

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันของหญ้าลิ้นงู*

จันทน์ อธิพานิชพงศ์**

เล็ก อัสวพลังชัย*** สมบัติ ระมาตร์**

โสภิต ธรรมอารี** มณฑิรา ตัณฑ์เกยูร**

Itthipanichpong C, Ousavaplangchai L, Ramart S, Thamaree S, Tankeyoon M. Subacute toxicity study of Oldenlandia corymbosa Linn. Chula Med J 1986 Mar; 30 (3) : 229-236

*The experiment was performed by feeding the decoction of *O. corymbosa* to two groups of local strain mice, 20 in each, at doses of 10 g/kg and 1 g/kg respectively for 12 weeks and comparing them with the control group which received distilled water for 12 weeks. The result of the investigation showed that at the end of the 12th week, the body weight of all three groups were significantly increased ($p < .001$, $p < 0.001$, $p < .005$). A comparison between the three groups, showed that the mean weight of spleen was statistically higher in the first than the control group ($p < 0.5$, and that the mean weights of liver of the first and second groups were significantly higher than of the control group. ($p < .01$). These finding were associated with the statistically higher enzyme levels of SGOT and SGPT in the first group than in the control grup ($p < .01$), and with the degree of swelling of hepatocytes which were greater in the first than in the second group while there was no change in the control group.*

* ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ต้นหญ้าลิ้นงูมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oldenlandia corymbosa* Linn. หรือ *Hedyotis corymbosa* (Linn.) Lam. เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เลื้อยที่มีอายุปีเดียว ขอบขึ้นตามที่ชื้นและริมทาง และที่รกร้างทั่วไป ต้นยาว 15-50 เซนติเมตร ลำต้นเกลี้ยง แตกกิ่งก้านสาขามาก มีใบแหลมเรียวเล็ก ดอกมีสีขาว เป็นช่อ ช่อดอกมี 2-4 ดอก สืบพันธุ์โดยใช้เมล็ด

สารประกอบที่พบทั้งต้น⁽¹⁾ มี triterpenes (ursolic acid, oleanolic acid), sterols (β -sitosterol, γ -sitosterol, stigmasterol), lactone, phenols, flavone, fatty acid (stearic acid, palmitic acid, oleic acid, linolenic acid) ต้นที่ตากแห้งจะพบ alkaloid biflorone และ biflorine อยู่ 12%⁽²⁾

สรรพคุณทางตำรายาแผนไทยเดิม (1) ใช้ต้นหญ้าลิ้นงูเป็นทั้งยาภายในและยาภายนอก การใช้เป็นยาภายนอกใช้ ต้นสดต้มชะล้างแผลที่ถูกไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ส่วนยาภายในใช้ต้มน้ำกินสำหรับแก้ไข้ รักษาไส้อักเสบ รักษาเมะเร็งในตับ

สรรพคุณทางตำรายาจีน⁽³⁾ ได้ใช้ยาต้มหญ้าลิ้นงูในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ทางเดินหายใจอักเสบ มาลาเรีย ไส้ติ่งอักเสบ และโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ ได้แก่ มะเร็งแรกเริ่มของปอด ตับ ลำไส้ใหญ่

ในประเทศอินเดีย⁽²⁾ ใช้ยาต้มหญ้าลิ้นงูในการลดไข้ รักษาโรคดีซ่าน และโรคตับ

จะเห็นได้ว่า มีการนำต้นหญ้าลิ้นงูมาใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ มาเป็นเวลานานแล้ว ดังที่ปรากฏอยู่ในตำราสมุนไพรของประเทศต่าง ๆ แต่ยังไม่มียารายงานถึงการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และพิษวิทยาเลย

