

ฤทธิ์ในการปกป้องตัวของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอล



นางสาวหทัยรัก ตุงคะเสน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-3368-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF *ECLIPTA PROSTRATA* LINN. EXTRACT IN ETHANOL
TREATED RATS.

Miss Hatairuk tungkasen

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
(Inter-Department)

Graduate School
Chulalongkorn University


Academic Year 2005

ISBN 974-14-3368-9

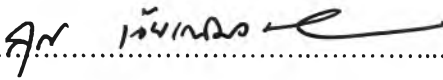
481712

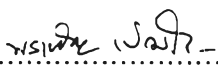
หัวข้อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ในการปกป้องตัวของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอล
โดย นางสาวหทัยรัก ตุงคะเสน
สาขาวิชา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์.ดร.พรเพ็ญ เปรมโยธิน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง สมลักษณ์ พวงชมภู


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

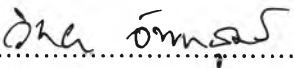
.....  คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. กัลยา ดิงศกัทธิ์)

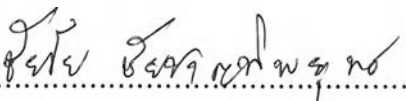
คณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์

.....  ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรเพ็ญ เปรมโยธิน)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง สมลักษณ์ พวงชมภู)

.....  กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร)

.....  กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ)

หทัยรัก ตุงคะเสน : ฤทธิ์ในการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอล
(HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF *ECLIPTA PROSTRATA* LINN. EXTRACT IN
ETHANOL TREATED RATS.) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. พรเพ็ญ เปรมโยธิน,
อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ส. พญ. สมลักษณ์ พวงชมภู 69 หน้า. ISBN 974-14-3368-9

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ปกป้องตับของสารสกัดกะเม็ง(EP) ในหนูขาวที่ทำให้เกิดพิษต่อตับจากเอทานอล ในการศึกษาพิษเฉียบพลัน หนูขาวได้รับเอทานอลทางปากในขนาด 5 กรัม/กิโลกรัม พบการเพิ่มขึ้นของตัวชี้วัดความเป็นพิษต่อตับ(ซีรัม AST และ ALT) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูปกติ โดย STG, HTG, MDA และ GSH ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อป้อนหนูด้วย EP ในขนาด 10, 20, 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีไลมาริน(สารปกป้องตับมาตรฐาน) ในขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ก่อนการให้เอทานอล 4 ชั่วโมง พบการลดลงของ ALT ในทุกกลุ่มร่วมกับการลดลงของ AST เฉพาะในกลุ่มที่ได้รับ EP ในขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและซีไลมาริน ในการศึกษาระยะกึ่งเฉียบพลัน หนูขาวได้รับเอทานอลทางปากในขนาด 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน เป็นเวลา 21 วัน เอทานอลกระตุ้นให้ระดับของซีรัม AST, ALT, MDA และ HTG เพิ่มขึ้น การรักษาหนูขาวด้วย EP ในขนาดที่ได้ผลดีที่สุดจากการศึกษาพิษเฉียบพลัน(30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) ซีไลมาริน(5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) และซีไลมาริน(2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) ร่วมกับ EP (15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) เป็นเวลา 7 วัน สามารถลดระดับของ ALT, AST, MDA และ IL-1 β ลงได้ ในขณะที่หนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน และไม่ได้รับการรักษาใดๆพบการลดลงของ AST และ ALT เท่านั้น การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาให้ผลสอดคล้องกับผลทางเคมีคลินิกข้างต้น

ผลการทดลองเหล่านี้สนับสนุนฤทธิ์ในการปกป้องตับของ EP ที่มีต่อการเหนี่ยวนำพิษต่อตับจากเอทานอลในหนูขาวทั้งพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลัน

สาขาวิชา เกษษวิทยา

ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนิติ.....หทัยรัก ตุงคะเสน.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....พรเพ็ญ เปรมโยธิน.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4689186520 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD : *ECLIPTA PROSTRATA* LINN./ HEPATOPROTECTIVE/ ETHANOL

HATAIRUK TUNGKASEN : HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF *ECLIPTA PROSTRATA* LINN. EXTRACT IN ETHANOL TREATED RATS.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PORNPEN PRAMYOTHIN, Ph.D.,

THESIS COADVISOR : ASST. PROF. SOMLAK POUNGSHOMPOO, 69 pp.

ISBN: 974-14-3368-9.

