



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

การศึกษานี้แสดงผลการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลซึ่งจะนำเสนอเป็น 2 ส่วน คือ

- 1 ค่าเคมีคลินิกโดยวิเคราะห์ข้อมูลและนำเสนอในรูปแบบตารางแสดงผลการทดลอง
- 2 ผลทางจุลพยาธิวิทยาแสดงเป็นภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์

#### 1 ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกต่อการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลในระยะเฉียบพลัน

##### 1.1 เอนไซม์ AST และ ALT

พบว่าหนูขาวกลุ่มเอทานอลทำให้ระดับของเอนไซม์ AST และ ALT เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกะเม็ง 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัมสามารถลดระดับเอนไซม์ ALT ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล ในขณะที่หนูขาวกลุ่มที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และซีโลมาริน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับของเอนไซม์ทั้ง AST และ ALT เมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล โดยมีระดับเอนไซม์ AST 47.40 – 64.19 U/L และ ALT 15.19 – 25.37 U/L ดังที่แสดงข้อมูลในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการวัดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	AST(U/L)	ALT(U/L)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	47.40 ± 2.51	16.27 ± 0.43
เอทานอล (5 g/kg)	64.19 ± 4.91*	25.37 ± 2.36*
กะเม็ง (10 mg/kg)	53.65 ± 2.73	18.90 ± 0.92 <sup>#</sup>
กะเม็ง (20 mg/kg)	53.00 ± 2.65	19.50 ± 1.05 <sup>#</sup>
กะเม็ง (30 mg/kg)	47.87 ± 3.08 <sup>#</sup>	15.92 ± 0.48 <sup>#</sup>
ซีโลมาริน (5 mg/kg)	50.81 ± 1.10 <sup>#</sup>	18.97 ± 0.48 <sup>#</sup>

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P < 0.05 (เทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ)

# แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P < 0.05 (เทียบกับกลุ่มเอทานอล)

### 1.2 ซิริม์ไตรกลีเซอไรด์

พบว่าทุกกลุ่มที่ทำการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันของระดับซิริม์ไตรกลีเซอไรด์ โดยมีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 56.55 – 111.36 mg/dl ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการวัดระดับซิริม์ไตรกลีเซอไรด์ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	ซิริม์ไตรกลีเซอไรด์(mg/dl)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	56.55 ± 7.55
เอทานอล (5 g/kg)	108.08 ± 9.92
กะเม็ง (10 mg/kg)	95.12 ± 8.37
กะเม็ง (20 mg/kg)	103.23 ± 17.67
กะเม็ง (30 mg/kg)	91.86 ± 21.37
ซีโลมารีน (5 mg/kg)	111.36 ± 9.97

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

### 1.3 ไตรกลีเซอไรด์ในตับ

จากการศึกษาพบว่าทุกกลุ่มมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในตับไม่มีความแตกต่างกัน โดยระดับของไตรกลีเซอไรด์ในตับอยู่ระหว่าง 11.31 – 17.75 mg/g liver ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	ไตรกลีเซอไรด์ในตับ (mg/g liver)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	13.71 ± 1.31
เอทานอล (5 g/kg)	17.02 ± 3.89
กะเม็ง (10 mg/kg)	12.91 ± 2.13
กะเม็ง (20 mg/kg)	17.75 ± 3.30
กะเม็ง (30 mg/kg)	11.31 ± 1.50
ซีโลมารีน (5 mg/kg)	11.81 ± 2.21

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

#### 1.4 Malondialdehyde(MDA)

จากการศึกษาพบว่าทุกกลุ่มมีระดับของ MDA ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 13.76 – 15.33 nmol/g liver ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการวัดระดับ MDA ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	MDA(nmol/g liver)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	13.76 ± 1.45
เอทานอล (5 g/kg)	15.33 ± 0.64
กะเม็ง (10 mg/kg)	14.55 ± 0.75
กะเม็ง (20 mg/kg)	14.88 ± 1.16
กะเม็ง (30 mg/kg)	14.27 ± 1.28
ซีโลมาริน (5 mg/kg)	14.95 ± 0.78

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

#### 1.5 Glutathione(GSH)

พบว่าทุกกลุ่มที่ศึกษามีระดับของ GSH ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 3.83 – 5.47  $\mu$ mol/g liver ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดระดับ GSH ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	GSH( $\mu$ mol/g liver)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	5.47 ± 0.41
เอทานอล (5 g/kg)	3.83 ± 0.36
กะเม็ง (10 mg/kg)	4.86 ± 0.37
กะเม็ง (20 mg/kg)	5.18 ± 0.47
กะเม็ง (30 mg/kg)	4.46 ± 0.24
ซีโลมาริน (5 mg/kg)	4.98 ± 0.52

