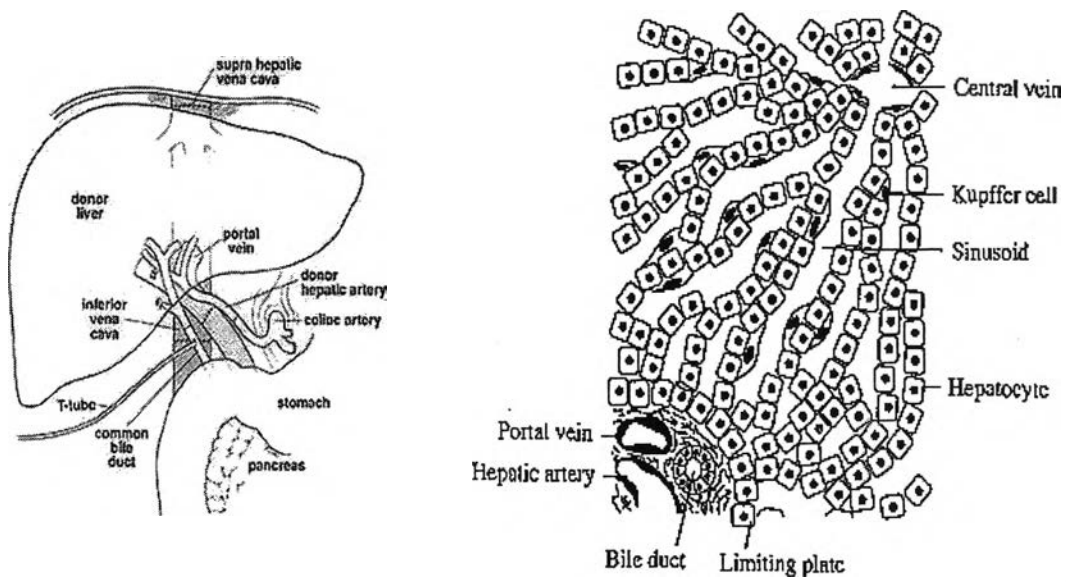
สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1 ตับ

ตับเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดในร่างกายทำหน้าที่สำคัญคือ การสร้างน้ำดีและการเปลี่ยนแปลงสารในร่างกายที่ได้รับจากภายนอก ตับได้รับการหล่อเลี้ยงด้วยระบบไหลเวียนเลือดที่สำคัญ 2 แหล่งด้วยกันคือ hepatic artery และ portal vein โดยเลือดจะเข้าจาก hepatic arterioles และ portal venules สู่ sinusoids ซึ่งมีรูปร่างที่ไม่แน่นอนแต่ขนาดใหญ่กว่าเส้นเลือดฝอยธรรมดา เลือดจะออกจากตับผ่าน sinusoids เข้าสู่ central vein โดยที่ central vein หลายๆอันรวมกันจะกลายเป็น right และ left hepatic vein central vein ล้อมรอบด้วย limiting plate มีเซลล์เรียงเดี่ยววิ่งขนานออกจาก central vein ซึ่งจะถูกคั่นด้วย sinusoids เป็นระยะๆ sinusoids มีผนังเป็น endothelial cells ที่ไม่ติดกันและมีชั้น basal lamina ที่ไม่สมบูรณ์ เรียกว่า Kupffer cells ช่องว่างระหว่าง hepatocytes และ Kupffer cells เรียกว่า space of disse เป็นแหล่งที่เกิดการแลกเปลี่ยนอาหารและ oxygen ระหว่างเลือดและ hepatocytes ดังนั้น sinusoids จะทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างเลือดที่มาเลี้ยงตับ(Portal triad) และเลือดที่ออกจากตับ(Central vein)

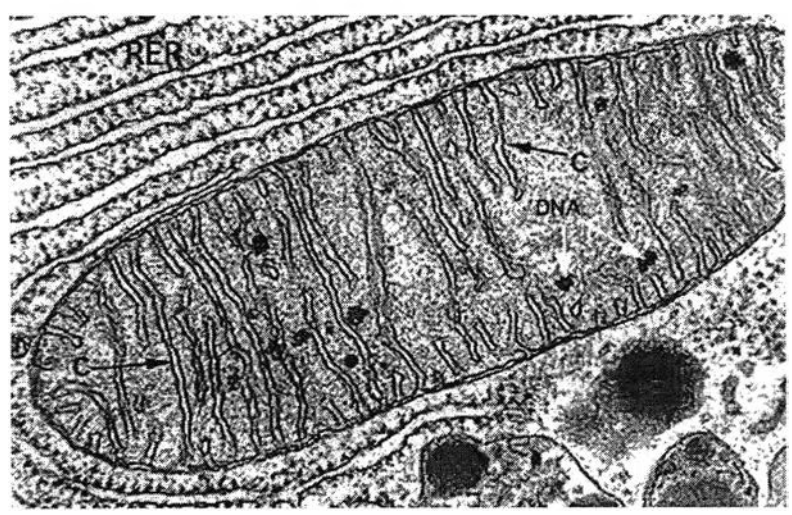


ภาพที่ 1 แสดงกายวิภาคของตับ

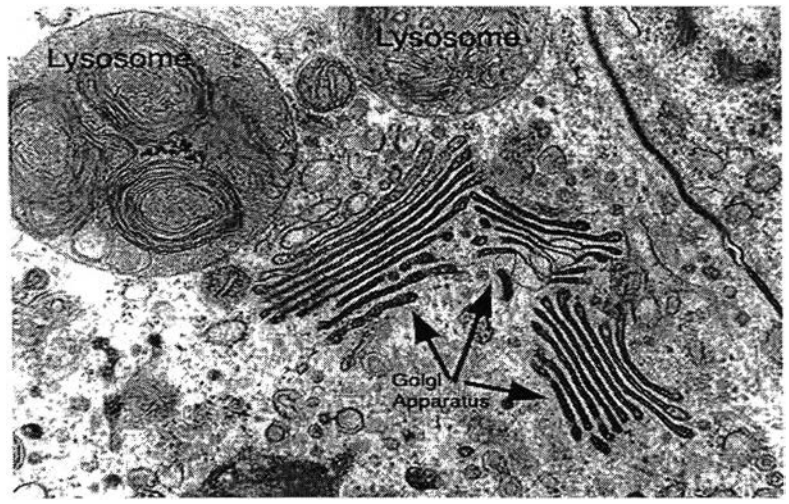
ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของตับ

ขอบของเซลล์ตับนั้นด้านหนึ่งมี microvilli ยื่นเข้าไปใน bile canaliculi และอีกด้านหนึ่งซึ่งติดกับ sinusoids มี microvilli ยื่นเข้าไปเช่นเดียวกันมีหน้าที่ active secretion และ absorption เซลล์ตับจะมี organells ต่างๆ เช่น

- Nucleus มีโครมาตินและ deoxyribonucleo protein
- Mitochondria มีเยื่อหุ้มอยู่ 2 ชั้น โดยที่ชั้นในจะย่นเข้าหากันเป็นลักษณะของร่อง เรียกว่า cristae mitochondria มีหน้าที่ให้พลังงานกับเซลล์ โดยเฉพาะ oxidative phosphorylation, สร้าง glycogen โดยมีเอนไซม์อยู่หลายตัว เช่น cytochrome oxidase, การเปลี่ยน ammonia ให้กลายเป็น urea โดย enzyme ของ Krebs-Henseleit cycle
- Rough endoplasmic reticulum มีหน้าที่สร้างโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง albumin และโปรตีนที่ใช้ในการทำให้เลือดแข็งตัว, สร้าง Glucose 6 phosphatase ที่มีหน้าที่ทำให้ระดับ glucose ในเลือดคงที่
- Smooth endoplasmic reticulum ทำให้เกิด bilirubin conjugation, ทำลายพิษของยาและสารที่แปลกปลอมต่างๆ, สร้าง steroids และ สร้าง bile acid
- Lysosome อยู่ติดกับ bile canaliculi และ lysosome มี hydrolytic enzyme ที่เมื่อถูกปล่อยออกมาจะทำลายเซลล์ตัวเอง
- Golgi apparatus ทำหน้าที่เช่นเดียวกับไลโซโซมคือจับสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ต้องการเข้าไปและขับออกมาทาง bile canaliculi ส่วนสิ่งที่ต้องการจะเก็บไว้ใน hyaloplasm
- Kupffer cell ทำหน้าที่กำจัดโดยการกินและย่อยจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมที่ผ่านจากผนังลำไส้เล็กเข้ามาอยู่ในเลือด ส่วน hepatocytes ทำหน้าที่สร้างน้ำดีและหลั่งออกโดยอาศัย excretory unit ที่เรียกว่า bile canaliculus(เติมชัย ไชยนุวัติ, 2528)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Mitochondria โดย C = Cristae, RER = Rough Endoplasmic Reticulum



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Lysosome และ Golgi apparatus

จากลักษณะโครงสร้างของเซลล์ตับที่มีเส้นเลือดฝอยกระจายอยู่ทั่วไปเพื่อนำสารอาหารและออกซิเจนมายังเซลล์ตับทำให้เซลล์ตับอาจได้รับสารพิษหรือสารเคมีที่มาพร้อมกับเลือดจึงอาจก่อให้เกิดการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ตับได้ ดังนั้นเซลล์ตับที่มีการสัมผัสกับสารพิษหรือสารเคมีนั้นๆจะเกิดพยาธิสภาพขึ้นแตกต่างกันไป ได้มีการแบ่งบริเวณของเซลล์ตับออกเป็น 3 Zone โดยอาศัยระยะห่างจากหลอดเลือดที่มาเลี้ยง(Amdur, Doull and Klaassen, 1991) ดังนี้

1 เซลล์ตับใน Zone ที่ 1: Periportal zone

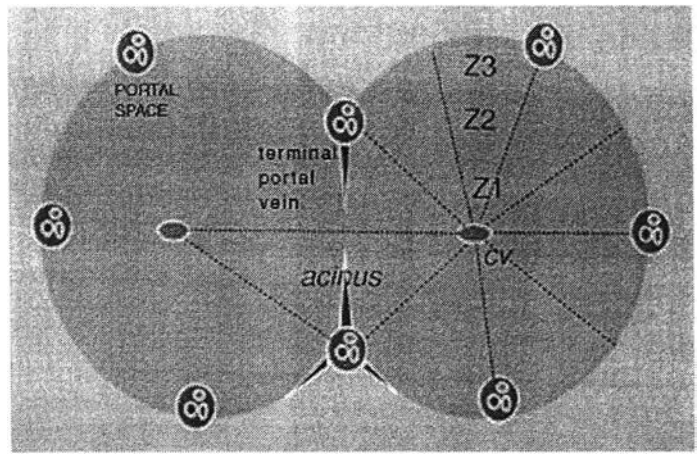
เซลล์ตับบริเวณนี้อยู่ใกล้ portal tract เลือดที่มาเลี้ยงมีส่วนประกอบของสารอาหารสูงและมีความเข้มข้นของออกซิเจนมากจึงมีเลือดแดงมากกว่าเลือดดำ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ตับบริเวณนี้มี mitochondria อยู่มากและยังเป็นบริเวณที่มี glutathione(GSH) ปริมาณสูงอีกด้วย เมื่อเกิดการบาดเจ็บต่อตับเซลล์ตับกลุ่มนี้จึงเป็นกลุ่มแรกที่เกิดการแบ่งตัวเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย(Liver regenaration) และเป็นกลุ่มสุดท้ายที่จะเกิดการตายของเซลล์ตับ(Liver necrosis)

