



<https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/index>

บทความวิจัย

ผลของสารสกัดยาบดดอกบัวแดงต่อคุณภาพน้ำเชื้อหนูแรทเพศผู้ที่เหนียวน้ำให้เป็นโรคเบาหวาน โดยการใช้สเตรปโตโซโตซิน

ธีระกุล นิลนนท์¹ ยศวีรศ เสมามิ่ง¹ และ วีระชัย ทองดี^{2*}

¹สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์และการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีและวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี 41000 ประเทศไทย

²สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีและวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี 41000 ประเทศไทย

ข้อมูลบทความ

Article history

รับ: 25 มีนาคม 2568

แก้ไข: 31 กรกฎาคม 2568

ตอบรับการตีพิมพ์: 25 สิงหาคม 2568

ตีพิมพ์ออนไลน์: 29 ธันวาคม 2568

คำสำคัญ

สารสกัดยาบดดอกบัวแดง

ภาวะเบาหวาน

ระดับน้ำตาลในเลือด

คุณภาพน้ำเชื้อ

หนูแรทเพศผู้

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเป็นภาวะเรื้อรังที่ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ โดยมีงานวิจัยระบุว่าภาวะเบาหวานมีผลทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง เกิดความผิดปกติของกระบวนการสร้างอสุจิ ดอกบัวแดงมีสารออกฤทธิ์กลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีศักยภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและลดภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งอาจช่วยบรรเทาผลกระทบของโรคเบาหวานต่อระบบสืบพันธุ์ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโรคเบาหวานในหนูแรทพันธุ์ Wistar เพศผู้ที่เหนียวน้ำด้วยสเตรปโตโซโตซิน (streptozotocin; STZ) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดและคุณภาพน้ำเชื้อ โดยใช้หนูแรทพันธุ์ Wistar เพศผู้ จำนวน 48 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุมปกติ (NMC) กลุ่มเบาหวานควบคุม (DC) กลุ่มเบาหวานที่ได้รับการฉีดอินซูลิน (DI) กลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดยาบดดอกบัวแดง (DPT) กลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดยาบดดอกบัวแดง (DPL) และกลุ่มเบาหวานที่ได้รับกรดกลูติก (DGA) หนูทดลองกลุ่มเบาหวานจะได้รับการเหนียวน้ำให้เป็นเบาหวานด้วยการฉีด STZ ขนาด 50 มก./กก. ทางช่องท้อง หลังจากนั้นได้รับสารเสริมทดลองต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทกลุ่ม NMC มีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด ในขณะที่กลุ่ม DC มีค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดสูงสุด การฉีดอินซูลิน (DI) และการเสริมกรดกลูติก (DGA) สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DC ส่วนคุณภาพของน้ำเชื้อพบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิตและอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงสุด ขณะที่กลุ่ม DPL และ DGA มีอัตราการรอดชีวิตตัว และอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิตัว ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับกลุ่ม DC การศึกษาผลของการเสริมสารสกัดยาบดดอกบัวแดงในหนูแรทที่ถูกเหนียวน้ำให้เป็นโรคเบาหวาน ได้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการให้อินซูลิน และพบว่า การเสริมสารสกัดยาบดดอกบัวแดงสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อของหนูแรท โดยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิต และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เป็นเบาหวาน

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคเมแทบอลิซึมเรื้อรังที่มีลักษณะเด่นคือภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) อันเนื่องมาจากความผิดปกติของการหลั่งอินซูลินหรือการดื้อต่ออินซูลิน ซึ่งสามารถนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนที่ส่งผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย รวมถึงระบบสืบพันธุ์เพศชาย มีรายงานว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานมีคุณภาพน้ำเชื้อลดลง รวมถึงพฤติกรรมทางเพศที่เปลี่ยนแปลงไป (Ukwenya et al., 2015; Scarano et al., 2006) การเหนียวน้ำทำให้เกิดโรคเบาหวานในสัตว์ทดลองโดยใช้สเตรปโตโซโตซิน (STZ) ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดความผิดปกติในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ (Baccetti et al., 2002; Amaral et al., 2006) รวมถึงการลดลงของการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ความเข้มข้นของตัวอสุจิ และความผิดปกติของโครงสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ (Mangoli et al., 2013; Arikawe et al., 2006) เนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ เกิดความไม่สมดุลของระบบ

ออกซิเดชันและสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) ส่งผลให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species ; ROS) ในเนื้อเยื่ออวัยวะ นำไปสู่ความเสียหายของเซลล์สืบพันธุ์ การทำงานผิดปกติของเซลล์ Sertoli และเซลล์ Leydig รวมถึงการกระตุ้นการอักเสบของเนื้อเยื่ออวัยวะ (Dutta et al., 2021) นักวิจัยจึงให้ความสนใจในการใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากพืชเป็นแนวทางในการบรรเทาผลกระทบของโรคเบาหวาน สารสกัดจากดอกบัวแดง (*Nymphaea lotus* Linn.) มีองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์หลายชนิด โดยเฉพาะแอนโธไซยานิน ซึ่งมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดและลดภาวะเครียดออกซิเดชันผ่านกลไกต่างๆ เช่น การเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ การลดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) และการเพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ (Afolayan et al., 2012; Afolayan et al., 2013) มีหลักฐานบ่งชี้ว่าสารอนุพันธ์ของแอนโธไซยานิน เช่น Protocatechuic acid มีบทบาทสำคัญในการปกป้องเซลล์จากความเสียหายที่เกิดจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Vitaglione et al., 2007) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีรายงาน

* Corresponding author

E-mail address: weerachai_2518@yahoo.com (W. Tongdee)

Online print: 29 December 2025 Copyright © 2025. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2025.27>

เกี่ยวกับคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากดอกบัวแดง (*Nymphaea lotus* Linn.) อยู่บ้าง แต่ยังไม่มีการวิจัยเฉพาะเจาะจงที่ศึกษาผลของสารสกัดจากดอกบัวแดง (*Nymphaea lotus* Linn.) ต่อคุณภาพน้ำเชื้อหรือระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานโดยตรง ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาผลของภาวะเบาหวานต่อคุณภาพน้ำเชื้อ และผลของการเสริมสารสกัดหยาดจากดอกและเกสรของดอกบัวแดงต่อคุณภาพน้ำเชื้อของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับผลกระทบจากโรคเบาหวานโดยการเหนี่ยวนำด้วยการฉีด Streptozotocin (STZ)

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การสกัดสารออกฤทธิ์จากกลีบดอกและเกสรดอกบัวแดง

เก็บดอกบัวแดงในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี โดยทำการเก็บในช่วงเช้า จากนั้นนำกลีบดอกและเกสรดอกบัวแดง มาล้างด้วยน้ำสะอาด และอบให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อแห้งดีแล้วนำมาบดให้ละเอียด