This study was undertaken to investigate the hepatoprotective effects of *Eclipta prostrata* Linn.(EP) extract in ethanol induced hepatotoxic rats. In acute toxicity study, rats were given an oral dose of ethanol 5 g/kg. The significantly elevated level of hepatotoxic markers were found (serum aspartate transaminase (AST) and serum alanine transaminase (ALT)) as compared to control rats. Serum triglyceride (STG), hepatic triglyceride (HTG), malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH) were unchanged. Treatment with EP at oral dose of 10, 20, 30 mg/kg and silymarin (reference hepatoprotective agent) 5 mg/kg 4 hours before ethanol decreased level of ALT, only 30 mg/kg EP decreased level of AST similar to silymarin. In sub-acute toxicity study, rats were treated with ethanol at 4 g/kg/day orally for 21 days. Ethanol significantly elevated level of serum AST, ALT, MDA and hTG. Treatment of rats with EP after 21 days ethanol at the most effective dose from acute study (30 mg/kg/day), silymarin (5 mg/kg/day) and silymarin (2.5 mg/kg/day) plus EP (15 mg/kg/day) for 7 days significantly decreased level of ALT, AST, MDA and IL-1 β . While ethanol treated rats with no 7 days treatment showed the decrease only in ALT and AST. The histopathological examination showed similar results. These data confirmed the hepatoprotective effect of EP against ethanol induced hepatotoxicity in rats both in acute and sub-acute toxicity studies.

Field of study Pharmacology

Academic year 2005

Student's signature.....*Hatairuk Tungkase*.....

Advisor's signature.....*Pornpen Pramyoti*.....

Co-advisor's signature.....*Somlak Pongshompo*.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความช่วยเหลืออย่างดีจากหลายฝ่าย ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์.ดร.พรเพ็ญ เปรมโยธิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศัตวแพทย์หญิง สมลักษณ์ พวงชมภู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ท่านกรุณาให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการวิจัยและการดำเนินชีวิต

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณมงคล รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธและผู้ช่วยศาสตราจารย์วิทยา จันทสูตรที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณเหมวลา เชิดชูพันธ์เสรี รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทั้งภาควิชาเกษตรวิทยา คณะ เกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย สำหรับข้อเสนอแนะและวิธีการศึกษาวิจัยที่ถูกต้อง

สุดท้ายขอขอบพระคุณคุณแม่และคณาจารย์บัณฑิตศึกษาสาขาวิชาเกษตรวิทยา ทุกท่านที่ให้การสนับสนุนการศึกษาและการวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฅ
สารบัญตาราง.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์.....	ฎ
คำจำกัดความที่ใช้ในการทดสอบทางจุลพยาธิวิทยา.....	ฏ
บทที่	
1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	1
สมมุติฐานการวิจัย.....	2
คำถามการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	2
วิธีดำเนินการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
ตับ.....	5
ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของตับ.....	6
สารก่อพิษต่อตับ.....	8
กลไกการทำลายตับ.....	8
การประเมินการบาดเจ็บของเซลล์ตับในสัตว์ทดลอง.....	9
เอทานอล.....	10
กระบวนการออกซิเดชันของเอทานอล.....	11
ผลของเอทานอลต่อร่างกาย.....	12
กลไกการทำลายตับของเอทานอล.....	12
ซิลิมาริน(Silymarin(SL)).....	14
กะเม็ง(<i>Eclipta prostrata</i> Linn. (EP)).....	14
สรรพคุณ.....	16

บทที่	หน้า
	สารประกอบสำคัญ.....16
	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดต่างๆจากกะเม็ง.....17
3	อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย
	สัตว์ทดลอง.....20
	แหล่งวัตถุดิบ.....20
	วิธีเตรียมสารสกัดกะเม็ง.....20
	วิธีการดำเนินการวิจัย.....20
	สารเคมีและเครื่องมือ.....22
	การเก็บตัวอย่าง.....22
	การตรวจค่าทางเคมีคลินิก.....23
	การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา.....26
	การตัดเซกชันชิ้นเนื้อตับ.....28
	การย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน(H&E).....29
	การย้อม Oil Red O.....30
	การย้อมสีพีเอเอส Periodic Acid Schiff (PAS stain).....31
	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....31
4	ผลการทดลอง
	ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกในระยะเฉียบพลัน.....32
	ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกในระยะกึ่งเฉียบพลัน.....36
	ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา.....43
	ผลการย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน(H&E).....44
	ผลการย้อม Oil Red O.....49
	ผลการย้อมสีพีเอเอส Periodic Acid Schiff (PAS).....51
5	สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ
	สรุปผลการวิจัย.....52
	อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....54
	รายการอ้างอิง.....57
	ภาคผนวก.....61
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....69