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

1.6 TNF- $\alpha$ 

ระดับของ TNF- $\alpha$  ในทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 33.45 – 42.18 pg/ml ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดระดับ TNF- $\alpha$  ในซีรัม ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	33.45 $\pm$ 1.43
เอทานอล (5 g/kg)	40.59 $\pm$ 1.53
กะเม็ง (10 mg/kg)	38.19 $\pm$ 2.46
กะเม็ง (20 mg/kg)	42.18 $\pm$ 5.65
กะเม็ง (30 mg/kg)	36.38 $\pm$ 2.39
ซีไลมาริน (5 mg/kg)	38.09 $\pm$ 3.18

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

1.7 IL-1 $\beta$ 

ระดับของ IL-1 $\beta$  ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีระดับของ IL-1 $\beta$  ระหว่าง 63.00 – 93.38 pg/ml ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลการวัดระดับ IL-1 $\beta$  ในซีรัม ระยะเฉียบพลัน; n = 8

กลุ่ม	IL-1 $\beta$ (pg/ml)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	72.38 $\pm$ 9.31
เอทานอล (5 g/kg)	93.38 $\pm$ 10.53
กะเม็ง (10 mg/kg)	78.50 $\pm$ 6.87
กะเม็ง (20 mg/kg)	66.13 $\pm$ 9.19
กะเม็ง (30 mg/kg)	63.00 $\pm$ 5.01
ซีไลมาริน (5 mg/kg)	63.75 $\pm$ 5.46

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

## 2 ผลการตรวจทางค่าเคมีคลินิกต่อการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอลในระยะกึ่งเฉียบพลัน

### 2.1 เอนไซม์ AST และ ALT

กลุ่มเอทานอลพบว่าระดับของเอนไซม์ AST และ ALT เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกะเม็ง, ซิโลมาริน, สารสกัดกะเม็งร่วมกับซิลโลมารินและกลุ่มของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วันแล้วดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ อีก 7 วัน พบว่าสามารถลดระดับเอนไซม์ทั้งสองได้เมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล โดยมีระดับเอนไซม์ AST ระหว่าง 34.41-53.12 U/L และ ALT 15.99 – 26.66 U/L ดังที่แสดงข้อมูลในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงผลการวัดระดับเอนไซม์ AST และ ALT ระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	AST(U/L)	ALT(U/L)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	34.22 ± 1.07	17.06 ± 0.20
เอทานอล (4 g/kg)	53.12 ± 3.62*	26.66 ± 1.74*
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	35.48 ± 0.37 <sup>#</sup>	15.99 ± 0.86 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg)+ ซิลโลมาริน (5 mg/kg)	34.41 ± 2.79 <sup>#</sup>	18.51 ± 1.15 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซิลโลมาริน (2.5 mg/kg)]	34.61 ± 1.92 <sup>#</sup>	17.06 ± 1.60 <sup>#</sup>
เอทานอล**	37.51 ± 1.391 <sup>#</sup>	16.57 ± 1.18 <sup>#</sup>

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  (เทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ)

# แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  (เทียบกับกลุ่มเอทานอล)

หมายเหตุ เอทานอล\*\* หมายถึงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน

## 2.2 ซีรัมไตรกลีเซอไรด์

ระดับของซีรัมไตรกลีเซอไรด์ทั้งในกลุ่มหนูขาวปกติและกลุ่มทดลองอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 85.83 – 140.35 mg/dl ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลการวัดระดับซีรัมไตรกลีเซอไรด์ระยะถึงเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	ซีรัมไตรกลีเซอไรด์(mg/dl)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	100.00 ± 17.75
เอทานอล (4 g/kg)	140.35 ± 12.39
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	118.08 ± 22.16
เอทานอล (4 g/kg) + ซีโลมารีน (5 mg/kg)	85.83 ± 23.51
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซีโลมารีน (2.5 mg/kg)]	95.50 ± 11.61
เอทานอล **	128.50 ± 11.57

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

หมายเหตุ เอทานอล \*\* หมายถึงหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน

### 2.3 ไตรกลีเซอไรด์ในตับ

ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในตับเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ ส่วนกลุ่มทดลองอื่นๆไม่มีความแตกต่างกัน ระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับอยู่ระหว่าง 19.41 – 42.00 mg/g liver ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงผลการวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	ไตรกลีเซอไรด์ในตับ (mg/g liver)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	19.41 ± 4.69
เอทานอล (4 g/kg)	42.00 ± 5.59 *
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	24.12 ± 4.08
เอทานอล (4 g/kg) + ซิโลมารีน (5 mg/kg)	23.93 ± 8.58
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซิโลมารีน (2.5 mg/kg)]	21.58 ± 3.43
เอทานอล **	23.61 ± 1.88

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  (เทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ)

หมายเหตุ เอทานอล \*\* หมายถึงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติเป็นเวลา 7 วัน