2 เซลล์ตับใน Zone ที่ 2: Midzone

เซลล์ตับที่อยู่ระหว่าง Zone ที่ 1 และ Zone ที่ 3

3 เซลล์ตับใน Zone ที่ 3: Centilobular zone(Periacinar zone)

เซลล์ตับที่อยู่รอบๆ central vein ซึ่งจะมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ cytochrome P-450 โดยเฉพาะ CYP2E1(Tsutsumi *et al*, 1989) เซลล์ตับกลุ่มนี้อยู่ใกล้หลอดเลือดที่ออกจากตับซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มี hepatic arteriole มาเลี้ยงเลย



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะของเซลล์ตับทั้ง 3 Zone

สารก่อพิษต่อตับมี 2 ประเภท(Zimmerman, 1999) คือ

1 Intrinsic toxicants แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1.1 สารพิษต่อตับโดยตรง(Direct toxicants) เป็นสารที่สามารถทำให้ organelles หลายชนิดบาดเจ็บเช่น endoplasmic reticulum, mitochondria และ lysosome เป็นต้น ตัวอย่างสารพิษได้แก่ carbon tetrachloride, chloroform เป็นต้น

1.2 สารพิษต่อตับโดยทางอ้อม (Indirect toxicants) เป็นสารที่ทำให้เกิดพิษต่อตับโดยการไปทำให้การทำงานของ metabolic routes ที่เฉพาะเจาะจงเสียไป การเกิดพิษจะมี selectivity ตัวอย่างได้แก่ ethanol, tetracycline, tannic acid เป็นต้น

2 Idiosyncratic toxicants

ทำให้เกิดพิษต่อตับโดย allergic reactions และการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิสม เช่น ผู้ที่ได้รับยาพวก chlorpromazine, sulfonamides เป็นต้น

กลไกการทำลายตับ

1 การเสื่อมและสะสมไขมันในตับ(Fatty liver)

สารจำนวนมากทำลายตับโดยก่อให้เกิดการเสื่อมและสะสมไขมันในขนาดที่ผิดปกติ คือ เกิดการสะสม triglycerides ในเซลล์ตับ(Parenchymal cells) ซึ่งเป็นผลจากความไม่สมดุลระหว่างอัตราการสังเคราะห์และอัตราการปล่อย triglycerides ของเซลล์ตับเข้าสู่การหมุนเวียนของร่างกาย

2 การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนบางครั้งพบว่าการเปลี่ยนแปลงนี้อาจนำไปสู่การตายของเนื้อเยื่อ(Necrosis) เช่น CCl_4, ethionine เป็นต้น

3 การหยุดหลั่งน้ำดีทำให้น้ำดีคั่ง(Cholestasis)

สารที่ทำให้เกิดการหยุดหลั่งน้ำดี ได้แก่ sulfobromophthalein, 2-ethyl-2-phenylbutyramide taurolithocholic acid เป็นต้น

4 Lipid peroxidation

ทำให้เกิดเนื้อเยื่อตาย(Liver necrosis) เนื่องจาก lipid peroxidation ซึ่งเป็นรูปแบบการบาดเจ็บที่มีลักษณะเฉพาะสาร hepatotoxicants ที่ออกฤทธิ์แบบนี้ เช่น CCl_4, tetrachloroethane

การประเมินการบาดเจ็บของเซลล์ตับในสัตว์ทดลอง

การที่จะประเมินว่าตับมีการบาดเจ็บหรือไม่นั้นทำได้หลายวิธีแต่วิธีที่นิยมมาก คือ serum enzyme tests, hepatic excretory tests และ histological analysis โดยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ

<u>เอนไซม์ Serum transaminase</u>

ในภาวะปกติที่เซลล์ตับยังไม่ถูกทำลาย เอนไซม์ Serum transaminase ซึ่งประกอบด้วย Aspartate transaminase(AST) และ Alanine transaminase(ALT) จะมีระดับน้อยมากในเลือด โดยเอนไซม์ AST จับรวมตัวกับ organells ภายใน cytoplasm ของเซลล์ตับ ดังนั้นถ้าตรวจเลือดพบว่าระดับ AST สูงแสดงว่าเซลล์ตับได้รับอันตราย เช่น เซลล์แตก นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ AST ในเซลล์อื่นๆ เช่น เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ไต เป็นต้น ส่วนเอนไซม์ ALT ไม่จับกับ organells ภายใน cytoplasm ของเซลล์ตับ ดังนั้นเมื่อมีการได้รับอันตรายที่ผนังเซลล์ตับเอนไซม์จะรั่วไหลออกนอกเซลล์ตับเข้าสู่กระแสเลือด จึงสามารถตรวจวัดระดับเอนไซม์ ALT สูงขึ้น(ยง ภู่วรวรรณและ พงษ์พีระ สุวรรณกูล, 2533) เอนไซม์ทั้งสองมีระดับสูงขึ้นมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับสภาพของเซลล์ตับที่ถูกทำลายและระยะเวลาที่ได้รับสารที่เป็นสาเหตุ โดยเอนไซม์ทั้งสองเป็นพารามิเตอร์ที่มีความไวสูงในการบ่งชี้การถูกทำลายของเซลล์ตับ

<u>Triglycerides</u>

Triglycerides เป็นไขมันประเภท neutral fat ที่ได้จากกระบวนการ esterification ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมัน ภาวะปกติระดับไตรกลีเซอไรด์ที่ตับจะต่ำมากแต่เมื่อตับเกิดพยาธิสภาพจากการได้รับสารบางชนิด เช่น เอทานอล เมื่อถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับจะได้สารที่เป็นพิษต่อตับคืออะซิตัลดีไฮด์(Acetaldehyde) ซึ่งมีผลทำให้การเผาผลาญไขมันของตับเสียไปและนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพที่เรียกว่า fatty liver หรือ steatosis ดังนั้นระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับจึงเป็นค่าเคมีคลินิกที่บอกถึงการถูกทำลายของเซลล์ตับหรือการเกิด fatty liver ในสัตว์ทดลองได้

<u>Malondialdehyde(MDA)</u>

การที่สารเคมีหลายๆตัวถูกเปลี่ยนแปลงเป็นอนุมูลอิสระ(Free radicals) และชักนำให้เกิด

ภาวะ oxidative stress ของเนื่อเยื่อจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ lipid peroxidation ซึ่งจะไปทำลายไขมันที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์ทำให้เกิดความเสียหายทั้งโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์ การเกิด lipid peroxidation วัดจากเมตาบอไลท์ของกระบวนการคือ Malondialdehyde(MDA)

Glutathione(GSH)

Glutathione(GSH) เป็น antioxidant ของตับ ทำหน้าที่ในการป้องกันตับที่ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระและกระบวนการ lipid peroxidation ดังนั้นเมื่อตับได้รับสารที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพ เช่น แอลกอฮอล์ ระดับของ glutathione(GSH) จะลดลงจากการนำไปใช้ในเพื่อทำลายพิษของสารที่เป็นสาเหตุ

Cytokines

สารที่ทำให้เกิดการอักเสบเป็นสาเหตุที่ไปกระตุ้นการทำงานของ Kupffer cell ให้หลั่ง proinflammatory cytokines เช่น TNF-α, IL-1β ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อตับ นอกจากนี้ Kupffer cell ยังสร้างและหลั่งอนุมูลอิสระไปกระตุ้นให้เกิด oxidative stress ได้

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

การตรวจสอบทางจุลพยาธิวิทยาจะทำให้เห็นลักษณะการถูกทำลายของเซลล์ตับหรือการหายไปของส่วนประกอบภายในเซลล์ เป็นการตรวจเพื่อยืนยันการเกิดโรคและผลการรักษาที่ทำการศึกษา

การศึกษานี้หลังจากผ่าชากสัตว์แล้วจึงนำเนื้อตับที่ตัดไว้แช่ใน 10% neutral buffer formalin pH 7.4 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร/ขวด จากนั้นนำไปเตรียมชิ้นเนื้อ 6 ขั้นตอน คือ fixation, washing, dehydration, clearing, infiltration, section cutting, embedding และ staining ซึ่งโดยทั่วไปนิยมใช้ Haematoxyline & Eosin เพื่อให้เห็นความแตกต่างระหว่าง tissue และส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ นอกจากนี้ยังตรวจย้อมพิเศษด้วยการย้อม Oil red O เพื่อดูการเกิด fatty liver และการย้อมพีเอเอส Periodic Acid Schiff (PAS) เพื่อดูไกลโคเจน, แป้ง

วัตถุประสงค์ของห้องปฏิบัติการทางฮีสโตคือ การเตรียมเนื้อเยื่อโดยผ่านกระบวนการต่างๆ จนเป็นสไลด์เนื้อเยื่อถาวรที่ใช้ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของเนื้อเยื่อสัตว์ เรียกว่า "ฮีสโตโลยี(Histology)" ถ้าเป็นการศึกษาเกี่ยวกับโรคของเนื้อเยื่อสัตว์ เรียกว่า "ฮีสโตพาโธโลยี(Histopathology)" ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีภายในเนื้อเยื่อ เรียกว่า "ฮีสโตเคมี(Histochemistry)"

2 เอทานอล

เอทานอลเป็นโมเลกุลขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติเป็นกลางสามารถละลายน้ำได้ดีจึงถูกดูดซึมได้รวดเร็วด้วยกระบวนการ passive diffusion ตลอดทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของเอทานอลถ้าสูงมากๆจะทำให้เกิดการระคายเคืองและการเกร็งตัวของหูรูดกระเพาะอาหาร เอทานอลสามารถ

กระจายไปได้ทั่วร่างกายและการไปอยู่ที่อวัยวะใดมากหรือน้อยจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงอวัยวะนั้นๆ การกำจัดเอทานอลประมาณร้อยละ 90 จะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับโดยปริมาณที่ถูกออกซิไดส์จะเป็นสัดส่วนกับน้ำหนักตัวและน้ำหนักตับรวมทั้งปัจจัยทางพันธุกรรมด้วย(Deway, 1991)

กระบวนการออกซิเดชันของเอทานอลไปเป็นอะซิตัลดีไฮด์(Acetaldehyde) มีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายชนิด ได้แก่ alcohol dehydrogenase(ADH), catalase, microsomal ethanol oxidizing system(MEOS) เป็นต้น ขั้นตอนต่อไปอะซิตัลดีไฮด์จะถูกเปลี่ยนเป็นอะซิเตท(Acetate) ซึ่งไม่มีพิษและถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ(ภาพที่ 5)

กระบวนการออกซิเดชันของเอทานอล

1 เอนไซม์ alcohol dehydrogenase(ADH) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในส่วนของของเหลวภายในเซลล์ตับ (liver cytosol) ซึ่งจะเร่งปฏิกริยาออกซิเดชันของเอทานอลดังนี้

$$CH_3CH_2OH + NAD^+ \overset{ADH}{\rightleftharpoons} CH_3CHO + NADH + H^+$$

เอนไซม์ ADH มีจลนศาสตร์แบบ zero-order ถึงแม้ว่าจะมีเอทานอลในปริมาณมากก็ไม่สามารถเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกริยาได้ ในระหว่างกระบวนการออกซิเดชันของเอทานอลซึ่งถูกเร่งโดยเอนไซม์ ADH นั้นทำให้ความเข้มข้นของ NADH เพิ่มขึ้น ตับจะลดการสลายกรดไขมันที่ได้รับจากอาหารนอกจากนี้ยังมีการสังเคราะห์ไขมันและไตรกลีเซอร์ไรด์เพิ่มขึ้นทำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงและมีการสะสมของไขมันในตับ

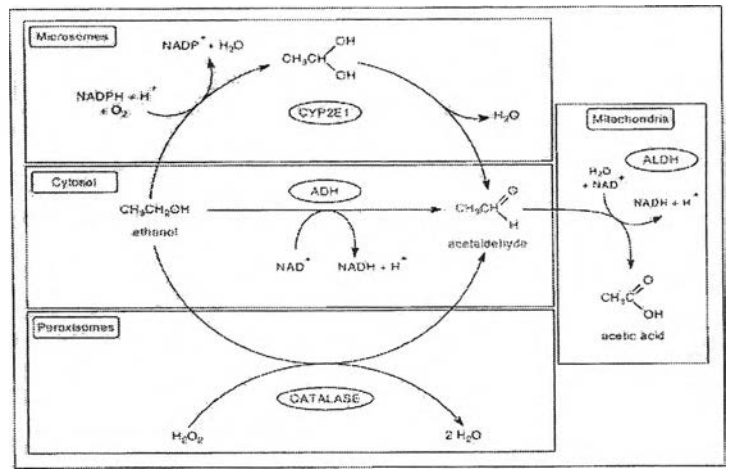
2. เอนไซม์ catalase อยู่ใน peroxisome ซึ่งสามารถออกซิไดส์เอทานอลในกรณีที่มี H_2O_2 เกิดขึ้น ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$CH_3CH_2OH + H_2O_2 \xrightarrow{catalase} CH_3CHO + 2\,H_2O$$

3. microsomal ethanol oxidizing system(MEOS) อยู่ในส่วนของไมโครโซมสามารถออกซิไดส์เอทานอลในกรณีที่มี NADPH และ O_2 ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$CH_3CH_2OH + NADPH + H^+ + O_2 \xrightarrow{MEOS} CH_3CHO + NADP^+ + 2\,H_2O$$

ส่วนใหญ่เอทานอลถูกกำจัดออกจากร่างกายทางไตและปอด มีบางส่วนที่ขับออกทางเหงื่อหรือน้ำลาย



ภาพที่ 5 กระบวนการออกซิเดชันของเอทานอลโดยเอนไซม์ ADH, cytochrome P450(CYP2E1) และ catalase

ผลของเอทานอลต่อร่างกาย

ระบบทางเดินอาหาร : ทำให้กระเพาะอาหารอักเสบแบบเฉียบพลัน(Acute gastritis) เกิดแผลในกระเพาะอาหาร(Peptic ulcer) ตับอ่อนอักเสบ(Acute pancreatitis) เป็นต้น

ระบบหัวใจและหลอดเลือด : ความดันโลหิตสูง อัตราการเต้นของหัวใจเร็วขึ้น กล้ามเนื้อหัวใจทำงานผิดปกติ เนื่องจากการสะสมไขมันในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ

ระบบไต : ขับปัสสาวะมากขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ของเอทานอลที่จะไปยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนแอนตีไดยูเรติค(Antidiuretic; ADH) จากต่อมพิทูอิตารีส่วนหลัง

ผลต่อตับ: การคั่งของไขมันในตับ(Fatty liver) ตับอักเสบเนื่องจากพิษสุรา(Alcoholic hepatitis) ตับแข็ง(Cirrhosis) มะเร็งตับ(Hepatoma)

กลไกการทำลายตับของเอทานอลนั้นมีหลายกลไกร่วมกันดังนี้

1. เกิดจากพิษของเอทานอลโดยตรง

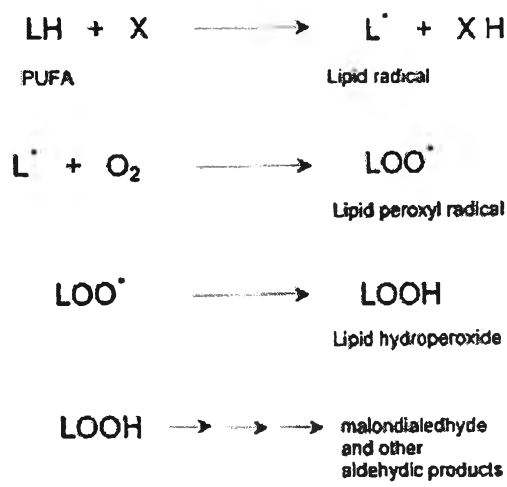
2. เกิดจากเมทาบอไลท์ของเอทานอลโดยเฉพาะอะซิตัลดีไฮด์(Acetaldehyde) และ reactive oxygen species(ROS) ที่เกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเอทานอลทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อตับโดยเฉพาะ fatty liver โดยอะซิตัลดีไฮด์จะไปจับกับโปรตีนในตับเช่น collagen, albumin และ lipoprotein เกิดเป็น acetaldehyde adducts ไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเป็นผลให้เกิดการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน

การออกซิเดชันของเอทานอลทำให้มีปริมาณของ NADH เพิ่มขึ้นและมีการเพิ่มขึ้นของ free radicals เช่น hydroxyl radicals($OH^{\cdot}$) ทำให้เกิด lipid peroxidation และทำลายไมโทคอนเดรีย

Lipid peroxidation(Sreejayan and Ritter, 1999)

กระบวนการเกิด lipid peroxidation มีหลายขั้นตอน เริ่มด้วย initiation propagation และ termination ดังภาพที่ 6 ปฏิกริยา initiation เริ่มเมื่อ free radicals จากกระบวนการเมตาบอลิสมของสารพิษบางตัว เช่น เอทานอล ไปแย่งจับ hydrogen ของ methylene group ของ polyunsaturated fatty acid(PUFA = LH) ได้เป็น lipid radicals(L°) โดย lipid radicals(L°) จับกับ oxygen เป็น lipid peroxyl radicals ซึ่งจะไปแย่งจับ hydrogen ของ lipid molecule อื่นๆเกิดเป็น lipid hydroperoxide ซึ่งเป็นกระบวนการต่อเนื่องคือ propagation lipid hydroperoxide ที่เกิดขึ้นไม่คงตัวมักจะสลายเป็น lipid radicals และเมื่อไม่มี polyunsaturated fatty acid(PUFA = LH) จะเกิดปฏิกริยา termination เป็น nonradical products จะหยุดกระบวนการ lipid peroxidation

นอกจากการเกิด lipid peroxidation จาก free radicals แล้วยังเกิดจากการกระตุ้นของ superoxide anion($O_2^{\cdot}$) จากการทำงานของเอนไซม์หลายตัว เช่น NADPH-cytochrome P450 reducetase, mitochondrial electron transport เป็นต้น ดังนั้นผนังเซลล์ที่มี polyunsaturated fatty acid(PUFA = LH) สูงมักจะถูกกระบวนการ lipid peroxidation ทำให้ผนังเซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ เช่น ลด membrane potential, เพิ่ม permeability ของไอออน เป็นต้น products ของ lipid peroxidation มีหลายตัว เช่น lipid hydroperoxide, aldehydes และ malondialdehyde เป็นต้น โดยเฉพาะ aldehydes สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและทำลายดีเอนเอได้



ภาพที่ 6 กระบวนการเกิด lipid peroxidation: Polyunsaturated fatty acid = LH, lipid alkyl radicals(L°), lipid peroxyl radicals(LOO°), lipid hydroperoxide(LOOH)

3. เกิดจากการกระตุ้น Kupffer cells

เอทานอลทำให้เกิดการเพิ่ม permeability ของลำไส้ต่อ endotoxin ที่หลั่งจากแบคทีเรียแกรมลบในลำไส้ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ทำให้สารต่างๆสามารถซึมผ่านผนังเซลล์ได้มากขึ้น การเพิ่มขึ้นของระดับ endotoxin หรือ LPS(Lipopolysaccharide) ที่ผ่านเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้นจะเข้าสู่ตับทาง portal vein กระตุ้น Kupffer cells ให้การทำหน้าที่กินและย่อยจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมเสียไป นอกจากนี้ Kupffer cells ยังกระตุ้นให้หลั่งสารที่เกิดกระบวนการอักเสบและเกิดพยาธิสภาพต่อตับ เช่น TNF-α และ IL-1β (mcClain *et al*, 1997: Thurman et al, 1989: Hoek and Pastorino, 2002)

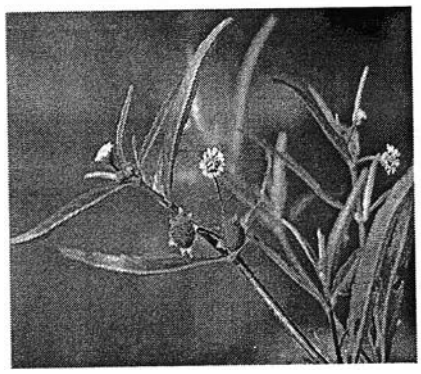
3 ซิไลมารีน(Silymarin)

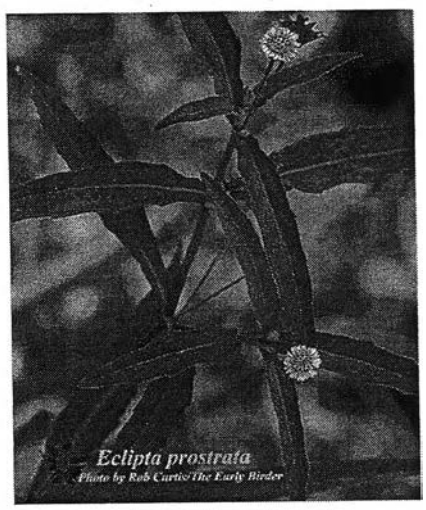
เป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่ได้จาก *Silybum marianum* มีส่วนประกอบคือ silychristin, silydianin, silybin A, silybin B, isosilybin A และ isosilybin B(Wang *et al*, 1998) การศึกษาฤทธิ์ของ silymarin ในสัตว์ทดลองโดยให้ mushroom toxins, medicines, heavy metals, toxic organic solvent พบว่า silymarin มีคุณสมบัติเป็น antioxidant(Laekeman, 2003) ส่วนการศึกษาในคนไข้ที่ตับถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์พบว่ามีอัตราการตายลดลงและสารสำคัญคือ silybin สามารถรักษา liver disorder ได้ นอกจากนี้การศึกษาฤทธิ์ในการปกป้องตับแบบ in vitro โดยใช้ CCl_4 และ GalN เป็นสารที่ทำให้เกิดพิษต่อตับ โดยให้ silymarin ขนาดต่างๆคือ 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml พบว่าสามารถปกป้องตับได้แบบ dose dependent(Hikino, 1996) การศึกษาเปรียบเทียบในคนไข้ chronic hepatitis ระหว่าง silymarin กับยาหลอกพบว่ามีผลไม่แตกต่างกัน(Kiesewetter, 1977)

4 กะเม็ง(*Eclipta prostrata* Linn.)

กะเม็งหรือชื่ออื่นๆ คือ ฮ่อมเกี่ยว, หญ้าสับ (เชียงใหม่), กะเม็งตัวเมีย คัดเม็ง (ภาคกลาง), บั้งกี่เช้า (จีน) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Eclipta prostrata* Linn. อยู่ในวงศ์ของ Asteraceae

ลักษณะทั่วไป เป็นพรรณไม้ล้มลุกที่มีลำต้นตั้งตรง ลำต้นสูงประมาณ 4-32 นิ้ว ใบมีลักษณะเป็นรูปรีหรือรูปหอก ใบเรียวแหลมโคนใบสอบแคบ ริมขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ผิวเนื้อใบเกลี้ยง ใบมีขนาดกว้างประมาณ 0.5-2.5 นิ้ว ยาวประมาณ 3-10 นิ้ว ไม่มีก้านใบ ดอกออกเป็นกระจุก ลักษณะของดอกมีกลีบดอกสีขาว ดอกวงในโคนดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อยาวประมาณ 2 มม. ส่วนปลายจะหยักเป็น 4 แฉก ดอกในวงนอกเป็นรูปรางน้ำ ยาวประมาณ 2-3.5 มม. ผลมีลักษณะเป็นรูปลูกข่างมีสีดำ ปลายมีระยางค์เป็นเกล็ดยาวประมาณ 3 มม. ขนาดของผลกว้างประมาณ 1.5 มม. ยาวประมาณ 3-3.5 มม.





ภาพที่ 7 แสดงลักษณะทั่วไปของกะเม็ง

สรรพคุณที่ใช้คือ

ลำต้น นำลำต้นมาใช้เป็นยาฝาดสมาน บำรุงอวัยวะเพศ แก้ตกขาว โรคมะเร็ง คอตีบ ปัสสาวะเป็นโลหิต อาเจียนเป็นโลหิต โรคลำไส้อักเสบ บำรุงไต แก้ท้องอืดเฟ้อ(พิมลรัตน์ เกตุสวัสดิ์สมคร, 2546)

วิธีใช้ นำต้นมาต้มเอาน้ำดื่มหรือนำเอารากมาตำให้ละเอียดคั้นเอาน้ำผสมกับน้ำหอมใช้สูดดมแก้โรคดีซ่านและไข้หวัด เมื่อนำมาผสมพริกไทยและนำผึ้งแล้วปั้นเป็นก้อนเล็กๆใช้กินเป็นยาบำรุงร่างกายให้แข็งแรงแก้ปวดเมื่อย

ใบ นำใบสดมาตำให้ละเอียดแล้วคั้นน้ำมาผสมกับน้ำมันมะพร้าวใช้ใส่ผมช่วยทำให้ผมดกดำเป็นมันและแก้ผมหงอกก่อนวัย เมื่อนำมาผสมกับน้ำผึ้งเป็นยาแก้หวัดหรือน้ำมูกไหลใช้กับทารกตำใบเอากากมาพอกบริเวณแผลที่ฟกช้ำ แผลไฟไหม้พอกแผลห้ามโลหิตและเป็นยาแก้โรคผิวหนังกลากเกลื้อนจากเชื้อรา

ดอกและใบ ใช้ต้มแล้วทาบริเวณเหงือกหรือฟันที่ปวด

ราก ใช้ต้มเอาน้ำกินเป็นยาแก้ตับอักเสบเรื้อรัง(สนั่น ศุภธีรสกุล) โรคโลหิตจาง โรคปอด ท้องร่วง โรคบิด หอบหืด หลอดลมอักเสบ อาการแน่นหน้าอก รักษาโรคเกี่ยวกับตา ประเทศไทยใช้รากเป็นยาขับลมในลำไส้และกระเพาะอาหาร

ถิ่นที่อยู่ : กะเม็งเป็นพรรณไม้ที่พบทั่วไปตามบริเวณริมคูน้ำ หาดทราย นาข้าวและข้างทาง

สารประกอบสำคัญ

(Zhang J.S. and Guo Q.M., 2001., Upadhyay, 2001., Han Y., *et al*, 1998., Singh B., *et al* 2001., Zhang M., *et al*, 1997., Zhang and Chen, 1996)

Wedelolactone, Demethylwedelolactone, Isodemethylwedelolactone, Demethylwedelolactone-7-glucoside

Wedelic acid, Alpha-formylterthienyl, Strychnolactone, Nonacosanol, Stearic acid, Lacceroic acid, 3,4-dihydoxy benzoic acid, Ascorbic acid

(20*S*) (25*S*)-22,26-imino-cholesta-5,22(N)-dien-3β-ol(verazine), Ecliptalbine, (20*R*)-4β-hydroxy-verazine,4β-hydroxyverazine, (20*R*)-25β-hydroxyverazine, 25β-hydroxyverazine

Eclalbatin , Nicotine 0.08%, 20-*epi*-3-dehydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-4,5-dehydroverazine, Eclalbasaponins

Alpha-amyrin, 2-(Buta-1, 3-diynyl)-5-(3-en-1-ynyl)thiophene, 2-(4-chloro-3-hydroxybut-1-ynyl)-5-(penta-1, 3-dinyl)thiophene,

Stigmasterol , β-sitosterol, Daucosterol, Trithienyl aldehyde, Ecliptal, β-amyrin, Luteolin-7-glucoside, β-glucoside,

Apigenin, Luteolin , Ecliptasaponin C, Stigmasterol-3-O-glucoside, Daucosterol, Ecliptasaponin D

5-(3-buten-1-ynyl)-2, 2'-bithienyl-5'-methyl acetate, α-Terthienylmethanol, acetate ester2,2':5',2":5"-Terthienylmethanol,

Tannin, Vitamin A, β-carotene, Reducing sugars, Isoflavonoids

Triterpenic acid, Hentriacontanol, Heptacosanol

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดต่างๆจากกะเม็ง

สารสกัดเมทานอลจากกะเม็ง

การทดลองใช้สารสกัดเมทานอลศึกษาในหมูพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 5- lipoxygenase โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร(Wagner and Fessler, 1986)

เมื่อนำสารสกัดเมทานอลมาทดสอบกับ CA-Ehrlich-ascites พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 1.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร(Kosuge *et al*, 1985)

สารสกัดเอทานอลจากกะเม็ง

เมื่อทดสอบโดยฉีดสารสกัดเอทานอล (50%) เข้าทางช่องท้องของหนูถีบจักรพบว่าขนาดที่เป็นพิษเท่ากับ 1 กรัม/กิโลกรัม(Dhar et al, 1986) ส่วนการศึกษาโดยให้สารสกัดแอลกอฮอล์ (50%) ในไมโทคอนเดรียของหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับด้วย carbon tetrachloride พบว่ากลไกการต้านพิษต่อตับเกิดจากการควบคุมระดับของ microsomal drug metabolising enzymes ในตับ(Zhang J.S. and Guo Q.M., 2001)

สารสกัด butanolic และ purified butanolic จากกะเม็ง

ศึกษาเกี่ยวกับพิษพบว่ากะเม็งสามารถต้านพิษของ *Calloselasma rhodostoma*(Malayan pit viper(MPV)) ได้ โดยสารสกัด butanolic จากกะเม็งขนาด 2.5 มิลลิกรัม/mouse สามารถลด lethal activity ของ LD_{50} ได้ส่วนสารสกัด purified butanolic จากกะเม็งขนาด 1.5-4.5 มิลลิกรัม/mouse สามารถต้านฤทธิ์ได้ 50-58% นอกจากนี้สารสกัดทั้ง 2 ชนิดยังสามารลด hemorrhagic activity ได้ด้วย(Pithayanukul P, 2004)

สารสกัดน้ำจากกะเม็ง

การศึกษาโดยป้อนน้ำคั้นจากกะเม็งให้หนูตะเภาเพศเมียที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับด้วย carbon tetrachloride พบว่าสามารถลดระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) หรือ Glutamate-pyruvate-transaminase (SGPT) และ เอนไซม์ Aspartate aminotransferase (AST) หรือ Glutamate-oxaloacetate-transaminase (SGOT) ให้กลับสู่สภาวะปกติได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ลดระดับเอนไซม์ดังกล่าวต่อหนูตะเภาเพศเมียที่ปกติ(Ma-Ma *et al*, 1978)

การศึกษาฤทธิ์ในการปกป้องตับของหนู mice ด้วยสารสกัดน้ำกะเม็งใน acute hepatitis โดยให้ CCl_4, Acetaminophen และ β- D -galactosamine พบว่ากะเม็งสามารถลดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ CCl_4และ β- D -galactosamine จากการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาให้ผลเหมือนกัน(Lin S. C. *et al*, 1996)

การศึกษาอื่นๆของกะเม็ง

ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

การศึกษาพบว่ากะเม็งสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้(เพ็ญนภา และ ภัทราพร, 2544)

ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

การศึกษาในหนู mice พบว่ากะเม็งสามารถยับยั้งการอักเสบได้โดยมีผลในการเพิ่มทั้ง lymphocytes ระดับซีรัม IgG และน้ำหนักของ thymus และ speen ด้วย(Chandra T, *et al*, 1987)

การศึกษาเกี่ยวกับโรคไวรัสตับอักเสบชนิด B โดยเลี้ยงเซลล์ด้วย hepatitis B surface antigen(HBsAg) พบว่ากะเม็งทำให้เกิด inactivation property ของ HBsAg(Thyagarajan S.P., *et al*, 1982)

ฤทธิ์ในการต้านพิษงู

การศึกษาใน Swiss mice พบว่าสารสกัดเอทานอลจากกะเม็งสามารถ neutralized the lethal activity ของพิษงู *Crotalus durissus terrificus* ได้ ด้วยสารสำคัญ คือ wedelolactone, sitosterol และ stigmasterol ส่วนการศึกษาสารสกัดน้ำจากกะเม็งสามารถยับยั้งการหลั่ง creatine kinase ได้ด้วย (Mor W.B., 1991)

ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ trypsin

การศึกษาพบว่าสารสำคัญ คือ wedelolactone(WL) และ demethylwedelolactone(DWL)

สามารถยับยั้งเอนไซม์ trypsin ได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.9 และ 3.0 µg/mL ตามลำดับ(Syed S. D., *et al*, 2003)

ฤทธิ์ในการระงับปวด

การศึกษาใน Albino mice โดยใช้วิธี tail clip, tail flick และ acetic acid ที่ชักนำให้เกิด writhing response สารสกัด ethanol และ total alkaloids มี analgesic activity (Bhargava K.K., *et al*, 1970)