

สารสกัดจากข้าวเหนียวพื้นเมืองที่มีสีป้องกันการเกิดพยาธิสภาพและการอักเสบในไตนหนูแรทที่ถูกเหนียวนำด้วยเอทิลีนไกลคอล

วิฑูร ขาวสุข (ปร.ด.)¹ ธิษฏยา เสมอเงิน (ปร.ด.)² และ ปริญญาพร หนูอุไร (ปร.ด.)¹

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

² สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

บทคัดย่อ

บทนำ นิ่วในไตเป็นโรคที่พบอุบัติการณ์ได้ทั่วโลกและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น การรักษาปัจจุบันยังคงพบอัตราการกลับเป็นซ้ำ มีการศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการรักษาหรือป้องกันการเกิดโรคนิ่วในไตแต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาที่ชัดเจนในข้าวเหนียวพื้นเมืองที่มีสี

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดข้าวเหนียวพื้นเมืองที่มีสีต่อการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพและการอักเสบในไตนหนูแรทที่ถูกเหนียวนำด้วยเอทิลีนไกลคอล

วิธีการศึกษา หนูแรทเพศผู้ อายุ 7 สัปดาห์ ถูกแบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารและน้ำปกติตลอดการทดลอง กลุ่มที่ 2 ให้ดื่มน้ำปกติ 2 สัปดาห์ จากนั้นดื่มน้ำที่ผสมกับเอทิลีนไกลคอล ร้อยละ 0.5 (v/v) อีก 2 สัปดาห์ กลุ่มที่ 3 ได้รับสารโพแทสเซียมซเตรท ปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 2 สัปดาห์ กลุ่มที่ 4 และ 5 เป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดสายพันธุ์ *Oryza sativa* subsp. *Indica* ตามลำดับปริมาณ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยกลุ่มที่ 3-5 ได้รับน้ำที่ผสมกับเอทิลีนไกลคอล ร้อยละ 0.5 อีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายหลังจากการได้รับสารทดสอบ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณผลึก ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินิน วิเคราะห์พยาธิสภาพและการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (MCP-1 และ IL-6) ด้วยโปรแกรม Image J จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการศึกษา หนูกลุ่มที่ 3 ได้รับโพแทสเซียมซเตรท กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 ได้รับสารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยด มีค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำปัสสาวะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 ($p < 0.05$) และลดลงจนมีค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรด-ด่างก่อนการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 และมีปริมาณผลึกลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2 ซึ่งได้รับเอทิลีนไกลคอลอย่างเดียว ($p < 0.05$) ส่วนค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินในหนูแต่ละกลุ่มมีค่าแตกต่างกันแต่ยังคงอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานอ้างอิง การเกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มที่ได้รับสารเอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียวพบผนังเยื่อหุ้มท่อไตส่วนปลายมีความหนาแน่นลดลง เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อกว้าง เซลล์เยื่อหุ้มมีนิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น และพบการแสดงออกของโปรตีน MCP-1 และ IL-6 ในเซลล์เยื่อหุ้มท่อหลอดไตเพิ่มขึ้น ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดพบการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพเล็กน้อยและพบการแสดงออกของโปรตีน MCP-1 และ IL-6 ในเซลล์เยื่อหุ้มท่อหลอดไตลดลง

สรุป สารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดสามารถปรับปรุงค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณผลึกในปัสสาวะ และมีผลป้องกันการเกิดพยาธิสภาพและลดการอักเสบในไตนหนูแรทที่ถูกเหนียวนำด้วยเอทิลีนไกลคอล

คำสำคัญ ข้าวเหนียวพื้นเมืองมีสี พยาธิสภาพของไต การอักเสบ เอทิลีนไกลคอล

นิพนธ์ที่รับผิดชอบ

ปริญญพร หนูอุไร

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

E-mail: parinyaporn@go.buu.ac.th

The effects of local pigmented glutinous rice extracts to prevent renal pathology and inflammation in rats induced by ethylene glycol

Witoon Khawsuk (Ph. D)¹, Tistaya Semangoen (Ph. D)² and Parinyaporn Nuurai (Ph. D)¹

¹ Division of Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi, Thailand

² Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi, Thailand

Abstract

Introduction: Kidney stones are a common urological disorder that has been increasing in incidence worldwide. Current treatment still has a recurrence rate of the disease. As an alternative, several studies of natural products have been reported for the treatment and prevention of kidney stone disease. However, reports specific to local pigmented glutinous rice are still limited.

Objective: To investigate the effects of local pigmented glutinous rice extracts on renal pathology and inflammation, as induced by ethylene glycol on rats.

Methods: Male rats were divided into five groups. Group 1 was the control group, and received normal drinking water for four weeks. Group 2 was the ethylene glycol group, and received normal drinking water for two weeks, followed by 0.5% ethylene glycol for another 2 weeks. Group 3 was fed potassium citrate daily, at a dose of 100 mg/kg via gastric intubation for two weeks. Groups 4 and 5 were each fed a variety of glutinous rice daily – black glutinous rice and Sung Yod glutinous rice respectively, at a dose of 200 mg/kg by gastric intubation for two weeks. After two weeks of gastric intubation, groups 3-5 received 0.5% ethylene glycol for an additional two weeks. The samples were then collected for pH, calcium oxalate, BUN and creatinine analyses. Pathohistological and MCP-1 and IL-6 expressions in the subject's renal tissue were also observed. Statistical analysis with ANOVA at $p < 0.05$.

Results: The potassium citrate, black glutinous rice and Sung Yod glutinous rice-treated groups exhibited a significant increase in pH levels at week 3, as compared to the ethylene glycol group; however, the levels returned to normal at week 4, as compared to the control group. The amount of calcium oxalate monohydrate crystals in urine samples were reduced by treatment with black glutinous rice and Sung Yod glutinous rice extracts. The levels of BUN and creatinine in the serum of all groups were within normal ranges, as compared with standard ranges. Pathological changes in the renal tissue (including distal tubular dilation, flattened

renal tubular cells, and nuclear condensation, as well as the expression of MCP-1 and IL-6) were reduced by treatment with black glutinous rice and Sung Yod glutinous rice extracts, as compared with the ethylene glycol group.

Conclusion: Local pigmented glutinous rice extracts improved the pH and calcium oxalate crystals in urine. They also proved to have a protective effect on the ethylene glycol-induced inflammation and renal pathology.

Keywords: Local pigmented glutinous rice, Renal pathology, Inflammation, Ethylene glycol

Corresponding author: Parinyaporn Nuurai
Division of Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences,
Burapha University, Chonburi, Thailand
E-mail: parinyaporn@go.buu.ac.th

Received: May 11, 2025

Revised: August 14, 2025

Accepted: August 20, 2025

การอ้างอิง

วิฑูร ขาวสุข, ทิษฏยา เสมาเงิน และ ปริญญพร หนูอุไร. สารสกัดจากข้าวเหนียวพื้นเมืองที่มีสีป้องกันการเกิดพยาธิสภาพและการอักเสบในไตหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอทิลีนไกลคอล. บุรพาเวชสาร. 2568; 12(2): 18-35.

Citation

Khawsuk W, Semangoen T, and Nuurai P. The effects of local pigmented glutinous rice extracts to prevent renal pathology and inflammation in rats induced by ethylene glycol. Bu J Med. 2025; 12(2): 18-35.

บทนำ

นิ่วในไตเป็นโรคเรื้อรังที่พบได้ทั่วโลกมีความชุกประมาณร้อยละ 10.1¹ ในประเทศไทยพบความชุกของการเกิดโรคนี้ในไตประมาณร้อยละ 15-16.9 ซึ่งพบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ และพบได้ในภาคตะวันออก โดยเพศชายเป็นโรคมมากกว่าเพศหญิง ประมาณ 2-3 เท่า และมีอุบัติการณ์ของผู้ป่วยใหม่เพิ่มขึ้น ในช่วงอายุ 20-39 ปี ผู้ที่เคยเป็นนิ่วในไตแล้วมักจะเกิดเป็นซ้ำอีก โดยประมาณร้อยละ 21-53 พบอัตราการเกิดโรคซ้ำภายใน 3-5 ปี² นิ่วในไตมีสาเหตุหลักมาจากการได้รับสารก่อนิ่วเป็นระยะเวลายาวนานต่อเนื่อง นอกจากนี้อาจเกิดจากพันธุกรรม ความผิดปกติของไต และสภาพภูมิอากาศ เป็นต้น ผู้ป่วยจะมีอาการปัสสาวะลำบาก ปวดบริเวณเอว อาจเกิดการติดเชื้อทางระบบทางเดินปัสสาวะ และนำไปสู่ไตวายได้ในที่สุด การรักษานิ่วในไตสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การให้โพแทสเซียมซิเตรท โพแทสเซียมไบคาร์บอเนต และการใช้คลื่นเสียงเพื่อสลายก้อนนิ่ว³ โดยนิ่วในไตที่ส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพมีหลายชนิด เช่น แคลเซียมออกซาเลต แคลเซียมฟอสเฟต นิ่วสตรูไวต์ นิ่วกรดยูริก นิ่วซีสติน แต่ที่พบบ่อยในประเทศไทย ได้แก่ แคลเซียมออกซาเลตโมโนไฮเดรต (calcium oxalate monohydrate, COM) ก้อนนิ่วในไตก่อตัวขึ้นเมื่อมีระดับของสารก่อนิ่วภายในเลือดเพิ่มขึ้น สารยับยั้งการเกิดนิ่วลดลง ประกอบกับการดื่มน้ำน้อย และปัสสาวะเป็นกรด จะทำให้ของเหลวภายในท่อหลอดไตเกิดภาวะการอิมตัวแบบยิ่งยวด ส่งเสริมให้เกิดก้อนนิ่วชนิด COM โดยการจับกันของแคลเซียมไอออนและสารก่อนิ่ว เช่น ออกซาเลตไอออน ทำให้เกิดการตกผลึกเป็นก้อนนิ่วขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งทำหน้าที่เป็นผลึกตั้งต้นที่จะส่งเสริมให้มีการจับของผลึกจนกลายเป็นผลึกขนาดใหญ่ และสามารถไปยึดเกาะกับเยื่อผิวทำให้เกิดการอุดตันของท่อหลอดไตส่วนปลาย (distal convoluted tubule) และท่อหลอดไตรวม (collecting duct)⁴ ผลึก COM ที่เกิดขึ้น

สามารถกระตุ้นเยื่อผิวท่อหลอดไตให้หลั่งสารในกลุ่มไซโตไคน์ที่ส่งเสริมการอักเสบมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MCP-1 และ IL-6 ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดภาวะความเสียหายของท่อไตอันเนื่องมาจากภาวะนิ่วในไตได้⁵ ในขณะเดียวกันผลึก COM ยังกระตุ้นให้เซลล์เยื่อผิวท่อไตเกิดภาวะเครียดและมีการหลั่งสารอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น จากสภาวะดังกล่าวจะเหนี่ยวนำกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวให้เคลื่อนที่เข้ามายังบริเวณที่ถูกกระตุ้น ทำให้เกิดการอักเสบและเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตในที่สุด⁶

ปัจจุบันมีการวิจัยที่มุ่งเน้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาลดการอักเสบและการเกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไต ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดผลึกนิ่ว เช่น สารซิเตรทในน้ำมะนาว⁷ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ในพืชตระกูลแตง⁸ และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในใบชา⁹ นอกจากนี้การใช้สารกลุ่มโพลีฟีนอลสามารถลดการก่อผลึกนิ่ว และลดการอักเสบ ซึ่งสามารถป้องกันและรักษาโรคนิ่วในไตได้^{10,11} มีรายงานการศึกษาสารสกัดจากข้าวเหนียวมีสีทั้งข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น (*Oryza sativa* subsp. Japonica) และข้าวพันธุ์อินดิกา (*Oryza sativa* subsp. Indica) พบว่า ข้าวเหนียวดำมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม เนื่องจากประกอบด้วย สารแอนโทไซยานิน สารแกมมาโอไรซานอลและโทโคเฟอรอล ทำให้มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านการอักเสบสูงกว่าข้าวขาว¹² สารสกัดจากข้าวที่มีสีพันธุ์อินดิกา เช่น ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และรำข้าวเหนียวดำพื้นเมืองของจังหวัดสงขลา พบสารประกอบโพลีฟีนอลสูง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งการก่อตัวและการรวมตัวกันของผลึก COM ในหลอดทดลองได้¹³⁻¹⁵ สารสกัดจากข้าวเหนียวสังข์หยดพื้นเมืองของจังหวัดสงขลา ซึ่งมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงสามารถกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระคือ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และแคตาเลส และป้องกันการเกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไต¹⁶ อย่างไรก็ตาม

ยังไม่มีการศึกษาสารสกัดจากข้าวเหนียวที่มีสีที่มีผลต่อการอักเสบของเนื้อเยื่อไตที่เหนียวไปด้วยเอทิลีนไกลคอล ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวสังข์หยดต่อการเกิดพยาธิสภาพและการอักเสบในเนื้อเยื่อไตที่เหนียวไปด้วยเอทิลีนไกลคอล

วิธีการศึกษา

1. การสกัดสารสกัดหยาบจากข้าวเหนียวพื้นเมืองที่มีสี

การทดลองนี้ใช้ข้าวกล้องข้าวเหนียวพื้นเมืองสายพันธุ์ *Oryza sativa* subsp. *Indica* ที่มีสี 2 ชนิด คือ ข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยด ซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองที่เพาะปลูกบริเวณพื้นที่ จังหวัดสงขลา ปริมาณ 1 กิโลกรัม มาบดให้ละเอียดและสกัดด้วยเอทานอลตามวิธีการของ Semangoen et al.¹⁶ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 75 ปริมาตร 2 ลิตร นำไปต้มในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง นำข้าวที่ผ่านการสกัดแล้วไปทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนและเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง แล้วเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสัตว์ทดลองและการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด

การศึกษาได้รับการอนุมัติการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยบูรพา (เลขใบรับรองที่ 15/2562) โดยปรับรูปแบบการทดลองตามวิธีการของ Semangoen et al.¹⁶ ดังนี้ หนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley อายุ 7 สัปดาห์

น้ำหนักประมาณ 180-200 กรัม จำนวน 25 ตัว มาเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเพื่อปรับสภาพให้เกิดความเคยชินเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นแบ่งสัตว์ทดลองเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว มีแผนการทดลองดังนี้

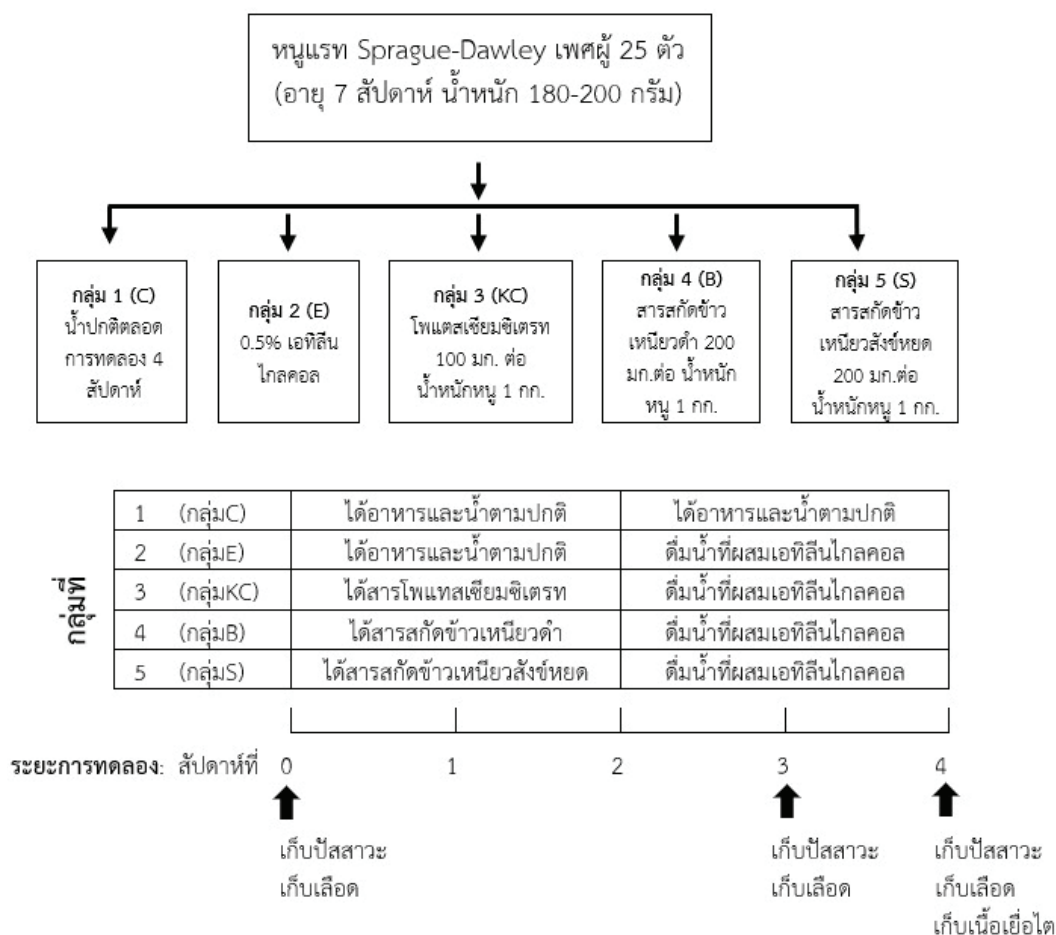
กลุ่มที่ 1 (กลุ่ม C) เป็นกลุ่มควบคุมให้อาหารและน้ำปกติตลอดการทดลอง เป็นเวลา 4 สัปดาห์

กลุ่มที่ 2 (กลุ่ม E) เป็นกลุ่มที่ถูกเหนียวทำให้เกิดภาวะการสะสมผลึกนิว โดยให้ดื่มน้ำปกติเป็นเวลา 2 สัปดาห์แรก จากนั้นดื่มน้ำที่ผสมกับเอทิลีนไกลคอล ร้อยละ 0.5 (v/v) อีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์

กลุ่มที่ 3 (กลุ่ม KC) เป็นกลุ่มควบคุมมาตรฐานให้สารโพแทสเซียมซิเตรท ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม โดยใช้ท่อป้อนอาหาร (gavage) วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นดื่มน้ำที่ผสมกับเอทิลีนไกลคอล ร้อยละ 0.5 (v/v) อีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์

กลุ่มที่ 4 (กลุ่ม B) เป็นกลุ่มทดสอบโดยให้สารสกัดข้าวเหนียวดำ และกลุ่มที่ 5 (กลุ่ม S) เป็นกลุ่มทดสอบโดยให้สารสกัดข้าวเหนียวสังข์หยด ปริมาณ 200 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม โดยใช้ท่อป้อนอาหาร วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นดื่มน้ำที่ผสมกับเอทิลีนไกลคอล ร้อยละ 0.5 (v/v) อีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ทุกกลุ่มทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะและเลือดในสัปดาห์ที่ 0 ก่อนการทดลอง สัปดาห์ที่ 3 และ 4 ภายหลังจากการได้รับสารเอทิลีนไกลคอล เป็นเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 หนูแต่ละกลุ่มถูกทำให้ตายอย่างสงบทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไตเพื่อทดสอบต่อไปสรุปแผนการทดลองดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงแผนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดและการเก็บตัวอย่างในสัตว์ทดลอง

3. การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของผลึกนัวในน้ำปัสสาวะ

ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะของหนูแต่ละกลุ่มโดยการนำหนูแต่ละตัวใส่ในกรงเมแทบอลิก จำนวน 1 ตัวต่อกรง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยให้อาหาร และน้ำปกติ ทำการเก็บปัสสาวะโดยนำปิกเกอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อวางบริเวณใต้ช่องกรงเมแทบอลิก จากนั้นนำหนูแต่ละตัวกลับเข้ากรงปกติโดยให้อาหารและน้ำตามกลุ่มทดลอง จากนั้นนำปัสสาวะไปทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้แถบตรวจปัสสาวะ (pH-indicator strips, Merck's MQuant®) และนับจำนวนผลึก COM โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

นับแบบสุ่ม 10 บริเวณต่อ 1 ตัวอย่าง และทำซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image J

4. การวิเคราะห์ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือด และครีเอตินิน

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดบริเวณปลายหาง ในสัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 3 ส่วนสัปดาห์ที่ 4 ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจ จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที และเก็บซีรัมส่งตรวจ เพื่อวิเคราะห์ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินิน โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ห้องปฏิบัติการงานตรวจสอบคุณภาพ ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม

5. การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตด้วยวิธีการย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (hematoxylin และ eosin, H&E)

นำเนื้อเยื่อไตของหนูแต่ละกลุ่มมารักษาสภาพด้วย 4% พาราฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ละลายในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS), pH 7.4 เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยสารละลาย PBS และเข้าสู่กระบวนการเตรียมตัวอย่างเพื่อฝังลงในพาราฟิน แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อความหนาประมาณ 5 ไมโครเมตร จากนั้นนำสไลด์เนื้อเยื่อไปจัดพาราฟินออกด้วยการแช่ในไซลีน แล้วเข้าสู่กระบวนการเอาน้ำเข้าเนื้อเยื่อด้วยเอทานอล จากความเข้มข้นสูงไปต่ำ และย้อมนิวเคลียสด้วยสีแฮริส ฮีมาทอกซิลิน (Harris's hematoxylin) ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปาหรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น ร้อยละ 1 แล้วย้อมไซโทพลาสซึมด้วยอีโอซิน (Eosin) ล้างสีส่วนเกินออกด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น ร้อยละ 90-100 จากนั้นทำการเอาน้ำออก แล้วปิดสไลด์ด้วยสารเปอร์เม้า นำไปศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเปรียบเทียบกับพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตที่เกิดขึ้น โดยใช้เกณฑ์ของ Pareta et al.¹⁷ พิจารณาจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้ การเสื่อมของท่อหลอดไต การตายของเซลล์ในท่อหลอดไต การหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิวท่อหลอดไต การคั่งของเลือดในท่อหลอดไต การคั่งของเลือดในโกลเมอรูลัส ความเสียหายของโกลเมอรูลัส ภาวะบวมในเนื้อเยื่อระหว่างท่อหลอดไต การสะสมของผลึกและความเสียหายอย่างชัดเจนต่อโครงสร้างของไต และให้คะแนนความเสียหายเป็น - หมายถึงปกติ + หมายถึงเล็กน้อย ++ หมายถึงปานกลาง และ +++ หมายถึงรุนแรง จากนั้นวัดขนาดของท่อและความหนาของเยื่อบุผิวท่อหลอดไตแบบสุ่ม จำนวน 20 ท่อต่อ 1 ตัวอย่าง แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image J

6. การศึกษาการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry)

นำสไลด์เนื้อเยื่อไปละลายพาราฟินออกด้วยไซลีนและเอทานอล ตามลำดับ จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายลิเทียมคาร์บอเนตเข้มข้นที่ความเข้มข้น ร้อยละ 1 และกำจัดเปอร์ออกไซด์สลายในเนื้อเยื่อโดยการแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น ร้อยละ 0.3 และนำไปล้างด้วยสารละลาย PBS ที่เติมไตรตันเอ็กซ์-100 (PBST) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.4 จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่ในสารละลายไกลซิน ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 และป้องกันการจับกันแบบไม่จำเพาะด้วยการเติมสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน ความเข้มข้น ร้อยละ 4 ในสารละลาย PBST หลังจากนั้นจึงใส่แอนติบอดีตัวที่ 1 (primary antibody) ที่ต้านต่อ MCP-1 หรือ IL-6 อัตราส่วน 1:100-1:500 (v/v) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-16 ชม. จากนั้นจึงล้างด้วยสารละลาย PBST แล้วใส่แอนติบอดีตัวที่ 2 (goat anti-mouse IgG HRP-conjugated หรือ goat anti-rabbit IgG HRP-conjugated) อัตราส่วน 1:500 (v/v) เป็นเวลา 1 ชม. แล้วล้างออกและตรวจหาการจับกันระหว่างโปรตีนกับแอนติบอดีโดยใช้ AEC substrate Kit จากนั้นย้อมนิวเคลียส (counterstain) ด้วยสีเมเยอร์ ฮีมาทอกซิลิน (Mayer's hematoxylin) และนำไปศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและวัดค่าความเข้มของการติดสีแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image J ตามวิธีการของ Baidoo et al.¹⁸

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

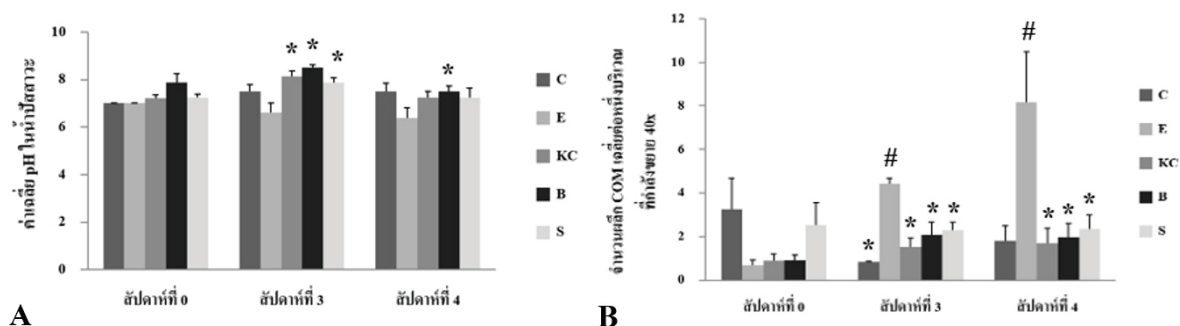
นำข้อมูลที่ในแต่ละกลุ่มการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22 โดยใช้ค่าเฉลี่ยบวกหรือลบด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่ากลาง (Mean $\pm$ SE) ทดสอบนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี one-way analysis of variance (ANOVA) โดยใช้การทดสอบ Tukey HSD test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการศึกษา

1. ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง และจำนวนพริกนึ่งในปัสสาวะ

ผลการเก็บข้อมูลค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำปัสสาวะของหนูแต่ละกลุ่มพบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 0 ก่อนการทดลอง หนูแต่ละกลุ่มมีค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงประมาณ 7-7.2 ยกเว้นหนูกลุ่ม B มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่ากลุ่มอื่น เมื่อทำการทดลอง พบว่าในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 หนูกลุ่ม E มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลง อยู่ที่ประมาณ 6.4-6.6 ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง ในหนูกลุ่ม KC, กลุ่ม B และ

กลุ่ม S เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงจนมีค่าใกล้เคียงกับค่าก่อนการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 (รูปที่ 2A) ผลการเก็บข้อมูลจำนวนพริกนึ่ง COM ในน้ำปัสสาวะของหนูแต่ละกลุ่มพบว่า หนูกลุ่ม E มีปริมาณพริก COM เพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ ส่วนหนูกลุ่ม KC กลุ่ม B และกลุ่ม S มีปริมาณพริก COM ลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม E ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ และมีปริมาณพริกไม่แตกต่างกันในแต่ละสัปดาห์เมื่อเทียบกับกลุ่ม C (รูปที่ 2B)

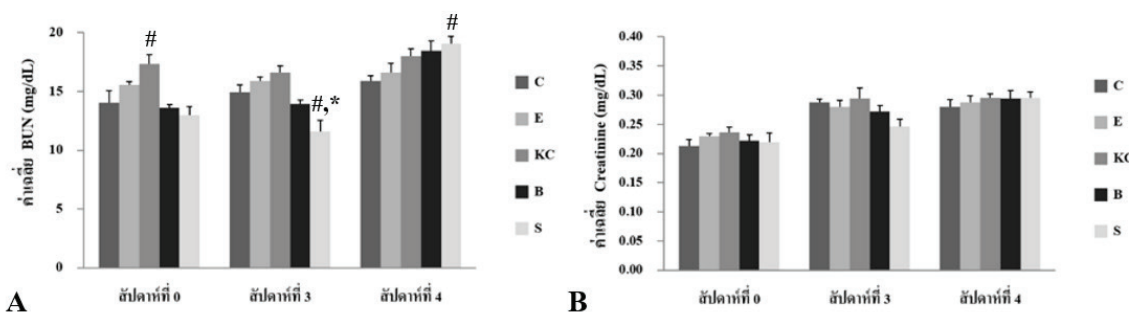


รูปที่ 2 (A) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง และ (B) จำนวนพริก COM ต่อหนึ่งบริเวณที่กำลังขยาย 40 เท่า ในน้ำปัสสาวะของหนูกลุ่ม C, E, KC, B และ S ในสัปดาห์ที่ 0 สัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 4 (Mean $\pm$ SE; # และ * แสดงความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม C และ E ตามลำดับ)

2. ผลการวิเคราะห์ค่าไนโตรเจนยูเรีย ในเลือดและครีเอตินิน

การเปรียบเทียบค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือด ในแต่ละกลุ่ม พบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 0 ก่อนการทดลอง หนูแต่ละกลุ่มมีค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดแตกต่างกันเล็กน้อย โดยกลุ่ม KC มีค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดสูงเมื่อเทียบกับกลุ่ม C ($p < 0.05$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 3 พบว่า ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดในหนูกลุ่ม C กลุ่ม E และกลุ่ม B มีค่า ไนโตรเจนยูเรียในเลือดไม่แตกต่างกัน ในขณะที่หนูกลุ่ม KC และ S มีค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดลดลงจากสัปดาห์ที่ 0

ซึ่งกลุ่ม S มีค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดลดลงที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม E ส่วนสัปดาห์ที่ 4 ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดของหนูทุกกลุ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยกลุ่มที่มีการเพิ่มขึ้นที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ คือ กลุ่ม S (รูปที่ 3A) ผลการเปรียบเทียบค่าครีเอตินินในแต่ละกลุ่ม พบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 0 ก่อนการทดลองค่าครีเอตินินของหนูแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ส่วนในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 พบว่า ค่าครีเอตินินในหนูทุกกลุ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 0 (รูปที่ 3B) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม C และ E ($p > 0.05$)

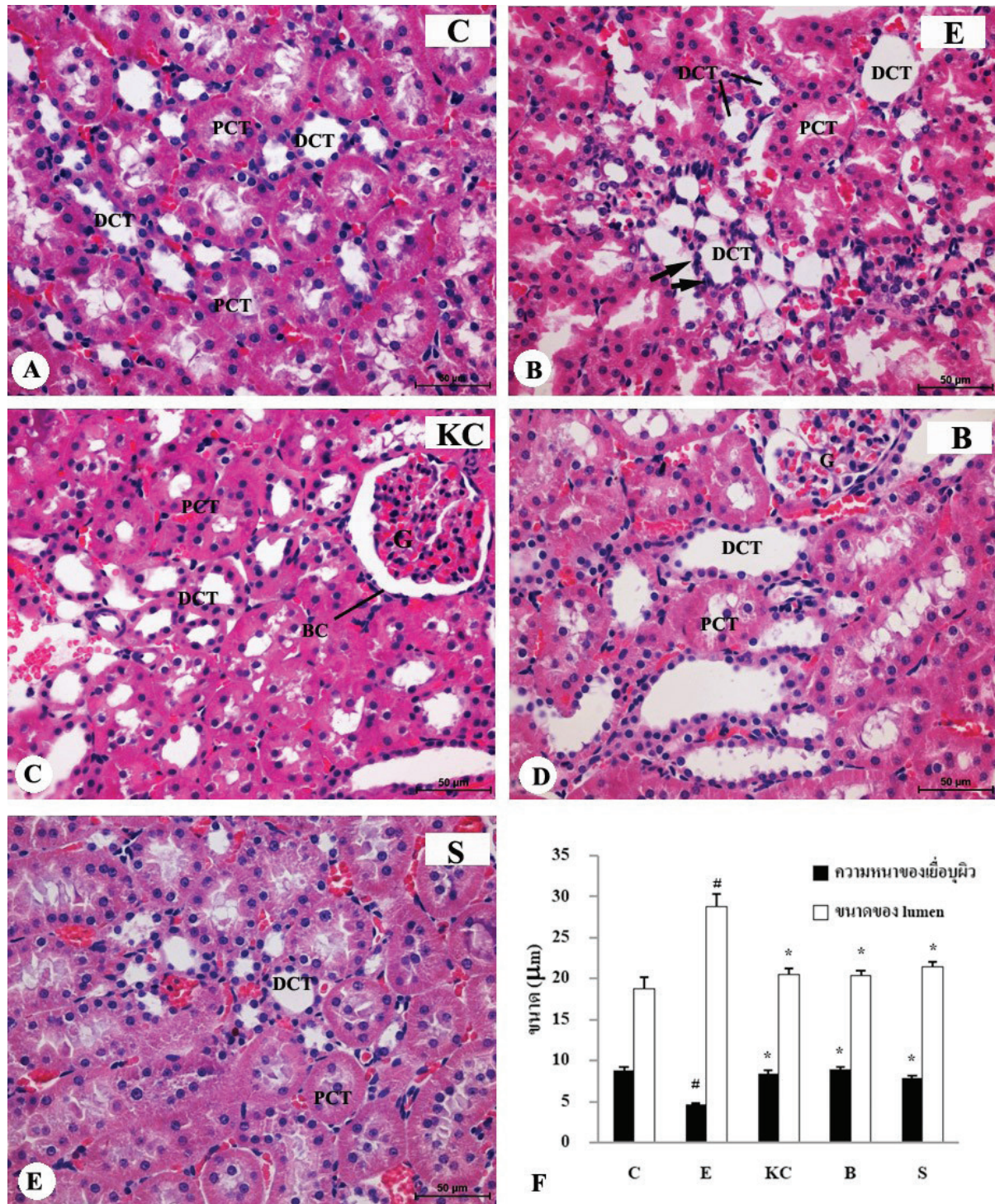


รูปที่ 3 (A) แสดงค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือด (BUN) และ (B) ครีเอตินิน (creatinine) ในเลือดของหนูกลุ่ม C, E, KC, B และ S ในสัปดาห์ที่ 0 สัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 4 (Mean $\pm$ SE; # และ * แสดงความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม C และ E ตามลำดับ)

3. ผลของสารสกัดต่อการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต

การศึกษาพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไตด้วยวิธีการย้อมสี H&E พบว่า หนูกลุ่ม C มีเนื้อเยื่อไตลักษณะปกติ (รูปที่ 4A) และค่าระดับความเสียหายอย่างชัดเจนต่อโครงสร้างของไตเป็น – ส่วนหนูกลุ่ม E พบความผิดปกติที่ท่อหลอดไตส่วนปลาย (distal convoluted tubule) มีลักษณะขยายใหญ่ขึ้น และพบเซลล์เยื่อบุผิวแบนลง มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์เยื่อบุผิวจากชนิดลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) เป็นชนิดแบนราบชั้นเดียว (simple squamous epithelium) ภายในเซลล์พบนิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น ขอบเขตของไซโทพลาสซึมไม่ชัดเจน (รูปที่ 4B) และมีความเสียหายอย่าง

ชัดเจนต่อโครงสร้างของไตเป็น ++ ในขณะที่หนูกลุ่ม KC และหนูกลุ่ม B และ S พบลักษณะของเนื้อเยื่อไตมีพยาธิสภาพเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่ม E (รูปที่ 4C-E) และมีความระดับความเสียหายอย่างชัดเจนต่อโครงสร้างของไตเป็น + ผลการวัดความหนาของเยื่อบุผิวและเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อหลอดไตส่วนปลายของหนูแต่ละกลุ่ม พบว่าหนูกลุ่ม E มีความหนาของเยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลายลดลงมากที่สุด และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อกว้างที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม C ส่วนหนูกลุ่ม KC, B และ S มีความหนาของเยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลายและเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อไม่แตกต่างจากกลุ่ม C (รูปที่ 4F) แต่มีความหนาของเยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลายมากกว่าและมีเส้นผ่านศูนย์กลางของช่องภายในแคบกว่าเมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม E ($p < 0.05$)

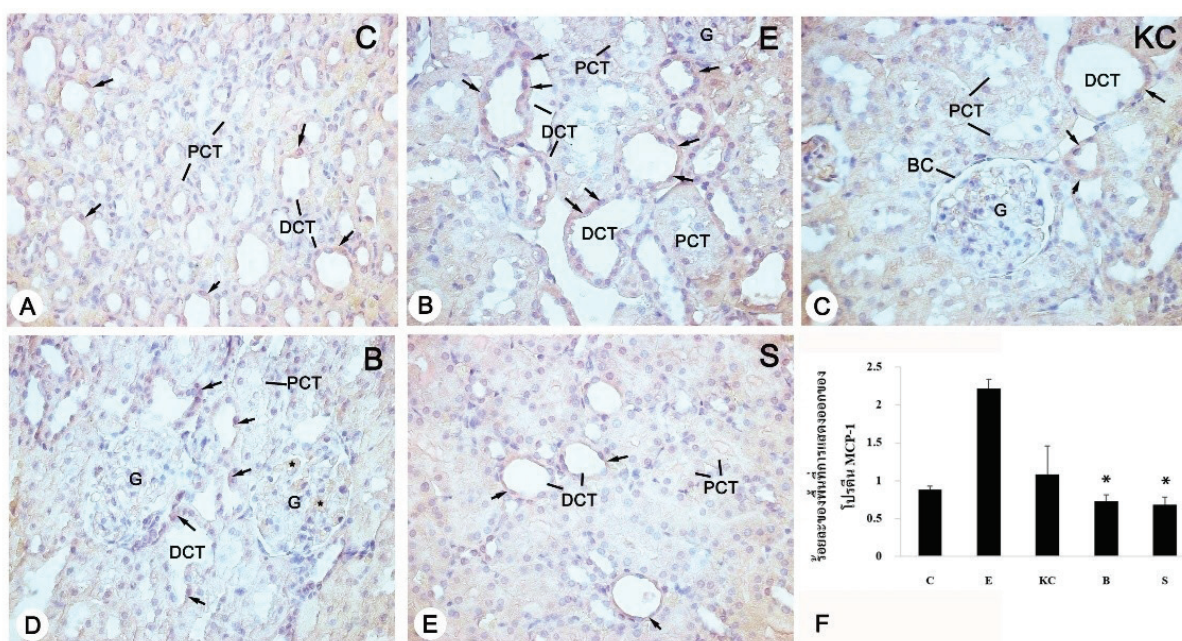


รูปที่ 4 A-E แสดงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของไตหนูกลุ่ม C, E, KC, B และ S ย้อมด้วยสี H&E กำลังขยาย 40 เท่า (G, glomerulus; BC, Bowman's capsule; PCT, proximal convoluted tubule; DCT, distal convoluted tubule; ลูกศรแสดงลักษณะของเซลล์เยื่อบุผิวที่แบนลงและนิวเคลียสติดสีเข้ม) รูป F แสดงค่า ความหนาของเยื่อบุผิวและขนาดของ lumen ของท่อหลอดไตส่วนปลายในเนื้อเยื่อไตของหนูแต่ละกลุ่ม (Mean $\pm$ SE; # และ * แสดงความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม C และ E ตามลำดับ)

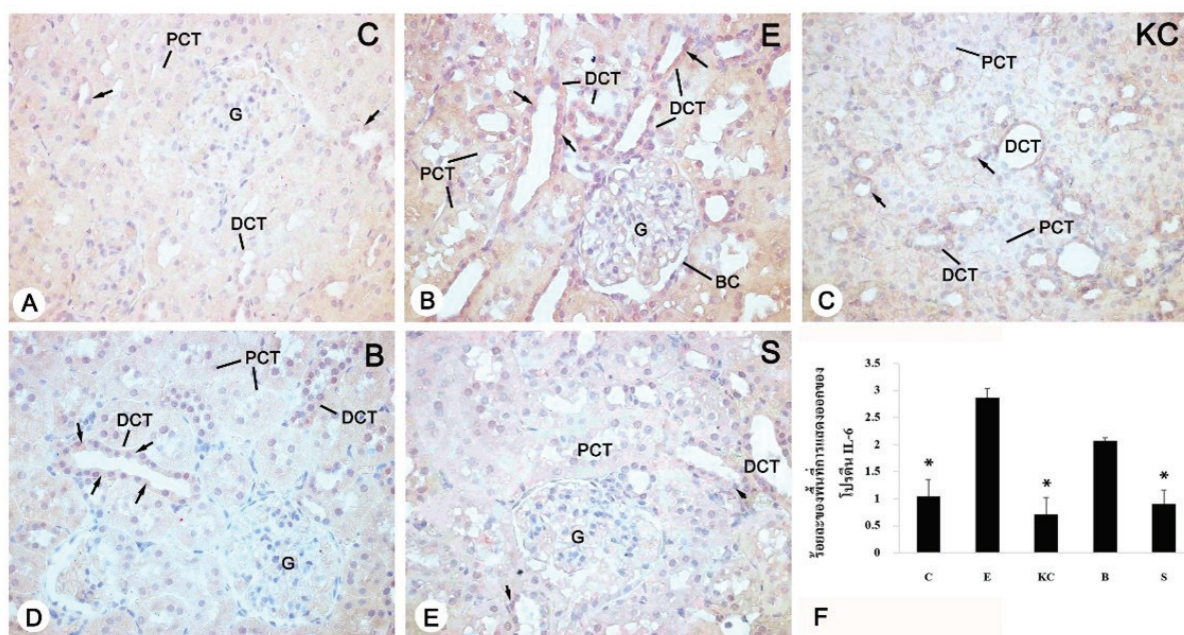
4. ผลของสารสกัดต่อการแสดงออกของโปรตีน MCP-1 และ IL-6 ในเนื้อเยื่อไต

ผลการศึกษาพบการติดสีน้ำตาลแดงของโปรตีนที่มีคุณลักษณะคล้าย MCP-1 และ IL-6 ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุท่อหลอดไตส่วนปลายเป็นส่วนใหญ่ โดยแต่ละกลุ่มมีลักษณะการติดสีเข้มและจางแตกต่างกัน (รูปที่ 5 และ 6) โดยกลุ่มที่พบเซลล์ติดสีเข้มและชัดเจนคือกลุ่ม E (รูปที่ 5B และ 6B) ส่วนกลุ่ม C, KC, B และ S พบปริมาณการติดสีจาง

และค่อนข้างน้อยกว่ากลุ่ม E (รูปที่ 5A, C-E และ 6A, C-E) โดยกลุ่ม B และ S พบการแสดงออกของ MCP-1 ลดลงที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม E (รูปที่ 5F) ในขณะที่กลุ่ม C, KC และ S พบการแสดงออกของ IL-6 ลดลงที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม E (รูปที่ 6F) นอกจากนี้ไม่พบการติดสีของโปรตีน MCP-1 และ IL-6 บริเวณโกลเมอรูลัส และเซลล์เยื่อบุท่อหลอดไตส่วนต้นของทุกกลุ่ม



รูปที่ 5 A-E แสดงการติดสีของโปรตีนที่มีคุณลักษณะคล้าย MCP-1 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่ม C, E, KC, B และ S กำลังขยาย 40 เท่า (G, glomerulus; BC, Bowman's capsule; PCT, proximal convoluted tubule; DCT, distal convoluted tubule; ลูกศรแสดงเซลล์เยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลายที่ติดสีน้ำตาลแดง; ดอกจันแสดงเซลล์เม็ดเลือดแดง) รูป F แสดงค่าร้อยละของพื้นที่การแสดงออกของโปรตีน MCP-1 ของหนูแต่ละกลุ่ม (Mean ± SE; * แสดงความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม E)



รูปที่ 6 แสดงการติดสีของโปรตีนที่มีคุณลักษณะคล้าย IL-6 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่ม C, E, KC, B และ S กำลังขยาย 40 เท่า (G, glomerulus; BC, Bowman's capsule; PCT, proximal convoluted tubule; DCT, distal convoluted tubule; ลูกศรแสดงเซลล์เยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลายที่ติดสีเข้มแดง) รูป F แสดงค่าร้อยละของพื้นที่การแสดงออกของโปรตีน IL-6 ของหนูแต่ละกลุ่ม (Mean ± SE; * แสดงความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม E)

วิจารณ์

การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะออกซาลेटสูงในปัสสาวะแบบฉับพลันและแบบเรื้อรังด้วยสารเอทิลีนไกลคอล นิยมใช้เป็นโมเดลในการศึกษาภาวะการเกิดนิ่วในไตชนิดแคลเซียมออกซาลेटในสัตว์ทดลอง เมื่อเอทิลีนไกลคอลเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหารและถูกเอนไซม์ในตับเปลี่ยนเป็นสารกลีเซอรอลดีไฮด์จนได้เป็นกรดออกซาลิกและเปลี่ยนเป็นออกซาลेटไอออน ซึ่งเป็นสารก่อนิ่วที่สามารถจับกับแคลเซียม ได้เป็นผลึกนิ่วแคลเซียมออกซาลेटและขับออกทางปัสสาวะ¹⁹ ผลการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำปัสสาวะของหนูกลุ่มที่ได้รับสารเอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียวมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 อาจเป็นผลมาจากเอทิลีนไกลคอลที่ถูกออกซิไดส์เป็นกรดออกซาลิก ส่งผลให้ปัสสาวะ

มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และมีการสะสมผลึกนิ่วในปัสสาวะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาจำนวนผลึกนิ่ว COM ในน้ำปัสสาวะของหนูแต่ละกลุ่มพบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับเอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียวมีปริมาณผลึก COM เพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากการได้รับสารเอทิลีนไกลคอล และเกิดเป็นผลึกแคลเซียมออกซาลेट โดยผลึก COM เป็นผลึกนิ่วชนิดก่อโรคที่มีความรุนแรงและมีแรงยึดจับกับเซลล์ท่อไตและมักพบปนออกมากับปัสสาวะจำนวนมากในผู้ป่วยนิ่วในไต²⁰ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับโพแทสเซียมซิเตรท มีค่าความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 และในสัปดาห์ที่ 4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง กลับมาใกล้เคียงกับค่าก่อนการทดลอง และมีปริมาณผลึก COM น้อยกว่าหนูที่ได้รับเอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียว อาจเป็นผลมาจากซิเตร

หมี่ฤทธิ์เป็นต่างและเป็นสารยับยั้งการก่อเนื้องอก โดยซิเตรทจะจับกับแคลเซียมทำให้เกิดสารที่ละลายน้ำและไม่ตกตะกอนเป็นผลึกนิ้ว และมีผลเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างในปัสสาวะ²⁰ ซึ่งอาจส่งผลป้องกันการเกิดผลึกนิ้ว COM ได้ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดให้ผลสอดคล้องกับหนูกลุ่มที่ได้รับโพแทสเซียมซิเตรท แสดงให้เห็นว่า สารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดอาจมีผลปรับปรุงค่าความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะ และลดโอกาสในการเกิดผลึกนิ้วได้

ผลการศึกษาดัชนีชี้การทำงานของไตในหนูแต่ละกลุ่มพบว่า ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดในเลือดหนูแต่ละกลุ่มแตกต่างกันในแต่ละสัปดาห์ โดยค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดข้าวเหนียวมีแนวโน้มลดลง เมื่อได้รับสารเอทิลีนไกลคอลเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แต่หนูทุกกลุ่มมีค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารเอทิลีนไกลคอลเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ส่วนค่าครีเอตินินของหนูทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินของหนูทุกกลุ่มยังคงอยู่ในเกณฑ์ปกติ คือ 13-29 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL) และ 0.4-1.5 mg/dL ตามลำดับ²¹ โดยการศึกษาครั้งนี้พบค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินของหนูกลุ่มที่ได้รับเอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียว มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อาจเป็นผลมาจากปริมาณและระยะเวลาการได้รับสารเอทิลีนไกลคอลไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของไตที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินในเลือดได้ โดยมีการศึกษาการเหนี่ยวนำให้หนูเกิดนิ่วในไตด้วยการให้สารเอทิลีนไกลคอล ความเข้มข้น ร้อยละ 0.75 ร่วมกับแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น ร้อยละ 1 มีผลทำให้ค่าไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินสูงกว่าค่าปกติ^{8,22} ดังนั้นเพื่อเป็นการทดสอบการทำงานและการเกิดพยาธิสภาพของนิ่วในไตในระยะยาว

อาจต้องให้สารเอทิลีนไกลคอล ความเข้มข้นที่มากกว่าร้อยละ 0.5 และให้ระยะเวลาานานกว่า 2 สัปดาห์ ส่วนผลการให้สารสกัดข้าวเหนียวเป็นเวลา 14 วันพบว่า ไม่มีผลลดระดับไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินในเลือด อาจเนื่องมาจากปริมาณสารสำคัญในข้าวเหนียวไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ การเพิ่มความเข้มข้นหรือระยะเวลาการให้สารสกัดนานขึ้นอาจมีผลเปลี่ยนแปลงตัวชี้วัดการทำงานของไตได้ โดยมีรายงานการให้สารสกัดปริมาณ 300 มิลลิกรัมถึง 2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลลดระดับไนโตรเจนยูเรียในเลือดและครีเอตินินในเลือดหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะนิ่วในไตได้^{23,24}

ผลการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพเนื้อเยื่อไตของหนูแต่ละกลุ่มพบว่า หนูกลุ่มที่ให้เอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียว เกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไตชัดเจนที่สุด โดยพยาธิสภาพส่วนใหญ่เกิดขึ้นบริเวณเยื่อบุผิวท่อหลอดไตส่วนปลาย อาจเนื่องมาจากเป็นบริเวณที่ผลึกแคลเซียมออกซาเลตเกิดภาวะอิ่มตัวยิ่งยวด ผลึกจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อไตเกิดการบาดเจ็บและถูกทำลาย อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ไม่พบผลึกนิ่วสะสมในเนื้อเยื่อไต ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระยะเวลา หรือปริมาณการได้รับสารเอทิลีนไกลคอลน้อยเกินไป ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับโพแทสเซียมซิเตรทและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดมีผลลดการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอทิลีนไกลคอลได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า โดยอาจเป็นผลมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดที่สามารถลดผลกระทบของสารอนุมูลอิสระ ส่งผลให้การบาดเจ็บของเซลล์เยื่อบุท่อไตและการสะสมของผลึกนิ่วในเนื้อเยื่อไตลดลงได้^{8,16,25} จากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบพบว่า หนูกลุ่มที่ให้เอทิลีนไกลคอลเพียงอย่างเดียว มีการแสดงออกของโปรตีน MCP-1 และ IL-6 เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นด้วยเอทิลีนไกลคอล อาจทำให้เกิดภาวะ

อักเสบที่เนื้อเยื่อไต ซึ่งการอักเสบเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดนิ่วในไต²⁰ โดย MCP-1 เป็นเคโมไคน์สำคัญช่วยในการเคลื่อนที่ของโมโนไซต์หรือแมคโครเฟจผ่านผนังหลอดเลือด ไปยังเนื้อเยื่อที่เกิดการบาดเจ็บหรือเสียหายเพื่อตอบสนองต่อการอักเสบ โดย MCP-1 ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ได้หลากหลายชนิด เช่น เซลล์เยื่อบุผิวหลอดเลือด ไฟโบรบลาสต์ เยื่อบุผิวทั่วไป กล้ามเนื้อเรียบ เซลล์มีเซนไจล และเซลล์ไมโครเกลีย โดยถูกกระตุ้นได้จากการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ไซโตไคน์ และโกรทแฟกเตอร์²⁶ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาโปรตีน MCP-1 ในเซลล์เพาะเลี้ยง HK-2 และเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK พบว่ามีระดับการแสดงออกของ mRNA และโปรตีนของ MCP-1 สูงขึ้นในกลุ่มที่ได้รับออกซาลาเลทไอออน²⁷ ส่วน IL-6 เป็นไซโตไคน์ที่มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการอักเสบและภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งจะถูกกระตุ้นในช่วงที่มีการอักเสบหรือบาดเจ็บที่ไต²⁸ มีการศึกษาการแสดงออกของ IL-6 ภายหลังได้รับออกซาลาเลทในเซลล์ HK-2 และหนูแรท พบว่าปริมาณการแสดงออกของ IL-6 เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคนิ่วในไตที่เกิดจากภาวะออกซาลาเลทสูง โดยผ่านกลไก AMPK/Nrf2²⁹ การศึกษาครั้งนี้พบการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 ลดลงในเนื้อเยื่อไตของหนูเมื่อได้รับสารสกัดข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากข้าวเหนียวมีสีช่วยบรรเทาการอักเสบในเนื้อเยื่อไตของหนูที่ได้รับเอทิลีนไกลคอล โดยอาจเกิดจากการสะสมของสารออกซาลาเลท ทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระที่ทำให้เซลล์เยื่อบุท่อหลอดไตได้รับบาดเจ็บและปล่อยสารอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งสารอนุมูลอิสระดังกล่าวส่งเสริมให้เกิดการรวมตัวเป็นผลึกนิ่วตกตะกอนและเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดก้อนนิ่ว โดยผลึกนิ่วจะกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุท่อหลอดไตหลั่งตัวกลางในการอักเสบ เช่น MCP-1 และ IL-6 มากขึ้น และกระตุ้นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับ

การอักเสบ เช่น นิวโทรฟิล โมโนไซต์ และแมคโครเฟจให้เข้ามาทำจัดผลึกนิ่วมากขึ้น ส่งผลให้เนื้อเยื่อไตเสียหายและเกิดการอักเสบเพิ่มขึ้น²⁰ การได้รับสารสกัดจะช่วยลดระดับของอนุมูลอิสระ ส่งผลให้การบาดเจ็บของเซลล์เยื่อบุท่อหลอดไตลดลง²⁷ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัดข้าวเหนียวมีสีเช่น phenolic compound และ anthocyanin อาจมีบทบาทสำคัญในการลดการสะสมของผลึกนิ่วในท่อหลอดไต และลดการผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น MCP-1, และ IL-6 ส่งผลให้ลดการอักเสบและพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไตได้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาการเกิดพยาธิสภาพของนิ่วในไตในระยะยาว โดยปรับเพิ่มความเข้มข้นของสารเอทิลีนไกลคอล และระยะเวลาการให้สารนานขึ้นรวมถึงการปรับเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาการให้สารสกัดนานขึ้น แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบของสารสำคัญในข้าวเหนียวรวมถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการเกิดโรคนิ่วในไตในอนาคต

สรุป

สารสกัดจากข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวสังข์หยดปริมาณ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม มีผลปรับปรุงค่าความเป็นกรด-ด่าง และลดการเกิดผลึกนิ่วในปัสสาวะ ลดการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และป้องกันการเกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อไตหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเอทิลีนไกลคอล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สัญญาเลขที่ AHS2/2562

References

1. Stamatelou K, Goldfarb DS. Epidemiology of kidney stones. *Healthcare*. 2023; 11: 424.
2. Liu Y, Chen Y, Liao B, Luo D, Wang K, Li H, Zeng G. Epidemiology of urolithiasis in Asia. *Asian J of Urol*. 2018; 5: 205-14.
3. Peerapen P, Thongboonkerd V. Kidney stone prevention. *Advances in Nutrition*. 2023; 14: 555.
4. Ratkalkar VN, Kleinman JG. Mechanisms of stone formation. *Clin Rev Bone Miner Metab*. 2011; 9: 187-97.
5. Sun Y, Sun H, Zhang Z, Tan F, Qu Y, Lei X, et al. New insight into oxidative stress and inflammatory responses to kidney stones: Potential therapeutic strategies with natural active ingredients. *Biomed Pharmacother*. 2024; 179: 117333.
6. Wigner P, Grębowski R, Bijak M, Szemraj J, Saluk-Bijak J. The molecular aspect of nephrolithiasis development. *Cells*. 2021; 10: 1926.
7. Ruggerenti P, Caruso MR, Cortinovis M, Perna A, Peracchi T, Giuliano GA, et al. Fresh lemon juice supplementation for the prevention of recurrent stones in calcium oxalate nephrolithiasis: A pragmatic, prospective, randomised, open, blinded endpoint (PROBE) trial. *E Clinical Medicine*. 2021; 43: 101227.
8. Choudhary SS, Panigrahi PN, Dhara SK, Sahoo M, Dan A, Thakur N, et al. *Cucumis callosus* (Rottl.) Cogn. fruit extract ameliorates calcium oxalate urolithiasis in ethylene glycol induced hyperoxaluric Rat model. *Heliyon*. 2023; 9: e14043.
9. Su M, Sang S, Liang T, Li H. PPARG: A novel target for yellow tea in kidney stone prevention. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 11955.
10. Hefer M, Huskic IM, Petrovic A, Raguz-Lucic N, Kizivat T, Gjoni D, et al. A mechanistic insight into beneficial effects of polyphenols in the prevention and treatment of nephrolithiasis: evidence from recent in vitro studies. *Crystals*. 2023; 13: 1070.
11. Hong SY, Qin BL. The protective role of dietary polyphenols in urolithiasis: insights into antioxidant effects and mechanisms of action. *Nutrients*. 2023; 15: 3753.
12. Goufo P, Trindade H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Sci Nutr*. 2014; 2: 75–104.
13. Khawsuk W, Semangeon T, Nuurai P, Meepan W, Wingworn K. Antioxidant activity of unpolished Riceberry rice (*Oryza sativa*) and the inhibition of calcium oxalate crystal growth and aggregation. *Chula Med J*. 2018; 62: 419-34.

14. Khawsuk W, Semangoen T, Nuurai P. Effects of the local purple sticky rice bran extract on antioxidant activity and calcium oxalate crystal formation and aggregation in vitro. *J Health Sci Altern Med*. 2022; 4: 1-7.
15. Khawsuk W, Oupkaew P, Semangeon T, Heophukaew K, Khamsawat C, Nuurai P. in vitro effect of lipophilic and hydrophilic rice strain extracts in Sa kaeo province on the prevention of calcium oxalate crystal formation and aggregation. *J Health Sci Altern Med*. 2023; 5: 96–103.
16. Semangoen T, Khawsuk W, Simanon N, Soiphet T, Homjai W, Boonchaleaw B, et al. Antioxidant effect of unpolished Sung-Yod sticky rice prevent ethylene glycol-induced renal pathology in rats. *Chula Med J*. 2018; 62: 451-64.
17. Pareta SK, Patra KC, Mazumder PM, Sasmal D. Aqueous extract of *Boerhaavia diffusa* root ameliorates ethylene glycol-induced hyperoxaluric oxidative stress and renal injury in rat kidney. *Pharm Biol*. 2011; 49: 1224-33.
18. Baidoo N, Sanger GJ, Belai A. The vulnerability of the human taenia coli to alterations in total collagen within the colon of the elderly. *Acta histochem*. 2022; 124: 151958.
19. Chen SJ, Chiu KY, Chen HY, Lin WY, Chen YH, Chen WC. Animal models for studying stone disease. *Diagnostics (Basel)*. 2020; 10: 490.
20. Boonla C, Tosukhowong P, Tungsanga K. Kidney Stone Disease: From molecular lithogenesis to stone prevention [Internet]. 2007. [accessed March 10, 2025]. Available from: <http://www.bmbmd.research.chula.ac.th/pdf/Kidney%20Stone-%20From%20Molecular%20Lithogenesis%20to%20Stone%20Prevention.pdf>.
21. UCLA Division of Laboratory Animal Medicine. Serum chemistry reference ranges for the rat. In UCLA DLAM | Pathology & laboratory medicine services [Internet]. 2013. [accessed March 10, 2025]. Available from: https://labs.dgsom.ucla.edu/dlam/files/view/docs/diagnostic-lab_services/private/serum_chemistry_reference_ranges_rat.pdf.
22. William S, Riaz M, Ahmad R, Akhtar MF, Anwar F. Antiurolithic activity of *Zaleya pentandra* (L.) C Jeffrey in ethylene glycol-induced calcium oxalate crystal rat model; A scientific validation of traditional use for kidney stone prevention. *J Ethnopharmacol*. 2025; 337: 118905.
23. Randhawa R, Bhardwaj R, Kaur T. Amelioration of hyperoxaluria-induced kidney dysfunction by chemical chaperone 4-phenylbutyric acid. *Urolithiasis*. 2019; 47: 171-9.

-
24. Marhoume FZ, Aboufatima R, Zaid Y, Limami Y, Duval RE, Laadraoui J, et al. Antioxidant and polyphenol-rich ethanolic extract of *Rubia tinctorum* L. prevents urolithiasis in an ethylene glycol experimental model in rats. *Molecules*. 2021; 26: 1005.
25. Wahid RM, Hassan NH, Samy W, Faragallah EM, El-Malkey NF, Talaat A, et al. The protective effect of *allium cepa* against ethylene glycol-induced kidney stones in rats. *Heliyon*. 2023; 9: e21221.
26. Deshmane S, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An overview. *J Interferon Cytokine Res*. 2009; 29: 313-26.
27. Yang X, Yang T, Li J, Yang R, Qi S, Zhao Y, et al. Metformin prevents nephrolithiasis formation by inhibiting the expression of OPN and MCP-1 in vitro and in vivo. *Int J Mol Med*. 2019; 43: 1611-22.
28. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014; 6: a016295.
29. Tian H, Liang Q, Shi Z, Zhao H. *Hyperoside* ameliorates renal tubular oxidative damage and calcium oxalate deposition in rats through AMPK/Nrf2 Signaling Axis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2023; 2023: 5445548.