ด้วยเครื่องปั่น เก็บผงกลีบดอกบัวใส่ภาชนะบรรจุที่ปิดฝาสนิทและเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตร (50% ethanol) ซึ่งเอทานอล 50% เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงในการสกัดฟลาโวนอยด์ รวมถึงแอนโทไซยานิน และเป็นปริมาณที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในหลายชนิดพืช (Pereira et al., 2019; Wang et al., 2022) โดยผสมผงกลีบดอกหรือเกสรดอกบัวแดงปริมาณ 100 g กับ 50% ethanol ปริมาตร 1.5 ลิตร ผสมให้เข้ากันและแช่ไว้เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้น นำส่วนผสมมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารละลายที่กรองได้ไประเหย 50% ethanol ออก ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ลดความดัน ที่อุณหภูมิ 50 °C ทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) จากนั้นเก็บสารสกัดใส่ขวดแก้วสีชาหรือห่อลুমินียมเพื่อป้องกันการสัมผัสกับแสง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อเตรียมสำหรับขั้นตอนการทดลองต่อไป รายละเอียดแสดงผังลำดับขั้นการสกัดสาร และลักษณะของสารสกัด (Figure 1)

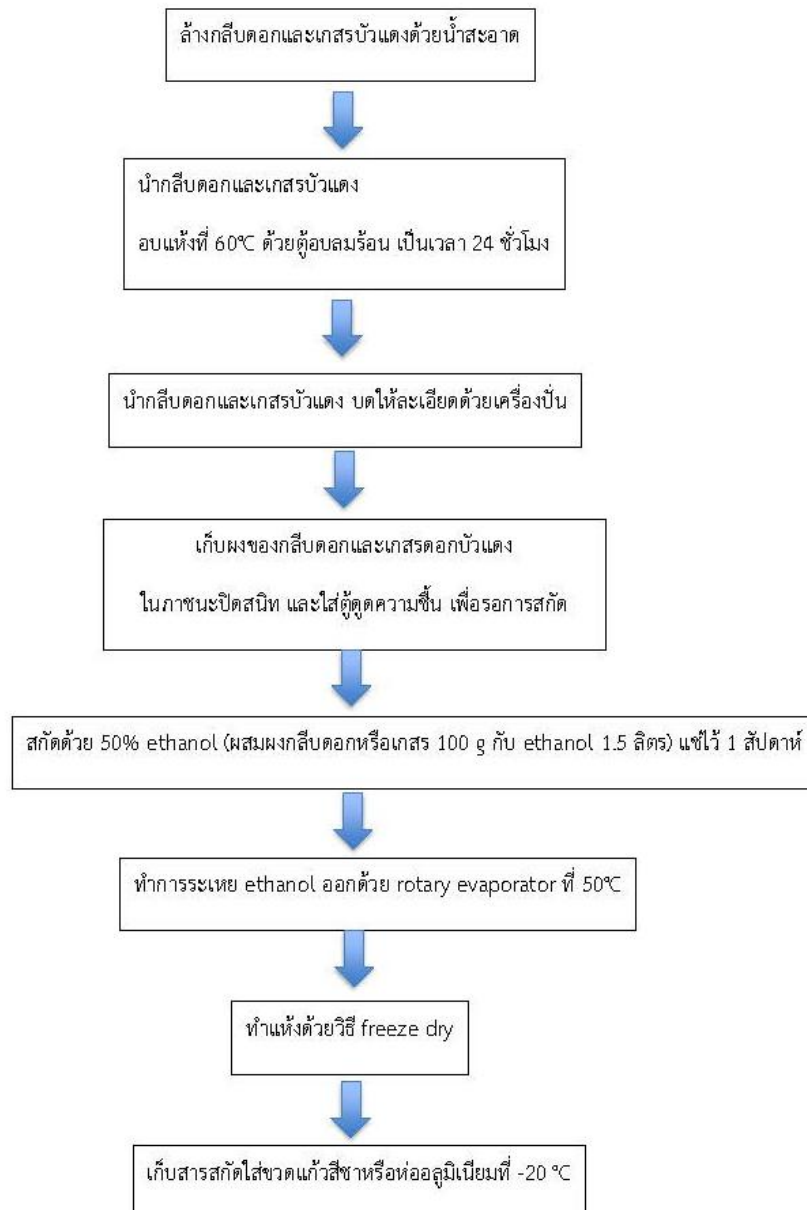




Figure 1 The flow chart of extraction process of bioactive compounds and the morphological characteristics of *Nymphaea lotus* Linn. petals and pollen crude extract.

2. การสุ่มตัวอย่าง การแบ่งกลุ่มหนูทดลอง และการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน

งานวิจัยฉบับนี้ ได้ผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยบรรณและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี เลขที่ ศธ 0543.7/358 รหัสโครงการ จย.สว.03/2559 ตามหลักเกณฑ์จริยบรรณการใช้สัตว์ของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ คำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม G*Power Version 3.1.9.7 (Franz Faul, University Kiel, Germany) โดยกำหนดค่า effect size เท่ากับ 0.50 ค่า α err prob เท่ากับ 0.05 ค่า power เท่ากับ 0.80 และกำหนดจำนวนกลุ่มทดสอบ เท่ากับ 6 กลุ่ม โดยผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม G*Power จะได้จำนวนสัตว์ทดลองกับ 48 ตัว จากนั้นทำการสุ่มเลือกหนูแรทพันธุ์ Wistar (Wistar rat) เพศผู้ อายุ 8 – 10 สัปดาห์ จำนวน 48

ตัว (ศูนย์สัตว์ทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น) เป็นกลุ่มทดลอง 6 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว โดยวิธีสุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มควบคุมปกติ (กลุ่ม Normal control; NMC) หนูแรทกลุ่มนี้จะได้รับการฉีดซิตริก บัฟเฟอร์ (0.1 M citric acid และ 0.1 M sodium citrate ที่ pH 4.5) ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mL/kg) เข้าทางช่องท้อง (intra-peritoneal injection; i.p.) (citric buffer ใช้เป็นตัวทำลาย STZ)

กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มควบคุมเบาหวาน (กลุ่ม Diabetic control; DC) ทำการอดอาหารหนูแรทกลุ่มนี้เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการฉีด STZ ปริมาณ 50 mg/kg ทาง i.p. เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน และให้สารละลายกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร (5% กลูโคส) เป็นระยะเวลา 24 – 72 ชั่วโมง เพื่อป้องกันภาวะกลูโคสในเลือดต่ำ (hypoglycemia) หลังจากนั้น 7 วัน ทำการอดอาหารเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และเจาะเก็บเลือดเพื่อวัดระดับ

น้ำตาลในเลือด (Fasting Blood Glucose; FBG) โดยหนูแรทที่มีค่า FBG มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl) จะวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน และนำเข้าสู่การทดลอง โดยเริ่มบ่อน้ำกลั่น (treatment) ติดต่อกันทุกวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับการรักษาอินซูลิน (กลุ่ม Diabetic with Insulin; DI) โดยหนูแรทกลุ่มนี้จะทำการอดอาหาร การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน การดูแลหลังการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน การเจาะเก็บเลือดเพื่อวัด FBG และการวินิจฉัยภาวะเบาหวานเพื่อนำเข้าสู่การทดลอง เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2

จากนั้นทำการฉีดอินซูลิน (treatment) ปริมาณ 4 U/kg/day (Mixtard® Novo Nordisk A/S, Denmark) เข้าชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection; S.C.) ติดต่อกันทุกวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับสารสกัดหยาบกลีบดอกบัวแดง ปริมาณ 150 mg/kg/day (กลุ่ม Diabetic with Petal extract; DPT) โดยหนูแรทกลุ่มนี้จะทำการอดอาหาร การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน การดูแลหลังการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน การเจาะเก็บเลือดเพื่อวัด FBG และการวินิจฉัยภาวะเบาหวานเพื่อนำเข้าสู่การทดลอง เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2

