในวันที่ 0, 7 และ 14 ของการทดลอง พบว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหูกข้าวสาลีทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และน้ำหนักตัวหนูทั้งสองเพศระหว่างการทดลองเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าสารสกัดไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนูทดลอง เช่นเดียวกับหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหูกข้าวสาลีด้วย methanol ความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพียงครั้งเดียวน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม (Latha *et al.*, 2010) ในขณะที่หนูทดลองที่ได้รับสารสกัดหูกข้าวสาลีด้วย methanol 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมติดต่อกันนาน 14 วัน กลับมีน้ำหนักตัวลดลงจากหนูกลุ่มควบคุม (Pratheeshkumar and Kuttan, 2010) แสดงว่าถ้าได้รับสารสกัดหูกข้าวสาลีติดต่อกันเป็นเวลานานเกิน 7 วันอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของหนูทดลองได้

2. ผลต่อการตายและการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม

ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ไม่มีหนูทดลองตาย อัตราการกินน้ำและอาหาร ลักษณะภายนอก คือ ขน ผิวหนังและตาของหนูทุกตัวไม่แตกต่างกัน แสดงว่าสารสกัดหูกข้าวสาลีทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่ก่อความเป็นพิษที่รุนแรงจนทำให้หนูทดลองตาย รวมทั้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการกินและลักษณะภายนอกของหนูทดลอง สอดคล้องกับสารสกัด ethanol จากหูกข้าวสาลีความเข้มข้น 5-2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ไม่ทำให้หนูขาวมีลักษณะขน ตา ผิวหนัง ตลอดจนพฤติกรรมการกินน้ำ อาหาร การหายใจ การนอน ผิดปกติ (Aruna *et al.*, 2012) แต่ในอาสาสมัครที่ดื่มชาหูกข้าวสาลีเพื่อลดน้ำหนัก 9 กรัมต่อวัน ติดต่อกันนาน 14 วัน (Wongwiwatthanakit *et al.*, 2009) และ 8.58 กรัมต่อวัน ติดต่อกันนาน 15 วัน (ศักดิ์วิษา และ มนัษยา, 2539) พบว่ามีอาการคลื่นไส้และเบื่ออาหาร อาจเนื่องจากคนกับหนูมีการรับรสแตกต่างกัน หนูที่ได้รับสารสกัดหูกข้าวสาลีความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี

ความกระตือรือร้นและเคลื่อนไหวมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม แตกต่างจากการศึกษาของ Pratheeshkumar and Kuttan (2010) พบว่าสารสกัดหญ้าดอกขาวด้วย methanol ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้หนูทดลองมีพฤติกรรมที่เชื่องช้ากว่าปกติ (hypo activity) เนื่องจากสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน ทำให้ได้สารออกฤทธิ์ต่างกัน ส่วนอาสาสมัครที่ใช้ชาหญ้าดอกขาวช่วยในการอดบู่หรือพบว่ามีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และปวดศีรษะ (Leelarungrayub, 2010) รวมทั้งมีอาการใจสั่นด้วย (Wongwiwatthanakit *et al.*, 2009)

3. ผลทางโลหิตวิทยา

เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน รวมทั้งจำนวนลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล โมโนไซต์ อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลของหนูเพศผู้และเพศเมียทุกตัวหลังจากได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และค่าที่ได้ถือว่าอยู่ในช่วงมาตรฐานของหนูทดลอง (Car *et al.*, 2006) แสดงว่าสารสกัดหญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่มีผลต่อองค์ประกอบของเลือดของหนูทดลอง สอดคล้องการศึกษารายงานของ Aruna *et al.* (2012) ที่พบว่าหนูทดลองที่ได้รับสารสกัด ethanol จากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกันนาน 6 สัปดาห์ มีความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดขาว คือ ลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล โมโนไซต์และอีโอซิโนฟิลไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มอาสาสมัครที่ดื่มชาหญ้าดอกขาววันละ 9 กรัม ติดต่อกันนาน 14 วันเพื่อช่วยอดบู่หรือ มีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน รวมทั้งจำนวนลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล โมโนไซต์ อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลอยู่ในเกณฑ์ปกติด้วยเช่นกัน (ปริดา, 2549)

4. ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะ

4.1 ขนาดของอวัยวะ (Relative Organ Weight)

น้ำหนักตับ ไต ม้าม และอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าสารสกัดหญ้า

ดอกขาวทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของไต ม้าม และอวัยวะของหนูทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาของ Latha *et al.* (2010) ที่พบว่าสารสกัดเห็ดดอกขาวด้วย methanol ความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อขนาดปอด หัวใจ ไต และม้ามของหนูทดลอง เช่นเดียวกับ Pratheeshkumar and Kuttan (2010) ที่พบว่าสารสกัดเห็ดดอกขาวด้วย methanol ความเข้มข้น 25-100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดไตและม้ามของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดติดต่อกันนาน 14 วัน

4.2 พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

4.2.1 พยาธิสภาพของตับ

หนูที่ได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวทุกความเข้มข้นมีจำนวนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ มากกว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีจำนวนเซลล์ขนาดใหญ่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งเซลล์ขนาดใหญ่เกิดจากภาวะที่เซลล์มีการปรับตัวโดยสร้างองค์ประกอบภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์ต้องทำงานเพิ่มขึ้น โดยรูปร่างลักษณะของเซลล์ยังคงคล้ายกับเซลล์ปกติแสดงว่าเซลล์ตับในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีการทำหน้าที่เพิ่มมากขึ้น มีการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ที่จำเป็นในกลไกการกำจัดสารพิษเพิ่มมากขึ้น (Kumar *et al.*, 2005a; Car *et al.*, 2006) จำนวนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น แสดงถึงหนูทดลองทั้ง 3 กลุ่มนี้ได้รับสารพิษในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดด้วย ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีจำนวนเซลล์ขนาดใหญ่น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 มิลลิกรัม เนื่องจากเซลล์ตับในกลุ่มนี้มีจำนวนเซลล์ที่เกิด necrosis เพิ่มมากที่สุด ดังนั้นการที่เซลล์ที่มีขนาดใหญ่ลดจำนวนลงอาจเพราะเซลล์เหล่านี้ตายไปเนื่องจากการสะสมสารพิษจากสารสกัดไว้ในเซลล์

การเพิ่มจำนวนนิวเคลียสของเซลล์ แสดงถึงภาวะที่เซลล์ต้องทำงานเพิ่มมากขึ้น เมื่อเซลล์มี 2 นิวเคลียส ทำให้เซลล์สามารถทำหน้าที่เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิมและเป็นดัชนีบ่งบอกถึง

ภาวะที่เซลล์ตับได้รับบาดเจ็บ (hepatic illness) (Grizzi and Chiriva-Internati, 2007) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหูกดอกขาวทุกความเข้มข้นพบเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสจำนวนมากว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสจำนวนมากว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงว่าสารสกัดหูกดอกขาวทำให้เซลล์ตับทำงานเพิ่มขึ้น เพื่อกำจัดพิษที่เข้าสู่ตับทาง hepatic portal vein เซลล์ตับจึงต้องแบ่งนิวเคลียสเพิ่มขึ้น ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากทั้งสองกลุ่มนี้ได้รับสารสกัดความเข้มข้นที่สูง เซลล์ตับเกิด necrosis จำนวนมาก จึงพบเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสน้อยลง ตรงตามการศึกษาของ Orafidiya *et al.* (2004) ที่พบเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำของ *Ocimum gratissimum* Linn. ความเข้มข้น 80, 133 และ 213 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 30 วัน ซึ่งแสดงถึงปฏิกิริยาตอบสนองต่อสารพิษของเซลล์ตับ ตามปกติแล้วเมื่อหนูขาวมีอายุเพิ่มขึ้น สามารถพบเซลล์ตับที่มีนิวเคลียสเพิ่มขึ้นได้ (Crawford, 2005) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงพบเซลล์ตับที่มี 2 นิวเคลียสในหนูกลุ่มควบคุมด้วย

เมื่อสารพิษเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดที่ลำไส้เล็ก เข้าสู่ตับโดยระบบหมุนเวียนเลือดผ่านทาง hepatic portal vein กระจายเข้าสู่ sinusoid แล้วเข้าสู่เซลล์ตับ กลไกกำจัดพิษเกิดขึ้นในเซลล์ตับ ถ้าไม่สามารถกำจัดได้เซลล์ตับก็จะตาย รูปแบบการตายของเซลล์ที่พบคือ necrosis โดยพบการตายทั้งแบบนิวเคลียสสลายหรือโครมาตินหดตัวแน่น เรียกว่า pyknosis (Kumar *et al.*, 2005a) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นพบเซลล์ตับที่เกิด pyknosis และเซลล์ที่เกิด necrosis มากกว่ากลุ่มควบคุม โดยเซลล์ที่เกิด pyknosis พบมากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนเซลล์ที่เกิด necrosis ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมมีจำนวนมากว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงว่าเซลล์ตับได้รับสารพิษเพิ่มมากขึ้นทำให้พบเซลล์ที่เกิด pyknosis และเซลล์ที่เกิด necrosis จำนวนมากขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบเซลล์ที่เกิด pyknosis น้อยกว่ากลุ่มที่

ได้รับสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากหนูกลุ่มนี้ได้รับสารสกัดความเข้มข้นสูง เซลล์ตับเกิด necrosis จำนวนมาก จึงพบเซลล์ที่เกิด pyknosis น้อยลง

สารพิษที่เข้าสู่ตับจะถูกเมแทบอลิซึมที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมแบบเรียบ (smooth endoplasmic reticulum) โดยเอนไซม์ cytochrome p-450 oxidase ในเซลล์ตับ (McCance and Grey, 2012) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบการเสื่อมสลายแบบมีแควีโอลของเซลล์ตับที่อยู่รอบ central vein ซึ่งเซลล์ตับบริเวณนี้จะมีขนาดใหญ่และภายในเซลล์มีเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมแบบเรียบมากกว่าเซลล์ตับรอบๆ portal area จึงเป็นบริเวณที่เกิดการกำจัดสารพิษมากกว่ารอบ portal area (Cattley and Popp, 2002; Haschek *et al.*, 2010) ทำให้เซลล์ตับที่อยู่รอบ central vein ตายมากกว่าบริเวณอื่น นอกจากนี้หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ยังพบการเสื่อมสลายแบบมีแควีโอลของเซลล์ตับบริเวณรอบ portal area รวมด้วย การเสื่อมสลายของเซลล์ตับในบริเวณนี้มักเป็นผลจากการได้รับสารที่มีความเป็นพิษรุนแรง (Crawford, 2005) ซึ่งหนูกลุ่มนี้ได้รับสารสกัดความเข้มข้นสูงที่สุดจึงพบเซลล์ตับรอบ portal area เกิดการเสื่อมสลายแบบมีแควีโอลด้วย

หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบเซลล์ตับจำนวนมากที่อยู่รอบ central vein มีการสะสมไขมันเห็นเป็น vesicular bodies อยู่ภายในเซลล์ตับ ซึ่งการสะสมไขมันภายในเซลล์ตับ (fatty change) เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การได้รับสารพิษ การขาดสารอาหาร (malnutrition) โรคอ้วน หรือการขาดออกซิเจนในเนื้อเยื่อ (anoxia) เป็นต้น (Kumar *et al.*, 2005a) เนื่องจากเซลล์ตับมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมไขมัน (fat metabolism) ในภาวะปกติ กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) จาก adipocyte หรือจากการย่อยอาหาร จะผ่านเข้าสู่เซลล์ตับ กรดไขมันส่วนมากจะถูกเปลี่ยนเป็น triglyceride โดย α -glycerophosphate และส่วนน้อยถูกเปลี่ยนให้เป็นสารหลายชนิด เช่น ketone bodies, phospholipid และ cholesterol เป็นต้น การที่ triglyceride จะถูกส่งออกจากเซลล์ตับได้ จำเป็นต้องมี apoprotein (lipid acceptor protein) เข้ามาจับเพื่อให้เกิดเป็น lipoprotein แล้วถูกส่งออกจากเซลล์ตับ ซึ่งถ้าหากไขมันไม่สามารถถูกส่งออกจากเซลล์ได้ ก็จะสะสมอยู่ภายในเซลล์ตับ เกิดเป็น vesicular bodies (Mohan, 2005) โดยอาจสะสมอยู่ในรูป free fatty acid, triglyceride หรือ

lipoprotein ก็ได้ ขึ้นอยู่กับสาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดปกติ เช่น การได้รับ carbontetrachloride หรือ การขาดโปรตีน (protein malnutrition) จะทำให้การสังเคราะห์ apoprotein ลดลง ส่วนการขาดออกซิเจนจะยับยั้งการเปลี่ยนกรดไขมันเป็น triglyceride ถ้ามีไขมันสะสมอยู่ในเซลล์จำนวนมากก็อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์และทำให้เซลล์ตายได้ (Kumar *et al.*, 2005a) ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองให้หนูได้รับสารสกัดด้วย methanol ของ *Mitragyna speciosa* Korth ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเพียงครั้งเดียว พบเซลล์ตับเกิด fatty change และเซลล์ตับบริเวณรอบ central vein ตาย (centrilobular necrosis) (Harizal *et al.*, 2010) เช่นเดียวกันกับหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดด้วย ethanol จากเมล็ด *Psoralea corylifolia* ความเข้มข้น 1.875, 1.25 และ 0.625 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมติดต่อกันนาน 28 วัน พบเซลล์ตับเกิด fatty change และเกิด necrosis (Wang *et al.*, 2012)

หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 , 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาว ได้แก่ lymphocyte, plasma cell และ macrophage ใน sinusoid แสดงถึงการอักเสบแบบเรื้อรัง (chronic inflammation) (Kumar *et al.*, 2005b) และการทดลองครั้งนี้หนูทดลองถูกพักไว้ 7 วันหลังได้รับสารสกัด แล้วจึงเก็บตัวอย่าง ซึ่งช่วงเวลานี้ทำให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังขึ้น เช่นเดียวกับหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำของ *Ocimum gratissimum* Linn. ความเข้มข้น 133 และ 213 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 30 วัน พบ mononuclear cell ภายในเนื้อเยื่อตับ บ่งบอกถึงการอักเสบแบบเรื้อรัง (Orafidiya *et al.*, 2004) ซึ่งการทดลองให้หนูกินสารสกัดหูกดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดหูกดอกขาวทุกความเข้มข้นมีผลต่อเซลล์ตับ ทำให้เซลล์ตับเกิด fatty change เซลล์ตับบริเวณรอบ central vein ตาย และเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังขึ้น แสดงถึงสารสกัดหูกดอกขาวมีพิษต่อเซลล์ตับตามระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น

4.2.2 พยาธิสภาพของไต

เนื้อเยื่อไตของกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดความเข้มข้นนี้ไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อไต

กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ glomerulus หดตัว และสลายตัวเพิ่มขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทั้ง parietal และ visceral epithelial cell รวมทั้ง endothelial cell ตาย โดยมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ glomerulus สลายหมดทั้งอันเป็นจำนวนมากเห็นเพียงช่องว่างของ Bowman's space การเปลี่ยนแปลงของ glomerulus ที่เกิดขึ้นเนื่องจาก glomerulus ทำหน้าที่กรองสารต่างๆออกจากเลือด ดังนั้นเมื่อสารพิษปะปนมาในกระแสเลือดแล้วเข้าสู่ไตผ่านที่ glomerulus จึงทำให้เกิดความเสียหายที่ glomerulus ได้ ตรวจสอบได้จาก การตายของ endothelial cell, visceral epithelial cell และ parietal epithelial cell (Alpers, 2005) ความเสียหายของ glomerulus จากการได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวในครั้งนี้เหมือนกับ glomerulus ของหนูที่ได้รับสารสกัด ethanol ของ *Solanum grandiflorum* ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 65 วัน พบ glomerulus สลาย และ necrosis (Pereira *et al.*, 2003) เช่นเดียวกับหนูทดลองที่ได้รับ cadmium chloride ละลายในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุกวันนาน 6 และ 8 สัปดาห์ พบ glomerulus หดตัวและสลายตัว ซึ่ง cadmium chloride นั้นเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่ามีผลทำให้เกิดภาวะไตวาย (Tripathi and Srivastav, 2011)

นอกจากนี้กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ยังพบ proximal และ distal tubular epithelial cell ตาย โดยมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบท่อที่ tubular epithelial cell มีนิวเคลียสใหญ่ผิดปกติจางอยู่รวมกันเป็นกลุ่มบริเวณรอบๆ glomerulus ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบบางท่อที่ proximal และ distal tubular epithelial cell ตายทั้งหมด เนื่องจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นสูง ซึ่งการได้รับสารพิษเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ proximal และ distal tubular epithelial cell เกิด necrosis ได้ (Alpers, 2005) เนื่องจาก proximal tubule ทำหน้าที่ดูดกลับสารโมเลกุลเล็กที่ละลายน้ำได้และภายในเซลล์มีกลไกกำจัดพิษ ซึ่งถ้าสารพิษมีปริมาณมากเกินไปเกินความสามารถที่จะกำจัดได้ proximal tubular epithelial cell จะเกิด necrosis (Alpers, 2005) จากการทดลองป้อนสารสกัดเห็ดดอกขาวให้หนูในครั้งนี้พบ

ภาวะการเสื่อมสลายของ glomerulus และการตายของ proximal และ distal tubular epithelial cell โดยพบรุนแรงที่สุดที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งเหมือนกับ การทดลองของ Ajayi *et al.* (2007) ที่ให้หนูกินอาหารเม็ดผสมกับน้ำมันที่สกัดด้วย petroleum ether จากเมล็ดมังคุด *Garcinia mangostana* ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ติดต่อกัน 8 สัปดาห์ พบ glomerulus สลาย และหนูทดลองที่ได้รับ Ochratoxin A จากราก Genus *Aspergillus* และ *Penicillium* ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 28 วัน พบ proximal tubular epithelial cell สลายเช่นกัน นอกจากนี้หนูทดลองที่ได้รับ cadmium chloride ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 6 สัปดาห์ และความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ พบ epithelial cell บางเซลล์ของ renal tubule มี นิวเคลียสขนาดใหญ่ ซึ่งเหมือนกับที่พบในการทดลองครั้งนี้ และพบ renal tubular epithelial cell สลายเป็นจำนวนมากเช่นเดียวกัน (Tripathi and Srivastav, 2011) ดังนั้นการได้รับสารสกัดหูกวาคาวในปริมาณสูงติดต่อกัน อาจทำให้เกิดภาวะไตวายได้

4.2.3 พยาธิสภาพของม้าม

ลักษณะ จำนวนและอัตราส่วนของ white pulp ต่อ red pulp ของหนูที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่มีผลให้ ลักษณะของเนื้อเยื่อม้ามเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อม้ามของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอลของหูกวาคาวความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Latha *et al.*, 2010) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ giant cell แบบ foreign body ในเนื้อเยื่อม้ามจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดย foreign body giant cell เหล่านี้เกิดจาก macrophage หลายเซลล์มารวมกันกลายเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่มีหลายนิวเคลียส ทำหน้าที่ย่อยสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาภายในร่างกายและดูดซึมสารที่ได้จากการย่อยในลักษณะเดียวกับการทำงานของ osteoclast ซึ่ง foreign body giant cell ถูกพบได้ในบริเวณที่เกิดการอักเสบแบบเรื้อรัง และบริเวณที่มีการสมานแผล (wound healing) โดยเมื่อเกิดการบาดเจ็บ monocyte จะเคลื่อนที่เข้าไปในบริเวณนั้น แล้วเปลี่ยนเป็น macrophage หลังจากนั้น macrophage จะถูกกระตุ้นโดย interleukin-4 และ interleukin-13 ให้เป็น foreign body giant cell

(Mohan, 2005; Brodbeck and Anderson, 2009; MacLauchlan *et al.*, 2009) การทดลองครั้งนี้หนูทดลองได้รับสารสกัดหญาดอกขาวในความเข้มข้นสูงติดต่อกันนาน 7 วัน และหยุดได้รับสารสกัด 7 วัน ก่อนเก็บตัวอย่าง จึงพบ foreign body giant cell จำนวนมากในเนื้อเยื่อม้ามของหนูทดลอง แสดงถึงเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังสอดคล้องกับการพบ giant cell และ macrophage จำนวนมากในม้ามของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดด้วย ethanol ของ *Hydnora johannis* ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 60 วัน (Yagi *et al.*, 2011)

4.2.4 พยาธิสภาพของต่อมไทมัส

ต่อมไทมัสและม้ามทำหน้าที่สร้างลิมโฟไซต์ เนื้อเยื่อต่อมไทมัสของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกันกับเนื้อเยื่อม้ามและจำนวนลิมโฟไซต์ของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม โดย Latha *et al.* (2010) พบว่าสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อม้ามของหนูทดลอง ส่วน Pratheeshkumar and Kuttan (2010) พบว่าสารสกัดด้วย methanol จากหญาดอกขาวความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่ทำให้ต่อมไทมัสของหนูทดลองเปลี่ยนแปลงขนาด และ ปรีดา (2549) พบว่าอาสาสมัครที่ดื่มชาหญาดอกขาววันละ 9 กรัม มีจำนวนลิมโฟไซต์อยู่ในระดับมาตรฐาน แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาวทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อต่อมไทมัส ม้ามและจำนวนลิมโฟไซต์ของหนูทดลอง

4.2.5 พยาธิสภาพของปอด

เนื้อเยื่อปอดของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาวทุกความเข้มข้นไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษที่ปอด การศึกษาของ Pratheeshkumar and Kuttan (2010) พบว่าสารสกัดด้วย methanol จากหญาดอกขาวความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดปอดของหนู

ทดลอง และ Latha *et al.* (2010) พบว่าสารสกัด methanol จากหญ้าดอกขาวขนาด 2,000 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ไม่ทำให้เนื้อเยื่อของหนูถีบจักรแสดงลักษณะผิดปกติ

4.2.6 พยาธิสภาพของกระเพาะอาหาร

หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มี mucus ในกระเพาะอาหารปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากสารสกัดหญ้าดอกขาวทำให้เกิดความระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารและมีฤทธิ์กัดกร่อน ทำให้ epithelial cell, mucous neck cell และ parietal cell ลอกหลุดออกมาใน lumen และมีเซลล์ตายเป็นจำนวนมาก การหลั่ง mucus จาก mucous cell ออกมาเคลือบผนังกระเพาะอาหารไว้เป็นการป้องกันไม่ให้เยื่อผิวของกระเพาะอาหารถูกทำลาย จากสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคือง (Liu and Crawford, 2005) แต่อย่างไรก็ตาม epithelial cell และ mucous cell ที่สัมผัสกับสารสกัดก็ลอกหลุดออกมาด้วย แต่ที่ความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ผนังกระเพาะอาหารมี mucus ออกมาเคลือบน้อยลง เนื่องจาก mucous cell ลอกหลุดออกมาใน lumen มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัด 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม epithelial cell และ mucous cell บางบริเวณฝ่อลงและมีเซลล์ตายจำนวนมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด นอกจากนี้ยังพบ gastric gland มีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม parietal cell มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก แสดงว่าต้องสามารถหลั่งกรดไฮโดรคลอริกออกมาได้ด้วย ในขณะเดียวกัน mucous cell ก็ลอกหลุดออกมาใน lumen ทำให้มี mucus เคลือบกระเพาะอาหารน้อย เมื่อปริมาณ mucus และกรดไฮโดรคลอริกไม่สมดุลกัน กรดที่มีปริมาณมากจึงอาจกัดกร่อนผนังกระเพาะอาหารเกิดเป็นแผลหลุม (peptic ulcer) ขึ้นได้ (Liu and Crawford, 2005) เช่นเดียวกับหนูทดลองที่ได้รับน้ำมันของ *Cymbopogon citratus* ความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบโครงสร้างชั้น mucosa ฝ่อลีบ และสารสกัดความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมพบว่าโครงสร้างชั้น mucosa สลายไปเกือบทั้งหมด (Fandohan *et al.*, 2008) รวมทั้งหนูทดลองที่ได้รับน้ำมันจาก *Ocimum basilicum* ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าชั้น mucosa ของกระเพาะอาหารถูกกัดกร่อนจนไม่เห็น epithelial cell และเมื่อได้รับสารสกัดความเข้มข้น 2,000

มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม epithelial cell กับ gastric gland ฝ่อลีบ และพบเซลล์บุต่อมบวม รวมทั้งมีจุดเลือดออก (haemorrhage) ที่ ชั้น muscularis mucosae (Fandohan *et al.*, 2008) แสดงว่า สารสกัดหญาดอกขาวอาจมีฤทธิ์ก่อการระคายเคืองที่กระเพาะอาหารจึงทำให้ชั้นเซลล์ลอกหลุดออกมาและอาจนำไปสู่การเกิดแผลหลุมได้

4.2.7 พยาธิสภาพของอวัยวะ

หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบ spermatogenic cell ทุกระยะมีจำนวนไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดความเข้มข้นนี้ไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการสร้างอสุจิ แต่สารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้ primary spermatocyte และ spermatid stage I, II และ III มีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่วน spermatogenic cell ที่ตายในแต่ละระยะไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และน้ำหนักอวัยวะของหนูกลุ่มนี้มากกว่าของหนูกลุ่มควบคุม แสดงว่า สารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถเร่งกระบวนการสร้างอสุจิได้ สอดคล้องกับ Gonzales *et al.* (2001) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัด *Lepidium meyenii* ด้วยน้ำต่อหนูขาวโดยการป้อนสารสกัดนาน 14 วัน พบว่าสารสามารถเร่งกระบวนการสร้างอสุจิได้ ยืนยันจากน้ำหนักอวัยวะและจำนวน spermatocyte ที่เพิ่มขึ้น และสารสกัดจาก กวาวเครือแดง *Butea superba* Roxb. ที่สกัดด้วย ethanol สามารถเพิ่มจำนวน primary spermatocyte และ spermatid ของหนูทดลองได้ โดยสารจากกวาวเครือแดงที่เร่งกระบวนการสร้างอสุจิได้คือ β -sitosterol ซึ่งจะถูกเปลี่ยนให้เป็น pregnenolone สารตั้งต้นสำคัญสำหรับการสังเคราะห์ testosterone (Tocharus *et al.*, 2012) แต่อย่างไรก็ตาม β -sitosterol นี้เป็นสารในกลุ่ม steroid มีรายงานว่าพบใน สารสกัดหญาดอกขาวที่สกัดด้วยเมทานอล (Shah *et al.*, 2010) แต่ไม่พบในสารสกัดหญาดอกขาวที่ สกัดด้วยน้ำ

สารสกัดหญาดอกขาวขนาด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าจำนวน spermatogonium และ primary spermatocyte ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับการมีเซลล์ตายเพิ่มมากขึ้น spermatid stage I ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาวขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีจำนวนเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาวขนาดนี้ยังสามารถเพิ่มการสร้างอสุจิได้ แต่อย่างไรก็ตามจำนวนเซลล์

ที่พบยังน้อยกว่าในหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาขนาด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากมีจำนวนเซลล์ตายมากกว่า สอดคล้องกับจำนวน spermatid stage I ของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดขนาด 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เป็นเพราะจำนวนเซลล์ที่ตายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน เมื่อ spermatid stage I ตายเป็นจำนวนมาก ก็มีผลให้ spermatid stage II และ III มีจำนวนลดลงไปด้วย แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาขนาด 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีความเป็นพิษต่อ spermatogenic cell ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับสารสกัดจากกวาวเครือแดง *Butea superba* Roxb. ซึ่งหากใช้ที่ความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มจำนวน primary spermatocyte และ spermatid ในหนูทดลองได้ (Tocharus *et al.*, 2005; Tocharus *et al.*, 2012) แต่ถ้าใช้ที่ความเข้มข้น 150-200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย โดยยืนยันจากระดับ alkaline phosphatase (ALP) และ aspartate aminotransferase (AST) ในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น และระดับ creatinine ลดลง เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงภาวะตับทำงานผิดปกติ (liver malfunction) (Cherdshewasart *et al.*, 2008) เนื่องจากเซลล์ตับเกิด necrosis เมื่อได้รับสารพิษ (Hofstetter *et al.*, 2006)

4.2.8 พยาธิสภาพของรังไข่

เนื้อเยื่อรังไข่ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาทุกความเข้มข้นทั้งบริเวณ cortex และ medulla ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาทุกความเข้มข้นไม่เป็นพิษต่อรังไข่ ลักษณะและจำนวน follicle ระยะต่างๆ corpus luteum และ atretic follicle ของหนูที่ได้รับสารสกัดหญาดอกขาไม่แตกต่างทางสถิติจากที่พบในหนูกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาไม่มีผลต่อการพัฒนาของ follicle และการตกไข่ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดทุกความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มจำนวน primordial follicle และ unilaminar follicle เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะเดียวกัน mature follicle มีแนวโน้มลดลงด้วย อาจเป็นเพราะสารสกัดมีผลในการชะลอการพัฒนาของ primordial follicle ไปเป็น mature follicle โดยลดระดับ FSH ที่กระตุ้นการพัฒนาของ primordial follicle (Reece *et al.*, 2011) Thakur *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดด้วย ether จากเมล็ดของ *Mallotus philippinensis* Moll. Arg. Lam. มีฤทธิ์ยับยั้งการพัฒนาของ follicle และการตกไข่

โดยหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดนี้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันนาน 30 วัน มีระดับ FSH, LH จำนวน developing follicle และจำนวน corpus luteum ลดลง การทดลองบ่อนสารสกัดหญาดอกขาวครั้งนี้ พบว่า mature follicle ของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดมีแนวโน้มลดลงแต่จำนวน corpus luteum ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่าสารสกัดหญาดอกขาวไม่มีผลต่อระดับ LH จึงไม่ยับยั้งการตกไข่ (Reece *et al.*, 2011) mature follicle จึงพัฒนาไปเป็น corpus luteum ได้ แต่ถ้าหนูทดลองได้รับสารสกัดต่อเนื่องเป็นเวลานานกว่า 7 วัน อาจมีผลกระทบต่อการพัฒนาไปเป็น mature follicle เนื่องจาก secondary follicle I และ II มีแนวโน้มลดลง รวมทั้ง atretic follicle มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

Sangeetha *et al.* (2011) รายงานว่าพบ tannin ในสารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดความเสียหายที่ตับและไต (Chung *et al.*, 1998a; Muriel, 2005) โดย tannin ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เซลล์ตับเกิด necrosis เพิ่มมากขึ้น glomerulus จำนวนมากฝ่อลีบ และพบกลุ่มของ mononuclear inflammatory cell แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับและไต (Sudha *et al.*, 2008) นอกจากนี้ tannin ยังทำให้เกิดความเสียหายที่ชั้น mucosa ของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กด้วย (Reed, 1995; Chung *et al.*, 1998b; Muriel, 2005) ดังนั้นความเสียหายที่ตับ ไต และกระเพาะอาหารที่พบในการทดลองครั้งนี้อาจจะเกิดจาก tannin ในสารสกัดหญาดอกขาว

การศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้หนูทดลองแสดงความผิดปกติให้เห็น (lowest-observed-adverse-effect level; LOAEL) คือ 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้กระเพาะอาหารหลัง mucus เพิ่มมากขึ้น อาจทำให้เกิดความระคายเคืองที่กระเพาะอาหาร และปริมาณสารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำที่ทำให้เกิดความผิดปกติที่ตับและไต คือ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เนื่องจากสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความทนต่อสารพิษไม่เท่ากัน เมื่อคำนวณตามวิธีของ Reagan-Show *et al.*, (2007) พบว่าสารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่หนูทดลองได้รับ คิดเป็นปริมาณสารสกัดหญาดอกขาว 3.24 และ 16.22 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในคน ดังนั้นปริมาณสารสกัดหญาดอกขาวสกัดด้วยน้ำที่คนจะนำมาใช้โดยไม่ทำให้เกิดความระคายเคืองที่กระเพาะอาหารต้องไม่เกิน

3.24 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และปริมาณที่จะไม่ทำให้เกิดความเสียหายที่ตับและไต คือไม่เกิน 16.22 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ในระยะเวลา 7 วัน



สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการทดลอง

จากการป้อนสารสกัดจากหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20, 100, 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมให้หนูทดลอง ติดต่อกันนาน 7 วัน และพักไว้ 7 วัน ก่อนการตรวจสอบ สรุปได้ดังนี้

1.1 สารสกัดหญ้าดอกขาวทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนูทดลอง ไม่ก่อความเป็นพิษที่รุนแรงจนทำให้หนูทดลองตาย รวมทั้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการกินและลักษณะภายนอกของหนูทดลอง แต่สารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 500 และ 2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้หนูทดลองมีพฤติกรรมกระตือรือร้นมากขึ้น

1.2 สารสกัดหญ้าดอกขาวทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อองค์ประกอบของเลือดของหนูทดลอง ไม่มีผลต่อขนาดตับ ไต ม้าม และอวัยวะ รวมทั้งไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่ต่อมไทมัสและปอดของหนูทดลอง

1.3 สารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 100-2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดความเสียหายที่ตับ มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด และอาจทำให้เกิดภาวะไตวาย และเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังได้ หากได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน

1.4 สารสกัดหญ้าดอกขาวความเข้มข้น 20-2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดความระคายเคืองและกีดกร่อนกระเพาะอาหาร ซึ่งอาจนำไปสู่การเกิดแผลหลุมได้หากได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน

1.5 สารสกัดหญาดอกขาวความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อาจนำมาใช้เพิ่มการสร้างอสุจิได้ แต่สารสกัดหญาดอกขาวทุกความเข้มข้นมีแนวโน้มชะลอการพัฒนาของ follicle โดยไม่มีผลต่อการตกไข่

1.6 สารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้หนูทดลองแสดงความผิดปกติให้เห็น (lowest-observed-adverse-effect level; LOAEL) มีค่าต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และความเข้มข้นสารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำที่ทำให้เกิดความผิดปกติที่ตับและไตคือ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

2. ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในครั้งนี้ ความเข้มข้นของสารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำที่คนสามารถนำมาใช้โดยไม่ทำให้เกิดความระคายเคืองที่กระเพาะอาหารคือน้อยกว่า 3.24 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และความเข้มข้นที่ไม่ทำให้เกิดความเสียหายที่ตับและไตคือไม่เกิน 16.22 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม สารสกัดหญาดอกขาวด้วยน้ำมีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพในหลายอวัยวะ จึงควรตรวจสอบผลของสารสกัดเพิ่มเติม เพื่อประกอบความมั่นใจในการนำหญาดอกขาวมาใช้ประโยชน์ ดังนี้

1. ตรวจสอบระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของตับและไต คือ alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, blood urea nitrogen และ creatinine เพื่อยืนยันพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นที่ตับและไต

2. ตรวจสอบผลของสารสกัดหญาดอกขาวต่อกระบวนการสร้างอสุจิ โดยวัดระดับฮอร์โมน testosterone รวมทั้งตรวจสอบปริมาณและความสมบูรณ์ของอสุจิ และ ตรวจสอบผลของสารสกัดหญาดอกขาวต่อการพัฒนาของ follicle โดยวัดระดับฮอร์โมน FSH และ LH

3. พิสูจน์โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหุ้มดอกขาวด้วยน้ำที่เป็นสารออกฤทธิ์ทำให้เกิดพยาธิสภาพในหลายอวัยวะ

4. ทดสอบผลของสารสกัดหุ้มดอกขาวแบบเรื้อรัง เพื่อยืนยันความปลอดภัยหากใช้สารสกัดติดต่อกันเป็นเวลานาน

5. ตรวจสอบผลจากคนที่ใช้หุ้มดอกขาวในการรักษาโรคมามาก่อน เช่น การตรวจเลือดเพื่อดูการทำหน้าที่ของตับและไต



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. 2543. **เนื้อเยื่อวิทยา**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2546. **จุลกายวิภาคศาสตร์**. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กุลนภา ฟูเจริญ. 2547. การตรวจวัดความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน, น. 29-34. ใน **นันทรัตน์**

โฆมานะสิน, นพมาศ เข้มทองกลาง, มณเฑียร พันธุมธากุล และ สุทธิพรณ กิจเจริญ. **การ**

ทดสอบพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.

คมกฤษ เทียนคำ. 2550. พยาธิวิทยาของตับและตับอ่อน, น. 227-305. ใน **คมกฤษ เทียนคำ และ**

ธีระยุทธ แก้วอมตวงศ์ม บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาเฉพาะระบบทางสัต์ว์. ปอຍท์ กราฟิคม

กรุงเทพฯ.

คมกฤษ เทียนคำ และ อัจฉริยา ไสละสูต. 2550. พยาธิวิทยาของระบบขับถ่ายปัสสาวะ,

น. 35-64. ใน **คมกฤษ เทียนคำ และ ธีระยุทธ แก้วอมตวงศ์ม บรรณาธิการ. พยาธิวิทยา**

เฉพาะระบบทางสัต์ว์. ปอຍท์ กราฟิคม กรุงเทพฯ.

นริศรา เข้มทรัพย์. 2541. หญ้าดอกขาว อีกทางเลือกหนึ่งของผู้ต้องการเลิกบุหรี่. **จุลสารบุหรีและ**

สุขภาพ. 8(1): 15-16.

ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. **สมุนไพรพื้นบ้าน(5)**. บริษัท

ประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ.

ปรีดา เบญจนากาสกุล. 2549. **ประสิทธิผลของหญ้าดอกขาวในการเลิกบุหรี่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปานเทพ รัตนากร. 2535. **คู่มือการใช้สัตว์ทดลอง**. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ผู้จัดการออนไลน์. 2551. **ลดสิงห์อมควันด้วยกาแฟหญ้าดอกขาว**. แหล่งที่มา:

<http://www.manager.co.th/QOL/ViewNews.aspx?NewsID=9510000083403>, 19 มีนาคม 2556.

ไพเกษม แสณยานุสิน. 2547. การตรวจสอบเมียร์เลือด, น. 47-52. ใน นันทรัตน์ โฆมานะสิน, นพมาศ เข้มทองกลาง, มณเฑียร พันธุมธากุล และ สุทธิพรรณ กิจเจริญ. **การทดสอบพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา**. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.

วงศ์สถิต ฉั่วสกุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์, วิจิต เปานิล และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์สกุล. 2539. **สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา**. ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2531. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. โอ.เอส.พรินติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

ศักดิ์วิชา ไชยสวัสดิ์ และ มนัชชา มรรคอนันตโชติ. 2539. **การศึกษารูปแบบการบำบัดผู้ติดบุหรี่ด้วยการใช้หญ้าดอกขาวและธรรมชาติบำบัดของโรงพยาบาลเทิง จังหวัดเชียงราย**. สถาบันควบคุมการบริโภคยาสูบ กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.

สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. **พืชสมุนไพร**. บริษัทรุ่งเรืองการพิมพ์ (1977) จำกัด, กรุงเทพฯ.

- สุทธิพรรณ กิจเจริญ. 2547. การวัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น, น. 35-40. ใน นันทรัตน์ โสมานะสิน, นพมาศ เข้มทองกลาง, มณเฑียร พันธเมธากุล และ สุทธิพรรณ กิจเจริญ. การทดสอบพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.
- เสรี ดอนบัวแก้ว. 2543. ชีววิทยาและอายุศาสตร์ของกระต่ายและสัตว์ฟันแทะ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ.
- อนุเทพ รังสีพิพัฒน์. 2550. พยาธิวิทยาของระบบขับถ่ายปัสสาวะ, น. 175-208. ใน คมกฤษ เทียนคำ และ ชีระยุทธ แก้วอมตวงศ์ บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาเฉพาะระบบทางสัต์ว์. ปอຍท์กรรฟิค กรุงเทพฯ.
- Abeysekera, A.M., K.T.D. De Silva, S.R.P. De Silva, V.D.P. Sirimanne, R.P. Labadie, A.J.J. Van den Berg and W. Van der Sluis. 1999. Inhibition of chemiluminescence generated by zymosan-activated polymorphonuclear leucocytes by phenolic constituents of *Vernonia cinerea*. **Fitoterapia** 70: 317-319.
- Ajayi, I.A., R.A. Oderinde, B.O. Ogunkoya, A. Egunyomi and V.O. Taiwo. 2007. Chemical analysis and preliminary toxicological evaluation of *Garcinia mangostana* seeds and seed oil. **Food Chemistry** 101: 999-1004.
- Alexeeff, G.V., R. Broadwin, J. Liaw and S.V. Dawson. 2002. Characterization of the LOAEL-to-NOAEL uncertainty factor for mild adverse effects from acute inhalation exposures. **Regul. Toxicol. Pharmacol.** 36: 96-105.
- Alpers, C.E. 2005. The kidney, pp. 955-1021. In V Kumar, A.K. Abbas and N. Fausto, eds. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. The Curtis Center, Pennsylvania.

- Aruna, G., P.J. Reddy and V. Prabhakaran. 2012. Safety evaluation of ethanol extract of *Vernonia cinerea* L. in experimental animals. **Int. J. Pharm.** 2(1): 34-38.
- Brodbeck, W.G. and J.M. Anderson. 2009. Giant cell formation and function. **Curr. Opin. Hematol.** 16(1): 53-57.
- Brown, H.R. and J.F. Hardisty. 1990. Oral cavity, esophagus, and stomach, pp. 9-30. In G.A. Boorman, S.L. Eustis, M.R. Elwell, C.A. Montgomery and W.F. MacKenzie, eds. **Pathology of the Fischer Rat.** Academic Press, San Diego.
- Bruce, M.C., C.E. Honaker and R.J. Cross. 1999. Lung fibroblasts undergo apoptosis following alveolarization. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.** 20: 228-236.
- Car, B.D., V.K. Eng, N.E. Edwards and D.I. Bounous. 2006. Clinical Pathology of the Rat, pp. 127-146. In M.A. Suckow, S.H. Weisbroth, and C.L. Franklin, eds. **The Laboratory Rat.** Elsevier Inc, Amsterdam.
- Cattley, R.C. and J.A. Popp. 2002. Liver, pp. 187-225. In W.M. Haschek, C.G. Rousseaux and M.A. Wallig, eds. **Handbook of Toxicologic Pathology.** 2nd ed. Academic Press, California.
- Chea, A., S. Hout, C. Long, L. Marcourt, R. Faure, N. Azas and R. Elias. 2006. Antimalarial activity of sesquiterpene lactones from *Vernonia cinerea*. **Chem. Pharm. Bull.** 54 (10): 1437-1439.
- Chen, X., Z.J. Zhan and J.M. Yue. 2006. Sesquiterpenoids from *Vernonia cinerea*. **Nat. Pro. Re.** 20 (2): 125-129.

Cherdshewasart, W., P. Bhuntaku, R. Panriansaen, W. Dahlan and S. Malaivijitnond. 2008.

Androgen disruption and toxicity tests of *Butea superba* Roxb., a traditional herb used for treatment of erectile dysfunction, in male rats. **Maturitas** 60(2): 131-137.

Chung, K.T., C.I. Wei and M.G. Johnson. 1998a. Are tannins a double-edged sword in biology and health? **Tren. Food Sci. Tech.** 9: 168-175.

Chung, K.T., T.Y. Wong, C.I. Wei, Y.W. Huang and Y. Lin. 1998b. Tannins and human health: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 38(6):421-464.

Crawford, J.M. 2005. Liver and biliary tract, pp. 877-938. *In* V Kumar, A.K. Abbas and N. Fausto, eds. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. The Curtis Center, Pennsylvania.

DeSesso, J.M. and C.F. Jacobson. 2001. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in rats and humans. **Food Chem. Toxicol.** 39: 209-228.

Dhar, M., M.M. Dhar, B.N. Dhawan, B.N. Mehrotra and C. Ray. 1968. Screening of Indian plants for biological activity: Part I. **Indian J. Exp. Biol.** 6: 232-247.

Eddy, E.M. and D.A. O'Brien. 1994. The spermatozoon, pp. 29-77. *In* E. Knobil and D.J. Neill, eds. **The Physiology of Reproduction**. 2nd ed. Raven Press, New York.

Fandohan, P., B. Gnonlonfin, A. Laleye, J.D. Gbenou, R. Darboux and M. Moudachirou. 2008. Toxicity and gastric tolerance of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* in Wistar rats. **Food Chem. Toxicol.** 46: 2493-2497.

- Gamble, M. 2008. The hematoxylins and eosin, pp. 121-135. In J.D. Bancroft and M. Gamble, eds. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
- Gonzales, F.G., A. Ruiz, C. Gonzales, L. Villegas and A. Cordova. 2001. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) roots on spermatogenesis of male rats. **Asian J. Androl.** 3: 231-233.
- Grizzi, F. and M. Chiriva-Internati. 2007. Human binucleate hepatocytes: Are they a defence during chronic liver diseases? **Medical Hypotheses** 69: 258–261.
- Grizzle, W.E., J.L. Fredenburgh and R.B. Myers. 2008. Fixation of tissues, pp. 53-74. In J.D. Bancroft and M. Gamble, eds. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
- Guha, G., V. Rajkumar, R.A. Kumar and L. Mathew. 2011. Therapeutic Potential of Polar and Non-Polar Extracts of *Cyanthillium cinereum* In Vitro. **eCAM**. 20: 155-164.
- Gupta, M., U.K. Mazumder, L. Manikandan, P.K. Haldar, S. Bhattacharya and C.C. Kandar. 2003a. Antibacterial activity of *Vernonia cinerea*. **Fitoterapia** 74: 148-150.
- Gupta, M., U.K. Mazumder, L. Manikandan, S. Bhattacharya, P.K. Haldar and S. Roy. 2003b. Evaluation of antipyretic potential of *Vernonia cinerea* extract in rats. **Phytother. Res.** 17: 804-806.
- Haque, A., C.S. Abdullah, B. Romana, B. Rafique, G.Z. Huda, S.F. Hossain and B. Begum. 2013. Evaluation of anti-diarrheal and anti-diabetic activities of the stem, barks and leaves of the plant *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). **J. A. P. S.** 3(01): 069-072.

