บทที่ 1

บทนำ

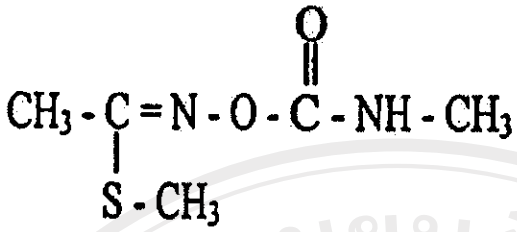
ปัจจุบันสารเคมีฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) ได้ถูกนำมาใช้ในด้านเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านเกษตรกรรม โดยนำมาใช้ป้องกันแมลงและศัตรูพืชต่าง ๆ เพื่อมิให้ทำลายผลผลิต หรือเพื่อใช้รักษาผลผลิตให้อยู่ได้ในระยะเวลาที่นานขึ้น จึงก่อให้เกิดการตกค้างในผลิตผล การเกิดพิษในเกษตรกรผู้ใช้ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อาทิเช่น ปัญหาการตกค้างของสารเคมีกำจัดแมลงในแหล่งน้ำและดิน และสะสมอยู่ในสัตว์บางชนิดเป็นต้น ดังนั้นปัญหาเรื่องอันตรายจากสารเคมีฆ่าศัตรูพืชและสัตว์จึงเป็นปัญหาใหญ่ปัญหาหนึ่งในประเทศไทยและคงจะไม่หมดไปในระยะเวลาอันสั้น

สารเคมีฆ่าศัตรูพืชแบ่งออกเป็นกลุ่มได้หลายกลุ่มตามชนิดของการใช้ คือ สารเคมีฆ่าแมลง (insecticides) สารเคมีฆ่าวัชพืช (herbicides) สารเบื่อหนู (rodenticides) สารฆ่าเชื้อรา (fungicide) และสารกันแมลง (insect repellants) สารเคมีฆ่าแมลงแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย ได้ 4 กลุ่ม คือ ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphates) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorines) คาร์บาเมต (carbamate) และไพรีทรอยด์ (pyrethroids) (ปรีชา, 2530)

เมโธมิล (Methomyl)

เมโธมิล หรือ แลนเนท (Lannate®) (รูปที่ 1) เป็นสารเคมีฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมตที่นิยมใช้กันมากในประเทศไทย จากสถิติการนำเข้าวัตถุอันตราย พบว่าสารกำจัดแมลงเมโธมิลมีการนำเข้าสูงขึ้นทุกปี ในปี พ.ศ. 2543 มีการนำเข้าถึง 1,117.58 ตัน และ พบว่ามียอดจำหน่ายสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีฆ่าแมลงชนิดอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ (กรมวิชาการเกษตรสถิติการนำเข้าวัตถุอันตราย, 2544) คุณสมบัติของเมโธมิล เป็นผลึกสีขาว มีกลิ่นกำมะถันเจือจาง สามารถสลายตัวได้ดีในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงหรือในสภาพที่เป็นด่าง และสามารถสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในดิน มีน้ำหนักมวลโมเลกุลเท่ากับ 162.2 จุดหลอมเหลวที่ 78-79 องศาเซลเซียส ในด้านเกษตรกรรมเมโธมิลถูกนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างกว้างขวาง เช่น ทำลายหนอนใบผัก หนอนคืบ หนอนกระทู้ หนอนเจาะใบผล หนอนยาสูบ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนเขียว หนอนม้วนใบ ตลอดจนเพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยอ่อน เป็นต้น (ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของสารเคมีฆ่าแมลงเมโธมิล (FAO, 2002)

การจำแนกระดับอันตรายของสารเคมีฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ ขึ้นกับค่าความเป็นพิษของสาร (the median lethal dose, LD50) ซึ่งเมื่อให้แก่สัตว์ทดลองแล้วทำให้สัตว์ทดลองเสียชีวิตลงครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมด โดยกำหนดหน่วยของ LD50 เป็นมิลลิกรัมของสารพิษต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวสัตว์ทดลอง การทดลองเพื่อหาค่า LD50 สามารถทำโดยการให้ทางปาก (oral) หรือฉีดสารทางผิวหนัง (dermal) หรือให้สารทางการหายใจ (inhalation) สารที่มีค่า LD50 ต่ำจะก่อให้เกิดอันตรายหรือความเป็นพิษที่รุนแรงกว่าสารที่มีค่า LD50 สูง ขนาดของความเป็นพิษของเมโธมิล หรือ LD50 ที่ทำให้หนูขาวกินเล้วตาย 50% มีค่าประมาณ 17-24 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา, 2546)

กลไกในการออกฤทธิ์ของสารเคมีฆ่าแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase (AChE) ในร่างกาย ซึ่งโดยทั่วไปมีหน้าที่เปลี่ยน acetylcholine ไปเป็น choline และ acetate จึงก่อให้เกิดการคั่งของ acetylcholine ซึ่งการคั่งนี้มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย เป็นปฏิกริยาที่สามารถย้อนกลับได้ (reversible anticholinesterase) สารเคมีฆ่าแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ด้วยตัวของมันเองเมื่อเข้าสู่ร่างกาย โดยไม่ต้องอาศัยปฏิกริยา metabolic activation (พาณี, 2524)

อาการพิษของสารกำจัดแมลงเมโธมิล (พาลาภ, 2537)