#### 2.4 Malondialdehyde(MDA)

พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน มีระดับของ MDA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกะเม็ง, ชิไลมาริน, สารสกัดกะเม็งร่วมกับชิไลมาริน สามารถลดระดับของ MDA เมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล ส่วนกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วันแล้วดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ นั้น MDA ไม่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอล ระดับ MDA มีความเข้มข้นช่วงระหว่าง 9.99 – 13.77 nmol/g liver ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงผลการวัดระดับ MDA ระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	MDA(nmol/g liver)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	9.99 ± 0.57
เอทานอล (4 g/kg)	13.77 ± 0.49 <sup>*</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	9.72 ± 0.55 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + ชิไลมาริน (5 mg/kg)	11.00 ± 0.41 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ชิไลมาริน (2.5 mg/kg)]	10.50 ± 0.34 <sup>#</sup>
เอทานอล <sup>**</sup>	12.17 ± 0.40

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P < 0.05 (เทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ)

# แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P < 0.05 (เทียบกับกลุ่มเอทานอล)

หมายเหตุ เอทานอล<sup>\*\*</sup> หมายถึงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน



## 2.5 Glutathione(GSH)

พบว่าระดับ GSH ทั้งในกลุ่มหนูขาวปกติและกลุ่มทดลองอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความเข้มข้นระหว่าง 5.67 – 6.97  $\mu\text{mol/g liver}$  ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงผลการวัดระดับ GSH ระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	GSH( $\mu\text{mol/g liver}$ )
หนูขาวปกติ (นำกลั่น)	$6.66 \pm 0.20$
เอทานอล (4 g/kg)	$5.84 \pm 0.20$
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	$6.48 \pm 0.27$
เอทานอล (4 g/kg) + ซีไลมารีน (5 mg/kg)	$6.32 \pm 0.46$
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซีไลมารีน (2.5 mg/kg)]	$6.97 \pm 0.34$
เอทานอล**	$5.67 \pm 0.33$

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

หมายเหตุ เอทานอล\*\* หมายถึงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน

2.6 TNF- $\alpha$ 

ระดับของ TNF- $\alpha$  ทั้งในกลุ่มหนูขาวปกติและกลุ่มทดลองอื่นๆไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีระดับของ TNF- $\alpha$  อยู่ระหว่าง 34.80 – 68.35 pg/ml ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงผลการวัดระดับ TNF- $\alpha$  ระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	36.62 $\pm$ 4.00
เอทานอล (4 g/kg)	68.35 $\pm$ 28.50
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	36.03 $\pm$ 3.43
เอทานอล (4 g/kg) + ซีโลมารีน (5 mg/kg)	34.80 $\pm$ 3.04
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซีโลมารีน (2.5 mg/kg)]	37.13 $\pm$ 1.29
เอทานอล **	39.55 $\pm$ 2.57

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

หมายเหตุ เอทานอล \*\* หมายถึงหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน

2.7 IL-1 $\beta$ 

จากการศึกษาพบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกะเม็ง, ซิไลมารินและสารสกัดกะเม็งร่วมกับซิไลมารินสามารถลดระดับของ IL-1 $\beta$  เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน โดยมีระดับของ IL-1 $\beta$  ระหว่าง 53.00 – 88.33 pg/ml ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงผลการวัดระดับ IL-1  $\beta$  ระยะกึ่งเฉียบพลัน; n = 6

กลุ่ม	IL-1 $\beta$ (pg/ml)
หนูขาวปกติ (น้ำกลั่น)	67.17 $\pm$ 3.77
เอทานอล (4 g/kg)	88.33 $\pm$ 9.18
เอทานอล (4 g/kg) + กะเม็ง (30 mg/kg)	58.00 $\pm$ 2.67 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + ซิไลมาริน (5 mg/kg)	53.00 $\pm$ 9.54 <sup>#</sup>
เอทานอล (4 g/kg) + [กะเม็ง (15 mg/kg) + ซิไลมาริน (2.5 mg/kg)]	54.33 $\pm$ 5.06 <sup>#</sup>
เอทานอล <sup>**</sup>	75.50 $\pm$ 5.02

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

# แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P < 0.05 (เทียบกับกลุ่มเอทานอล)

หมายเหตุ เอทานอล<sup>\*\*</sup> หมายถึงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน

### 3 ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาต่อการปกป้องตับของสารสกัดกะเม็งในหนูขาวที่ได้รับเอทานอล

เกณฑ์ในการแบ่งระดับของการถูกทำลายเซลล์ตับ คือ บริเวณของการถูกทำลาย จำนวนแถวของเซลล์ตับที่ถูกทำลายรอบๆ central vein ที่มีลักษณะการเกิด centrilobular degeneration, การถูกทำลายของ endothelial cell และ การเกิด fat vacuoles เป็นตัวแบ่งระดับของการถูกทำลายของเซลล์ตับได้ดังนี้