จากนั้น ทำการป้อน (Per oral; PO) สารสกัดหยาบกลีบดอกบัวแดง (Petal crude extract treatment) ปริมาณ 150 mg/kg/day ติดต่อกันทุกวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

กลุ่มที่ 5 คือ กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับสารสกัดหยาบเกสรดอกบัวแดง ปริมาณ 150 mg/kg/day (กลุ่ม Diabetic with Pollen extract; DPL) โดยหนูแรทกลุ่มนี้จะทำการอดอาหาร การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน การดูแลหลังการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน การเจาะเก็บเลือดเพื่อวัด FBG และการวินิจฉัยภาวะเบาหวานเพื่อนำเข้าสู่การทดลอง เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2



จากนั้น ทำการป้อนสารสกัดหยาบเกสรดอกบัวแดง (Pollen crude extract treatment) ปริมาณ 150 mg/kg/day PO ติดต่อกันทุกวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

กลุ่มที่ 6 คือ กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับกรดแกลลิก (Gallic acid) ปริมาณ 100 mg/kg/day (กลุ่ม Diabetic with Gallic acid; DGA) โดยหนูแรทกลุ่มนี้จะทำการอดอาหาร การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน การดูแลหลังการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน การเจาะเก็บเลือดเพื่อวัด FBG และการวินิจฉัยภาวะเบาหวานเพื่อนำเข้าสู่การทดลอง เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2

จากนั้น ทำการป้อนกรดแกลลิก (Gallic acid treatment) ขนาด 100 mg/kg/day PO (Dastan et al., 2025) ติดต่อกันทุกวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

3. การเลี้ยงหนูทดลอง

การจัดการการเลี้ยงหนูทดลอง ลักษณะห้องเลี้ยงหนูแรท ลักษณะของกรง ภาชนะใส่น้ำและภาชนะให้อาหาร แสดงดัง Figure 2 โดยการควบคุมสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ การระบายอากาศ อุณหภูมิ และความชื้น อุณหภูมิที่ควบคุมอยู่ระหว่าง 22 ± 3 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาการให้แสงสว่าง : มืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง กรงเลี้ยงเป็นกรงอะคริลิก รางอาหารและช่องใส่น้ำสแตนเลส ให้อาหารและน้ำหนูแรททุกกลุ่มแบบกินเต็มที่ โดยอาหารที่ให้ เป็นผลิตภัณฑ์อาหารของบริษัทซีพี เบอร์ 082 มีลักษณะก้อนกลม ส่วนน้ำจะให้น้ำกลั่น Deionized water (DI water) ที่ผลิตจากเครื่องผลิตน้ำ DI วัสดุรองนอนของหนูแรท จะใช้วัสดุซีลื้อไม้เนื้ออ่อนที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 นาที จากนั้นนำไปอบร้อนเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้งาน การทำความสะอาดกรงหนูแรท จะทำการเปลี่ยนวัสดุรองนอนและล้างกรงหนูแรททุก 2-3 วัน



Figure 2 Housing conditions and feeding management of six experimental groups.

4. การวินิจฉัยภาวะเบาหวานในหนูทดลอง

หลังจากการฉีดสารให้แก่หนูแรททั้ง 6 กลุ่มเป็นเวลา 7 วัน (หนูแรทกลุ่ม NMC ได้รับการฉีดซิเตริก บัฟเฟอร์ (citric buffer) ปริมาณ 1 ml/kg เข้าทางช่องท้อง (i.p.), กลุ่ม DC, DI, DPT, DPL และ DGA ฉีด STZ ปริมาณ 50 mg/kg ทาง i.p.) จะทำการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรท (Fasting Blood Glucose; FBG)

โดยทำการอดอาหารหนูแรททุกกลุ่มเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และจากนั้นทำการเจาะเก็บเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Blood Glucose; FBG) หนูแรทที่ได้รับวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน ต้องมีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร; mg/dl จากนั้น ทำการวัดปริมาณการกินอาหาร และน้ำทุกวัน และในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการเหนี่ยวนำการเป็นเบาหวาน หนูแรททุกกลุ่ม

จะถูกนำมาชั่งน้ำหนักตัว (Body weight; BW) และทำการเจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำส่วนหางเพื่อตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Accu-Check®; Roche Diabetes Care, Inc.) จากนั้นเมื่อครบกำหนด 12 สัปดาห์หนูแรชจะถูกการุณยฆาต (Euthanasia) โดยเหนี่ยวนำการสลบด้วย Xylazine HCl ขนาด 1 mg/kg ร่วมกับ Zoletil® ขนาด 20 mg/kg i.p. จากนั้นทำการเจาะเลือดจากหัวใจและเก็บอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ อีพิดีไดมิสส่วนท้าย (Caudal epididymis) เพื่อนำไปประเมินคุณภาพน้ำเชื้อและตัวอสุจิ

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

5.1 การวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Blood Glucose; FBG) ในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการเหนี่ยวนำการเป็นเบาหวาน

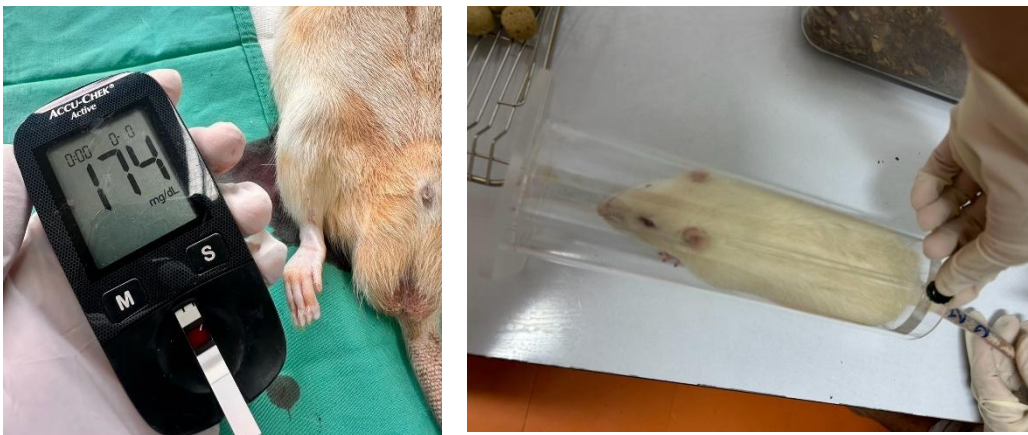


Figure 3 Glucometer (Accu-Chek® Active, Roche Diagnostics) used for measuring fasting blood glucose levels and restraining device for body weight measurement.

5.2 การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อและตัวอสุจิ

ในสัปดาห์ที่ 12 หลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นเบาหวานและเริ่มการทดลอง หนูแรชทุกกลุ่มจะถูกการุณยฆาต ทำการผ่าตัดเก็บเนื้อเยื่ออีพิดีไดมิสส่วนท้าย (Caudal epididymis) ทั้ง 2 ข้าง โดยจะทำการเก็บอีพิดีไดมิสส่วนท้าย (Caudal epididymis) ซึ่งเป็นส่วนของตัวอสุจิพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (Sperm maturation) โดยการตัดแยกออกจากอัมทออย่างระมัดระวังและทำการเลาะเนื้อเยื่อไขมันโดยรอบออก ทำการบีบส่วน Caudal epididymis ที่มีตัวอสุจิอัดแน่นด้วยปากคีบ (forceps) ที่ปราศจากเชื้อ ลงในสารละลาย

ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ซาไลน์ (PBS) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (°C) และ Caudal epididymis ส่วนที่เหลือจะถูกนำมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดใน PBS เพื่อแยกตัวอสุจิออกมา (Seed et al., 1996; Uguz et al., 2009) (Figure 4) จากนั้น ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อและตัวอสุจิ ทางกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination) ได้แก่ การประเมินเปอร์เซ็นต์เคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปข้างหน้า (Percent progressive motility) การประเมินอสุจิมีชีวิต (Live sperm evaluation) และการประเมินความเข้มข้นของตัวอสุจิ (Sperm concentration)



Figure 4 Surgical procedure and morphological features of the caudal epididymis in male Wistar rats.

5.2.1 การประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปข้างหน้า (percent progressive motility)

เตรียมแผ่นกระจกสไลด์ที่สะอาด ปราศจากการปนเปื้อนของน้ำยาทำความสะอาด (Detergent) โดยการล้างด้วยน้ำสะอาด และเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ทิ้งไว้ให้แห้ง (IRDG, 2000) วางสไลด์บนแท่นปรับอุณหภูมิ (Slide warmer) ที่ 37 °C จากนั้นหยด 0.9% โซเดียมคลอไรด์ (0.9% NaCl) (Adamkovicova et al., 2016) หรือโซเดียมซิ

เตรท (2.9% buffered sodium citrate) ลงบนสไลด์และผสมกับน้ำเชื้อให้เข้ากัน (Oyeyemi & Ajani, 2015) และปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ (กรณีที่น้ำเชื้อมีความเข้มข้นต่ำ ไม่จำเป็นต้องเจือจางน้ำเชื้อ) ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200 เท่า นับจำนวนอสุจิรวม 100 ตัว และบันทึกอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าเป็นเปอร์เซ็นต์ รายละเอียดแสดงดัง Figure 5

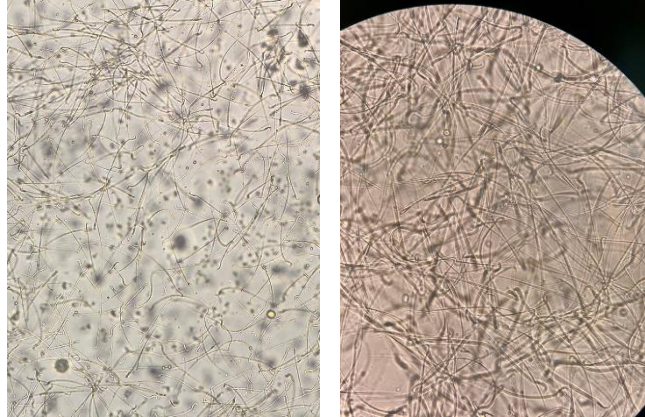


Figure 5 Microscopic evaluation of progressive motile sperm in male Wistar rats at 200x magnification.

5.2.2 การประเมินอสุจิมีชีวิต (Live sperm evaluation)

โดยการย้อมตัวอสุจิด้วยสีอีโอซิน-ไนโกรซิน (Eosin-nigrosin staining) ประเมินตัวอสุจิมีชีวิตหรือตายจากการติดสี วิธีการ คือ หยดสี eosin Y (1% eosin Y) 1 หยด ลงบนหยดน้ำเชื้อที่อยู่บนแผ่นกระจกสไลด์อุณหภูมิ 37 °C ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 วินาที

จากนั้น หยดสี nigrosin (10% nigrosin) 2 หยด ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ให้แห้ง และตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า ซึ่งอสุจิที่ตายจะติดสีแดง (eosin) ส่วนอสุจิมีชีวิตจะไม่ติดสี นับจำนวนอสุจิที่รอดชีวิตเป็นเปอร์เซ็นต์ (% live sperm) รายละเอียดแสดงดัง Figure 6

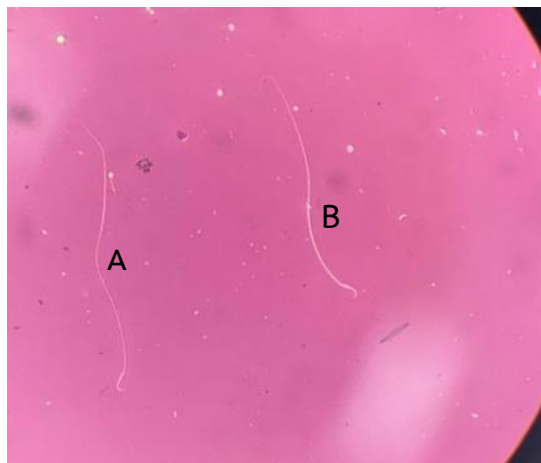


Figure 6 Sperm viability assessment in male Wistar rats using eosin-nigrosin staining technique. Non-viable spermatozoa appear pink (A). Viable spermatozoa appear unstained (B)

5.2.3 การประเมินความเข้มข้นของตัวอสุจิ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการนับอสุจินั้น จะใช้ hemocytometer ที่ประกอบด้วย counting chamber กระจกปิด และ micropipette โดยบริเวณสไลด์ที่เป็นกระจกหนานั้น (Thick glass slide) ที่มีร่องลึก

ประมาณ 0.1 mm ที่สามารถวางกระจกปิดไว้ด้านบน ซึ่งบริเวณกลาง counting chamber จะมี counting chamber grid ที่มีการนับอสุจิบริเวณนี้ (Intamong et al., 2011) รายละเอียดแสดงดัง Figure 7

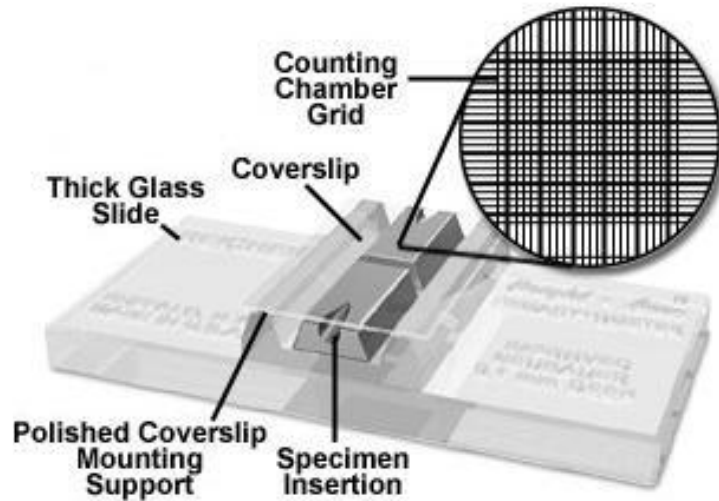


Figure 7 Hemocytometer used for sperm concentration analysis in male Wistar rats. (Intamong et al., 2011)

เตรียมตัวอย่างอสุจิที่ทำการตรวจสอบ โดยตัดส่วนของ cauda epididymis มาบดขยี้ในสารละลาย 0.9% normal saline ปริมาตร 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นดูดสารตัวอย่างที่เตรียมด้วย micropipette ปริมาตร 15 μ l ใส่บริเวณ specimen insertion (ร่องรูปตัว V) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที เพื่อให้ตัวอสุจิหยุดลอยจะทำให้มันได้ง่ายขึ้น แล้วทำการตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)

จากนั้นทำการนับจำนวนตัวอสุจิ ซึ่งในการนับจำนวนอสุจิใน Counting chamber grid จะนับทั้งหมดจำนวน 9 ช่องใหญ่

(Figure 8) ที่กำลังขยาย 40X โดยนับช่องที่มุมทั้ง 4 ช่อง และนับช่องที่อยู่บริเวณมุมทั้ง 4 ของช่องกลาง และนับช่องกลาง 1 ช่อง รวมทั้งหมด 9 ช่องใหญ่ การนับตัวอสุจิที่อยู่คาบเส้นคู่ จะกำหนดว่านับตัวอสุจิที่อยู่ด้านบนและด้านซ้ายของเส้นคู่ หรือนับตัวอสุจิที่อยู่ด้านขวาและด้านล่างของเส้นคู่อย่างใดอย่างหนึ่ง เพื่อมิให้นับซ้ำ เมื่อนับจำนวนตัวอสุจิใน 9 ช่องรวมกัน (N) แล้วนำมาแทนค่าในสูตรการคำนวณหาความหนาแน่นของตัวอสุจิ (Intamong et al., 2011; Luthfi, 2015)

$$\text{ความหนาแน่นของอสุจิ / 1 มิลลิตร} = N \times \frac{1000}{0.036} \text{ โดย N คือ จำนวนตัวอสุจินับที่ในสี่เหลี่ยมจัตุรัส 9 ช่อง}$$

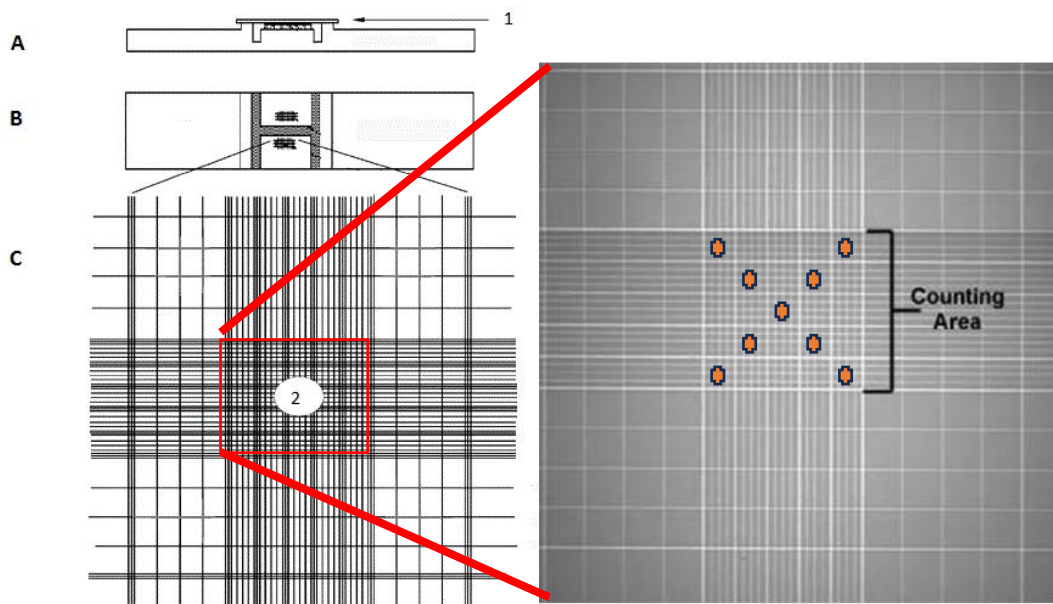


Figure 8 Position of sperm counting in the hemocytometer. (A) Lateral view of the hemocytometer, (B) top view of the hemocytometer and (C) the counting zone located within the central large square (comprising nine smaller squares) (Intamong et al., 2011); Luthfi, 2015)

6. สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

6.1 ข้อมูลสถิติผลการวิจัยเชิงพรรณนา (Descriptive statistic)

รายงานผลการวิจัยเชิงพรรณนาเป็นค่าเฉลี่ย (Mean \pm SEM) ในแต่ละกลุ่มทดลอง ได้แก่ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูแรท ปริมาณการกินน้ำและปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย ระดับน้ำตาลในเลือดเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมน Testosterone ในเลือด ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอสุจิ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะ เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์ต่อสุมิมีชีวิต

6.2 การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มทดลอง (Analytical statistic)

การทดสอบสมมติฐาน ใช้วิธีการทางสถิติ One-way Analysis of Variance วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics for desktop Version 26.0 และใช้วิธี Duncan's New Multiple Rank test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลองที่ผลการทดลองมีการกระจายตัวแบบปกติ (Normal distribution) โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ระดับ 95% (95% CI) และกำหนดค่านัยสำคัญ (P value) น้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ได้แก่ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือด ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอสุจิ และใช้วิธีการทางสถิติ Kruskal-Wallis Test (Non-parametric test) วิเคราะห์ความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์ต่อสุมิมีชีวิต เนื่องจากข้อมูลการทดลองไม่มีการกระจายตัวแบบปกติ โดยกำหนดค่านัยสำคัญ (P value) น้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Blood Glucose; FBG) ของหนูแรท

ผลการศึกษาพบว่า หนูแรท กลุ่ม NMC มีค่าเฉลี่ย FBG ต่ำที่สุด (86.20 ± 3.34 mg/dl) รองลงมาคือหนูแรทกลุ่ม DI, DGA, DPT, DPL ตามลำดับ (105.85 ± 11.581 mg/dl, 178.57 ± 26.23 mg/dl, 403.87 ± 21.22 mg/dl และ 443.60 ± 25.73 mg/dl, ตามลำดับ) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DC มีค่าเฉลี่ย FBG สูงที่สุด (468.25 ± 19.45 mg/dl) การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย FBG ในแต่ละกลุ่มทดลองพบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC, DI และ DGA มีค่าเฉลี่ย FBG ต่ำกว่าค่าเฉลี่ย FBG ของหนูแรทกลุ่ม DC, DPT และ DPL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 1) หนูแรทกลุ่ม DC มีค่าเฉลี่ย FBG สูงที่สุด ขณะที่หนูแรทกลุ่ม DI, DGA และ NMC มีค่าเฉลี่ย FBG ต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสะท้อนถึงประสิทธิภาพของอินซูลินและกรดแกลลิกในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด สอดคล้องกับการศึกษาของ Xu et al. (2021) ที่แสดงให้เห็นถึงบทบาทเชิงชีวเคมีของกรดแกลลิก (Gallic Acid) ในการบรรเทาพยาธิสภาพของโรคเบาหวาน โดยเฉพาะในด้านการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและการชะลอภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) และการอักเสบเรื้อรัง (Chronic inflammation) กรดแกลลิกยังสามารถลดระดับกลูโคสในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญถึงแม้ว่าหนูแรทเบาหวานกลุ่ม DPT และ DPL มีแนวโน้มค่า FBG ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่ม DC แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และยังมีค่า FBG สูงกว่ากลุ่ม DI และ DGA อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดยาบกลีบดอกและเกสรดอกบัวแดงในการศึกษานี้ อาจมีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลบางส่วน แต่ยังไม่เพียงพอเมื่อเทียบกับมาตรฐานหรือการให้อินซูลินรักษา

Table 1 Comparative analysis of mean blood glucose levels (mg/dL) among six experimental groups of male Wistar rats.

Treatment group	Mean blood glucose (mg/dL) (\pm SEM)	95% Confidence Interval for Mean	
		Lower	Upper
NMC	86.20 ± 3.34^a	79.21	93.19
DC	468.25 ± 19.45^b	428.01	508.49
DI	105.85 ± 11.581^a	81.61	130.09
DPT	403.87 ± 21.22^b	360.46	447.27
DPL	443.60 ± 25.73^b	390.96	496.24
DGA	178.57 ± 26.23^a	123.86	233.28

Note: Superscript letters (a, b, c, d) indicate significant differences in mean blood glucose levels between groups. Different letters within the same column denote statistically significant differences ($p < 0.05$)

2. ผลการวิเคราะห์และประเมินคุณภาพน้ำเชื้อและตัวอสุจิ ของหนูแรท ทั้ง 6 กลุ่มทดลอง

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต พบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตสูงที่สุด (89.00 ± 3.11 %) รองลงมาคือ หนูแรทกลุ่ม DI, DPT และ DPL ตามลำดับ (75.80 ± 3.43 %, 74.83 ± 4.13 % และ 66.17 ± 4.64 % ตามลำดับ) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DC และ DGA มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตต่ำที่สุด (57.67 ± 3.88 % และ 57.00 ± 7.68 % ตามลำดับ) ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้า พบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากที่สุด (80.00 ± 3.16 %) รองลงมาคือหนูแรท

กลุ่ม DI และ DPT ตามลำดับ (62.00 ± 3.74 % และ 60.00 ± 3.65 % ตามลำดับ) ส่วนหนูแรทกลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้าต่ำ คือ หนูแรทกลุ่ม DC, DPL และ DGA ตามลำดับ (28.33 ± 6.54 %, 31.67 ± 4.77 %, 46.00 ± 5.09 %) ผลการนับจำนวนตัวอสุจิโดยใช้ Hemocytometer เพื่อคำนวณและหาค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของตัวอสุจิ ($\times 10^6$ ตัว/mL) และผลการหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะ ของหนูแรททั้ง 6 กลุ่มทดลอง โดยพบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของอสุจิ มากที่สุด ($7.75 \pm 0.19 \times 10^6$ ตัว/mL) รองลงมา คือหนูแรทกลุ่ม DI, DPT, DGA และ DPL ตามลำดับ ($3.89 \pm 0.15 \times 10^6$ ตัว/mL, $3.74 \pm 0.19 \times 10^6$ ตัว/mL, 3.36 ± 0.17

$\times 10^6$ ตัว/ml และ $3.05 \pm 0.57 \times 10^6$ ตัว/ml ตามลำดับ) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DC มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นน้อยที่สุด ($1.01 \pm 0.16 \times 10^6$ ตัว/ml) ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อ ตัวอสุจิ ระหว่างหนูแรททั้ง 6 กลุ่มทดลอง พบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตมากที่สุด (89.00 ± 3.11 %) ซึ่งสูงกว่าหนูแรทกลุ่ม DC, DPL และ DGA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DI และ DPT มีเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า หนูแรทกลุ่ม NMC มีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากที่สุด (80.00 ± 3.16 %) ซึ่งสูงกว่าหนูแรทกลุ่ม DC, DPL และ DGA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DI และ DPT มีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) หนูแรทกลุ่ม NMC มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของอสุจิมากที่สุด ($7.75 \pm 0.19 \times 10^6$ ตัว/ml.) ซึ่งสูงกว่าหนูแรทกลุ่ม DC, DI, DPT, DPL และ DGA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หนูแรทกลุ่ม DI, DPT, DPL และ DGA มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนหนูแรทกลุ่ม DC มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของอสุจิน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ($1.01 \pm 0.16 \times 10^6$ ตัว/ml) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รายละเอียดแสดงดัง Table 2

การศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ผลของภาวะเบาหวานในหนูแรท ส่งผลให้คุณภาพของน้ำเชื้อและอสุจิลดลง และผลของการรักษาด้วยอินซูลินและการเสริมสารสกัดดอกบัวแดง แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของการฟื้นฟูสมรรถภาพทางสืบพันธุ์จากการรักษาภาวะเบาหวานด้วยอินซูลินและการเสริมสารสกัดดอกบัวแดง โดยเฉพาะกลุ่ม DI และ DPT มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าดีกว่ากลุ่ม DC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัด (DPT และ DPL) มีค่าความหนาแน่นตัวอสุจิสูงกว่ากลุ่ม DC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสาร flavonoids ในสารสกัดดอกบัวแดงอาจมีบทบาทในการป้องกันความเสียหายของเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ โดยเฉพาะการป้องกันความเสียหายของสเปิร์มและเสริมสร้างการทำงานของเซลล์ Sertoli และ Leydig cells เพิ่มจำนวนและคุณภาพของอสุจิในหนูเบาหวานได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งมีความสำคัญต่อการผลิตอสุจิ สอดคล้องกับ (Khaki et al., 2010) และ (Ding et al., 2016)

ถึงแม้ว่า ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกลีบดอกบัวแดง (DPT) มีระดับที่สูง (403.87 ± 21.22 mg/dl) และไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเบาหวาน (DC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อและตัวอสุจิ พบว่า หนูแรทกลุ่ม DPT มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต (74.83 ± 4.13 %) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (60.00 ± 3.65 %) สูงกว่ากลุ่ม DC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อีกทั้งยังมีความหนาแน่นของตัวอสุจิสูงกว่า ($3.74 \pm 0.19 \times 10^6$ ตัว/ml) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดกลีบดอกบัวแดงในการป้องกันความเสียหายต่อเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ในสภาวะที่ระดับน้ำตาลในเลือดยังคงสูงกว่าปกติและไม่ลดลง ผลดังกล่าวสนับสนุนแนวคิดเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์โดยตรงของสารต้านอนุมูลอิสระจากกลีบดอกบัวแดงต่อเนื้อเยื่อ

อันทะ (Direct antioxidant effect on testicular tissue) โดยไม่ผ่านกลไกการลดระดับน้ำตาลในเลือด กล่าวคือ สารพลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินในกลีบดอกบัวแดงสามารถยับยั้งกระบวนการเปอร์ออกซิเดชัน (Peroxidation) ของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ ลดการสร้างอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species; ROS) และปกป้องโครงสร้างของอันทะจากความเสียหายที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันเรื้อรังที่เหนี่ยวนำโดยภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) (Xu et al., 2021) และสอดคล้องกับรายงานของ Jang et al. (2011) ที่พบว่าแอนโทไซยานิน จากสารสกัดเมล็ดถั่วเหลืองดำ (black soybean seed extract) ช่วยลด ROS และลดเปอร์เซ็นต์การตายของเซลล์ (Apoptotic cell) ในอันทะของหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดหลอดเลือดดำขอด (Varicocele) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อระดับน้ำตาลในเลือด

สารประกอบกลุ่มแอนโทไซยานินยังมีฤทธิ์กระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์อันทะ เช่น Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) และ Glutathione peroxidase (GPx) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาความสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ (Afolayan et al., 2013) และสามารถลดระดับ lipid peroxidation ในเนื้อเยื่ออันทะได้ (Oczkowski et al., 2022) ดังนั้น การที่กลุ่ม DPT แสดงค่าคุณภาพน้ำเชื้อที่ดีขึ้น แม้ระดับน้ำตาลในเลือดยังคงสูง สะท้อนให้เห็นว่า ฤทธิ์ของสารสกัดกลีบดอกบัวแดงอาจเกี่ยวข้องกับกลไกเฉพาะที่ระดับของอวัยวะเป้าหมาย (Testis-targeted antioxidant action) โดยออกฤทธิ์ต้าน Oxidative stress โดยตรงที่เนื้อเยื่ออันทะ มากกว่ากลไกทางอ้อมผ่านการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเพียงอย่างเดียว

หนูแรทกลุ่ม DGA แม้จะสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ดีกว่ากลุ่ม DPT อย่างชัดเจน (178.57 ± 26.23 mg/dl) แต่กลับมีคุณภาพน้ำเชื้อในดำน เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต (57.00 ± 7.68 %) และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (46.00 ± 5.09 %) ต่ำกว่ากลุ่ม DPT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งขัดแย้งกับกลไกการเกิดความเสียหายจากออกซิเดชัน (Oxidative damage) จากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงโดยทั่วไป ซึ่งอาจอธิบายได้จากความแตกต่างด้านชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) และผลการต้านอนุมูลอิสระแบบจำเพาะต่อเนื้อเยื่อ (Tissue-specific antioxidant effect) ของสารสำคัญต่างๆ ถึงแม้ว่ากรดกลูคอลลิกจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Xu et al., 2021) แต่มีข้อจำกัดในด้านการดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่ออันทะและอาจถูกเมแทบอลิซึมอย่างรวดเร็ว ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ในเนื้อเยื่ออันทะได้อย่างเพียงพอ (Wang et al., 2022) ต่างจากสารแอนโทไซยานินในกลุ่ม DPT ที่สามารถสะสมในเนื้อเยื่ออันทะได้มากกว่า และมีรายงานว่าสามารถลดการอักเสบและลดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ที่เนื้อเยื่ออันทะได้โดยตรง (Li et al., 2013) ดังนั้น ถึงแม้ว่ากลุ่ม DPT จะมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่า แต่มีคุณภาพน้ำเชื้อดีกว่ากลุ่ม DGA จึงน่าจะเป็นผลจากกลไกการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยตรง (Direct antioxidant effect) ที่เนื้อเยื่ออันทะของสารออกฤทธิ์ในกลีบดอกบัวแดง ที่มีความสามารถในการต้าน ROS เฉพาะที่อันทะได้ดีกว่า

Table 2 Semen quality parameters in 6 experimented male Wistar rats.

Semen parameters	mean (\pm SEM)					
	NMC	DC	DI	DPT	DPL	DGA
Sperm viability (%)	89.00 \pm 3.11 ^a	57.67 \pm 3.88 ^b	75.80 \pm 3.43 ^{ab}	74.83 \pm 4.13 ^{ab}	66.17 \pm 4.64 ^b	57.00 \pm 7.68 ^b
Progressive motile sperm (%)	80.00 \pm 3.16 ^a	28.33 \pm 6.54 ^b	62.00 \pm 3.74 ^{ab}	60.00 \pm 3.65 ^{ab}	31.67 \pm 4.77 ^b	46.00 \pm 5.09 ^b
Sperm concentration ($\times 10^6$ sperm/mL)	7.75 \pm 0.19 ^a	1.01 \pm 0.16 ^b	3.89 \pm 0.15 ^c	3.74 \pm 0.19 ^c	3.05 \pm 0.57 ^c	3.36 \pm 0.17 ^c

Note: Superscript letters (a, b, c, d) indicate significant differences in semen parameters between groups. Different letters within the same row denote statistically significant differences ($p < 0.05$)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของโรคเบาหวานที่เหนี่ยวนำโดยสเตรปโตโซโตซิน (STZ) ต่อคุณภาพน้ำเชื้อของหนูแรทเพศผู้ รวมถึงประสิทธิภาพของสารสกัดหยาดจากดอกบัวแดง (*Nymphaea lotus* Linn.) ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อและตัวสุจิเมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาด้วยอินซูลินและกรดกลลิก การศึกษานี้บ่งชี้ว่าโรคเบาหวานส่งผลเสียต่อคุณภาพน้ำเชื้อและตัวสุจิของหนูแรทเพศผู้ และการรักษาด้วยอินซูลินมีประสิทธิภาพสูงสุดในการฟื้นฟูคุณภาพน้ำเชื้อ ในขณะที่การเสริมสารสกัดหยาดจากดอกบัวแดง (โดยเฉพาะกลุ่ม DPT) มีแนวโน้มช่วยปรับปรุงเปอร์เซ็นต์ตัวสุจิมีชีวิตและความสามารถในการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ของสารสกัดดอกบัวแดงในการลดระดับน้ำตาลในเลือดยังไม่ชัดเจนเมื่อเทียบกับอินซูลินและกรดกลลิก ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อวิเคราะห์กลไกทางชีวเคมีของสารออกฤทธิ์ในดอกบัวแดง และเพื่อพิจารณาความเป็นไปได้ในการนำไปใช้เป็นทางเลือกสำหรับการบรรเทาผลกระทบจากโรคเบาหวานต่อระบบสืบพันธุ์เพศผู้ในสัตว์ทดลองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง ผลของสารสกัดหยาดดอกบัวแดงต่อคุณภาพน้ำเชื้อหนูแรทเพศผู้ที่เหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานโดยการฉีดสเตรปโตโซโตซิน ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 ในการให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ตลอดจนสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ศูนย์สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี เป็นสถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ทดลองและการทำวิจัยทุกขั้นตอน

References

Adamkovicova, M., Toman, R., Martiniakova, M., Omelka, R., Babosova, R., Krajcovicova, V., Grosskopf, B., & Massanyi, P. (2016). Sperm motility and morphology changes in rats exposed to cadmium and diazinon. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0177-6>.

Afolayan, A. J., & Sunmonu, T. O. (2012). Protective role of *Artemisia afra* aqueous extract on tissue antioxidant defense systems in streptozotocin-induced diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary*

and Alternative Medicines, 10(1), 15–20. doi: 10.4314/ajtcam.v10i1.3.

Afolayan, A. J., Anthony, T., Sharaibi, O. J., & Kazeem, M. I. (2013). Phytochemical analysis and in vitro antioxidant activity of *Nymphaea lotus* L. *International Journal of Pharmacology*, 9(5), 297–304.

Amaral, S., Oliveira, P. J., Ramalho-Santos, J. (2006). Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells of Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. *Theriogenology*, 66(9), 2056–2067.

Amaral, S., Moreno, A. J., Santos, M. S., Seica, R., & Ramalho-Santos, J. (2006). Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells of Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. *Theriogenology*, 66(9), 2056–2067. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.06.006.

Arikawe, A.P., Daramola, A.O., Odofin, A.O., & Obika, L.F.O. (2006). Alloxan-induced and insulin-resistant diabetes mellitus affect semen parameters and impair spermatogenesis in male rats. *African Journal of Reproductive Health*, 10(3), 106–113.

Baccetti, B., Collodel, G., Moretti, E., & Piomboni, P. (2002). Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Human Reproduction*, 17(10), 2673–2677.

Dastan, M., Rajaei, Z., Sharifi, M., & Salehi, H. (2025). Gallic acid ameliorates LPS-induced memory decline by modulating NF- κ B, TNF- α , and Caspase 3 gene expression and attenuating oxidative stress and neuronal loss in the rat hippocampus. *Metabolic Brain Disease*, 40(12). doi.org/10.1007/s11011-024-01441-5.

Ding, C., Wang, Q., Hao, Y., Ma, X., Wu, L., du, M., Li, W., Wu, Y., Guo, F., Ma, S., Huang, F., & Qin, G. (2016). Vitamin D supplement improved testicular function in diabetic rats. *Biochemical and biophysical research*

- communications, 473(1), 161–167. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.03.072.
- Dutta, S., Majzoub, A., Agarwal, A., & Henkel, R. (2021). Oxidative stress, testicular inflammatory pathways, and male reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 10043.
- Intamong, J., Seanphet, K., & Seanphet, S. (2011). Sperm quality of male rats treated with ethanolic extract of *Stemona aphylla* Craib. In *Proceedings of the 2nd Maejo-Phrae National Research Conference* (pp. 777–784). Maejo University, Phrae, Thailand. (in Thai)
- Jang, H., Kim, S. K., Yang, S. H., & Song, S. H. (2011). Effects of anthocyanin extracted from black soybean seed coat on spermatogenesis in a rat model of varicocele. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(5), 649–655.
- Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A. A., Khamenehi, H. J., & Hamadeh, M. (2010). Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1285–1291.
- Li, M., Liu, Z., Zhuan, L., Wang, T., Guo, S., Wang, S., Liu, J., & Ye, Z. (2013). Effects of apocynin on oxidative stress and expression of apoptosis-related genes in testes of diabetic rats. *Molecular medicine reports*, 7(1), 47–52. doi.org/10.3892/mmr.2012.1132.
- Luthfi, M. J. (2015). A simple and practical method for rat epididymal sperm count (*Rattus norvegicus*). *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 4(1), 1–3.
- Mangoli, E., Talebi, A. R., Anvari, M., & Pouretezari, M. (2013). Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 11(1), 53–60.
- Oczkowski, M., Wilczak, J., Dziendzikowska, K., Øvrevik, J., Myhre, O., Lankoff, A., Kruszewski, M., & Gromadzka-Ostrowska, J. (2022). Dietary Intervention with Blackcurrant Pomace Protects Rats from Testicular Oxidative Stress Induced by Exposition to Biodiesel Exhaust. *Antioxidants*, 11(8). doi.org/10.3390/antiox11081562.
- Oyeyemi, M. O., & Ajani, O. S. (2015). Haematological parameters, semen characteristics and sperm morphology of male albino rat (Wistar strain) treated with Aloe vera gel. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(15), 510–514.
- Pereira, V., Tarone, D. G., Cazarin, C. B. B., Barbero, G. F., & Martínez, J. 2019. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. *Journal of Food Engineering*, 240, 105–113.
- Scarano, W. R., Messias, A. G., Oliva, S. U., Klinefelter, G. R., & Kempinas, W. G. (2006). Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *International Journal of Andrology*, 29(4), 482–488.
- Seed, J., Chapin, R. E., Clegg, E. D., Dostal, L. A., Foote, R. H., Hurtt, M. E., Klinefelter, G. R., Makris, S. L., Perreault, S. D., Schrader, S., Seyler, D., Sprando, R., Treinen, K. A., Veeramachaneni, D. N., & Wise, L. D. (1996). Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. *Reproductive toxicology*, 10(3), 237–244.
- Uguz, C., Varisli, O., Agca, C., and Agca, Y. 2009. Effects of nonylphenol on motility and subcellular elements of epididymal rat sperm. *Reproductive Toxicology*, 28(4), 542–549.
- Vitaglione, P., Donnarumma, G., Napolitano, A., Galvano, F., Gallo, A., Scalfi, L., & Fogliano, V. (2007). Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides. *The Journal of Nutrition*, 137(9), 2043–2048.
- Ukwenya, V. O., Ashaolu, O. J., Adeyemi, D. O., & Abraham, K. J. (2015). *Experimental diabetes and the epididymis of Wistar rats: The protective effects of Anacardium occidentale* (Linn.). *Journal of Experimental and Clinical Anatomy*, 14(2), 57–62. doi: 10.4103/1596-2393.177029.
- Wang, Z., Yang, S., Gao, Y., & Huang, J. (2022). Extraction and purification of antioxidative flavonoids from *Chionanthus retusa* leaf. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. doi.org/10.3389/fbioe.2022.1085562.
- Xu, Y., Tang, G., Zhang, C., Wang, N., & Feng, Y. (2021). Gallic Acid and Diabetes Mellitus: Its Association with Oxidative Stress. *Molecules*, 26(23). doi.org/10.3390/molecules26237115.

Research article

Effect of *Nymphaea lotus* Linn. flower extract on semen quality of streptozotocin-induced diabetic male rat

Theerakul Nilnont¹ Yoswaris Semaming¹ and Weerachai Tongdee^{2*}

¹Department of Veterinary Technology and Veterinary Nursing, Faculty of Technology and Engineering, Udon Thani Rajabhat University, Udon Thani Province. 41000 Thailand

²Department of Animal Science, Faculty of Technology and Engineering, Udon Thani Rajabhat University, Udon Thani Province. 41000 Thailand

ARTICLE INFO**Article history**

Received: 25 March 2025

Revised: 31 July 2025

Accepted: 25 August 2025

Online published: 29 December 2025

Keyword

Nymphaea lotus flower extract

Diabetes mellitus

blood glucose

semen quality

male rat

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic condition that significantly impacts male reproductive health, with studies indicating that it negatively affects semen quality and disrupts spermatogenesis. *Nymphaea lotus* Linn., commonly known as the lotus flower, contains bioactive flavonoids with antidiabetic and antioxidant properties that may alleviate the detrimental effects of diabetes on reproductive function. This study aimed to investigate the effects of *Nymphaea lotus* flower extract on blood glucose levels and semen quality in streptozotocin- (STZ-) induced diabetic male Wistar rats. A total of 48 male Wistar rats were divided into six experimental groups: normal control (NMC), diabetic control (DC), insulin-treated diabetic (DI), diabetic rats receiving *Nymphaea lotus* petal extract (DPT), diabetic rats receiving *Nymphaea lotus* pollen extract (DPL), and diabetic rats receiving gallic acid (DGA). Diabetes was induced via intraperitoneal injection of STZ at a dose of 50 mg/kg, followed by supplementation for 12 weeks. The results showed that the NMC group had the lowest average blood glucose levels, whereas the DC group had the highest. Both insulin (DI) and gallic acid (DGA) treatments significantly reduced blood glucose levels compared with the DC group ($p < 0.05$). Regarding semen parameters, the NMC group exhibited the highest percentages of live sperm and progressive motility. In contrast, the DPL and DGA groups showed reduced sperm viability and motility; however, these differences were not statistically significant compared with the DC group. The findings demonstrated that *Nymphaea lotus* flower extracts, particularly the petal extract, moderately reduced blood glucose levels and significantly improved sperm viability and progressive motility in STZ-induced diabetic rats compared with the diabetic control group. These results suggest that crude *Nymphaea lotus* flower extract, especially the petal extract, may exert beneficial effects on male reproductive function under diabetic conditions, potentially through antioxidative mechanisms. This study highlights the potential of *Nymphaea lotus* flower extract as a therapeutic approach for diabetes-induced reproductive dysfunction in male rats.

*Corresponding author

E-mail address: weerachai_2518@yahoo.com (W. Tongdee)

Online print: 29 December 2025 Copyright © 2025. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2025.27>