อาการพิษแบบเฉียบพลัน

มีทั้งอาการพิษแบบมัสคารินิค (muscarinic) นิโคตินิค (nicotinic) และอาการทางสมอง จุดรับสัมผัสมัสคารินิค (muscarinic receptors) สำหรับ acetylchloline พบส่วนใหญ่ในกล้ามเนื้อเรียบ หัวใจ และต่อมมีท่อ อาการที่เกิดขึ้นในระยะแรก คือ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร เหงื่อออก น้ำตาไหล ม่านตาหดตัว ถ่ายอุจจาระและปัสสาวะโดยกลั้นไม่อยู่ หลอดลมเกร็ง หลอดลมมีเมือกและเสมหะมาก เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อาการแบบนิโคตินิค เกิดขึ้นเนื่องจากการสะสมของ acetylchloline ที่ปลายประสาทมอเตอร์ที่ซินแนปส์ของระบบประสาทอัตโนมัติ อาการที่เกิดขึ้น คือ กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นมากกว่าปกติ มีอาการกระตุกของกล้ามเนื้อที่หน้า หนังตา ลิ้น ถ้าอาการรุนแรงขึ้นจะพบว่ามีการกระตุกมากทั่วร่างกาย ต่อมาจึงมีอาการอ่อนเพลียตามกล้ามเนื้อทั่วไปและเกิดเป็นอัมพาตของกล้ามเนื้อในที่สุด

อาการทางสมองเนื่องจากความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง ที่พบ คือ มึนศีรษะ ปวดศีรษะ งง และกระสับกระส่าย ตื่นตกใจง่าย อารมณ์พลุ่งพล่าน ถ้าอาการมากอาจชักและหมดสติได้ ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้เนื่องจากระบบการหายใจล้มเหลว กล้ามเนื้อของระบบการหายใจเป็นอัมพาตและศูนย์ควบคุมการหายใจในสมองหยุดทำงาน

สำหรับอาการพิษแบบเรื้อรังของเมโธมิลมีอาการคล้าย ๆ กับแบบเฉียบพลัน คือมีอาการคล้ายไข้หวัด อ่อนเพลีย ปวดกล้ามเนื้อ และ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase ได้อย่างต่อเนื่อง แต่จะเข้าสู่ภาวะปกติได้ถ้าหยุดการได้รับเมโธมิล

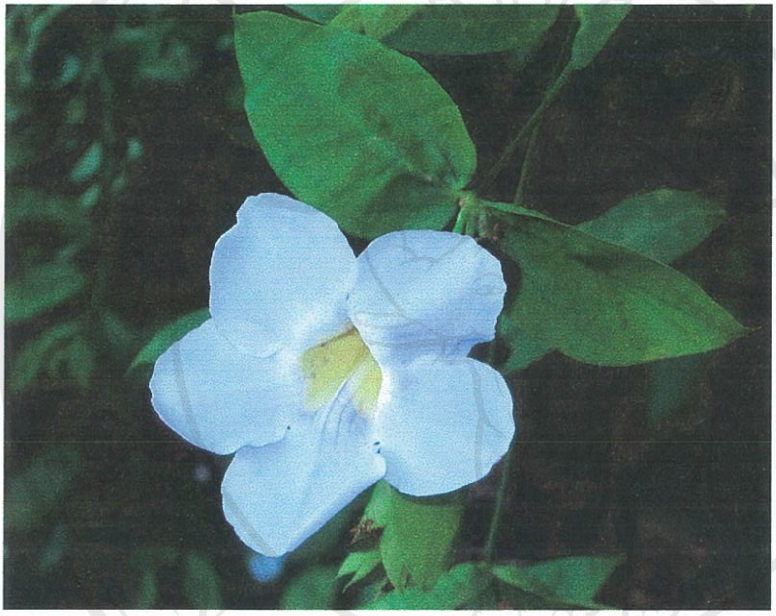
สมุนไพรรางจืด

ปัจจุบันพืชสมุนไพรเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในด้านการรักษาโรคทั่วไป เนื่องจากสังคมได้ตระหนักถึงคุณค่าและประโยชน์ของสมุนไพรแทนการใช้ยาที่สังเคราะห์มาจากสารเคมี โดยอาศัยแนวทางจากตำรายาสมุนไพรแผนโบราณ อาทิ เช่น รางจืด มีสรรพคุณเพื่อใช้แก้พิษชนิดต่าง ๆ (สมุนไพรสวนสิริรุชชาติ, 2535) รางจืดเป็นพืชสมุนไพรจากธรรมชาติที่รู้จักกันดี ใช้กันมากในวงศ์การแพทย์แผนโบราณ และเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้าน ซึ่งบริษัทหลายแห่งได้มีการผลิตและจัดจำหน่ายในหลายรูปแบบ เช่น เป็นชาผงสำเร็จรูป หรือรางจืดผงบรรจุแคปซูล

รางจืด (รูปที่ 2) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Thunbergia laurifolia* Lindl. (Jackson, 1856) เป็นพืชในวงศ์ *Thunbergiaceae* มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ Purple allamanda สำหรับในประเทศไทยรางจืดมีชื่อเรียกอื่น ๆ อาทิเช่น กำลังช้างเผือก ขอบชะนาง เครือเขาเขียว ยาเขียวคาย รางเย็น ดูเหว่า ทิดพุด น้ำนองย่ำแย้ และ แอดแอ เป็นต้น (ภาคภูมิ, 2545 และ วิทย์, 2539) รางจืดเป็นพืชสมุนไพรไทยที่หาง่ายในภาคเหนือ เป็นพรรณไม้เถาชนิดหนึ่งชอบขึ้นตามชายป่าดิบและบริเวณลำห้วย ชอบอาศัยพันเกาะเกี่ยวกับต้นไม้ใหญ่ มีเถาที่แข็งแรงมาก ลักษณะของเถากลมเป็นข้อปล้องมีสีเขียว ใบเป็นไม้ใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ และขนาดของใบไล่กันขึ้นไปตั้งแต่ขนาดใหญ่ตรงโคนก้านไปหาขนาดเล็กตรงปลายก้านใบ ใบสีเขียวผิวเกลี้ยง ลักษณะใบเป็นรูปหัวใจตรงโคนใบจะเว้า ปลายใบจะเป็นติ่งแหลม ใบกว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่ออยู่ตามง่ามใบ ช่อหนึ่งจะมีดอกอยู่ 3-4 ดอก ดอกห้อยระย้าลงมา ลักษณะของดอกเป็นกรวยตื้น ๆ หลอดกรวยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ตรงปลายดอกจะแยกเป็นแฉกอยู่ 5 แฉกหรือ 5 กลีบ ดอกมีสีม่วงอ่อน ๆ หรือสีคราม ดอกที่ยังอ่อนหรือยัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไม่บานจะมีกาบห่อหุ้มอยู่ ดอกบานเต็มที่จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว ภายในหลอดดอกนั้นเป็นสีขาวมีเกสรตัวผู้อยู่ประมาณ 4 อัน จะผลิดอกในเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม พอดอกนั้นโรยไปก็จะติดเป็นผล ซึ่งมีลักษณะเป็นฝัก ตรงปลายฝักจะแหลมคล้ายกับปากนก ส่วนโคนกลมยาวประมาณ 1-1.5 นิ้ว เมื่อผลแก่จะแตกออกเป็นสองซีก มีการกระจายพันธุ์อยู่แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ขึ้นได้ในดินทุกชนิด พบทั่วไปตามชายป่าดิบ ป่าละเมาะ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ปักชำ และตอนกิ่ง (วิทย์, 2539)



รูปที่ 2 ลักษณะของดอกรางจืดสีม่วง (*Thunbergia laurifolia* Lindl.)

รางจืดสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด (ชะลอ, 2519) ได้แก่

1. รางจืดชนิดต้น (*Milaca kityana*) เป็นไม้ล้มลุกและเป็นไม้พุ่มสูงไม่เกิน 6 ฟุต ดอกสีเหลืองเหมือนดอกถั่ว และมีฝักเหมือนถั่วฝัก สารออกฤทธิ์อยู่ที่ราก สามารถใช้ถอนยาสั่งหรือยาพิษได้ แต่สรรพคุณในการรักษาโรคน้อยกว่ารางจืดชนิดเถา
2. รางจืดชนิดว่าน ลักษณะเป็นกอเหมือนต้นขมิ้น มีหัวคล้ายหัวขมิ้นแต่มีสีขาว ถ้าหักมาดมจะได้กลิ่นหอมน่ารับประทาน มีสรรพคุณในการถอนพิษยาสั่งและสารพิษต่าง ๆ ได้เช่นเดียวกัน
3. รางจืดชนิดเถา (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) รางจืดชนิดเถานี้เป็นรางจืดตัวผู้ ดอกสีม่วง มีสารออกฤทธิ์ที่รากและใบสูงกว่าดอกสีเหลืองและสีขาวหลายเท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตำรายาสมุนไพรไทยระบุสรรพคุณของรางจืดชนิดเถาไว้ดังนี้

ใบสด: แก้ไข้ ถอนพิษ (สมุนไพรสวนสิริรุขชาติ, 2535)

ใบแห้ง: ถอนพิษจากสารเคมี เช่น สตริ๊กนิน สารหนู และพิษจากแมลง (Sunyapridakul, 1980)

รากและเถา: แก้ร้อนในกระหายน้ำ รักษาพิษร้อนทั้งปวง (วิทย์, 2539)

ทั้งต้น: ปรุงยารักษามะเร็ง (วุฒิ, 2540 และ Wasuwat, 1967)

ราก: แก้บวม แก้อักเสบ (Wasuwat, 1967)

สารประกอบทางเคมีของรางจืด

มีรายงานการศึกษาทางเคมีและคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของรางจืด (Wasuwat, 1967 และ Purina *et al.*, 1978) พบว่าสารเคมีส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม flavonoids ได้แก่ apigenin, cosmosiin และ delphinidin-3, 5-di-o-β-D-glucoside เป็นต้น

วีระยุทธ (2522) ได้แยกสกัดสารสำคัญจากใบรางจืด (สกัดด้วยน้ำและเมธานอล) โดยวิธี chromatography พบว่าสารสกัดจากใบรางจืดประกอบด้วย amino acid 4 ชนิด คือ methionine, glycine, serine และ unidentified amino acid และจากการสกัดด้วย petroleum ether ที่ 50-70 องศาเซลเซียส พบว่าประกอบด้วย steroid 8 ชนิด และ carotenoid อีก 1 ชนิด

สุพร (2541) และ ขวัญสิริ (2542) ทำการศึกษาองค์ประกอบสำคัญของใบรางจืดสด โดยใช้ตัวทำละลายเป็นตัวสกัดและทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography และ thin layer chromatography ผลการศึกษาพบว่าในส่วนสกัด ethyl alcohol ประกอบด้วยสารสำคัญในกลุ่ม steroid อย่างน้อย 4 ชนิด และในส่วนสารสกัด hexane อีก 2 ชนิด

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับรางจืดในการแก้พิษต่าง ๆ

พาณี และ คณะ (2523) ได้ศึกษาการต้านฤทธิ์เฉียบพลันของสารกำจัดแมลงชนิดออร์กาโนฟอสเฟตในหนูขาวโดยใช้น้ำสกัดใบรางจืดสด พบว่าเมื่อฉีดโฟลิดอลเข้าใต้ผิวหนังของหนูขาวขนาด 20 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และตามด้วยน้ำสกัดใบรางจืดแก่หนูขาวขนาด 0.5, 1, 2 และ 3 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม (เตรียมน้ำสกัดใบรางจืดสด 100 % WV) โดยให้ทางปากและฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือทางช่องท้อง พบว่าได้ผลดีที่สุด คือ การให้ทางปากขนาด 2 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัมของหนูขาว โดยสามารถลดอัตราการตายของหนูขาวจาก 60 ± 7.00% เป็น 25 ± 8.66%

วีระวรรณ (2523) ได้ศึกษาผลของน้ำสกัดใบรางจืดแห้งในการแก้พิษโฟลิดอล พบว่าสามารถแก้พิษของโฟลิดอลได้เช่นเดียวกับน้ำสกัดใบรางจืดสด แต่มีฤทธิ์ข้างเคียงค่อนข้างสูงเนื่องจากรางจืดมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของ non-vascular smooth muscle โดยตรง ทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นและอาจออกฤทธิ์ผ่าน cholinergic receptor เป็นผลทำให้ความดันโลหิตลดลง

