



สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1 ผลปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะเฉียบพลัน

การศึกษาครั้งนี้มีการทดลองให้สารสกัดกะเม็ง 3 ขนาด คือ 10, 20 และ 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เทียบกับซีโลมารินซึ่งเป็นที่ยอมรับว่ามีฤทธิ์ในการปกป้องตับ จากการศึกษากลุ่มเอทานอลสามารถเพิ่มระดับเอนไซม์ AST และ ALT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ ส่วนกลุ่มที่ได้รับสมุนไพร คือ สารสกัดกะเม็งขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีโลมาริน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีฤทธิ์ปกป้องตับจากพิษของเอทานอลดีที่สุด โดยสามารถลดระดับของเอนไซม์ AST และ ALT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ ขณะที่สารสกัดกะเม็ง 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับของเอนไซม์ ALT ได้เพียงอย่างเดียว ส่วนค่าเคมีคลินิกอื่นๆ ทั้ง STG, HTG, MDA, GSH, TNF- α และ IL-1 β นั้นไม่เปลี่ยนแปลง ผลทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าสารสกัดกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีโลมารินสามารถป้องกันเซลล์ตับจากพิษของเอทานอลได้ซึ่งสอดคล้องกับค่าเคมีคลินิก

2 ผลปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะกึ่งเฉียบพลัน

ศึกษาโดยเลือกขนาดที่เหมาะสมจากระยะเฉียบพลัน คือ สารสกัดกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่ากลุ่มที่ได้รับสมุนไพร คือ สารสกัดกะเม็ง, ซีโลมาริน, สารสกัดกะเม็งร่วมกับซีโลมาริน พบว่าสามารถลดระดับของเอนไซม์ AST, ALT, MDA และ IL-1 β ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล ส่วนกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน แล้วดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติอีก 7 วันนั้น สามารถลดระดับของเอนไซม์ AST และ ALT ได้ ค่าเคมีคลินิกอื่นๆ ทั้ง STG, HTG, MDA, GSH และ IL-1 β นั้นไม่เปลี่ยนแปลง ผลทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าสารสกัดกะเม็งและซีโลมารินสามารถรักษาเซลล์ตับจากพิษของเอทานอลได้ซึ่งสอดคล้องกับค่าเคมีคลินิกข้างต้น

ตารางที่ 15 แสดงผลการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะเฉียบพลัน

| กลุ่ม | AST | ALT | STG | HTG | MDA | GSH | TNF- α | IL-1 β | Histo. path |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| หนูขาวปกติ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 0 |
| เอทานอล | \uparrow^* | \uparrow^* | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 1 |
| กะเม็ง(10) | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 1 |
| กะเม็ง(20) | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 1 |
| กะเม็ง(30) | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 0 |
| ซีโลมารีน | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 0 |

ตารางที่ 16 แสดงผลการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะกึ่งเฉียบพลัน

| กลุ่ม | AST | ALT | STG | HTG | MDA | GSH | TNF- α | IL-1 β | Histo. path |
|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| หนูขาวปกติ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 0 |
| เอทานอล | \uparrow^* | \uparrow^* | \leftrightarrow | \uparrow^* | \uparrow^* | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 1.5 |
| กะเม็ง(30) | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | 1 |
| ซีโลมารีน | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | 0 |
| กะเม็ง+ ซีโลมารีน | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | $\downarrow\#$ | 0 |
| ** | $\downarrow\#$ | $\downarrow\#$ | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | \leftrightarrow | 1.5 |

หมายเหตุ ค่าทางเคมีคลินิก:

\leftrightarrow แสดงค่าทางเคมีคลินิกปกติหรือไม่เปลี่ยนแปลง

\uparrow^* แสดงค่าทางเคมีคลินิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ

$\downarrow\#$ แสดงค่าทางเคมีคลินิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล

** หมายถึงกลุ่มของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติอีก 7 วัน

อภิปรายผลการวิจัย

ตับเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีต่างๆให้ไม่มีฤทธิ์และไม่เกิดพิษ ซึ่งบางครั้งเมตาบอลิซึมของสารที่ได้รับอาจมีฤทธิ์ที่ทำให้เกิดพิษได้ พิษต่อตับที่พบบ่อยคือ fatty liver และ liver necrosis ปี ค.ศ. 1836 Addison รายงานว่าแอลกอฮอล์ทำให้เกิด fatty liver ซึ่งหมายถึงสภาวะที่ตับมีปริมาณไขมันมากกว่า 5% โดยน้ำหนัก ทำให้เกิดการสะสมที่ผิดปกติของไขมัน โดยเฉพาะ triglycerides ก่อนหน้านี้นี้มีการศึกษาในหนูพันธุ์ albino พบว่าสารสกัด 90% เอทานอลจากกะเม็งที่ขนาด 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับของ total cholesterol, triglycerides, phospholipids และ free fatty acids ได้แบบ dose-dependent อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ cholesterol (Kumari CS, et al, 2006)

ในการศึกษานี้มีการตรวจวัด triglycerides ทั้งในซีรัมและในตับ โดยแบ่งเป็น 2 ระยะคือ ระยะเฉียบพลันและระยะกึ่งเฉียบพลัน พบว่าระยะเฉียบพลันนั้นหนูขาวเพศผู้ (Wistar albino rats) ทุกกลุ่มที่ศึกษามีระดับ triglycerides ไม่เปลี่ยนแปลงทั้งในซีรัมและในตับ ส่วนกลุ่มเอทานอลในระยะกึ่งเฉียบพลันพบการเพิ่มระดับ triglycerides ในตับ ซึ่งสอดคล้องกับผลทางจุลพยาธิวิทยา แสดงให้เห็นว่าการเหนี่ยวนำให้เกิดพิษจากเอทานอลนั้นขึ้นกับระยะเวลาที่ได้รับเอทานอล สารสกัดกะเม็งและซีไลมารินลดการสะสมของไขมันในตับได้จากการย้อมสีพิเศษ Oil Red O ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Kumari และคณะ

liver necrosis หมายถึง การตายของเซลล์ตับที่มีสาเหตุมาจากการยับยั้งในกระบวนการเมตาบอลิซึมที่มีความจำเป็นต่อเซลล์ เช่น ยับยั้งการสร้าง DNA หรือ RNA อย่างรุนแรง กระบวนการเมตาบอลิซึมของยาส่วนมากจะใช้ปฏิกิริยา oxidation โดย microsome (fragments ของ endoplasmic reticulum(ER)) ซึ่งเป็นผนังของ lipoprotein ที่สานเป็นตาข่ายยื่นออกจากผนังเซลล์ไปอยู่ในไซโตพลาสซึม มี 2 แบบ คือ RER และ SER สำหรับปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ใน microsome นั้นมีปฏิกิริยาที่สำคัญคือ mixed function oxidase system ประกอบด้วย NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase, cytochrome P₄₅₀ และ phosphatidylcholine ซึ่ง cytochrome P₄₅₀ เป็น oxidase ตัวสุดท้ายที่สำคัญมาก คือ อาจทำให้เกิด superoxide anion ที่พิษของมันส่งผลให้เกิด lipid peroxidation เป็นการบาดเจ็บของเซลล์ที่ก่อให้เกิด liver necrosis ได้ lipid peroxidation มีหลายขั้นตอน คือ initiation, propagation และ termination การตรวจความเป็นพิษต่อตับจาก liver necrosis สามารถใช้วิธีตรวจวัดเอนไซม์ในพลาสมาได้ การศึกษานี้ใช้ตรวจวัดเอนไซม์ serum aminotransferase คือ AST และ ALT ซึ่งถ้าระดับของ ALT เพิ่มขึ้นในพลาสมาจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิด liver necrosis นอกจากนี้ยังวัด malondialdehyde(MDA) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ lipid peroxidation ด้วย พบว่ากลุ่มเอทานอลทั้งระยะเฉียบพลันและระยะกึ่งเฉียบพลันสามารถเพิ่มระดับเอนไซม์ AST และ ALT ได้เมื่อเทียบกับหนูขาวปกติ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดกะเม็ง 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับเอนไซม์ ALT ได้เมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม

เอทานอล ขณะที่กลุ่มที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีโลมารีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับเอนไซม์ทั้ง AST และ ALT ได้เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มเอทานอลซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาปี 1996 ของ Lin และคณะ ใน mice ที่พบว่ากะเม็งสามารถลดเอนไซม์ AST และ ALT ที่เพิ่มขึ้นจากการได้รับ CCl_4 ได้ การศึกษาระยะกึ่งเฉียบพลันในหนูกลุ่มเอทานอลมี MDA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับหนูขาวปกติ กลุ่มที่ได้รับสมุนไพรทั้งกะเม็ง, ซีโลมารีน, ซีโลมารีนและกะเม็งร่วมกับซีโลมารีนนั้นสามารถลดระดับของ MDA ที่เพิ่มขึ้นจากการได้รับเอทานอลลงได้เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มเอทานอล แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรที่นำมาทดลองน่าจะมีผลลด lipid peroxidation ที่เหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นด้วยเอทานอลซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปี 1987 ของ Chandra และคณะ ที่ทำให้ตับบาดเจ็บด้วย CCl_4 ในหนูแล้วพบว่ากะเม็งสามารถลด hepatic lipid peroxidation, ALT activity ส่วนผลในการลดเอนไซม์ liver gamma glutamyltranspeptidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสร้างและทำลาย glutathione(GSH) นั้นให้ผลแตกต่างกับของ Chandra และคณะ เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้ทุกกลุ่มที่ศึกษามี GSH ไม่เปลี่ยนแปลง

แอลกอฮอล์หรือเอทานอลเป็นสารที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อตับได้ เมื่อได้รับแอลกอฮอล์หรือเอทานอลแบบสะสม(Chronic) จะมีผลต่อ cytochrome P_{450} โดยเฉพาะ CYP2E1 ที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์เป็นอะซีตัลดีไฮด์(Acetaldehyde) เมตาบอลิท์ที่เกิดขึ้นนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้รับเข้าไป นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังทำให้เกิดพยาธิสภาพด้วยการกระตุ้นให้ endotoxin เพิ่มขึ้นทั้งในตับและเลือด ทำให้ Kupffer cell ซึ่งเป็น phagocytic cell ทำหน้าที่ในการกำจัดด้วยการกินและย่อยจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมที่ผ่านจากผนังลำไส้เล็กเข้ามาอยู่ในเลือด นอกจากนี้ Kupffer cell ยังควบคุมการทำงานของเซลล์อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับ immune response ในการหลั่ง cytokine เช่น tumor necrosis factor- α (TNF- α) และ IL-1 β ทำให้เกิดการอักเสบด้วย จากการศึกษาในคนไข้ alcohol liver disease พบว่ามีระดับ TNF- α ในเลือดสูงขึ้นและการทดลองในหนูพันธุ์ Sprague-Dawley พบว่าหลังจากได้รับเอทานอลมี CYP2E1, Kupffer cell และ TNF- α เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า cytokine เช่น TNF- α มีความเกี่ยวข้องกับการถูกทำลายของเซลล์ตับ(Wheeler M.D., 2001)

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงตรวจวัด TNF- α และ IL-1 β โดยพบว่าทุกกลุ่มที่ทำการศึกษาทั้งระยะเฉียบพลันและระยะกึ่งเฉียบพลัน TNF- α ไม่มีความเปลี่ยนแปลง ส่วน IL-1 β ในระยะเฉียบพลันก็ให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ในระยะกึ่งเฉียบพลันนั้น IL-1 β กลุ่มที่ได้รับสมุนไพรกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซีโลมารีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และการให้สารสกัดร่วมกันของกะเม็ง 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีโลมารีน 2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าสามารถลด IL-1 β ที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มเอทานอลได้ ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาปี 2004 ของ Kobori และคณะ ที่พบว่าสารสำคัญของกะเม็ง คือ wedelolactone สามารถยับยั้งการหลั่ง proinflammatory cytokine คือ IL-1 β ใน mouse

splenocytes ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานที่พบว่า wedelolactone มีฤทธิ์ในการเป็น anti-hepatotoxic hepatitis ด้วย(Jayathirtha M.G., 2003)

การศึกษาคั้งนี้ยังยืนยันผลการศึกษาข้างต้น โดยการตรวจสอบทางจุลพยาธิวิทยาซึ่งให้ผลสนับสนุนค่าเคมีคลินิกที่ได้โดยกลุ่มหนูขาวปกติมีเซลล์ตับปกติ นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ หนูขาวกลุ่มเอทานอลเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลง คือ sinusoids ขยายขึ้น เกิด liver necrosis, hydropic degeneration, endothelial cell degeneration และการลอกหลุดบริเวณรอบๆ central vein นอกจากนี้ยังพบ vacuoles ทำให้เห็นช่องว่างกลมขนาดใหญ่เดี่ยวๆหรือช่องว่างขนาดเล็กหลายอันในไซโตพลาสซึม มีขอบเรียบและดันนิวเคลียสไปอยู่ด้านข้างของเซลล์ ด้วยจึงทำการย้อมพิเศษด้วย Oil Red O ซึ่ง fat globule จะติดสีแดงสดแสดงให้เห็นว่ากลุ่มหนูขาวปกติไม่มีการเสื่อมและสะสมของไขมันซึ่งต่างจากกลุ่มเอทานอลที่มีไขมันสะสมกระจายอยู่ทั่วเซลล์ตับอีกด้วย ส่วนกลุ่มที่ให้กะเม็งพบว่าเกิดการเกิด necrosis ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอลและยังพบการเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกนิวโทรฟิล(Neutrophil infiltration) และการเกิดใหม่ของเซลล์ตับ(Hepatocytic regeneration) เป็นเหมือนกระบวนการที่กระตุ้นให้เซลล์เกิดการซ่อมแซมหลังจากได้รับเอทานอลจนเกิดการทำลายเซลล์ตับ ซึ่งพบว่ามีความเสียหายมากที่บริเวณ zone 3 คือ centrilobular region หรือ periacinar เนื่องจากการทำลายพิษของเอทานอลคือออกซิดาเซอไมซ์ microsomal mixed function oxidases ซึ่งบริเวณนี้จะมีเอนไซม์ระบบนี้มากและเซลล์ตับกลุ่มนี้อยู่ใกล้หลอดเลือดที่ออกจากตับซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มี hepatic arteriole มาเลี้ยงจึงได้รับเลือดที่มีสารอาหารน้อยและมีออกซิเจนต่ำจึงมีความต้านทานต่อการถูกทำลายจากเอทานอลได้น้อย

ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากะเม็งสามารถปกป้องพิษต่อตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอลได้โดยลดการทำลายเซลล์ตับที่เกิดขึ้นด้วยการลดการเสื่อมและสะสมไขมันในเซลล์ตับ ลดการทำลายของผนังเซลล์จากกระบวนการ lipid peroxidation และลด cytokine(IL-1 β) ที่จะกระตุ้นให้เกิดการอักเสบของเซลล์ตับ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาคั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของการใช้สารสกัดด้วยน้ำจากกะเม็งเพื่อเป็นสมุนไพรทางเลือกที่จะนำไปพัฒนาเป็นยาที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูง ดังนั้นในอนาคตจึงควรศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อไป