การศึกษาความเป็นพิษของยาแก้กษัยลิ้นกระบือ

Toxicity study on a Thai traditional medicine:

Ya-Kae-Ka-Sai-Lin-Kra-Bue

ทรงพล ชีวะพัฒน์ เอมมนัส อัตตวิชญ์
Songpol Chivapat Aimmanas Attawish
ปราณี ชวลิตธำรง สมเกียรติ ปัญญามัง
Pranee Chavalittumrog Somkiat Punyamong
ทรงพล ผดุงพัฒน์ รุ่งทิพย์ เจือตี๋
Songpol Phadungpat Rungtip Jweatee

บทคัดย่อ

ยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นยาแผนโบราณหนึ่งในสี่ตำรับที่ใช้รักษาโรคกษัยลิ้นกระบือ ซึ่งโรคนี้อาจเกิดจาก ตับอักเสบ ตับแข็ง มะเร็งตับ หรือถุงน้ำดีอักเสบ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานข้อมูลด้านความปลอดภัยของยาตำรับนี้ สถาบันวิจัยสมุนไพรโดยความร่วมมือของสถาบันการแพทย์แผนไทยได้ศึกษาพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดด้วยน้ำของยาแก้กษัยลิ้นกระบือในหนูแรทวิสตาร์ โดยวิธีป้อนทางปาก พบว่า ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่ทำให้หนูตายร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่ามากกว่า 8.0 ก./กก. ซึ่งเป็นขนาดที่ไม่ทำให้เกิดอาการพิษเฉียบพลันและความผิดปกติของอวัยวะภายใน และจากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังในหนู 5 กลุ่มๆละ 30 ตัว (เพศละ 15 ตัว)ประกอบด้วยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำ กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 0.5, 2.5 และ 5.0 ก./กก./วัน และกลุ่มศึกษา Recovery ได้รับสารสกัดขนาด 5.0 ก./กก./วันแล้วหยุดให้สารสกัด 2 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน สุขภาพของหนูทดลอง หนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดขนาด 2.5 และ 5.0 ก./กก.มีเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลสูงกว่า

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญแต่คงอยู่ในช่วงค่าปกติ หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 5.0 ก./กก. เพศผู้มีระดับโปแตสเซียมต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) แต่ยังอยู่ในช่วงค่าปกติ ส่วนหนูเพศเมียมีระดับโซเดียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญแต่จัดเป็นการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและ อยู่ในช่วงค่าปกติเช่นกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีคลินิก ผลการตรวจอวัยวะทางมหพยาธิวิทยาและเนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติอันเนื่องมาจากสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ

ABSTRACT

Ya-Kae Ka-Sai-Lin-Kra-Bue is one of the fourth Thai traditional recipes used for the treatment of Ka-Sai-Lin-Kra-Bue disease which may be caused by hepatitis, cirrhosis, hepatocellular carcinoma or cholecystitis. However, safety data of this traditional recipe had not yet been reported. Medicinal Plant Research Institute in cooperation with Institute of Thai Traditional Medicine investigated an acute and a ninety-day subchronic toxicity study of Ya-Kae Ka-Sai-Lin-Kra-Bue water extract by oral adminstration in Wistar rats. It was found that the extract had LD_{50} >8.0 g/kg and this dose did not cause any acute toxic sign and abnormality of internal organs. Subchronic toxicity study of the extract was undertaken in six groups of rats (each of 15 male and 15 female) consisting of a water control group, four treatment groups receiving the extract at the doses of 0.5, 2.5, 5.0 g/kg/day and a high recovery group receiving 5.0 g/kg/day for 90 day and followed by a 14-day of extract discontinuation respectively. The extract did not affect average body weight, food consumption, health and general appearance of the animals. The significantly higher percentages of neutrophil in male rats treated with 2.5 and 5.0 g/kg/day of extract were within normal range. Male rats receiving 5.0 g/kg/day extract had significantly lower serum potassium levels than their control group ($p<0.05$); however it was within normal range. Female rats receiving the highest dose of the extract had significantly higher sodium level but this change may be trivial and was within normal range. Taken together, the extract did not cause any abnormality in hematological and clinical chemistry values. Gross pathology and histopathology of internal organs did not reveal any abnomality induced by the extract.

Keywords: Ya-Kae-Ka-Sai-Lin-Kra-Bue, acute and chronic toxicity, Thai traditional recipe

บทนำ

กษัย เป็นโรคที่ทำให้มีอาการแห่งความเสื่อมโทรม ซูบผอม สุขภาพไม่สมบูรณ์ เนื่องจากเป็นโรคหรือไข้อย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งทำลายสุขภาพให้เสื่อมโทรมลงเป็นเวลาต่อเนื่องกันโดยมิได้รับการบำบัดรักษาหรือรักษาไม่ถูกโรคหรือไข้โดยตรง โรคกษัยจึงรวมกลุ่มโรคและกลุ่มอาการผิดปกติหลายๆอย่างไว้ด้วยกัน ซึ่งแต่ละอย่างมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ก็ได้ แต่มีกลุ่มอาการร่วมกันคือ ผอมแห้ง โลหิตจาง ผิวหนังซีดเหลือง ปวดเมื่อยตามร่างกายและกล้ามเนื้อ รู้สึกแน่นและหนักตัว กินไม่ได้นอนไม่หลับ บางครั้งไออาจมีเลือดปน ปัสสาวะเหลืองหรือกระปริบกระปรอย ไม่มีแรง ชาปลายมือปลายเท้า เหงื่อออกตามฝ่ามือฝ่าเท้า หรือมีเหงื่อออกตอนกลางคืน ยอกเสียวตามอกและชายโครง บางรายผิวหนังตกกระ กล้ามเนื้อลีบ สะท้านร้อนสะท้านหนาวเป็นคราวๆ และท้องผูกเป็นประจำ กษัยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กษัยอันบังเกิดแต่กองสมุฏฐานธาตุ 8 จำพวก และกษัยอันบังเกิดเป็นอุปปาติกาโรค 18 จำพวก ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นเองตามอิริยาบทโดยหาสาเหตุไม่ได้ เช่น กษัยล้น กษัยทัน กษัยราก กษัยเหล็ก กษัยปู กษัยปลาไหล และ กษัยลิ้นกระบือ เป็นต้น [1]

กษัยลิ้นกระบือเกิดเมื่อมีโลหิตลิ่มติดอยู่ที่ชายตับเป็นตัวแข็งยาวออกมาจากชายโครงข้างขวา มีสัณฐานดังลิ้นกระบือ มีอาการครั่นตัว ไข้จับเป็นเวลา จุก แน่นหน้าอก บริโภคอาหารมิได้ นอนไม่หลับเป็นประจำ ร่างกายซูบผอม เมื่อนานเข้าตัวกษัยแตกออกเป็นโลหิตและน้ำเหลือง ซึมไปลำไส้ ทำให้ไส้พองท้องใหญ่ จึงได้ชื่อว่า มานกษัย เป็นโรคที่รักษาไม่หาย ยากที่จะเยียวยา การรักษานั้นให้แก้กษัยตั้งแต่ยังอ่อนอยู่ซึ่งอาจหายหรือไม่หายก็ได้ ยาที่ใช้ในการรักษาหรือแก้กษัยลิ้นกระบือตามแผนโบราณนั้น มี 4 ขนาน คือ ยาเนาวหอย ยารุกษัยลิ้นกระบือ ยาแก้กษัยลิ้นกระบือ และยาดองแก้กษัยลิ้นกระบือบั้นปลาย[1]

ยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่มีการบวมนั้นมีสรรพคุณถ่ายน้ำเหลืองและโลหิตเสีย ขับปัสสาวะ ช่วยระบายอ่อนๆ[1] ตำรับยานี้ประกอบด้วย พญามือเหล็ก แก่นขี้เหล็ก ข้าวเย็นเหนือ อย่างละ 10 ตำลึง รงทอง (*Garcinia hanburyi* Hook f.) สารส้ม และดินประสิวขาว อย่างละ 1 ตำลึง [2] โดยพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสรรพคุณตามตำรายาแผนโบราณและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพอสรุปได้ดังนี้ พญามือเหล็ก (*Strychnos ignatii* Berg.) มีสรรพคุณลดไข้ ดับพิษกษัยโลหิต เมล็ดและเปลือกปริมาณน้อยใช้เป็นยาแก้อหิวาตกโรคและเป็นยาบำรุง กระตุ้นไขสันหลัง แก้อัมพาตบางประเภท [1,3] นอกจากนี้ยังใช้บำรุงเลือดและสารอัลคาลอยด์ Brucineในพญามือเหล็กใช้เป็นยาชาเฉพาะที่และยาคลายกล้ามเนื้อ[4, 5] ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lamk.) แก่นมีสรรพคุณแก้กามโรค แก้ไฟธาตุพิการ ทำให้ตัวเย็น แก้แสบตา แก้เส้น แก้กษัย แก้พยาธิในท้องให้ตก เป็นยาระบาย [1] ฟอกล้างพิษทั้งปวง และแก้เหน็บชา[6] ส่วนใบขี้เหล็กนั้นมีรายงานว่าอาจยับยั้งการเกิดเนื้องอกที่ตับในหนูขาวที่เหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง AFB_1 เมื่อกินอาหารผสมใบขี้เหล็ก 2 %[7] หัวข้าวเย็นเหนือ (*Smilax corbularia* Kunth) มีสรรพคุณแก้พยาธิต่างๆ แก้กามโรค แก้ร้อนใน กระหายน้ำ แก้พุพอง ผื่นคัน ทำให้ผียุบแห้ง แก้น้ำเหลืองเสีย มะเร็งคุดทะราด และแก้ประดง [1, 8] นอกจากนี้มีการใช้เป็นสมุนไพรเดี่ยวในการรักษาโรคมะเร็งด้วย [9]

ยางของรงทอง (*Garcinia hanburyi* Hook f.) มีสรรพคุณ ถ่ายลม ถ่ายน้ำเหลือง ถ่ายเสมหะและโลหิต เป็นยาถ่ายอย่างแรง ถ่ายโรคท้องมาน แก้โลหิตคั่งในสมอง ลดความดันเลือดได้อย่างรวดเร็ว ป้องกันเส้นเลือดในสมองแตก [1,10]

จากการประมวลข้อมูลที่รวบรวมจากหมอพื้นบ้านและตำราแพทย์แผนไทยแล้วเปรียบเทียบกับการวินิจฉัยตามการแพทย์ปัจจุบันพอสรุปได้ว่า กษัยลิ้นกระบือมีอาการที่สำคัญ คือ ตับโตแลบออกมาชายโครงเหมือนลิ้นกระบือ มีไข้ เพราะมีอาการถุงน้ำดีอักเสบ ร่างกายซูบผอมแห้ง ต่อมาเกิดตับโต แล้วแตกมีโลหิตซึม ท้องใหญ่ ซึ่งน่าจะเป็นอาการของมะเร็งในตับหรือตับแข็ง หรือโรคอื่นๆ ทำให้ตับวาย ระยะสุดท้ายมีเลือดออกเพราะระบบแข็งตัวของเลือดเสียหาย เลือดไหลลามไปที่ท้อง รักษาไม่ได้ น่าจะหมายถึงมะเร็ง [1] ดังนั้นยาตำรับแก้กษัยลิ้นกระบือนี้อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้สำหรับผู้ป่วยโรคตับหรือมะเร็งตับ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องคำนึงถึงความเป็นพิษหรืออาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ศึกษาพิษทั้งระยะเฉียบพลันและถึงเรื้อรังของยาแก้กษัยลิ้นกระบือในสัตว์ทดลอง เพื่อให้ทราบข้อมูลด้านพิษวิทยาที่จะช่วยเป็นแนวทางการนำมาใช้ทดลองทางคลินิกหรือสนับสนุนให้ใช้ยาตำรับนี้ได้อย่างปลอดภัยต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ยาแก้กษัยลิ้นกระบือและการเตรียมสารสกัด

วัตถุดิบสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบของยาแก้กษัยลิ้นกระบือ จัดหาและตรวจสอบโดยสถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก เตรียมสารสกัดด้วยน้ำของยาแก้กษัยลิ้นกระบือโดยชั่งส่วนประกอบต่างๆตามสูตรตำรับยาที่ได้รับจากสถาบันการแพทย์แผนไทยในอัตราส่วนดังนี้ พญามือเหล็ก แก่นขี้เหล็ก ข้าวเย็น อย่างละ 10 ตำลึง สารส้ม ดินประสิว อย่างละ 1 ตำลึง และรงทอง 1 บาท นำส่วนประกอบทั้งหมดผสมกันแล้วต้มสกัด (reflux) ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งๆ ละ 2 ชั่วโมง ระเหยให้แห้งภายใต้เครื่องระเหยสุญญากาศ พบว่า ได้สารสกัดด้วยน้ำของยาแก้กษัยลิ้นกระบือร้อยละ 29.95 โดยน้ำหนักสารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาลไหม้ นำสารสกัดมาละลายด้วยน้ำกลั่นปรับให้มีความเข้มข้นต่างๆตามต้องการเพื่อใช้ทดสอบพิษต่อไป

สัตว์ทดลอง

หนูแรทพันธุ์วิสตาร์ น้ำหนักตัวระหว่าง160-180 กรัม จำนวน 170 ตัว ซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงไว้ในห้องสัตว์ทดลองของศูนย์สัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ควบคุมอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25 $\pm$1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์ จำกัด และน้ำประปาที่ผ่านการกรองไม่จำกัดปริมาณ

การศึกษาพิษเฉียบพลัน

สุ่มหนูแรทจำนวน 20 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มๆละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว)โดย กลุ่มทดลองได้รับสารละลายของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่มีความเข้มข้น 2:5 (กรัม:มิลลิลิตร)โดยวิธีกรอกทางปาก 2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 6 ชั่วโมง ส่วนหนูกลุ่มควบคุมได้รับน้ำกลั่นทางปากปริมาณ 10 มล./กก. 2 ครั้ง จากนั้นสังเกตอาการพิษ อย่างใกล้ชิดภายหลังได้รับสารสกัด 5 ชั่วโมงแรก และสังเกตทุกวัน พร้อมบันทึกจำนวนหนูตาย เมื่อครบกำหนด 14 วัน ดมสลบหนูด้วยอีเทอร์แล้วผ่าซากชันสูตรตรวจอวัยวะภายในเพื่อตรวจหาความผิดปกติทางมหพยาธิวิทยา (gross lesions) และนำชิ้นเนื้ออวัยวะไปเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อตรวจหาความผิดปกติโดยพยาธิสัตวแพทย์

การศึกษาพิษเรื้อรัง

แบ่งหนูแรทจำนวน 150 ตัวโดยวิธีสุ่ม ออกเป็น 5 กลุ่มๆละ 30 ตัว (เพศผู้ 15 ตัวและเพศเมีย 15 ตัว) ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับน้ำกลั่นทางปากขนาด 10 มล./กก. กลุ่มที่ 2 ถึง 4 เป็นกลุ่มทดลองได้รับสารสกัดด้วยน้ำของยาแก้กษัยลิ้นกระบือทางปาก ในขนาด 0.5, 2.5 และ 5.0 ก./กก/วัน ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 90 วัน และกลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มศึกษา recovery ได้รับสารสกัด 5.0 ก./กก./วันจนครบ 90 วันแล้วหยุดให้สารสกัดเป็นเวลา 14 วัน ในระหว่างทดลองบันทึกน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่หนูกินทุกสัปดาห์ สังเกตสุขภาพและอาการแสดงออกของหนูอย่างใกล้ชิดทุกวัน ถ้ามีหนูตายหรือใกล้ตาย (moribund) จะผ่าซากชันสูตรทันที เมื่อหนูได้รับยาครบกำหนด 90 วัน อดอาหารหนูเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นดมสลบหนูด้วยอีเธอร์ เปิดผ่าช่องท้อง เจาะเลือดจาก abdominal aorta นำไปหาค่าทางโลหิตวิทยาโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ รุ่น Cell-Dyn®3500 (และแยกซีรั่มเพื่อตรวจค่าเคมีคลินิกโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hitachi®รุ่น 912 จากนั้นผ่าซากชันสูตรเพื่อตรวจหาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางมหพยาธิวิทยา (gross lesions) ของอวัยวะต่างๆ ดังนี้ สมอง หัวใจ ปอด ตับ ไต หลอดลม หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ม้าม ลำไส้ ตับอ่อน อัณฑะ ต่อมลูกหมาก seminal vesicle รังไข่ มดลูก ต่อมน้ำนม ต่อมน้ำลาย ต่อมน้ำตา ต่อมไทรอยด์ และ ต่อมหมวกไต ชั่งน้ำหนักอวัยวะภายในที่ชั่งได้ด้วยเครื่องชั่ง Mettler Toledo ® รุ่น PB 153 แล้วคำนวณเป็นค่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ (ก./น้ำหนักตัว 1000 ก.) เก็บอวัยวะต่างๆลงในน้ำยาบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10% แล้วนำชิ้นเนื้ออวัยวะไปเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อทางพยาธิวิทยาที่มีความหนา 4 ไมครอน ย้อมด้วยสี H&E เพื่อตรวจหาความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างโดยพยาธิสัตวแพทย์

การวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก ใช้ one-way ANOVA แล้วเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Bonferroni test โดยโปรแกรม SPSS/PC version 9.0 ส่วนอุบัติการณ์ของการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา ใช้ Fisher exact ที่ $p< 0.05$

ผลการทดลอง

การศึกษาพิษเฉียบพลัน

หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 8.0 ก./กก. ซึ่งเป็นขนาดสูงสุดที่สามารถให้ได้ใน 1วัน ไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆและหนูไม่ตายเมื่อครบกำหนด 14 วัน จากการผ่าซากชันสูตรไม่พบความผิดปกติทางมหพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในต่างๆ และผลการตรวจชิ้นเนื้ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบความผิดปกติใดๆ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ดังนั้นขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่ทำให้หนูตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ควรมีค่ามากกว่า 8.0 ก./กก.

การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรัง

ผลของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือต่อน้ำหนักตัว การกินอาหาร และอาการทั่วไป

หนูทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นก่อนได้รับสารสกัด (สัปดาห์ที่ 0)ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมยกเว้นหนูเพศเมียกลุ่มที่กำหนดให้ได้รับสารสกัด 5.0 ก./กก./วัน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลจากการสุ่มแบ่งกลุ่ม ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (สัปดาห์ที่ 13) หนูทั้งสองเพศกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยตลอดการทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม(ไม่ได้แสดงผล)น้ำหนักตัวสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์สุดท้ายแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 จากการวัดปริมาณอาหารที่หนูกินพบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือทุกกลุ่มมีการกินอาหารไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในทุกสัปดาห์(ไม่ได้แสดงผล) ในระหว่างการทดลองหนูทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ มีสุขภาพพฤติกรรมและอาการที่แสดงออกเป็นปกติไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม

ผลของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือต่อน้ำหนักอวัยวะต่างๆ

ผลการผ่าซากชันสูตรตรวจหาการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติทางมหพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือนั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือทุกกลุ่มมีน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะต่างๆไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดขนาด 5.0 ก./กก./วัน มีค่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของกระเพาะอาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1 และ 2)

ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือมีค่าพารามิเตอร์ต่างๆทางโลหิตวิทยาไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นหนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 2.5 และ 5.0 ก./กก./วัน มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 1 น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ (กรัม/น้ำหนักตัว 1000 กรัม) และน้ำหนักตัว (กรัม) ของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ เป็นเวลา 3 เดือน

อวัยวะ/น้ำหนักตัว	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
สมอง	4.34±0.34	4.42±0.37	4.41±0.43	4.39±0.48	4.14±0.37
หัวใจ	2.70±0.18	2.61±0.19	2.60±0.15	2.77±0.35	2.58±0.25
ปอด	3.14±0.22	3.18±0.29	3.09±0.34	3.25±0.25	2.93±0.27
กระเพาะอาหาร	3.81±0.39	3.70±0.31	3.97±0.33	4.17±0.32*	3.81±0.29
ตับ	26.14±1.98	26.11±1.87	26.65±2.41	26.79±3.15	26.22±1.54
ไตซ้าย	2.43±0.20	2.43±0.24	2.50±0.18	2.55±0.21	2.39±0.17
ไตขวา	2.54±0.25	2.56±0.19	2.59±0.20	2.65±0.25	2.49±0.15
ม้าม	1.72±0.20	1.69±0.16	1.74±0.16	1.83±0.21	1.75±0.26
กระเพาะปัสสาวะ	0.66±0.18	0.65±0.14	0.60±0.09	0.69±0.18	0.57±0.15
อัณฑะซ้าย	6.02±0.54	6.43±0.71	6.46±1.24	6.41±0.94	5.85±0.51
อัณฑะขวา	6.10±0.59	6.43±0.75	6.46±1.12	6.29±0.94	5.65±0.60
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.08±0.01	0.06±0.01
ต่อมหมวกไตขวา	0.07±0.01	0.06±0.09	0.07±0.10	0.07±0.01	0.06±0.01
น้ำหนักตัวเริ่มต้น	204.79±10.40	203.29±11.20	205.86±9.24	202.59±11.12	203.82±8.38
น้ำหนักตัวสัปดาห์ที่ 13	470.59±46.23	476.95±47.21	470.45±62.78	469.45±53.46	476.47±49.96

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

5.0-R = high recovery group

ตารางที่ 2 น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ (กรัม/ น้ำหนักตัว 1000 กรัม) และน้ำหนักตัว (กรัม) ของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็น เวลา 3 เดือน

อวัยวะ/น้ำหนักตัว	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
สมอง	6.90±0.52	7.08±0.36	7.85±2.04	8.77±5.97	7.09±0.52
หัวใจ	3.01±0.25	3.18±0.26	3.33±0.85	3.03±0.19	3.04±0.25
ปอด	4.03±0.29	4.05±0.27	4.53±1.29	4.21±0.26	4.19±0.28
กระเพาะอาหาร	4.93±0.35	5.04±0.45	5.49±1.45	5.22±0.47	5.28±0.53
ตับ	25.50±2.50	25.06±2.00	27.49±6.67	26.97±1.71	26.74±2.26
ไตซ้าย	2.67±0.21	2.70±0.20	2.94±0.69	2.74±0.19	2.65±0.16
ไตขวา	2.84±0.27	2.84±0.24	3.08±0.66	2.86±0.24	2.84±0.24
ม้าม	2.18±0.33	2.15±0.24	2.42±0.54	2.22±0.33	2.17±0.33
กระเพาะปัสสาวะ	0.30±0.07	0.30±0.03	0.32±0.08	0.30±0.04	0.29±0.06
รังไข่ซ้าย	0.25±0.08	0.23±0.05	0.26±0.07	0.24±0.05	0.22±0.05
รังไข่ขวา	0.22±0.05	0.22±0.06	0.25±0.07	0.22±0.05	0.21±0.04
มดลูก	2.37±0.88	2.46±0.67	2.72±1.25	2.36±0.59	2.44±0.64
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.14±0.03	0.15±0.02	0.16±0.04	0.15±0.02	0.14±0.02
ต่อมหมวกไตขวา	0.14±0.02	0.14±0.02	0.14±0.03	0.13±0.02	0.12±0.02
น้ำหนักตัวเริ่มต้น	175.53±8.84	171.46±7.17	170.72±9.95	166.35±5.84*	170.53±6.53
น้ำหนักตัวสัปดาห์ที่ 13	293.61±28.33	278.63±18.95	273.62±26.48	270.12±19.27	265.95±36.74

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.0-R=high recovery group

ตารางที่ 3 ค่าทางโลหิตวิทยาของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

พารามิเตอร์	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
Hematocrit (%)	48.28±2.56	48.22±2.08	47.69±1.23	47.14±1.81	47.07±1.43
Hemoglobin (g/dl)	15.86±0.67	15.83±0.51	15.72±0.36	15.48±0.51	15.43±0.46
RBC ($x10^6$cells/μL)	9.15±0.56	9.01±0.45	8.96±0.27	8.78±0.44	8.89±0.28
MCV(fl/red cell)	52.80±1.41	53.88±1.56	53.23±1.40	53.74±1.83	52.24±2.63
MCH (pg/red cell)	17.37±0.60	17.60±0.50	17.56±0.40	17.65±0.59	17.37±0.44
MCHC (g/dl RBC)	32.88±0.45	32.86±0.53	32.98±0.41	32.88±0.36	32.80±0.31
WBC (K/μL)	3.88±0.69	3.72±0.80	4.01±0.77	4.18±0.64	3.95±0.56
Neutrophil (%)	18.12±4.33	19.57±4.91	22.96±3.76*	25.31±7.38*	21.50±6.91
Eosinophil (%)	1.43±0.54	1.63±0.57	1.65±0.68	1.20±0.42	1.08±0.36
Lymphocyte (%)	70.75±6.30	70.47±5.50	66.50±5.27	65.50±9.23	69.46±7.90
Monocyte (%)	6.99±3.88	6.10±2.69	6.78±3.31	5.94±1.97	6.21±1.69
Basophil (%)	2.71±1.75	2.22±1.21	2.11±1.10	2.04±1.20	2.09±0.70
Platelet (K/μL)	1030.03±149.15	1002.10±109.13	1028.77±111.09	1106.37±126.94	982.63±75.27

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.0-R=high recovery group

ตารางที่ 4 ค่าทางโลหิตวิทยาของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

พารามิเตอร์	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
Hematocrit (%)	46.87±2.39	46.25±1.84	46.29±2.19	45.94±1.26	46.41±1.36
Hemoglobin (g/dl)	15.34±0.70	15.23±0.52	15.20±0.58	15.13±0.33	15.07±0.37
RBC ($x10^6$cells/μL)	8.08±0.36	8.02±0.33	8.10±0.50	7.90±0.34	7.93±0.29
MCV(fl/red cell)	57.99±1.66	57.71±1.85	57.20±1.57	58.24±2.16	58.56±1.01
MCH (pg/red cell)	18.98±0.58	19.00±0.65	18.80±0.63	19.18±0.68	19.01±0.41
MCHC (g/dl RBC)	32.75±0.43	32.94±0.50	32.85±0.57	32.93±0.31	32.47±0.33
WBC (K/μL)	2.42±0.60	2.74±0.94	2.78±0.76	2.91±0.96	2.09±0.41
Neutrophil (%)	15.71±3.33	19.69±8.26	17.71±4.09	16.27±5.21	15.71±3.69
Eosinophil (%)	1.70±0.51	1.17±0.38	1.57±0.65	1.02±0.33	1.30±0.71
Lymphocyte (%)	76.20±4.91	71.70±8.21	71.99±4.39	75.61±7.14	76.46±5.10
Monocyte (%)	4.86±2.14	5.63±1.30	6.51±2.60	5.21±1.77	4.77±1.64
Basophil (%)	1.54±0.66	1.84±0.56	2.21±0.81	1.91±0.68	1.77±0.56
Platelet (K/μL)	934.37±56.86	986.53±82.57	1004.00±80.43	991.33±115.88	955.90±72.13

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5.0-R= high recovery group

ผลต่อค่าทางเคมีคลินิก

หนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 5.0 ก./กก./วันมีระดับโปแตสเซียมต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในเพศเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 5.0 ก./กก./วัน มีระดับโซเดียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 5 และ 6)

ตารางที่ 5 ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

พารามิเตอร์	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
ALT (U/L)	31.40±5.83	30.07±5.79	28.53±4.44	26.93±3.58	28.33±6.72
AST (U/L)	88.40±9.11	88.40±13.20	79.87±10.38	84.60±16.02	86.93±7.78
ALP (U/L)	62.53±6.05	63.87±8.65	62.40±12.12	65.33±12.61	63.07±14.12
BUN (mg /dl)	19.13±1.54	19.68±3.00	19.31±3.28	18.81±2.89	18.83±2.54
Creatinine (mg/dl)	0.76±0.05	0.75±0.07	0.70±0.05	0.73±0.08	0.73±0.05
Total protein (g/dl)	6.68±0.19	6.67±0.20	6.71±0.29	6.63±0.37	6.61±0.23
Albumin (g/dl)	4.37±0.11	4.40±0.12	4.42±0.16	4.40±0.22	4.40±0.15
Bilirubin (mg/dl)	0.04±0.02	0.05±0.02	0.05±0.02	0.06±0.04	0.04±0.02
Glucose (mg/dl)	186.69±26.03	179.68±29.06	186.87±30.86	178.55±20.44	187.51±22.16
Uric acid (mg/dl)	2.02±1.17	1.78±1.41	1.71±1.09	1.50±1.16	1.50±0.65
Triglyceride (mg/dl)	101.49±29.27	91.47±24.92	111.78±49.40	85.45±34.21	116.51±40.79
Cholesterol (mg/dl)	61.51±11.71	63.27±14.55	59.66±12.32	59.64±15.81	56.70±10.83
Sodium (mmol/l)	147.20±1.26	148.13±1.19	147.67±1.29	148.27±1.71	147.73±1.22
Potassium (mmol/l)	5.50±0.90	5.12±1.02	4.93±1.07	4.41±0.63*	4.80±1.12
Chloride (mmol/l)	107.60±1.92	108.53±1.36	108.00±1.13	108.07±1.62	108.47±0.99

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.0-R=high recovery group

ตารางที่ 6 ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

พารามิเตอร์	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
	0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
ALT (U/L)	24.80±10.86	22.47±5.34	20.47±4.12	21.02±4.02	22.41±5.96
AST (U/L)	80.20±11.76	81.80±10.54	78.27±7.81	73.93±8.88	76.87±13.29
ALP (U/L)	25.07±4.01	28.80±4.74	27.60±6.08	26.73±5.11	25.20±5.56
BUN (mg /dl)	20.90±3.61	20.09±3.82	23.99±3.47	21.89±4.08	24.93±4.91
Creatinine (mg/dl)	0.77±0.10	0.74±0.10	0.79±0.06	0.71±0.07	0.81±0.13
Total protein (g/dl)	6.79±0.39	6.68±0.18	6.85±0.25	6.89±0.22	6.90±0.26
Albumin (g/dl)	4.81±0.25	4.74±0.17	4.83±0.26	4.88±0.17	4.92±0.19
Bilirubin (mg/dl)	0.06±0.03	0.08±0.04	0.08±0.03	0.08±0.02	0.06±0.02
Glucose (mg/dl)	147.11±19.7	147.62±25.64	136.99±19.02	141.06±16.88	160.52±13.18
Uric acid (mg/dl)	1.21±0.93	0.99±0.30	1.01±0.50	0.82±0.31	1.35±0.52
Triglyceride (mg/dl)	44.97±10.17	43.45±9.81	40.77±12.36	46.81±16.25	44.69±9.11
Cholesterol (mg/dl)	61.33±15.26	57.97±13.98	53.63±10.04	59.50±18.15	65.85±16.63
Sodium (mmol/l)	146.67±1.18	147.13±1.13	147.20±1.01	147.93±1.03*	147.87±1.36
Potassium (mmol/l)	4.65±0.75	4.79±0.69	4.31±0.51	4.07±0.49	4.61±0.96
Chloride (mmol/l)	109.73±1.44	110.20±1.21	110.00±1.46	110.07±1.33	110.67±0.82

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.0-R=high recovery group

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงอวัยวะทางจุลพยาธิวิทยา

หนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 2.5 และ 5.0 ก./กก./วัน มีอุบัติการณ์ของการพบหย่อม lymphoid cells ที่ชั้น submucosa ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาที่อวัยวะอื่นๆ มีอุบัติการณ์และระดับความรุนแรงไม่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดที่ให้ (ตารางที่ 7 และ 8)

ตารางที่ 7 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

อวัยวะ	การเปลี่ยนแปลง	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
		0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
		n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
ปอด	Lymphoid proliferated peribronchioles	5/15	7/15	0/15*	1/15	4/15
ตับ	Centrilobular fatty degeneration (+1)	1/15	6/15	2/15	3/15	10/15
กระเพาะ	Focal gastritis	0/15	0/15	0/15	0/15	1/15
ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่	Lymphoid aggregated submucosa	8/15 1/15	2/15 0/15	0/15* 3/15	0/15* 2/15	1/15* 3/15
ต่อมหมวกไต	Cortical fatty degeneration	0/15	0/15	0/15	0/15	2/15
	Nodular cortical hyperplasia	0/15	0/15	0/15	0/15	1/15

ตัวเลขในตารางแสดงในรูปของ จำนวนหนูที่ตรวจพบพยาธิสภาพ / จำนวนหนูทั้งหมดในกลุ่ม

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $p<0.05$

+1 หมายถึง การเปลี่ยนแปลงระดับเล็กน้อย (mild degree)

5.0-R= high recovery group

วิจารณ์

จากการกรอกสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือแก่หนูแรทวิสตาร์ทางปากในขนาดสูงสุดซึ่งสามารถให้ได้ภายใน 1 วันคือ 8.0 ก./กก. หรือเทียบเท่ากับขนาดของตำรับยาแก้กษัยลิ้นกระบือ 26.71 ก./กก. พบว่า ไม่ทำให้เกิดอาการพิษเฉียบพลันและหนูไม่ตาย รวมทั้งไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติทางมหพยาธิวิทยาและจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ดังนั้นขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่ทำให้หนูแรทตายร้อยละ 50 (LD_{50} มีค่ามากกว่า 8.0 ก./กก./วัน และอาจจัดว่าอยู่ในกลุ่มสารที่ไม่เป็นพิษ (Practically Non-toxic) เมื่อใช้ Hodge and Sterner Scale [11]

การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือในหนูแรทวิสตาร์ โดยป้อนสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 0.5, 2.5, 5.0 ก./กก./วัน หรือเทียบเท่ากับขนาดของยาแก้กษัยลิ้น

ตารางที่ 8 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นเวลา 3 เดือน

อวัยวะ	การเปลี่ยนแปลง	ขนาดของสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือ (ก./กก./วัน)				
		0	0.5	2.5	5.0	5.0-R
		n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
ปอด	Lymphoid proliferated peribronchioles	13/15	11/15	7/15*	11/15	7/15*
ตับ	Centrilobular fatty degeneration (+1)	0/15	0/15	1/15	0/15	0/15
ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่	Lymphoid aggregated in submucosa	3/15 4/15	3/15 5/15	0/15 2/15	0/15 3/15	2/15 1/15
ต่อมน้ำลาย	Focal lymphocyte adenitis	0/15	0/15	1/15	0/15	0/15

ตัวเลขในตารางแสดงในรูปของ จำนวนหนูที่ตรวจพบพยาธิสภาพ / จำนวนหนูทั้งหมด

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $p<0.05$

+1 หมายถึง การเปลี่ยนแปลงพบเพียงเล็กน้อย (mild degree)

5.0-R=high recovery group

กระบือ 1.67, 8.35, 16.7 ก./กก./วัน ซึ่งคิดเป็น 1, 5 และ 10 เท่าของขนาดที่ใช้ในคนโดยประมาณ เนื่องจากสารละลายของสารสกัดขนาดสูงสุดที่ให้แก่หนูมีความความเข้มข้นค่อนข้างสูงอยู่แล้วจึงไม่สามารถให้สารสกัดได้มากกว่า 10 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน การรับประทานยาแก้กษัยลิ้นกระบือในคนจะเตรียมโดยชั่งตำรับยา 1 ชุดต้มเอาน้ำดื่ม นำยาชุดนี้กลับมาต้มทุกวันแล้วดื่มจนครบ 7 วันแล้วจึงรุ 1 วัน ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดหรือตัวยาสำคัญที่ได้รับจึงลดลงไปทุกวัน แต่หนูทดลองได้รับตัวยาสกัดที่เข้มข้นคงที่ทุกวันเป็นเวลาติดต่อกัน 90 วัน

ผลการทดลองพิษกึ่งเรื้อรังครั้งนี้บ่งชี้ว่า สารสกัดของยาแก้กษัยลิ้นกระบือไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่หนูกิน สุขภาพทั่วไปของหนูทดลอง อีกทั้งไม่ทำให้น้ำหนักอวัยวะต่างๆเปลี่ยนแปลงยกเว้นหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดขนาดสูงสุดมีน้ำหนักสัมพัทธ์ของกระเพาะอาหาร

มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาใดๆที่บ่งชี้ถึงความผิดปกติเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูกลุ่มนี้ การเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลอย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดขนาด 2.5 และ 5.0 ก./กก./วันนั้นจัดอยู่ในช่วงค่าปกติของหนูขาว[12] และเมื่อหยุดพบว่านิวโทรฟิลลดลงและไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัดเท่ากันไม่พบการเปลี่ยนแปลงนี้ อาจเนื่องจากเป็นการตอบสนองที่แตกต่างกันระหว่างเพศ (gender difference) ระดับโปแตสเซียมที่ลดลงในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดขนาด 2.5 ก./กก./วัน ยังคงอยู่ในช่วงค่าปกติของหนูแรทสายพันธุ์วิสตาร์[13] และไม่พบอาการผิดปกติใดๆที่บ่งชี้จำเพาะว่า มีภาวะโปแตสเซียมต่ำ ส่วนหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัดขนาด 5.0 ก./กก.มีระดับโซเดียมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจัดเป็นการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยไม่มีความสำคัญทางคลินิกและยังคงอยู่ในช่วงค่าปกติของหนูแรทสายพันธุ์วิสตาร์[12] อุบัติการณ์ของการรวมกลุ่ม lymphoid cells ที่ลำไส้เล็กในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 2.5 และ 5.0 ก./กก./วัน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญอาจเกิดจากสรรพคุณของสมุนไพรข้าวเย็นเหนือ (*Smilax corbularia* Kunth) เนื่องจากมีรายงานว่า น้ำคั้นจากพืชในสกุลเดียวกัน คือ *Smilax glaba* มีฤทธิ์ต้านอักเสบในหนูแรทที่เหนี่ยวนำให้เกิดข้อต่ออักเสบโดยลดการสร้าง IL-1,TNF และ Nitric oxideและทำให้ การเพิ่มจำนวนของ T-lymphocyte proliferation ลดลง [14] นอกจากนี้ *Smilax glaba* ยังมีสาร astilbin ทำให้ภาวะตับอักเสบลดลงในหนูถีบจักรโดยลดการผลิต TNF-alpha และมีผลลดการเกาะติดของ T- lymphocyte ต่อ extracellular matrices และ endothelial cells ได้ [15] ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในต่างๆ ช่วยบ่งชี้ว่า ยาแก้กษัยลิ้นกระบือไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติใดๆ ทางจุลพยาธิวิทยา

สรุป

การศึกษาพิษเฉียบพลันของยาแก้กษัยลิ้นกระบือโดยกรอกสารสกัดด้วยน้ำให้หนูแรทวิสตาร์ สรุปได้ว่า ขนาดของยาแก้กษัยลิ้นกระบือที่ทำให้หนูแรทตายร้อยละ 50 หรือ LD_{50} มีค่ามากกว่า 26.71 ก./กก. โดยไม่ทำให้เกิดอาการพิษและความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในและอาจจัดว่าไม่เป็นพิษ (Practically Non-toxic)

ผลการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดด้วยน้ำยาแก้กษัยลิ้นกระบือเป็นระยะเวลา 90 วัน ในหนูแรทวิสตาร์ 6 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมกรอกน้ำ กลุ่มทดลองได้รับสารสกัดขนาด 0.5, 2.5, 5.0 ก./กก./วัน ทางปาก หรือเทียบเท่ากับยาแก้กษัยลิ้นกระบือขนาด 1.67, 8.35,16.7 ก./กก./วัน ซึ่งคิดเป็น 1, 5 และ 10 เท่าของขนาดยาที่ใช้ในคน และกลุ่มทดลอง high recovery ที่ได้รับสารสกัด 5.0 ก./กก./วัน จนครบ 90 วันแล้วหยุดยา 2 สัปดาห์พบว่า ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว การกินอาหาร สุขภาพของหนู ไม่ทำให้เกิดอาการพิษสะสม ความผิดปกติต่อค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีคลินิก และไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า สารสกัด

ของยาแก้กษัยลิ้นกระบือไม่ทำให้เกิดพิษกึ่งเรื้อรังในหนูแรทวิสตาร์ อย่างไรก็ตามหาก ต้องรับประทานยาตำรับนี้นานต่อเนื่องควรเจาะเลือดเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าของอิเล็คโตรไลท์เป็นระยะ

กิติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกกระทรวงสาธารณสุข ที่จัดหาวัตถุดิบสมุนไพรและให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยพิษของยาแก้กษัยลิ้นกระบือ ประจำปีงบประมาณ 2546 และขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยตรวจสไลด์เนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยา นางสาวรุ่งตะวัน อัศวมั่นคง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ และนางสาวอัมพร ลออเงิน พนักงานห้องปฏิบัติการที่ช่วยดูแลและสังเกตอาการสัตว์ทดลอง รวมทั้งเจ้าหน้าที่กลุ่มสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขที่ช่วยเตรียมห้องสัตว์ทดลองและอุปกรณ์ที่จำเป็น

เอกสารอ้างอิง

1. เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ , ภัทราพร ตั้งสุขฤทัย, พรทิพย์ เติมวิเศษ และคณะ. กษัย ตามแนวทฤษฎีการแพทย์แผนไทย. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2544.
2. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. ตำรับยารักษาโรค ใน คัมภีร์เภสัชรัตนโกสินทร์. กรุงเทพฯ : บริษัท ศิลป์สยามบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์ จำกัด, 2545: 448.
3. พะยอม ตันติวัฒน์ . สมุนไพร. สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย, 2521 : 113-4.
4. Martindale. The Extra Pharmacopoeia 28th Ed. .318-19.
5. Bisset NG et al. . Muscle relaxant activity in Asian Strychnos species: Are-examination of two Western Malaysian dart poisons. Lloydia.1977 40(6),: 546-50.
6. สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย. งานนิทรรศการสมุนไพร ครั้งที่ 2 2519: 31-2.
7. อนงค์ เทพสุวรรณและคณะ. การศึกษาผลของใบขี้เหล็กในการยับยั้งการเกิดมะเร็งที่กระตุ้นด้วยสารเคมีในหนูขาว. รายงานประจำปี 2544 สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข: 96-7.
8. สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ สำนักวัดพระเชตุพนฯ. ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคหนึ่ง). พระนคร :โรงพิมพ์อำพลพิทยา 2507: 180-1.
9. Srisaard P and Tantipathananandh P. Usage and satisfaction of herbal and traditional medicines available in Muang District Chiang Mai Province. Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University. Available from: http:// 202.28.24.118/

cmuabstract/2k/CMURA2K 143.htm

10 สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ สำนักวัดพระเชตุพนฯ. ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคสาม) ว่าด้วยพฤกษชาติวัตถุธาตุ และสัตววัตถุนานาชาติ. กรุงเทพฯ : พิชัยการพิมพ์ 2516: 95-6.

11. Canadian Centre for occupational health and safety . What is an LD50 and LC50. 2005. Available from htpp://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/ld50.html 2005

12. Gad SC. The Rat: Pathology. In: Gad SC and Chengelis CP, ed. Animal Model in Toxicology. New York: Marcel Dekker 1992; 78-81,95.

13 . เยาวลักษณ์ พิมายนอก อังสนา โยธินารักษ์ และ พศวัต จรเกตุ. ค่าอ้างอิงทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกในเลือดหนูแรทสายพันธุ์ Wistar ว กรมวิทย พ 2546; 45(1): 27-36.

14. Jiang J and Xu Q. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glaba* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats . J Ethnopharmacol 2003; 85(1): 53-9.

15. Wang J, Zhao Y, Xu Q. Astilbin prevents concanavalin A-induced liver injury by reducing TNF-alpha production and T lymphocytes adhesion. J Pharm Pharmacol 2004; 56(4): 495-502.