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงกายวิภาคของตับ.....	5
2 แสดงลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของ Mitochondria.....	6
3 แสดงลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของ Lysosome และ Golgi apparatus.....	7
4 แสดงลักษณะของเซลล์ตับทั้ง 3 Zone.....	8
5 กระบวนการออกซิเดชันของเอทานอล.....	12
6 กระบวนการ lipid peroxidation.....	13
7 แสดงลักษณะทั่วไปของกะเม็ง.....	15
8 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวปกติระยะเนียบพลัน(H&E).....	44
9 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวกลุ่มเอทานอลระยะเนียบพลัน(H&E).....	44
10 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวกลุ่มเอทานอลระยะกึ่งเนียบพลัน(H&E).....	45
11 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเนียบพลัน(H&E).....	45
12 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเนียบพลัน(H&E).....	46
13 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเนียบพลัน(H&E).....	46
14 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะกึ่งเนียบพลัน(H&E)....	47
15 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับซีโลมารีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเนียบพลัน(H&E)....	47
16 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับซีโลมารีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะกึ่งเนียบพลัน(H&E).....	48
17 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับซีโลมารีน 2.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม ระยะกึ่งเนียบพลัน(H&E).....	48
18 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน(H&E).....	49
19 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวปกติ (Negative Oil Red O).....	49
20 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล(Positive Oil Red O).....	50
21 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม(Negative Oil Red O).....	50
22 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวปกติ (PAS).....	51
23 แสดงเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล(PAS).....	51

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงผลการวัดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ระยะเฉียบพลัน.....	32
2 แสดงผลการวัดระดับซีรั่มไตรกลีเซอไรด์ระยะเฉียบพลัน.....	33
3 แสดงผลการวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับระยะเฉียบพลัน.....	33
4 แสดงผลการวัดระดับ MDA ระยะเฉียบพลัน.....	34
5 แสดงผลการวัดระดับ GSH ระยะเฉียบพลัน.....	34
6 แสดงผลการวัดระดับ TNF- α ในซีรั่ม ระยะเฉียบพลัน.....	35
7 แสดงผลการวัดระดับ IL-1 β ในซีรั่ม ระยะเฉียบพลัน.....	35
8 แสดงผลการวัดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	36
9 แสดงผลการวัดระดับซีรั่มไตรกลีเซอไรด์ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	37
10 แสดงผลการวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	38
11 แสดงผลการวัดระดับ MDA ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	39
12 แสดงผลการวัดระดับ GSH ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	40
13 แสดงผลการวัดระดับ TNF- α ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	41
14 แสดงผลการวัดระดับ IL-1 β ระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	42
15 แสดงผลการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะเฉียบพลัน.....	53
16 แสดงผลการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลระยะกึ่งเฉียบพลัน.....	53

คำอธิบายสัญลักษณ์

ADH	=	Alcohol dehydrogenase
ALDH	=	Aldehyde dehydrogenase
g	=	Centrifugal force unit
g/kg	=	Gram per kilogram body weight
H&E	=	Haematoxylin and Eosin
IU/l	=	International unit per litre
MEOS	=	Microsomal ethanol oxidizing system
NAD ⁺	=	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	=	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide
ALT	=	Alanine aminotransferase
AST	=	Aspartate aminotransferase
STG	=	Serum triglyceride
HTG	=	Hepatic triglyceride
GSH	=	Glutathione
MDA	=	Malondialdehyde
v/v	=	Volume by volume
w/v	=	Weight by volume
%	=	Percent
CV	=	Central vein
PV	=	Portal vein
MD	=	Mid-zone
EP	=	<i>Eclipta prostrata</i> Linn. (EP)
SL	=	Silymarin (SL)

คำจำกัดความที่ใช้ในการทดสอบทางจุลพยาธิวิทยา(เวคิน นพนิตย์, 2524: บุญมี ทัศนียุทธจากรี, 2543)

Active endothelial cell

ภาวะที่ endothelial cell ถูกกระตุ้นทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปคือ เซลล์มีขนาดโตขึ้น รูปกลมและมีนิวเคลียสโตขึ้น

Cell swelling

ภาวะที่ cytoplasm ติดสีจางมีลักษณะคล้ายกระจกฝ้าๆเนื่องจากมีน้ำในเซลล์มากขึ้น

Degeneration

การเสื่อมโทรมลง

Dense nucleolus

ภาวะที่ nucleolus ติดสีเข้มขึ้นแสดงถึงความพร้อมของเซลล์ที่จะเริ่มมีการแบ่งตัว

Fatty degeneration

การสะสมของไขมันชนิด triglyceride ภายในเซลล์ซึ่งก่อให้เกิดการเสื่อมโทรมของเซลล์

Fat vacuoles

ภาวะการรวมตัวของไขมันที่ถูกสะสมภายในเซลล์เป็นวงกลม

Hyaline degeneration

การเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ที่มีการเพิ่มปริมาณของสารที่เรียกว่า “hyaline” ซึ่งมี protein เป็นองค์ประกอบสำคัญ

Necrosis

การตายของเนื้อเยื่อและกลุ่มของเซลล์