วิธีการทดสอบความเป็นพิษเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดต่อเนื่องกัน

ใช้หนูขาวทั้งหมด 3 กลุ่ม ๆ ละ 24 ตัว เป็นเพศผู้ 12 ตัว เพศเมีย 12 ตัว รวมทั้งหมด 72 ตัว มีรายละเอียดดังนี้

กลุ่มที่ 1 หรือ กลุ่มทดสอบ: ป้อนน้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน

กลุ่มที่ 2 หรือ กลุ่มควบคุม: ป้อนน้ำในปริมาตรที่เท่ากัน (คำนวณจากน้ำหนักตัว) เป็นเวลา 28 วัน

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ศึกษาผลย้อนกลับหลังหยุดให้น้ำสกัดรางจืด หรือเรียกว่ากลุ่ม satellite: ป้อนน้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน แล้วหยุดให้ สังเกตอาการต่ออีก 14 วัน เพื่อศึกษาว่าหลังหยุดให้สารสกัดใบรางจืดแล้ว ร่างกายหนูขาวสามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้หรือไม่

ในช่วงเวลาขณะที่ให้สารสกัดใบรางจืดมีการชั่งน้ำหนัก และสังเกตอาการหนูขาวไปพร้อมกัน โดยสังเกตอาการและลักษณะความผิดปกติต่าง ๆ ดังนี้ ที่ผิวหนัง ขน ตา เยื่อเมือก การหายใจ การไหลเวียนโลหิตบริเวณใบหูและเท้า ระบบประสาทอัตโนมัติและระบบประสาทส่วนกลาง รวมทั้งพฤติกรรมที่ผิดปกติ เช่น ซึม ตื่นตัว ชัก มีสารคัดหลั่งเพิ่มขึ้น เป็นต้น หนูขาวที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบนำมาผ่าชากเพื่อศึกษาพยาธิสภาพ

ส่วนหนูขาวที่ยังมีชีวิตรอดจนครบเวลาของการทดสอบนำมาทำให้สลบ โดยฉีด pentobarbital ในขนาด 50 mg/kg เก็บเลือดและผ่าชากเพื่อศึกษาลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

- ตรวจพยาธิสภาพด้วยตาเปล่า (gross pathology) พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักอวัยวะภายในต่าง ๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ปอด ม้าม ต่อมหมวกไต และอวัยวะสืบพันธุ์ (เพศเมียใช้ ovary เพศผู้ใช้ testis)
- ตรวจความผิดปกติของเนื้อเยื่อ (histology) ในกรณีที่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพ โดยนำอวัยวะภายในทุกส่วนใส่ลงไปในภาชนะที่มีสารละลาย 10% neutral-buffered formalin เพื่อ fixed อวัยวะภายในก่อนนำไปตัดชิ้นเนื้อตรวจทางกล้องจุลทรรศน์
- เก็บข้อมูลทางเคมีคลินิก : วัดปริมาณ glucose, electrolytes, BUN, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase, total protein และ albumin โดยตรวจที่ห้องปฏิบัติการสวนดอกเมดิคอลแล็ป ใช้เครื่องของบริษัท Beckman รุ่น CX-7 เป็นเครื่อง fully automate
- เก็บข้อมูลทางโลหิตวิทยา : วัดปริมาณ WBC, differential leukocyte counts, hematocrit และ hemoglobin โดยตรวจที่ห้องปฏิบัติการสวนดอกเมดิคอลแล็ป ใช้เครื่อง Cell Dyn ของบริษัท Abbott เป็นเครื่อง fully automate

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยการวัดระดับของ malondialdehyde (MDA) ประยุกต์ใช้วิธีของ Santos และคณะ[31] อาศัยหลักการที่ MDA ทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid (TBA) ในซีรั่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในภาวะที่เป็นกรดมีความร้อนเกิดเป็น MDA-TBA complex ซึ่งมีสีชมพูอมส้ม ดังสมการต่อไปนี้

TBA + MDA ⟶ TBA-MDA complex + $2H_2O$

TBA-MDA complex ที่ได้สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 532 nm โดยใช้เครื่อง spectrophotometer

การวัดระดับ MDA

นำเลือดหนูขาวที่เก็บได้มาปั่นแยกซีรั่มเก็บไว้ในหลอดทดลอง ที่ –30°C ทำการทดสอบภายใน 5 วันหลังจากเก็บเลือดหนูขาว เนื่องจาก MDA จะมีความคงตัวที่ –30 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน[32]

- เตรียมหลอดทดลองขนาด 13 x 100 mM
- ดูดซีรั่มที่ได้มา 0.1 mL ใส่ในหลอดทดลอง เติม 0.85% NSS 0.45 mL
- เติม TBA reagent 0.2 mL และ TCA reagent 1.0 mL ผสมให้เข้ากัน
- นำไปต้มในน้ำเดือด 95-100°C เป็นเวลา 30 นาที
- ครบเวลา ยกออก แช่น้ำทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 2 mL ผสมให้เข้ากัน
- นำไปปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
- นำส่วนใสไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นปรับศูนย์ นำค่า OD ที่ได้มาเปรียบเทียบหาปริมาณ MDA กับ calibration curve

การทดสอบการกลายพันธุ์ หรือการทดสอบเอมส์

นำผง lyophilized รางจืดมาละลายด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 1,000 µg ต่อ plate (20 mg/mL) ความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นสูงที่สุดที่สามารถกรองผ่าน millipore filter membrane ได้ และลดความเข้มข้นลงมาเรื่อย ๆ โดยเติมน้ำให้ได้ความเข้มข้น 500, 250 และ 125 µg ต่อ plate ตามลำดับ

เตรียมหลอดทดลองสองชุด ชุดที่ 1 สำหรับทดสอบในภาวะที่ไม่เติม S9 mix และชุดที่ 2 สำหรับทดสอบภาวะที่เติม S9 mix แต่ละชุดประกอบด้วยสารสกัดใบรางจืดที่จะทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ต่อปริมาตรที่ใช้ 50 µL ต่อ plate (เตรียมความเข้มข้นละ 3 หลอดทดลอง, ทำ triplicate) ใช้สารก่อการกลายมาตรฐาน เช่น 2-(2-furyl-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2) 0.025 µg ต่อ plate สำหรับเป็น positive control ในการทดสอบภาวะที่ไม่เติม S9 mix ใน TA98 และ TA100 หรือสารก่อการกลายมาตรฐาน 2-aminoanthracene (2-AA) สำหรับเป็น positive control ในการทดสอบภาวะที่เติม S9 mix ใช้ความเข้มข้นเท่ากันทั้ง TA98 และ TA100 คือ 0.5 µg ต่อ plate

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่ความเข้มข้นของสารสกัดใบรางจืด = 0 ให้เติมน้ำ 50 µL แทน หลอดทดลองนี้เป็น negative control หรือ spontaneous reversion (background) ของแบคทีเรียที่ใช้ทดลอง

การทดลองแบ่งทำทีละชุด โดยชุดแรกทดลองในภาวะที่ไม่ต้องเติม S9 mix จะใช้ phosphate buffer แทน โดยนำหลอดทดลองชุดที่ 1 ทำไปทีละหลอดจนเสร็จตามขั้นตอนต่อไปนี้

- ใส่ 0.2 M sodium phosphate buffer หลอดละ 0.5 mL
- เติม 0.1 mL overnight culture ของแบคทีเรีย (TA98 หรือ TA100)
- เติม 2 mL ของ Top agar (45°C)
- เขย่าโดยหมุนหลอดทดลองในอุ้งมือประมาณ 4-5 วินาที
- เทสารละลายทั้งหมดลงใน minimal glucose agar plate
- ทำจนครบทุกหลอด ทิ้ง plates ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