สกุลรัตน์ และ คณะ (2542) ศึกษาผลของรางจืดต่อการลดพิษพาราไธออนและพาราควอทในหนูขาวพบว่าสารสกัดจากใบรางจืดสามารลดพิษพาราไธออนและพาราควอทได้ โดยลดเปอร์เซ็นต์การตายของหนูทั้งสองกลุ่ม ลดระดับ malondialdehyde (MDA) ในหนูกลุ่มที่ได้รับพิษพาราควอท และ เพิ่มระดับพลาสม่า cholinesterase ในหนูกลุ่มที่ได้รับพิษพาราไธออนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ธีระ และ ธำรง (2521) ศึกษาฤทธิ์ของรากรางจืดในการแก้พิษสตริ๊กนินซัลเฟตในหนูขาว โดยใช้รากรางจืดแห้งในรูปน้ำยาแขวนตะกอนในน้ำตาลกลูโคส 50% ขนาด 1.0, 1.5, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนู 1 กิโลกรัมตามลำดับ 60 นาที ก่อนให้สตริ๊กนินซัลเฟต พบว่ารากรางจืดไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสตริ๊กนินซัลเฟตได้ แต่การศึกษาในหลอดทดลองพบว่ารากรางจืดแห้งที่ทำเป็นผงมีคุณสมบัติดูดซับสตริ๊กนินซัลเฟตไว้ได้ และ สามารถล้างการดูดซับนี้ได้ด้วยน้ำ เมื่อนำไปฉีดในหนูขาว หนูขาวไม่แสดงอาการผิดปกติใด ๆ

การทดสอบความเป็นพิษของรางจืด

วิรวรรณ (2545) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรรางจืด (toxicity test) ในหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley เมื่อให้บริโภคในขนาดสูงพบว่าน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว และไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของอวัยวะภายในแต่อย่างใด และเมื่อทดสอบโดยให้น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อเนื่องกันเป็นเวลา 28 วัน ซึ่งเป็นขนาดเทียบเท่ากับการดื่มชาในคนในแต่ละวันติดต่อกัน พบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ ไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายใน และไม่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อภายในของหนูขาว ยกเว้นน้ำหนักของตับและไตของกลุ่มหนูขาวเพศผู้ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่หนูขาวเพศเมียมีระดับเอนไซม์ aspartate aminotransferase เพิ่มขึ้น และระดับ chloride ในเลือดลดลง ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดเป็นเวลา 28 วันและหยุดการให้สารสกัดใบรางจืดเพื่อสังเกตอาการต่อไปอีก 14 วัน พบว่าน้ำหนักของตับและไตของกลุ่มหนูขาวเพศเมียกลับลดลง ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ ค่า blood urea nitrogen (BUN) เพิ่มขึ้นทั้งกลุ่มหนูขาวเพศผู้และเมีย และระดับ malondialdehyde ซึ่งเป็นผลผลิตของ lipid peroxidation ในซีรั่มของหนูขาวเพศผู้ลดลงอย่างชัดเจน

นอกจากนี้ยังทำการทดสอบความเป็นพิษต่อยีนของน้ำสกัดใบรางจืด โดยศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้แบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในสภาวะที่มีและไม่มีการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ใน S9 mix พบว่าสารสกัดใบรางจืดความเข้มข้น 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีนแบคทีเรีย และผลการทดลองมีแนวโน้วที่เห็นว่าสารสกัดใบรางจืดอาจช่วยยับยั้งการกลายพันธุ์ของยีนแบคทีเรียได้ จากผลการศึกษานี้ทำให้มีสมมติฐานว่าน้ำสกัดใบรางจืดอาจช่วยลดความผิดปกติของดีเอ็นเอที่เกิดเนื่องจากสารกำจัดแมลงเมโธมิลได้ (โดยศึกษาในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนและเซลล์ไขกระดูกของหนูขาวโดยอาศัยการทดสอบไมโครนิวเคลียส)

การเป็นพิษต่อดีเอนเอและยีน (genotoxicity) ของสารเคมีฆ่าแมลงเมโธมิล

สารเคมีฆ่าแมลงเมโธมิลมีผลต่อระบบพันธุกรรม ซึ่งองค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานว่าเมโธทิลสามารถทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ (mutagenicity)ได้ (Lucero และ คณะ, 2000) โดยทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม เกิดการแตกหักของโครโมโซมและเกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสได้ทั้งการทดลองในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง

Bonatti และ คณะ (1994) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อยีนของเมโธมิล และแลนเนท 25 โดยใช้เซลล์ลิมโฟไซต์ของคนในหลอดทดลองด้วยวิธีไมโครนิวเคลียส พบว่าเมโธมิลที่ขนาด 0.01, 0.03 และ 0.09 มิลลิโมลาร์ และแลนเนท 25 ที่ขนาด 0.01, 0.03 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม และศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม พบว่าเมโธมิลที่ขนาด 0.18 มิลลิโมลาร์ และแลนเนท 25 ที่ขนาด 1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ความผิดปกติของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของชนิพร (2545) ที่ศึกษาผลของสารฆ่าแมลง 3ชนิด คือ แลนเนท-แอล (methomyl) ทามารอน 600 เอสแอล และ ฟูราดาน 3% จี ต่อดีเอ็นเอของมนุษย์ พบว่าสารฆ่าแมลงทั้งสามชนิดสามารถทำให้เกิดการขาดของสายดีเอ็นเอในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนในหลอดทดลองได้ และพบว่าเมโธมิลที่ความเข้มข้น 800 และ 1,600ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้เกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมได้

Bolognesi และ คณะ (1994) ได้ทำการศึกษาการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมด้วยวิธีไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกของหนูถีบจักรสายพันธุ์ Swiss CD1 พบว่าเมโธมิลเมื่อให้ทางช่องท้องมีฤทธิ์ในการทำลายโครโมโซมให้แตกหักเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย (clastogenic) ได้ และเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wei และ คณะ (1997) ที่ทดสอบการเกิดไมโครนิวเคลียสของสารเคมีฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมต คือ propoxur, methomyl และ aldicarb ในเซลล์ไขกระดูกของหนูถีบจักรสายพันธุ์สายพันธุ์ BALB/c และใน culture chinese hamater ovary cell พบว่า methomyl ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และ 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งในสัตว์ทดลอง และหลอดทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Amer และ คณะ (1996) ได้ทำการศึกษาสารเคมีฆ่าแมลง lannate, dursban, DDT, sevin และ malathion ในหนูถีบจักร โดยฉีดเข้าช่องท้องที่ขนาด 1.0, 4.0, 5.5, 7.0 และ 30.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ แล้วทำการฆ่าหนูหลังให้สารเคมีฆ่าแมลงที่เวลา 6, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อนำเอาม้ามมาตรวจความผิดปกติของโครโมโซม พบว่า lannate, dursban, DDT, sevin และ malathion ทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

การทดสอบไมโครนิวเคลียส (Micronucleus assay)

การทดสอบไมโครนิวเคลียส เป็นวิธีทดสอบการก่อกลายพันธุ์โดยอ้อมที่ใช้ประเมินการเกิดความผิดปกติของโครโมโซม เมื่อคนหรือสัตว์ได้รับสารเคมีที่มีผลต่อโครโมโซม วิธีนี้สามารถตรวจสอบได้ทั้งสารเคมีที่มีผลทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม (clastogens) และสารเคมีที่มีผลต่อสายใย (spindle apparatus) ทำให้เส้นใยไม่ก่อรูปขึ้นมาหรือไม่สามารถทำหน้าที่ของมันได้ (spindle poison) การทดสอบนี้สามารถทำได้ง่าย สะดวก รู้ผลเร็ว ประหยัด และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง สามารถทำได้ทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ศึกษาได้ในเซลล์ที่มีการแบ่งตัวอยู่แล้ว เช่น เซลล์ไขกระดูก (bone marrow) หรืออาจใช้วิธีนำเซลล์มาเลี้ยงเพื่อให้เซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้น ได้แก่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocytes) เซลล์ในน้ำคร่ำ (amniocytes) หรือเซลล์ที่กลายเป็นเนื้อเส้นใย (fibroblasts) เป็นต้น

ไมโครนิวเคลียสเป็นนิวเคลียสเล็ก ๆ ที่แยกออกจากนิวเคลียสใหญ่ภายในเซลล์ เกิดขึ้นเมื่อนิวเคลียสได้รับอันตรายจากสารเคมี ไมโครนิวเคลียสเกิดจากโครโมโซมบางส่วนแตกหักหลุดออกมา (acentric fragment) อยู่ในไซโตพลาสซึม โดยส่วนที่แตกหักนี้จะไม่กลับไปเชื่อมต่อกับส่วนของโครโมโซมที่หลุดออกมา หรือเกิดจากโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งไม่เคลื่อนที่ไปยังขั้วของมัน หรือเคลื่อนที่ช้ากว่าปกติ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัวในระยะ anaphase เนื่องจาก spindle fiber ได้รับความเสียหาย จึงทำหน้าที่บกพร่อง ไมโครนิวเคลียสส่วนใหญ่มีลักษณะกลม อาจมีลักษณะอื่นได้แต่พบน้อย ขอบเรียบชัดเจน ติดสีเช่นเดียวกับนิวเคลียสใหญ่ แต่มีขนาดเล็กมาก นอกจากนี้ยังพบว่าการทดสอบไมโครนิวเคลียสสามารถนำมาประยุกต์ใช้ศึกษาคุณสมบัติด้านการกลายพันธุ์ของสารเคมี หรือสารสกัดจากพืช เช่น สมุนไพร ผัก ผลไม้ และเครื่องเทศ ได้อีกด้วย (ปัญญา, 2534)

การทดสอบไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์

การทดสอบไมโครนิวเคลียสในหลอดทดลองนิยมใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์มาทดสอบเนื่องจากเป็นเซลล์ที่หาได้ง่ายโดยแยกมาจากเลือด เป็นวิธีที่ได้รับการเชื่อถือ และใช้กันอย่างแพร่หลาย การแบ่งตัวของเซลล์จะไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น ๆ ยกเว้นสารที่เราจะทดสอบ การเกิดไม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โครนิวเคลียสสามารถปรากฏในเซลล์ที่มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสที่สมบูรณ์ได้ ซึ่งในการทดลองจะมีการใช้ phytohaemagglutinin (PHA) กระตุ้นให้เซลล์มีการแบ่งตัวและใช้ cytochalasin B เพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ทำให้เห็นมีสองนิวเคลียสในหนึ่งเซลล์ (binucleated cell) (รูปที่ 3) แล้วทำการนับไมโครนิวเคลียสที่เกิดขึ้นใน binucleated cell (Fenech และ คณะ, 2000) ปกติเซลล์ลิมโฟไซต์จะพบไมโครนิวเคลียสใน binucleated cell ได้ประมาณ 0.7 -1.4% (Surralles และ คณะ, 1997)

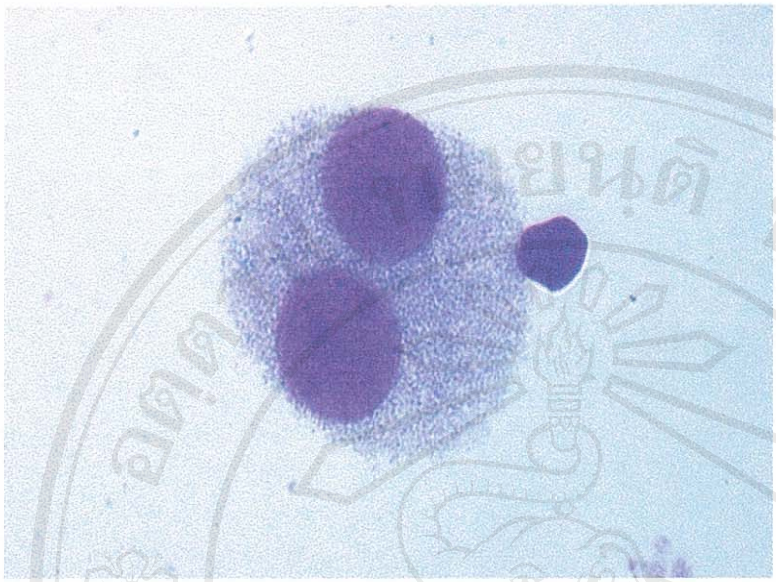
สำหรับ positive control ที่นิยมนำมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสในหลอดทดลองคือ mitomycin C (MMC) เนื่องจาก MMC เป็นสารจำพวก cross-linking agent จะจับกับ DNA และยับยั้งการ replication ของ DNA ซึ่งสามารถทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซมได้โดยไม่ต้องอาศัย metabolic activation (OECD, 1998) ในการทดสอบ MMC จากห้องทดลอง 10 แห่ง พบว่า MMC เหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสได้ชัดเจน (Movoumin และ คณะ, 1990)

การทดสอบไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกของหนูขาว

เป็นการศึกษาการเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์ polychromatic erythrocytes (PCEs) ซึ่งเป็นเซลล์อ่อนของเม็ดเลือดแดง เป็นระยะที่มีการขับนิวเคลียสออกนอกเซลล์ก่อนที่จะเจริญต่อไปเป็นเซลล์ normochromatic erythrocytes (NCEs) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดแดงที่สมบูรณ์ ขณะที่มีการขับเอานิวเคลียสออกจากเซลล์ ไมโครนิวเคลียสจะไม่ถูกขับออกมาด้วยจึงเห็นไมโครนิวเคลียสอยู่ใน PCEs ดังนั้นการศึกษาเซลล์ในระยะนี้จะสามารถสังเกตได้ง่ายถ้าเกิดความผิดปกติของโครโมโซม และเนื่องจาก PCEs เป็นเซลล์ที่เพิ่งมีการขับนิวเคลียสออกไปจากเซลล์ จึงยังมีปริมาณ RNA อยู่ในไซโตพลาสซึมเป็นจำนวนมาก เมื่อนำไปย้อมด้วย Leishman's stain พบว่าจะย้อมติดสีน้ำเงินหรือม่วงจาง ๆ และมีขนาดใหญ่กว่า NCEs เล็กน้อย ขณะที่ NCEs จะติดสีแดงจาง ๆ หรือเหลือง ดังรูปที่ 4

ภายในเซลล์ไขกระดูกของหนูขาว การสร้างเม็ดเลือดแดงจะต้องผ่านขบวนการแบ่งตัว 6–7 ครั้ง โดยการแบ่งตัวแต่ละครั้ง (cell cycle) ใช้เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง หลังการแบ่งตัวครั้งสุดท้ายประมาณ 5-10 ชั่วโมง มีการขับเอานิวเคลียสออกจากเซลล์ erythroblast แล้วเจริญไปเป็น PCEs โดย PCEs จะอยู่ภายในไขกระดูกประมาณ 10 ชั่วโมง (รูปที่ 5) (Adler,1984) จากนั้นจะเจริญไปเป็น NCEs โดยอยู่ในกระแสโลหิตได้ประมาณ 1 เดือน ขณะที่มีการขับเอานิวเคลียสออกจากเซลล์ ไมโครนิวเคลียสที่เกิดขึ้นไม่ถูกขับออกมาด้วยจึงเห็นไมโครนิวเคลียสอยู่ภายใน PCEs ช่วงระยะเวลาที่เกิดไมโครนิวเคลียสได้สูงสุดคือ 24-60 ชั่วโมงหลังการให้สารทดสอบ ขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีและปัจจัยต่าง ๆ ของหนูทดลอง อาทิ เช่น กลไกการออกฤทธิ์ของสาร หรือ ความไวต่อสาร (sensitivity) ของหนูทดลองเป็นต้น

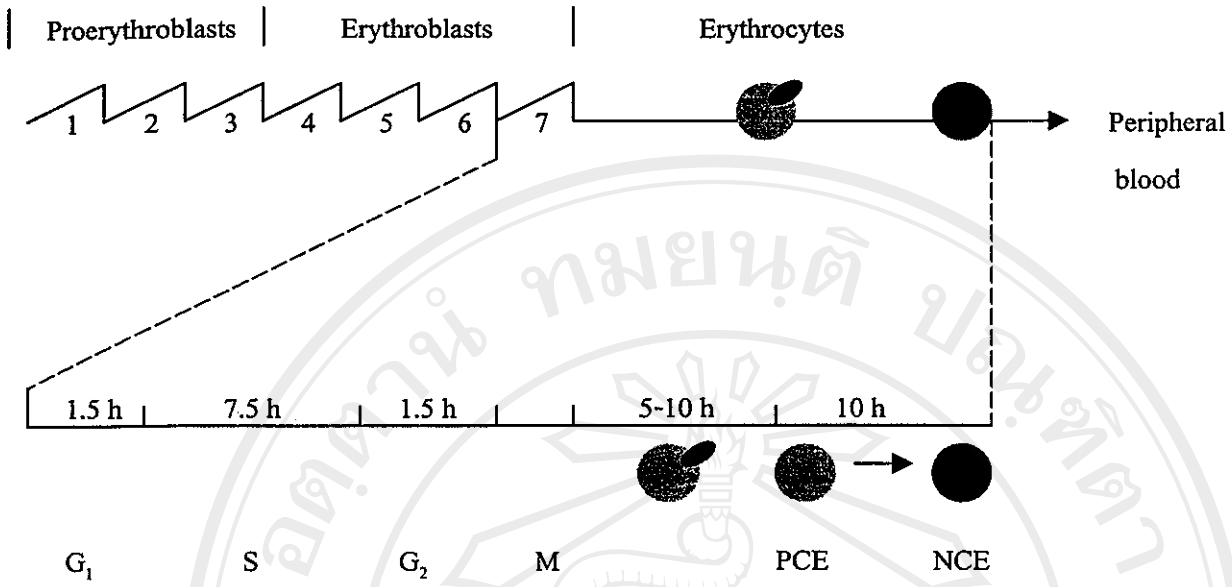
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3 แสดงลักษณะเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิด binucleated cell ย้อมด้วยสี Giemsa กำลังขยาย 2,000 เท่า

รูปที่ 4 แสดงลักษณะ PCE และ NCE ในไขกระดูกของหนูขาวส่วนต้นขา ย้อมด้วยสี Leishman กำลังขยาย 2,000 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 5 ไดอะแกรมแสดงขบวนการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดในเซลล์ไขกระดูกของหนูขาว เริ่มจากเซลล์อ่อนของเม็ดเลือดแดงจนเจริญไปเป็นเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่ (NCE) หลังจากการแบ่งตัวครั้งสุดท้ายจะมีการขับเอานิวเคลียสออกจาก PCE จากนั้นเจริญไปเป็น NCE ออกสู่กระแสเลือด (Adler,1984)

ลักษณะของไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกหนูขาว

ไมโครนิวเคลียสส่วนใหญ่มีลักษณะกลม ขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับขนาดของนิวเคลียสของเซลล์อื่น ๆ ในไขกระดูก ในหนูปกติจะพบไมโครนิวเคลียสใน PCE ได้ประมาณ 0.12-0.41% (Wild, 1988) และมีเพียง 1 ไมโครนิวเคลียสต่อ 1 เซลล์ ถ้าสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบไปกดการแบ่งตัวของเซลล์ไขกระดูกจะทำให้มีการสร้าง PCEs ออกมาน้อยและมีรูปร่างผิดปกติ ดังนั้นอัตราส่วนของ PCEs ต่อ NCEs ในไขกระดูกสามารถบ่งชี้บอกภาวะการถูกกดของไขกระดูกได้คือ เมื่อ PCEs มีจำนวนลดลงก็จะทำให้อัตราส่วนของ PCEs ต่อ NCEs ลดลงด้วย

สำหรับ positive control ที่นำมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสในสัตว์ทดลองคือ cyclophosphamide (CP) เนื่องจาก CP เป็นสารจำพวก alkylating agent ปกติจะอยู่ในรูปของสารที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive form) ต้องอาศัย metabolic activation ในร่างกายโดยอาศัย microsomal enzyme จากตับ โดย liver microsomal cytochrome P450 mixed-function oxidase system เปลี่ยนไปเป็น toxic metabolite (Kathleen และ คณะ, 1990) จากการทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ของ CP โดยดูจากการเกิดไมโครนิวเคลียสจากห้องทดลอง 27 แห่ง พบว่า CP สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสได้ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทุกห้องทดลอง ดังนั้นจึงนิยมใช้ CP ในการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสในสัตว์ทดลอง (Wakata และ คณะ, 1989)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้วิธีทดสอบไมโครนิวเคลียส

มีการนำวิธีทดสอบไมโครนิวเคลียสไปศึกษาคุณสมบัติด้านการกลายพันธุ์ของสารเคมี หรือสารสกัดจากพืช เช่น สมุนไพร ผัก ผลไม้ และ เครื่องเทศ กันอย่างแพร่หลาย ตัวอย่างเช่น

Kai และ คณะ (1998) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อยีน (genotoxicity) และ ยับยั้งความเป็นพิษต่อยีน (antigenotoxicity) ของ β-carotene โดยใช้วิธี chromosome aberration และไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคน พบว่า β-carotene ไม่มีความเป็นพิษต่อยีน และ สามารถต้านการเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนได้

Suresh และ คณะ (1998) ได้ทำการศึกษาผลการยับยั้งความเป็นพิษต่อยีนของ urethane ซึ่งเป็น aqueous extract จากผักชนิดต่าง ๆ (แครอท, ผักชม และ กะหล่ำปลี) เครื่องเทศ (อบเชย, พริกไทย, cumin, clove และ cardamon) ชา และ กาแฟ โดยใช้วิธีไมโครนิวเคลียส พบว่าสามารถยับยั้งความเป็นพิษต่อยีนได้

Scarpato และคณะ (1998) ศึกษาฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของ saponins ที่แยกได้จาก *Bupleurum fruticosum* โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในหลอดทดลอง พบว่าสามารถลดการเกิดไมโครนิวเคลียสที่ถูกเหนี่ยวนำโดย mitomycin C ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนได้

Vijayalaxmi และ คณะ (1999) ศึกษาฤทธิ์ต้านการแตกหักของโครโมโซมของ L-ascorbic ในไขกระดูกของหนูถีบจักร พบว่า L-ascorbic ที่ความเข้มข้น 10, 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดการเกิดไมโครนิวเคลียสที่ถูกเหนี่ยวนำโดย cyclophosphamide, mitomycin C และ bleomycin ได้

Roberta และ คณะ (2001) ศึกษาฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของเห็ด *Agaricus blazei* Murrill โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกและเลือดของหนูถีบจักร พบว่าสารสกัดจากเห็ดที่อุณหภูมิ 4, 21 และ 60 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดไมโครนิวเคลียสจาก cyclophosphamide ได้

Nidihi และ คณะ (2001) ได้ทำการศึกษาการต้านการก่อกลายพันธุ์ของ *Cinnamomum cassia* ซึ่งใช้เป็นเครื่องเทศในการปรุงแต่งอาหาร โดยใช้วิธี Ames test, chromosome aberration และ ไมโครนิวเคลียส พบว่าสามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจาก benzo[a]pyrene และ cyclophosphamide ได้ นอกจากนั้นยังพบว่า *Cinnamomum cassia* ไปเพิ่มระดับของ glutathione และ กระตุ้นการทำงานของ glutathione-dependent antioxidant enzyme ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Partricia และ คณะ (2001) ได้ทำการศึกษาการต้านการก่อกลายพันธุ์ของเห็ด *Letinula edodes* โดยดูการเกิดไมโครนิวเคลียสในหนูถีบจักรที่ให้ N-ethyl-N-nitrosourea และ cyclophosphamide พบว่าเกิดการลดลงของไมโครนิวเคลียส ทั้งใน mouse bone marrow และ peripheral blood cell

Alves และ คณะ (2002) ทดสอบการเกิดการกลายพันธุ์ และต้านการกลายพันธุ์ของ annatto ซึ่งเป็นพืชที่ใช้ทำสีผสมอาหาร โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกของหนูถีบจักร พบว่าถ้าใช้ annatto ในขนาดสูงจะเพิ่มการเกิดไมโครนิวเคลียสได้

สำหรับพืชสมุนไพรไทยพบว่ามีหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ได้ เช่น เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus.*) เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbogo indica* Linn.) และ ทองพันชั่ง (*Rhinacathus nasuthus* Kurz.) สามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการที่ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ / การก่อมะเร็ง (Rajanapo และคณะ, 1990)

บังอร และ คณะ (2534) รายงานว่าลูกใต้ใบ ซึ่งเป็นพืชล้มลุกในตระกูล Euphobiaceae เป็นพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านพิษของสารที่มีผลต่อยีนทั้งในแบคทีเรีย และ ตับหนูแฮมสเตอร์

กนกกาญจน์ (2536) พบว่าสารสกัดจากตะไคร้ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 6.4, 12.8 และ 25.6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดจำนวนไมโครนิวเคลียสที่ถูกเหนี่ยวนำโดย cyclophosphamide และ mitomycin C ได้ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานการวิจัยของอำนาจ และ คณะ (2536) ซึ่งได้ทำการศึกษาสารสกัดจากตะไคร้ด้วยเมทานอลโดยวิธี chromosome aberration ซึ่งใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนในหลอดทดลองแล้วทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมด้วย mitomycin C พบว่าที่ความเข้มข้น 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดตะไคร้ สามารถลดจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจาก mitomycin C ได้อย่างมีนัยสำคัญ

เพ็ญศิริ (2539) ทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดดอกอัญชัญโดยทดสอบการต้านการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคนที่เหนี่ยวนำด้วย mitomycin C ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และต้านการเกิดไมโครนิวเคลียสในหนูที่เหนี่ยวนำด้วย cyclophosphamide ความเข้มข้น 240 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าสารสกัดดอกอัญชันที่ความเข้มข้น 0.25 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรน้ำยาเลี้ยงเซลล์ สามารถลดจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมได้อย่างมีนัยสำคัญ และ ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถลดจำนวนไมโครนิวเคลียสในเซลล์ไขกระดูกของหนูถีบจักรได้

สารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagen)

สารต้านการกลายพันธุ์เป็นสารที่สามารถลดความถี่ในการเกิดการกลายพันธุ์ ไม่ว่าจะเป็นการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous mutation) หรือถูกทำให้เกิดขึ้น (induced mutation) (Hui-Yin Chen และ คณะ, 1997)

กลไกในการต้านการกลายพันธุ์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (Hoffmann และ คณะ, 1999; Pei-Ren Lo และ คณะ, 2002) คือ

1. Desmutagens : สารต้านการกลายพันธุ์ที่มีกลไกการเปลี่ยนแปลงสารก่อกลายพันธุ์ภายนอกเซลล์หรือก่อนที่ดีเอนเอจะได้รับความเสียหาย โดยทำปฏิกริยากับสารก่อกลายพันธุ์โดยตรง ยับยั้งการสร้างสารก่อกลายพันธุ์จากสารตั้งต้น ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการกระตุ้นสารก่อกลายพันธุ์ให้ออกฤทธิ์ หรือกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้กำจัดสารพิษ (detoxifying enzyme) เช่น coumarin เพิ่มการทำงานของ glutathione-S-transferase หรือ ascorbic acid ช่วยยับยั้งการนำเข้าสู่เซลล์ (uptake) ของสารก่อกลายพันธุ์ เป็นต้น

2. Bioantimutagens : สารต้านการกลายพันธุ์ที่ยับยั้งผลของสารก่อกลายพันธุ์โดยการเปลี่ยนแปลงขบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น สารที่มีกลไกในขั้นตอนการซ่อมแซมดีเอนเอที่ถูกทำลาย หรือยับยั้งขบวนการ replication ของดีเอนเอที่ถูกทำลายภายในเซลล์

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงผลการใช้สมุนไพรรางจืดในการต้านการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสของสารฆ่าแมลงเมโธมิล โดยศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) ใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคน และ ศึกษาในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ใช้เซลล์ไขกระดูกของหนูขาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

จากการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสมุนไพรรางจืดไม่มีความเป็นพิษต่อยีน แต่มีแนวโน้มที่จะช่วยลดความผิดปกติของยีนได้ และจากสรรพคุณของรางจืดในการแก้พิษสารเคมีฆ่าแมลงต่าง ๆ ทำให้นำมาสู่การวิจัยนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดใบรางจืดในการต้านการเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสที่เกิดจากสารฆ่าแมลงเมโธมิล (methomyl) โดยศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) ใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของคน และ ศึกษาในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ใช้เซลล์ไขกระดูกของหนูขาว

ผลการวิจัยนี้ช่วยเป็นข้อมูลสนับสนุนสรรพคุณของสมุนไพรรางจืดที่ระบุว่ารางจืดสามารถใช้ปรุงเป็นยารักษามะเร็งได้ หากสารสกัดใบรางจืดสามารถต้านฤทธิ์การเหนี่ยวนำให้เกิดไมโครนิวเคลียสที่เกิดจากสารฆ่าแมลงเมโธมิลได้ และทำให้ผู้บริโภคชารางจืดเป็นประจำมีความมั่นใจว่ารางจืดมีผลดีต่อการบริโภคอย่างแท้จริง และอาจใช้สมุนไพรรางจืดป้องกันการก่อกลายพันธุ์ของยีนเนื่องจากสารพิษต่าง ๆ จากสิ่งแวดล้อมที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายโดยไม่รู้ตัวได้อีกด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved