

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

ผลของสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำต่อการตั้งครรภ์ในระยะก่อนฝังตัวและระหว่างการฝังตัว

การศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนของหนูตั้งครรภ์กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูตั้งครรภ์กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และหนูตั้งครรภ์ที่ได้รับสารสกัดใบถอบแถบน้ำที่ระดับความเข้มข้น 150 300 และ 600 มก./กก.น.ตัว ทางปาก ในระยะก่อนการฝังตัว มีจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนน้อยกว่าจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อน ในระยะระหว่างการฝังตัวของตัวอ่อน

เช่นเดียวกับการศึกษาสารสกัดจากเมล็ด *Coriandrum sativum* ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 มก./กก. พบว่า จำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรท ระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน (D1-5) มีจำนวนน้อยกว่า จำนวนการฝังตัวของตัวอ่อน ระยะหลังการฝังตัวของตัวอ่อน (D8-12) (Al-said et al., 1987)

รายงานการศึกษาสารสกัดจากพืชหลายชนิดด้วยเอทานอล ที่พบว่าออกฤทธิ์ทำให้ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรท ได้แก่ *Calotropis gigantea* L. (Desai and Rupawala, 1976) *Polygonum hydropiper* L. (Vohora et al., 1976) *Ocimum sanctum* L. *Hibiscus rosa sinensis* (Batta, 1970) *Ananas comosus* *Ananas comosus* *Areca catechu* L., *Carica papaya* L., *Daucus carota* L., *Grewia asiatica* L. *Taxus baccata* L. (Garg, 1970) *Butea monosperma* (LAM.) Kuntze (Garg, 1969) *Cuminum cyminum* *Hyptis suaveolens* (Garg, 1976) *Annona squamosa* L. *Crotalaria juncea* L. *Cuscuta reflexa* Roxb. (Rao and Krishnaiah, 1979)

และนอกจากนี้รายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำมีองค์ประกอบสารในกลุ่มสเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ ที่คาดว่าจะไปมีผลยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรท สอดคล้องกับรายงาน การศึกษาของ Hiremath and Rao (1990) ที่พบว่าองค์ประกอบของ flavones จากพืช *striga lutea* ที่หนูแรทได้รับสารสกัดทางปาก 25 มก./กก.น.ตัว ในวันที่ 1-4 ของการตั้งครรภ์ ออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในระยะก่อนการฝังตัว เช่นเดียวกับ sharma และคณะ (1971) ศึกษาพืช *Terminalia arjuna* พบว่ามีองค์ประกอบ

ไอโซฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ของฮอร์โมนอีสโตรเจน ออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในสตรัททดลองได้ นอกจากนี้ ระดับฮอร์โมนอีสโตรเจนและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เหมาะสม เป็นสิ่งสำคัญสำหรับกระบวนการในการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังโพรงมดลูก (Desclin, 1935; Burdik, 1942; Lyons et al., 1943; Aldred et al., 1959) ซึ่งฮอร์โมนอีสโตรเจน จะกระตุ้นให้เพิ่มจำนวนของเยื่อโพรงมดลูกและแองเดียม ส่วนฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในชั้น endometrium gland (Humphrey, 1968) maintain มดลูกในช่วงต้นของการตั้งครรภ์ (Dohler and Wuttke, 1974) และถ้าระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูง จะยับยั้งการหดตัวของมดลูก (Kubli-Garfuaas et al., 1979) ซึ่งสารสกัดที่ออกฤทธิ์การยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน ส่วนมากจะไปมีผลต่อการรบกวนสมดุลของฮอร์โมนอีสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน (Lutwak-Mann, 1959; Psychoyos, 1988) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาสารสกัดจากพืช *Coriandrum sativum* พบว่าระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของหนูแรทลดลง ทำให้ตัวอ่อนไม่สามารถฝังตัว สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของพืชชนิดนี้แล้วก่อนหน้านี้ที่ Csapo and Resch (1979) และ Saksena และคณะ (1981) รายงานว่า *C. sativum* ทำให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงในหนูแรท และ Al-Said และคณะ (1987) รายงานพบว่าสารสกัดจากเมล็ดพืช *Coriandrum sativum* ที่หนูแรทได้รับสารสกัดทาง ในระยะก่อนการตั้งครรภ์ (D1-5) มีผลทำให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลง และสารสกัดออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรท และรายงานของ Riar และคณะ (1988) พบว่า Neem oil จากพืช *Azadirachta indica* ไปรบกวนทำให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลง และออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน ในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน (Rair et al., 1991) และทำให้แท้ง เช่นเดียวกัน Hensleigh and Fainstat (1979) กล่าวว่า การฝังตัวของตัวอ่อนจำเป็นต้องมีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เพื่อรองรับการฝังตัวของตัวอ่อน และการวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะช่วยให้การวิเคราะห์และประเมินเพื่อหาทางหลีกเลี่ยงการแท้งในระหว่างการตั้งครรภ์ได้ การศึกษาของ Chang and Yanagimachi (1965) พบว่า carotane sesquiterpene จากรากพืช *Aristolochia indica* มีฤทธิ์ฮอร์โมนอีสโตรเจน และออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน โดยได้อภิปรายว่าสารสกัดไปมีผลยับยั้งการพัฒนาของไข่ในระหว่างที่เดินทางในท่อนำไข่ ทำให้ไข่สลายก่อนฝังตัวที่ผนังมดลูก และอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดไปถอบแถบไปมีผลยับยั้งต่อการตกไข่ ทำให้ตัวอ่อนไม่สามารถฝังตัวที่เยื่อผนังมดลูกด้วยเช่นกัน ซึ่ง Prakash และคณะ (1991) ได้รายงานว่ามีวันที่ 1-3 ของการตั้งครรภ์ เป็นระยะที่หนูแรทมีการตกไข่ และในวันที่ 4-5 ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิยังคงอยู่ในท่อนำไข่พร้อมกับมีการแบ่งตัว รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของ stroma cell ของมดลูก ส่วนวันที่ 6-8 เป็นช่วงที่ตัวอ่อนมีการฝังตัว (Enders and Schlafbe, 1967)

การศึกษาผลของสารสกัดใบถอบแถบน้ำต่อน้ำหนักตัวลูกหนูแรกเกิดในระยะก่อนการฝังตัวและระหว่างการฝังตัวของตัวอ่อน พบว่าน้ำหนักตัวของลูกหนูแรกเกิดกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำที่ระดับความเข้มข้น 300 และ 600 มก./กก.น.น.ตัว เท่านั้นที่น้ำหนักตัวต่ำกว่าน้ำหนักตัวของลูกหนูแรกเกิดกลุ่มควบคุมอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และน้ำหนักตัวของลูกหนูตั้งครรภ์ในกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกัน และลูกหนูแรกเกิดทุกกลุ่มไม่พบความผิดปกติ เป็นไปได้ว่าสารสกัดใบถอบแถบน้ำที่ระดับความเข้มข้นสูงอาจไปมีผลทำให้อัตราการเจริญช้าลง แต่ไม่ถึงกับทำให้ลูกหนูแรกเกิดตาย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Al-Said และคณะ (1987) ที่ศึกษาสารสกัดจากเมล็ดพืช *Coriandrum sativum* 250 และ 500 มก./กก. ที่ได้รับทางปาก ออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนของหนูแรทในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน ซึ่งหนูแรทกลุ่มทดลองมีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากหนูแรทกลุ่มควบคุม ส่วนรายงานการศึกษาของ Rao and Krishuaiah (1979) ที่รายงาน พบว่าสารสกัดพืช *Crotalaria juncea* ด้วยเอทานอล ที่หนูแรทได้รับสารสกัดทางปาก 800 มก./กก.น.น.ตัว ในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน (D1-7) พบว่าออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน และสารสกัดมีผลทำให้น้ำหนักตัวของลูกหนูแรกเกิดลดลง และไม่ทำให้ลูกหนูแรกเกิดทุกกลุ่มไม่พบความผิดปกติ

การศึกษาผลของสารสกัดใบถอบแถบน้ำด้วยเอทานอลต่อน้ำหนักตัวของหนูตั้งครรภ์ในระยะก่อนการฝังตัวและระหว่างการฝังตัวของตัวอ่อน พบว่าน้ำหนักตัวของหนูตั้งครรภ์กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีความแตกต่างจากน้ำหนักตัวของหนูตั้งครรภ์กลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rao and Krishuaiah (1979) ที่รายงานว่าสารสกัดจากพืช *Crotalaria juncea* ด้วยเอทานอล ที่หนูแรทได้รับสารสกัดทางปาก 800 มก./กก.น.น.ตัว ในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน (D1-7) ทำให้ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน แต่สารสกัดไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวของหนูตั้งครรภ์ ส่วนรายงานของ Kong และคณะ (1986) พบว่าสารประกอบ cholepensisin จากราก ลำต้น และใบ ของพืช *Ruta graveolens* ที่หนูแรทได้รับโดยการกินทางปาก ในระยะก่อนการฝังตัว (D1-4) พบว่า ออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน และสารสกัดทำให้น้ำหนักตัวของหนูตั้งครรภ์ลดลง รวมทั้งทำให้หนูที่ได้รับสารสกัดบางกลุ่มตาย รายงานการศึกษาศาสตร์จากเมล็ด *Ricinus communis* L. ที่มีฤทธิ์ฮอร์โมนเอสโตรเจน และออกฤทธิ์ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรท ซึ่งสารสกัดไม่มีผลต่อระยะเวลาการตั้งครรภ์คือ 21-23 วัน (Okwuasaba et al., 1991)

ผลของสารสกัดใบถอบแถบน้ำตาลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของมดลูกหนูตั้งครรรภ์

จากผลการทดลอง พบว่า หนูตั้งครรรภ์กลุ่มทดลองทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกระดับความเข้มข้นในระยะก่อนการฝังตัวและระหว่างการฝังตัวของตัวอ่อน เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมดลูก ในลักษณะเดียวกัน และมีความรุนแรงขึ้นกับปริมาณสารที่ได้รับ คือในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน ตัวอ่อนในระยะ blastocyst ถูกทำลายภายในโพรงมดลูก พบเศษซากเซลล์ และลิ่มเลือด และในระยะระหว่างการฝังตัวของตัวอ่อน inner cellmass ถูกทำลาย รวมทั้งบริเวณเนื้อเยื่อชั้นโทรโพบลาสที่พบหลุดลอกของเนื้อเยื่อด้วยเช่นกัน และในบริเวณที่มีการอักเสบจะพบการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวกระจายเป็นบริเวณกว้างครอบคลุมบริเวณเนื้อเยื่อชั้น endometrium myometrium และบริเวณ decidual basalis เช่นเดียวกับการศึกษา Prakash และคณะ (1988) พบว่า neem oil จากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica* ขนาด 0.2-0.3 มล./ตัว (D1-5) มีฤทธิ์คุมกำเนิดในหนูแรท และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของมดลูก ทำให้เยื่อบุโพรงมดลูกหลุด และกระจายในโพรงมดลูก ส่วน stroma cell เกาะกลุ่มแน่น นิวเคลียสย้อมติดสีเข้ม และมีการทำลายโครงสร้างของชั้น endometrium (Riar et al., 1988) และ endometrium บริเวณ antimesometrium มีการเปลี่ยนแปลงทำให้ไม่เหมาะต่อการฝังตัวของตัวอ่อนบริเวณนี้ (Riar et al., 1991) และจากรายงานของ Hiremath and Rao (1990) ซึ่งศึกษาสารสกัดจากพืช *Strigalutea lutea* ที่หนูแรทได้รับสารสกัดโดยการป้อนในขนาด 100 มก./กก. นน.ตัว ในวันที่ 1-7 ของการตั้งครรรภ์ มีผลทำให้ตัวอ่อนสูญเสียกลุ่มเซลล์ชั้นในและเนื้อเยื่อชั้น trophoblastic cells ถูกทำลาย บริเวณ myometrium มีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว คาดว่าสารสกัดไปรบกวนการทำงานของ คอร์ปัสลูเทียม ทำให้ระดับฮอร์โมนอีสโตรเจนและโพรเจสเตอโรน ไม่อยู่ในระดับสมดุลเหมาะสำหรับการฝังตัวของตัวอ่อน และรายงานของ Prakash และคณะ (1991) ที่ศึกษาสารสกัดจากพืช *Ferula jaeschkeana* ด้วยเฮกเซน ซึ่งหนูแรทได้รับในขนาด 25 มก./กก./วัน ในระยะก่อนการฝังตัว (D1-5) มีผลทำให้ยับยั้งการเปลี่ยนแปลง stroma cell ไปเป็น decidua cell และพบว่าเยื่อผนังโพรงมดลูกด้าน antimesometrium ไม่เปลี่ยนแปลงเพื่อรองรับการฝังตัวของตัวอ่อน แต่โพรงมดลูกมีขนาดกว้าง นอกจากนี้รายงานการศึกษาของ Stevenson และคณะ (1972) พบว่า สารประกอบของ terpene จากพืช *Pinus ponderosa* ที่วัวและควายได้รับ โดยการกินติดต่อกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ออกฤทธิ์ทำให้แท้งภายใน 48 ชั่วโมง และพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของมดลูกซึ่งจะมีลักษณะหย่อน ไม่คงรูป ผันมดลูกบวม เนื้อเยื่อมดลูกหนา มีสีแดงถึงสีเทาน้ำตาล บริเวณ decidual basalis มีการตายของเซลล์แบบ necrosis ซึ่ง Al-Said และคณะ (1987) ได้อภิปรายว่าการที่พืชชนิดนี้ทำให้มดลูกผิดปกติมีลักษณะบวม และทำให้โพรงมดลูกแคบนั้น คาดว่าเป็นผลจากการหดรัดตัวบริเวณส่วนท้ายของมดลูก และ Stuart และคณะ (1989) ได้รายงานผลเพิ่มเติมว่าบริเวณมดลูกของวัวควาย เกิดตุ่มเนื้อเล็กสีแดงออกดำ และมีการตายของเซลล์

แบบ necrosis เยื่อบุโพรงมดลูกมีแผลสีน้ำตาลแดง เนื้อเยื่อชั้น submucosa และ myometrium บวม และมีลิ่มเลือด และนอกจากนี้มียางานพบว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของหนูแรท ในระยะหลังการฝังตัวของตัวอ่อน ที่ไม่ทำให้แท้งทันทีทันใด แต่จะค่อยๆทำลายเนื้อเยื่อจนทำให้ตัวอ่อนสูญสลาย และตายในที่สุด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพมีลักษณะดังนี้ บริเวณ decidual basalis และ inner cell mass ถูกทำลาย ทั้งนี้บริเวณเยื่อบุโพรงมดลูกชั้น myometrium มีสภาพปกติ (Lutterodt and Oppong-Bawuah, 1976) จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า หนูท้องที่ได้รับสารสกัดใบถอบแถบ น้ำที่ปริมาณในสูงจะมีความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและการทำลายตัวอ่อนมากกว่าหนูท้องที่ได้รับสารในปริมาณต่ำ

ดังนั้นผลของสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำด้วยเอทานอลทำให้จำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูแรทลดลงและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมดลูก จากรายงานการศึกษาองค์ประกอบของสารในกลุ่มสเตียรอยด์ ได้แก่ β -sitosterol (Zayed et al., 1964; Elghamry and Hansel, 1969) และฟลาโวนอยด์ (Hsu et al., 1991) ที่มีฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้เป็นหมันได้นั้น องค์ประกอบดังกล่าวพบได้เช่นเดียวกับในใบถอบแถบน้ำ ถึงแม้ว่าจะยังไม่มีรายงานว่าสารสกัดใบถอบแถบน้ำมีฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนก็ตาม แต่ก็ได้ทำการทดลองนำร่อง โดยนำสารสกัดใบถอบแถบน้ำไปทำการวัดระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและเทสโทสเตอโรนด้วยวิธีเรดิโออิมมิวโนเอสเส (RIA) พบว่าเมื่อนำสารละลายอีเทอร์ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดใบถอบแถบน้ำเพื่อทำการแยกชั้นโดยชั้นบนจะได้สารละลายไซซึ่งเป็นส่วนของฮอร์โมนที่ถูกสกัดออกมาด้วยอีเทอร์ และเมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง Beta-liquid scintillation counter ผลการทดลองพบว่าค่าที่แสดงมีจำนวนน้อยมากเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานของฮอร์โมนเอสโตรเจนและเทสโทสเตอโรน จึงไม่ได้นำมาเป็นผลการทดลองในครั้งนี้ได้ อาจเป็นเพราะสารสกัดมีสารอื่นปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก แต่ทั้งนี้หากจะวัดปริมาณของฮอร์โมนจากใบถอบแถบน้ำ ควรต้องทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น และเมื่อนำสาร β -sitosterol มาศึกษาโดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ขนาด 5 มล./ตัว วันที่ 6-11 ของการตั้งครรภ์ พบว่า สาร β -sitosterol ทำให้ตัวอ่อนของหนูแรทสูญสลาย ซึ่งเมื่อนำเนื้อเยื่อมดลูกไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีการตายของเซลล์แบบเนโครซิสของ inner cell mass เป็นไปได้ว่า องค์ประกอบของสารสกัดจากใบถอบแถบน้ำโดยเฉพาะสารในกลุ่มสเตียรอยด์และฟลาโวนอยด์อาจไปมีผลรบกวนระบบฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อนและทำลายตัวอ่อนในระยะหลังการฝังตัวของตัวอ่อน