เริ่มทำหลอดทดลองชุดที่ 2 ทำไปทีละหลอดเช่นเดิม ดังนี้

- ทำตามขั้นตอนขั้นต้นโดยเติมสารละลายผสม S9 mix หลอดละ 0.5 mL แทน phosphate buffer
- นำ plates ทั้งหมด ไปวางแบบพลิกคว่ำกลับด้าน (inverted) ในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำ plates มานับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย
- นำ plates ไปดูด้วย stereomicroscope เพื่อตรวจดูการเจริญแบบผิดปกติของแบคทีเรีย ซึ่งน้ำสกัดใบรางจืดอาจฆ่าแบคทีเรีย (bacteria killing effect) ได้
- นับจำนวนโคโลนีใน plates ที่ไม่มี bacteria killing effect นำไปลบด้วย spontaneous reversion (background) เป็นค่า mutant colonies ที่เกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วยน้ำสกัดใบรางจืด
- นำค่าที่ได้ไปแสดงลงในตาราง ค่าที่แสดงต้องเป็นค่าเฉลี่ยจาก 6 plates จากการทำซ้ำ 2 ครั้ง

ค่าที่ได้จากหลอดทดลองชุดที่ 1 แสดงฤทธิ์ก่อการกลายของสารสกัดใบรางจืดในภาวะที่ไม่ต้องมีการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ใน S9 mix ส่วนค่าจากหลอดทดลองชุดที่ 2 แสดงฤทธิ์ก่อการกลายของสารสกัดใบรางจืดในภาวะที่ต้องการการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ใน S9 mix

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ซอฟท์แวร์สถิติโปรแกรม SPSS 9.0 ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ ผลจากการทดสอบที่ได้ อาทิเช่น น้ำหนักตัว น้ำหนักอวัยวะต่าง ๆ ค่าการทดสอบทางโลหิตวิทยา เคมีคลินิก ระดับ MDA จำนวน mutant colonies ในแต่ละกลุ่ม แสดงออกมาในรูป mean $\pm$ standard deviation ($X \pm SD$) สัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบไม่นำมารวมในการหาค่าเฉลี่ย สำหรับการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลอง ระหว่างกลุ่มทดสอบกับกลุ่มควบคุมใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ ส่วนลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา และสัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบวิเคราะห์โดยวิธีพรรณาความผิดปกติเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาความเป็นพิษในหนูขาว

- **การทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป** (Changes in general behavior of conscious rats)

ผลการทดลองพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดมีพฤติกรรมที่ผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุมในระยะเวลา 7 วัน เมื่อป้อนน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 10 g/kg ที่แบ่งป้อนภายใน 1 ชั่วโมง นอกจากนี้ลักษณะการกินอาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำ และการขับถ่ายของหนูขาว ก็ไม่แตกต่างกัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นใน 7 วันของหนูขาวดังแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในตาราง 2 เป็นน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นปกติ และไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ เมื่อผ่าชากดูอวัยวะภายในของหนูขาวด้วยตาเปล่าก็ไม่พบความผิดปกติทั้งลักษณะ สี และขนาดของอวัยวะภายในของหนูขาวทั้งกลุ่มที่ให้รางจืดและกลุ่มควบคุม

- **การทดสอบความเป็นพิษเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดต่อเนื่องกัน** (Short term repeated exposure toxicity test)

ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมต่าง ๆ ของหนูขาวเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 500 mg/kg ทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 28 วัน ไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม และไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบทั้งในกลุ่มควบคุม กลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

ตาราง 3 แสดงน้ำหนักตัวของหนูขาวทั้ง 2 เพศ ซึ่งพบว่าน้ำหนักตัวของหนูขาวในกลุ่มให้สารสกัดและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า ทั้ง 2 เพศ แต่เมื่อนำอวัยวะภายในมาชั่งน้ำหนัก พบว่าน้ำหนักตับและไตของกลุ่มหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงผลในตาราง 4 ส่วนน้ำหนักอวัยวะภายในของกลุ่มหนูขาวเพศเมีย ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน แสดงผลในตาราง 5 และตาราง 6 แสดงน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับทั้งเพศผู้และเพศเมีย พบว่าน้ำหนักตัวของหนูขาวกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มากกว่าหนูขาวกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มควบคุม แต่น้ำหนักอวัยวะภายในกลับไม่เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มควบคุม

ผลทางโลหิตวิทยา

ผลทางโลหิตวิทยาของหนูขาวทั้งเพศผู้และเพศเมียแสดงในตาราง 7 และ 8 ตามลำดับ พบว่าเฉพาะหนูขาวเพศผู้เท่านั้นที่มีค่า hematocrit (Hct), white blood cell counts (WBC) และเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil เพิ่มขึ้น ส่วนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ลดลง และ mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) ก็ลดลงในกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ส่วนเพศเมียมีเฉพาะเม็ดเลือดขาว lymphocyte ของกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับเท่านั้นที่ลดลง นอกนั้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

ผลทางเคมีคลินิก

ผลทางเคมีคลินิกของหนูขาวในกลุ่มให้สารสกัดเพศผู้พบว่ามีค่า glucose และ CO_2 ลดลง แต่กลุ่มศึกษาผลย้อนกลับมีค่า blood urea nitrogen (BUN) และ direct bilirubin เพิ่มขึ้น ส่วนค่า glucose ยังคงลดลงเช่นเดียวกับกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดดังตาราง 9 ผลทางเคมีคลินิกในกลุ่มหนูขาวเพศเมียนั้นแสดงในตาราง 10 พบว่าในกลุ่มให้สารสกัดค่า aspartate amino transferase (AST) เพิ่มขึ้นแต่ค่า chloride กลับลดลง ในกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับมีค่า BUN, creatinine, direct bilirubin, AST, Na และ K เพิ่มขึ้น

ผลทางพยาธิวิทยา

ผลการสังเกตพยาธิสภาพด้วยตาเปล่าไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด โดยไม่พบความผิดปกติทั้งสีและลักษณะของเนื้อเยื่อ

ผลทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในของหนูขาว พบว่าตัวอย่างชิ้นเนื้อของอวัยวะภายในของหนูขาวทุกกลุ่มไม่มีความผิดปกติ หรือมีพยาธิสภาพ และไม่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้ง 2 เพศ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

สมอง : การจัดเรียงตัวของเซลล์ในชั้นเปลือกสมอง (cerebral cortex) อยู่ในลักษณะปกติ ไม่พบว่ามีการตายของเซลล์สมองหรือมีการเกิดเนื้อเยื่อพังผืดขึ้นภายในสมอง เซลล์เยื่อบุช่องโพรงสมอง (ependyma) มีการจัดเรียงตัวเป็นปกติ ไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่อมพิทูอิทารี : ทั้งต่อมส่วนหน้า (anterior lobe) และส่วนหลัง (posterior lobe) รวมทั้งส่วนกลาง (intermedia) ไม่พบว่ามีพยาธิสภาพ และ endocrine cell ซึ่งเป็นส่วนประกอบในต่อมพิทูอิทารีไม่พบความผิดปกติ

หัวใจ : ผนังหัวใจชั้นใน (endocardium) มีลักษณะบางแต่ไม่พบก้อนเลือดเกาะติดกับผนังหัวใจ ชั้นกล้ามเนื้อหัวใจ (myocardium) ไม่มีการอักเสบหรือการตายของกล้ามเนื้อ ผนังหัวใจชั้นนอก (epicardium) มีลักษณะเรียบไม่พบการตายของชั้นไขมันที่อยู่ที่ผนังหัวใจชั้นนอก (epicardial fat) ไม่พบความผิดปกติทั้งในกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มควบคุม

ปอด : เนื้อปอดอยู่ในลักษณะปกติที่ประกอบไปด้วยผนังกั้นถุงลม (alveolar septae) และเซลล์ pneumocyte แขนงหลอดลมและเส้นเลือดในปอดไม่พบว่ามีเลือดออกหรือสารคัดหลั่งไปอุดตัน