มูลเหตุที่ทำการศึกษารักษาถึงพิษของหญ้าลิ้นงู

เนื่องมาจากการสังเกตว่า⁽⁴⁾ มีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งของตับบางรายได้ดื่มน้ำต้มหญ้าลิ้นงูเป็นประจำโดยไม่ได้รับการรักษาด้วยวิธีอื่นเลย สามารถมีชีวิตอยู่ได้อย่างปกติสุข และมีอายุยืนยาวกว่าผู้ป่วยมะเร็งตับรายอื่นที่ไม่ได้ดื่มยาต้มหญ้าลิ้นงู และจากการที่ผู้ป่วยโรคมะเร็งของตับนั้นจะต้องรับประทานยาที่อยู่เป็นเวลานาน ซึ่งอาจทำให้เกิดพิษขึ้นได้ ประกอบกับการที่ได้ค้นคว้าวารสารต่าง ๆ เกี่ยวกับสมุนไพรยังไม่พบว่า มีผู้ใดได้รายงานการศึกษาความเป็นพิษของหญ้าลิ้นงู คณะผู้วิจัยจึงมีความเห็นว่า แม้จะยังไม่ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหญ้าลิ้นงูต่อเซลล์ของมะเร็งในขณะนี้ ถ้าสามารถพิสูจน์ว่าหญ้าลิ้นงูไม่ทำให้เกิดพิษหรือทำให้เกิดพิษ ย่อมจะเป็นประโยชน์แก่ผู้ป่วยทั้งสิ้น จึงได้ทำการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของหญ้าลิ้นงู

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน (Subacute toxicity) ของต้นหญ้าลิ้นงูหลังจากที่ได้ให้ยาแก่หนูถีบจักรเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์

วัสดุ

1. สัตว์ทดลอง ใช้หนูถีบจักรพันธุ์พื้นบ้านทั้ง 2 เพศ เพาะพันธุ์และเลี้ยงที่ศูนย์สัตว์ทดลองคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย น้ำหนักตัวตั้งแต่ 20-25 กรัม เลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิประมาณ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัท F.E. Zuelling และน้ำโดยไม่จำกัดปริมาณ

2. สมุนไพร ต้นหญ้าลิ้นงูตากแห้งซื้อจากร้านขายยาไทย และได้รับการ identify ว่าเป็น *Oldenlandia corymbosa* Linn. นำมาทำเป็นยาต้มขนาด 20% และ 200%

3. anesthetic ether

4. neutral formalin 10%
5. น้ำยาย้อม slide hematoxylin, eosin
6. นำยาสำเร็จเพื่อวิเคราะห์หา enzyme

SGOT, SGPT

7. diacetylmonoxime

วิธีการ

1. สุ่มหนูถีบจักรเข้าสู่กลุ่มศึกษาจำนวน 3 กลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว โดยใช้ทั้ง 2 เพศ อย่างละเท่า ๆ กัน

2. จาก Chinese-Medical Herbs of Hong-kong⁽³⁾ กล่าวถึงการใช้ต้นหญ้าลิ้นงู 60 กรัม กับพืชอีกชนิดหนึ่งคือ *Scutellaria bartata* 30 กรัม ในรูปของยาต้ม (Decoction) รับประทานวันละ 1 ครั้ง หรือโดยประมาณ 1 กรัม/กก. จึงนำมาใช้เป็นขนาดทดลองโดย

- กลุ่มที่หนึ่งกรอกยาต้นหญ้าลิ้นงูในขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม/วัน (ใช้ยาต้มหญ้าลิ้นงูความเข้มข้น 200%)
- กลุ่มที่สองกรอกยาต้มหญ้าลิ้นงูขนาด 1 กรัม/กิโลกรัม/วัน (ใช้ยาต้มหญ้าลิ้นงูความเข้มข้น 20%)
- กลุ่มที่สาม กรอกน้ำกลั่นตัวละ 0.2 มล./วัน

3. บันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ สังเกตการเจริญเติบโต เมื่อครบ 12 สัปดาห์แล้ว จะทำให้หนูถีบจักรสลบโดยใช้ anesthetic ether เพื่อ

3.1 เจาะเลือดจาก abdominal aorta นำ serum มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับ enzyme SGOT, SGPT⁽⁵⁾ และ BUN⁽⁶⁾

3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ น้ำหนักของตับ ไต ปอด หัวใจ ม้าม และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของอวัยวะเหล่านี้ โดยการนำมาแช่ในน้ำยา neutral formalin 10% หลังจากนั้นนำมาฝังใน paraffin ตัดให้ชิ้นเนื้อบางราว 5 micron ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin

ผล

ผลการศึกษาน้ำหนักสัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบน้ำหนักตัวตอนเริ่มแรกทำการศึกษากับน้ำหนักเมื่อครบ 12 สัปดาห์ พบว่าปลายสัปดาห์ที่ 12 หนูถีบจักรทุกกลุ่มมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพบว่า ความแตกต่างของน้ำหนักเริ่มแรกทำการทดลองและน้ำหนักเมื่อครบ 12 สัปดาห์ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 1 ภาพที่ 1

Table 1 Summary of paired analysis on body weight of two experimental and one control groups of study mice before and 12 weeks after experiment.

Group no	Dose (g/kg)	n	Body wt at beginning of the experiment (gm)	Body wt after 12 week's	P.value
1	10	15	23.8 ± 2.0	* 30 ± 6.5	.001
2	1	15	23.0 ± 2.2	* 29.4 ± 3.7	.001
3	control	16	23.2 ± 2.7	* 26.5 ± 5.5	.005

* difference statistically from body weight at beginning of the experiment.

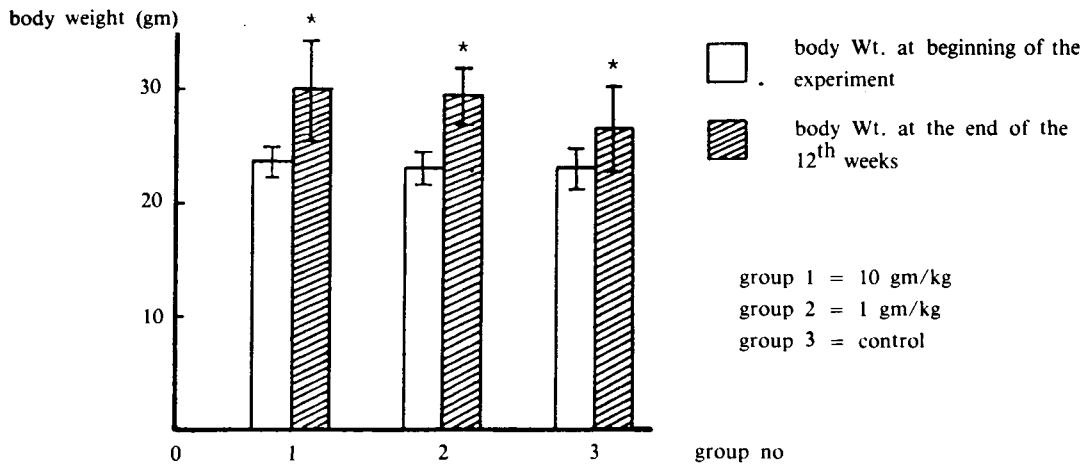


Figure 1 Effect of *O.corymbosa* Linn. decoction on body weight of the experimental mice

* difference statistically from beginning of the experiment.

น้ำหนักของอวัยวะภายในเมื่อครบ 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 2 ภาพที่ 2 จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มความแตกต่างของน้ำหนักหัวใจ ปอด และไต ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักของม้ามในหนูถีบจักรในกลุ่มที่หนึ่งซึ่งได้รับขนาดมาก (10

g/kg) จะมีขนาดโตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .05$) และน้ำหนักตับของหนูถีบจักรที่ได้รับยา ทั้ง 2 กลุ่ม จะมีขนาดโตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($p < .01$)

Table 2 Summary of unpaired analysis of the weight of heart, spleen, lung, liver and kidney of two experimental and one control groups of study mice at the end of 12 weeks.

Group no	dose (g/kg)	n	Heart (gm)	Spleen (gm)	Lung (gm)	Liver (gm)	Kidney (gm)
1	10	15	0.1211 ± 0.0315	*0.1376 ± 0.0452	0.3011 ± 0.1551	* 1.5850 ± 0.4263	0.3596 ± 0.1043
2	1	15	0.1157 ± 0.0189	0.1180 ± 0.0389	0.2552 ± 0.0624	* 1.4082 ± 0.2379	0.3191 ± 0.0667
3	control	16	0.1119 ± 0.0244	0.1033 ± 0.0193	0.3094 ± 0.1090	1.1728 ± 0.2723	0.3043 ± 0.0883
P.value			NS	.05	NS	.01	NS

* difference statistically from control group

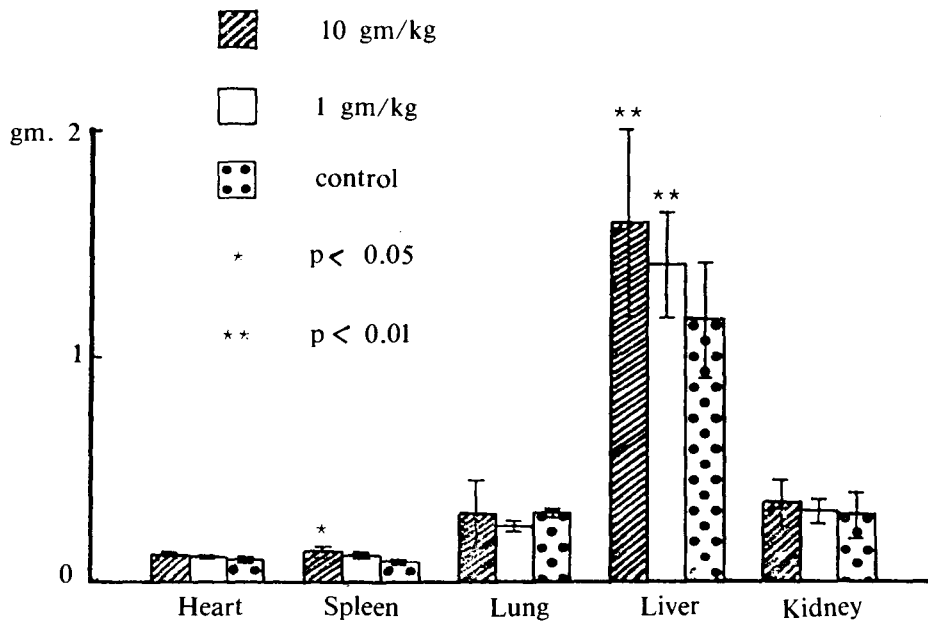


Figure 2 Effect of *O.corymbosa* Linn. decoction on the weight of heart, spleen, lung, liver and kidney of the experimental mice.

ผลของยาต้มหญ้าลิ้นงูต่อการเปลี่ยนแปลงของ BUN และระดับ enzyme SGOT, SGPT ได้แสดงในตาราง 3 ภาพที่ 3 พบว่าระดับ enzyme SGOT และ SGPT ในกลุ่มที่หนึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สอง ความแตกต่างของระดับ BUN ของทั้ง 3 กลุ่ม ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 3 Summary of unpaired analysis of BUN, SGOT and SGPT of two experimental and one control groups of study mice at the end of 12 weeks.

Group no	dose (g/kg)	n	SGOT (unit)	SGPT (unit)	BUN (mg%)
1	10	13	* 130.0 ± 23.6	* 43.5 ± 7.5	24.9 ± 4.2
2	1	13	105.7 ± 23.4	33.4 ± 7.2	23.7 ± 8.3
3	11	11	104.7 ± 23.1	28.7 ± 5.3	19.5 ± 4.1
P.value			.01	.01	NS

* difference statistically from control group.

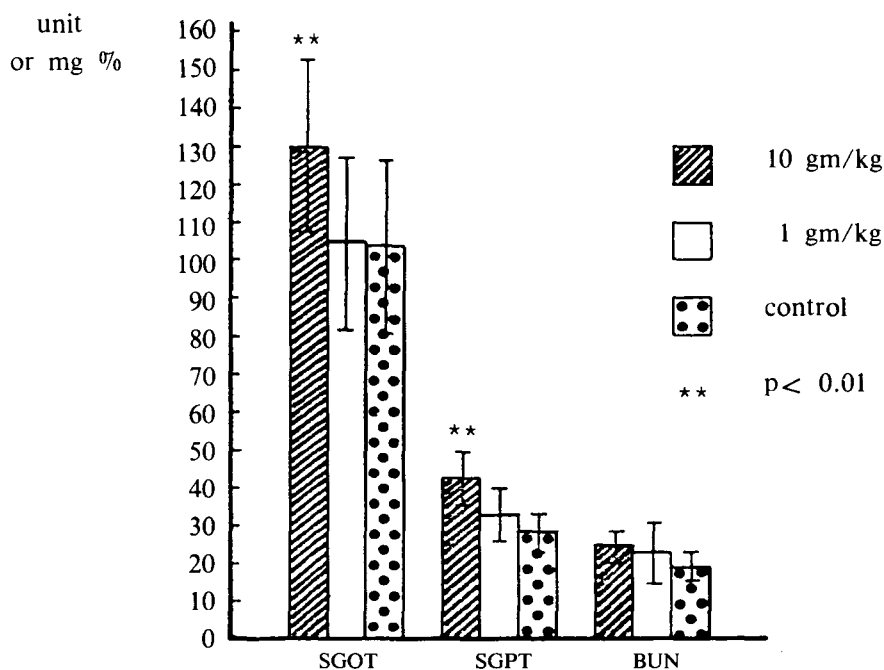


Figure 3 Effect of *O.corymbosa* Linn. decoction on the level of serum SGOT, SGPT and BUN on the experimental mice

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะต่าง ๆ ของหนูทั้ง 3 กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของหัวใจ ปอด ม้าม ไต ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ แต่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับบ้าง มีเซลล์ตับบวม (Swelling of hepatocyte) เล็กน้อยในกลุ่มที่ได้รับยาต้มหม้อลั้งูทั้ง 2 กลุ่ม

โดยเฉลี่ยแล้วพบว่าเซลล์ตับของหนูกลุ่มที่หนึ่งซึ่งได้รับยาขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม จะบวมมากกว่ากลุ่มที่สองซึ่งได้รับยาขนาดน้อยกว่า คือ 1 กรัม/กิโลกรัม สำหรับหนูกลุ่มควบคุม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับ แต่อย่างใด (ภาพที่ 4)

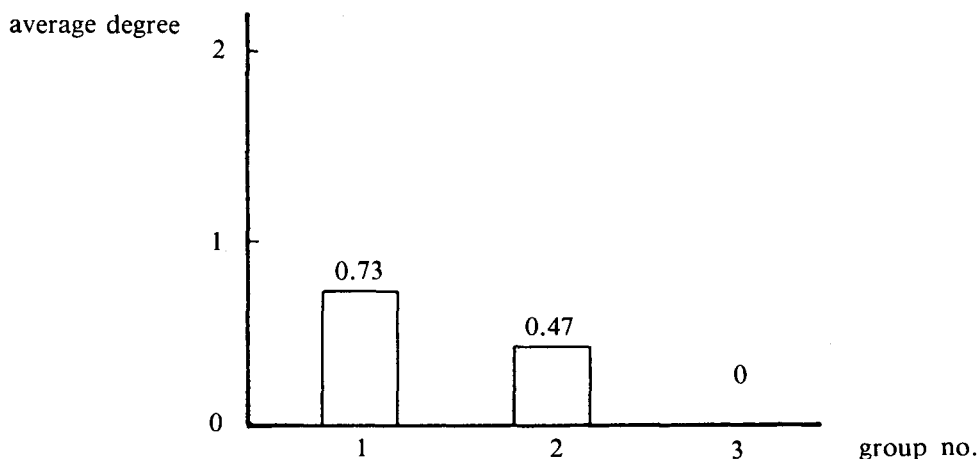


Figure 4 Microscopy of liver showing average degree of swelling of hepatocyte. The average degree is calculate by adding the degree of lesions of liver in the group and dividing the sum with the number of animal in the group.

วิจารณ์

ผลการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันของหญ้าลิ่งนุ ได้แสดงให้เห็นว่าแม้จะกรอกยาคัฒหญ้าลิ่งนุแก่หนูถีบจักรทุกวันเป็นเวลาจนถึง 12 สัปดาห์ และในขนาดที่สูงถึง 10 กรัมต่อกิโลกรัม จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตตามปกติของสัตว์ทดลอง เพราะหนูที่ศึกษาทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และความแตกต่างของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นทั้งในกลุ่มที่ได้รับยาและกลุ่มควบคุมไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาที่ไม่พบวิการ (lesion) ในส่วนของหัวใจ ปอด ไต รวมทั้งลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่

จากการศึกษาน้ำหนักของม้าม พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับยาขนาด 10 กรัมต่อกิโลกรัม (กลุ่มหนึ่ง) จะโตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา หนูที่ได้รับยาคัฒหญ้าลิ่งนุทั้ง 2 กลุ่มจะมีขนาดของตับโตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และผลจากการตรวจระดับ enzyme SGOT และ SGPT พบว่าในกลุ่มที่ได้รับยาขนาดมาก (10 กรัม/กิโลกรัม) จะมีปริมาณเพิ่มมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และยังสอดคล้องกับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาที่พบว่า หนูที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่มมีการบวมของเซลล์ตับ (swelling of hepatocyte) เล็กน้อยโดยกลุ่มที่ได้รับยาขนาดมาก จะมีการบวมของเซลล์ตับมากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาขนาดน้อย การบวมในลักษณะนี้เป็น การบวมที่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้ถ้าหยุดยา น่าที่จะเป็นผลของยาคัฒหญ้าลิ่งนุที่ทำให้มีการบวมของเซลล์ตับ เป็นผลให้ตับมีขนาดโตขึ้น และมีการเพิ่มของระดับ enzyme SGOT, SGPT ซึ่งเป็น leakage enzyme ที่พบในเนื้อเยื่อหลายแห่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง enzyme SGPT ที่มี specific activity ต่อบวมกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ⁽⁷⁾ ดังนั้นการ

เพิ่มของระดับ enzyme SGPT นี้ จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญ ที่จะบอกให้ทราบว่ามี increase permeability ของเซลล์ตับ เนื่องจากมี damage เกิดในเซลล์ของตับ และการเพิ่มระดับ enzyme SGOT ก็เป็นสิ่งที่ช่วยสนับสนุนถึงฤทธิ์ของหญ้าลิ่งนุ ที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับแม้ว่าจะเป็นเพียงชั่วคราว

ความแตกต่างของระดับ BUN ในกลุ่มที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่ม และกลุ่มควบคุม ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่ายาคัฒหญ้าลิ่งนุ ไม่มีผลต่อการทำงานของไต ในกลุ่มของหนูถีบจักรที่ศึกษา

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นทางด้านพิษวิทยาที่ได้ศึกษาถึงพิษกึ่งเฉียบพลันของต้นหญ้าลิ่งนุในสัตว์เพียง species เดียว การที่จะขยายความ (extrapolate) ผลของการศึกษาในสัตว์ทดลองมายังมนุษย์นั้น จะต้องศึกษาในสัตว์หลาย species และต้องศึกษาในระยะที่ยาวนาน (chronic toxicity) ตลอดจนต้องศึกษาพิษต่อระบบอื่น ๆ อีกมาก รวมทั้งจะต้องคำนึงถึง biological variation และ factors ต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันระหว่างคน และสัตว์ ซึ่งจะต้องศึกษาโดยละเอียดต่อไป อย่างไรก็ดี จากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้ก็น่าที่จะได้มีการระมัดระวังในการใช้หญ้าลิ่งนุ เพื่อรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งผู้ป่วยจะต้องใช้ยานี้อยู่เป็นเวลานาน

สรุป

ผลการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันของหญ้าลิ่งนุ เมื่อกรอกยขนาด 10 กรัมต่อกิโลกรัม และ 1 กรัมต่อกิโลกรัม แก่หนูถีบจักรเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับน้ำกลั่นเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง หนูกลุ่มที่ได้รับยาขนาดมากจะมีขนาดของม้ามโตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ขนาดของ

ดับของหนูที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่ม โตกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และมีการเพิ่มระดับ enzyme SGOT, SGPT ในกลุ่มที่ได้รับยาขนาดมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญรวมทั้งพบว่า มีการบวมของเซลล์ตับเล็กน้อยในหนูกลุ่มที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่ม โดยเฉลี่ยแล้วกลุ่มที่ได้รับขนาดมากจะมีการบวมของเซลล์ตับมากกว่ากลุ่มที่ได้รับขนาดน้อย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ

1. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภชคณะแพทยศาสตร์ อุดหนุนงานวิจัย

อ้างอิง

1. สาลี ใจดี, สุนทร วิทยานารถไพศาล, รพีพล ภโวาท, จิราพร ลิ้มปานานนท์, นียดา เกียรติยิ่งอังคสุลี, วิทิตา วัฒนวิบูล. หนูาลิ้นงู. การใช้สมุนไพร เล่ม 2, กรุงเทพฯ: สารมวลชน, 2524. 158-159
2. Sastri BN. Hedyotis. In : A Dictionary of Indian Raw Material and Industrial Products VOL. 5. The Wealth of India. Calcutta : The Council of Scientific & Industrial Research, New Delhi and Printed at Sree Saraswaty Press, 1959 : 15
3. Siu-Cheong C. Hedyotis corymbosa (L) Lamk. Chinese Medical Herbs of Hongkong Vol. 2 Hongkong, 1981. 146-149
4. รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สัจพันธ์ อิศรเสนา

2. รศ.พ.ญ.นันทพร นิลวิเศษ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และอาจารย์สมศรี บึงทมปัทมากุล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ในการศึกษานี้

3. ผศ.ดร.รพีพล ภโวาท ภาควิชาเภสัชพิษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วย identify ต้นหนูาลิ้นงู

4. คุณวินัส อุดมประเสริฐกุล สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยคิดสถิติ

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การติดต่อส่วนตัว กุมภาพันธุ์. 2526

5. Sigma Technical Bulletin No.505-1, (Sigma Chemical Co, Louis, Mo)
6. Marsh WH, Fingerhut B, Miller H. Automated and manual direct methods for the determination of blood urea. Clin Chem 1965 Jun; 11 : 624-627
7. Chen SH, Donahne RP, Scott CR. The genetics of glutamic-pyruvic transaminase in mice : inheritance electrophoretic phenotypes and post natal changes. Biochem Genet 1973 Sep; 10 : 23-28