- Haque, A., M. Hassan, A. Das, B. Begum, Y. Ali and H. Morshed. 2012. Phytochemical investigation of *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). **J. A. P. S.** 2(6): 79-83.
- Harizal, S.N., S.M. Mansor, J. Hasnan, J.K.J. Tharakan and J. Abdullah. 2010. Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragyna speciosa* Korth in rodent. **J. Ethnopharmacol.** 131: 404-409.
- Harrison, G.A. 1974. Ultrastructural response of rat lung to 90 days' exposure to oxygen at 450 Hg. **Aerspace Med.** 45: 1041-1045.
- Haschek, W.M., C.G. Rousseaux and M.A. Wallig. 2010. **Fundamentals of Toxicologic Pathology**. 2nd ed. Academic Press, California.
- Hirshfield, A.N. and A.R. Midgley. 1978. Morphometric analysis of follicular development in the rat. **Biol. Reprod.** 19: 597-605.
- Hofstetter, J., M.A. Suckow and D.L. Hickman. 2006. Morphophysiology, pp. 93-125. In M.A. Suckow, S.H. Weisbroth, and C.L. Franklin, eds. **The Laboratory Rat**. Elsevier Inc, Amsterdam.
- Husian, A., O.P. Virmani, S.P. Popli, L.N. Misra, M.M. Gupta, Z. Abraham and A.K. Singh. 1992. **Dictionary of Indian Medical Plants**. Lucknow.
- Iqbal, M.C.M., S. Meiyalaghan, K.B. Wijesekara and K.P. Abeyratne. 2001. Antifungal activity from water extracts of some common weeds. **Pakistan J. Biol. Sci.** 4: 843-845.

- Irisarri, E. and C.F. Hollander. 1994. Aging of the liver, pp. 341-350. *In* U. Mohr, D.L. Dungworth, and C.C. Capen, eds. **Pathobiology of the Aging Rat**. ILSI Press, Washington DC.
- Iwalewa, E.O., O.J. Iwalewa and J.O. Adeboye. 2003. Analgesic, antipyretic, antiinflammatory effects of methanol, chloroform, and ether extracts of *Vernonia cinerea* Less. leaves. **J. Ethnopharmacol.** 86 (2/3): 229-234.
- Kikkawa, Y. 1970. Morphology of alveolar lining layer. **Anat. Rec.** 167: 389-400.
- Koji, T., Y. Teruo, M. Yukari, U. Teruo, N. Makoto and S. Junzo. 2007. Histological observation of the development of follicles and follicular atresia in immature rat ovaries. **Acta Medica Okayama** 61(5): 283-298.
- Komarek, V., C. Gembardt, A. Krinke, T.A. Mahrous and P. Schaetti. 2000. Synopsis of the organ anatomy, pp. 283-319. *In* G.I. Krinke, ed. **The Laboratory Rat**. Academic Press, London.
- Ku, Y.R., C.Y. Chen, L.K. Ho, J.H. Lin and Y.S. Chang. 2002. Analysis of flavonoids in *Vernonia paltula* by high-performance liquid chromatography. **J. Food and Drug Analysis** 10 (3): 139-142.
- Kumar V, A.K. Abbas and N. Fausto. 2005a. Cellular adaptations, cell injury and cell death, pp. 3-46. *In* V Kumar, A.K. Abbas and N. Fausto, eds. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. The Curtis Center, Pennsylvania.

Kumar V, A.K. Abbas and N. Fausto. 2005b. Acute and chronic inflammation, pp. 47-86. *In* V

Kumar, A.K. Abbas and N. Fausto, eds. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of**

Disease. 7th ed. The Curtis Center, Pennsylvania.

Kuo, Y.H., Y.J. Kuo, A.S. Yu, M.D. Wu, C.W. Ong, L.Y. Kuo, J.T. Huang, C.F. Chen and S.Y.

Li. 2003. Two novel sesquiterpene lactones, cytotoxic vernolide-A and -B, from

Vernonia cinerea. **Chem. Pharm. Bull.** 51 (4): 425-426.

Laosim, T., S. Chuchawankul and T. Tencomnao. 2011. Immunomodulatory effect of hexane

extract of *Vernonia cinerea* Less. trunk on human peripheral blood mononuclear cells. **J.**

Chem. Pharm. Res. 3(4):188-195.

Latha, L.Y., I. Darah, K. Jain and S.Sasidharan. 2010. Toxicity study of *Vernonia cinerea*.

Pharm. Bio. 48 (1): 101-104.

Latha, R.M., T. Geetha and P. Varalakshmi. 1998. Effect of *Vernonia cinerea* Less. flower

extract in adjuvant-induced arthritis. **Gen. Pharmac.** 31 (4): 601-606.

Lee, K.P., S.R. Frame, G.P. Sykes and R. Valentine. 1993. Testicular degeneration and

spermatid retention in young male rats.. **Toxicol. Pathol.** 21: 292-302.

Leelarungrayub, D., S. Pratanaphon, P. Pothongsunun, T. Sriboonreung, A. Yankai and R.J.

Bloomer. 2010. *Vernonia cinerea* Less. supplementation and strenuous exercise reduce

smoking rate: relation to oxidative stress status and beta-endorphin release in active

smokers. **J. I. S. S. N.** 7: 21-31.

- Liu, C. and J.M. Crawford. 2005. The gastrointestinal tract, pp. 797-876. *In* V Kumar, A.K. Abbas and N. Fausto, eds. **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. The Curtis Center, Pennsylvania.
- Mabry, T.J., Z. Abdel-Beset, W.G. Padolina and S.B. Jones, Jr. 1975. Systematic implications of flavonoids and sesquiterpene lactones in species of *Vernonia*. **Biochem. Sys. Eco.** 2: 185-192.
- Maeda, K., S. Ohkura and H. Tsukamura. 2000. Physiology of reproduction, pp. 145-176. *In* G.I. Krinke, ed. **The Laboratory Rat**. Academic Press, London.
- MacLauchlan, S., Skokos E.A., Mezmarich N., Zhu D.H., Raoof S., Shipley J.M., Senior R.M., Bornstein P., and Kyriakides T.R. 2009. Macrophage fusion, giant cell formation, and the foreign body response require matrix metalloproteinase 9. **J. L. B.** 85: 617-626.
- Mazumder, U.K., M. Gupta, L. Manikandan, S. Bhattacharya, P.K. Haldar and S. Roy. 2003. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Vernonia cinerea* Less. extract in rats. **Phytomedicine** 10: 185-188.
- McCance, K.L. and T.C. Grey. 2012. Altered cellular and tissue biology, pp.59-97. *In* S.E. Huether and K.L. McCance, eds. **Understanding Pathophysiology**. 5th ed. Mosby Inc., Missouri.
- Misra, T.N., R.S. Singh, J. Upadhyay and R. Srivastava. 1984a. Chemical constituents of *Vernonia cinerea*, part I isolation and spectral studies of triterpenes. **J. Nat. Pro.** 47 (2): 368-372.

- Misra, T.N., R.S. Singh, J. Upadhyay and R. Srivastava. 1984b. Chemical constituents of *Vernonia cinerea*, isolation and structure elucidation of a new pentacyclic triterpenes. **J. Nat. Pro.** 47 (5): 865-867.
- Misra, T.N., R.S. Singh, J. Upadhyay and R. Srivastava. 1984c. Isolation of a natural sterol and an aliphatic acid from *Vernonia cinerea*. **Phytochemistry** 23 (2): 415-417.
- Mohan, H. 2005. **Textbook of Pathology**. 5th ed. Gopsons Paper Ltd., Noida, India.
- Mollary, F.B. 1942. **Phatological Technique**. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Muir, C.K. 1981. Depressant action of an extract of *Vernonia cinerea*. **Med. J. Malays.** 36: 119-121.
- Muriel J. M. 2005. Herbs or natural products that may cause cancer and harm. **Oncol. Nurs. Forum** 32(1): 20-29.
- Orafidiya, L.O, E.O. Agbani, E.O. Iwalewa, K.A. Adelusola and O.O. Oyedapo. 2004. Studies on the acute and sub-chronic toxicity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. leaf. **Phytomedicine** 11: 71-76.
- Parker, G.A. and W.B. Gibson. 1995. Liver lesions in rats associated with wrapping of the torso. **Toxicol. Pathol.** 23: 507-512.
- Pazirandeh, A., M. Jondal and S. Okret. 2004. Glucocorticoids delay age-associated thymic involution through directly affecting the thymocytes. **Endocrinology** 145: 2392-2401.

- Pereira, M.C.A., J.C.T. Carvalho, L.M. Lima, L.R.G. Caputo, L.R. Ferreira, J.E. Fiorini and J.K. Bastos. 2003. Toxicity of a subchronic treatment with hydroalcoholic crude extract from *Solanum grandiflorum* (Ruiz et Pav) in rats. **J. Ethnopharmacol.** 89: 97–99.
- Plecas-Solarovic, B., L. Lalic and G. Leposavic. 2004. Age-dependent morphometrical changes in the thymus of male propranolol-treated rats. **Ann. Anat.** 186: 141-147.
- Postle, A.D., E.L. Heeley and D.C. Wilton. 2001. A comparison of the molecular species compositions of mammalian lung surfactant phospholipids. **Comp.Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.** 129: 65-73.
- Prabhat, Navneet, Pramod and Chhaya. 2008. In vitro antibacterial activity of Sahdevi (*Vernonia cineria* Less.). **Environ. Conservat. J.** 9(1-2): 139-143.
- Pratheeshkumar, P. and G. Kuttan. 2010. Ameliorative action of *Vernonia cinerea* L. on cyclophosphamide-induced immunosuppression and oxidative stress in mice. **Inflammatorypharmacol.** 18: 197-207.
- Rastogi, R.P. and B.N. Mehrotra. 1991. **Compendium of Indian Medicinal Plants. Vol. II.** National Institute of Science Communication and Information Resources, New Delhi.
- Read, N.G. 1991. The role of lysosomes in hyaline droplet nephropathy induced by a variety of pharmacological agents in the male rat. **Histochem. J.** 23: 436-443.
- Reagan-Shaw, S., M. Nihal and N. Ahmad. 2007. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB J.** 22: 659-661.

Reece, J.B., L.A. Urry, M.L. Cain, S.A. Wasserman, P.V. Minorsky and R.B. Jackson. 2011.

Campbell Biology. 9th ed. Pearson Education, San Francisco.

Reed, J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J.**

Anim. Sci. 73: 1516-1528.

Rogers, D.F. 1994. Airway goblet cells: responsive and adaptable frontline defenders. **Eur.**

Respir. J. 7: 1690-1706.

Sangeetha, T. and T. Venkatarathinakumar. 2011. Antitumor activity of aerial parts of *Vernonia*

cinerea (L) Less. against Dalton's ascetic lymphoma. **Int. J. Pharm. Tech. Res.** 3(4): 2075-2079.

Sangeetha, T., T. Venkatarathinakumar and G. Sankari. 2011. Preliminary phytochemical

investigation including HPLC profile on aerial parts of *Vernonia cinerea* (L). **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.** 11(2): 65-68.

Sathyanathan, V., K.A. Eswar, M.B. Suresh, R. Iffath and F. Farhat. 2012 Sedative-hypnotic

activity on whole plant extract of *Vernonia cinerea* (Linn.) Less. **I. J. R. P. P.** 1(2): 169-171.

Schittny, J.C., V. Djonov, A. Fine and P.H. Burri. 1998. Programmed cell death contributes to

postnatal lung development. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.** 18: 786-793.

Senoo, H. 2000. Digestion, metabolism, pp. 359-383. In G. J. Krinke, ed. **The Laboratory**

Rat. Academic Press, London.

- Shah, W., M.B. Kekare and V. Vaidya. 2010. Development and validation of high performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of beta-sitosterol and lupeol in *Vernonia cinerea* Linn. **Int. J. Pharm. Bio. Sci.** 1 (3): 1-5.
- Sharpe, R.M. 1994. Regulation of spermatogenesis ,pp. 1363-1434. *In* E. Knobil and D.J. Neill, eds. **The Physiology of Reproduction.** 2nd ed. Raven Press, New York.
- Smith, E.M. and M.L.Calhoun. 1968. **The Microscopic Anatomy of the White Rat.** Iowa State University Press, Iowa.
- Spencer, L.T. and J.D. Bancroft. 2008. Tissue processing, pp. 83-92. *In* J.D. Bancroft and M. Gamble, eds. **Theory and Practice of Histological Techniques.** 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
- Stone, K.C., R.R. Mercer, B.A. Freeman, Y.L. Chang and J.D. Crapo. 1992. Distribution of lung cell numbers and volumes between alveolar and nonalveolar tissue. **Am. Rev. Respir. Dis.** 146: 454-456.
- Sudha, M., A. Gnanamani, G. Deepa, M. Sudha, E. Madhavacharyulu, K. Deivanai and S. Sadulla. 2008. In vivo studies on evaluation of potential toxicity of unspent tannins using albino rats (*Rattus norvegicus*). **Food Chem. Toxicol.** 46: 2288–2295.
- Takahashi, M., K. Shinoda and Y. Hayashi. 1992. Nonneoplastic changes in the testis, pp. 407-411. *In* U. Mohr, D.L. Dungworth, and C.C. Capen, eds. **Pathobiology of the Aging Rat.** ILSI Press, Washington DC.

- Thakur, S.C., S.S. Thakur, S.K. Chaube and S.P. Singh. 2005. An ethereal extract of Kamala (*Mallotus philippinensis* (Moll.Arg) Lam.) seed induce adverse effects on reproductive parameters of female rats. **Rep. Toxicol.** 20: 149–156.
- Tocharus, C., D. Shimbhu, J. Tocharus and A. Ruchiratanti-angkoor. 2012. Effect of *Butea Superba*. Roxb root extract on male hamster fertility. **Chiang Mai Med. J.** 51(2): 39-44.
- Tocharus, C., R. Jeenapongsa, T. Teakthonga and Y. Smitasirib. 2005. Effects of Long-term Treatment of *Butea superba* on Sperm Motility and Concentration. **Naresuan U. J.** 13(2): 11-17.
- Tripathi, S. and A.K. Srivastav. 2011. Cytoarchitectural alterations in kidney of Wistar rat after oral exposure to cadmium chloride. **Tissue and Cell** 43: 131–136.
- Ushasri, S., K. Nagaraju, D. Prasanthi and K. Ramadevi. 2012. In vitro antihelmintic activity of *Vernonia cinerea* roots. **Int. J. Advan. Pharm. Sci.** 3(6): 393-397.
- Wang, J., Z. Jiang, J. Ji, Y. Li, M. Chen, Y. Wan, Y. Zhang, T. Tai, T. Wang and L. Zhang. 2012. Evaluation of hepatotoxicity and cholestasis in rats treated with EtOH extract of Fructus Psoraleae. **J. Ethnopharmacol.** 144: 73–81.
- Wongwiwatthananukit, S., P. Benjanakaskul, T. Songsak, S. Suwanamajo and V. Verachai. 2009. Effect of *Vernonia cinerea* for smoking cessation. **J. Health Res.** 23 (1): 31-36.
- Yagi, S., A.I. Yagi, E.H. Abdel-Gadir, M. Henry, Y. Chapleur and D. Laurain-Mattar. 2011. Toxicity of *Hydnora johannis* Becca. dried roots and ethanol extract in rats. **J. Ethnopharmacol.** 137: 796–801.

Youn, U.J., E.J. Park, T.P. Kondratyuk, C.J. Simmons, R.P. Borris, P. Tanamatayarat, S.

Wongwiwatthananukit, O. Toyama, T. Songsak, J.M. Pezzuto and L.C. Chang. 2012.

Anti-inflammatory sesquiterpene lactones from the flower of *Vernonia cinerea*. **Bioorg.**

Med. Chem. Lett. 22: 5559–5562.

Zhu, H.X., Y.P. Tang, Z.D. Min and Z. Gong. 2009. Bioactive constituents of whole herbs of

Vernonia cinerea II. **China J. Chinese Mat. Med.** 34 (21): 2765-2767.

Zhu, H.X., Y.P. Tang, L.M. Pan and Z.D. Min. 2008. Studies on bioactive constituents of whole

herbs of *Vernonia cinerea*. **China J. Chinese Mat. Med.** 33 (16): 1986-1988.





ตารางผนวกที่ ก1 น้ำหนักของหนูทดลองที่เวลา 0, 7 และ 14 วัน และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	น้ำหนัก (กรัม)			
			วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น
0	ผู้	1	115.00	167.40	200.80	85.80
		2	119.80	172.20	205.80	86.00
		3	116.10	175.50	207.80	91.70
		4	113.70	163.20	204.90	91.20
		5	123.60	176.10	220.60	97.00
	เมีย	1	103.10	146.50	164.70	61.60
		2	99.60	137.60	158.30	58.70
		3	115.90	154.20	172.20	56.30
		4	106.00	145.80	165.70	59.70
		5	115.60	147.80	167.60	52.00
20	ผู้	1	114.50	166.20	194.80	80.30
		2	109.80	164.50	195.40	85.60
		3	114.60	172.90	209.90	95.30
		4	113.70	175.20	202.00	88.30
		5	117.70	171.80	207.30	89.60
	เมีย	1	111.80	149.90	167.70	55.90
		2	113.90	147.70	162.70	48.80
		3	102.60	133.60	145.50	42.90
		4	111.70	149.00	170.30	58.60
		5	111.80	148.80	166.50	54.70
100	ผู้	1	120.90	182.30	217.20	96.30
		2	110.00	168.70	202.60	92.60
		3	119.60	181.40	216.70	97.10
		4	114.20	164.00	190.90	76.70
		5	119.80	178.50	219.70	99.90
	เมีย	1	115.60	158.00	177.20	61.60

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	น้ำหนัก (กรัม)			
			วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น
100 (ต่อ)	เมีย	2	105.40	146.00	163.30	57.90
		3	100.40	132.60	152.50	52.10
		4	111.90	148.20	178.30	66.40
		5	109.50	139.60	152.80	43.30
500	ผู้	1	118.60	168.80	202.70	84.10
		2	119.50	187.80	209.90	90.40
		3	115.20	180.00	209.30	94.10
		4	115.60	172.20	198.30	82.70
		5	115.70	171.50	193.80	78.10
	เมีย	1	121.10	155.40	174.60	53.50
		2	118.70	146.30	164.70	46.00
		3	107.50	144.40	157.70	50.20
		4	123.20	160.30	175.60	52.40
		5	111.70	142.00	157.50	45.80
	ผู้	1	109.30	168.20	199.70	90.40
		2	116.00	175.00	206.00	90.00
		3	116.30	168.40	198.60	82.30
		4	100.70	177.40	220.80	120.10
		5	116.30	182.70	194.90	78.60
	เมีย	1	120.00	151.90	170.60	50.60
		2	103.30	140.00	158.30	55.00
		3	105.60	133.50	143.10	37.50
		4	119.70	149.30	161.00	41.30
		5	104.90	139.40	157.60	52.70

ตารางผนวกที่ ก2 ปริมาตรเมล็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (g%)	ปริมาตรเมล็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)
0	ผู้	1	8.66	58.50
		2	5.82	49.00
		3	20.60	63.50
		4	16.61	85.00
		5	14.63	53.00
	เมีย	1	20.15	70.50
		2	18.23	73.50
		3	15.73	66.00
		4	24.98	42.67
		5	16.79	42.00
20	ผู้	1	16.23	53.00
		2	18.35	52.50
		3	19.07	75.50
		4	9.76	51.00
		5	18.91	53.50
	เมีย	1	19.12	55.00
		2	14.65	65.50
		3	14.65	38.50
		4	16.68	48.50
		5	12.22	31.50
100	ผู้	1	17.02	46.00
		2	16.59	57.50
		3	20.81	50.00
		4	14.65	56.50
		5	16.97	40.00
	เมีย	1	15.57	68.50

ตารางผนวกที่ ก2 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (กรัมเปอร์เซ็นต์)	ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เปอร์เซ็นต์)
100 (ต่อ)	เมีย (ต่อ)	2	13.91	72.00
		3	16.55	62.00
		4	14.25	45.50
		5	20.26	69.00
500	ผู้	1	17.24	47.00
		2	17.97	40.00
		3	14.58	86.00
		4	17.07	73.00
		5	17.33	61.00
	เมีย	1	19.73	50.00
		2	17.47	51.00
		3	18.67	49.50
		4	16.66	59.50
		5	10.46	28.50
2,500	ผู้	1	14.04	45.00
		2	14.54	51.50
		3	12.01	44.00
		4	16.41	40.00
		5	13.35	67.50
	เมีย	1	17.79	75.50
		2	17.02	73.50
		3	16.1	55.50
		4	14.74	35.33
		5	15.58	61.50

ตารางผนวกที่ ก3 จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิดของหนูเพศผู้และเพศเมีย

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	จำนวนเม็ดเลือดขาว (เซลล์)				
			ลิมโฟไซต์	นิวโทรฟิล	โมโนไซต์	อีโอซิโนฟิล	เบโซฟิล
0	ผู้	1	72	22	6	0	0
		2	74	17	8	0	1
		3	75	15	9	1	0
		4	73	17	8	2	0
		5	77	14	7	2	0
	เมีย	1	72	17	9	2	0
		2	72	17	10	1	0
		3	75	18	7	0	0
		4	74	20	6	0	0
		5	76	12	9	3	0
20	ผู้	1	75	18	6	1	0
		2	72	19	8	1	0
		3	75	16	6	2	1
		4	74	17	9	0	0
		5	77	16	6	1	0
	เมีย	1	73	15	10	2	0
		2	77	15	6	2	0
		3	72	20	7	1	0
		4	70	19	9	1	0
		5	76	16	8	0	0
100	ผู้	1	74	18	7	1	0
		2	75	14	8	3	0
		3	75	19	6	0	0
		4	76	17	7	0	0
		5	75	16	7	2	0
	เมีย	1	72	17	8	3	0

ตารางผนวกที่ ก3 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	จำนวนเม็ดเลือดขาว (เซลล์)				
			ลิมโฟไซต์	นิวโทรฟิล	โมโนไซต์	อีโอซิโนฟิล	เบโซฟิล
100 (ต่อ)	เมีย	2	74	18	8	0	0
		3	74	16	6	4	0
		4	73	16	11	0	0
		5	74	17	9	0	0
500	ผู้	1	76	16	8	0	0
		2	74	18	6	1	1
		3	75	16	6	3	0
		4	72	17	10	1	0
		5	74	19	6	1	0
	เมีย	1	72	20	8	0	0
		2	74	17	7	2	0
		3	72	18	9	1	0
		4	74	16	7	3	0
		5	71	19	9	1	0
	ผู้	1	72	16	11	1	0
		2	74	18	7	1	0
		3	73	20	6	1	0
		4	73	18	9	0	0
		5	73	17	8	2	0
	เมีย	1	74	18	7	1	0
		2	71	20	8	1	0
		3	73	16	8	3	0
		4	76	17	7	0	0
		5	75	18	6	1	0

ตารางผนวกที่ ก4 น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวหนู 100 กรัม

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)			
			ตับ	ไต	ม้าม	อวัยวะ
0	ผู้	1	4.63	0.78	0.38	1.46
		2	4.33	0.78	0.29	1.13
		3	4.54	0.96	0.28	1.35
		4	4.49	0.81	0.35	1.26
		5	4.43	0.93	0.32	1.21
	เมีย	1	4.10	0.86	0.27	-
		2	4.64	0.86	0.33	-
		3	4.38	0.76	0.28	-
		4	4.09	0.74	0.33	-
		5	4.69	0.83	0.29	-
20	ผู้	1	4.54	0.80	0.35	1.29
		2	3.73	0.92	0.32	1.47
		3	3.79	0.91	0.29	1.01
		4	4.27	0.92	0.38	1.43
		5	4.15	0.78	0.33	1.33
	เมีย	1	3.86	0.89	0.33	-
		2	4.09	0.92	0.30	-
		3	4.06	0.89	0.31	-
		4	4.22	0.89	0.28	-
		5	4.80	0.98	0.36	-
100	ผู้	1	4.24	0.83	0.29	1.29
		2	4.35	0.83	0.36	1.60
		3	4.46	0.96	0.33	1.42
		4	4.91	0.92	0.38	1.57
		5	3.70	0.92	0.39	1.44
	เมีย	1	4.07	0.74	0.30	-

ตารางผนวกที่ ก4 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)			
			ตับ	ไต	ม้าม	อวัยวะ
100 (ต่อ)	เมีย	2	3.92	0.92	0.34	-
		3	3.35	0.86	0.33	-
		4	3.87	0.77	0.25	-
		5	4.18	0.96	0.32	-
500	ผู้	1	4.15	0.84	0.37	1.65
		2	4.24	0.86	0.28	1.17
		3	3.87	0.96	0.28	1.33
		4	4.13	0.79	0.31	1.43
		5	4.01	0.76	0.22	1.22
	เมีย	1	4.08	0.77	0.30	-
		2	3.84	0.89	0.26	-
		3	3.76	0.89	0.27	-
		4	4.37	0.89	0.31	-
		5	3.92	0.79	0.28	-
2,500	ผู้	1	3.88	0.74	0.30	1.21
		2	4.31	0.84	0.27	1.17
		3	3.92	0.88	0.33	1.32
		4	4.36	0.82	0.32	1.28
		5	4.04	0.81	0.31	1.49
	เมีย	1	4.14	0.89	0.26	-
		2	4.13	0.73	0.23	-
		3	3.47	0.92	0.27	-
		4	3.62	0.88	0.26	-
		5	3.84	0.82	0.37	-

ตารางผนวกที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่พบในหนูขาวที่ได้รับสารสกัดหยาุดอกขาวที่
ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	จำนวน (เซลล์)			
			เซลล์ที่มีขนาด	เซลล์ที่มี 2	เซลล์ที่เกิด	เซลล์ที่เกิด
			ใหญ่	นิวเคลียส	pyknosis	necrosis
0	ผู้	1	2	6.67	3.33	10
		2	1.67	7.67	1.33	7.33
		3	2	6	0.33	8
		4	2.33	11.67	0.67	9.67
		5	1	7.67	0.67	6.33
	เมีย	1	1.67	8.67	0.67	7.67
		2	1	9	1	5.67
		3	1.67	8.5	1.33	7.67
		4	1.67	10.5	0.67	7.33
		5	1.67	7.33	2	8.33
20	ผู้	1	4.33	8.33	0.67	11.67
		2	2	10.67	1.67	9.33
		3	3.33	8.67	1	8.67
		4	2.33	9	1.33	7.67
		5	3	5.33	2.33	9.67
	เมีย	1	2.33	7.33	0.67	11
		2	2	10.33	0.67	9
		3	2.33	9	2.33	10.67
		4	3	6.67	1.67	16
		5	4	9	3.33	14
100	ผู้	1	2.67	12	2.33	15.67
		2	2	13	1.67	20
		3	2.67	11.33	2.67	18.67
		4	5	11	3	16.33
		5	5	15.33	2	14.67
	เมีย	1	4	15	3.67	20.33
		2	2.33	12.67	3	19

ตารางผนวกที่ ก5 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	จำนวน (เซลล์)			
			เซลล์ที่มีขนาด ใหญ่	เซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส	เซลล์ที่เกิด pyknosis	เซลล์ที่เกิด necrosis
100 (ต่อ)	เมีย	3	4.33	16	2.33	19.33
		4	5	11.67	2.67	17.67
		5	3.33	13.67	1.67	17.67
500	ผู้	1	7.67	8	2	27.33
		2	7.33	11	3	20
		3	7	7.67	3.67	26.67
		4	5.67	10.33	2	26.67
		5	8.67	12.67	3.33	30
	เมีย	1	8	9.67	2.33	30
		2	7.67	11.33	2	33
		3	8.67	8.67	3.33	38
		4	4.33	9.67	4	27
		5	5.67	11	3	21
	ผู้	1	6.33	9.33	3	63
		2	4	11.33	3	59
		3	5.67	11.67	2	53
		4	8.33	10.67	2	42
		5	4.33	10.33	2.33	64
	เมีย	1	6	11	2.67	59
		2	5	11.67	3	58
		3	3	12	2	40
		4	6.33	11	3	53
		5	7	9.67	1.33	50

ตารางผนวกที่ ก6 การเปลี่ยนแปลงของ glomerulus ที่พบในหนูที่ได้รับสารสกัดเห็ดดอกขาวที่
ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	glomerulus หดตัว (อัน)	glomerulus สลายตัว (อัน)
0	ผู้	1	0	1.33
		2	0	0
		3	0	2
		4	0	0.33
		5	0	2.33
	เมีย	1	0	1.33
		2	0	1
		3	0	1
		4	0	1.33
		5	0	1
20	ผู้	1	0	1.67
		2	0	1.33
		3	0	1.33
		4	0	2.67
		5	0	1
	เมีย	1	0	0.33
		2	0	1.67
		3	0	2.33
		4	0	3
		5	0	2
100	ผู้	1	1.67	2.33
		2	1.67	5
		3	0	3.33
		4	2.33	3.67
		5	1.67	7

ตารางผนวกที่ ก6 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	glomerulus หดตัว (อัน)	glomerulus ฝลายตัว (อัน)
500	เมีย	1	1	6.67
		2	1.67	9.67
		3	0.33	3.67
		4	2	6.33
		5	0.67	3.67
	ผู้	1	3.67	7.67
		2	1.67	3.67
		3	3	8
		4	2.33	4.67
		5	1.67	7.33
2,500	เมีย	1	1.67	4.33
		2	2.33	5.67
		3	2	6.33
		4	2.67	5.33
		5	2.33	4.33
	ผู้	1	7	12.67
		2	3.67	9.33
		3	6.67	13.33
		4	3.33	9.33
		5	3.67	10.67
	เมีย	1	2	6.33
		2	3	8
		3	4.67	9.33
		4	4.33	10.33
		5	5.67	11.33

ตารางผนวกที่ ก7 จำนวน giant cell ที่พบในม้ามของหนูทดลอง

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	giant cell (เซลล์)
0	ผู้	1	1.5
		2	1.1
		3	1.4
		4	1.1
		5	0.8
	เมีย	1	1.6
		2	0.9
		3	0.9
		4	1.1
		5	0.8
20	ผู้	1	1.7
		2	1.7
		3	1.1
		4	1.7
		5	1.4
	เมีย	1	1.4
		2	1.2
		3	1.3
		4	1.2
		5	1.5
100	ผู้	1	1.8
		2	2
		3	1.9
		4	1.8
		5	1.1
	เมีย	1	2
		2	1.7

ตารางผนวกที่ ก7 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	เพศ	ตัวที่	giant cell (เซลล์)
100 (ต่อ)	เมีย	3	2.3
		4	1.7
		5	2
500	ผู้	1	1.9
		2	1.9
		3	2.1
		4	1.8
		5	1.9
	เมีย	1	1.8
		2	1.5
		3	2.2
		4	1.9
		5	1.4
2,500	ผู้	1	3.7
		2	2.1
		3	2.5
		4	4.1
		5	1.5
	เมีย	1	4.5
		2	1.6
		3	2.7
		4	2
		5	3.7

ตารางผนวกที่ ๑๘ จำนวน spermatogenic cell และ spermatogenic cell ที่เกิด necrosis ของหนูที่ได้รับสารสกัดหยาดดอกขาวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	ตัวที่	spermatogonium		Primary spermatocyte		Spermatid stage I		Spermatid stage II		Spermatid stage III	
		Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis
0	1	11.8	1.4	12.2	0.6	20.93	0.4	6	0.2	4.4	0
	2	12	0.2	13	0.4	16.2	0	7.6	0.4	14.2	0
	3	9.6	1	11	0.4	12.4	0	7	0	9.6	0
	4	9.6	0.8	12	0.4	18	0	4.6	0.2	6.8	0
	5	11.6	0.8	12.2	0.2	10.4	0.6	2.4	0	11	0
20	1	10.4	0.6	11	0.6	16.4	0.6	9	0.4	10.2	0
	2	10.6	0	11.2	0.2	11.3	0.2	7.8	0.2	11.6	0
	3	10.2	0.6	10.4	0	16.4	0.4	8.8	0.2	11.2	0
	4	10.2	1	10.2	0.8	18.6	0.2	6.8	0	13.8	0
	5	11	1.4	11.2	0.6	10.6	0	10	0.2	4.4	0
100	1	12.4	1.4	14.2	1.2	26	0.6	17.2	0	18	0
	2	12.8	0.8	12.6	0.2	18	0.4	13.2	0.2	16.4	0
	3	11.2	0.2	10.8	0	27.6	0	7.8	0	15	0
	4	12.2	0.8	16.8	0	25.8	0	12.2	0.2	9.8	0

ตารางผนวกที่ ก8 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	ตัวที่	spermatogonium		Primary spermatocyte		Spermatid stage I		Spermatid stage II		Spermatid stage III	
		Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis	Normal	Necrosis
100 (ต่อ)	5	14.6	0.2	13.4	0.4	24	0.4	6	0.2	9	0
500	1	9.4	1.6	10.6	1.8	26.8	1	5.4	0	2	0
	2	9.2	1.6	10.2	3.2	25	8	4.8	1.2	0.8	0
	3	8.4	4.4	9.2	3	24	7.6	4.4	0.4	1.4	0
	4	7.8	3.2	7.6	3.2	17	7.4	6.6	2.4	0.2	0
	5	9.8	2.4	9	2.4	19	12.4	6.8	1.8	4.4	0
2500	1	8.2	3.8	8.2	3.2	19.4	14.4	4.4	2.2	2.2	0
	2	10.2	3.6	10.8	4.2	16	17	4.2	0	2	0
	3	5.2	2.8	8.4	3	14	17	4.8	1.2	3	0
	4	6.4	3.8	7	4	11.8	16.6	3.2	1.2	0	0
	5	7.4	4	7.6	4.2	14.2	14.2	3.6	0.8	1.4	0.2

ตารางผนวกที่ ๑๑ เปอร์เซ็นต์ follicle ระยะต่างๆและ corpus luteum ที่พบในรังไข่

ความเข้มข้น (mg/kg)	ตัวที่	Primordial follicle	Unilaminar follicle	Multilaminar follicle	Secondary follicle I	Secondary follicle II	Mature follicle	Corpus luteum	Atretic follicle
0	1	10.00	20.00	10.00	10.00	10.00	5.00	30.00	5.00
	2	45.33	14.67	8.00	22.67	2.67	0.00	5.33	1.33
	3	3.45	3.45	6.90	27.59	3.45	10.34	31.03	13.79
	4	15.38	7.69	7.69	30.77	15.38	3.85	15.38	3.85
	5	4.35	0.00	21.74	34.78	13.04	4.35	17.39	4.35
20	1	23.33	16.67	13.33	13.33	13.33	0.00	13.33	6.67
	2	26.32	22.81	12.28	19.30	8.77	1.75	8.77	0.00
	3	32.43	18.92	10.81	5.41	2.70	10.81	10.81	8.11
	4	6.67	6.67	10.00	33.33	13.33	3.33	13.33	13.33
	5	25.00	12.50	3.13	34.38	6.25	3.13	9.38	6.25
100	1	21.05	5.26	15.79	15.79	5.26	5.26	31.58	0.00
	2	23.53	20.59	5.88	20.59	2.94	5.88	8.82	11.76
	3	34.88	23.26	4.65	13.95	11.63	4.65	2.33	4.65
	4	7.89	21.05	7.89	34.21	2.63	7.89	7.89	10.53

ตารางผนวกที่ ก9 (ต่อ)

ความเข้มข้น (mg/kg)	ตัวที่	Primordial follicle	Unilaminar follicle	Multilaminar follicle	Secondary follicle I	Secondary follicle II	Mature follicle	Corpus luteum	Atretic follicle
100 (ต่อ)	5	34.85	34.85	3.03	12.12	1.52	1.52	6.06	6.06
500	1	9.52	9.52	0.00	38.10	4.76	0.00	33.33	4.76
	2	0.00	4.65	34.88	30.23	6.98	2.33	13.95	6.98
	3	19.44	25.00	5.56	30.56	2.78	0.00	5.56	11.11
	4	46.15	7.69	7.69	11.54	0.00	7.69	19.23	0.00
	5	17.39	19.57	10.87	26.09	4.35	0.00	15.22	6.52
2500	1	33.33	27.78	9.26	12.96	3.70	0.00	9.26	3.70
	2	25.00	10.00	0.00	40.00	5.00	0.00	5.00	15.00
	3	7.41	3.70	18.52	25.93	7.41	0.00	18.52	18.52
	4	17.65	5.88	23.53	0.00	5.88	0.00	41.18	5.88
	5	29.41	20.59	5.88	17.65	5.88	0.00	20.59	0.00



1. การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค (Spencer and Bancroft, 2008)

ตารางผนวกที่ ข1 การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	70 % alcohol	5
2	70 % alcohol	2
3	80 % alcohol	1
4	80 % alcohol	1
5	95 % alcohol	1
6	95 % alcohol	1
7	100 % alcohol	1
8	100 % alcohol	1
9	xylene I	1
10	xylene II	1
11	paraplast I	1.5
12	paraplast II	1.5

2. การเตรียมสารเคมี และวิธีการย้อมสีทางพาราฟินเทคนิค

2.1 น้ำยาคงสภาพ

น้ำเกลือล้างเนื้อเยื่อก่อนคงสภาพ

Normal saline (NaCl)

0.9 เปอร์เซนต์

น้ำยาคงสภาพ Neutral buffered formalin solution (Grizzle *et al.*, 2008)

Formalin (30-40 % formaldehyde)	100.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	900.00	มิลลิลิตร
Sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4)	4.00	กรัม
Sodium phosphate dibasic (anhydrous) (Na_2HPO_4)	6.50	กรัม
ผสมเข้าด้วยกัน		

คุณสมบัติ: เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปตามห้องปฏิบัติการต่าง ๆ เหมาะสำหรับรักษาสภาพเนื้อเยื่อทั่วไป ทั้งที่ต้องการย้อมสีธรรมชาติและสีพิเศษ formalin จะเป็นตัวคงสภาพโปรตีนในไซโทพลาซึม ระยะเวลาในการรักษาสภาพประมาณ 24 ชั่วโมง หรือถ้าจำเป็นต้องรักษาสภาพไว้นานกว่านี้ก็ยังใช้ได้ ล้างออกด้วยน้ำไหลประมาณ 6 ชั่วโมง (Grizzle *et al.*, 2008)

2.2 สีย้อม Harris's hematoxylin และ Eosin (Gamble, 2008)

2.2.1 การเตรียม Harris's hematoxylin

Hematoxylin crystal	5.00	กรัม
Absolute alcohol	50.00	มิลลิลิตร
Ammonium alum	100.00	กรัม
Mercuric oxide (red)	2.50	กรัม
น้ำกลั่น	1000.00	มิลลิลิตร

ต้มน้ำกลั่นในปิกเกอร์ขนาด 1,500 มิลลิลิตร ให้เดือด เติม ammonium หรือ potassium alum คนให้ละลาย ละลายผง hematoxylin ใน absolute alcohol ในปิกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมลงในสารละลายของ ammonium หรือ potassium alum ที่กำลังเดือด คนให้เข้ากัน ต้มต่อไปอีก 30 วินาที ยกลงแช่ในน้ำเย็น และเติม mercuric oxide ลงไปอย่างช้า ๆ ทีละน้อย ไม่ควรเติมทีเดียวก่อน เพราะจะกระเด็นซึ่งอาจเกิดอันตรายได้เนื่องจากเกิดปฏิกิริยารุนแรง คนสารละลายให้เข้ากัน

จนกระทั่งได้สารละลายสีม่วงน้ำเงินเข้ม ทั้งไว้ให้เย็นแล้วเทใส่ขวดสีน้ำตาล เก็บไว้นาน 1 สัปดาห์ แต่ถ้ามีความจำเป็นต้องรีบใช้ทันที ก็ใช้ได้เลยหลังจากที่สารละลายเย็นแล้ว สารละลายนี้เก็บไว้ได้นานประมาณ 6 เดือนในที่มืด

การตรวจว่าสารละลายหมดยุ่นั้นทำได้โดยหยดสารละลาย 3-5 หยด ในน้ำประมาณ 200 มิลลิลิตร ถ้าได้สารละลายสีน้ำตาลแสดงว่าสารละลายหมดยุแล้วให้ทิ้ง สารละลายที่เก็บไว้ก่อนใช้ให้เติม glacial acetic acid 2-4 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย 100 มิลลิลิตร เพื่อช่วยให้ hematoxylin เปลี่ยนเป็น hematein อย่างช้า ๆ และทำให้เกิดการติดสีนิวเคลียสดีขึ้น

2.2.2 การเตรียม Eosin

ก. 1% Stock Alcohol Eosin

Eosin Y	1.00	กรัม
น้ำกลั่น	20.00	มิลลิลิตร
ละลายเข้าด้วยกันแล้วจึงเติม 95% แอลกอฮอล์ 80.00 มิลลิลิตร		

ข. Working Eosin Solution

Eosin stock solution	1	ส่วน
แอลกอฮอล์ 80%	3	ส่วน

ก่อนใช้ให้เติม glacial acetic acid 1-1.5 มิลลิลิตร ต่อสี 100 มิลลิลิตร แล้วคนให้เข้ากันเพื่อ การติดสีของ Eosin ที่จับกับไซโทพลาซึม

2.2.3 Acid alcohol 1%

แอลกอฮอล์ 70%	1000.00	มิลลิลิตร
Hydrochloric acid	10.00	มิลลิลิตร

2.2.4 Ammonium water 0.2%

Tab water	1000.00	มิลลิลิตร
Ammonium hydroxide 28%	2.00	มิลลิลิตร

2.3 สีย้อม Best's Carmine (Mollary, 1942)

2.3.1 การเตรียม Carmine

ก. Stock carmine solution

Carmine	2.00	กรัม
Potassium carbonate	1.00	กรัม
Potassium chloride	5.00	กรัม
Distilled water	60.00	มิลลิลิตร

ผสมเข้าด้วยกันในน้ำร้อน ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 28% Ammonium hydroxide 20

มิลลิลิตร

ข. Working carmine solution

Stock carmine solution	10.00	มิลลิลิตร
Ammonium hydroxide 28%	15.00	มิลลิลิตร
Methyl alcohol	15.00	มิลลิลิตร

2.3.2 Differentiating solution

Absolute alcohol	20.0	มิลลิลิตร
Methyl alcohol	10.00	มิลลิลิตร
Distilled water	25.00	มิลลิลิตร

3. วิธีย้อมสี Harris's hematoxylin-Eosin (Gamble, 2008)

นำ paraffin section ผ่านขั้นตอนการย้อมสีดังนี้

- 3.1 deparaffinized โดยจุ่มใน xylene 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที
- 3.2 hydration ใน 100%alcohol, 95%alcohol, 70%alcohol และน้ำกลั่นครั้งละ 2 นาที
- 3.3 ย้อมสี Harris's hematoxylin 10 นาที
- 3.4 ล้างในน้ำประปาที่ไหลจนแผ่นเนื้อเยื่อเป็นสีน้ำเงิน 5-10 นาที
- 3.5 differentiate ใน acid alcohol 1% โดยจุ่ม (dip) 1-2 ครั้ง
- 3.6 แช่ในน้ำประปาที่ไหล 5 นาที
- 3.7 จุ่มใน ammonium water solution 1 นาที
- 3.8 แช่ในน้ำประปาที่ไหล 5 นาที
- 3.9 ย้อมสี Eosin นาน 1-2 นาที
- 3.10 differentiate ใน 70%alcohol แล้วยกขึ้นอย่างรวดเร็ว
- 3.11 dehydrate ใน 95%alcohol, 100%alcohol 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที เพื่อขจัดน้ำ
- 3.12 clearing ใน xylene 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที
- 3.13 ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ผนึกให้แน่นด้วยน้ำยา permount ทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำไป

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพต่อไป

ผล: นิวเคลียส ย้อมติดสีม่วงน้ำเงิน หรือน้ำเงิน

ไซโทพลาซึม ย้อมติดสีชมพูถึงส้มแดง

4. วิธีย้อมสี Best's Carmine (Mollary, 1942)

นำ paraffin section ผ่านขั้นตอนการย้อมสีดังนี้

4.1 deparaffinized โดยจุ่มใน xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที จากนั้นล้าง xylene ออกใน absolute alcohol และ 95% alcohol อย่างละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที แล้วแช่ในน้ำกลั่น 2 นาที

4.2 ย้อมสี Harris's hematoxylin นาน 15 นาที จากนั้น differentiate ใน 1% acid alcohol ประมาณ 3 วินาที

4.3 แช่สไลด์ใน working carmine นาน 20 นาที จากนั้นจุ่มสไลด์ใน differentiating solution 5-10 จุ่ม

4.4 ล้างสไลด์ออกบางส่วนใน 80% alcohol 1-2 จุ่ม แล้วผ่านสไลด์ใน 95% alcohol และ absolute alcohol อย่างละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที

4.5 ผ่านสไลด์ที่ย้อมสีแล้วไปยัง xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที และปิดสไลด์เนื้อเยื่อด้วย กระดาษปิดสไลด์โดยยึดด้วย permount

ผล: บริเวณที่มีการสะสมไกลโคเจน ย้อมติดสีชมพูถึงแดง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวศจี วรามิตร
เกิดวันที่	22 สิงหาคม 2529
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เกียรตินิยมอันดับ 1
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	อาจารย์พิเศษสอนวิชาปฏิบัติการชีววิทยา (วท.161) ภาคต้น ปีการศึกษา 2555 ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์และบรรยาย การประชุม วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อเยาวชน ครั้งที่ 4 ที่ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค เสนอผลงานวิจัยแบบบรรยาย งานประชุมวิชาการ ระดับชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขตหนองคาย ครั้งที่ 2 ประจำปี 2555
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทาง วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) ทุนวิจัยจากภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์