ตับ : ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อและการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อของตับ (hepatic microarchitectures) ไม่พบว่ามีการตายของเซลล์ตับ (hepatocyte) และ Kupffer's cell ไม่พบเซลล์ซึ่งแสดงถึงการอักเสบและการคั่งของน้ำดีภายในตับ พบการสะสมของไขมันอยู่ในเนื้อเยื่อปริมาณเล็กน้อย โดยมีลักษณะเป็นไขมัน (fat deposits) อยู่ในเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด แต่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เห็นไม่มีความสำคัญทางพยาธิวิทยา

ตับอ่อน : ลักษณะโครงสร้างที่เป็นท่อประกอบไปด้วย intralobular duct และ interlobular duct อยู่ในลักษณะปกติ และ islets cell อยู่กระจัดกระจายอย่างเป็นระเบียบและมีขนาดเท่า ๆ กัน

ทางเดินอาหาร : ในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารพบเนื้อเยื่อบุชั้นในของทางเดินอาหาร (mucosa) อยู่ในสภาพปกติ แต่ต่อมที่ทำหน้าที่หลั่งสารคัดหลั่งต่าง ๆ ภายในท่อทางเดินอาหารมี plasma cell แทรกซึมอยู่จำนวนเล็กน้อย เนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ภายในผนังท่อทางเดินอาหารส่วน ileum และ colon รวมทั้งผนังชั้นกล้ามเนื้อของท่อทางเดินอาหารอยู่ในลักษณะปกติ

ม้าม : ไม่พบว่ามีการทำลายของเซลล์หรือการติดสีที่ผิดปกติในส่วนของ red pulp และส่วน white pulp ลักษณะเส้นเลือดที่อยู่ในบริเวณนี้มีลักษณะปกติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไต : เยื่อหุ้มไต (renal capsule) อยู่ในลักษณะปกติ บริเวณเปลือกนอกของไต (renal cortex) มีเลือดคั่งอยู่เล็กน้อย ไม่พบว่ามีการทำลายที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์ในชั้น tubulointerstitium ไม่พบมีการแทรกซึมที่ผิดปกติของเซลล์ ลักษณะท่อไตซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อไตชั้นใน (renal medulla) อยู่ในเกณฑ์ปกติ

ต่อมหมวกไต : ทั้งต่อมหมวกไตชั้นนอก (adrenal cortex) และชั้นใน (adrenal medulla) แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน เซลล์ของต่อมหมวกไตชั้นในมีจำนวนค่อนข้างมากและมี cytoplasmic granule อยู่จำนวนมาก เนื้อเยื่อชั้น zona fasiculata ของ adrenal cortex มีการจัดเรียงตัวอย่างปกติ และมี fat granule จำนวนมาก ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่บ่งชี้ว่ามีการทำลายหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์มากขึ้นกว่าปกติ (hyperplasia)

ต่อมธัยรอยด์ : thyroid lobule ประกอบไปด้วยเซลล์ขนาดเล็กเรียงตัวกันเป็นทรงกลมและมีของเหลว (colloid) อยู่ภายใน ส่วน fibromuscular septae มีลักษณะบางและบวมเล็กน้อย

มดลูก : ไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มควบคุม หลอดมดลูก (uterine tube) ที่ตัดออกมาทั้งสองข้างมีลักษณะเหมือนกัน และช่องภายในโพรงมดลูกบุอยู่ด้วยเซลล์ชนิด simple columna และ stroma ในส่วนลึกของเนื้อเยื่อมดลูกประกอบด้วย endometrial grands และ hyalinized stromal cells ซึ่งลักษณะเหล่านี้ไม่แสดงให้เห็นว่ามีความผิดปกติ ชั้นกล้ามเนื้อ (myomedium) อยู่ในลักษณะปกติ พบว่ามีการแทรกซึมของเซลล์ประเภท granulocytes และ eosinophile จำนวนเล็กน้อยอยู่ในชั้น endometrium

รังไข่ : ไม่พบว่ามีพยาธิสภาพทั้งในกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มควบคุม ในรังไข่แต่ละตัวพบว่ามีถุงขนาดเล็ก (follicles) ที่มีขนาดแตกต่างกันที่ประกอบไปด้วย corpora lutae และ theca cells พบเซลล์ของไข่ (oocytes) อยู่ภายในรังไข่ มีการเจริญของไข่และ follicle ในระยะต่าง ๆ เป็นปกติ

อัณฑะและส่วนประกอบ : อัณฑะทั้งสองข้างมีลักษณะเหมือนกัน พบกระบวนการสร้างสเปิร์มตามปกติ และพบมี spermatozoa จำนวนมากในท่อนำอสุจิ (epididymis) ต่อมลูกหมาก (prostate gland) และท่อเก็บตัวอสุจิ (seminal vesicles) อยู่ในลักษณะปกติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 น้ำหนักตัว (กรัม) ที่เพิ่มขึ้นใน 7 วันของหนูขาวในการทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม โดยทั่วเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 10 g/kg

กลุ่ม	จำนวน	น้ำหนักตัวของหนูขาว (g)		
		วันที่ 0	วันที่ 7	เพิ่มขึ้นร้อยละ
เพศผู้				
ควบคุม	5	168 ± 14	203 ± 25	17
ทดสอบ	5	165 ± 18	180 ± 25	8
เพศเมีย				
ควบคุม	5	138 ± 9	156 ± 12	12
ทดสอบ	5	145 ± 19	159 ± 20	9

กลุ่มควบคุม = หนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ (vehicle)

กลุ่มทดสอบ = หนูขาวกลุ่มที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 10 g/kg

แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3 น้ำหนักตัวของหนูขาวเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน

กลุ่ม	น้ำหนักเริ่มต้น (g)	น้ำหนักสุดท้าย (g)	เพิ่มขึ้นร้อยละ	จำนวน
เพศผู้				
ควบคุม	188 ± 13	338 ± 19	44	12
ทดสอบ	176 ± 9	332 ± 25	47	12
เพศเมีย				
ควบคุม	196 ± 7	247 ± 10	23	12
ทดสอบ	189 ± 9	246 ± 15	21	12

กลุ่มควบคุม = หนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ (vehicle) เป็นเวลา 28 วัน

กลุ่มทดสอบ = หนูขาวกลุ่มที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน

แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 น้ำหนักอวัยวะภายในหนูขาว เพศผู้ เมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน

อวัยวะภายใน	น้ำหนักอวัยวะภายใน (g/100g)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบ
ปอด	0.378 ± 0.09	0.388 ± 0.08
หัวใจ	0.352 ± 0.03	0.357 ± 0.02
ตับ	3.454 ± 0.17	3.743 ± 0.35*
ม้าม	0.230 ± 0.02	0.238 ± 0.02
ต่อมหมวกไต ซ้าย	0.008 ± 0.00	0.008 ± 0.00
ขวา	0.007 ± 0.00	0.007 ± 0.00
ไต ซ้าย	0.417 ± 0.05	0.464 ± 0.03*
ขวา	0.411 ± 0.04	0.465 ± 0.04**
อัณฑะ ซ้าย	0.522 ± 0.03	0.525 ± 0.04
ขวา	0.528 ± 0.02	0.525 ± 0.04
n	12	12

แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

* $p<0.05$

** $p<0.01$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 5 น้ำหนักอวัยวะภายในหนูขาว เพศเมีย เมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน

อวัยวะภายใน	น้ำหนักอวัยวะภายใน (g/100g)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบ
ปอด	0.426 ± 0.05	0.434 ± 0.05
หัวใจ	0.371 ± 0.02	0.371 ± 0.02
ตับ	3.250 ± 0.23	3.286 ± 0.30
ม้าม	0.263 ± 0.03	0.267 ± 0.02
ต่อมหมวกไต ซ้าย	0.013 ± 0.00	0.013 ± 0.00
ขวา	0.013 ± 0.00	0.012 ± 0.00
ไต ซ้าย	0.422 ± 0.03	0.442 ± 0.02
ขวา	0.419 ± 0.02	0.431 ± 0.02
รังไข่ ซ้าย	0.024 ± 0.00	0.025 ± 0.00
ขวา	0.024 ± 0.00	0.024 ± 0.00
n	12	12

แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved