

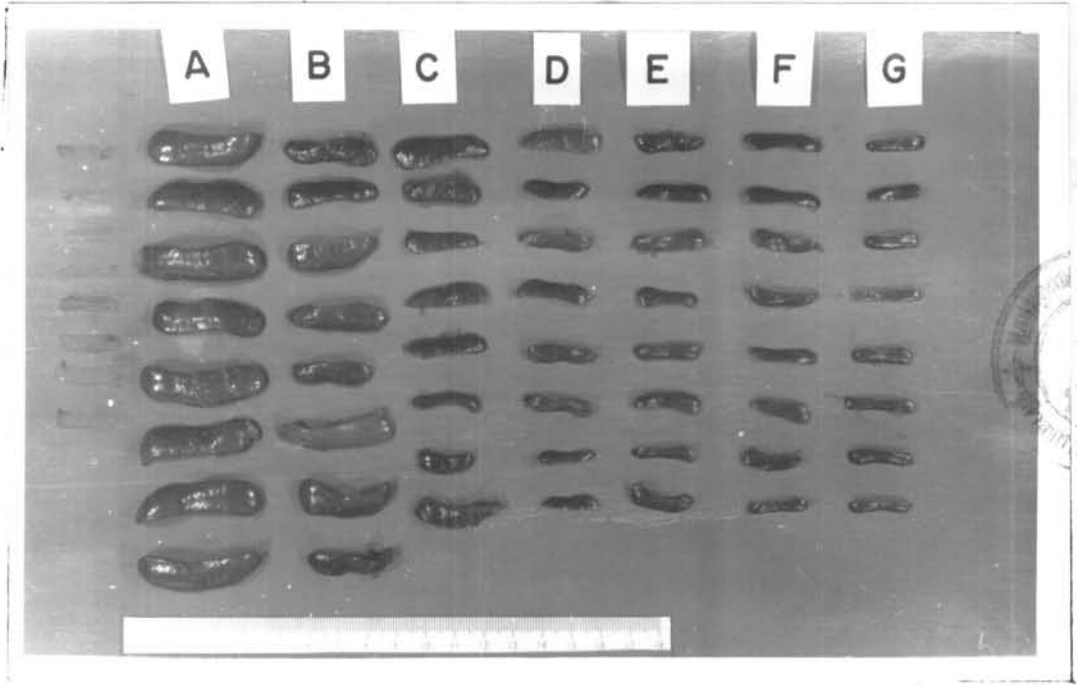


บทที่ ๔

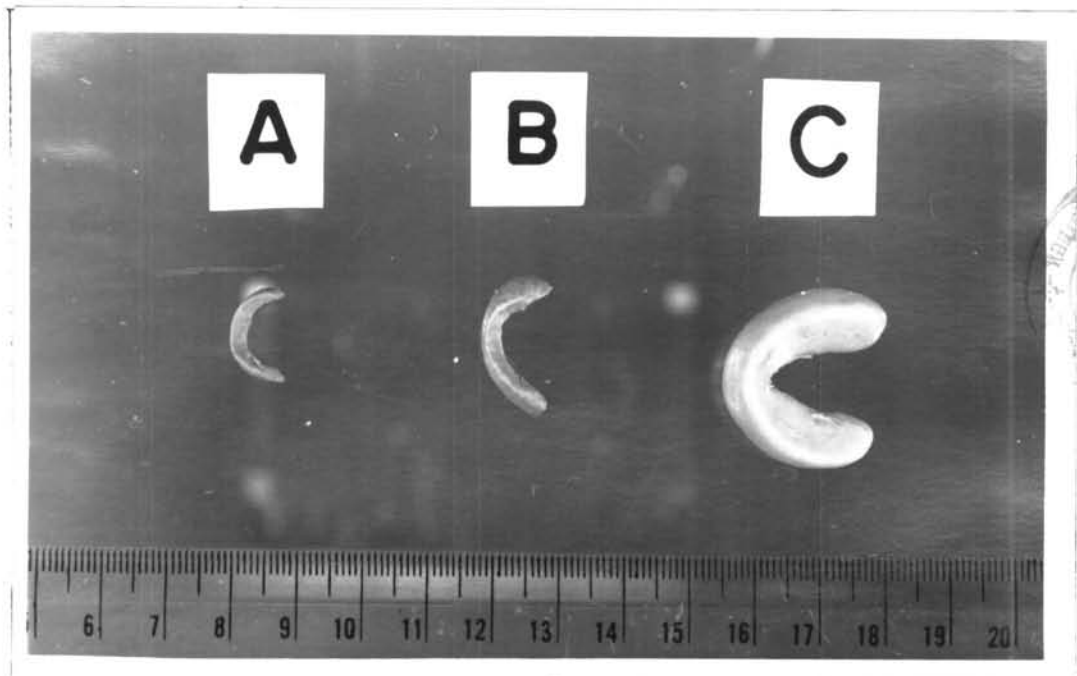
ผลการวิจัย

๑. การศึกษาเกี่ยวกับพยาธิสภาพการเกิดโรคของ Friend leukemia virus (FV)

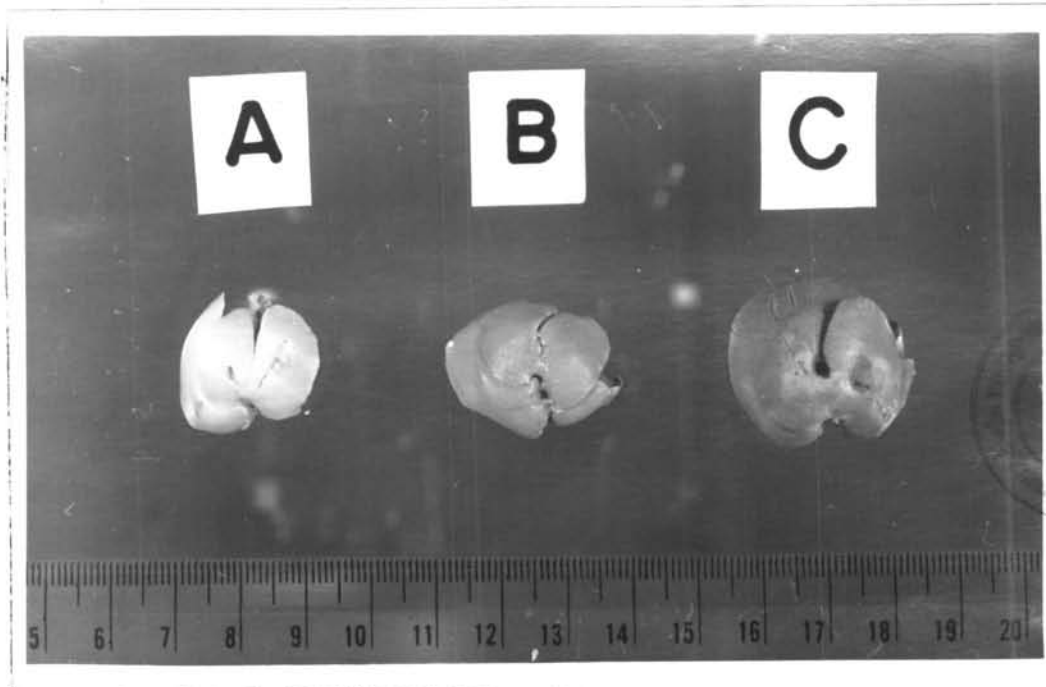
ได้ทำการฉีดไวรัสปริมาณ 0.2, 2, 20, 200, 2000 และ 20,000 FFU/mouse เข้าหลอดเลือดดำที่หางของหนูพันธุ์สวิส เพศผู้ ซึ่งอยู่ในช่วงอายุ ๖-๘ สัปดาห์ จำนวน ๖ กลุ่ม ๆ ละ ๘ ตัวตามลำดับ หลังจากฉีดไวรัสแล้ว ๔ วันได้ฆ่า (sacrificed) และทำการผ่าซากหนูทั้งหมดเพื่อตรวจดู foci ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนผิวของม้ามซึ่งอาการของโรคสามารถตรวจพบว่าเป็นมากน้อยเพียงใดนั้นโดยการตรวจดูจาก foci ที่เกิดขึ้นบนผิวของม้ามและขนาดของม้ามที่โตขึ้น โดยเปรียบเทียบกับหนูพันธุ์สวิสปกติ ปรากฏว่าขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 20 FFU/mouse ขึ้นไปนั้นโดยเฉลี่ยจะโตกว่าม้ามของหนูปกติ (รูปที่ ๔) ทั้งยังตรวจพบ foci ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนผิวของม้ามเมื่อนำม้าม fix ใน Bouin's fixative fluid โดยทั่วไปแล้วโรคจะดำเนินต่อไปอย่างรวดเร็วและรุนแรงมากขึ้น มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมากภายในม้ามและตับ ทำให้ขนาดของม้ามและตับเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งเกิดภาวะตับม้ามโต (hepatosplenomegaly) (รูปที่ ๕, ๖) เมื่อทำการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมชิ้นเนื้อของม้ามและตับของหนูหลังจากฉีดไวรัสปริมาณ 200 FFU/mouse แล้ว ๔ วัน ด้วย hematoxylin และ eosin ปรากฏว่ามีกลุ่มของ leukemic cells แทรกเข้ามาในบริเวณ subcapsular เรื่อยมาตลอด trabeculae ของม้ามและ pulp spaces ซึ่งเป็นช่องว่างระหว่าง lymphoid follicles (รูปที่ ๗) ส่วนที่ตับไม่พบพยาธิสภาพใด ๆ ภายในระยะเวลา ๔ วันนี้ แต่เมื่อโรคได้ดำเนินรุนแรงมากขึ้น จนกระทั่ง leukemic cells ได้แพร่กระจายในม้ามทั่วไปใน ๘ สัปดาห์ที่ ๔ (รูปที่ ๘) และพบว่ามีอาการลุกลามไปยังตับโดยสามารถตรวจพบพยาธิสภาพดังเช่นที่ม้ามได้ในบริเวณ sinusoids และ portal area ของตับโดยที่ leukemic cells เหล่านี้จะเข้าไปแทรกในบริเวณที่เซลล์ตับตาย (necrosis) (รูปที่ ๘) ซึ่งแตกต่างจากลักษณะม้าม



รูปที่ 4 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณต่าง ๆ แล้ว 9 วัน
 A-F = ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 20,000, 2,000, 200, 20, 2 และ 0.2 FFU/mouse ตามลำดับ
 G = ขนาดม้ามของหนูปกติ



รูปที่ 5 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse
 A = ขนาดม้ามของหนูปกติ
 B = ขนาดม้ามของหนูหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสแล้ว 9 วัน
 C = ขนาดม้ามของหนูหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสแล้ว 28 วัน



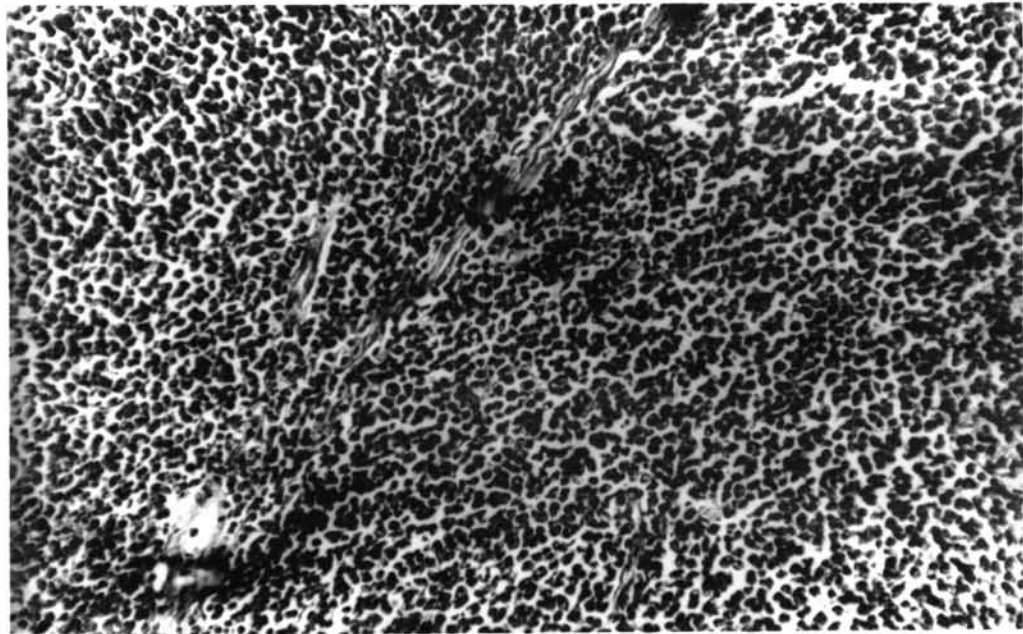
รูปที่ 6 แสดงขนาดตับของหนูพันธุ์สวิสหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse
 A = ขนาดตับของหนูปกติ
 B = ขนาดตับของหนูหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสแล้ว 9 วัน
 C = ขนาดตับของหนูหลังจากที่ถูกฉีดไวรัสแล้ว 28 วัน



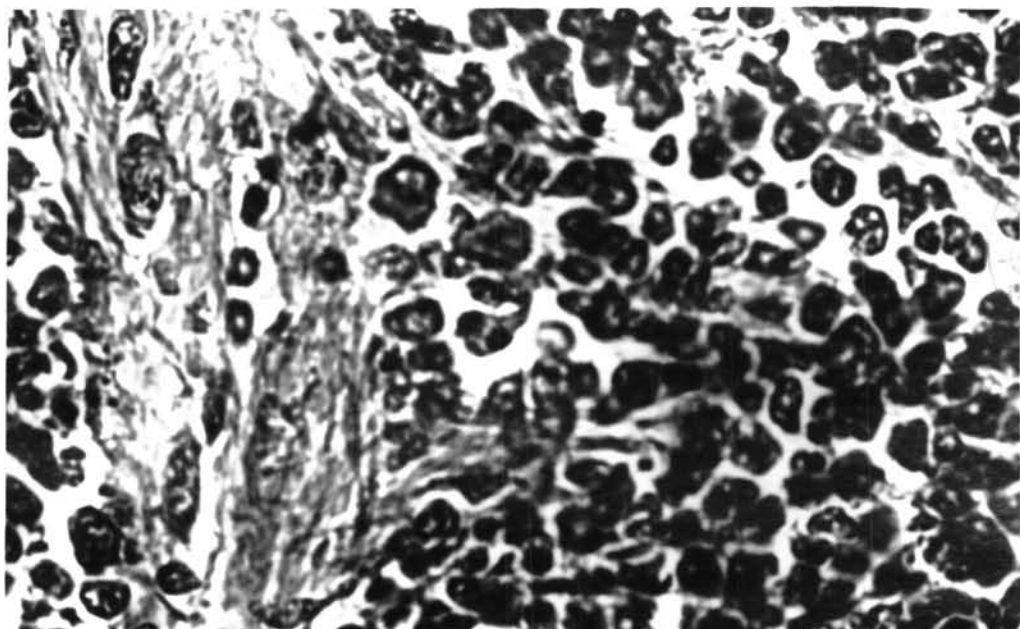
รูปที่ 7 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่พบได้ในม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสปริมาณ 200 FFU/mouse แล้ว 9 วัน แสดง leukemic cells ที่แทรกอยู่ตามบริเวณ trabeculae ของม้าม (H & E x 100)

รูปที่ 8 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่พบได้ในม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse แล้ว 28 วัน

ก. แสดงลักษณะของ leukemic cells จำนวนมากที่แทรกอยู่ทั่วไปภายในม้าม (H&E x 100)

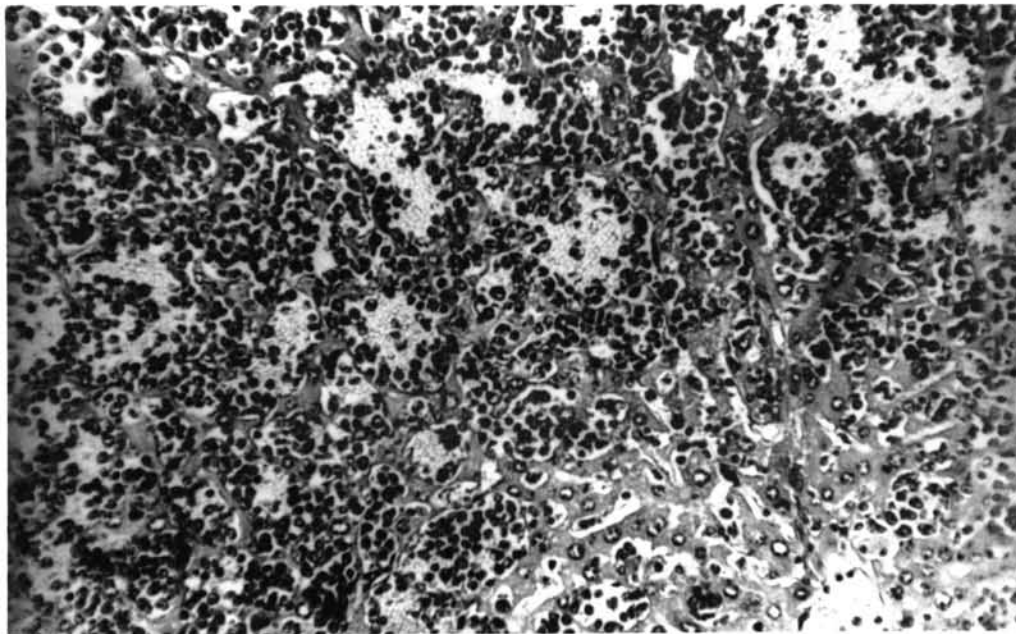


ข. แสดงลักษณะของ leukemic cells จำนวนมากที่แทรกภายในบริเวณ trabeculae ของม้าม (H&E x 400)

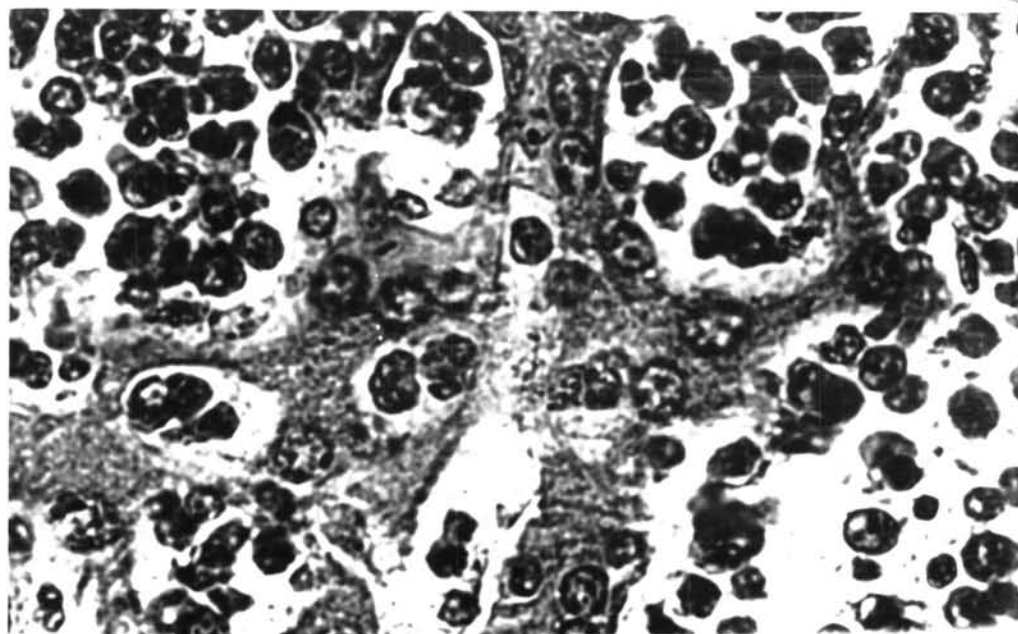


รูปที่ 9 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่พบได้ในตับของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse แล้ว 28 วัน

ก. แสดงลักษณะของเซลล์ตับตายจนเกิดช่องว่างให้ leukemic cells เข้าไปแทรกอยู่ภายในตับ (H&E x 100)



ข. แสดงลักษณะของ leukemic cells จำนวนมากที่เข้าไปแทรกภายในบริเวณ sinusoids ของตับ (H&E x 400)



และดับของหนูปกติทั่วไป (รูปที่ ๑๐) สำหรับลักษณะของ leukemic cell จะเป็นรูปทรงกลมหรือหลายเหลี่ยมที่มีขนาดใหญ่ nucleus ใหญ่ติดสีเข้ม อาจมี nucleoli ที่เห็นเด่นชัดเพียงหนึ่งหรือมากกว่านั้น เนื่องจากมีการแบ่งตัว (Mitotic figure) ส่วน cytoplasm ติดสีซีดหรือสีม่วงอ่อน

๒. การทดสอบพิษของน้ำยาสกัดจากต้นเหงือกปลาหมอในหนูพันธุ์สวิสกติ

๒.๑ การทดสอบพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity test)

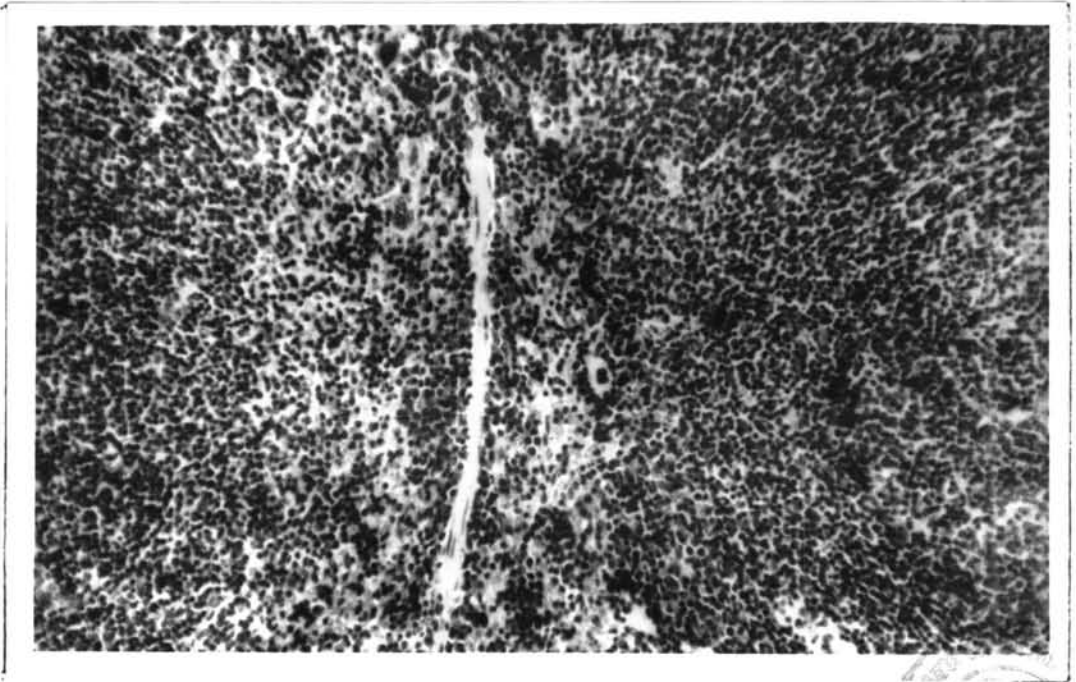
ได้ทำการทดสอบในหนูพันธุ์สวิสกติ เพศผู้ อายุ ๔ สัปดาห์ จำนวน ๘๐ ตัว โดยแบ่งเป็น ๘ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว แล้วทำการฉีคน้ำยาสกัดที่ได้เตรียมไว้เข้าทางช่องท้องของหนูในแต่ละกลุ่ม เมื่อเริ่มทำการทดสอบเพียงครั้งเดียวได้แก่กลุ่มที่ ๑ ถูกฉีดด้วยน้ำกลั่นซึ่งเป็นสารละลายที่ใช้สกัดยา (Control group) กลุ่มที่ ๒-๔ ถูกฉีดด้วยน้ำยาสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเหงือกปลาหมอ คือ ลำต้น ใบ และราก ตามลำดับ กลุ่มที่ ๕-๗ ถูกฉีดด้วยน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ลำต้น ใบ และราก ตามลำดับ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปส์ และพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ และกลุ่มที่ ๘ ถูกฉีดด้วยน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปส์และพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑ จากนั้นได้ตรวจดูอัตราการตายและพฤติกรรมต่าง ๆ ของหนูทดลองอย่างใกล้ชิดได้แก่ motor activity, ataxia, abnormal tail, paralysis, tremors, bizarre reaction เป็นต้น ภายใน ๒๔ ชั่วโมง และระยะเวลาต่อมาอีก ๗๒ ชั่วโมง ปรากฏว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้นและหนูมีชีวิตรอดตลอดช่วงการทดลองทุกตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ฆ่าและทำการผ่าซากเพื่อตรวจดูอวัยวะภายใน ปรากฏว่าไม่พบพยาธิสภาพแต่อย่างใด

๒.๒ การทดสอบพิษในระยะนาน

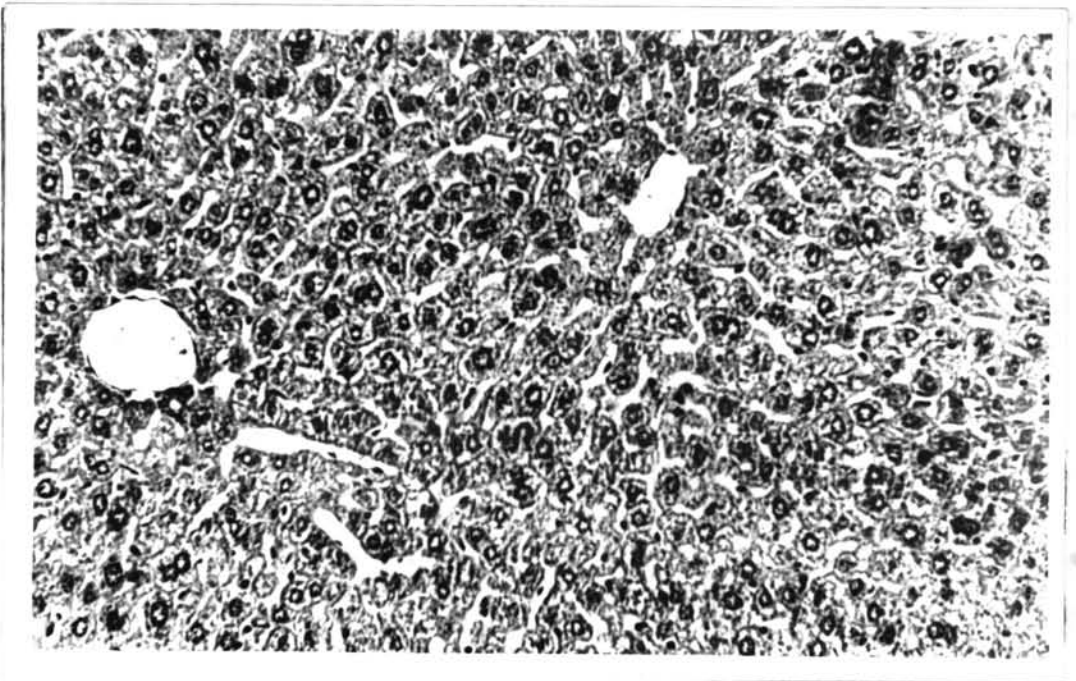
ได้ทำการทดสอบในหนูพันธุ์สวิสกติ เพศผู้ อายุ ๔ สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น ๓ พวกได้แก่ พวกที่ ๑ ป้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา (Control group) จำนวน ๑๐ ตัว พวกที่ ๒ แบ่งเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว โดยได้ป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ

รูปที่ 10 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่พบได้ในม้ามและตับของหนูพันธุ์สวิสปกติ

ก. แสดงลักษณะม้ามปกติ (H&E x 100)



ข. แสดงลักษณะตับปกติ (H&E x 100)



ได้แก่ ลำตัน ใบ และราก โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ จำนวน ๑ ครั้ง/วัน ส่วนพวกที่ ๓ แบ่งเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว เช่นกันและได้บ่อน้ำยาสกัด เช่นเดียวกับพวกที่ ๒ ในขนาดดังกล่าวแต่จำนวน ๒ ครั้ง/วัน ระหว่างช่วงการทดลอง ๒๔ สัปดาห์ ได้ตรวจดูอัตราการตาย พฤติกรรม และน้ำหนักตัวของหนูต่อสัปดาห์ ปรากฏว่า หนูในพวกที่ ๑ (Control group) เหลือ ๔ ตัว ในขณะที่พวกที่ ๒ ซึ่งบ่อน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจาก ส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ลำตัน ใบ และราก โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ นั้นจะเหลือหนูทดลอง ๗, ๔ และ ๗ ตัวตามลำดับ ส่วนพวกที่ ๓ ที่ได้บ่อน้ำยาสกัด เช่นเดียวกันนี้เหลือหนูทดลอง ๔, ๔ และ ๖ ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ ๒) เมื่อทำการทดสอบ ทางสถิติโดยใช้ X^2 -test ปรากฏว่าอัตราการรอดของหนูในกลุ่มที่ได้บ่อน้ำยาสกัดทั้งหมด และกลุ่ม control ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้หนูที่มี ชีวิตรอดทุกตัวยังแสดงพฤติกรรมต่าง ๆ ออกมาเป็นปกติ ส่วนน้ำหนักของหนูในแต่ละกลุ่มต่อสัปดาห์ โดยเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นจากเดิมไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งสัปดาห์ที่ ๑๔ น้ำหนัก เริ่มลดลง เล็กน้อยเนื่องจาก หนูอายุมากแล้ว แต่ก็ยังมากกว่าน้ำหนักเดิมก่อนการทดลอง และได้ทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่ม control ทุกสัปดาห์ของการทดลองปรากฏว่าไม่มีความ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (รูปที่ ๑๑, ๑๒)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำ Blood smear หนูที่เหลือทั้งหมดเพื่อตรวจนับเซลล์ เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ รวมทั้งค่า hematocrit ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่ม control พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ ๓) หลังจากนั้นได้ฆ่าและทำการผ่าซากหนูทั้งหมดปรากฏว่าอวัยวะ ภายในทั้งหมดเป็นปกติ ไม่พบพยาธิสภาพใด ๆ เกิดขึ้น

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสปกติหลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเหงือกปลาหมอโดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์

(ก) เมื่อป้อนน้ำยาสกัดต่าง ๆ ในจำนวน 1 ครั้ง/วัน

	สารที่ได้รับ จำนวน 1 ครั้ง/วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา (สัปดาห์)						อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
			4	8	12	16	20	24		
1.	น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	10	10	10	10	8	6	4	40	
2.	น้ำยาสกัดส่วนผสมของลำต้น เหงือกปลาหมอ ดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	10	10	10	10	10	8	7	70	P > 0.05
3.	น้ำยาสกัดส่วนผสมของใบ เหงือกปลาหมอ ดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)	10	10	10	10	8	5	5	50	P > 0.05
4.	น้ำยาสกัดส่วนผสมของราก เหงือกปลาหมอ ดีปซี และพริกไทยดำ (2:1:1)	10	10	10	10	10	8	7	70	P > 0.05

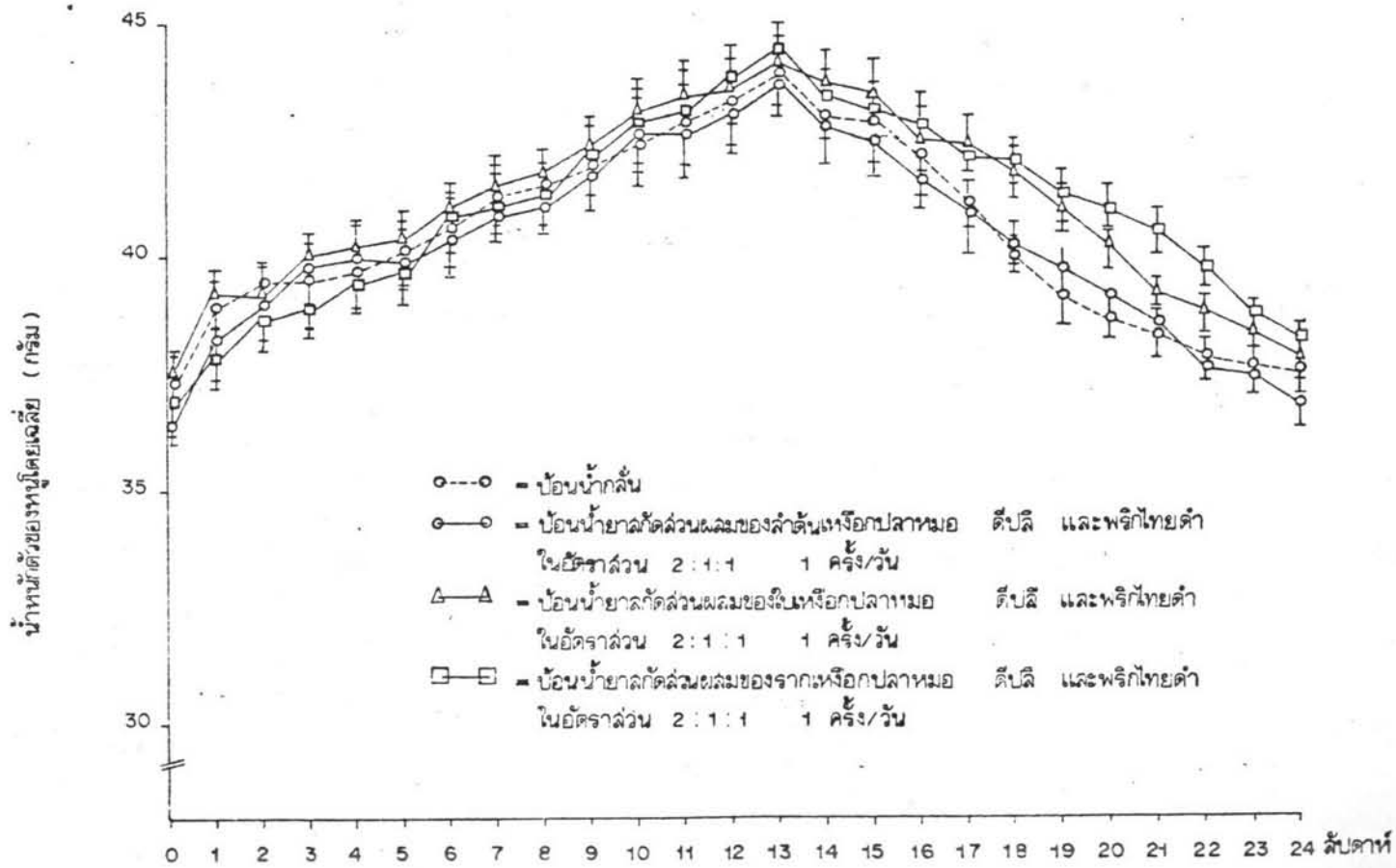
* เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม 1

(ข) เมื่อบ่อน้ำยาสกัดต่าง ๆ ในจำนวน 2 ครั้ง/วัน

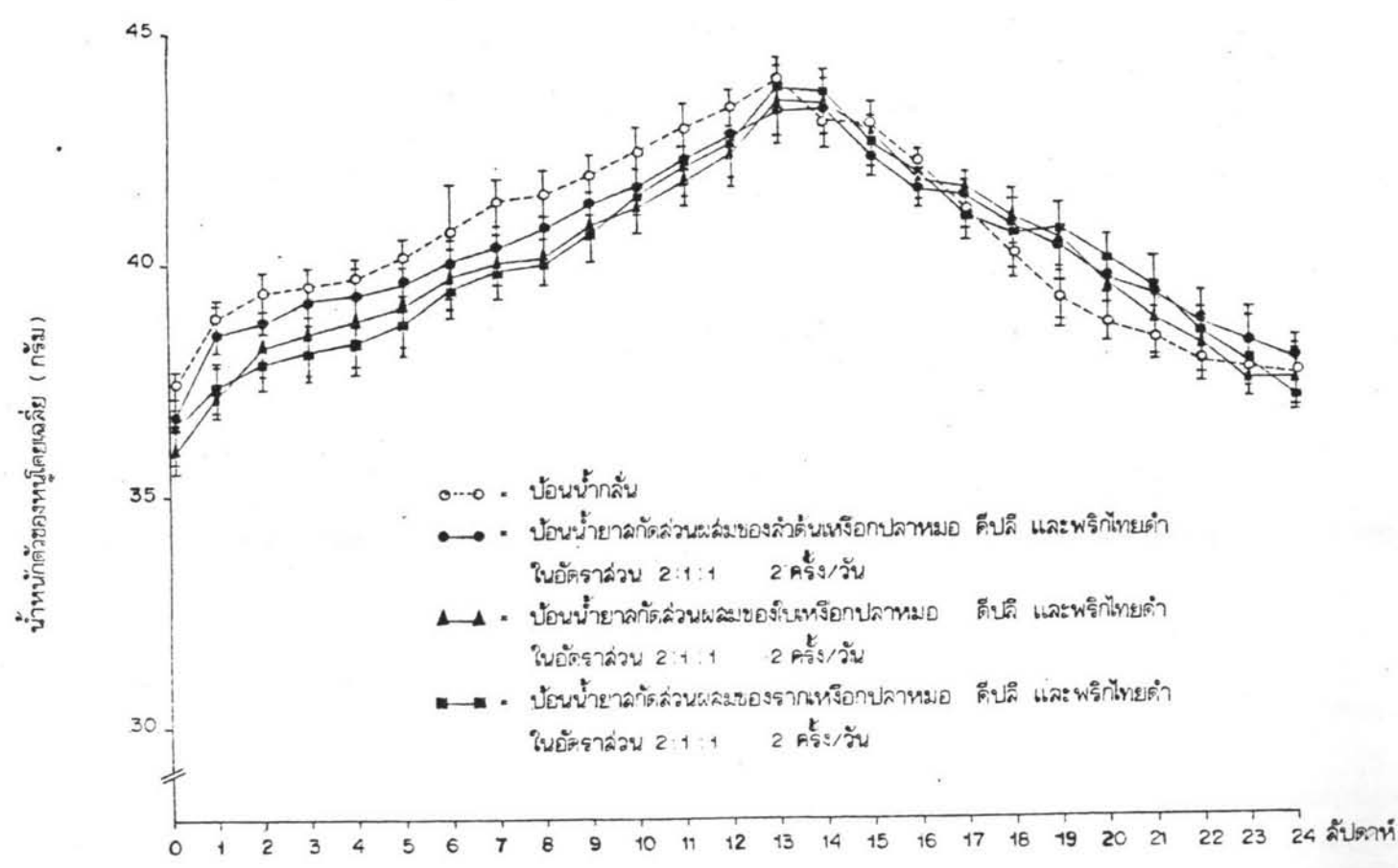
สารที่ได้รับ จำนวน 2 ครั้ง/วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา (สัปดาห์)						อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		4	8	12	16	20	24		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	10	10	10	10	8	6	4	40	
2. น้ำยาสกัดส่วนผสมของลำต้นเหงือก ปลาหมอ คีปัสและพริกไทยดำ(2:1:1)	10	10	10	10	8	5	5	50	P > 0.05
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของใบเหงือกปลา หมอ คีปัส และพริกไทยดำ(2:1:1)	10	10	10	10	8	7	5	50	P > 0.05
4. น้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือก ปลาหมอ คีปัส และพริกไทยดำ(2:1:1)	10	10	10	10	9	8	6	60	P > 0.05

* เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม 1

รูปที่ 11 แสดงน้ำหนักตัวของหนูพันธุ์สวิสปกติโดยเฉลี่ยต่อสัปดาห์หลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหวือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 ในจำนวน 1 ครั้ง/วัน เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์



รูปที่ 12 แสดงน้ำหนักตัวของหนูพันธุ์สวิสปกติโดยเฉลี่ยต่อสัปดาห์หลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับตีปสีและพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 ในจำนวน 2 ครั้ง/วัน เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์



ตารางที่ 3 แสดงค่าของ Hematocrit และเซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ ของหนูพันธุ์สวิสปกติหลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับตีปสี และพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์

(ก) เมื่อป้อนน้ำยาสกัดในจำนวน 1 ครั้ง/วัน

สารที่ได้รับ จำนวน 1 ครั้ง/วัน	Hematocrit ^o (ml.%)	เซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ (%) ^o				ค่าความน่าจ (P-value)
		Lymphocytes	Neutrophils	Monocytes	Eosinophils	
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	46.50±1.55	66.25±1.54	25.0 ±1.23	3.50±0.29	5.25±0.25	
2. น้ำยาสกัดส่วนผสมของลำต้นเหงือกปลา หมอ ตีปสี และพริกไทยดำ(2:1:1)	47.70±0.94	67.40±1.64	24.14±1.71	3.42±0.21	4.14±0.26	P > 0.0
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของใบเหงือกปลา หมอ ตีปสีและพริกไทยดำ(2:1:1)	46.60±1.08	67.20±1.42	23.0 ±1.64	4.60±0.39	5.40±0.24	P > 0.0
4. น้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือกปลา หมอ ตีปสีและพริกไทยดำ	47.40±1.06	67.42±2.40	23.71±2.41	4.28±0.68	4.57±0.57	P > 0.0

^o = Mean ± S.E.M.

* เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

ข. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดในจำนวน 2 ครั้ง/วัน

สารที่ได้รับ จำนวน 2 ครั้ง/วัน	Hematocrit ^o (ml%)	เซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ (%) ^o				ค่าความน่าจะเป็น (P-value)
		lymphocytes	Neutrophils	Monocytes	Eosinophils	
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	46.50 _± 1.55	66.25 _± 1.54	25.0 _± 1.23	3.50 _± 0.29	5.25 _± 0.25	
2. น้ำยาสกัดส่วนผสมของลำต้นเหงือกปลาหมอ ตีบสี และพริกไทยดำ(2:1:1)	46.20 _± 0.96	65.40 _± 1.36	25.80 _± 1.39	4.40 _± 0.39	4.40 _± 0.09	P > 0.05
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของใบเหงือกปลาหมอ ตีบสี และพริกไทยดำ(2:1:1)	45.40 _± 1.16	67.40 _± 1.91	24.40 _± 2.01	3.60 _± 0.51	4.60 _± 0.39	P > 0.05
4. น้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือกปลาหมอ ตีบสีและพริกไทยดำ(2:1:1)	47.60 _± 0.95	67.0 _± 2.30	26.0 _± 1.88	3.83 _± 0.54	4.0 _± 0.52	P > 0.05

^o = Mean _± S.E.M.

* เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

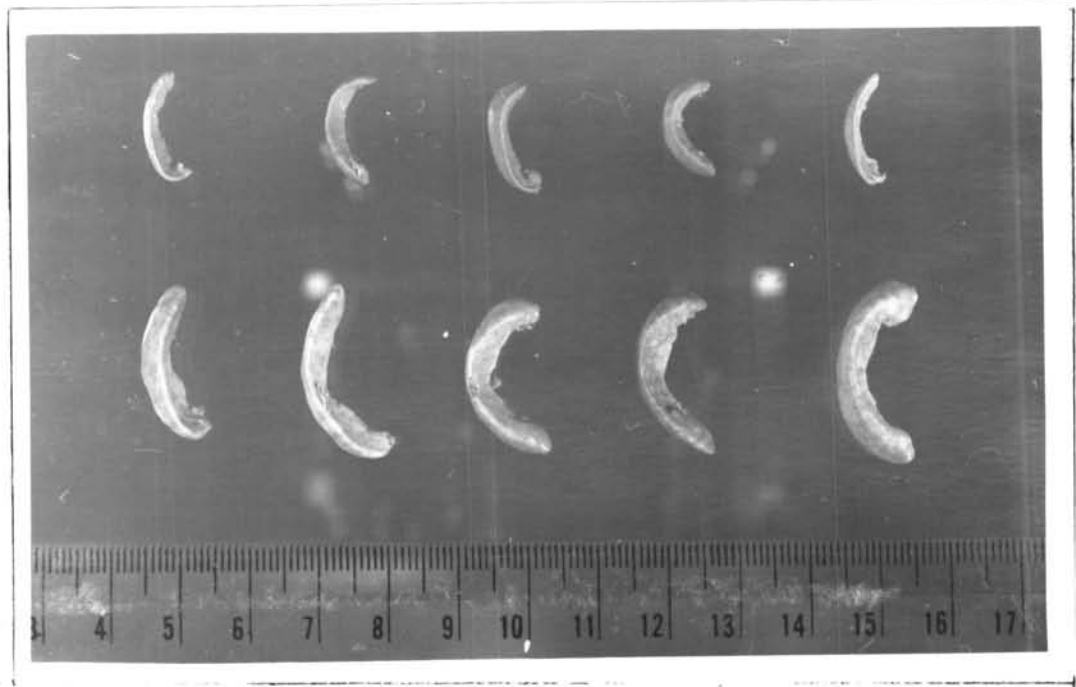
๓. การทดสอบผลในการรักษาลิวคีเมียในหนูพันธุ์สวิสที่ทำให้เกิดโรคด้วย FV

๓.๑ การตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อหาผลของการใช้น้ำยาสกัดจากต้นเหงือกปลาหมอใน
การรักษาลิวคีเมียในหนูทดลอง

ได้ทำการฉีดไวรัสปริมาณ 200 FFU/mouse เข้าหลอดเลือดดำที่หางของหนูพันธุ์สวิสทั้งสองเพศ อายุ ๔ สัปดาห์ จำนวน ๑๔๔ ตัว แล้วแบ่งหนูออกเป็น ๖ กลุ่ม ๆ ละ ๒๔ ตัว เพศผู้ ๑๐ ตัว และเพศเมีย ๑๔ ตัว ได้แก่

- กลุ่มที่ ๑ ป้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา (Control group)
- กลุ่มที่ ๒ ป้อนน้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้นเหงือกปลาหมอ
- กลุ่มที่ ๓ ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของต้นเหงือกปลาหมอทุกส่วนร่วมกับดีปัส และพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑
- กลุ่มที่ ๔ ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ
- กลุ่มที่ ๕ ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือกปลาหมอ ร่วมกับดีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑
- กลุ่มที่ ๖ ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑

โดยเริ่มป้อนน้ำยาสกัดต่าง ๆ และน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยาให้แก่หนูทดลองทุกกลุ่ม ตั้งแต่วันแรกที่ฉีดไวรัสจนกระทั่งครบ ๘ สัปดาห์ ส่วนหนูที่เหลือ ๔ ตัวได้ฆ่าและผ่าซากเพื่อดูขนาดของม้ามหลังฉีดไวรัสแล้ว ๘ วัน โดยทำการเปรียบเทียบกับม้ามของหนูปกติ (รูปที่ ๑๓) ในระหว่างช่วงการทดลองได้ตรวจดูอัตราตายของหนูทดลองต่อสัปดาห์ และเมื่อครบ ๘ สัปดาห์ ได้ฆ่าและผ่าซากหนูที่มีชีวิตรอดทั้งหมดปรากฏว่า จำนวนหนูที่มีชีวิตรอดในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดคือ กลุ่มที่ ๒, ๓, ๔, ๕ และ ๖ เท่ากับ ๖, ๘, ๖, ๑๒ และ ๔ ตัวตามลำดับ ในขณะที่กลุ่ม control เหลือเพียง ๒ ตัว (ตารางที่ ๔) ส่วนอวัยวะภายในของหนูที่รอดชีวิตยกเว้นที่ตับและม้ามไม่พบพยาธิสภาพใด ๆ เกิดขึ้น ซึ่งที่ตับสามารถตรวจพบพยาธิสภาพได้ในช่วงระยะหลังของการเกิดโรค คือสัปดาห์ที่ ๔ ของการทดลองเป็นต้นไปโดยที่ขนาดของตับในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัด



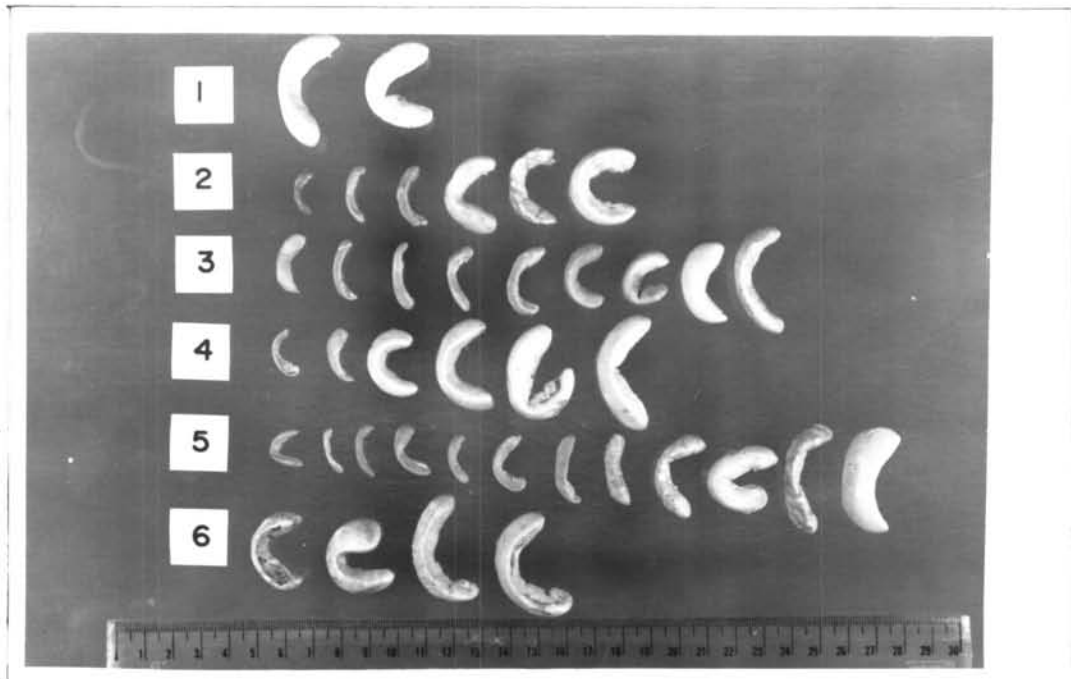
รูปที่ 13 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse
เข้าตลอดชีวิตเป็นเวลา 9 วัน
แถบบน ขนาดม้ามของหนูปกติ
แถวล่าง ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัส

ตารางที่ 4 แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวติเมียโดย FV หลังจากที่ย้อมน้ำยาสกัดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สารที่ได้รับ ตั้งแต่วันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา (สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	24	23	23	23	20	17	10	7	2	8.33	
2. น้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้น เหงือกปลาหมอ	24	24	22	21	18	15	11	8	6	25.00	P > 0.05
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของต้นเหงือกปลา หมอทุกส่วนร่วมกับดีปซี และพริกไทยดำ (2:1:1)	24	24	24	22	19	16	12	10	9	37.50	P < 0.05
4. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ	24	24	24	23	21	17	11	10	6	25.00	P > 0.05
5. น้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือกปลา หมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	24	24	24	24	23	21	18	13	12	50.00	P < 0.005
6. น้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและ พริกไทยดำ (1:1)	24	24	24	24	18	16	11	7	4	16.66	P > 0.05

*เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

จะโตใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม control อย่างเด่นชัด ส่วนที่ม้ามพบว่าขนาดของม้ามในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดแต่ละกลุ่มจะมีขนาดแตกต่างกันไป (รูปที่ ๑๔) เมื่อทำการทดสอบอัตราการอยู่รอดของหนูทดลองทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม control ปรากฏว่าอัตราการอยู่รอดของหนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัด ๒ กลุ่ม คือน้ำยาสกัดส่วนผสมของต้นเหงือกปลาหมอทุกส่วนร่วมกับตีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ และน้ำยาสกัดส่วนผสมของรากเหงือกปลาหมอร่วมกับตีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ เท่านั้นที่แตกต่างจากกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $P < 0.005$) (ตารางที่ ๔) และมีขนาดของม้ามโดยเฉลี่ยเล็กกว่ากลุ่ม control (รูปที่ ๑๔) ส่วนกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอที่ไม่ได้ผสมร่วมกับตีปัสและพริกไทยดำอีก ๒ กลุ่ม ได้แก่ น้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้นเหงือกปลาหมอและน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอแม้จะมีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างจากกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่จำนวนหนูที่รอดชีวิตเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีจำนวนมากกว่ากลุ่ม control (ตารางที่ ๔) ทั้งยังมีผลทำให้ม้ามของหนูที่รอดชีวิตมีขนาดเล็กลงได้บ้าง (รูปที่ ๑๔) แสดงว่าน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอทั้งที่ผสมและไม่ได้ผสมร่วมกับตีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ ต่างก็ให้ผลในการรักษาลิวติเมียในหนูพันธุ์สวิส แต่กลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของต้นเหงือกปลาหมอร่วมกับตีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ จะให้ผลดีกว่า สำหรับกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของตีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑ ปรากฏว่ามีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของหนูทดลองได้บ้างเล็กน้อย (ตารางที่ ๔) แต่ม้ามของหนูที่รอดชีวิตทั้งหมดนั้นมีขนาดโตเท่า ๆ กับกลุ่ม control (รูปที่ ๑๔) นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เพื่อเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดของหนูทั้งสองเพศในแต่ละกลุ่มปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ ๔)



รูปที่ 14 แสดงขนาดม้ามของหนูที่เป็นลิวติเมียหลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

แถวที่ 1 ป้อนน้ำคั้นที่ใช้สกัดยา

แถวที่ 2 ป้อนน้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้น เหงือกปลาหมอ

แถวที่ 3 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของต้น เหงือกปลาหมอทุกส่วนร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)

แถวที่ 4 ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ

แถวที่ 5 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของราก เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)

แถวที่ 6 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซี และพริกไทยดำ (1:1)

ตารางที่ 5 แสดงอัตราการรอดชีวิตตามการจำแนกเพศของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวคีเมียโดย FV หลังจากที่ย้ายมาเลี้ยงในคอก 8 สัปดาห์

สารที่ได้รับ ตั้งแต่วันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อเริ่มการทดลอง			จำนวนหนูหลังจากให้อาหาร 8 สัปดาห์			ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
	เพศผู้	เพศเมีย	รวม	เพศผู้	เพศเมีย	รวม	
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	10	14	24	1	1	2	P > 0.05
2. น้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้น เหงือก ปลาหมอ	10	14	24	2	4	6	P > 0.05
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของต้น เหงือกปลาหมอ ทุกส่วนร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	10	14	24	4	5	9	P > 0.05
4. น้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอ	10	14	24	3	3	6	P > 0.05
5. น้ำยาสกัดส่วนผสมของราก เหงือกปลาหมอ ร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	10	14	24	5	7	12	P > 0.05
6. น้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและพริกไทยดำ (1:1)	10	14	24	2	2	4	P > 0.05

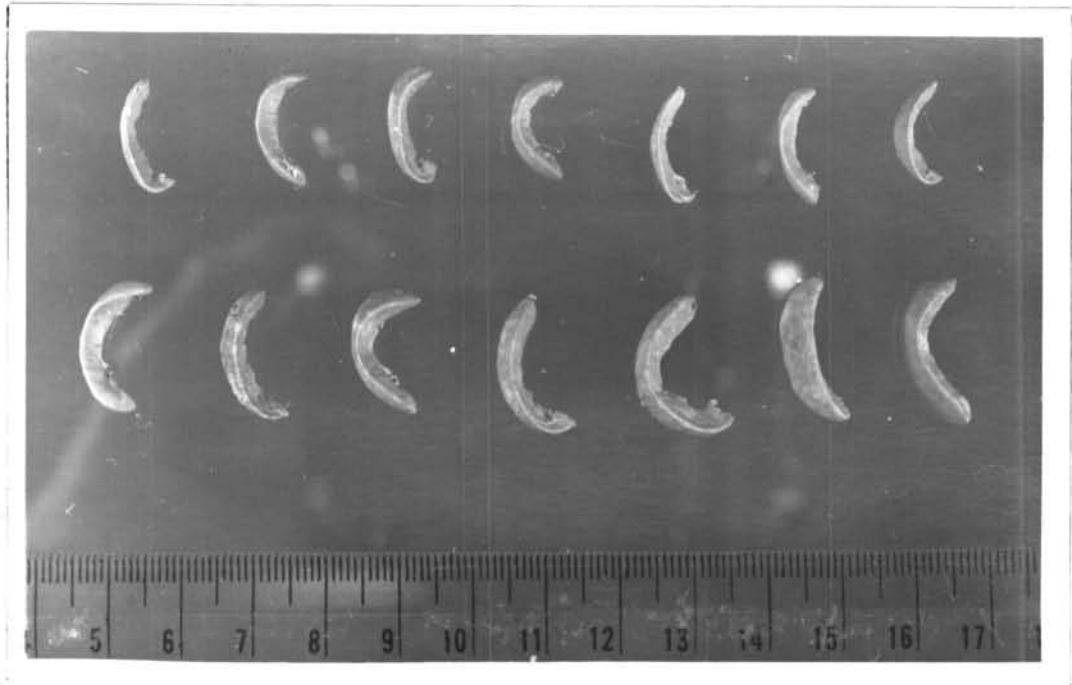
* เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของหนูเพศผู้เพศเมียของกลุ่มเดียวกันในแต่ละกลุ่ม

๓.๒ การทดสอบผลของการใช้น้ำยาสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเหงือกปลาหมอในการรักษา
สัตว์เมียมในหนูทดลอง

เริ่มด้วยการฉีดไวรัสปริมาณ 100 FFU/mouse เข้าหลอดเลือดดำที่หางของหนู พันธุ์สวิสทั้งสองเพศ อายุ ๖-๗ สัปดาห์ จำนวน ๒๐๗ ตัว หลังจากฉีดไวรัสแล้ว ๔ วัน ได้ทำการฆ่าหนู ๗ ตัว เพื่อตรวจดูขนาดของม้ามโดยทำการเปรียบเทียบกับม้ามของหนูปกติ (รูปที่ ๑๕) จากนั้นแบ่งหนูที่เหลือออกเป็นกลุ่ม ๆ กลุ่มละ ๒๐ ตัว (เพศผู้ ๑๐ ตัว และเพศเมีย ๑๐ ตัว) กลุ่มที่ ๑ เป็นกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา (Control group) ส่วนกลุ่มที่เหลือป้อนน้ำยาสกัดต่าง ๆ ได้แก่พวกแรกซึ่งแบ่งเป็น ๔ กลุ่มเพื่อป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ลำต้น ใบ ราก และส่วนทั้งหมดของต้น ส่วนพวกที่ ๒ แบ่งเป็น ๔ กลุ่ม โดยที่ ๔ กลุ่มป้อนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ และกลุ่มสุดท้ายป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปัสและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑ โดยเริ่มป้อนน้ำยาสกัดดังกล่าวให้แก่หนูในแต่ละกลุ่มทุกวันหลังจากฉีดไวรัสไปแล้ว ๔ วัน จนกระทั่งหนูกลุ่ม control ตายหมด

ในระหว่างช่วงการทดลองได้ตรวจดูอัตราตายของหนูในแต่ละกลุ่มปรากฏว่า หนูในกลุ่ม control จะเริ่มตายในสัปดาห์ที่ ๕ ไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งตายหมดภายในระยะเวลา ๑๑ สัปดาห์ ส่วนหนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดพวกแรกจะมีชีวิตรอดเท่ากับ ๘, ๘, ๑๘ และ ๗ ตัวตามลำดับ (ตารางที่ ๖) ในขณะที่หนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดพวกที่ ๒ จะมีชีวิตรอดเท่ากับ ๘, ๘, ๑๖, ๑๑ และ ๔ ตัวตามลำดับ (ตารางที่ ๗) เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม control ปรากฏว่าหนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดทุกกลุ่มจะมีชีวิตรอดมากกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อได้ฆ่าหนูที่รอดชีวิตและทำการผ่าซากเพื่อตรวจดูอวัยวะภายใน และขนาดของม้าม ปรากฏว่าอวัยวะภายในอื่น ๆ ยกเว้นม้ามและตับจะอยู่ในสภาพปกติ ซึ่งที่ม้ามพบว่าขนาดม้ามของหนู



รูปที่ 15 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 100 FFU/mouse เข้า
ตลอดชีวิตทำเป็นเวลา 9 วัน
แถวบน ขนาดม้ามของหนูปกติ
แถวล่าง ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัส

ตารางที่ 6 แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวซีเมียโดย FV หลังจากที่ถูกปนน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์

สารที่ได้รับ หลังจากฉีดไวรัส 9 วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)											อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	20	20	20	18	16	14	11	7	2	0	0	
2. น้ำยาสกัดจากลำต้นเหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	19	19	19	19	16	13	9	8	40	P < 0.005
3. น้ำยาสกัดจากใบเหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	19	19	18	17	15	10	8	8	40	P < 0.005
4. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	20	19	19	19	18	18	18	18	90	P < 0.005
5. น้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของต้น เหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	18	16	16	11	10	8	7	7	35	P < 0.01

* เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

ตารางที่ 7

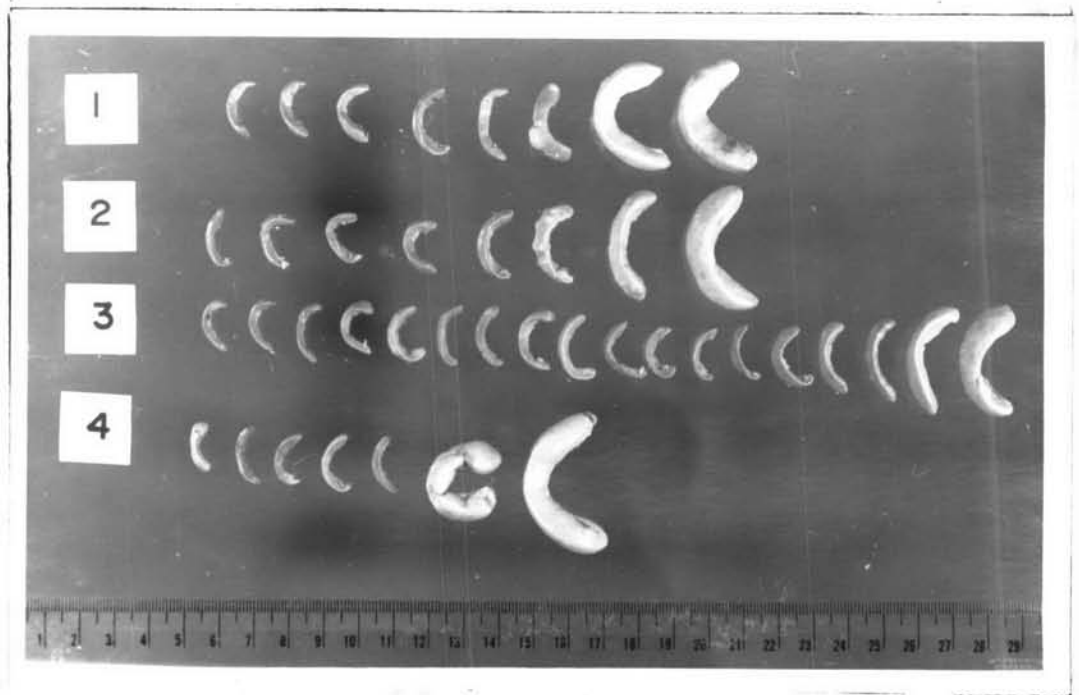
แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวติเมียโดย FV หลังจากที่ย้อมน้ำยาสกัดของต้นเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 เป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์

สารที่ได้รับ หลังจากฉีดไวรัส 9 วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)											อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	20	20	20	18	16	14	11	7	2	0	0	
2. น้ำยาสกัดส่วนผสมของลำต้น เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	20	20	20	20	19	18	18	16	16	11	9	8	40	P < 0.005
3. น้ำยาสกัดส่วนผสมของใบ เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	20	20	20	20	19	18	17	13	13	9	9	9	45	P < 0.005
4. น้ำยาสกัดส่วนผสมของราก เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	20	20	20	20	19	19	19	18	17	16	16	16	80	P < 0.005
5. น้ำยาสกัดส่วนผสมของต้น เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ(2:1:1)	20	20	20	20	19	18	16	16	15	14	12	11	55	P < 0.005
6. น้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและพริกไทยดำ(1:1)	20	20	20	19	19	19	18	15	13	11	7	4	20	P < 0.05

* เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X²-test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

ที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้น เหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ ทั้งที่ผสมและไม่ได้ผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ โดยเฉลี่ยจะมีขนาดเล็กลงมีเพียงกลุ่มละ ๑, ๒, ๓ หรือ ๔ ตัวที่มีขนาดโตกว่าปกติแตกต่างกันไป ส่วนกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑ นั้น ม้ามของหนูที่รอดชีวิตทั้งหมดจะมีขนาดโตกว่าปกติ (รูปที่ ๑๖, ๑๗) สำหรับที่ตับจะมีขนาดแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับขนาดของม้าม นั่นคือถ้าม้ามมีขนาดเล็กหรือใหญ่ ตับก็จะมีขนาดเล็กหรือใหญ่ตามไปด้วย ซึ่งภาวะตับม้ามโตจะเกิดขึ้นเมื่อโรคดำเนินถึงขั้นรุนแรงมากในช่วงสุดท้าย แต่จากการทดลองปรากฏว่าน้ำยาสกัดของต้น เหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ และส่วนทั้งหมดของต้นทั้งที่ผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ และที่ไม่ได้ผสมกับยาดังกล่าวต่างก็สามารถรักษาลิวคีเมียในหนูทดลองได้ โดยเฉพาะส่วนรากของต้น เหงือกปลาหมอ เนื่องจากอัตราการอยู่รอดของหนูทดลองสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ และม้ามของหนูที่รอดชีวิตมีขนาดเล็กลงเกือบเท่าขนาดปกติมีเพียง ๒-๓ ตัวเท่านั้นที่มีขนาดโตกว่าปกติ (รูปที่ ๑๖, ๑๗ และ ๑๘)

จากการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมสีชิ้นเนื้อของม้ามและตับของหนูที่รอดชีวิตทั้งหมดด้วย hematoxylin และ eosin ปรากฏว่ามีลักษณะเช่นเดียวกับที่ได้ตรวจพบจากการศึกษาพยาธิสภาพการเกิดโรคของ FV ข้างต้น (รูปที่ ๗, ๘ และ ๙) ซึ่งจำนวน leukemic cells จะมีมาน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับขนาดของม้ามและตับที่โตขึ้นจากปกติ ดังนั้น leukemic cells ที่ตับและม้ามของกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๑ : ๑ จะพบได้มากพอ ๆ กับกลุ่ม control เนื่องจากขนาดของตับและม้ามของทั้งสองกลุ่มนี้ใกล้เคียงกัน (ลักษณะคล้ายกับรูปที่ ๘ และ ๙) ส่วนกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดของต้น เหงือกปลาหมอทั้งที่ผสมและไม่ได้ผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน ๒ : ๑ : ๑ จะพบ leukemic cells จำนวนมากในม้ามและตับที่มีขนาดใหญ่และลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ตามขนาดของม้ามและตับที่ลดลงตามลำดับ ดังเช่นม้ามของหนูทดลองในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอที่มีขนาดเล็กลงเกือบเท่าขนาดปกตินี้แทบจะไม่พบ leukemic cells ในเนื้อเยื่อของม้ามและตับเลยจึงทำให้ลักษณะที่ตรวจพบคล้ายกับม้ามและตับปกติทั่วไป (ลักษณะคล้ายกับรูปที่ ๑๐) แต่ที่ตับของหนูทดลองบางตัวพบว่า



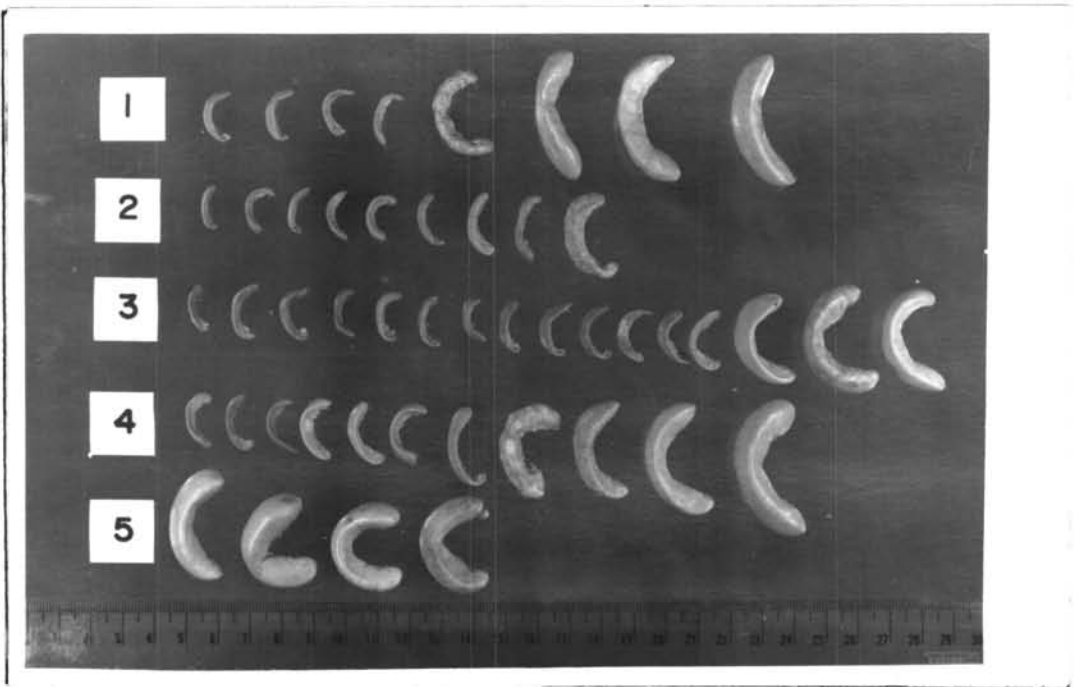
รูปที่ 16 แสดงขนาดม้ามของหนูที่เป็นสิ่วซี เมียหลังจากที่บ่อน้ำยาสกัดของดินเหงือกปลาหมอ จากส่วนต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์

แถวที่ 1 บ่อน้ำยาสกัดจากลำต้น เหงือกปลาหมอ

แถวที่ 2 บ่อน้ำยาสกัดจากใบ เหงือกปลาหมอ

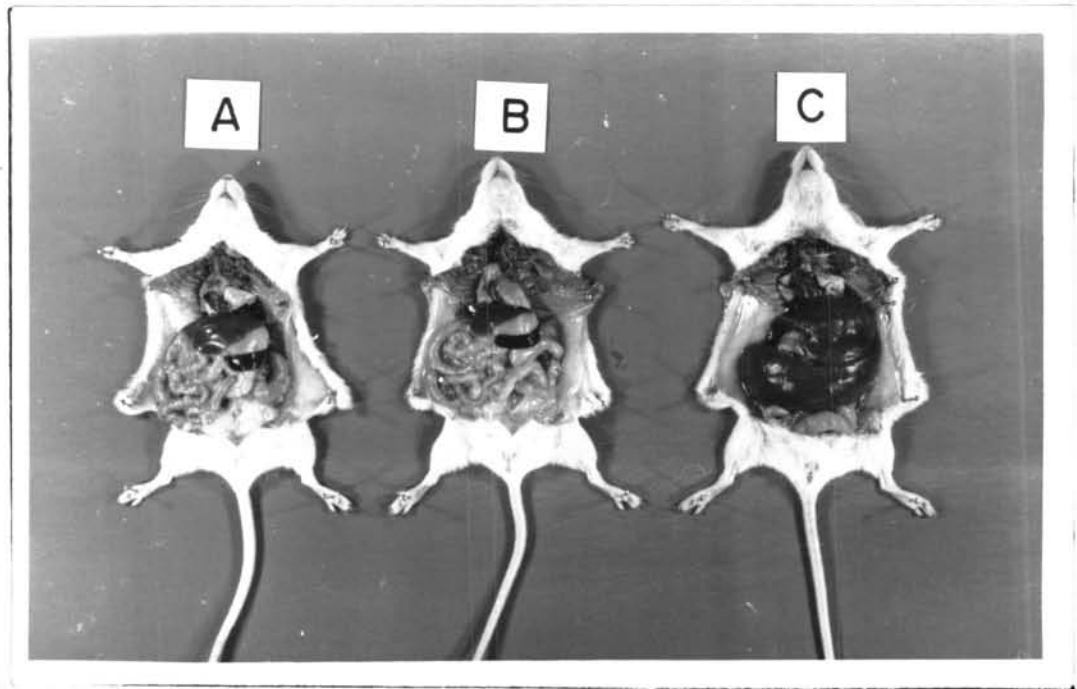
แถวที่ 3 บ่อน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอ

แถวที่ 4 บ่อน้ำยาสกัดจากส่วนทั้งหมดของดิน เหงือกปลาหมอ



รูปที่ 17 แสดงขนาดม้ามของหนูที่เป็นลิวติเมียหลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดของดินเหงือกปลาหมอจากส่วนต่าง ๆ โดยแต่ละส่วนผสมร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำในอัตราส่วน 2:1:1 เป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์

- แถวที่ 1 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของลำดินเหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)
- แถวที่ 2 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของใบ เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)
- แถวที่ 3 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของราก เหงือกปลาหมอร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)
- แถวที่ 4 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดิน เหงือกปลาหมอทุกส่วนร่วมกับดีปซีและพริกไทยดำ (2:1:1)
- แถวที่ 5 ป้อนน้ำยาสกัดส่วนผสมของดีปซีและพริกไทยดำ (1:1)



รูปที่ 18 แสดงลักษณะของอวัยวะภายในของหนูพันธุ์สวิสที่ถูกผ่าซากหลังจากที่ป้อนน้ำยา
สกัดจากรากเหงือกปลาหมอ (A) และน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา (C) เป็นระยะเวลา
๑๑ สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบกับหนูปกติ (B)

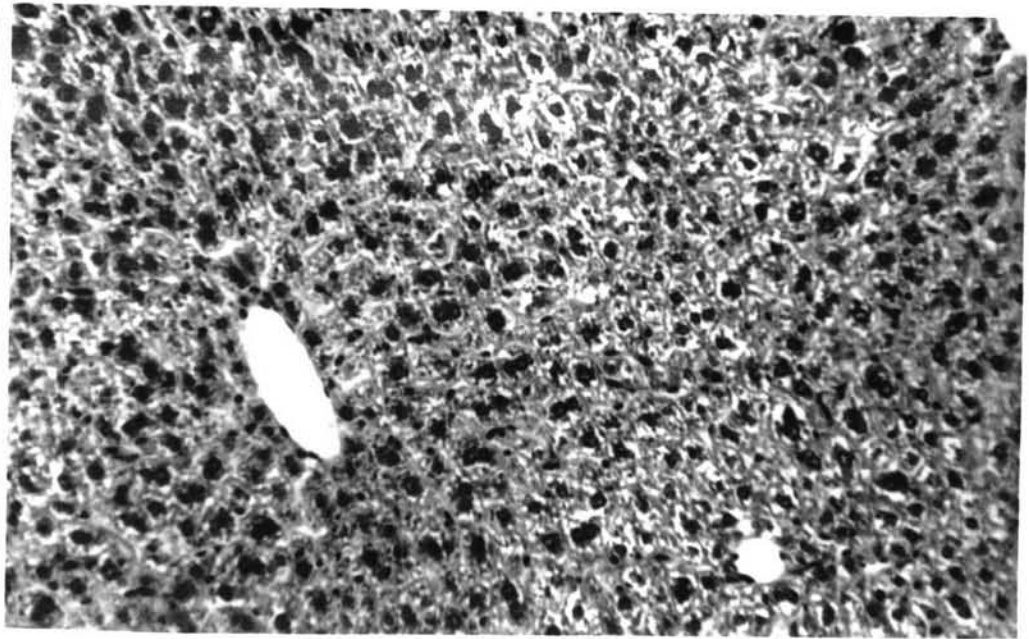
cytoplasm ของเซลล์ที่มีลักษณะใสขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน เซลล์วาม เล็กน้อยและเปิด sinusoids ให้เล็กลง ลักษณะดังกล่าวนี้เรียกว่า vacuolar degeneration (รูปที่ ๑๔) สำหรับอวัยวะภายในอื่น ๆ ไม่พบพยาธิสภาพแต่อย่างใด

๓.๓ การทดสอบผลของการใช้น้ำยาสกัดจากส่วนรากของต้น เจริงอกปลาหมอบที่ให้ผล ในการรักษาลิวคีเมียในหนูพันธุ์สวิสได้มากที่สุด

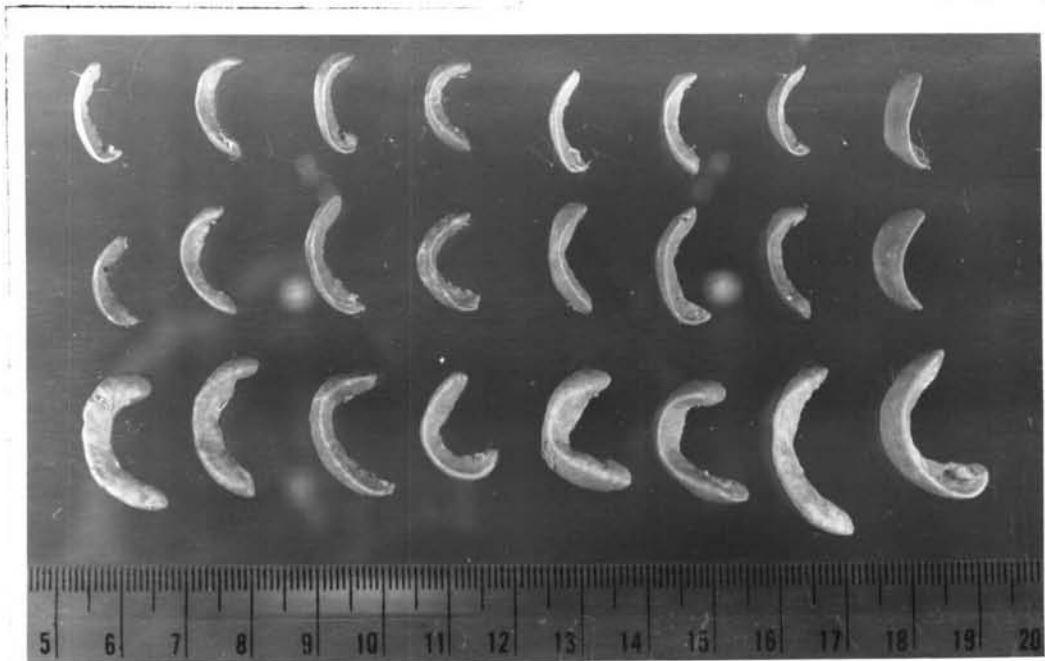
๓.๓.๑ ทดสอบผลของการป้อนน้ำยาสกัดให้แก่หนูพันธุ์สวิสที่ถูกฉีดไวรัสปริมาณ 20 และ 200 FFU/mouse ก่อนและหลังเป็นลิวคีเมีย

ได้ทำการฉีดไวรัสปริมาณ 20 และ 200 FFU/mouse เข้าหลอดเลือดดำ ที่หางของหนูพันธุ์สวิสทั้งสองเพศอายุ ๖-๘ สัปดาห์ ปริมาณละ ๔๔ ตัว จากนั้นแบ่งหนูทั้ง ๒ พวก ออกเป็น ๔ กลุ่ม ๆ ละ ๒๐ ตัว (เพศผู้ ๑๐ ตัว และเพศเมีย ๑๐ ตัว) ได้แก่กลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น ที่ใช้สกัดยาก่อนและหลังเป็นลิวคีเมีย (Control groups) ๒ กลุ่ม และกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดจาก ส่วนของต้น เจริงอกปลาหมอบที่ให้ผลในการรักษาลิวคีเมียมากที่สุดคือส่วนรากของต้น เจริงอกปลาหมอบ (ผลจากการทดลอง ๓.๒) ก่อนและหลังเป็นลิวคีเมียอีก ๒ กลุ่ม ส่วนหนูที่เหลือหลังฉีดไวรัส ๔ วัน ในปริมาณละ ๔ ตัวนั้น ได้ฆ่าเพื่อดูขนาดของม้ามโดยทำการเปรียบเทียบกับม้ามของหนูปกติ (รูปที่ ๒๐)

ในระหว่างช่วงการทดลอง ๔ สัปดาห์ได้ทำการตรวจนับอัตราการตายของหนูใน แต่ละกลุ่มปรากฏว่าจำนวนหนูในพวกที่ ๑ ซึ่งถูกฉีดไวรัสปริมาณ 20 FFU/mouse และได้รับการ ป้อนน้ำยาสกัดจากราก เจริงอกปลาหมอบก่อนและหลังเป็นลิวคีเมียเหลือเท่ากับ ๑๔ และ ๑๐ ตัวในขณะที่ กลุ่ม controls เหลือเพียง ๓ และ ๒ ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ ๘) ส่วนจำนวนหนูในพวกที่ ๒ ซึ่งถูกฉีดไวรัสปริมาณ 200 FFU/mouse และได้รับการป้อนน้ำยาสกัดเช่นเดียวกับพวกที่ ๑ เหลือ เท่ากับ ๑๐ และ ๔ ตัว ในขณะที่กลุ่ม controls เหลือเพียงกลุ่มละ ๒ ตัวเท่านั้น (ตารางที่ ๙) ดังนั้นหนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดทุกกลุ่มจึงมีชีวิตรอดมากกว่ากลุ่ม control โดยมีอัตราการรอดประมาณ ๔๕-๗๐% และเมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม control ปรากฏว่า



รูปที่ 19 : ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่พบได้ในตับของหนูที่เป็นลิวิซีเมียและถูกป้อนด้วยน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ ซึ่งแสดงภาวะการเกิด vacuolar degeneration (H&E x 100)



รูปที่ 20 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 20 และ 200 FFU/mouse เข้าตลอดชีวิตเป็นเวลา 9 วัน
 แถวบน ขนาดม้ามของหนูปกติ
 แถวกลาง ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 20 FFU/mouse
 แถวล่าง ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse

ตารางที่ 8 แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวติเมียโดย FV ในปริมาณ 20 FFU/mouse หลังจากเข้าป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ก. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดก่อนเป็นลิวติเมีย

สารที่ได้รับ ในวันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	20	20	17	14	10	7	3	15	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	18	14	14	14	14	70	P < 0.005

ข. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดหลังเป็นลิวติเมีย

สารที่ได้รับ หลังจากฉีดไวรัส 9 วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	20	20	19	17	15	8	2	10	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ	20	20	20	20	19	19	15	11	10	50	P < 0.01

*เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวติเมียโดย FV ในปริมาณ 200 FFU/mouse หลังจากที่ย้อมน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาวงมอเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
 ก. เมื่อย้อมน้ำยาสกัดก่อนเป็นลิวติเมีย

สารที่ได้รับ ในวันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	19	19	17	15	12	9	2	10	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาวงมอ	20	20	20	20	18	16	13	11	10	50	P < 0.01

ข. เมื่อย้อมน้ำยาสกัดหลังเป็นลิวติเมีย

สารที่ได้รับ หลังจากฉีดไวรัส 9 วัน	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	20	20	19	15	13	10	7	2	10	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาวงมอ	20	20	20	18	13	11	10	10	9	45	P < 0.05

*เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ฆ่าและผ่าซากหนูที่รอดชีวิตทั้งหมด ปรากฏว่าอวัยวะภายในอื่น ๆ เป็นปกติและขนาดของม้ามในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดโดยเฉลี่ยจะมีขนาดเล็กกว่ากลุ่ม control (รูปที่ ๒๑, ๒๒) แสดงว่าน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอสามารถรักษาลิวคีเมียในหนูทดลองที่ถูกฉีดด้วยไวรัสในปริมาณต่ำและสูงทั้งก่อนและหลัง เป็นลิวคีเมีย

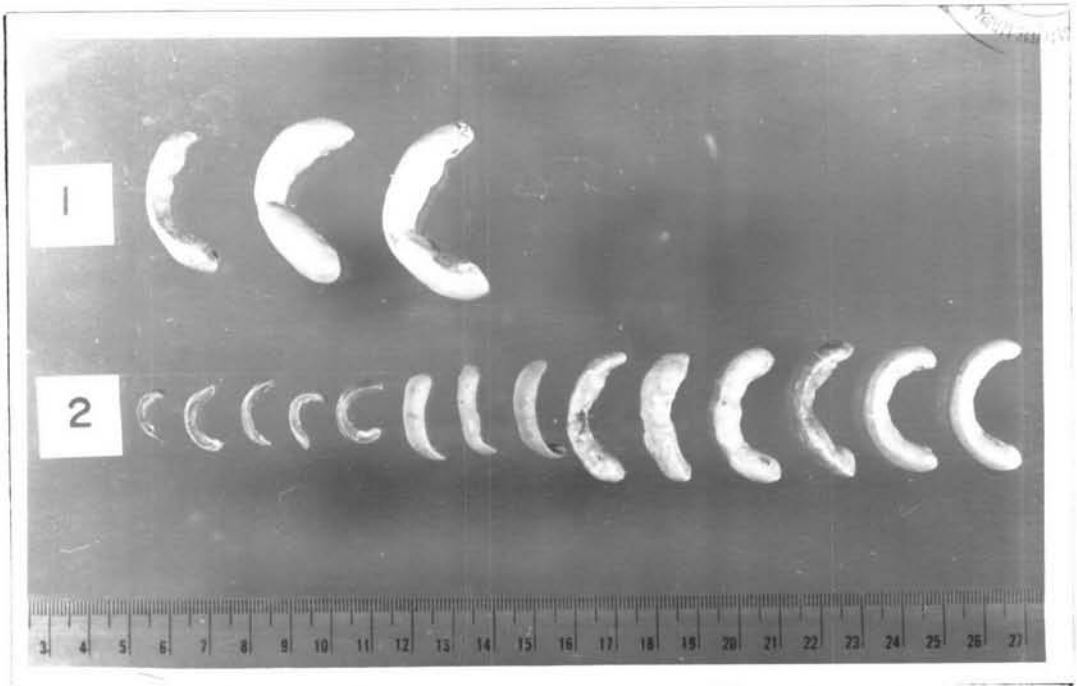
๓.๓.๒ ทดสอบผลของการป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอขนาดต่าง ๆ ซึ่งเตรียมในระยะเวลาต่างกันให้แก่หนูพันธุ์สวิสที่เป็นลิวคีเมีย

ได้ทำการฉีดไวรัสปริมาณ 200 FFU/mouse เข้าหลอดเลือดดำที่หางของหนูพันธุ์สวิสทั้งสองเพศอายุ ๖-๘ สัปดาห์ จำนวน ๑๔๔ ตัว จากนั้นแบ่งหนู ๒๐ ตัว (เพศผู้ ๑๐ ตัว และเพศเมีย ๑๐ ตัว) เพื่อป้อนน้ำกลั่นที่โซลกลิตยา (Control group) ส่วนที่เหลือแบ่งเป็น ๒ พวกเท่า ๆ กันคือพวกที่ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอซึ่งเตรียมขึ้นใช้ทุกวัน และพวกที่เตรียมขึ้นใช้สัปดาห์ละครั้ง นอกจากนี้หนูในแต่ละพวกยังแบ่งย่อยออกเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๒๐ ตัว (เพศผู้ ๑๐ ตัว และเพศเมีย ๑๐ ตัว) กลุ่มแรกป้อนน้ำยาสกัดดังกล่าวในขนาดที่ใช้ทดลองได้ผลในการรักษาคือ 0.0133 g dry wt./mouse/day และอีก ๒ กลุ่มป้อนน้ำยาสกัดที่ถูกทำให้เจือจางในอัตราส่วน ๑:๔ (เท่ากับ 0.0033 g dry wt./mouse/day) และ ๑ : ๑๖ (เท่ากับ 0.00083 g dry wt./mouse/day) ตามลำดับ โดยเริ่มป้อนน้ำยาสกัดตั้งแต่วันที่ฉีดไวรัส สำหรับหนูที่เหลือ ๔ ตัวได้ฆ่าและผ่าซากเพื่อดูขนาดของม้ามหลังจากฉีดไวรัสแล้ว ๔ วัน โดยทำการเปรียบเทียบกับม้ามของหนูปกติ (รูปที่ ๒๓)

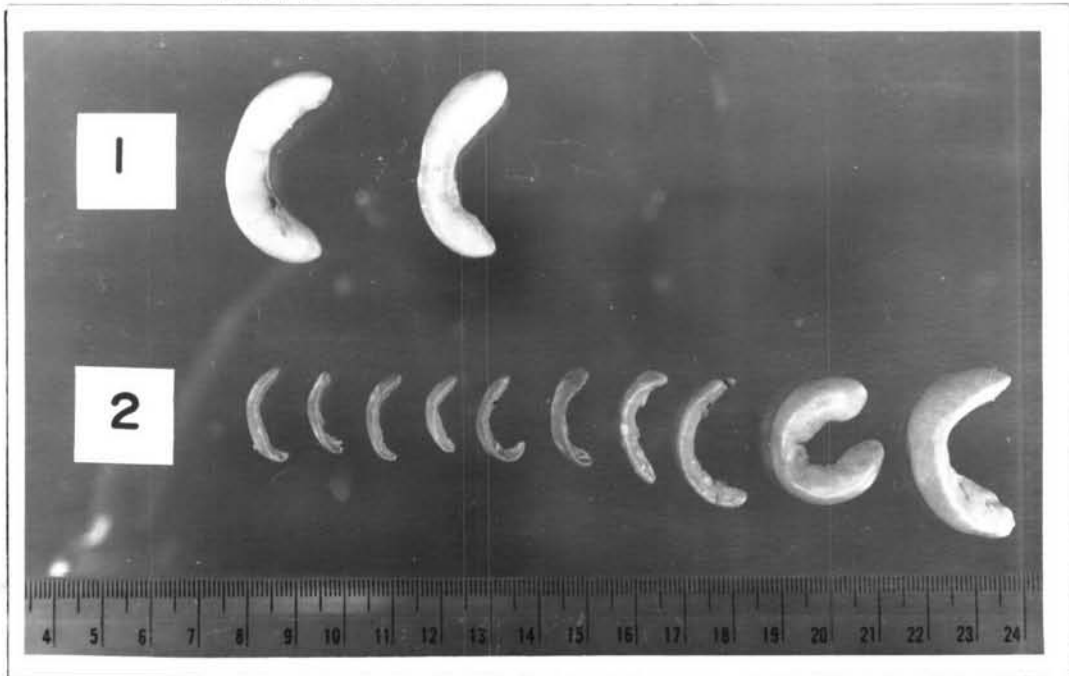
ระหว่างการทดลองได้ทำการตรวจนับอัตราการตายของหนูในแต่ละกลุ่มปรากฏว่าหนูในกลุ่ม control นั้นตายหมดภายในระยะเวลา ๔ สัปดาห์ ส่วนกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอจะยังคงเหลือหนูรอดตายไปเรื่อย ๆ จนครบ ๔ สัปดาห์ หนูพวกที่ได้รับการป้อนน้ำยาสกัดที่เตรียมขึ้นใช้ทุกวันในขนาดต่าง ๆ จะเหลือเท่ากับ ๑๕, ๔ และ ๓ ตัวตามลำดับ ในขณะที่หนูพวกที่ได้รับการป้อนน้ำยาสกัดดังกล่าวที่เตรียมขึ้นใช้สัปดาห์ละครั้งเหลือเท่ากับ ๑๔, ๔ และ ๓ ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ ๑๐) ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นแสดงว่าอัตราการตายของหนูในกลุ่มที่ป้อนน้ำยาสกัดแตกต่างกันไปตามขนาดของน้ำยาสกัดที่ป้อนให้แก่หนูทดลอง โดยที่อัตราการรอดของหนูที่ถูกป้อนด้วยน้ำยา

รูปที่ 21 แสดงขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 20 FFU/mouse หลังจากที่ย้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

- ก. เมื่อย้อนน้ำยาสกัดก่อนเป็นลิวติเมีย
 - แถวที่ 1 ย้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา
 - แถวที่ 2 ย้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ

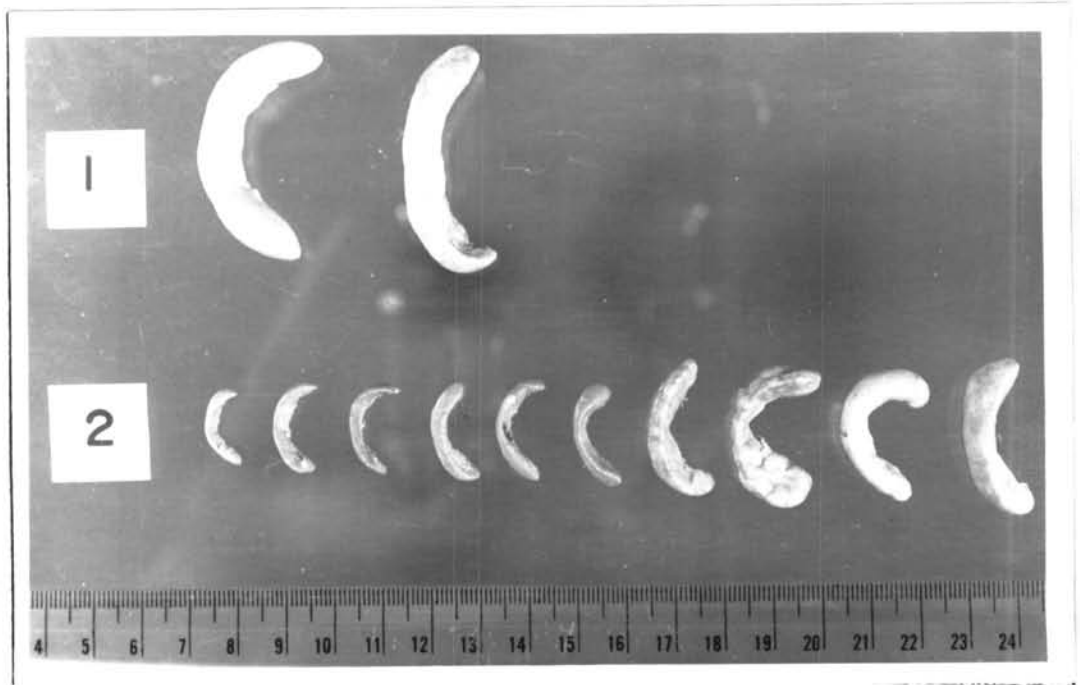


- ข.. เมื่อย้อนน้ำยาสกัดหลังเป็นลิวติเมีย
 - แถวที่ 1 ย้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา
 - แถวที่ 2 ย้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ

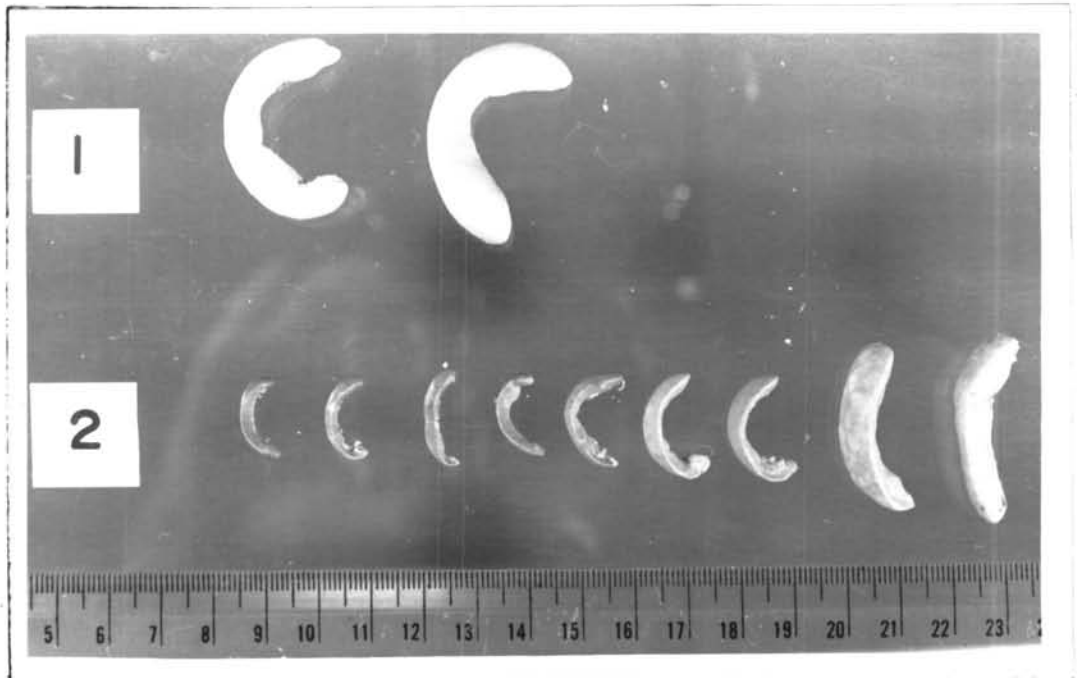


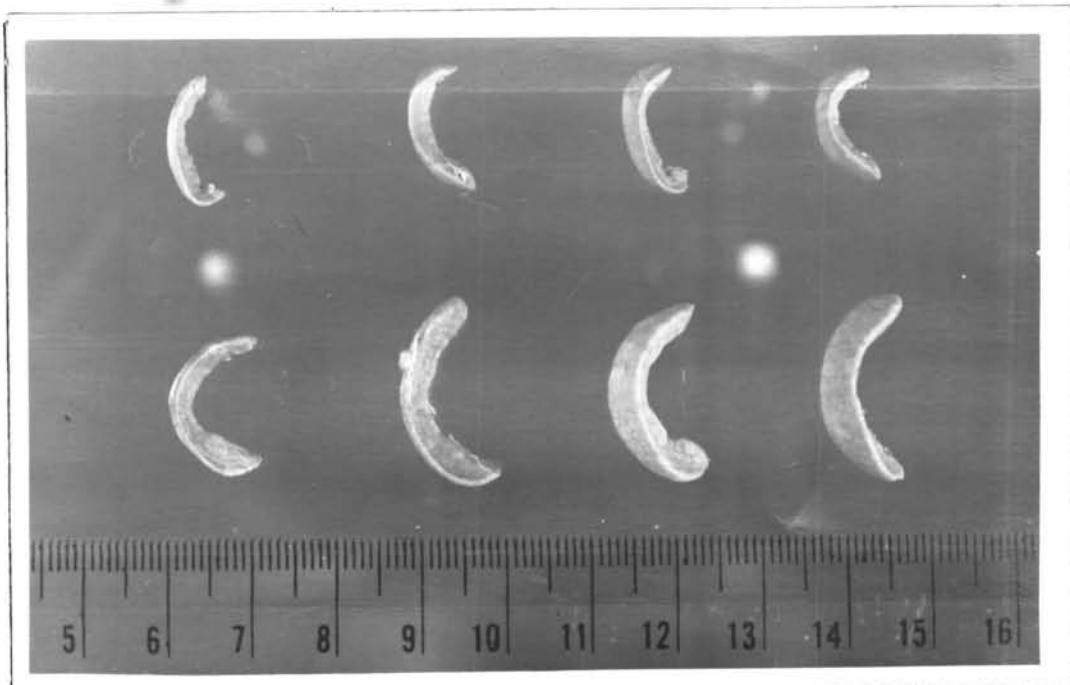
รูปที่ 22 แสดงขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse หลังจากที่ย้อนน้ำยา
สกัดจากราก เหงือกปลาหมอ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

- ก. เมื่อย้อนน้ำยาสกัดก่อน เป็นลิวติเมีย
 - แถวที่ 1 ย้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา
 - แถวที่ 2 ย้อนน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอ



- ข. เมื่อย้อนน้ำยาสกัดหลัง เป็นลิวติเมีย
 - แถวที่ 1 ย้อนน้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา
 - แถวที่ 2 ย้อนน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอ





รูปที่ 23 แสดงขนาดม้ามของหนูพันธุ์สวิสที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse
เข้าหลอดเลือดดำเป็นเวลา 9 วัน
แถวบน ขนาดม้ามของหนูปกติ
แถวล่าง ขนาดม้ามของหนูที่ถูกฉีดไวรัสในปริมาณ 200 FFU/mouse

ตารางที่ 10

แสดงอัตราการอยู่รอดของหนูพันธุ์สวิสที่เป็นสัตว์เมียหลังจากป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอในขนาดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ก. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดที่เตรียมขึ้นใช้ทุกวัน

สารที่ได้รับ ในวันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	18	12	9	5	0	0	0	0	0	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอที่เตรียม ขึ้นใช้ทุกวัน											
ขนาด 0.0133 g dry wt./mouse/day	20	20	20	20	20	19	19	17	15	75	P < 0.005
ขนาด 0.0033 g dry wt./mouse/day	20	20	18	16	16	9	7	5	4	20	P < 0.05
ขนาด 0.00083g dry wt./mouse/day	20	20	16	14	12	10	8	5	3	15	P > 0.05

ข. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดที่เตรียมขึ้นใช้สัปดาห์ละครั้ง

สารที่ได้รับ ในวันแรกที่ฉีดไวรัส	จำนวนหนูเมื่อ เริ่มการทดลอง	จำนวนหนูหลังจากการให้ยา(สัปดาห์)								อัตราการ อยู่รอด(%)	ค่าความน่าจะเป็น* (P-value)
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1. น้ำกลั่นที่ใช้สกัดยา	20	18	12	9	5	0	0	0	0	0	
2. น้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอที่เตรียม ขึ้นใช้สัปดาห์ละครั้ง											
ขนาด 0.0133 g dry wt./mouse/day	20	20	20	20	18	18	17	16	14	70	P < 0.005
ขนาด 0.0033 g dry wt./mouse/day	20	20	20	18	17	10	6	4	4	20	P < 0.05
ขนาด 0.00083g dry wt./mouse/day	20	20	19	16	11	6	4	3	3	15	P > 0.05

*เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1

สกัดขนาด 0.0133 g dry wt./mouse/day ซึ่งเป็นขนาดที่ใช้ทดลองในการรักษาตั้งแต่เริ่มแรกนั้นมีปริมาณสูงถึง ๗๐-๗๕% และได้ทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม controls ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.005$) และน้ำยาสกัดที่มีขนาดต่ำรองลงมาคือ 0.0033 g dry wt./mouse/day จะมีหนูที่รอดชีวิตจำนวน ๔ ตัว ซึ่งเมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test ก็ปรากฏว่ามีความแตกต่างจากกลุ่ม controls อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($P < 0.05$) ส่วนน้ำยาสกัดขนาดต่ำสุดคือ 0.00083 g dry wt./mouse/day ซึ่งมีหนูที่รอดชีวิตเพียง ๓ ตัว เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ X^2 -test เปรียบเทียบกับกลุ่ม controls เช่นกัน ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อทำการฆ่าหนูที่รอดชีวิตและผ่าซากเพื่อตรวจดูอวัยวะภายในและขนาดของม้ามปรากฏว่าไม่พบพยาธิสภาพของอวัยวะภายในเกิดขึ้น ส่วนขนาดม้ามของหนูที่ถูกป้อนน้ำยาสกัดขนาด 0.0133 g dry wt./mouse/day ทั้งที่เตรียมขึ้นใช้ทุกวันและเตรียมใช้สัปดาห์ละครั้งจะมีขนาดโตมากเพียง ๑ และ ๒ ตัวตามลำดับ ที่เหลือนอกนั้นจะมีขนาดเล็กลงเกือบเท่าขนาดปกติ ส่วนน้ำยาสกัดที่มีขนาดต่ำกว่านี้คือ 0.0033 และ 0.00083 g dry wt./mouse/day ปรากฏว่าม้ามมีขนาดโตกลุ่มละ ๑ และ ๒ ตัว (รูปที่ ๒๔) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขนาดของน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ ทั้งที่เตรียมขึ้นใช้ทุกวันและเตรียมใช้สัปดาห์ละครั้งให้ผลในการรักษาลิวติเมียในหนูทดลองที่ทำให้เกิดโรคด้วย FV ในปริมาณ 200 FFU/mouse มี ๒ ขนาด ได้แก่ 0.0133 และ 0.0033 g dry wt./mouse/day แต่ขนาดที่ให้ผลได้ดีที่สุดคือ 0.0133 g dry wt./mouse/day

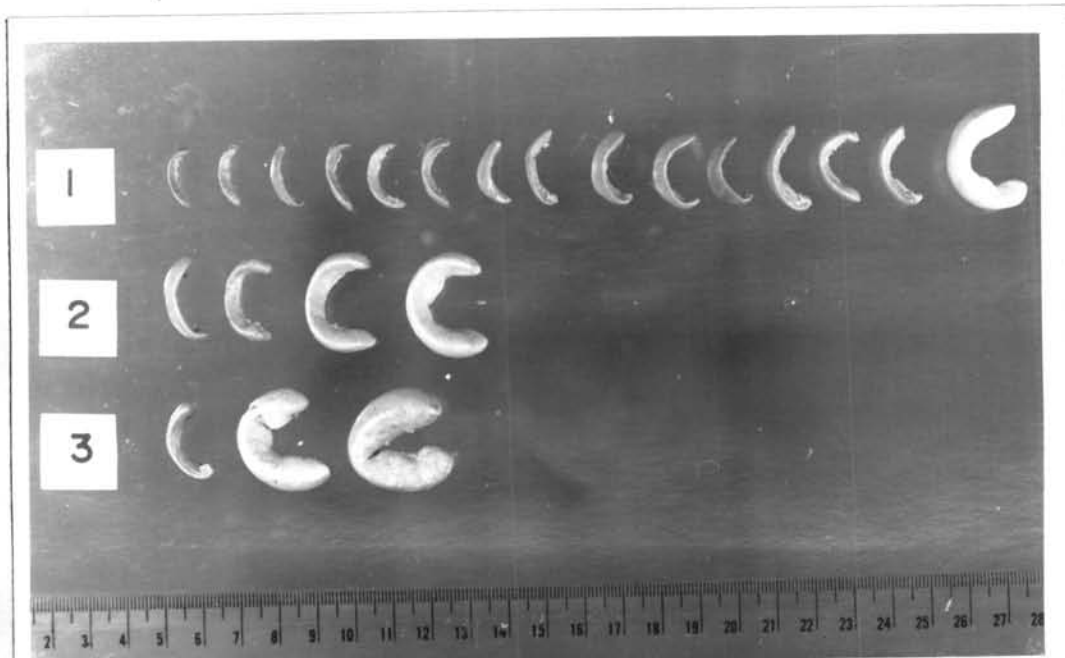
รูปที่ 24 แสดงขนาดขี้มของหนูที่เป็นลิวซีเมียหลังจากที่ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอ
ในขนาดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ก. เมื่อป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอที่เตรียมขึ้นใช้ทุกวัน

แถวที่ 1: ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอในขนาด 0.0133 g dry wt./
mouse/day

แถวที่ 2: ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอในขนาด 0.0033 g dry wt./
mouse/day

แถวที่ 3: ป้อนน้ำยาสกัดจากรากเหงือกปลาหมอในขนาด 0.00083 g dry wt./
mouse/day



ข: เมื่อบีบน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอที่เตรียมขึ้นใช้สัปดาห์ละครั้ง

แถวที่ 1 บีบน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอในขนาด 0.0133 g dry wt./ mouse/day

แถวที่ 2 บีบน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอในขนาด 0.0033 g dry wt./ mouse/day

แถวที่ 3 บีบน้ำยาสกัดจากราก เหงือกปลาหมอในขนาด 0.00083 g dry wt./ mouse/day