ระดับ 0 เซลล์มีลักษณะปกติ นิวเคลียสกลมมีนิวคลีโอลัสชัดเจนอยู่ตรงกลางเซลล์และมี endothelial cell ลักษณะแบนหรืออยู่รอบๆ central vein

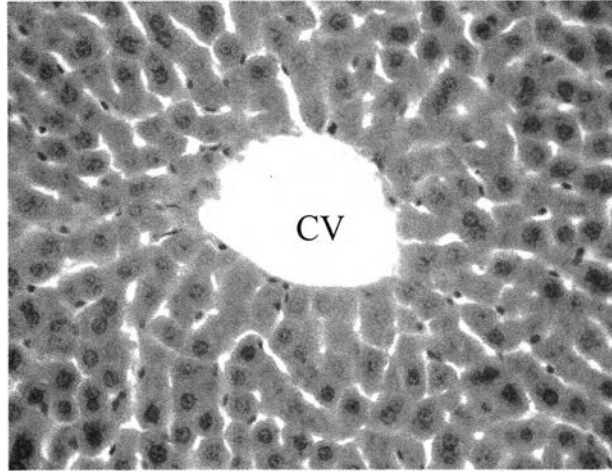
ระดับ 1 (Mild degree) เซลล์ตับรอบๆ central vein 1-2 แถวแรกบางเซลล์เกิดลักษณะ centrilobular degeneration และการหายไปของนิวเคลียส นอกจากนี้อาจมีการทำลายของ endothelial cell ที่อยู่รอบๆ central vein และมีการเกิด fat vacuoles ในเซลล์ตับเล็กน้อย

ระดับ 2 (Moderate degree) เซลล์ตับรอบๆ central vein เกิดการบวม(Swelling) และเกิด periacinar, periportal, midzone intracytoplasmic vacuolar degeneration พบ endothelial cell รอบๆ central vein ถูกทำลายมากขึ้นและมี fat vacuoles ในเซลล์ตับมากขึ้นเมื่อเทียบกับระดับที่ 1

ระดับ 3 (Severe degree) เซลล์ตับรอบๆ central vein ถูกทำลายมากขึ้นจนนิวเคลียสหายไป เซลล์ตับรอบๆ central vein 3-4 แถวแรกเกิด degeneration บาง central vein มีการทำลายของเซลล์ตับไปถึง mid zone และ periportal (Diffuse vacuolar hepatocyte degeneration) endothelial cell รอบๆ central vein ถูกทำลายมากขึ้นรวมทั้งมี vacuoles ในเซลล์ตับมากขึ้นเมื่อเทียบกับระดับ 2 นอกจากนี้อาจพบลักษณะ focal necrosis รวมทั้ง bile duct proliferation ด้วย

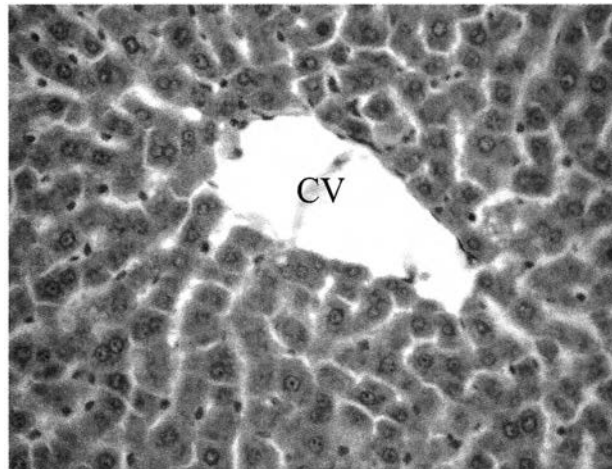
การทดสอบทางจุลพยาธิวิทยา(Histopathological examination) ทำให้สามารถมองเห็นลักษณะของเซลล์ตับที่ถูกทำลาย เช่น การหายไปของนิวเคลียส การเรียงตัวของเซลล์หรือการเกิด vacuolation เป็นต้น โดยในการศึกษารั้งนี้พบว่าพิษของเอทานอลทั้งในระยะเฉียบพลันและระยะกึ่งเฉียบพลันทำให้เกิดการทำลายของเซลล์ตับทั้ง degeneration, necrosis, การบวมของเซลล์(Cell swelling), การเปลี่ยนแปลงของไซโทพลาสซึมในเซลล์ คือ hydropic degeneration และ การเกิด vacuolation โดยใช้เทคนิคตัดแบบแช่แข็ง(Cryostat) ย้อมพิเศษด้วย Oil Red O เพื่อตรวจสอบ fat globule จะติดสีแดงสด(Bright red) พบว่าเซลล์ตับมีการถูกทำลายมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูปกติ การย้อมพิเศษพีเอเอส(Periodic Acid Schiff-PAS) เพื่อดูการกระจายของไกลโคเจนซึ่งจะติดสีแดงม่วง นอกจากนี้ยังพบ active endothelial cells ที่เรียกว่า Kupffer cells อีกด้วย เมื่อให้สารสมุนไพรทั้งกะเม็งและซีโลมารินพบว่าสามารถปกป้องตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอลทั้งในระยะเฉียบพลันและระยะกึ่งเฉียบพลัน ดังแสดงในภาพ ต่อไปนี้

3.1 ผลการทดสอบทางจุลพยาธิวิทยาด้วยการย้อมสี ฮีมาทอกซิดินและอีโอซิน  
(Haematoxylin and Eosin; H&E)



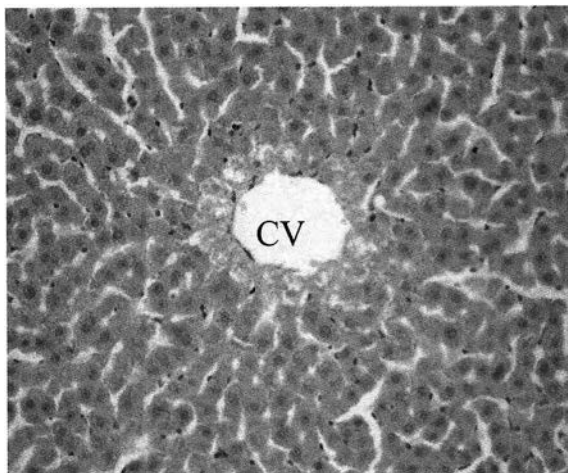
ภาพที่ 8 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวปกติ ระยะเฉียบพลัน(H&E x 400)

เซลล์ตับมีนิวเคลียสกลม hepatic cords เรียงตัวเป็นแนวรัศมีจาก central vein(CV) ลักษณะของ endothelial cells ที่บุรอบๆ central vein และ sinusoids แบบรี(ระดับ 0)

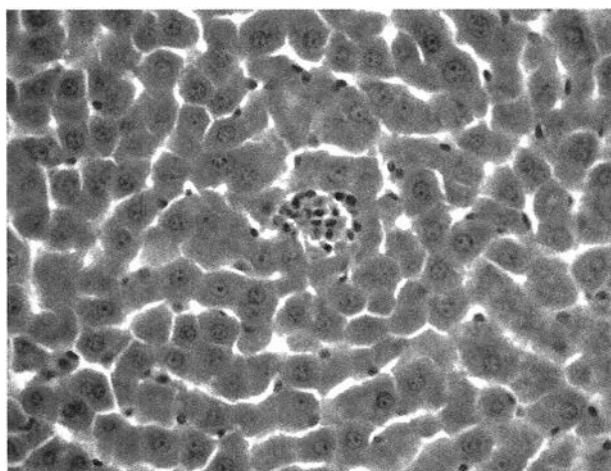


ภาพที่ 9 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวกลุ่มเอทานอล ระยะเฉียบพลัน(H&E x 400)

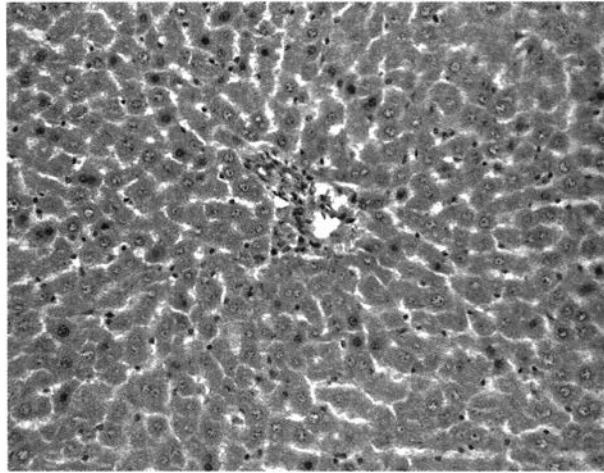
พบลักษณะการขยายเพิ่มขึ้นของ sinusoids เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวปกติ นอกจากนี้ยังพบ vacuole degeneration, endothelial cells ลอกหลุดบริเวณรอบๆ central vein (ระดับ 1)



**ภาพที่ 10** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวกลุ่มเอทานอลระยะกึ่งเฉียบพลัน(H&E x 400) พิษของเอทานอลทำให้เซลล์ตับรอบๆ central vein เกิดลักษณะ endothelial degeneration และ necrosis นอกจากนี้ยังพบการ regeneration ของเซลล์ตับบริเวณใกล้เคียง (ระดับ 1.5)

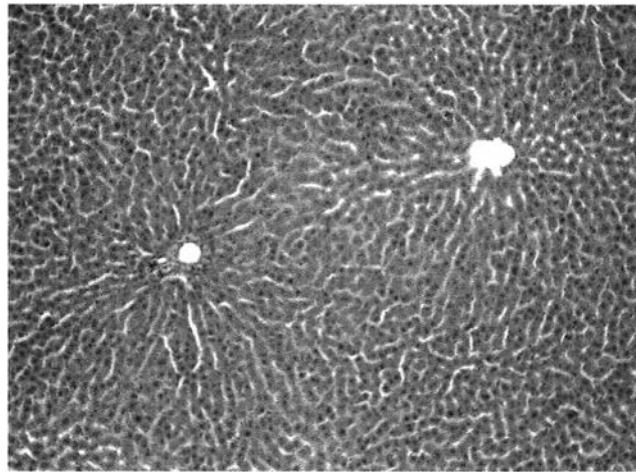


**ภาพที่ 11** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเฉียบพลัน(H&E x 400) พบลักษณะ hydropic degeneration และ focal necrosis(ระดับ 1)



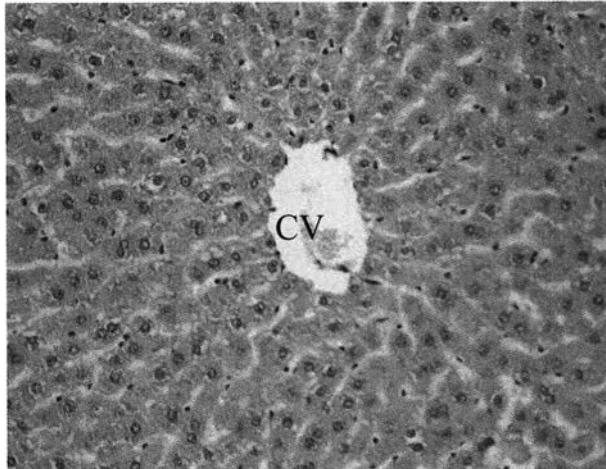
**ภาพที่ 12** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะ  
เฉียบพลัน (H&E x 200)

พบการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของเซลล์ตับด้วย บริเวณ portal area (ระดับ 1)



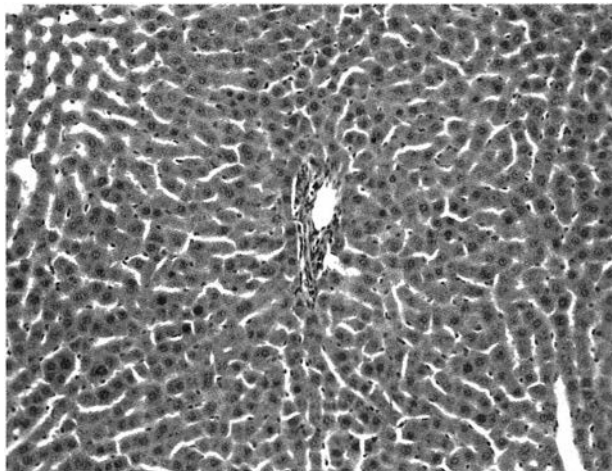
**ภาพที่ 13** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะ  
เฉียบพลัน (H&E x 100)

เซลล์ตับปรับสภาพเป็นปกติโดยดูจากลักษณะการติดสีสม่ำเสมอเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ  
เอทานอล โดยมีการเรียงตัว hepatic cord เป็นรัศมีจาก central vein (ระดับ 0)



ภาพที่ 14 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะกึ่งเฉียบพลัน (H&E x 200)

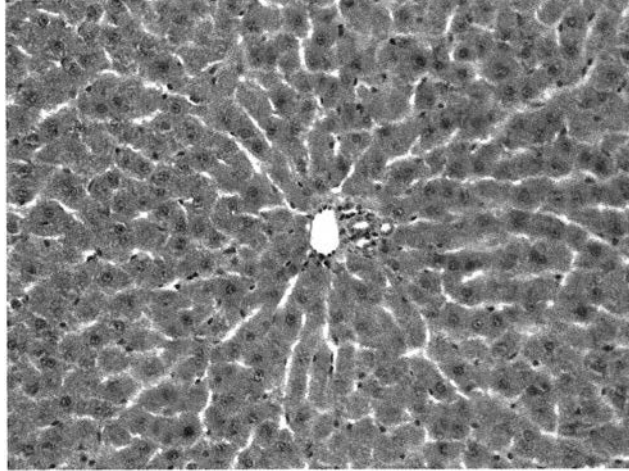
พบลักษณะ vacuolar degeneration และการลอกหลุดของ endothelial cells บริเวณ central vein นอกจากนี้พบว่าไซโตพลาสซึมเริ่ม reversible เมื่อเทียบกับกลุ่มเอทานอลและกลุ่มที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ เป็นเวลา 7 วัน (ระดับ 1)



ภาพที่ 15 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับซีไลมาริน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะเฉียบพลัน (H&E x 200)

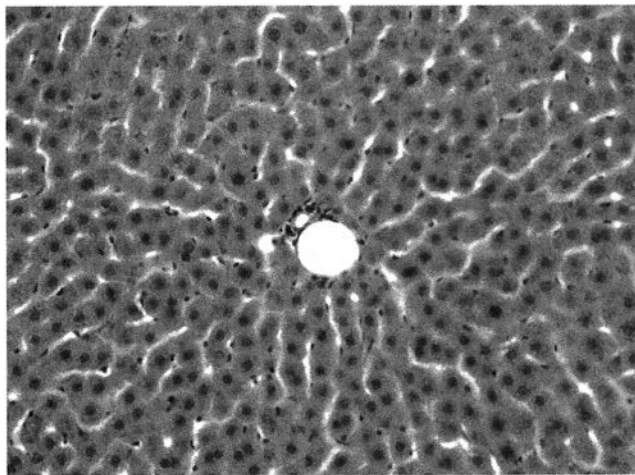
เซลล์ตับติดสีสม่ำเสมอ บริเวณ portal area (ระดับ 0)





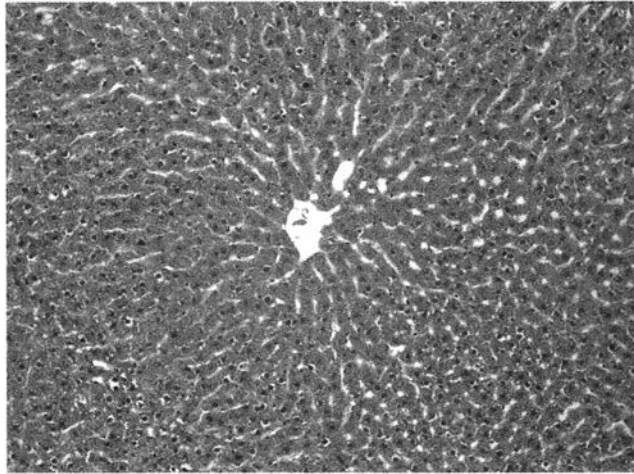
**ภาพที่ 16** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับซีโลมารีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะกึ่งเฉียบพลัน (H&E x 200)

พบลักษณะ cell regeneration บริเวณ portal area(ระดับ 0)



**ภาพที่ 17** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับกะเม็ง 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัมร่วมกับ ซีโลมารีน 2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ระยะกึ่งเฉียบพลัน (H&E x 200)

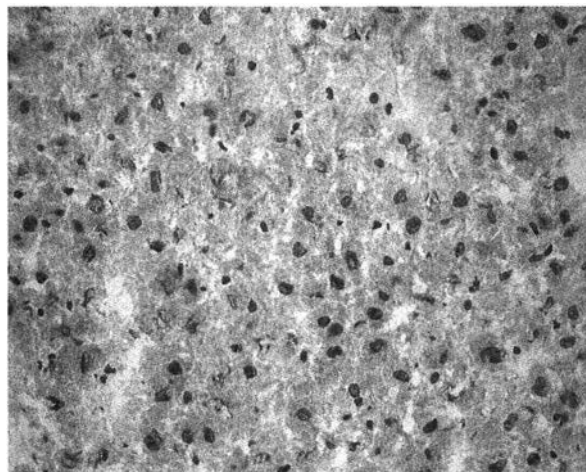
เซลล์ตับทั่วไปปกติและการติดเชื้อสม่ำเสมอ(ระดับ 0)



ภาพที่ 18 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล 21 วัน จากนั้นดูแลให้ได้รับอาหารและน้ำปกติเป็นเวลา 7 วัน(H&E x 100)

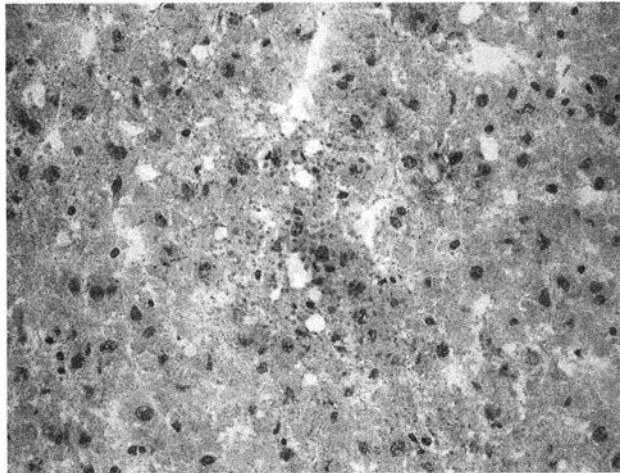
พบลักษณะเซลล์ตับ reversible และ vacuolar degeneration บริเวณ midzonal (ระดับ 1.5)

### 3.2 ผลการทดสอบทางจุลพยาธิวิทยาด้วยการย้อม Oil Red O

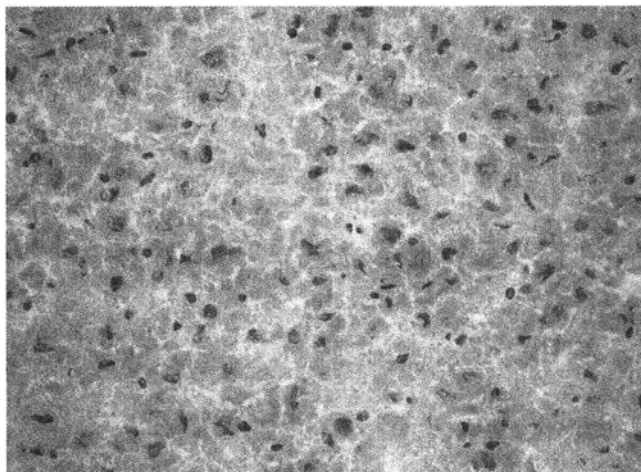


ภาพที่ 19 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวปกติ (Negative Oil Red O x 400)

พบลักษณะเซลล์ตับที่ไม่มีการสะสมของไขมันในตับ

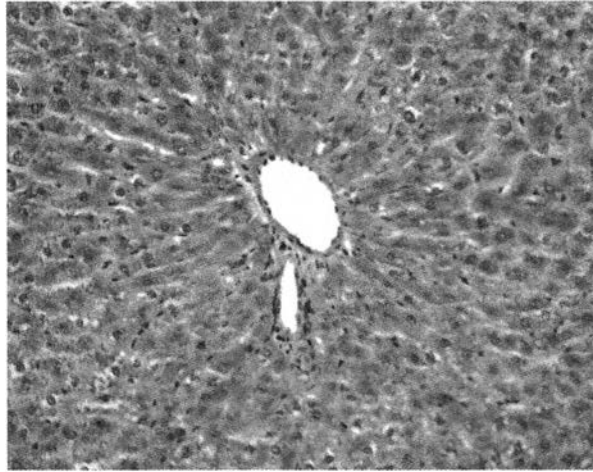


**ภาพที่ 20** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล(Positive Oil Red O x 400)  
พบลักษณะเซลล์ตับที่มีการสะสมของไขมันสีแดงสดในไซโตพลาสซึม(Intracytoplasmic  
red bright lipid color globules) กระจายอยู่เล็กน้อย



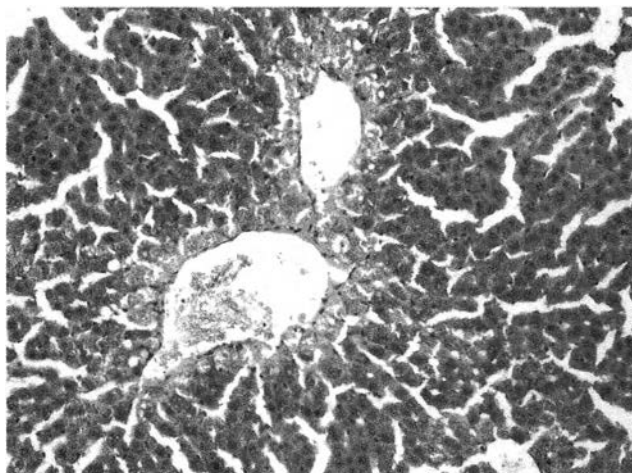
**ภาพที่ 21** แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกะเม็ง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม  
(Negative Oil Red O x 400)  
พบว่าลักษณะเซลล์ตับไม่มีการสะสมของไขมันในไซโตพลาสซึมเทียบเท่ากับกลุ่มหนูขาว  
ปกติ

### 3.3 ผลการทดสอบทางจุลพยาธิวิทยาด้วยการย้อม Periodic Acid Schiff(PAS)



ภาพที่ 22 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวปกติ (PAS x 200)

เซลล์ส่วนมากพบลักษณะการติดสีชมพูแดง(Pink-red color) มีการสะสมของไกลโคเจนกระจายอย่างสม่ำเสมอในไซโตพลาสซึม



ภาพที่ 23 แสดงลักษณะเซลล์ตับของหนูขาวที่ได้รับเอทานอล(PAS x 200)

เซลล์จำนวนน้อยที่ติดสีชมพูแดง(Pink-red color) ของไกลโคเจนในไซโตพลาสซึม และพบลักษณะการติดสีจางแสดงถึงการสะสมไกลโคเจนน้อยกว่ากลุ่มหนูขาวปกติ โดยเฉพาะบริเวณที่เกิด vacuolar degeneration รอบๆ central vein จะติดสีจางมาก