

ปีที่ 28 ฉบับที่ 3
กรกฎาคม-กันยายน 2551

- การศึกษาการใช้ตัวบ่งชี้ไมโครเวฟเป็นทางเลือกในการ
ละลายพลาสมาแช่แข็งสำหรับผู้ป่วยในสถาบันมะเร็ง
แห่งชาติ
- Effect of Hepatitis C Virus Infection on the Risk of
Non-Hodgkin's Lymphoma in Thailand
- Animal Model for Using Allogeneic CD3/CD28 Cross-
Linked Th1 Memory Cells Showing a Potent Active
Immunotherapy of Leukemia/Lymphoma
- ศักยภาพของสมุนไพรทองพันชั่งในการป้องกันการเกิด
มะเร็งเต้านมโดยการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง 7, 12
- Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) ในหนูทดลอง
- สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กับความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งใน
ประเทศไทย

Vol. 28 No. 3
July-September 2008

ISSN 0125-2038

Animal Model for Using Allogeneic CD3/CD28 Cross-Linked Th1 Memory Cells Showing a Potent Active Immunotherapy of Leukemia/Lymphoma

Wirote Lausoontornsiri

Abstract We hypothesized that allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells (allogeneic Th1 cells) would provide a therapeutic effect which would create systemic anti-tumor immunity and break tolerance to self antigens of the tumor. In the experiment, nude mice were inoculated with BCL1 leukemia into both hips. The mice were divided into 4 groups : control, ablation left side tumor alone, ablation and injection with allogeneic Th1 cell and injection allogeneic Th1 cell alone groups. Forty percent of mice treated with the combination therapy survived without evidence of tumor. The contralateral tumor area is displayed to separately show the response of the 40% mice that survived and the 60% that eventually succumbed to disease. Growth of the contralateral tumors was significantly suppressed ($p < 0.01$) in the 60% of mice that eventually succumbed to disease. In this model, mice treated with intratumoral allogeneic Th1 cells alone survived a mean of 28 days, which was significantly longer than control mice which survived a mean of 19 days ($p < 0.0001$; hazard ratio=4.291). Forty percent of mice treated with cryo+Th1 survived >90 days. Our results indicate that the 'danger signals' and immunomodulatory effects of these allogeneic Th1 cells are capable of eliciting the therapeutic anti-leukemia effects in the BCL1 tumor model. This is an evidence of allogeneic CD3/CD28 crosslinked Th1 cell after processing necrotic bodies in-situ, that is able to provide an effect of immunotherapy in this animal model. The findings will be a strong warrant to proceed into the phase 1/2 clinical trial in the future. (*Thai Cancer J* 2008;28: 122-130.)

บทคัดย่อ การทดลองกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันต้านทานในสัตว์ทดลองด้วย Allogeneic CD3/CD28 cross linked Th1 memory cell ต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว

โดย **วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ**

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

การรักษาโรคมะเร็งด้วยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อให้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นสามารถทำลายและควบคุมเซลล์มะเร็งได้นั้นเป็นยุทธวิธีที่เรเริ่มนำมาใช้ในโรคมะเร็งหลายชนิดได้แก่ มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma มะเร็งไต และอื่นๆ แต่ขบวนการที่จะกระตุ้นเซลล์ให้เกิดเซลล์ชนิด Th1 expression ซึ่งมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งนั้นยังไม่มีขบวนการใดที่ทำได้ดีที่จะนำมาใช้ทางคลินิก เนื่องจากมีภาวะของ tolerance ในระบบภูมิคุ้มกันต้านทานอยู่ในผู้ป่วยเอง ทำให้เซลล์ภูมิคุ้มกันต้านทานเปลี่ยนแปลงไปเป็น Th2 expression ผู้วิจัยได้นำเสนอแนวทางโดยการวิจัยในสัตว์ทดลอง ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยวิธีกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานจาก Th2 ไปเป็น Th1 ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้ Allogeneic T cell กับ CD3-CD28 เป็นตัวกระตุ้น โดยการฉีด (implant) เซลล์มะเร็ง BCL1 บนสะโพกทั้ง 2 ข้าง ของ nude mice การทดลองแบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่ม control, กลุ่มที่ทำ cryoablate ข้างซ้าย, กลุ่มฉีด Allogeneic Th1 cell/CD3/CD28 cross linked และ กลุ่มฉีด Allogeneic Th1 cell/CD3/CD28 cross linked ร่วมกับการทำ cryoablation ผลการทดลองพบว่าเซลล์มะเร็ง BCL ที่สะโพกของหนูอีกข้างหนึ่งสามารถยุบตัวลงได้ในกลุ่มของหนูที่ได้ Th1/CD3/CD28 cross linked โดยพบประมาณ ร้อยละ 40 และมีอายุที่ยืนยาวกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งไม่มีผลต่อเซลล์มะเร็ง จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานด้วย Th1/CD3/CD28 cross linked สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานต่อเซลล์มะเร็งได้ ทำให้เกิดการกระตุ้นเซลล์ Th1 expression ในสัตว์ทดลอง ซึ่งเป็นผลต่อการควบคุมมะเร็งได้ โดยอาจนำมาใช้เพื่อการรักษาทางคลินิกต่อไปในอนาคต (*วารสารโรคมะเร็ง* 2551;28: 122-130.)

Introduction

Active immunotherapy concepts are being investigated in many cancer indications¹⁻³, including hematological malignancies⁴⁻⁵. The resident immune response to hematological malignancies are polarized to Th2⁶⁻¹⁰. Clinical trials of active immunotherapy in hematological malignancies have been shown to promote the dominant Th2 humoral response, however, this has not been translated into significant clinical efficacy¹¹⁻¹³.

To eradicate and maintain of remission for cancer require Th1 immune activation¹⁴. However, some patients develop a potentially effective type 1 immune response against the tumor¹⁵⁻¹⁷ or are therapeutically immunized to

develop a type 1 immune response¹⁸, but their tumors still continue to grow¹⁹.

The lack of efficacy in type 1 immune in patients and the ineffectiveness of native immune responses against tumors have been attributed to the ability of tumors to employ various strategies for evasion from immune attack²⁰. These immunoavoidance mechanisms employed by tumors render the immune system tolerant and permit tumors to grow unimpeded by immune surveillance even after specific up regulation of anti-tumor effector mechanisms by active immunotherapy. Establishment of this type of self-tolerance may be related to natural immune mechanisms which are normally employed to prevent autoimmune disease. This

normally beneficial effect may be responsible for tumor immune evasion, supported by the observation that many of the tolerance mechanisms that prevent autoimmunity are the same as employed by tumors to prevent immune destruction^{21,22}.

The “danger hypothesis” proposes that the immune system does not primarily discriminate self from non-self, but instead it is mainly adapted to recognize and respond to antigens depending on the context in which the antigens are presented to the immune system. The hypothesis proposes that antigens of any origin, presented in the context of ‘danger signals’ will evoke an immune response²². This model is based on the idea that the crucial signals that alert to ‘danger’ for the initiation of immune responses are endogenous, not exogenous²³. According to this hypothesis, the presentation of self-antigens from damaged or dead tissues where endogenous contents of the cells are released into the microenvironment will elicit an anti-self type 1 immune response.

The allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells used in this study contained numerous ‘danger signals’, including alloantigens, production of large amounts of type 1 cytokines and expression of CD40L. This led us to hypothesize that our allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells could serve as a potent adjuvant for stimulating type 1 anti-tumor immunity when used together with a source of tumor antigen.

To support this hypothesis, we found

that active immunotherapy with vaccine compositions containing allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells as an adjuvant were able to deviate a natural Th2 response to BCL1 leukemia to Th1 protective and therapeutic anti-leukemia immunity and that allogeneic booster infusions were able to increase the efficacy of the therapy. Translation of these results to the clinic may provide a novel active immunotherapy for patients with hematological malignancies in the setting of minimal residual disease after remission induction chemotherapy where the active immunotherapy protocol is used as an adjuvant therapy to prevent disease recurrence.

Materials and Methods

Mice

Five to six week old female nude mice were purchased. All mice were kept under specific pathogen-free (SPF) conditions and given acidified water and food ad libitum. All mice were 6 to 8 weeks old when placed on experiment.

BCL1 Tumor Model

BCL1 is a spontaneous B-cell leukemia/lymphoma of Balb/c origin. The BCL1 tumor line is maintained *in vivo* by serial passages in Balb/c recipients. The total 1×10^4 BCL1 was implanted subcutaneously in both flank of mice. BCL1 forms a rapidly growing solid tumor in this setting resembling lymphoma/plasmacytoma.

Preparation of Allogeneic Th1 Memory Cells

Allogeneic Th1 memory cells were prepared as described previously. Briefly, CD4+ cells were isolated from male C57BL/6 spleens and cultured for 6 days with anti-CD3 and anti-CD28-coated paramagnetic beads (CD3/CD28 T-cell Expander beads, Dynal/Invitrogen) at an initial bead:CD4 cell ratio of 3:1 and 20 IU/mL recombinant mouse (rm)IL-2, 20 ng/mL rmIL-7, 10 ng/mL rmIL-12 (Peptotech, New Jersey) and 10 µg/mL antimurine IL-4 mAb (Becton Dickenson) in RPMI 1640 media containing 10% FBS, penicillin-streptomycin-glutamine, nonessential amino acids (NEAA) (Biological Industries, Israel) and 3.3 mM N-acetyl-cysteine (NAC; Sigma) (complete media). After 6 days in culture, the CD4 cells were harvested and debeaded by physical disruption and passage over a magnet. These cells were either used fresh or stored in liquid nitrogen for future use. Prior to use, the cells were activated by crossing CD3 and CD28 with anti-CD3/anti-CD28 coated nanobeads and cultured for 4 hours in complete media at 37°C in CO₂ incubator.

Vaccinations

Mice were vaccinated with vaccine compositions suspended in 0.1 ml of HBSS or complete media. Inoculations were made either in alternating foot pads or in the skin layer of the shaved flank.

BCL1 tumor antigen preparations

BCL1 lysates and irradiated cells were used as sources of tumor antigens. Batches of BCL1 lysate were derived from 1×10^7 BCL1 cells suspended in 2 mL of HBSS and lysed by 3 freeze (in -80°C freezer)–thaw (37°C water bath) cycles. Total cell disruption was microscopically validated using trypan blue staining. The lysate was mixed well to assure a homogenous solution and aliquoted into separate 0.2 ml doses. These doses were stored at -80°C prior to use. Fresh BCL1 cells were irradiated at 20 Gy and used within an hour of treatment.

Monoclonal Antibodies

The following monoclonal antibodies (mAb) were used for surface phenotyping: anti-mCD4-PerCP-Cy5 (IgG2a); isotype control rat IgG2a-PerCP-Cy5.5; anti-mCD62L-APC (IgG2a); isotype control rat IgG2a-APC; anti-mCD45RB-PE (IgG2a); isotype control rat IgG2a-PE; anti-mCD8a-FITC (IgG2a); isotype control rat IgG2a-FITC; anti-mCD44-FITC (IgG2b); isotype Control rat IgG2b-FITC; anti-mCD154 (CD40L)-PE (IgG); isotype control rat IgG-PE; anti-mCD25-APC (IgG1); isotype control rat IgG1-APC; anti-mCD3e-PerCP-Cy5.5 (IgG); isotype control Armenian hamster IgG-PerCP-Cy5.5 all from eBioscience, Inc. (San Diego, USA).

Cryoimmunotherapy tumor models

Our tumor model was used for the

cryoimmunotherapy protocols, a bilateral solid tumor model. The bilateral solid tumor model consisted of mice given subcutaneous injections of 1×10^4 BCL1 tumor cells bilaterally in the shaved flanks on day 0. The mice were divided into 4 groups: cryoablation alone, intratumoral injection of allogeneic Th1 memory cells 1 hour after cryoablation, allogeneic Th1 memory cells injection alone and culture media injection as the control .

Cryoablation technique

Anesthetized mice (ketamine-HCL, 100 mg/kg, i.p.) underwent cryoablation treatment by applying mild pressure for 10 seconds with frozen tweezers (which were kept in liquid nitrogen) to the tumor. Tumors were 16-25 mm² when treated. The ice ball covered the complete tumor mass. To ensure complete thawing of the treated area before vaccination, intratumoral treatments were administered after 1 hour.

Statistics

Two-way ANOVA was used to determine significant differences in tumor volume changes. A *P* value of <0.05 was considered significant. Logrank and hazard ratio analysis was used to compare Kaplan-Meier survival curves (Graphpad Software; San Diego, CA). Animals that survived >60 days were censored from the analysis.

Results

Each group of 10 animals were treated on day 14 after the solid tumors had grown to an

area >16 mm² with cryoablation alone, cryoablation with intratumoral 1×10^3 allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells (Th1), Th1 cells alone and intratumoral culture media alone as control.

In the group with solid tumor model (Figure1), the longest width and length of tumors were measured by calipers. After complete ablation of the left tumor by cryoablation, only the contralateral untreated tumor mass was measured. The tumor growth curves of the contralateral untreated tumor masses for controls, mice treated with cryoablation alone, and mice treated with combination of cryoablation and intratumoral allogeneic Th1 (cryo+Th1) are shown. Supporting our hypothesis, 40% of mice treated with the combination therapy survived without evidence of tumor. The contralateral tumor area is displayed to separately show the response of the 40% mice that survived and the 60% that eventually succumbed to disease. The growth of the contralateral tumors were significantly suppressed ($p < 0.01$) in the 60% of mice that eventually succumbed to disease. In the group with systemic tumor model (Figure 2), the mice treated with intratumoral allogeneic Th1 cells alone survived significantly longer than the control group with means of 28 and 19 days, respectively ($p < 0.0001$; hazard ratio=4.291). Forty percent of mice treated with cryo+Th1 survived >90 days. The median survival and contralateral tumor response were shown in Table1.

Table 1 Contralateral tumor response and median survival of each group of animal

	Control	Th1 cell only	Cryoablation only	Cryoablation +Th1 cell
Contralateral tumor-growth (Right)	0/10	0/10	0/10 decrease in size	6/10 decrease in size
Survival;median (days)	19	28	19	>90

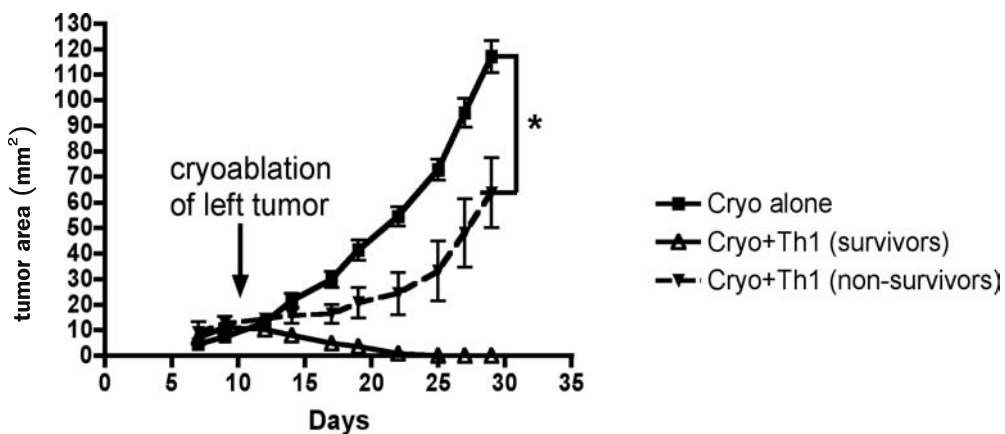


Figure 1 Tumor growth curves of the contralateral untreated tumor masses for mice treated with cryoablation alone and Cryo+Th1 (solid tumor model)

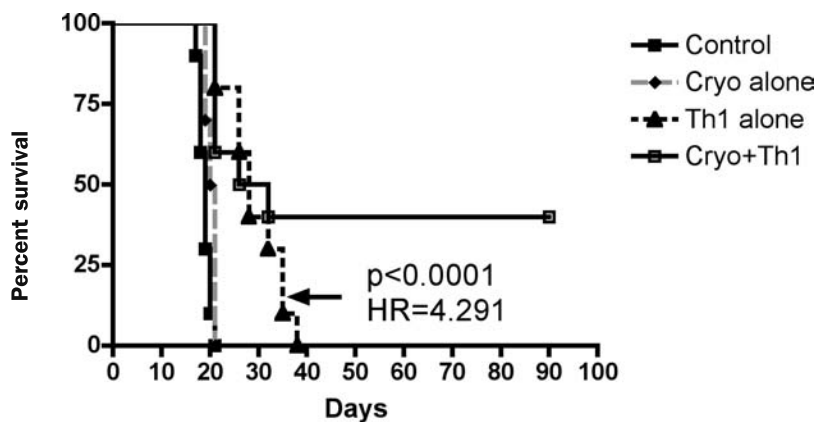


Figure 2 Kaplan-Meier survival curves of the four experimental animal groups

Discussion

The goal of therapeutic active immunotherapy is to elicit a potent immune response that will cause the eradication of the tumor as well as generate a long-term memory response to maintain complete remission. We hypothesized that allogeneic CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells (allogeneic Th1 cells) would provide an adjuvant effect which would create systemic anti-tumor immunity and break tolerance to self antigens of the tumor. Our results indicate that the 'danger signals' and immunomodulatory effects of these allogeneic Th1 cells are capable of eliciting both protective and therapeutic anti-leukemia effects in the BCL1 tumor model.

The current approach for therapeutic vaccination was evaluated using a cryoimmunotherapy protocol that combined intratumoral allogeneic Th1 treatments and tumor cryoablation. This *in-situ* vaccine protocol resulted in significant survival advantage only for mice with systemic effect, but not with mice with bilateral solid lymphomas. Further investigation is required to elucidate this finding. However, our findings suggested a possible effector cell extravasation and/or trafficking problem that prevented effector cells from mediating an effect on the contralateral solid tumor, but which had an effect on systemic disease in the secondary lymphoid organs and circulation. Alternatively, the contralateral lymphoma may not express the inflammatory signals necessary to recruit effector cells. For example, differential

expression of CD62L and CD44 on activated host lymphocytes by the two protocols could explain these results. CD62L is well known as a lymph node homing receptor²⁴, while CD44 is involved in extravasation and trafficking of activated lymphocytes to inflammatory sites²⁵. Another explanation could be that effector cells are recruited to the solid tumor, but local suppressive cytokines, such as IL-10, or Treg or other regulatory cells inhibit the effector function.

By contrast, the addition of an allogeneic Th1 cells to the cryoimmunotherapy protocol resulted in curative immune responses in 40% of mice in both the systemic and solid tumor models. The mechanism of the potent anti-leukemia effect needs to be elucidated. It is possible that the rejection response to these allogeneic cells activated circulating host T-cells and increased expression CD44 and decreased CD62L expression, making them capable of extravasation to the contralateral tumor bed²⁶. CD40L expression on our allogeneic Th1 cells is capable of enhancing the host production of IFN- γ and enhancing NK activity which could have effects on delaying tumor growth and reducing tumor burden. It is also possible that our allogeneic Th1 cells with a CD62L^{lo}, CD45RB^{hi}, CD44^{hi} phenotype, a phenotype previously associated with autoimmune disease and allograft rejection, could exert a direct graft vs. tumor effect. Translation of this protocol to the clinic is possible in patients with plasmacytomas or lymphomas that might be

accessible for percutaneous cryoablation.

In conclusion, our CD3/CD28 cross-linked Th1 memory cells are capable of providing multiple important 'danger signals', including expression of alloantigen, CD40L and IFN- γ . These features, as well as the demonstrated immunomodulatory effects make these cells candidates for use as a novel adjuvant to active immunotherapy protocols. Translation of these results to the clinic may provide a new strategy for breaking immune tolerance to tumors and improving the efficacy of active immunotherapy.

Acknowledgement

The CD3-CD28 Dynabeads and allogeneic T cell were provided by Dr. Micheal Har-Noy, Immunovative Therapies, Ltd., POB 974, Shoham, Israel 60850.

References

- Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, van der Bruggen P, Van Pel A. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1994;12:337-65.
- Pardoll DM. Tumor reactive T cells get a boost. *Nat Biotechnol* 2002;20:1207-8.
- Berzofsky JA, Terabe M, Oh S, Belyakov IM, Ahlers JD, Janik JE, Morris JC. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. *J Clin Invest* 2004;113:1515-25.
- Le Dieu R, Gribben J. Vaccine- and immune-based therapy in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2006;33:220-9.
- Van de Velde AL, Berneman ZN, Van Tendeloo VF. Immunotherapy of hematological malignancies using dendritic cells. *Bull Cancer* 2008;95:320-6.
- Mori T, Takada R, Watanabe R, Okamoto S, Ikeda Y. T-helper (Th)1/Th2 imbalance in patients with previously untreated B-cell diffuse large cell lymphoma. *Cancer Immunol Immunother* 2001;50:566-8.
- Zhang XL, Komada Y, Chipeta J, Li QS, Inaba H, Azuma E, Yamamoto H, Sakurai M. Intracellular cytokine profile of T cells from children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Immunol Immunother* 2000;49:165-72.
- Yotnda P, Mintz P, Grigoriadou K, Lemonnier F, Vilmer E, Langlade-Demoyen P. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells. *Exp Hematol* 1999;27:1375-83.
- de Toter D, Reato G, Mauro F, Cignetti A, Ferrini S, Guarini A, et al. IL4 production and increased CD30 expression by a unique CD8+ T-cell subset in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1999;104:589-99.
- Murakami H, Ogawara H, Hiroshi H. Th1/Th2 cells in patients with multiple myeloma. *Hematology* 2004;9:41-5.
- Kwak LW, Campbell MJ, Czerwinski DK, Hart S, Miller RA, Levy R. Induction of immune responses in patients with B-cell lymphoma against the surface-immunoglobulin idiotype expressed by their tumors. *N Engl J Med* 1992;327:1209-15.
- Hsu FJ, Caspar CB, Czerwinski D, Kwak LW, Liles TM, Syrengelas A, et al. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma--long-term results of a clinical trial. *Blood* 1997;89:3129-35.
- Gitelson E, Hammond C, Mena J, Lorenzo M, Buckstein R, Berinstein NL, et al. Chronic lymphocytic leukemia-reactive T cells during disease progression and after autologous tumor cell vaccines. *Clin Cancer Res* 2003;9:1656-65.
- Nishimura T, Nakui M, Sato M, Iwakabe K, Kitamura H, Sekimoto M, et al. The critical role of Th1-dominant immunity in tumor immunology. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;46 Suppl:S52-61.
- Echchakir H, Bagot M, Dorothee G, Martinvalet D, Le Gouvello S, Boumsell L, et al. Cutaneous T cell lymphoma reactive CD4+ cytotoxic T lymphocyte

- clones display a Th1 cytokine profile and use a fas-independent pathway for specific tumor cell lysis. *J Invest Dermatol* 2000;115:74-80.
16. Baxevasis CN, Dedoussis GV, Papadopoulos NG, Missitzis I, Stathopoulos GP, Papamichail M. Tumor specific cytolysis by tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer. *Cancer* 1994;74:1275-82.
 17. Qiu FB, Wu LQ, Lu Y, Zhang S, Zhang BY. Predominant expression of Th1-type cytokines in primary hepatic cancer and adjacent liver tissues. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6:63-6.
 18. Khong HT, Yang JC, Topalian SL, Sherry RM, Mavroukakis SA, White DE, Rosenberg SA. Immunization of HLA-A*0201 and/or HLA-DPbeta1* 04 patients with metastatic melanoma using epitopes from the NY-ESO-1 antigen. *J Immunother* 1997;27:472-7.
 19. Rosenberg SA, Sherry RM, Morton KE, Scharfman WJ, Yang JC, Topalian SL, et al. Tumor progression can occur despite the induction of very high levels of self/tumor antigen-specific CD8+ T cells in patients with melanoma. *J Immunol* 2005;175:6169-76.
 20. Rivoltini L, Canese P, Huber V, Iero M, Pilla L, Valenti R, et al. Escape strategies and reasons for failure in the interaction between tumour cells and the immune system: how can we tilt the balance towards immune-mediated cancer control? *Expert Opin Biol Ther* 2005;5:463-76.
 21. Prud'homme GJ, Piccirillo CA. The inhibitory effects of transforming growth factor-beta-1 (TGF-beta1) in autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2000;14:23-42.
 22. Pakravan N, Hassan AT, Hassan ZM. Naturally Occurring Self-Reactive CD4(+)CD25(+) Regulatory T Cells: Universal Immune Code. *Cell Mol Immunol* 2007;4:197-201.
 23. Matzinger P. Introduction to the series. Danger model of immunity. *Scand J Immunol* 2001;54:2-3.
 24. Gallatin WM, Weissman IL, Butcher EC. A cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. *Nature* 1983;304:30-4.
 25. DeGrendele HC, Estess P, Siegelman MH. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science* 1997; 278:672-5.
 26. DeGrendele HC, Kosfisz M, Estess P, Siegelman MH. CD44 activation and associated primary adhesion is inducible via T cell receptor stimulation. *J Immunol* 1997;159:2549-53.
- ❖ ❖ ❖



Effect of Hepatitis C Virus Infection on the Risk of Non-Hodgkin's Lymphoma in Thailand

Aree Prasitthipayong*

Patcharin Homcha-em**

Pattarapong Pornsopone***

Somnuk Temiyasathit****

Chaiyaporn Kunka †

Tawin Klinvimol ††

Rungsinoppadol Thotong †††

Chatchai Ekpanyaskul ††††

Suleeporn Sangrajang †††

Abstract Although a high prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection among non-Hodgkin's lymphoma (NHL) patients had been reported, subsequent epidemiological studies conducted to examine a causal association between HCV and NHL have provided inconsistent results across studies. The risk of lymphoma associated with the detection of HCV infection was estimated. Two hundred and sixty nine cases with histopathologically confirmed NHL and 334 controls were included during 2006-2007 in 4 cancer centers in Thailand. All participants underwent a personal interview and blood sampling. Unconditional logistic regression were used to estimate the odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI) for NHL associated with HCV. HCV infection were detected in 6/269 (2.2%) among cases and in 6/334 (1.8%) among control subjects. HCV infection showed no association with NHL, OR=1.22 (95% CI=0.38-3.94).

In conclusion, no direct correlation can be deduced between NHL and HCV infection in our study. (*Thai Cancer J 2008; 28: 114-121.*)

* Immunology Section, **Pathology Section, Pathology Division, ***Chemotherapy Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand

**** Udonthani Cancer Center, Udonthani 41330, Thailand

† Lopburi Cancer Center, Lopburi 15000, Thailand

†† Ubon Ratchathani Cancer Center, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

††† Molecular Epidemiology Unit, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand

†††† Faculty of Medicine, Srinakarinwirot University, Bangkok 10110, Thailand

บทคัดย่อ ผลการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด non-Hodgkin's lymphoma ในประเทศไทย

โดย อารีย์ ประสิทธิ์พยงค์* พัทรินทร์ หอมชะเอม** ภัทรพงศ์ พรโสภณ*** สมนึก เตมียสถิต****
ชัยพร กันกา† ถวิล กลิ่นวิมล†† รังษีนพดล โถทอง††† จัตรีชัย เอกปัญญาสกุล††††
ศุสิทธิ์ แสงกระจ่าง††††

*งานอิมมูโนวิทยา, **งานพยาธิวิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยา, ***กลุ่มงานเคมีบำบัด, ****ศูนย์มะเร็งอุดรธานี
† ศูนย์มะเร็งลพบุรี, ††ศูนย์มะเร็งอุบลราชธานี,
††† งานระบาดวิทยาโมเลกุล กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
†††† คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ

แม้ว่าจะมีรายงานพบความสัมพันธ์ระหว่าง การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด non-Hodgkin's lymphoma (NHL) แต่ก็มีหลายรายงานที่ให้ผลการศึกษาขัดแย้งกันอยู่

ในการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยมีความประสงค์จะหาความสัมพันธ์ของการตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง จำนวน 269 ราย และกลุ่มควบคุมอีก 334 ราย ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2550 โดยจัดเก็บตัวอย่างจากศูนย์มะเร็ง 4 แห่งในประเทศไทย ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาได้จากการสัมภาษณ์และขอความยินยอมในการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้เข้าร่วมโครงการ เพื่อการศึกษาการติดเชื้อไวรัส วิเคราะห์ผลการศึกษาโดยการคำนวณหาค่าอัตราความเสี่ยง (odds ratio) และค่าความเชื่อมั่น 95% ของการติดเชื้อ HCV และการเกิด NHL โดยใช้วิธี unconditional logistic regression ผลการศึกษาพบว่าความชุกของการตรวจพบ HCV ในผู้ป่วย พบได้ 6 ราย ใน 269 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.2 ในขณะที่ในกลุ่มควบคุมพบผลการตรวจ 6 ราย จาก 334 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.8 ผลการตรวจไม่พบความสัมพันธ์ของการตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองด้วยค่า OR=1.22 (95% CI=0.38-3.94)

สรุปโดยย่อ ในการศึกษาพบว่า การตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด NHL (วารสารโรคมะเร็ง 2551;28: 114-121.)

Introduction

Thailand has had an increasing incidence of NHL in recent years, the incidence of NHL was 4.5 in males and 3.1 in females per 100,000 population respectively during 1998-2000¹.

A number of viral infections have been linked to the development of subtypes of malignant lymphoma, including Epstein-Barr virus (EBV), human herpesvirus 8 (HHV-8), human immunodeficiency virus (HIV) and human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)¹. More

recently, evidence has accumulated to suggest a role for hepatitis C virus (HCV) and a single-stranded RNA virus, in lymphoma development².

Infection with HCV is primarily associated with an increased risk of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma³. Its putative role in the development of certain lymphoproliferative diseases became apparent when chronic HCV infection was recognized as the principle cause of mixed cryoglobulinaemia (MC), particularly type II⁴. MC, a low-grade lymphoproliferative disorder, can evolve into non-Hodgkin's

lymphoma (NHL)⁵. Recent systematic reviews and meta-analyses of previous studies have shown striking geographic and demographic variation in the association between HCV infection and risk of NHL with high relative risks in Southern European populations, but not in Northern Europe or North America⁶⁻⁸. The discrepant findings may reflect several factors, such as wide variation in HCV prevalence in the general population between countries and even between different regions in the same country^{9,10}.

The objective of our current study was to estimate the risk of NHL associated with detection of HCV antibodies (anti-HCV) in a case-control study that was designed to evaluate the contributions of infections agents and environmental exposures to the development of this malignancy.

Materials and Methods

Subjects

Study subjects were recruited at 4 cancer centers in Thailand; National Cancer Institute, Lopburi Cancer Center, Udonthani Cancer Center, Ubon Ratchathani Cancer Center. Eligible cases were those with primary, newly diagnosed, and morphologically verified NHL during the study period, 2006-2007. Controls were randomly selected from healthy people who visited, and patients admitted to the same cancer center, for diseases other than cancer. Cases with HIV or a prior transplant

were excluded. Interviews were conducted to collect data on demographic, medical and family history, and environmental exposures. Cases and controls provided a blood sample. Informed consent was obtained from all subjects before enrollment, and the Institutional Review Boards of the participating centers has approved the study.

HCV infection

Serum sample were stored at -80°C until testing for HCV. All test were done masked to the case-control status. Serum samples were tested for anti-HCV antibodies with a third generation enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's instructions (Abbott laboratories, Wiesbaden, Germany).

Statistical Analyses

Comparison between categorical variables and HCV infection was done by means of a Chi-square test. Two-sided *p*-values were considered statistically significant at the 0.05 level. Unconditional logistic regression was used to estimate the OR and 95% CI to measure association between specific variables and the risk of NHL.

Results

Table 1 shows the distribution of subjects by the study design variables, age, gender, education, family history of lymphoma, and smoking status. Age, gender and smoking were

Table 1 Selected characteristics of population

Variables	Controls	Cases
Mean age± SD	42.7 ± 13.1	51.9 ± 15.0
Gender		
Male	137	153
Female	197	116
Education		
Low	163	160
Medium	47	18
High	116	84
Family history		
Yes	1	1
No	268	334
Smoking		
Yes	83	95
No	243	120

Table 2 HCV infection prevalence in general population in different countries

Country	% of HCV infection	References
Canada	0.7	Spinelli <i>et al.</i> ¹¹
Denmark	0.4	Schollkopf <i>et al.</i> ¹²
Spain	3.6	De Sanjose <i>et al.</i> ¹³
Italy	2.8	Silvestri <i>et al.</i> ¹⁴
Brazil	1.1	Chindamo <i>et al.</i> ¹⁵
Japan	5.1	Imai <i>et al.</i> ¹⁶
Thailand	2.15	Sunanchaikarn <i>et al.</i> ¹⁷
This study	1.8	

Table 3 Association between HCV infection and NHL risk

HCV infection	Cases	Controls	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
Yes	6	6	1	1
No	263	328	1.25 (0.4-3.90)	1.22 (0.38-3.94)

^a Adjusted for age, gender and smoking

Table 4 Summary of studies that have examined the association between HCV infection and non-Hodgkin's lymphoma

Country	OR (95% CI)	References
Italy	3.11 (2.09-4.60)	Silvestri <i>et al.</i> ¹⁴
Brazil	8.32 (4.32-16.08)	Chindamo <i>et al.</i> ¹⁵
Japan	2.58 (1.67-4.00)	Imai <i>et al.</i> ¹⁶
Canada	2.60 (0.91-7.42)	Spinelli <i>et al.</i> ¹¹
Spain	1.58 (0.89-2.79)	De Sanjose <i>et al.</i> ¹³
USA	1.96 (1.07-4.01)	Engels <i>et al.</i> ¹⁸
International Lymphoma Epidemiology Consortium	1.78 (1.40-2.25)	De Sanjose <i>et al.</i> ¹⁹
This study	1.22 (0.38-3.94)	

different between cases and controls. However, no significant difference was found between cases and controls for education, family history of lymphoma status. Anti-HCV antibodies were detected in 6 of 334 (1.8%) controls subject (Table 2). The results of both univariate and multivariate logistic regression are shown in Table 3 with the crude and adjusted ORs. No association between HCV infection and NHL risk was found, OR=1.22 (95% CI=0.38-3.94). In addition, the ORs and their 95% CIs in different studies are shown in Table 4.

Discussion

This study provides further evidence that HCV infection is not associated with the risk of NHL, although HCV infection is common in Thailand.

The prevalence of HCV of controls in this study was 1.8%, our result is in agreement with the previous report in which the prevalence of HCV infection was found 2.15% among general population in four provinces of Thailand¹⁷. Two possible biological mechanisms for lymphomagenesis, particularly for B-NHL, can

be hypothesized²⁰. The first is the direct phenotypical change of lymphocytes by HCV. Although a complete mechanism is not available for HCV-induced carcinogenesis of hepatocytes, viral replication in the cell is known to be important. E1/E2 envelope protein²¹, or core protein²², from the replicated virus induces transformation of hepatocytes. The same mechanism can be hypothesized for lymphomagenesis by HCV. HCV can be detected in B-lymphocytes, but evidence for HCV replication in lymphocyte is controversial. Therefore, the direct lymphomagenic effect of HCV is not clear at this point. A second possible mechanism is that HCV antigen stimulates the expansion of mono- or oligoclonal B-cells. Oligoclonal B-cell expansion in the peripheral blood was observed in 100% of HCV-infected patients with type-II MC²³. Positive associations between HCV infection and NHL risk have consistently been reported in the studies conducted in Italy^{24,25}, Japan^{16,26}, and Spain^{13,27}, but not in France^{28,29} or Canada^{30,31}. The inconsistency is likely explained in part by differences in the study design, and low statistical power in some of these studies³². In two recent large cohort studies of HCV-infected persons from low-prevalence areas as, Sweden³³ and the US³⁴ however, significantly increased risks of NHL were observed (standardized incidence ratio (SIR)=1.89; 95% CI=1.1-3.03 in Sweden, and adjusted hazard ratio=1.28; 95%CI=1.12-1.45 among US veterans). Similarly, a large, European multi-center case-control study of lymphoid malignancies found an

elevated NHL risk of 1.82 (95% CI=1.13-2.91) in HCV RNA-positive persons³⁵. The association of HCV infection and hepatocellular carcinoma were reported in many studies in our country^{36,37}. Our study is the first epidemiological study examined the relation of HCV infection and NHL in Thailand. The prevalence of HCV infection was found 2.2% among NHL, this finding is consistent with the previous study which reported the prevalence of 2.3 %³⁸. HCV infection was not associated with an increased risk of NHL with the OR=1.22 (95% CI=0.38-3.94).

In conclusion, HCV infection is unlikely to play a major role in the pathogenesis of NHL in Thailand. The observation in this study need to evaluate in a well designed study with more statistical power which is underway in our laboratory.

References

1. Kluhnaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P. editors. Cancer in Thailand. Vol IV, 1998-2000. Bangkok; 2007.
2. Hermine O, Lefrere F, Bronowicki JP, Mariette X, Jondeau K, Eclache-Saudreau V, et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 89-94.
3. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345:41-52.
4. Zignego AL, Ferri C, Giannini C, La Civita L, Careccia G, Longombardo G, et al. Hepatitis C virus infection in mixed cryoglobulinemia and B-cell non-Hodgkin's lymphoma: evidence for a pathogenetic role. *Arch Virol* 1997;142:545-55.
5. Monteverde A, Rivano MT, Allegra GC, Monteverde AI, Zigrossi P, Baglioni P, et al. Essential mixed cryoglobulinemia, type II:

- a manifestation of a low-grade malignant lymphoma? Clinical-morphological study of 12 cases with special reference to immunohistochemical findings in liver frozen sections. *Acta Haematol* 1988;79:20-5.
6. Gisbert JP, Garcia-Buey L, Pajares JM, Moreno-Otero R. Prevalence of hepatitis C virus infection in B- cell non-Hodgkin's lymphoma: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2003;125:1723-32.
 7. Dal ML, Franceschi S. Hepatitis C virus and risk of lymphoma and other lymphoid neoplasms: a meta- analysis of epidemiologic studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:2078-85.
 8. Matsuo K, Kusano A, Sugumar A, Nakamura S, Tajima K, Mueller NE. Effect of hepatitis C virus infection on the risk of non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Sci* 2004;95:745-52.
 9. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M, Costantino A, Kondili LA, Menniti-Ippolito F, et al. Prevalence, risk factors, and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community-based survey in southern Italy. *Hepatology* 1997;26:1006-11.
 10. Kiyosawa K, Tanaka E, Sodeyama T, Yoshizawa K, Yabu K, Furuta K, et al. Transmission of hepatitis C in an isolated area in Japan: community-acquired infection. The South Kiso Hepatitis Study Group. *Gastroenterology* 1994;106:1596-602.
 11. Spinelli JJ, Lai AS, Krajden M, Andonov A, Gascoyne RD, Connors JM, et al. Hepatitis C virus and risk of non-Hodgkin lymphoma in British Columbia, Canada. *Int J Cancer* 2008; 122: 630-3.
 12. Schöllkopf C, Smedby KE, Hjalgrim H, Rostgaard K, Panum I, Vinner L, et al. Hepatitis C infection and risk of malignant lymphoma. *Int J Cancer*. 2008;122:1885-90.
 13. De Sanjose S, Nieters A, Goedert JJ, Domingo-Domenech E, Fernandez de Sevilla A, Bosch R, et al. Role of hepatitis C virus infection in malignant lymphoma in Spain. *Int J Cancer* 2004; 111: 81-5.
 14. Silvestri F, Pipan C, Barillari G, Zaja F, Fanin R, Infanti L, et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with lymphoproliferative disorders. *Blood* 1996; 87: 4296-301.
 15. Chindamo MC, Spector N, Segadas JA, Pimenta G, Vanderborcht B, Morais JC, et al. Prevalence of hepatitis C infection in patients with non- Hodgkin' s lymphomas. *Oncol Rep* 2002;9: 657-9.
 16. Imai Y, Ohsawa M, Tanaka H, Tamura S, Sugawara H, Kuyama J, et al. High prevalence of HCV infection in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma: comparison with birth cohort- and sex-matched blood donors in a Japanese population. *Hepatology* 2002; 35: 974-6.
 17. Sunanchaikarn S, Theamboonlers A, Chongsrisawat V, Yoocharoen P, Tharmaphompilas P, Warinsathien P, et al. Seroepidemiology and genotypes of hepatitis C virus in Thailand. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2007; 25: 175-82.
 18. Engels EA, Chatterjee N, Cerhan JR, Davis S, Cozen W, Severson RK, et al. Hepatitis C virus infection and non-Hodgkin lymphoma: results of the NCI-SEER multi-center case-control study. *Int J Cancer* 2004; 111: 76-80.
 19. De Sanjose S, Benavente Y, Vajdic CM, Engels EA, Morton LM, Bracci PM, et al. Hepatitis C and non-Hodgkin lymphoma among 4784 cases and 6269 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6: 451-8.
 20. Weng WK, Levy S. Hepatitis C virus (HCV) and lymphomagenesis. *Leuk Lymphoma* 2003; 44: 1113-20.
 21. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, et al. The core protein of Hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 1998; 4: 1065-7.
 22. Schmidt CM, McKillop IH, Cahill PA, Sitzmann JV. Increased MAPK expression and activity in primary human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 54-8.
 23. Franzin F, Efremov DG, Pozzato G, Tulissi P, Batista F, Burrone OR. Clonal B-cell expansions in peripheral blood of HCV-infected patients. *Br J*

- Haematol 1995; 90: 548-52.
24. Luppi M, Longo G, Ferrari MG, Barozzi P, Marasca R, Morselli M, et al. Clinico- pathological characterization of hepatitis C virus-related B cell non-Hodgkin's lymphomas without symptomatic cryoglobulinemia. *Ann Oncol* 1998;9:495-8.
 25. Mele A, Pulsoni A, Bianco E, Musto P, Szklo A, Sanpaolo MG, et al. Hepatitis C virus and B-cell non- Hodgkin lymphomas: an Italian multicenter case-control study. *Blood* 2003;102: 996-9.
 26. Kuniyoshi M, Nakamuta M, Sakai H, Enjoji M, Kinukawa N, Kotoh K, et al. Prevalence of hepatitis B or C virus infections in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16: 215-19.
 27. Domingo JM, Romero S, Moreno JA, Domingo JA, Callen L, Gutierrez M. Hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia in patients with lymphoproliferative diseases. *Haematologica* 1999;84: 94-6.
 28. Germanidis G, Haioun C, Pourquier J, Gaulard P, Pawlowsky JM, Dhumeaux D, Reyes F. Hepatitis C virus infection in patients with overt B-cell non-Hodgkin's lymphoma in a French center. *Blood* 1999;93:1778-9.
 29. Hausfater P, Cacoub P, Sterkers Y, Thibault V, Amoura Z, Nguyen L, et al. Hepatitis C virus infection and lymphoproliferative diseases: prospective study on 1,576 patients in France. *Am J Hematol* 2001;67:168-71.
 30. Collier JD, Zanke B, Moore M, Kessler G, Krajden M, Shepherd F, Heathcote J. No association between hepatitis C and B-cell lymphoma. *Hepatology* 1999;29:1259-61.
 31. Shariff S, Yoshida EM, Gascoyne RD, Le N, Connors JM, Middleton PJ, Shenkier TN. Hepatitis C infection and B-cell non-Hodgkin's lymphoma in British Columbia: a cross-sectional analysis. *Ann Oncol* 1999;10: 961-4.
 32. World Health Organization Geneva. Hepatitis C— global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec* 2000;3: 18-9.
 33. Duberg AS, Nordstrom M, Torner A, Reichard O, Strauss R, Janzon R, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and other nonhepatic malignancies in Swedish patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005;41: 652-9.
 34. Giordano TP, Henderson L, Landgren O, Chiao EY, Kramer JR, El-Serag H, Engels EA. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. *JAMA* 2007;297: 2010-17.
 35. Nieters A, Kallinowski B, Brennan P, Ott M, Maynadie M, Benavente Y, et al. Hepatitis C and risk of lymphoma: results of the European multicenter case-control study EPILYMPH. *Gastroenterology* 2006; 131: 1879-86.
 36. Kuang SY, Lekawanvijit S, Maneekarn N, Thongsawat S, Brodovicz K, Nelson K, et al. Hepatitis B 1762T/1764A mutations, hepatitis C infection, and codon 249 p53 mutations in hepatocellular carcinomas from Thailand. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:380-4.
 37. Songsivilai S, Dharakul T, Kanistanon D. Hepatitis C virus genotypes in patients with hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma in Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:505-7.
 38. Udomsakdi-Auewarakul C, Auewarakul P, Sukpanichnant S, Muangsup W. Hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma in Thailand. *Blood* 1999;93: 1778-9.



การศึกษาการใช้ตู้อบไมโครเวฟเป็นทางเลือกในการละลายพลาสมาแช่แข็งสำหรับผู้ป่วยในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

สุพล ดรณชู
ศุภรัตน์ ประวันณีย์
ญาณิณี จรัสวิศรุตพร

บทคัดย่อ การละลายพลาสมาแช่แข็ง (fresh frozen plasma) ด้วยตู้อบไมโครเวฟที่ไม่มีการดัดแปลงแต่อย่างใด โดยควบคุมเวลาของการทำงานด้วยเครื่อง programmable timer เพื่อกำหนดช่วงเวลาการทำงานของตู้อบไมโครเวฟซึ่งจำเป็นต้องหาค่าของช่วงเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาหาผลที่เกิดขึ้นจากการใช้ช่วงรอบเวลาต่างๆ กันระหว่าง “ON” และ “OFF” (เปิดและปิด) โดยจะกำหนดค่าให้ตั้งคงที่ไว้ที่ “ON” และ “OFF” ของตู้อบไมโครเวฟ ที่ 5,10,15,20 และ 25 วินาที และสลับกันไประหว่าง “ON” และ “OFF” ตามลำดับ โดยการตั้งไมโครเวฟไว้ที่ตำแหน่งเวลาสูงสุดของเครื่อง เพื่อให้แน่ใจว่าขบวนการละลายจะไม่หยุดลงก่อนที่พลาสมาจะละลายหมด การศึกษานี้ใช้น้ำเป็นตัวกลางแทนอากาศ บันทึกเวลาที่ใช้ในการละลายพลาสมาและวัดอุณหภูมิของน้ำที่อยู่รอบถุงพลาสมาขณะที่พลาสมาแช่แข็งละลายหมดสมบูรณ์ ผลการศึกษาพบว่าค่าที่เหมาะสมที่ได้สำหรับใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกับอยู่ที่ 10/10 วินาที (ON 10 วินาที และ OFF 10 วินาที) และพบว่าเวลาของการละลายพลาสมาสามารถลดลงได้ประมาณ 6 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี water bath ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการโดยใช้เวลาเฉลี่ย 18.65 นาที ขณะที่วิธีไมโครเวฟใช้เวลา 12.86 นาที และเมื่อวัดอุณหภูมิของน้ำพบว่า มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 37.07°ซ และ 37.95°ซ ตามลำดับ นอกจากนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของการทดสอบหาปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในพลาสมาที่ได้จากทั้ง 2 วิธีดังกล่าว ดังนั้นการใช้ไมโครเวฟจึงเป็นเทคนิคทางเลือกหนึ่งในการละลายพลาสมาแช่แข็งเพื่อให้ผู้ป่วยที่ต้องการใช้พลาสมาเร่งด่วนฉุกเฉินต่อไป (วารสารโรคมะเร็ง 2551; 28: 104- 113.)

Abstract Thawing of Fresh Frozen Plasma with a Microwave Oven : a Choice for Patients at The National Cancer Institute

by Suphol Daroonchu, Suparat Prawannay, Yaninee Jarratwisarutporn

Blood Bank Section, Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok, 10400, Thailand.

A microwave oven (MWO) was used to thaw fresh frozen plasma (FFP) in this study by using a programmable timer for setting the interval period of heating. Finding out the optimal interval time for completely thawing of FFP is needed. Therefore, the time at on and off of the microwave controlled by the timer was fixed at 5, 10, 15, 20 and 25 seconds alternately. In the experiment, the MWO was switched to the highest time, and water was used as the medium instead of air. The heating time for thawing FFP was recorded and temperature of the water, closed to the plasma bag was measured when FFP was thawed completely. From the study, the optimal time was observed as the MWO was set at 10/10 seconds (on 10 seconds and off 10 seconds). The mean time used with microwave was 12.86 minutes while using with water bath was 18.65 minutes. The mean temperature were 37.95°C and 37.07°C respectively. In addition, no changes of the coagulation factors in the plasma heating with the two devices were found. Therefore, plasma heating with a microwave device is another choice to use. (*Thai Cancer J* 2008; 28: 104 - 113.)

บทนำ

ตั้งแต่เริ่มมีการจัดเก็บและถนอมพลาสมาด้วยวิธีการแช่แข็งที่ -30°C หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานเป็นระยะเวลาถึงหนึ่งปี¹ ถือว่าเป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยอย่างมาก เมื่อผู้ป่วยมีความจำเป็นต้องใช้ก็สามารถนำพลาสมาที่แช่แข็งมาละลายด้วยเครื่องละลายพลาสมาที่เรียกกันโดยทั่วไปว่า water bath (WB) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้เป็นมาตรฐานตลอดมา ภายหลังพบว่า การละลายโดยใช้ WB ใช้เวลานานเกินไปไม่ทันกับความต้องการของผู้ป่วย จึงมีผู้ทำการศึกษาโดยมีวัตถุประสงค์ในการลดระยะเวลาของการละลาย และทำการศึกษานหาข้อมูลในการทดลองอย่างกว้างขวาง Westphal และคณะ² ได้รายงานว่าการละลาย Fresh frozen plasma (FFP) ที่อุณหภูมิ 56°C สามารถละลาย FFP ได้เร็วกว่าโดยที่ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดต่างๆ ไม่แตกต่างกับการละลายที่อุณหภูมิ 37°C แต่ในปี ค.ศ.1984 มาตรฐาน American Associated of

Blood Bank (AABB) ได้กำหนดอุณหภูมิของการละลายพลาสมาแช่แข็งเป็นมาตรฐานไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 30°C และ 37°C ใน water bath เท่านั้น³ อย่างไรก็ตามก็ยังมีผู้ศึกษาค้นคว้าเพื่อลดระยะเวลาการละลายลงต่อไปโดยการใช้อุณหภูมิที่สูงกว่ามาตรฐานที่กำหนดได้แก่การใช้อุณหภูมิที่ 45°C ⁴ เป็นต้น

การพัฒนาเพื่อลดระยะเวลาของการละลายพลาสมาแช่แข็งให้เร็วขึ้นยังคงดำเนินต่อไป มีคณะผู้ทำการศึกษาหลายคณะได้นำพลังงานจากตู้อบไมโครเวฟ มาทดลองใช้ในระยะเวลาแรก ผลจากการศึกษาพบว่าสามารถลดระยะเวลาของการละลายลงได้โดยไม่ทำลายปัจจัยแข็งตัวของเลือดหรือทำให้เสียคุณสมบัติของพลาสมาโปรตีนแต่อย่างใด^{5, 6} ต่อมาได้มีการดัดแปลงและปรับปรุงตู้อบไมโครเวฟให้มีความสะดวกสำหรับการใช้งานและติดตั้งอุปกรณ์ภายในที่ทำให้การกระจายพลังงานความร้อนได้อย่างสม่ำเสมอในระหว่างการละลายพลาสมาได้ทั่วถึงดียิ่งขึ้น^{7, 8} นอกจากนั้นมียังมีรายงานพบว่า การละลาย

พลาสติกแช่แข็งด้วยตู้อบไมโครเวฟรุ่นต่างๆ ให้ผลการศึกษาเหมือนกันโดยคำนึงถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายเป็นสำคัญ ด้วยการพัฒนานาอุปกรณ์ที่เรียกว่าเครื่องตรวจจับอุณหภูมิได้รวดเร็วมาไว้ ณ บริเวณถุงของพลาสติกเพื่อใช้ในการศึกษา⁹ ต่อมาความแพร่หลายของการใช้ตู้อบไมโครเวฟมีมากขึ้น บางแห่งประสบปัญหาเนื่องจากตู้อบไมโครเวฟถูกผลิตออกมาหลายรุ่นหลายแบบมีความแตกต่างกันทั้งจำนวนวัตต์ (Watt) ที่ใช้ ระดับของความร้อนที่ได้จึงแตกต่างกัน และเวลาที่ใช้ย่อมมีความแตกต่างกันไปในแต่ละรุ่น การดัดแปลงและปรับปรุงตู้อบไมโครเวฟเพื่อใช้ในงานดังกล่าวจึงมีความยุ่งยากและใช้งบประมาณสูง การใช้ตู้อบไมโครเวฟและอุณหภูมิที่สูงมากๆ นั้น ความร้อนจากตู้อบไมโครเวฟ จะส่งผ่านอากาศซึ่งเป็นตัวกลางจะสัมผัสกับถุง FFP โดยตรง อาจส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของพลาสติกโปรตีนได้ Mead และคณะ¹⁰ ได้ใช้น้ำเป็นตัวกลางในการละลายพลาสติกแช่แข็งด้วยตู้อบไมโครเวฟ เพื่อป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติปัจจัยการแข็งตัวของเลือด ซึ่งแตกต่างจากผู้ศึกษาวิจัยก่อนๆ ที่ใช้อากาศเป็นตัวกลาง ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องมีการดัดแปลงตู้อบไมโครเวฟให้ยุ่งยาก และพบว่าเวลาที่ใช้ในการละลาย FFP ด้วยตู้อบไมโครเวฟ แตกต่างกันอย่างมากกับการละลายด้วย WB โดยพบว่าจะใช้เวลาน้อยกว่าประมาณ 30 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายก็มีความแตกต่างกันมากด้วยเช่นกัน การใช้ตู้อบไมโครเวฟที่อุณหภูมิระหว่าง 46°ซ และ 53°ซ ในขณะที่ WB อุณหภูมิระหว่าง 36°ซ และ 37°ซ

ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พลาสติกแช่แข็งมีความสำคัญอย่างมาก และมีการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 จนถึงปัจจุบัน โดยมีปริมาณการใช้มากกว่า 3000 ยูนิตต่อปี การละลายพลาสติกแช่แข็งให้ได้รวดเร็วทันต่อการใช้ของผู้ป่วยมีความจำเป็น โดยเฉพาะใน

ภาวะฉุกเฉินที่ผู้ป่วยมี active bleeding และ massive trauma^{11,12} นอกจากนี้ยังสามารถใช้ FFP ร่วมกับ red cells เพื่อให้ผู้ป่วยในขณะผ่าตัดได้

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ต้องการใช้ตู้อบไมโครเวฟที่ไม่มีการดัดแปลง เพื่อละลายพลาสติกแช่แข็งด้วยระดับความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 37°ซ เพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้อุณหภูมิที่สูงและให้ผลการศึกษาที่เร็วกว่าวิธีละลายด้วย WB ซึ่งใช้เวลานานกว่า โดยการนำเทคนิคของ Mead และคณะมาประยุกต์แต่จะควบคุมอุณหภูมิให้เป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน AABB จึงได้นำมาพัฒนาเพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติ หากมีการใช้ตู้อบไมโครเวฟเครื่องใหม่รุ่นใหม่ หรือมีการซ่อมบำรุงใหม่ทุกครั้งต้องทำการหาค่าความเหมาะสมของเวลาและอุณหภูมิของการละลายในแต่ละเครื่องก่อนใช้งานเสมอ

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ตัวอย่างทดสอบ

รับบริจาคเลือดโดยการสุ่มจากผู้บริจาคเลือดจำนวน 48 ราย ด้วยถุงเลือด TERUMO triple blood bag ชนิด CPDA-1 ขนาด 450 ml แยกพลาสติกมาสดจาก fresh whole blood ภายใน 4 ชั่วโมงหลังจากที่ได้รับเลือดจากผู้บริจาค แล้วปั่นแยกด้วยเครื่องปั่น refrigerated centrifuge ที่ 4°ซ 3200 rpm 20 นาที ตามวิธีที่ใช้แยกพลาสติกในงานประจำ นำมารวมกันในถุง transfer bag ขนาด 350 ml ด้วย sterile transfer set เขย่าให้เข้ากันดีด้วยเครื่อง blood mixer แบ่งพลาสติกมาสดที่ได้ในแต่ละถุงให้มีปริมาณเท่าๆ กัน (โดยประมาณ 230 กรัมต่อถุง) ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก นำไปแช่แข็งและเก็บไว้ในตู้เย็นแช่พลาสติกที่อุณหภูมิ -30°ซ ภายในสองชั่วโมง ในลักษณะการวางให้ได้รูปทรงแบนเพื่อสะดวกสำหรับการละลายและพักรอใช้งานภายในหนึ่งเดือน

เครื่องมืออุปกรณ์ และน้ำยา

เครื่องละลายพลาสมา (water bath) ที่ 37°ซ น้ำสำหรับใช้ใน water bath ต้องกรองก่อนใช้และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยแสง UV การศึกษานี้ใช้ตู้อบไมโครเวฟ AKIRA model: MW-700M 17 LB ควบคุมการทำงานของไมโครเวฟโดยเครื่อง programmable timer กำหนดระยะเวลาของการทำงานเป็นช่วงๆ ระหว่าง “ON” และ “OFF” ภาชนะชามพลาสติกชนิดทนความร้อนสำหรับใส่น้ำตามปริมาตรที่กำหนดประมาณ 1500 ml ตรวจวัดอุณหภูมิของการละลายด้วย electronic thermo hygrometer นาฬิกาจับเวลา (stop-watch) สำหรับจับเวลาในการละลายพลาสมาแช่แข็งใน water bath เครื่องชั่งน้ำหนัก กล้องจุลทรรศน์ทำการทดสอบ prothrombin times (PT), activated partialthromboplastin times (APTT) และ thrombin times (TT) โดยใช้ น้ำยา thromborel S, actin, calcium chloride, test thrombin reagent (Dade Behring, Marburg, Germany) ด้วยวิธี one-stage technique โดยใช้เครื่อง SYSMEX CA50

การศึกษา รอบช่วงเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการละลาย FFP

นำ FFP ที่เก็บไว้ที่ -30°ซ น้ำหนักประมาณ 230 กรัม ทำการละลายด้วยวิธีไมโครเวฟ โดยจุ่มถุง FFP ลงไปในน้ำปริมาตรประมาณ 1500 ml ในชามพลาสติกให้ท่วมมีดถุง อุณหภูมิของน้ำประมาณ 29°ซ ตั้งความร้อนตู้อบไมโครเวฟ ไปที่ตำแหน่ง “high” และเวลาสูงสุด 35 นาที (ตามรุ่นของตู้อบไมโครเวฟ) โดยการควบคุมการทำงานของตู้อบไมโครเวฟด้วยเครื่องควบคุมเวลา programmable timer ตามรอบและช่วงเวลาเปิด “ON” และปิด “OFF” เวลาเป็นวินาที กำหนดให้ค่า “OFF” คงที่ส่วนค่า “ON” ให้แปรเปลี่ยน โดยกำหนดตามเงื่อนไขที่จะศึกษาต่อไปนี้

เงื่อนไขที่ 1 ON/OFF: 5/5, 10/5, 15/5, 20/5 และ 25/5 วินาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 2 ON/OFF: 5/10, 10/10, 15/10, 20/10 และ 25/10 วินาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 3 ON/OFF: 5/15, 10/15, 15/15, 20/15 และ 25/15 วินาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 4 ON/OFF: 5/20, 10/20, 15/20, 20/20 และ 25/20 วินาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 5 ON/OFF: 5/25, 10/25, 15/25, 20/25 และ 25/25 วินาทีตามลำดับ

เมื่อการละลาย FFP เสร็จสมบูรณ์ หยุดเวลาที่เครื่องควบคุมเวลาร่วมกับตรวจวัดอุณหภูมิทันที รวมเวลาที่ใช้ในการละลายของแต่ละรอบในแต่ละเงื่อนไขเป็นเวลาทั้งหมดทั้ง 5 รอบ ในแต่ละรอบจะเปลี่ยนน้ำสะอาดใหม่ทุกครั้ง จากนั้นเริ่มทำการทดลองในเงื่อนไขที่ 2,3,4 และ 5 ตามลำดับและปฏิบัติเหมือนเงื่อนไขที่ 1 จนกว่าจะครบทั้ง 5 เงื่อนไขรวมทั้งสิ้น 25 รอบ ในแต่ละรอบที่ทำการทดลองภายหลังการละลายเสร็จสิ้น ตรวจสอบสภาพของถุงและพลาสมา เก็บตัวอย่างไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์

วิธีการศึกษาเปรียบเทียบการละลาย FFP ด้วยวิธี microwave oven ที่รอบ 10/10 “ON” 10 วินาที และ “OFF” 10 วินาทีกับวิธี water bath

นำถุงพลาสมาที่ได้ผสมรวมกันและแบ่งออกเป็นคู่เป็นปริมาตรเท่าๆ กันประมาณ 230 กรัม แช่แข็งที่ -30°ซ จำนวน 24 คู่ ซึ่งแต่ละคู่จะถูกนำไปละลายพร้อมกันโดยถุงแรกจะละลายใน water bath ที่อุณหภูมิไม่เกิน 37°ซ ที่มีน้ำสะอาดปราศจากเชื้อ อุณหภูมิประมาณ 29°ซ เป็นตัวกลางและเริ่มจับเวลา มีการเขย่าโดยอัตโนมัติตลอดเวลาตามมาตรฐานของ AABB³ ส่วน FFP ถุงที่ 2 ซึ่งเป็นถุงคู่กันนำไปละลายด้วยวิธีไมโครเวฟในชามพลาสติกที่มีน้ำสะอาดปราศจากเชื้อปริมาตรประมาณ 1,500 ml เป็นตัวกลาง¹⁰

โดยให้น้ำท่วมมิดถุง FFP ตลอดเวลาและเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่ทุกครั้งที่ทำกรทดลอง ตั้งความร้อนของตู้อบไมโครเวฟ ที่ตำแหน่ง “high” และเวลาสูงสุด 35 นาที (ตามรุ่นของตู้อบไมโครเวฟ) ตั้งรอบของ programmable timer ที่รอบ 10/10 เปิด “ON” 10 วินาทีและปิด “OFF” 10 วินาที กำหนดให้ค่าเปิด “ON” คงที่ 10 วินาทีและปิด “OFF” คงที่ 10 วินาทีเช่นกัน เมื่อการละลาย FFP สมบูรณ์แล้วหยุดเวลาพร้อมกับตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำทันทีทั้งวิธี WB และวิธีไมโครเวฟ บันทึกเวลาเป็นนาทีและอุณหภูมิเป็นองศาเซลเซียส ตรวจสอบสภาพของถุงและพลาสติกด้วยกล้องจุลทรรศน์ เก็บพลาสติกที่ละลายแล้วทั้ง 2 วิธีไปทำการทดสอบหาปัจจัยการแข็งตัวของเลือดโดยการหาค่า PT, APTT และ TT ตามลำดับจนครบทั้ง 24 คู่ แล้วหาค่า Mean, SD และ ใช้ t test หาค่า P-value

การศึกษาเปรียบเทียบผลการทดสอบ PT, APTT และ TT ของ FFP ที่ละลายด้วยวิธีไมโครเวฟ และวิธี water bath

ตัวอย่างพลาสติกที่ละลายแล้วที่ได้จากการศึกษาเปรียบเทียบของพลาสติกแต่ละคู่โดยวิธีไมโครเวฟที่รอบ 10/10 (เปิด “ON” 10 วินาทีและปิด “OFF” 10 วินาที) และวิธี WB ที่ 37°ซ ทั้ง 24 คู่ นำมาทดสอบเปรียบเทียบผลของ PT, APTT และ TT ด้วยวิธี one-stage technic¹³ หาค่า Mean, SD และใช้ t test เพื่อหาค่า P-value

ผลการศึกษา

ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการละลาย FFP สำหรับเงื่อนไขต่างๆ ของ “ON” และ “OFF” ตามวิธีของไมโครเวฟ ทั้ง 5 เงื่อนไขดังต่อไปนี้

เงื่อนไขที่ 1 ON/OFF: 5/5, 10/5, 15/5, 20/5 และ 25/5 วินาที มีอุณหภูมิ 37°ซ, 41°ซ, 46°ซ, 50°ซ, และ 54°ซ ตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 2 ON/OFF: 5/10, 10/10, 15/10, 20/10 และ 25/10 วินาที มีอุณหภูมิ 35°ซ, 37°ซ, 43°ซ, 49°ซ และ 51°ซ ตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 3 ON/OFF: 5/15, 10/15, 15/15, 20/15 และ 25/15 วินาที มีอุณหภูมิ 29°ซ, 37°ซ, 42°ซ, 45°ซ และ 51°ซ ตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 4 ON/OFF: 5/20, 10/20, 15/20, 20/20 และ 25/20 วินาที มีอุณหภูมิ 26°ซ, 36°ซ, 42°ซ, 44°ซ และ 48°ซ ตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 5 ON/OFF: 5/25, 10/25, 15/25, 20/25 และ 25/25 วินาที มีอุณหภูมิ 25°ซ, 35°ซ, 38°ซ, 42°ซ และ 47°ซ ตามลำดับ

อุณหภูมิที่ได้จากการศึกษาต่ำสุดคือ 25°ซ ไปจนถึงสูงสุด 54°ซ และพบว่าอุณหภูมิที่ต่ำจะเป็นรอบที่ “ON” ต่ำและ “OFF” สูง ส่วนอุณหภูมิที่สูงจะอยู่ที่รอบ “ON” สูงและ “OFF” ต่ำ (รูปที่ 1)

ผลการตรวจสอบถุง FFP และพลาสติกที่ละลายแล้วด้วยวิธีไมโครเวฟนี้พบว่าสภาพของถุงพลาสติกมีความทนทานต่อพลังงานความร้อนจากตู้อบไมโครเวฟได้ดี ถุงไม่แตกหรือมีการรั่วซึมของพลาสติก เมื่อตรวจสอบสภาพของพลาสติกจากภายนอกและตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ของเงื่อนไขที่ 1 รอบที่ 20/5 วินาทีและ 25/5 วินาที (ON/OFF) อุณหภูมิสุดท้ายของการละลายสมบูรณ์เท่ากับ 50°ซ และ 54°ซ ตามลำดับ จะมีความขุ่นขาวของพลาสติกค่อนข้างมากและมีกลุ่มและจุดขาวของพลาสติกโปรตีนที่ถูกทำลายด้วยความร้อนกระจายทั่วไปในเงื่อนไขที่ 2 รอบที่ 25/10 วินาที (ON/OFF) อุณหภูมิเมื่อเสร็จสิ้นการละลายเท่ากับ 51°ซ พลาสติกค่อนข้างขุ่นและมีจุดขาวของกลุ่มพลาสติกโปรตีนที่ถูกความร้อนทำลายเงื่อนไขที่ 3 รอบที่ 25/15 วินาที (ON/OFF) อุณหภูมิหลังจากการละลายสมบูรณ์แล้วเท่ากับ 51°ซ พลาสติกค่อนข้างขุ่นและมีจุดขาวของพลาสติกโปรตีน เงื่อนไขที่ 4 รอบที่ 25/20 วินาที (ON/OFF) อุณหภูมิเมื่อละลายแล้วเท่ากับ 48°ซ

พลาสติกมีความขุ่นบ้างเล็กน้อย ไม่พบความขุ่นขาวของพลาสติกโปรตีน เงื่อนไขที่ 5 รอบที่ 25/25 วินาที (ON/OFF) อุณหภูมิสุดท้ายเมื่อละลายสมบูรณ์เท่ากับ 47°C พลาสติกขุ่นบ้างเล็กน้อย ส่วนในรอบอื่นๆ พบว่ามีอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายระหว่าง 25°C ถึง 46°C การละลายของ พลาสติกสภาพดี ใสไม่มีความขุ่น และไม่มียากหรือจุดขาวของพลาสติกโปรตีน

ผลของเวลาที่ใช้ในการละลาย FFP จนสมบูรณ์ตามเงื่อนไขของ “ON” และ “OFF” โดยวิธีไมโครเวฟ ทั้ง 5 เงื่อนไข

เงื่อนไขที่ 1 ON/OFF: 5/5, 10/5, 15/5, 20/5 และ 25/5 วินาทีใช้เวลา 14, 12, 10, 8 และ 7 นาทีตามลำดับ

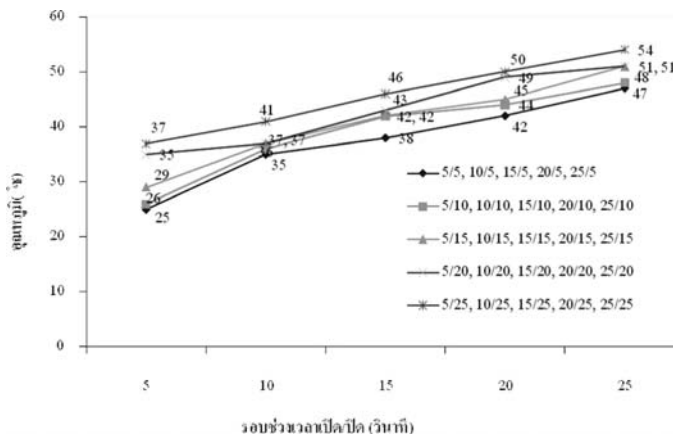
เงื่อนไขที่ 2 ON/OFF: 5/10, 10/10, 15/10, 20/10 และ 25/10 วินาทีใช้เวลา 18, 12, 12, 11 และ 10 นาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 3 ON/OFF: 5/15, 10/15, 15/15, 20/15 และ 25/15 วินาทีใช้เวลา 27, 15, 12, 12 และ 11 นาทีตามลำดับ

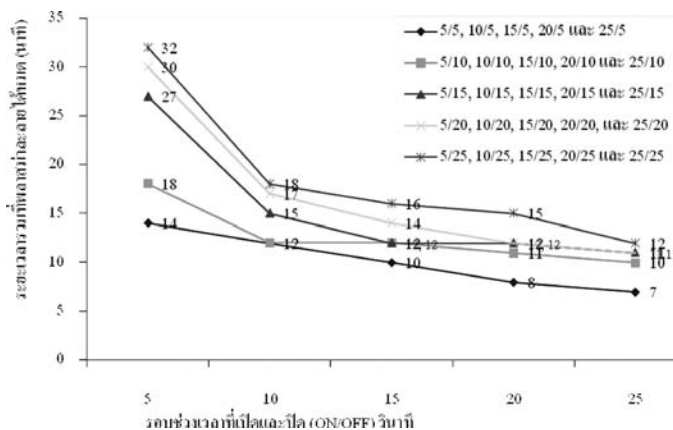
เงื่อนไขที่ 4 ON/OFF: 5/20, 10/20, 15/20, 20/20 และ 25/20 วินาทีใช้เวลา 30, 17, 14, 12 และ 11 นาทีตามลำดับ

เงื่อนไขที่ 5 ON/OFF: 5/25, 10/25, 15/25, 20/25 และ 25/25 วินาทีใช้เวลา 32, 18, 16, 15 และ 12 นาทีตามลำดับ

เวลาที่ใช้ในการละลายจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ที่เร็วที่สุดเท่ากับ 7 นาที และเวลาที่ใช้ช้าที่สุดเท่ากับ 32 นาที พบว่าเวลาที่เร็วที่สุดอยู่ที่รอบ “ON” สูงและ



รูปที่ 1 แสดงอุณหภูมิของการละลาย FFP ที่รอบช่วงเวลาต่างๆ ระหว่างเปิดและปิด (ON/OFF) ด้วยวิธีไมโครเวฟ



รูปที่ 2 แสดงเวลาของการละลาย FFP ที่รอบช่วงเวลาต่าง ๆ ระหว่างเปิดและปิด (ON/OFF) ด้วยวิธีไมโครเวฟ

“OFF” ต่ำ ส่วนเวลาที่นานจะอยู่ที่รอบ “ON” ต่ำและ “OFF” สูง (รูปที่ 2)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการละลาย FFP ด้วยวิธี ไมโครเวฟ ที่รอบ 10/10 “ON” 10 วินาที และ “OFF” 10 วินาที กับวิธี water bath

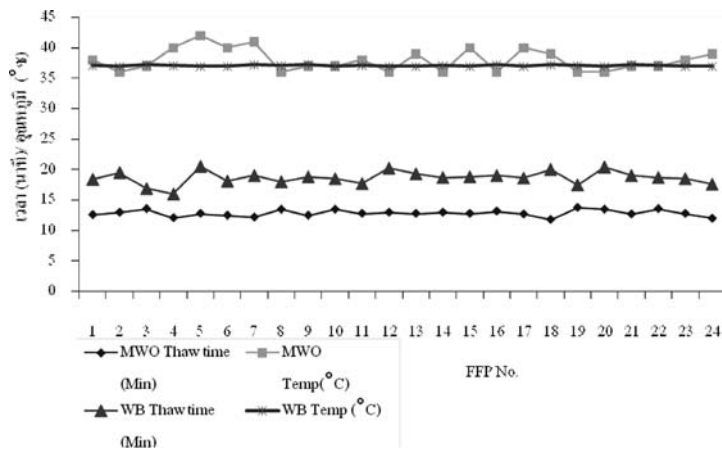
ผลของเวลาที่ใช้ในการละลาย FFP จนสมบูรณ์ตั้งแต่ถุง FFP คู่แรกจนถึงคู่ที่ 24 พบว่าวิธี ไมโครเวฟมีค่าเฉลี่ยของเวลาในการละลายเท่ากับ

12.86 นาที และอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการละลายเฉลี่ยเท่ากับ 37.95 °ซ ส่วนวิธี WB เวลาที่ใช้ในการละลายเฉลี่ยเท่ากับ 18.65 นาที สำหรับการละลาย FFP หนึ่งยูนิตและอุณหภูมิของน้ำในวิธี WB เฉลี่ยเท่ากับ 37.07 °ซ จากการศึกษาพบว่าเวลาที่ใช้ละลาย FFP ด้วยวิธี WB จะนานกว่าที่ใช้กับวิธี ไมโครเวฟอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอุณหภูมิที่ใช้กับวิธีไมโครเวฟ พบว่าสูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้กับ WB เล็กน้อย (ตารางที่ 1 และรูปที่ 3)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการละลาย FFP ด้วย ตู้อบไมโครเวฟ ที่รอบ 10/10 วินาที และ Water Bath

วิธีที่ใช้ละลาย FFP	น้ำหนักของ FFP (กรัม)	เวลาที่ใช้ละลาย (นาที)	อุณหภูมิของน้ำ (°ซ)
Microwave Oven (n=24)			
Mean	229.7	12.86	37.95**
SD		0.54	1.82
Water Bath (37°C) (n=24)			
Mean	229.8	18.65*	37.07
SD		1.07	0.08

* P < 0.001, ** P < 0.05,



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบเวลาและอุณหภูมิระหว่างการละลาย FFP ด้วย วิธีไมโครเวฟ ที่รอบ 10/10วินาที และ WB

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบค่า PT, APTT และ TT ของ FFP ที่ละลายด้วยวิธี ไมโครเวฟ และ water bath

วิธีที่ใช้ละลาย FFP	PT (min)	APTT (min)	TT (min)
Microwave Oven			
Mean	13.17	36.20	24.25
SD	1.29	2.87	6.55
Water Bath (37°C)			
Mean	13.18	36.11	23.96
SD	1.13	3.26	6.71

P > 0.05

ผลการทดสอบ PT, APTT และ TT

การละลาย FFP ด้วยวิธีไมโครเวฟ มีค่าเฉลี่ยและ SD ของ PT, APTT และ TT เท่ากับ 13.17, 1.29, 36.20, 2.87 และ 24.25, 6.55 วินาที ตามลำดับ ส่วนวิธี WB มีค่าเฉลี่ยของ PT, APTT และ TT เท่ากับ 13.18, 1.13, 36.11, 3.26, 23.96, 6.71 วินาที ตามลำดับ และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า P>0.05 ดังแสดงในตารางที่ 2

วิจารณ์

ในปัจจุบันข้อบ่งชี้สำหรับการใช้ FFP ในผู้ป่วยมีความจำเป็นและพบว่ามีการใช้ปริมาณมากขึ้น และสูงกว่าส่วนประกอบของเลือดชนิดอื่นๆ ผู้ป่วยมะเร็งโดยเฉพาะโรคมะเร็งตับมีการใช้ FFP สูงมากในสถาบันมะเร็งแห่งชาติมีปริมาณการใช้ FFP มากกว่า 3000 ยูนิตต่อปี ส่วนมากใช้ในกรณี massive blood loss⁴ ในระหว่างทำการผ่าตัดหรือการให้เพื่อทดแทน blood coagulation factors (ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด) ที่ต้องการใช้อย่างเร่งด่วน ดังนั้นความสามารถที่จะลดระยะเวลาของการละลาย FFP ลงได้ จึงเป็นความประสงค์ของนักค้นคว้าวิจัยหลายๆ คนโดยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นในการละลายด้วยวิธี water bath หรือการใช้วิธี microwave oven^{5-7,10,14}

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะใช้น้ำเป็นตัวกลางสำหรับการละลาย FFP ที่อุณหภูมิไม่สูงมาก ประมาณ 37°C ในขณะที่การละลายเสร็จสิ้นสมบูรณ์ เพื่อป้องกันการเสื่อมของพลาสมาโปรตีน⁴ และเป็นไปตามมาตรฐานของ AABB ที่กำหนดไว้ ดังนั้นในการศึกษาได้ทำการทดลองและกำหนดค่าที่เหมาะสมระหว่างเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายเป็นข้อกำหนดของการทดลองนี้คือ รอบที่ 10/10 วินาที (เปิด 10 วินาทีและปิด 10 วินาที) ซึ่งเป็นรอบของเวลาที่ใช้เป็นมาตรฐานสำหรับเครื่องไมโครเวฟที่ใช้ในการศึกษานี้ จากผลการทดลองพบว่าสามารถลดเวลาลงได้เร็วขึ้นประมาณ 6 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี WB และอุณหภูมิระหว่าง 36°C ถึง 41°C ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 37.95°C เป็นไปตามมาตรฐานโดยไม่มีผลกับการเปลี่ยนแปลงปัจจัยการแข็งตัวของเลือดเมื่อเทียบกับวิธี WB หากพิจารณาเวลาของการละลายที่ลดลงนี้แม้ไม่มากนักแต่ก็จะเป็นประโยชน์และไม่เสี่ยงกับการใช้ความร้อนสูง พบว่าถ้าหากมีการใช้ตู้อบไมโครเวฟที่อุณหภูมิสูงตั้งแต่ 48°C ขึ้นไป เมื่อ FFP ละลายสมบูรณ์แล้วจะมีความชื้นเหมือนนसारแขวนลอยและถ้าหากใช้อุณหภูมิที่สูงกว่านี้ตั้งแต่ 50°C ขึ้นไปจะปรากฏมี hot spot¹² (จุดขาวของพลาสมาโปรตีนที่ถูกทำลายด้วยความร้อน) กระจายอยู่ในถุงพลาสมาลักษณะเช่นนี้จะปรากฏให้เห็นมากขึ้นและ

จับกันเป็นกลุ่มใหญ่ถ้าการละลายด้วยตู้อบไมโครเวฟที่มีอากาศเป็นตัวกลาง¹⁰ จากการทดลองยังพบว่าในรอบที่ "ON" สูง แต่ "OFF" ต่ำ ตั้งแต่ "ON" 20 วินาทีขึ้นไปสลับกับ "OFF" ที่ 5 วินาทีหรือ 10 วินาที จะให้ความร้อนสูงและเร็วจึงอาจเป็นสาเหตุของการทำลายพลาสมาโปรตีน สมควรหลีกเลี่ยงเพื่อป้องกันการเกิด microaggregation^{10,15} ซึ่งอาจเป็นผลเสียกับผู้ป่วยภายหลัง จากการศึกษาพบว่าถ้าใช้อุณหภูมิสูงระหว่าง 48°C และ 54°C จะลดเวลาลงได้อีกโดยใช้เวลาละลายเพียง 7 นาที ถึง 11 นาที (ที่รอบ 20/5, 25/5, 25/10, 25/15 และ 25/20 วินาทีตามลำดับ) ซึ่งเป็นเวลาที่เร็วกว่าแต่จะมีปัญหาทำให้สภาพพลาสมาในถุงเปลี่ยนแปลง

มีปัจจัยบางอย่างที่มีส่วนเกี่ยวข้องได้แก่ น้ำ สำหรับใช้เป็นตัวกลางในวิธีไมโครเวฟ น้ำจะช่วยป้องกันไม่ให้พลังงานความร้อนจากไมโครเวฟ สัมผัสกับถุงพลาสมาโดยตรง ความร้อนจากไมโครเวฟนี้จะถ่ายเทความร้อนสู่น้ำซึ่งเป็นตัวกลางและน้ำจะแพร่กระจายความร้อนที่สม่ำเสมอไปสู่ถุงพลาสมา ประกอบกับการหมุนที่ฐานของเครื่องขณะที่ไมโครเวฟทำงาน จะช่วยแพร่กระจายความร้อนที่สม่ำเสมออีกด้วยเป็นการป้องกันการเกิดความร้อนเฉพาะที่มากเกินไปนอกจากนั้นปริมาตรของน้ำที่เหมาะสมก็มีส่วนสำคัญหากปริมาตรของน้ำน้อยเกินไปจะทำให้เกิดความร้อนเฉพาะที่ถุง FFP จะไม่สามารถจุ่มและจมจนมิดถุงซึ่งอาจจะสัมผัสกับความร้อนโดยตรง แต่ถ้าปริมาณของน้ำมีปริมาณมากเกินไป เวลาของการละลายก็จะใช้เวลานานมากขึ้นและอุณหภูมิของการละลายก็จะมีผลเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ปรากฏการณ์เหล่านี้จึงเป็นเหตุผลหนึ่งของการทดลองนี้เพื่อใช้เป็นแบบอย่างของการใช้วิธีไมโครเวฟในการละลาย FFP ต่อไป สำหรับเครื่องตู้อบไมโครเวฟรุ่นใหม่ ๆ หรือมีกำลังวัตต์มากขึ้นแตกต่างกันตลอดขนาดของเครื่องเป็นปัจจัยทั้งสิ้น จึงควร

จะต้องหาค่าความเหมาะสมของเวลาและอุณหภูมิทุกครั้ง ซึ่งวิธีไมโครเวฟนี้อาจจะเป็นเทคนิคทางเลือกใหม่สำหรับการละลายพลาสมาแช่แข็งที่จะให้ผู้ป่วยมะเร็งในกรณีเร่งด่วนฉุกเฉินต่อไป

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย โดยพบอัตราการตายมากเป็นอันดับหนึ่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมาและมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง¹⁶ จากสถิติผู้ป่วยมะเร็งที่มารับการรักษาที่ สถาบันมะเร็งแห่งชาติเพิ่มขึ้นทุกปี¹⁷⁻¹⁸ ดังนั้นการลดระยะเวลาในการตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อช่วยในการรักษาผู้ป่วยได้รวดเร็วและทันเหตุการณ์ คณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าการศึกษานี้ในเรื่องนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการช่วยลดระยะเวลาในการละลายพลาสมาแช่แข็งก่อนที่จะให้ผู้ป่วยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท คิวนิค จำกัด ที่ได้เอื้อเฟื้อตู้อบไมโครเวฟ และเครื่อง programmable timer ที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษานี้ และ ดร.สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์ งานพันธุศาสตร์ กลุ่มงานวิจัยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการเขียนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. พิมล เชี่ยวศิลป์. เลือดและส่วนแยกของเลือด. ใน : พิมล เชี่ยวศิลป์. (บรรณาธิการ) การให้เลือด กรุงเทพมหานคร : พิมเนต ; 2526. หน้า 14-30.
2. Westphal RG, Tindle B, Howard PL, Golden EA, Page GA. Rapid thawing of fresh frozen plasma. Am J Clin Pathol 1982; 78: 220-2.
3. American Association of Blood Banks. Standards for blood banks and transfusion services. 11th ed. 1984 ; 31.
4. Plotz RD, Ciotola RT. Thawing of fresh-frozen plasma at 45°C versus 37°C. Am J Clin Pathol 1988; 89 : 381-4.

5. Sherman LA, Dorner IM. A new rapid method for thawing-fresh frozen plasma. *Transfusion* 1974; 14 : 595-7.
6. Thompson KS, O Kell RT. Comparison of fresh-frozen plasma thawed in a microwave oven and in a 37°C water bath. *Am J Clin Pathol* 1981; 75: 851-3.
7. Rock G, Tackaberry ES, Dunn JB, Kashyap S. Rapid controlled thawing of fresh-frozen plasma in a modified microwave oven. *Transfusion* 1984; 24: 60-5.
8. Luff RD, Kessler CM, Bell WR. Microwave technology for the rapid thawing of frozen blood components. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 59-64.
9. Sohngen D, Kretschmer V, Franke K, Pelzer H, Walker WH. Thawing of fresh-frozen plasma with a new microwave oven. *Transfusion* 1988; 28: 576-80.
10. Mead JH, Boucock BP, Russell RE, Robinson CS, Harris G. Water environment microwave thawing. *Am J Clin Pathol* 1986; 85: 510-3.
11. Wilson RF, Mammen E, Walt AJ. Eight years of experience with massive blood transfusions. *J Trauma* 1971; 11: 275-8.
12. Churchill WH, Schmidt B, Lindsey J, Greenberg M, Boudrow S, Brugrara C. Thawing fresh frozen plasma in a microwave oven. A comparison with thawing in a 37 degrees C water bath. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 227-32.
13. Wintrobe MM. Hemostasis and coagulation. In: Wintrobe MM, editor. *Clinical Hematology* 6thed. Philadelphia: Lee&Febiger; 1969. p.309-34.
14. Hirsch J, Back R, Menzabach A, Welters ID, Dietrich GV, Hempelmann G. Temperature course and distribution during plasma heating with a microwave device. *Anaesthesia* 2003; 58: 44-7.
15. Snyder EL, Hezzey A, Barash PG, Palermo G. Microaggregate blood filtration in patients with compromised pulmonary function. *Transfusion* 1982; 22: 21-5.
16. กระทรวงสาธารณสุข. สถิติสาธารณสุข พ.ศ.2547. กรุงเทพฯ: สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข 2547.
17. Attasara P. Hospital-based cancer Registry 2005. National Cancer Institute, Thailand.
18. Attasara P. Hospital-based cancer Registry 2006. National Cancer Institute, Thailand.





บรรณาธิการ

ธีรวุฒิ คุหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ชนินทร์ อภิภาณินิชย์

นงพงา สุวัฒน์นันท์

เพ็ญศรี แซ่หลี่

ศุภสิพร แสงกระจ่าง

สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์

คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาพร

กิติ จินดาวิจักษณ์

กวิญ ลีละวัฒน์

दनัย ทิวาเวช

ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์

ผ่องพรรณ ศิริพงษ์

เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์

วีรวุฒิ อิมสำราญ

วิจิต อาภรณ์วิรัตน์

วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ

วุฒิ สุเมธโชติเมธา

วสันต์ ลีนะสมิต

วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์

สายพิน ตั้งครุฑ

สุพล มโนรมณ์

สุเมธ รินสุรวงศ์

สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์

อนงค์ เทพสุวรรณ

อมรรัตน์ วิจิตรลีลา

อรุณลักษณ์ โคมินทร์

อัศรียา สมรรคบุตร

อนันต์ กรลักษ์ณ์

อารยะ อุดลยพันธ์

อารีย์ ประสิทธิ์พิงค์

อรสา อัศวราชกูร

อรชร เขี่ยมอารีรัตน์

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒน์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ปรียาดา บุญเย็น

พรนภา จันทรวีระกุล

มลินี สนธิไชย

วาริพร ศักดิ์สมบูรณ์

เสาวคนธ์ ศุภโรยอิน



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor-in-Chief

Thiravud Khuaprema

Assistant Editors

Chanin Apiwanich

Nongpanga Suwattananand

Pensri Saelee

Suleeporn Sangrajrang

Sunanta Chariyalertsak

Editorial Board

Kanokporn Jaisathaporn

Kiti Chindavijak

Kawin Leelawat

Danai Tiwawech

Chantana Morkchareonpong

Pongpun Siripong

Petcharin Sivatanakul

Thida Panchaphanpong

Weerawut Imsamran

Vichit Arpornwirat

Wirote Lausoontornsiri

Wutthi Sumetchotimaytha

Vasant Linasmita

Wanpen Benjachai

Somjin Chindavijak

Saipin Tangkarat

Suphon Manoromana

Sumate Rinsurongkawong

Suwat Chariyalertsak

Anong Tepsuwan

Amornrat Vijitleela

Arunluck Komindr

Akariya Samakhaputra

Anant Karalak

Araya Adulbhan

Aree Prasitthipayong

Orasa Akkarawacharangkul

Orachorn Aimarreerat

Managing Editor

Arkorn Chaiwerawattana

Assistant Managers

Preyada Boonyen

Pornnapa Jantaraweragul

Malinee Sontichai

Wareeporn Saksomboon

Saowakon Sukarayodhin

KOSIT PRESS COMPANY LIMITED

373 Charansanitwong Rd., Bang-ow, Bangplad, Bangkok 10700 Tel. 0-2424-8715, 0-2433-3011



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



- วัตถุประสงค์** เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง และอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง
- สำนักงาน** สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
- เว็บไซต์เผยแพร่** www.kmnci.com
- กำหนดการตีพิมพ์** กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ
- การส่งต้นฉบับ** บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
E - mail : nci_journal@hotmail.com
- การบอกรับเป็นสมาชิก**
- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
 - หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่ง โดยสมัครสมาชิกผ่านเว็บไซต์ www.kmnci.com และโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ



สารบัญ Content

ปีที่ 28 ฉบับที่ 3

กรกฎาคม-กันยายน 2551

	หน้า
บทบรรณาธิการ	101
การศึกษาการใช้ตู้อบไมโครเวฟเป็นทางเลือกในการละลายพลาสมาแช่แข็งสำหรับผู้ป่วย ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ	104
สุพล ตรูณชู, ศุภรัตน์ ประวันณีย์, ญานิณี จรัสวิศรุตพร	
Effect of Hepatitis C Virus Infection on the Risk of Non-Hodgkin's Lymphoma in Thailand	114
Aree Prasitthipayong, Patcharin Homcha-em, Pattarapong Pornsopone, Somnuk Temiyasathit, Chaiyaporn Kunka, Tawin Klinvimol, Rungsinoppadol Thotong, Chatchai Ekpanyaskul, Suleeporn Sangrairang	
Animal Model for Using Allogeneic CD3/CD28 Cross-Linked Th1 Memory Cells Showing a Potent Active Immunotherapy of Leukemia/Lymphoma	122
Wirote Lausontornsiri	
ศักยภาพของสมุนไพรทองพันชั่งในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมโดยการเหนี่ยวนำ ด้วยสารก่อมะเร็ง 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) ในหนูทดลอง	131
ผ่องพรรณ ศิริพงษ์, เพียงใจ คูประดินันท์, สุรัสวดี ปิยะวิริยะกุล, ศิริรัตน์ ต้นสกุล, ฤทธิชัย จันทร์ฉาย, จันทนา ยะหัวฝาย	
สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กับความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งในประเทศไทย	147
นลินี ศรีพวง	

บทบรรณาธิการ

ควัณรูปกับการเกิดโรคมะเร็ง

ตามที่เป็นข่าวในหนังสือพิมพ์เมื่อเร็วๆ นี้ เรื่องการเกิดโรคมะเร็งจากการสูดดมควัณรูป ในบทบรรณาธิการฉบับนี้จึงขอเสนอข้อมูลเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวเท่าที่สืบค้นได้ในปัจจุบัน สารก่อมะเร็งที่พบได้บ่อยในควัณรูป มี 3 ชนิด คือ polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs), benzene และ 1,3 butadiene

Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) เป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีมากกว่า 100 ชนิดที่น่าสนใจ คือ สารที่ชื่อว่า benzo [a] pyrene ซึ่งจัดอยู่ในสารก่อมะเร็งกลุ่มที่ 1 ตามการแบ่งกลุ่มของ IARC (International Agency for Research on Cancer) คือ สารที่มีข้อมูลชัดเจนว่าสามารถทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ได้ PAHs เกิดขึ้นได้ในระหว่างการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของถ่านหิน น้ำมัน แก๊ส ขยะ และพบได้ในควัณชนิดต่างๆ เช่น ควัณหฐรี ควัณจากท่อไอเสีย ควัณจากการเผาไหม้ ควัณจากถนนยางมะตอย¹ นอกจากนี้ ยังพบได้ในอาหารประเภทปิ้งย่าง จะเห็นได้ว่าเราสามารถสัมผัสกับสาร PAHs ทั้งทาง

หายใจ หรือการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสาร การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า PAHs มีผลต่อการเกิดมะเร็งปอดและยังพบความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งผิวหนัง เต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ แต่ข้อมูลการเกิดมะเร็งเหล่านี้ยังมีไม่มากพอเหมือนกับมะเร็งปอด²

Benzene จัดอยู่ในสารก่อมะเร็งในกลุ่มที่ 1 เช่นเดียวกัน เป็นสารที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ในแหล่งที่มีน้ำมัน หรือพบได้ในระหว่างการเผาไหม้ของสิ่งต่างๆ เช่น ถ่านหิน หรือไม้ benzene เป็นสารที่ใช้กันแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น โรงงานผลิตพลาสติก ยางสังเคราะห์ และสี³ สาร benzene ที่พบในสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่มาจากการเผาไหม้ของท่อไอเสียยานยนต์ และพบว่าการสูบบุหรี่เป็นแหล่งกำเนิดที่สำคัญของสารนี้ ส่วนใหญ่ของการรับสาร benzene เข้าสู่ร่างกายจะเกิดจากการหายใจ มีส่วนน้อยมากที่เกิดจากการรับประทานหรือน้ำที่ปนเปื้อนสาร ปัจจุบันเชื่อว่าการได้รับสาร benzene ต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ และยังมีรายงานการเกิดมะเร็งชนิดอื่นๆ อีก เช่น มะเร็งต่อมน้ำ

เหลือง มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งปอด แต่ข้อมูลในส่วนนี้ยังมีไม่มากพอที่จะสรุปได้ในปัจจุบัน^{4,5}

1,3 butadiene เมื่อปี พ.ศ. 2542 IARC จัดให้ 1,3 butadiene เป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่ม 2A คือ กลุ่มที่น่าจะเชื่อได้ว่าเป็นสารที่ทำให้เกิดมะเร็งในคน⁶ แต่ในปัจจุบัน 1,3 butadiene ได้รับการจัดกลุ่มให้เป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่มที่ 1⁷ สารชนิดนี้พบได้ในอุตสาหกรรมปิโตรเคมี การผลิตยางสังเคราะห์ อุตสาหกรรมผลิตพลาสติก และยังพบได้ในอากาศที่เกิดจากควันท่อไอเสียของรถยนต์ การศึกษาทางระบาดวิทยาของ 1,3 butadiene ยังมีอยู่น้อยในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามมีรายงานการสัมผัส 1,3 butadiene และเชื่อว่าทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว

นอกจากนี้ ในควันธูปยังอาจมีสารก่อมะเร็งชนิดอื่นๆ อีกได้ ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับชนิดของธูปด้วยจากการที่ควันธูปมีสารก่อมะเร็งหลายชนิด จึงมีการศึกษาทางระบาดวิทยาเพื่อหาข้อยืนยันเกี่ยวกับการเกิดโรคมะเร็งจากการสูดดมควันธูป โดยเริ่มจากปี พ.ศ. 2530 การศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาโดย Lowengart และคณะ⁸ พบการเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวในเด็กที่พ่อแม่มีการใช้ธูป และในปี พ.ศ. 2537 McCredie และคณะ⁹ ศึกษาการเกิดมะเร็งสมองในเด็กที่ได้รับควันธูป แต่ผลการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดโรค ต่อมาเริ่มมีการศึกษาเพิ่มขึ้นในทวีปเอเชีย ในปี พ.ศ. 2536 Ger และคณะ¹⁰ ได้ศึกษาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งปอดในชาวไต้หวัน แต่ผลการศึกษากลับพบว่าผู้ที่ได้รับควันธูปมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอดน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้รับควันธูป ในปี พ.ศ. 2539 Koo และ Ho¹¹ ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสมลภาวะในอากาศกับการเกิดมะเร็งปอดในผู้หญิงชาวฮ่องกง ผลการศึกษาพบว่าในระหว่างผู้หญิงที่ไม่สูบบุหรี่ การได้รับควันธูปไม่มีผลต่อการเกิด

มะเร็งปอด แต่ที่น่าแปลกใจคือในกลุ่มผู้หญิงที่สูบบุหรี่ กลับพบว่า การได้รับควันธูปอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอด และการศึกษาในประเทศฮ่องกง อีกเรื่องหนึ่งในปี พ.ศ. 2546 โดย Chan-Yeung และคณะ¹² พบว่าการได้รับควันธูปไม่มีผลต่อการเกิดมะเร็งปอด แต่การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดโรคมะเร็งดังกล่าว

จากข้อมูลที่มีอยู่ ณ ปัจจุบัน จึงสรุปได้ยากว่าการได้รับควันธูปทำให้เกิดมะเร็งจริงหรือไม่ คงต้องรอผลการศึกษาอื่นต่อไปในอนาคต เพราะการศึกษาทางระบาดวิทยาของการเกิดมะเร็งในคนเป็นเรื่องที่ซับซ้อน จำเป็นต้องมีกลุ่มตัวอย่างจำนวนมาก และมีผู้เชี่ยวชาญหลายสาขาทำงานร่วมกัน

เอกสารอ้างอิง

1. IARC monographs 1987, volume 32, Suppl. 7.
2. Goldman R, Enewold L, Pellizzari E, Beach JB, Bowman ED, Krishnan SS, et al. Smoking increases carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in human lung tissue. *Cancer Res* 2001; 61(17):6367-71.
3. IARC monographs 1987, volume 29, Suppl. 7.
4. Fu H, Demers PA, Costantini SA, Winter P, Colin D, Kogevinas M, et al. Cancer mortality among shoe manufacturing workers: an analysis of two cohorts. *Occup Environ Med* 1996; 53 : 394-8.
5. Aksoy M. Malignancies due to occupational exposure to benzene. *Am J Ind Med* 1985;7 : 395-402.
6. IARC monographs 1999, volume 71.
7. IARC monographs 2002, volume 83.
8. Lowengart RA, Peters JM, Cicioni C, Burkley J, Bernstein L, Preston-Martin S, Rappaport E. Childhood leukemia and parents' occupational and home exposures. *J Natl Cancer Inst* 1987; 79(1):39-46.
9. McCredie M, Maisonneuve P, Boyle P. Perinatal and early postnatal risk factors for malignant brain tumours in New South Wales children. *Int J Cancer* 1994; 56(1):11-15.
10. Ger LP, Hsu WL, Chen KT, Chen CJ. Risk factors of lung cancer by histological category in Taiwan. *Anticancer Res* 1993; 13(5A):1491-500.

11. Koo LC, Ho JH. Diet as a confounder of the association between air pollution and female lung cancer: Hong Kong studies on exposures to environmental tobacco smoke, incense, and cooking fumes as examples. *Lung Cancer* 1996; 14 Suppl I:S47-S61.
12. Chan-Yeung M, Koo LC, Ho JC, Tsang KW, Chau WS, Chiu SW, Ip MS, Lam WK. Risk factors associated with lung cancer in Hong Kong. *Lung Cancer* 2003; 40(2):131-40.

บทบรรณาธิการ



ศักยภาพของสมุนไพรรอทองพันชั่งในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมโดยการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) ในหนูทดลอง

ผ่องพรรณ ศิริพงษ์*

เพ็ญใจ คูประดิษฐ์**

สุรัสวดี ปิยะวิริยะกุล*

ศิริรัตน์ ต้นสกุล***

ฤทธิชัย จันท์ผาย*

จันทนา ยะหัวผาย*

บทคัดย่อ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของสมุนไพรรอทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Kurz.) ในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) โดยการป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สารสกัดคอลโรฟอร์ม และสาร rhinacanthin C จากราก ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งละลายด้วย 0.3% carboxymethylcellulose ใน 0.4% normal saline ก่อนและหลังการป้อนสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ในหนูเพศเมียสายพันธุ์ Sprague-Dawley จำนวน 75 ตัว ผลการทดลองพบว่า สารสกัดทั้งหมดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรรอทองพันชั่งในขนาดที่ใช้ทดสอบ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลองที่ได้รับยาทุกกลุ่มเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ป้อนด้วยสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose และพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและสารสกัดคอลโรฟอร์ม ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองได้ดีใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) อีกทั้งยังพบว่าสาร rhinacanthin C ทั้งขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาดก้อนมะเร็งเต้านมได้ตามขนาดของยาที่ได้รับเพิ่มขึ้น (dose-dependent; $p < 0.001$) ในขณะที่สารสกัดคอลโรฟอร์มขนาดสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ไม่มีผลต่อการลดขนาดก้อนมะเร็งเต้านมเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้สารสกัดด้วยน้ำจากราก ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัว (number of tumor per rat) ได้ดีที่สุดที่ค่า 4.2 ± 0.5 รองลงมา คือ สารสกัดคอลโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ค่า 4.37 ± 0.4 และ 4.89 ± 0.2 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากลำต้น สารสกัดคอลโรฟอร์ม และสาร rhinacanthin C ขนาดสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) มีผลต่อการลดจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัวได้ในระดับต่ำกว่าเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (7.25 ± 0.8) สำหรับอัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านม พบว่ากลุ่ม

*งานวิจัยสมุนไพรรอทองพันชั่ง และ **งานสัตว์ทดลองและพยาธิวิทยาในสัตว์ทดลอง กลุ่มงานวิจัย; ***งานชีวเคมี กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

หนูที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มนขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมมีอัตราการเกิดก้อนมะเร็งน้อยที่สุด (ร้อยละ 60.34) รองลงมาคือกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากราก ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ร้อยละ 72.41) และกลุ่มหนูที่ได้รับสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ร้อยละ 75.86) ในขณะที่กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากลำต้น, สาร rhinacanthin C และสารสกัดคลอโรฟอร์มนขนาดสูง มีอัตราการเกิดก้อนมะเร็งค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าของสารทางชีวเคมีในเลือดของหนูทดลองพบว่า กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ไม่แสดงค่าความผิดปกติในการทำงานของไตและตับเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มนขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่ามีค่าความผิดปกติในการทำงานของไตคือ ค่า BUN และค่าความผิดปกติในการทำงานของตับ ได้แก่ AST, ALT, ALP สูงขึ้น โดยเฉพาะค่า AST พบว่ามีระดับสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และกลุ่มหนูที่ได้รับสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าค่า AST และ ALT มีระดับสูงขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่า สารสกัดคลอโรฟอร์มนและสาร rhinacanthin C ซึ่งเป็นสารหลักในกลุ่ม naphthoquinone ที่แยกได้จากสารสกัดคลอโรฟอร์นที่ออกฤทธิ์ อาจจะมีผลต่อระบบการทำงานของตับและไตของกลุ่มหนูที่ได้รับยา เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองดังกล่าว จึงสรุปได้ว่า สารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น สารสกัดคลอโรฟอร์มน และสาร rhinacanthin C จากรากสมุนไพรรองพั้นซึ่ง สามารถลดขนาด จำนวนและอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ได้ผลดี โดยเฉพาะสารสกัดด้วยน้ำทั้งจากรากและลำต้น ซึ่งเป็นรูปแบบของสารสกัดที่คนนิยมใช้กันอยู่แล้ว มีผลป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมได้ดีในระดับที่น่าสนใจ ทำให้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสมุนไพรรองพั้นซึ่งเป็นเภสัชภัณฑ์ยา เพื่อการป้องกัน รักษา หรือผสมผสานกับการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม แต่มีข้อควรระวังที่สำคัญคือ สารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขี้ด้าและสาร rhinacanthin C ซึ่งเป็นสารกลุ่ม naphthoquinone อาจจะมีผลต่อระบบการทำงานของตับและไต ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการได้รับสารในกลุ่มนี้ในปริมาณสูง และไม่ควรรบริโภคสารสกัดจากสมุนไพรรองพั้นนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาานาน (วารสารโรคมะเร็ง 2551;28: 131-146.)

Abstract Chemopreventive Potential of *Rhinacanthus nasutus* Kurz. on 7, 12- Dimethylbenz[a] anthracene (DMBA)-induced Mammary Carcinogenesis in Female Sprague-Dawley Rats

by Pongpun Siripong*, Piengchai Kupradinun**, Suratsawadee Piyaviriyakul*, Sirirat Tunsakul***, Rittichai Chanpai*, Jantana Yahaufai*

*Natural Products Research Section, **Laboratory Animal and Pathology Section, Research Division; ***Biochemistry Section, Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

The chemopreventive potential of *Rhinacanthus nasutus* Kurz. (family Acanthaceae), traditionally used in Thai folk medicine for cancer treatment, on 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary gland carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats was investigated. Seventy-five rats were randomly divided into seven groups consisting of one control group (15 animals) and six treated groups (10 animals for each group). The control group received 0.3% carboxymethylcellulose in normal saline and each treated group received the aqueous extracts of roots and stems (500 mg/kg body weight/day), chloroform extract and rhinacanthin C from roots (25 and 50 mg/kg body weight/day) intragastrically everyday two weeks prior to the administration of a single oral dose of DMBA (30 mg/kg body weight) in corn oil and continuously for 9 weeks. Rats were weighed and monitored twice weekly for tumor development after DMBA administration. At the end of experiment, all rats were sacrificed and the tumor volume, number of tumor per rat, tumor incidence, histopathological and blood

biochemical parameters were evaluated. The results revealed that all extracts and rhinacanthin C isolated from *R. nasutus* Kurz. at the given doses had no effects in the growth rate between the treated and control groups. Oral administration of aqueous extracts of roots and stems (500 mg/kg/day) and chloroform extract (25 mg/kg/day) in tumor-bearing rats significantly suppressed the growth of mammary gland carcinogenesis ($p < 0.01$). Moreover, rhinacanthin C (25 and 50 mg/kg/day) suppressed the tumor growth in dose-dependently ($p < 0.001$), whereas the high dose of chloroform extract (50 mg/kg/day) had no effect when compared with the control group. The aqueous extract of roots (500 mg/kg/day), chloroform extract and rhinacanthin C (25 mg/kg/day) markedly reduced the number of tumors per rat at 4.2 ± 0.5 , 4.37 ± 0.4 and 4.89 ± 0.2 , respectively whereas the aqueous extract of stems and high doses of chloroform extract and rhinacanthin C (50 mg/kg/day) had slightly effect when compared with the control group (7.25 ± 0.8). Likewise, rats receiving the aqueous extract of roots (500 mg/kg/day), chloroform extract and rhinacanthin C (25 mg/kg/day) had lower tumor incidence (72.41%, 60.34% and 75.86%) than the control group (100%). For the biochemical analysis, no significant difference of the biochemical parameters was occurred in rats receiving both of aqueous extracts of roots and stems (500 mg/kg/day). In contrast, the levels of blood urea nitrogen (BUN), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) in rats receiving the high dose of chloroform extract (50 mg/kg/day) were markedly increased. Tumor-bearing rats treated with rhinacanthin C (25 mg/kg/day) also had increasing levels of AST and ALT, but with no significant difference when compared with the control group.

Based on these available data, our findings first demonstrate that the aqueous extracts of roots and stems, chloroform extract and rhinacanthin C isolated from roots of *R. nasutus* Kurz. markedly suppress tumor growth, number of tumor per rat and tumor incidence of the mammary gland carcinogenesis in the experimental rats induced by 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA). Interestingly, aqueous extracts of both roots and stems, traditionally usage forms for the treatment of various cancers, provided significantly effective results. Therefore, *Rhinacanthus nasutus* Kurz. may be a useful Thai medicinal plant for preventing the mammary carcinogenesis, however, prolonged use and overdoses of chloroform extract and rhinacanthin C should be avoided to prevent hepatotoxic and nephrotoxic effects of the drugs. (*Thai Cancer J* 2008;28:131-146.)

Key words : *Rhinacanthus nasutus* Kurz., Acanthaceae, chemopreventive potential, DMBA, mammary carcinogenesis

บทนำ

จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุข ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519-ปัจจุบัน แสดงให้เห็นว่า อัตราการตายของประชากรไทยด้วยโรคมะเร็งมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี และปัจจุบันได้ขึ้นมาเป็นสาเหตุการตายอันดับที่หนึ่งของประชากรไทย โรคมะเร็งที่พบบ่อย 4 อันดับแรก ได้แก่ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งปากมดลูกและ

มะเร็งเต้านม โดยจะพบมากกว่าครึ่งหนึ่งของการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งทั้งหมด¹ โดยที่มะเร็งเหล่านี้บางชนิดมีความรุนแรง และมักจะทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างรวดเร็วหรือมีความเจ็บปวดทุกข์ทรมานก่อนที่ จะเสียชีวิต จากปัญหาที่ยารักษาโรคมะเร็งที่ใช้ทางการแพทย์ในปัจจุบัน ยังไม่สามารถรักษาครอบคลุมโรคมะเร็งทุกชนิด อีกทั้งยังพบอุบัติการณ์ของโรคที่ดื้อ

ต่อยา มีพิษข้างเคียงสูง รวมทั้งยามีราคาแพงเพราะต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ ซึ่งมีผลกระทบต่อปัญหาทางสังคมและเศรษฐกิจของผู้ป่วยและประเทศชาติ จึงทำให้การศึกษาและวิจัยตัวยาใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงแต่มีพิษหรือฤทธิ์ข้างเคียงน้อย ยังคงมีความสำคัญและจำเป็นอยู่ โดยเฉพาะการเสาะแสวงหาแหล่งกำเนิดตัวยาใหม่ที่ได้จากธรรมชาติ เช่น พืช สัตว์และจุลินทรีย์ ได้กลับมามีบทบาทสำคัญอีกครั้งหนึ่ง

สมุนไพรงอกพันทั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Kurz.) อยู่ในวงศ์ Acanthaceae² เป็นสมุนไพรรักษาโรคชนิดหนึ่งที่ได้รับการคัดเลือกมาทำการศึกษาจากสรรพคุณยาทางการแพทย์แผนไทย ได้ใช้ส่วนต่างๆ ของสมุนไพรรักษาโรคชนิดนี้ เช่น ราก ใบหรือลำต้น หรือทั้งต้น ต้มชงเป็นน้ำชาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งหลายชนิด นอกจากนั้นยังใช้รักษาโรคผิวหนัง กลาก เกื้อย เชื้อราต่างๆ ตับอักเสบ เบาหวาน ความดันโลหิต ฯลฯ³⁻⁵ จากการศึกษาทางเคมีพบสารสำคัญจำพวก Flavonoids, Steroids, Triterpenoids, Anthraquinones, Lignans และพบมากเป็นสารในกลุ่ม Naphthoquinones⁵⁻¹⁷ ในการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสมุนไพรรักษาโรคชนิดนี้พบว่า สาร rhinacanthins B-D, G-Q ออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิดในหลอดทดลอง^{5, 7, 11-17} รวมทั้งเซลล์มะเร็งเต้านมของคน¹² และกลไกการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสารหลัก ได้แก่ rhinacanthins C, N, Q จะมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบ apoptosis¹³ สำหรับฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น, สารสกัดคลอโรฟอร์มจากราก¹² และสาร liposomal rhinacanthins C, N, Q สามารถลดการเจริญเติบโตของก้อนมะเร็งในหนูทดลองชนิด Balb/c ที่ได้รับการปลูกถ่ายด้วยเซลล์มะเร็ง Meth-A Sarcoma Ascites Cells¹⁴ สาร Rhinacanthone สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง Dalton's Ascites Lymphoma ในหนู Swiss albino

mice¹⁶ อีกทั้งสารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม และสาร rhinacanthins C, N, Q สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยมะเร็งได้ผลดีใกล้เคียงหรือดีกว่ายา gentamicin¹⁷ นอกจากนี้ยังพบสารต้านไวรัสกลุ่ม lignan จากสมุนไพรรักษาโรคนี้ได้แก่ สาร rhinacanthins C และ D สามารถยับยั้งการเจริญของ Human Cytomegalovirus (CMV) ที่ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.02 และ 0.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ⁸ และยังพบสาร rhinacanthins E และ F สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Influenza Virus A ได้ดี⁹ จากข้อมูลดังกล่าวและผลการวิจัยที่ผ่านมาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พอดีสรุปได้ว่า สมุนไพรงอกพันทั่งซึ่งเป็นสมุนไพรรักษาโรคมะเร็งตามตำรายาแพทย์แผนไทยและผู้ป่วยนิยมนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง อีกทั้งสามารถปลูกได้เองและหาง่าย จึงเป็นสมุนไพรรักษาโรคมะเร็งที่น่าสนใจนำมาศึกษาฤทธิ์ป้องกันรักษามะเร็งในระดับเชิงลึกต่อไป

เนื่องจากสถานการณ์ปัจจุบัน อัตราการเกิดมะเร็งเต้านมจะพบได้เป็นอันดับ 2 รองจากมะเร็งปากมดลูกในผู้ป่วยสตรีไทย¹ จึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสารสกัดและสารหลักที่ออกฤทธิ์ของสมุนไพรงอกพันทั่ง มาศึกษาถึงศักยภาพในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมโดยการให้สารสกัดสมุนไพรงอกพันทั่งและหลังการให้สารก่อมะเร็ง DMBA เพื่อเหนี่ยวนำทำให้เกิดมะเร็งเต้านมในสัตว์ทดลอง ซึ่งวิธีการทดสอบดังกล่าว เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบอยู่แล้วในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ¹⁸⁻¹⁹ ผลการศึกษาที่ได้จะสามารถนำมาประเมินคุณค่าทางยาของสมุนไพรรักษาโรคมะเร็งชนิดนี้ว่า มีศักยภาพเพียงพอในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมได้หรือไม่ อันจะเป็นการวิจัยนำร่องไปสู่ขบวนการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันยับยั้งมะเร็งชนิดอื่นๆ และความปลอดภัยในการใช้เป็นยาของสมุนไพรงอกพันทั่งในสัตว์ทดลองต่อไป นอกจากนั้นยังไม่

เคยมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาคุณสมบัติของสมุนไพรชนิดนี้ ในการป้องกัน/ยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านมที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง

วัตถุประสงค์และวิธีการ

สมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย

เก็บสมุนไพรทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Kurz.) ในช่วงระยะเวลาออกดอกจากจังหวัดปราจีนบุรีและพื้นที่เพาะปลูกของสวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก (เขาหินซ้อน) จ. ฉะเชิงเทรา ตรวจจสอบชื่อและชนิดตามหลักพฤกษอนุกรมวิธาน นำมาล้างแยกชิ้นส่วนของ ใบ รากและลำต้น สับให้มีขนาดเล็กลง อบให้แห้งในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส บดเป็นผงยาเพื่อใช้เตรียมสารสกัดสำหรับป้อนในสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลอง

ชื่อหนูทดลองสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพศเมีย อายุประมาณ 30-31 วัน จำนวน 75 ตัว จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล มาเลี้ยงให้ปรับตัวเป็นเวลา 10 วัน ในห้องสัตว์ทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 45±5 เปอร์เซ็นต์ และให้กินอาหารเม็ดที่ซื้อมาจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์จำกัด และให้ดื่มน้ำกรองโดยไม่จำกัดปริมาณ

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบและสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรทองพันชั่ง

1.1 การเตรียมสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นของสมุนไพรทองพันชั่ง

นำผงแห้งของรากและลำต้นสมุนไพรทองพันชั่ง มาสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยการต้ม (reflux)

ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วกรองเอากากออก นำกากที่ได้มาสกัดด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่ง กรองและนำมารวมกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดครั้งแรก จากนั้นนำมาระเหยให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ความดันต่ำ (Rotary Evaporator) และทำให้แห้งเป็นผงด้วยเครื่อง Lyophilizer นำสารสกัดที่ได้บดด้วยโม่บดยาให้ละเอียดเป็นผง ใส่ภาชนะที่มีฝาปิดสนิทและทึบแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการสกัดซ้ำเพื่อเตรียมให้ได้ปริมาณมากพอสำหรับใช้ในการป้อนยาในสัตว์ทดลองตลอดทั้งโครงการ

1.2 การเตรียมสารสกัดคลอโรฟอร์มจากรากของสมุนไพรทองพันชั่ง

นำผงแห้งของรากสมุนไพรทองพันชั่ง 1 กิโลกรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลด้วยวิธีหมัก (Maceration) จนสารละลายใสไม่มีสี กรองเอาผงยาออก นำสารสกัดที่ได้มาระเหยให้แห้ง ได้สารสกัดรวมของเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาสกัดต่อด้วยวิธี partition ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความมีขั้ว คือ คลอโรฟอร์มและเมทานอลตามลำดับ กรองสารสกัดที่ได้และนำมาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ความดันต่ำ ได้สารสกัดคลอโรฟอร์มและสารสกัดเมทานอล นำใส่ในเครื่องดูดความชื้นเพื่อให้ตัวทำละลายที่ตกค้างอยู่ระเหยไปให้หมด เก็บสารสกัดดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการสกัดซ้ำเพื่อเตรียมให้ได้ปริมาณมากพอสำหรับใช้ป้อนในสัตว์ทดลองตลอดทั้งโครงการ

1.3 การเตรียมสารออกฤทธิ์จากสารสกัดคลอโรฟอร์มของสมุนไพรทองพันชั่ง

นำสารสกัดคลอโรฟอร์มที่ออกฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด มาแยกสารออกฤทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ Silica gel และผ่านตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความมีขั้ว ได้แก่ เฮกเซน:คลอโรฟอร์มและคลอโรฟอร์ม:เมทานอลในอัตราส่วน 4:1; 2:1 และ 1:1 ตามลำดับ ระเหย

ให้แห้ง และวิเคราะห์ด้วยรังสีเอกซ์ผลึกเดี่ยว จะได้สารบริสุทธิ์หลักในกลุ่มของ Naphthoquinone จำนวน 3 ชนิด เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR และ MS แล้ว พบว่าสารหลักที่มีปริมาณมากที่สุด คือ rhinacanthin C รองลงมา คือ สาร rhinacanthin N และ rhinacanthin Q ตามลำดับ¹²⁻¹⁴ จากนั้นทำการแยกสารหลักที่ออกฤทธิ์ดังกล่าวซ้ำ เพื่อให้ได้ปริมาณมากพอสำหรับใช้ป้อนสัตว์ทดลองตลอดทั้งโครงการ

2. การเตรียมสารละลายสมุนไพรสำหรับป้อนสัตว์ทดลอง

ซึ่งผงสารสกัดและสาร rhinacanthin C ตามความเข้มข้นที่กำหนด ละลายด้วย 0.3% carboxymethylcellulose ใน 0.4% normal saline โดยใช้โกร่งบดให้สารละลายดังกล่าวเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และนำไปละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 20-30 นาที เพื่อเพิ่มการละลายให้มากขึ้น

3. การทดสอบศักยภาพของสารสกัดและสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรทองพันชั่ง ในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley

ทำการศึกษาศักยภาพในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมของสมุนไพรทองพันชั่ง โดยการให้สารสกัดสมุนไพรก่อนและหลังการให้สารก่อมะเร็ง DMBA ในหนูทดลอง โดยใช้หนูเพศเมียสายพันธุ์ Sprague-Dawley จำนวน 75 ตัว และแบ่งกลุ่มหนูทดลองโดยการสุ่ม ออกเป็น 7 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมจำนวน 15 ตัว ซึ่งป้อนด้วย 0.3% carboxymethylcellulose ใน 0.4% normal saline และกลุ่มทดลอง 6 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว ป้อนด้วยสารสกัดสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ที่ขนาดความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

คือ สารสกัดด้วยน้ำจากราก ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สารสกัดด้วยน้ำจากลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สารสกัดคลอโรฟอร์มจากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สาร rhinacanthin C ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ละลายใน 0.3% carboxymethylcellulose โดยป้อนสารสกัดสมุนไพรก่อนเป็นเวลา 2 สัปดาห์และหลังจากป้อนสารก่อมะเร็ง DMBA ที่ละลายใน corn oil ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมแล้ว 1 สัปดาห์ ตามด้วยการป้อนสารสกัดสมุนไพรทั้งหมดต่อเนื่องกันเป็นเวลาอีก 9 สัปดาห์ ส่วนกลุ่มควบคุม ป้อนด้วย 0.3% carboxymethylcellulose ใน 0.4% normal saline

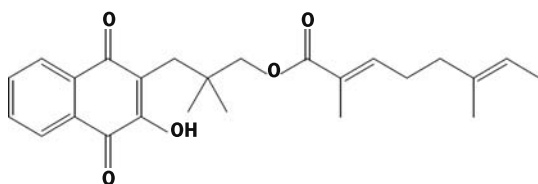
ในระหว่างดำเนินการทดลองซึ่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงของหนูทดลองทุกกลุ่มหลังจากที่ได้รับยาทุกวัน เพื่อติดตามการเจริญเติบโตและสังเกตความผิดปกติที่อาจเกิดจากความผิดปกติของยา นับจำนวน, ตรวจขนาดก้อนเนื้องอกโดยการคลำและวัดขนาดของก้อนเนื้องอกโดยใช้ Caliper ทุกสัปดาห์หลังจากการให้สารก่อมะเร็ง DMBA เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อคำนวณหาปริมาตรของก้อนมะเร็งที่เปลี่ยนแปลงของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม เมื่อสิ้นสุดการทดลองฆ่าสัตว์ทดลองและผ่าเอาก้อนเนื้องอกออกมา นับจำนวนก้อนเนื้องอก วัดขนาดสุดท้ายของก้อนเนื้องอกทั้งหมด ซึ่งอวัยวะภายใน เก็บเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในที่สำคัญเพื่อวิเคราะห์ผลทางจุลพยาธิวิทยาและวิเคราะห์ผลทางสถิติ¹⁸⁻¹⁹

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ One-Way ANOVA ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักตัว จำนวนเนื้องอกต่อตัว ปริมาตรของก้อนเนื้องอก และใช้ Standard Trend (Z) Test ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการเกิดเนื้องอก

ผลการศึกษา

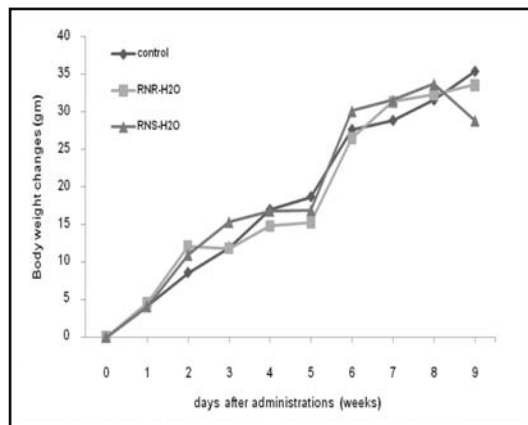
1. ผลของสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดคลอโรฟอร์ม และสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่งต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเต้านมด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม



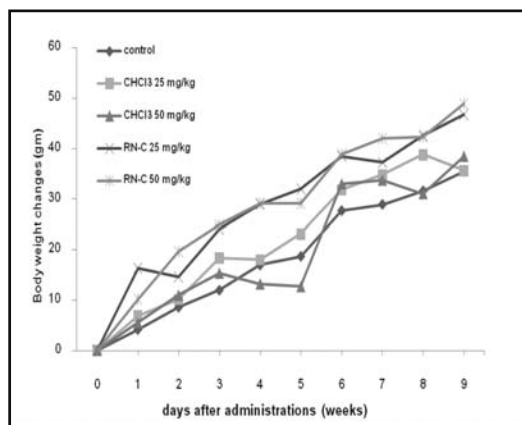
รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร rhinacanthin C ที่แยกได้จากรากสมุนไพรทองพันชั่ง

จากการป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, สารสกัดคลอโรฟอร์มและสารสำคัญหลักที่มีปริมาณมากที่สุด คือ rhinacanthin C (รูปที่ 1) ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจากรากของสมุนไพรทองพันชั่งในหนูเพศเมียชนิด Sprague-Dawley โดยการป้อนก่อนและหลังการได้รับสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดทั้งหมดและสาร rhinacanthin C ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักของหนูทดลอง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับ 0.3% carboxymethylcellulose ใน 0.4% normal saline ดังแสดงในรูปที่ 2

A



B



รูปที่ 2 ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่งต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเต้านมด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

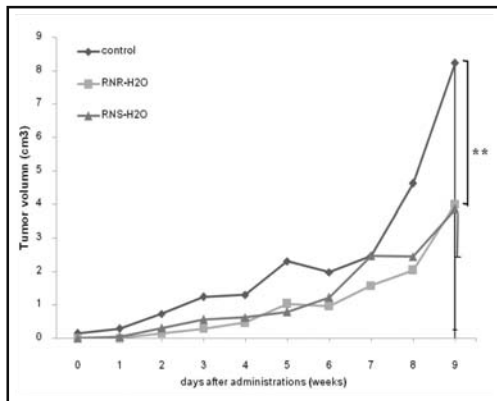
รูป A แสดงผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ รูป B แสดงผลของสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จากรากของสมุนไพรทองพันชั่ง ที่ป้อนก่อนและหลังการให้ สารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม / กิโลกรัมในหนูทดลอง ติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของหนูกลุ่มที่ได้รับยา เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ป้อนด้วย 0.3% carboxymethylcellulose

2. ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น สารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จากรากสมุนไพรงอกพินซัง ต่อขนาด, จำนวนและอัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

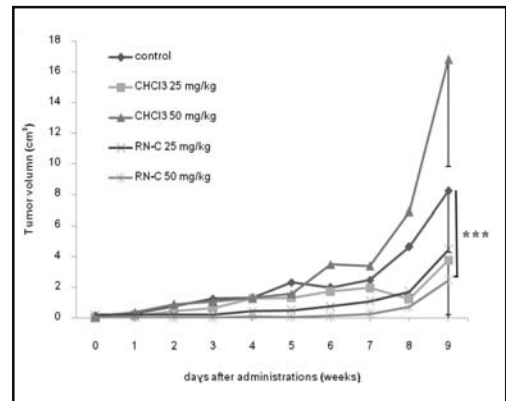
จากการป้อนสารสกัดและสารสำคัญหลัก rhinacanthin C จากสมุนไพรงอกพินซังตามขนาดที่ใช้ทดสอบและวัดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมที่เกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม / กิโลกรัมในหนูทดลองนั้น พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นของสมุนไพรงอกพินซัง ขนาด 500 มิลลิกรัม / กิโลกรัม และสารสกัดคลอโรฟอร์มขนาด 25 มิลลิกรัม / กิโลกรัม สามารถ

ลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองได้ดีใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยมีค่าเฉลี่ยของปริมาตรก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองแต่ละกลุ่มที่ค่า 4.0 ± 7.92 , 3.85 ± 4.39 , 3.75 ± 7.16 ลบ.ซม. ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าสาร rhinacanthin C ทั้งขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม / กิโลกรัม สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมได้ (4.43 ± 4.14 และ 2.43 ± 2.25 ลบ.ซม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามขนาดของยาที่ได้รับเพิ่มขึ้น (dose-dependent; $p < 0.001$) ในขณะที่สารสกัดคลอโรฟอร์มขนาดสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ไม่มีผลต่อการลดขนาดของก้อนมะเร็ง (16.81 ± 19.0 ลบ.ซม.) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของปริมาตรก้อนมะเร็งเต้านมที่ค่า 8.23 ± 7.98 ลบ.ซม (รูปที่ 3 และ 4)

A



B



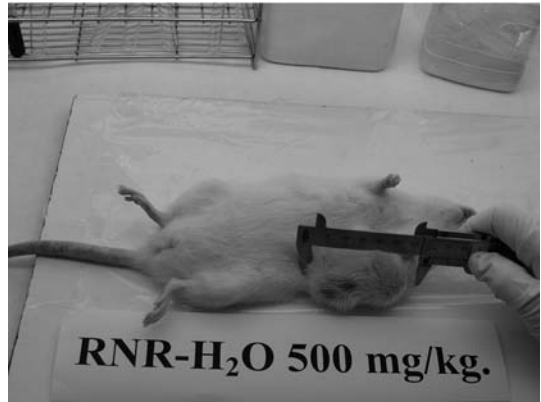
รูปที่ 3 ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรงอกพินซังต่อขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

รูป A แสดงผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และรูป B แสดงผลของสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมต่อการลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)

A



B

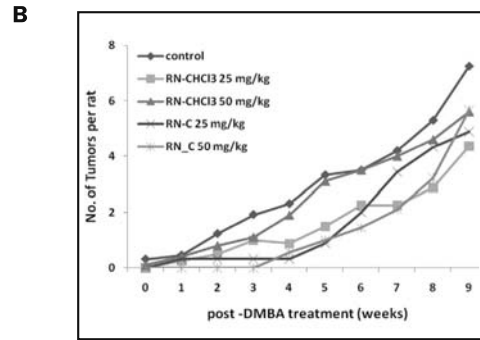
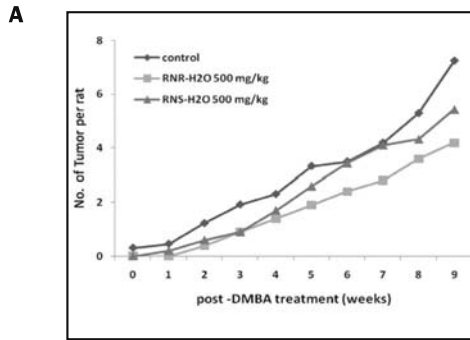


รูปที่ 4 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากสมุนไพรทองพันชั่งต่อการลดขนาดก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose

รูป A แสดงขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.3% carboxymethyl cellulose และรูป B แสดงขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากสมุนไพรทองพันชั่งขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

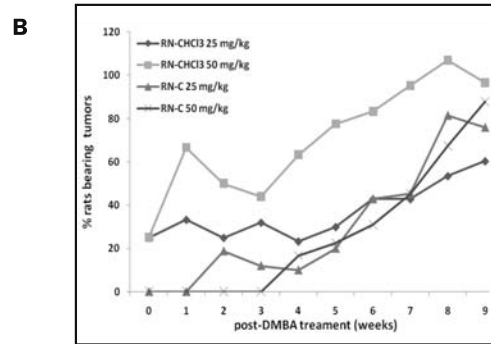
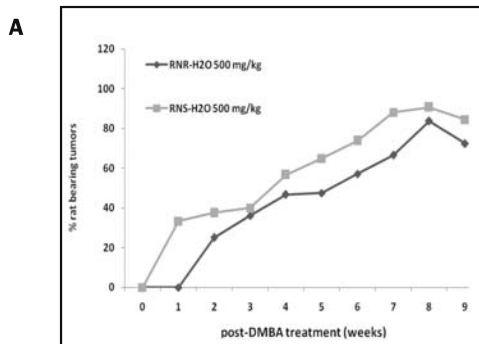
เมื่อนับจำนวนและตรวจดูอัตราการเกิดของก้อนมะเร็งเต้านม ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ของหนูทดลองทุกกลุ่ม พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากรากสมุนไพรทองพันชั่ง ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัว (number of tumors per rat) ในหนูทดลองได้ดีที่สุดที่ค่า 4.2 ± 0.5 รองลงมาคือ สารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ค่า 4.37 ± 0.4 และ 4.89 ± 0.2 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากรากต้น สารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ขนาดสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) มีผลต่อการลดจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัวได้ต่ำกว่าที่ค่า 5.44 ± 0.3 , 5.6 ± 0.4 และ 5.67 ± 0.5 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของจำนวนก้อนมะเร็งต่อตัวที่ค่า 7.25 ± 0.8 (รูปที่ 5) ส่วนอัตราการเกิดก้อนมะเร็งที่เกิดขึ้นในหนู

ทดลองหลังจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA นั้น พบว่ากลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีอัตราการเกิดก้อนมะเร็งน้อยที่สุด (ร้อยละ 60.34) รองลงมาคือกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากราก ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ร้อยละ 72.41) และกลุ่มหนูที่ได้รับสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ร้อยละ 75.86) ในขณะที่กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สาร rhinacanthin C และสารสกัดคลอโรฟอร์มขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีอัตราการเกิดก้อนมะเร็งค่อนข้างสูง (ร้อยละ 84.48, 87.93 และ 96.55 ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose ซึ่งพบอัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองทุกตัว (ร้อยละ 100) (รูปที่ 6)



รูปที่ 5 ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่ง ต่อจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัวในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

รูป A แสดงผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และรูป B แสดงผลของสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม / กิโลกรัม ต่อจำนวนก้อนมะเร็งเต้านมเฉลี่ยต่อตัวในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม



รูปที่ 6 ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่ง ต่ออัตราการเกิดก้อนมะเร็งในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

รูป A แสดงผลของสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และรูป B แสดงผลของสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมต่ออัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (**p<0.01; ***p<0.001)

3. ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C ต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเลือดจากหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเต้านมด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง คณะผู้วิจัยได้ฆ่าหนู

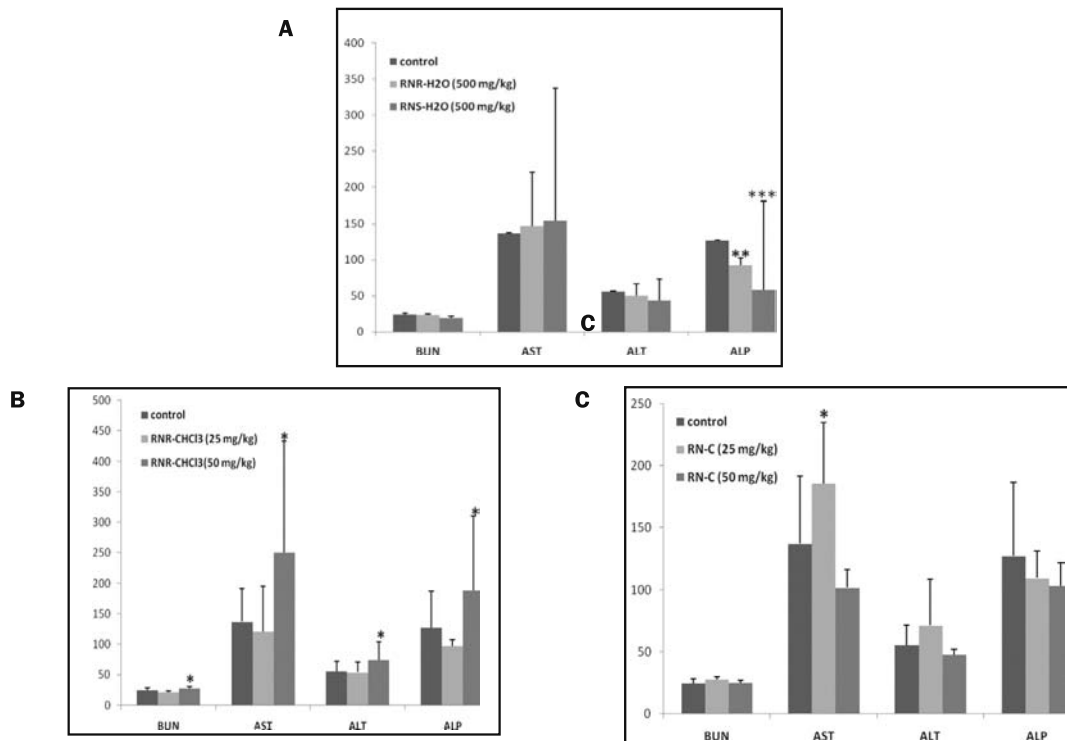
ทดลองทุกกลุ่ม และเจาะเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมี เพื่อการทำงานของตับและไตของหนูทดลอง ผลจากการวิเคราะห์ทางชีวเคมีในเลือดพบว่า กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและสารสกัดคลอโรฟอร์มขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่พบค่า

ความผิดปกติในการทำงานของตับและไต เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าจะพบสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นสมุนไพรทองพันชั่ง มีผลทำให้ระดับของ AST เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในขนาดความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ แต่ก็ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่ามีค่าความผิดปกติในการทำงานของไต คือ ค่า BUN และค่าความผิดปกติในการทำงานของตับ ได้แก่ AST, ALT และ ALP มีค่าสูงขึ้น โดยเฉพาะค่า AST จะมีระดับสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และกลุ่มหนูที่ได้รับสาร rhinacanthin C ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าค่า AST และ ALT มีระดับสูงขึ้น (รูปที่ 7) ส่วนค่าพารามิเตอร์อื่นๆ ได้แก่ creatinine, uric acid, total protein และ albumin

ไม่พบค่าความผิดปกติในหนูทดลองทุกกลุ่ม ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ทางชีวเคมีดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ซึ่งเป็นสารหลักในกลุ่ม naphthoquinone ที่แยกได้จากสารสกัดคลอโรฟอร์มที่ออกฤทธิ์ ของรากสมุนไพรทองพันชั่ง อาจจะมีผลกระทบต่อระบบการทำงานของตับและไต ถ้าได้รับสารสกัดดังกล่าวในปริมาณสูงและติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

4. ผลทางจุลพยาธิวิทยา

จากการศึกษาจุลพยาธิวิทยาของก้อนเนื้ออกที่เต้านมซึ่งเกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ในหนูทดลองทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาทุกกลุ่ม พบว่าส่วนใหญ่เป็นมะเร็งชนิด adenocarcinoma แต่ก็มีพบบ้างเป็นส่วนน้อยที่เป็นเนื้ออกธรรมดา (benign tumor) ชนิด fibroadenoma, adenoma และ fibroma



รูปที่ 7 ผลของสารสกัดและสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเลือดจากหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งเต้านมด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ($*p < 0.05$)

รูป A แสดงค่าทางชีวเคมีในเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งไม่แสดงความผิดปกติของการทำงานของตับและไต รูป B แสดงค่าทางชีวเคมีในเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มจากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบค่าความผิดปกติของการทำงานของตับและไตของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดดังกล่าวในขนาดความเข้มข้นสูง รูป C แสดงค่าทางชีวเคมีในเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับสาร rhinacanthin C จากรากขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบค่าความผิดปกติของการทำงานของตับของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดดังกล่าวในขนาดความเข้มข้นต่ำ

วิจารณ์และสรุป

จากข้อมูลการวิจัยและผลการวิจัยของสถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ผ่านมา⁵⁻¹⁷ พอดีสรุปเบื้องต้นได้ว่า สมุนไพรทองพันชั่งซึ่งเป็นสมุนไพรไทยที่มีประวัติรักษาโรคมะเร็งตามตำรายาการแพทย์แผนไทยและผู้ป่วยนิยมนำมาใช้รักษาโรคมะเร็งชนิดต่างๆ นั้น มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองได้หลายชนิด^{5,11-12} รวมทั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (human breast cancer, MCF-7)¹² และสามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งของหนูทดลองที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งชนิด Meth-A sarcoma ascites cells¹⁴ เมื่อแยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ พบว่าเป็นสารกลุ่ม naphthoquinone ได้แก่ สาร rhinacanthins (B-D, G-Q) และสาร rhinacanthone ที่สามารถออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งได้ผลดี^{5,11-12} โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์หลัก 4 ชนิด คือ สาร rhinacanthins C, N, Q และสาร rhinacanthone สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ในสัตว์ทดลอง¹⁴⁻¹⁶ อีกทั้งยังพบว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้จะทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบ apoptosis¹³ ดังนั้นจึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะคัดเลือกสมุนไพรไทยชนิดนี้ มาทำการศึกษาศักยภาพในการป้องกัน/ยับยั้งการเจริญของมะเร็งชนิดอื่นๆ ที่มีอัตราการพบบ่อยในผู้ป่วยไทย จากการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาศักยภาพการป้องกัน/ยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านมโดยการให้สารสกัดสมุนไพรก่อนและหลังการได้รับ

สารก่อมะเร็ง 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) ในหนูทดลอง ติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ ซึ่งวิธีการทดสอบดังกล่าวเป็นวิธีการที่ใช้ทดสอบอยู่แล้วในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ¹⁸⁻¹⁹ และนิยมใช้ในการทดสอบฤทธิ์ป้องกัน/ยับยั้งการเกิดมะเร็งที่เกิดจากเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็งของสารต่างๆ รวมทั้งสารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ²⁰⁻²⁸ โดยผลวิจัยที่ได้จะนำไปสู่การอธิบายถึงผลของสมุนไพรชนิดนี้ ต่อขบวนการการเกิดมะเร็ง (carcinogenesis) ซึ่งประกอบด้วยขบวนการ initiation, promotion และ progression²⁰ สิ่งที่น่าสนใจคือ การศึกษาศักยภาพการป้องกัน/ยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านมที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็งของสมุนไพรชนิดนี้ ยังไม่เคยมีรายงานวิจัยมาก่อน

เมื่อทำการป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, สารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จากรากสมุนไพรทองพันชั่งในหนูเพศเมียชนิด Sprague-Dawley โดยการป้อนสารสกัดสมุนไพรก่อนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และหลังจากการให้สารก่อมะเร็ง DMBA ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมแล้ว 1 สัปดาห์ โดยจะป้อนยาติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ ในขณะที่กลุ่มหนูควบคุม จะป้อนด้วยสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose ในน้ำเกลือ 0.4% normal saline พบว่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลอง แสดงว่าสาร

สกัดสมุนไพรทั้งหมดและสาร rhinacanthin C ในขนาดที่ใช้ทดสอบ อาจมีความปลอดภัยในการใช้เป็นยา จากนั้นจะทำการวัดขนาดของก้อนมะเร็ง นับจำนวนก้อนมะเร็งและตรวจดูอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมของหนูทดลองทุกกลุ่ม เพื่อดูผลการออกฤทธิ์ของสมุนไพรชนิดนี้ ซึ่งพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองได้ดีใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมได้รับสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose อีกทั้งสารสกัดด้วยน้ำจากราก สามารถลดจำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัวและลดอัตราการเกิดมะเร็งได้ผลดี ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งได้ทดสอบสารสกัดดังกล่าวด้วยขนาดที่ใช้ทดสอบเท่ากัน สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งในหนูทดลองที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งชนิด Meth-A sarcoma ascites cells¹² ทำให้ได้ข้อมูลน่าสนใจที่จะช่วยสนับสนุนการใช้สมุนไพรทองพันชั่งในรูปแบบการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งนิยมใช้ชงเป็นน้ำชาดื่มหรือต้มด้วยน้ำอยู่แล้วในการใช้รักษาโรคต่างๆ รวมทั้งโรคมะเร็งในตำรายาแพทย์แผนไทย²⁻⁹ สิ่งที่น่าสนใจคือ จากการที่สารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมได้ดีนั้น แสดงให้เห็นว่า น่าจะมีสารกลุ่มอื่นๆ นอกจากกลุ่ม naphthoquinone ซึ่งมีความเป็นขี้ผึ้งและละลายน้ำได้ดี สามารถออกฤทธิ์ป้องกัน/ยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านม จึงควรจะทำการแยกสารออกฤทธิ์จากสารสกัดดังกล่าวต่อไป ซึ่งสารดังกล่าวนี้อาจจะมีความเป็นพิษต่ำ ไม่เป็นอันตรายต่อการบริโภคติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

จากนั้นได้ทำการป้อนสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเต้านมด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA พบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์ม

ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาด, จำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัวและอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมได้ผลดี ในขณะที่สารสกัดคลอโรฟอร์มขนาดสูง (50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ไม่สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งได้ อีกทั้งยังพบว่ามีความเสี่ยงเฉลี่ยต่อตัวและอัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านมสูง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะสารสกัดคลอโรฟอร์ม ซึ่งเป็นสารสกัดที่ได้สกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขี้ผึ้งปานกลาง จะมีองค์ประกอบของสารเคมีหลายชนิดที่มีความเป็นขี้ผึ้งต่ำและละลายไม่ดีในน้ำซึ่งมีความเป็นขี้ผึ้งสูง อีกทั้งตัวยาที่ใช้ป้อนจะมีปริมาณความเข้มข้นสูงเพิ่มมากขึ้นตามน้ำหนักตัวของหนูทดลองที่เพิ่มขึ้น เมื่อทำการป้อนสารสกัดดังกล่าวในรูปตะกอนแขวนลอยในสารละลาย 0.3% carboxymethylcellulose ที่มีปริมาณจำกัดเป็นระยะเวลาต่างๆ อาจจะมีผลทำให้ตัวยามีความเข้มข้นสูงเกินไปและมีคุณสมบัติการละลายที่ไม่ดีในระบบภายในร่างกายของหนูทดลอง จึงทำให้สารสกัดดังกล่าว ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ, จำนวนและอัตราการเกิดก้อนมะเร็งเต้านมในหนูทดลองได้ แต่เมื่อทดสอบสาร rhinacanthin C ซึ่งเป็นสารหลักและมีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดคลอโรฟอร์มที่ออกฤทธิ์ พบว่า สาร rhinacanthin C ขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองได้ดีตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการทดลองที่ได้ดังกล่าว แสดงว่า องค์ประกอบเคมีของสารหลักในกลุ่ม naphthoquinone โดยเฉพาะสาร rhinacanthin C ที่มีปริมาณมาก น่าจะเป็นสารสำคัญชนิดหนึ่งในสมุนไพรชนิดนี้ ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของมะเร็งเต้านมได้ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง แต่จากผลการทดสอบสารหลัก 3 ชนิดที่แยกได้จากสมุนไพรชนิดนี้ ได้แก่ สาร rhinacanthin C, N และ

Q ในรูปแบบการเตรียมด้วย liposome เพื่อเพิ่มการละลายให้ดีขึ้น พบว่า Liposomal rhinacanthins ทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดขนาดของก้อนมะเร็งได้ดีในหนูทดลองที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งชนิด Meth-A sarcoma ascites cells โดยสาร Liposomal rhinacanthin N ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด¹⁴ ซึ่งอาจจะนำมาอธิบายได้ว่า การที่สารสกัดคลอโรฟอร์ม ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ออกฤทธิ์ในการลดขนาด, จำนวนก้อนมะเร็งเฉลี่ยต่อตัว และอัตราการเกิดของก้อนมะเร็งเต้านมของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ได้ผลดีนั้น อาจะเกิดจากองค์ประกอบของสารกลุ่ม naphthoquinone หลายชนิดออกฤทธิ์ร่วมกัน

เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าผิดปกติทางชีวเคมีจากเลือดของหนูทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้นในขนาดความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ไม่มีผลต่อระดับค่าทางชีวเคมีของตับและไต ถึงแม้ว่าสารสกัดดังกล่าว จะมีผลทำให้ระดับค่า AST สูงขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มในขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และสาร rhinacanthin C ในขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีผลทำให้ระดับค่า BUN สูงขึ้น และค่า AST สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.03$) เมื่อได้รับสารสกัดและสารบริสุทธิ์ดังกล่าวติดต่อกันเป็นเวลา 9 สัปดาห์ Gotoh และคณะ¹⁵ ได้รายงานว่สาร rhinacanthin C ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของค่าทางโลหิตวิทยาของเลือดในหนูทดลอง แต่ผลการทดลองดังกล่าว จะให้สารดังกล่าวในช่วงระยะเวลาประมาณ 7 วัน ซึ่งอาจจะทำให้หนูทดลองได้รับสารสกัดในปริมาณความเข้มข้นที่ต่ำกว่าเพราะได้รับในช่วงระยะเวลาที่สั้น จึงไม่แสดงผลต่อความผิดปกติทางโลหิตวิทยาของหนูทดลองดังที่พบในการศึกษานี้ จากผลการวิเคราะห์ที่พบค่าความ

ผิดปกติเกี่ยวกับการทำงานของตับและไต จึงเป็นข้อควรระวังต่อการนำเอาสมุนไพรทองพันชั่งมาบริโภค เพราะอาจจะมีผลต่อระบบการทำงานของตับและไต เมื่อได้รับยาติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ถึงแม้ว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มและสาร rhinacanthin C จะเป็นสารที่มีความเป็นขี้ดต่ำ ละลายในน้ำไม่ดี แต่ก็ยังเป็นสารหลักที่มีปริมาณมากที่สุดในสมุนไพรชนิดนี้ ซึ่งอาจจะแสดงความเป็นพิษต่อตับและไตได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการทดสอบความเป็นพิษของสมุนไพรชนิดนี้ โดยเฉพาะการทดสอบความเป็นพิษแบบเรื้อรัง (chronic toxicity) รวมทั้งศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งว่าเป็นสารชนิดใดที่มีความเป็นพิษและแสดงความเป็นพิษเล็กน้อยเพียงใด อีกทั้งพัฒนารูปแบบการใช้เป็นผลิตภัณฑ์ยาให้มีการละลายที่ขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายต่อการบริโภคสมุนไพรชนิดนี้ในปริมาณสูงของผู้ป่วยหรือผู้ที่นิยมบริโภคสมุนไพรชนิดนี้

จากผลการทดลองที่ได้ในการศึกษานี้ สรุปได้ว่า สารสกัดด้วยน้ำจากรากและลำต้น สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และสาร rhinacanthin C จากสมุนไพรทองพันชั่ง สามารถลดขนาด จำนวนและอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารก่อมะเร็ง DMBA ได้ดี โดยจะสามารถป้องกัน/ขัดขวางขบวนการเกิดมะเร็งในขั้นตอนของ initiation และ promotion ได้ อันจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสมุนไพรทองพันชั่งเป็นเภสัชภัณฑ์ยา เพื่อการป้องกัน รักษาหรือผสมผสานต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไป แต่มีข้อควรระวังคือ สารสกัดจากสมุนไพรชนิดนี้ในตัวทำลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขี้ดต่ำและสาร rhinacanthin C อาจจะมีความเป็นพิษต่อระบบการทำงานของตับและไต ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการได้รับสารกลุ่มนี้ในปริมาณสูงและไม่ควร

บริเวณสารสกัดจากสมุนไพรชนิดนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาานาน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิจัยที่ได้รับอนุมัติจากเงินบำรุงสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ประจำปี 2548 และเงินงบประมาณประจำปี 2549-2550 จากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, ขอขอบคุณสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับใช้ดำเนินงานวิจัย และสวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออกเฉียง (เขาคินซ้อ) อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา กรมป่าไม้ กระทรวงทรัพยากรธรณี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และดูแลเพาะปลูกสมุนไพรทองพันชั่งสำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Kuhuaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Smitsawan Y, Attasara P. Cancer in Thailand. Vol. 4, 1998-2000.
2. วิทย์ เทียงวิบูลย์ธรรม. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. โอเดียน สโตร์. กรุงเทพฯ: 2531; 80.
3. Siripong P. Thong Phun Chang. Thai Cancer J 1988; 9: 60-3.
4. Rojanapo W, Tepsuwan A, Siripong P. Mutagenicity and antimutagenicity of Thai medicinal plants. Basic Life Sci 1990; 52:447-52.
5. Wu TS, Tien HJ, Yeh MY, Lee KH. Isolation and cytotoxicity of rhinacanthins A and B, two naphthoquinones from *Rhinacanthus nasutus*. Phytochemistry 1988; 27: 3787-8.
6. Wu TS, Yang CC, Wu PL, Lin LK. A quinol and steroids from the leaves and stems of *Rhinacanthus nasutus*. Phytochemistry 1993; 40: 1247-9.
7. Kodama O, Icikawa H, Akatsuka T, Santisopasri V, Kato A, Hayashi Y. Isolation and identification of

- an antifungal naphthopyran derivative from *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod 1993; 56: 292-4.
8. Sendl A, Chen JL, Jolad SD, Stoddart C, Rozhon E, Kernan M, et al. Two new naphthoquinones with antiviral activity from *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod 1996; 59: 808-11.
 9. Kernan MR, Sendl A, Chen JL, Jolad SD, Blanc P, Murphy JT, et al. Two new lignans with activity against Influenza Virus from the medicinal plant, *Rhinacanthus nasutus*. J Nat Prod 1997; 60: 635-7.
 10. Wu TS, Hsu MC, Wu PL, Leu YL, Chen YY, Chen CY, et al. Naphthoquinone esters from the roots of *Rhinacanthus nasutus*. Chem Pharm Bull 1998; 40: 413-18.
 11. Wu TS, Hsu HC, Wu PL, Teng CM, Wu YC. Rhinacanthin -Q, a naphthoquinone from *Rhinacanthus nasutus* and its biological activity. Phytochemistry 1998; 49: 2001-3.
 12. Siripong P, Kanokmedakul K, Piyaviriyagul S, Yahuafai J, Chanpai R, Ruchirawat S, Oku N. Antiproliferative naphthoquinone esters from *Rhinacanthus nasutus* Kurz. roots on various cancer cells. J Trad Med 2006; 23: 166-72.
 13. Siripong P, Yahuafai J, Shimizu K, Ichikawa K, Yonezawa S, Asai T, et al. Induction of apoptosis in tumor cells by three naphthoquinone esters isolated from Thai medicinal plant: *Rhinacanthus nasutus* Kurz. Biol Pharm Bull 2006; 29: 2070-6.
 14. Siripong P, Yahuafai J, Shimizu K, Ichikawa K, Yonezawa S, Asai T, et al. Antitumor activity of liposomal naphthoquinone esters isolated from Thai medicinal plant: *Rhinacanthus nasutus* Kurz. Biol Pharm Bull 2006; 29: 2279-83.
 15. Gotoh A, Sakaeda T, Kimura T, Shirakawa T, Wada Y, Wada A, et al. Antiproliferative activity of *Rhinacanthus nasutus* (L) Kurz. extracts and the activity moiety, Rhinacanthin C. Biol Pharm Bull 2004; 27: 1070-4.
 16. Thirummurugan RS, Karimani S, Srivatava RS. Antitumor activity of rhinacanthone against Dalton's Ascites Lymphoma. Biol Pharm Bull 2000; 23: 1438-40.
 17. Siripong P, Wongseri V, Piyaviriyagul S, Yahuafai J, Chanpai R, Kanokmedakul K. Antibacterial

- potential of *Rhinacanthus nasutus* against pathogenic microorganisms isolated from Thai cancer patients. J Thai Pharm Sci 2006; 120-5.
18. Kupradinun P, Siripong P, Piyaviriyagul S, Senapeng B. Effect of *Acanthus ebracteatus* Vahl. on DMBA-induced mammary neoplasm in the rats. Thai Cancer J 2000-2001; 26-27 : 23-32.
 19. Tepsuwan A, Kupradinun P, Kusamran WR. Chemopreventive potential of neem flowers on carcinogen-induced rat mammary and liver carcinogenesis. Asian pacific J Cancer Prev 2002; 3: 231-8.
 20. Deri PU. Basics of carcinogenesis. Health Administrator 2000; 17: 16-24.
 21. Moura MD, Torres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM. Natural products inhibitors of models of mammary neoplasia. Publicado em Brit J Phytotherapy 2001; 5: 124-45.
 22. Jung KJ, Wallig MA, Singletary KN. Purple grape juice inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. Cancer Lett 2006; 233: 279-88.
 23. Malejka-Giganti D, Bennett KK, Calp SJ, Beland FA, Shinozuka H, Bliss RL. Suppression of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis by pre-initiation treatment of rats with beta-naphthoflavone coincides with decreased levels of the carcinogen-derived DNA adducts in the mammary gland. Cancer Detect Prev 2005; 29: 338-47.
 24. Liu J, Lin RI, Milner JA. Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors and DNA adducts by garlic powder. Carcinogenesis 1992; 13: 1847-51.
 25. Singletary K, MacDonald C, Wallig M. Inhibition by rosemary and carnosol of 7, 12-dimethylbenz [a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. Cancer Lett 1996; 104: 43-8.
 26. So FV, Guthrie N, Chambers AF, Moussa M, Carroll KK. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juice. Nutr Cancer 1996; 26: 167-81.
 27. Singletary KW, Stansburry MJ, Giusti M, Van Breemen RB, Wallig M, Rimando A. Inhibition of rat mammary tumorigenesis by concord grape juice constituents. J Agric Food Chem 2003; 51: 7280-6.
 28. Banerjee S, Bueso-Ramos C, Aggarwal BB. Suppression of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclearfactor-kB, cyclooxygenase 2 and matrix metalloproteinase 9. Cancer Res 2002; 62: 4945-54.



สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กับความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งในประเทศไทย

นลินี ศรีพวง

บทคัดย่อ ในประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดมาใช้ในการเกษตร ในการสาธารณสุข เพื่อการควบคุมพาหะนำโรค และในบ้านเรือน ปัจจุบันพบว่าการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดที่มีพิษร้ายแรงและชนิดที่เป็นสารมลพิษตกค้างยาวนาน (Persistent Organic Pollutants: POPs) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและเป็นสารที่ทำให้พิการแต่กำเนิดในพื้นที่ทั่วประเทศไทย จากข้อมูลของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข บ่งชี้ว่าในช่วงปีพ.ศ. 2545-2549 นั้นประชากรไทยเสียชีวิตด้วยโรคเนื้องอกและมะเร็งทุกชนิดเป็นลำดับหนึ่ง และข้อมูลของสำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรคได้แสดงผลการตรวจสุขภาพเกษตรกรโดยการคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตด้วยกระดาษทดสอบพิเศษในปี พ.ศ. 2543-2544 ว่ามีเกษตรกรกลุ่มเสี่ยงต่อโรคมะเร็งมากกว่ามากในจังหวัดนครศรีธรรมราช ภูเก็ต สุราษฎร์ธานี ตาก นครสวรรค์ ศรีสะเกษ มุกดาหาร ยโสธร บุรีรัมย์และอุบลราชธานี และในปีพ.ศ. 2549 พบว่า จังหวัดในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้แก่จังหวัดจันทบุรีและระยองนั้นมีผู้ป่วยด้วยโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากกว่าจังหวัดอื่น จากผลการตรวจสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชผักผลไม้โดยกรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมการเกษตร และผลการตรวจสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ในตะกอนดินและในน้ำในพื้นที่เกษตรกรรมโดยกรมควบคุมมลพิษ ในช่วงปีพ.ศ. 2541-2543 พบว่า มีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมต กลุ่มออร์กาโนคลอรีน พาราควอต และสารพิษอื่นๆปนเปื้อนในพื้นที่ต่างๆ ทั่วประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่า มีสารเอ็นโดซัลแฟนปนเปื้อนในแม่น้ำบางปะกง แม่น้ำท่าจีน และแม่น้ำเจ้าพระยาอีกด้วย ในปัจจุบันยังไม่สามารถจำแนกโรคมะเร็งจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ เนื่องจากยังขาดเกณฑ์วินิจฉัย ขาดระบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วยด้วยรหัสโรคในสถานบริการสาธารณสุขที่เป็นมาตรฐานเดียวกันทั้งประเทศ และการบันทึกข้อมูลสุขภาพของทุกระบบที่มีการใช้ในปัจจุบันนั้นไม่มีการระบุข้อมูลการประกอบอาชีพ ลักษณะการทำงาน และความเสี่ยงต่อการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากการประกอบอาชีพและจากสิ่งแวดล้อมในภูมิภาคนาและสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ที่มีโอกาสสัมผัส ดังนั้นการตระหนักถึงอันตรายของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การมีพฤติกรรมที่ปลอดภัยและการหลีกเลี่ยงการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยเปลี่ยนมาใช้สารธรรมชาติและวิธีภูมิปัญญาท้องถิ่นทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกันควบคุมโรคมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม (วารสารโรคมะเร็ง 2551; 28: 147-158.)

“สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (Pesticides)” หรือที่นิยมเรียกสั้น ๆ ว่า “สารเคมีกำจัดศัตรูพืช” นั้นเป็นสารเคมีที่เป็นสารสังเคราะห์โดยมนุษย์ให้มีฤทธิ์ในการกำจัดศัตรูพืชทั้งชนิดที่เป็นแมลง สัตว์ทะเล เชื้อโรคพืช และสัตว์อื่นๆ ที่ทำลายพืช สารนี้เป็นสารที่มีพิษต่อร่างกายทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง โดยพิษแบบเฉียบพลันนั้นมักทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อนและอาจมีพิษต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อได้ ส่วนพิษแบบเรื้อรังนั้นขึ้นกับชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้น หากเป็นชนิดที่เป็นสารพิษร้ายแรงก็จะทำลายระบบต่างๆ ของร่างกาย มีผลต่อพันธุกรรม ทำให้พิการแต่กำเนิด และบางชนิดยังเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) อีกด้วย ในบทความนี้ได้นำเสนอข้อมูลวิชาการเพื่อความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยสังเขป ได้แก่ ชนิดและรูปแบบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีการนำมาใช้ในประเทศ พิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อร่างกาย สถานการณ์การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพในประเทศไทย สถานการณ์การเจ็บป่วยด้วยพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย มาตรการความปลอดภัยและกลไกทางกฎหมายเกี่ยวกับการห้ามใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิด รวมทั้งความร่วมมือระหว่างประเทศภายใต้อนุสัญญาต่างๆ และความร่วมมือของภาครัฐ ภาคเอกชนและภาคประชาชนในการผลักดันกฎหมายด้านสุขภาพในรูปของสมัชชาสุขภาพแห่งชาติ

ชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีการใช้ในตลาดสินค้าเคมีทางการเกษตร

ในตลาดสินค้าเคมีทางการเกษตรในประเทศไทยนั้น มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด โดยอาจจำแนกตามองค์ประกอบของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบและประเภทของศัตรูพืชที่ต้องการกำจัด¹⁻⁴ ได้ดังนี้

1. สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticides)

มีการผลิตมาขายในตลาดสินค้าเคมีทางการเกษตรหลายชนิด ได้แก่

1.1 สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine Insecticides) สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มนี้มักสลายตัวได้ยาก ทำให้มีการตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานานกว่า 50 ปี จึงมีข้อจำกัดและการห้ามใช้ในหลายประเทศ ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ เช่น ดีดีที (DDT) เอ็นโดซัลแฟน (Endosulfan) อัลดริน (Aldrin) ดีลดริน (Dieldrin) เอนดริน (Endrin) เมทริกซ์โคลอร์ (Methoxychor) คลอเดน (Chlordane) เป็นต้น การเกิดพิษเฉียบพลันมักมีผลต่อระบบประสาท ส่วนพิษเรื้อรังนั้นหากใช้สารประกอบนี้ในปริมาณสูงๆ เป็นระยะเวลาหลายๆ อาจมีผลทำลายสมองและระบบประสาท กล้ามเนื้อการทำงานของตับ มีผลต่อระบบเลือด โลหิตจาง มีผลถ่ายทอดทางพันธุกรรม มีผลทำให้เด็กพิการแต่กำเนิด และทำให้เกิดโรคมะเร็ง ปัจจุบันได้มีความร่วมมือระหว่างประเทศกำหนดสารเคมีบางชนิดในกลุ่มนี้เป็นสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Persistent Organic Pollutants: POPs) ที่ห้ามใช้ในทุกรัฐ เนื่องจากมีพิษร้ายแรงต่อสุขภาพและตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้นานดังกล่าว

1.2 สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต (Organophosphate and Carbamate Insecticides) สารกลุ่มนี้สลายตัวได้ค่อนข้างเร็ว จึงไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมในระยะยาว แต่มีพิษเฉียบพลันสูง โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) ทำให้เกิดการสะสมของสารอะเซทิลโคลีน (Acetylcholine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่ปลายเส้นประสาท ทำให้เกิดการกระตุ้นปลายประสาทอย่างรุนแรง จึงมีผลทำให้เกิดพิษเฉียบพลันโดยมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเดิน น้ำตาไหล มีเสมหะมาก น้ำลายไหล

น้ำลายฟูมปาก เหงื่อออก ม่านตาหด กลั้่นอุจจาระ บัสสาวะไม่ได้ หลอดลมเกร็ง กลั้มนเนื้อกระดูก และ เสี่ยชีวิตได้ง่าย ในตลาดสินค้าเคมีทางการเกษตรนั้น มีการจำหน่ายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในชื่อการค้าต่างๆ กัน สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต มีชื่อทางการค้าทั่วไปหลายชื่อ ตัวอย่างเช่น พาราไธออน (Parathion) มาลาไธออน (Malathion) ไดซินอน (Diazinon) เพ็นนิไธออน (Penithion) คลอไพริฟอส เมทริล (Chlorpyrifosmethyl) ไดโครฟอส (Dicrophos) เป็นต้น และกลุ่มคาร์บาเมต มีชื่อทางการค้าทั่วไป หลายชื่อเช่นกัน ตัวอย่างเช่น เมโทมิล (Methomyl) อัลดิคาร์บ (Aldicarb) เบนดิโอคาร์บ (Bendiocarb) คาร์บาริลโพรพ็อกเซอร์ (Carbaryl Propoxer) โพรเซอร์หรือไบกอน (Proxur or Baygon) เป็นต้น

1.3 สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มไพริทรอยด์ส (Synthetic Pyrethroids) เป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น โดยเลียนแบบจากธรรมชาติ มีความไวทางชีวภาพสูง การใช้อย่างเจือจางทำให้ไม่มีฤทธิ์สะสมในร่างกาย จึงเกิดพิษต่อคนและสัตว์น้อยมาก การเกิดพิษที่พบ ได้บ่อย คือ อาการคันตามผิวหนัง คอแห้ง กระจายน้ำ ตัวอย่างของชื่อทางการค้าของสารกลุ่มนี้ เช่น ไบโอเรสมेत्रิน (Bioresmethrin), เดลตาเมเทริน (Deltamethrin) ไชฮาโลเทริน (Cyhalothrin) และ ไชเปอร์เมเทริน (Cypermethrin) เป็นต้น ปัจจุบัน นิยมใช้สารเคมีกลุ่มนี้ในการกำจัดแมลงแทนสารเคมี กำจัดศัตรูพืชกลุ่มอื่น โดยเฉพาะใช้แทนกลุ่มสาร POPs ตัวอย่างเช่น ใช้กำจัดยุงที่เป็นพาหะนำโรค ในพื้นที่ต่างๆ แทนการใช้ดีดีที เป็นต้น

1.4 กลุ่มไรโอคาร์บาเมต (Thiocarbamates :TC) มีพิษต่อร่างกายคล้ายไพริทรอยด์ส คือ ทำให้ระคายเคืองตามผิวหนัง คัน มีตุ่มขาว ผื่นแดง ผื่นตลกสะเก็ด ทางเดินหายใจและคอแห้ง แสบ จมูก ไอ เจ็บคอ อาการดังกล่าวจะเกิดขึ้นทันทีเมื่อได้ รับสารเคมี

1.5 ไนโตรและคลอโรฟีนอล (Nitro-and Chlorophenol) สารกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นการสร้าง พลังงานของเซลล์ ทำให้อุณหภูมิในร่างกายสูงขึ้น หัวใจเต้นเร็ว หายใจเร็ว ถี่และถี่ ร่างกายขาดน้ำ มีการใช้ไขมันและคาร์โบไฮเดรตของร่างกายมากกว่า ปกติ อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมรอบตัวสูงก็จะมีพิษ เร็วและรุนแรงขึ้น อาจเสี่ยชีวิตภายใน 24-48 ชั่วโมง ภายหลังกการเสี่ยชีวิต กลั้มนเนื้อจะแข็งตัวอย่าง รวดเร็ว ถ้าไม่เสี่ยชีวิต จะฟื้นตัวได้ แต่ผิวหนังจะมีรอย จ้ำสีเหลืองเป็นเวลานาน

1.6 สารเคมีกำจัดมดและปลวก (Ants and Termites Pesticides) มีส่วนผสมของปรอท (Mercury) และสารหนู (Arsenic) โดยปรอทจะมีพิษ ต่อสมองและระบบประสาท ผิวน้ำ ทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร ส่วนสารหนูจะมีผลต่อผิวน้ำ สมอง และระบบประสาท ตับ ไต และอาจเกิดโรคมะเร็ง ผิวน้ำได้

2. สารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicides) เป็นสารเคมีที่ใช้กำจัดพืชที่แย่งอาหารจากพืชที่เพาะปลูก ปัจจุบันมีการนำมาใช้กันมากทางการเกษตร สารเคมี กำจัดวัชพืชที่ทำให้เกิดปัญหาที่พบบ่อย ได้แก่ ไดควอท (Diquat) และ พาราควอท (Paraquat) เมื่อเป็นสินค้า ในตลาดสินค้าทางการเกษตรมักมีชื่อทางการค้า ง่ายด้วยคำว่า "-โซน" เช่น กรั่มม็อกโซน (Gramoxone) เป็นต้น สารกลุ่มนี้ดูดซึมทางผิวน้ำได้ดี โดยเฉพาะถ้า มีบาดแผล พิษเฉียบพลันของสารนี้มักมีผลระคาย เคืองตบและปวด อาจมีเลือดออกในทางเดินอาหาร ส่วนพิษเรื้อรังจะทำให้มีพังผืดที่ปอด นอกจากนั้นใน ปัจจุบันได้มีรายงานว่าสารกำจัดวัชพืชที่มีแนวโน้ม ถูกนำมาใช้มากขึ้นอีกชนิดหนึ่ง คือ ไกลโฟเสท (Glyphosate) ซึ่งมีชื่อทางการค้าที่นิยมขายในตลาด สินค้าเคมีทางการเกษตรว่า ราวน์อัฟ (Roundup) สารกลุ่มนี้มีพิษระคายเคืองต่อผิวน้ำทำให้มีผื่นคัน ผิวน้ำไหม้ และตาอักเสบได้ นอกจากนี้ยังมีพิษต่อ

ระบบทางเดินหายใจและระบบอื่นๆ ของร่างกาย โดยทำให้คลื่นไส้ อาเจียน แน่นหน้าอก ถ้ามีอาการรุนแรงกว่านี้ก็จะทำให้อาเจียนมีเลือดปน ปัสสาวะออกน้อย ไตวาย ปอดบวม

3. สารเคมีกำจัดหนูและสัตว์แทะ (Rodenticides) สารกำจัดหนูและสัตว์แทะมีหลายประเภท ได้แก่

แทลเลียม (Thallium) – เป็นสารเคมีประเภทเกลือของแทลเลียม มีลักษณะคล้ายข้าวสาร มีสีบานเย็น ใช้เบื่อหนู ไม่มีรสไม่มีกลิ่น มีพิษรุนแรง

วาฟฟาริน (Waffarin) – เป็นสารเคมีที่ใช้เบื่อหนู มีลักษณะเป็นผงหยาบสีฟ้า หรือแห้งสีชมพู มีฤทธิ์ในการต้านการแข็งตัวของเลือด หยุดยั้งการสร้างวิตามินเค (Vitamin K) ทำให้มีเลือดออกตามผิวหนัง และส่วนต่างๆ ของร่างกาย เม็ดเลือดขาวต่ำ เป็นลมพิษ ผม่วง

ซิงค์ฟอสเฟต (Zinc Phosphate) – เป็นสารเคมีใช้เบื่อหนู มีลักษณะเป็นผงสีเทา ยังไม่มีรายงานการศึกษาว่าเป็นพิษต่อมนุษย์ แต่มีรายงานว่า มีพิษทำลายพืชและสัตว์น้ำ

4. สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Fungicides) สารเคมีกำจัดเชื้อรา มีใช้กันอยู่มากมาย บางชนิดมีพิษรุนแรงน้อย และบางชนิดมีพิษรุนแรงมาก โดยอาจจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ ได้ดังนี้

- กลุ่มไดเมทิล ไดไฮโอคาร์บาเมต (Dimethyl Dithiocarbamates) ได้แก่ ซีแรม (Ziram) เฟอรัม (Ferbam) และ ไทแรม (Thiram) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลดีไฮโดรจีเนส (Acetyl Dehydrogenase) และมีผลทำลายตับในคนที่ดื่มสุราร่วมด้วย

- กลุ่มเอทิลีนบิสไดไฮโอคาร์บาเมต (Ethylenebisdithiocarbamates) ได้แก่ มาเนป (Maneb) แมนโคเซป (Mancozeb) และไซเนป (Zineb) สารกลุ่มนี้จะถูกระบบเมตาบอลิซึมของ

ร่างกายแปรรูปเป็นเอทิลีนไธโอยูเรีย (Ethylene Thiourea) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์

- กลุ่มเมทิลเมอร์คิวรี (Methyl Mercury) ดูดซึมได้ดีทางผิวหนังและมีพิษต่อสมองและระบบประสาท

- กลุ่มเฮกซาคลอโรเบนซีน (Hexachlorobenzene) ยับยั้งเอนไซม์ยูโรพอร์โฟรินเจน ดีคาร์บอกซีเลส (Uroporphyrinogen Decarboxylase) มีพิษต่อดับ ผิวหนัง ข้อกระดูกอักเสบ

- กลุ่มเพนตาคลอโรฟีนอล (Pentachlorophenol) หากสัมผัสสารกลุ่มนี้มากๆ จะทำให้มีไข้สูง เหงื่อออกมาก หัวใจเต้นเร็ว

รูปแบบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในตลาดสินค้าทางการเกษตรและสินค้าที่ใช้ในบ้านเรือน

รูปแบบของสถานะของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีขายในตลาดสินค้าทางการเกษตรและสินค้าที่ใช้ในบ้านเรือนใช้นั้นมีหลายรูปแบบ ในปัจจุบันมีรูปแบบที่นิยมใช้ 5 รูปแบบ 1 ได้แก่

1. แบบละอองสาร (Aerosol) ในรูปของสเปรย์ หรือการพ่นหมอกควันจากถัง หรือกระป๋องอัดความดันที่บรรจุสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2. แบบอาหารผสม (Bait) เป็นการผสมสารเคมีกับสิ่งที่แมลงกินเป็นอาหาร

3. แบบผงแป้ง (Chalk) เป็นการผสมสารเคมีกับผงแป้ง

4. แบบยาจุดกันยุง เป็นการผสมสารออกฤทธิ์กับขี้เถ้า เมื่อจุดยากันยุง สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ผสมอยู่ก็กลายเป็นไอระเหยออกมา

5. แบบแผ่นกำจัดยุงไฟฟ้า ใช้ความร้อนในการทำให้สารเคมีที่ผสมอยู่ระเหยเป็นไอออกมา

พิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อร่างกาย

โดยทั่วไปแล้ว เส้นทางที่สารเคมีกำจัดศัตรูพืชสามารถเข้าสู่ร่างกายนั้นมี 3 ทาง ได้แก่

1. ทางการสัมผัสผิวหนัง แล้วมีการดูดซึมผ่านทางผิวหนัง

2. ทางปาก โดยการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชปนเปื้อนอยู่ ซึ่งสารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นจะเข้าสู่ร่างกายโดยการดูดซึมผ่านทางระบบทางเดินอาหาร

3. ทางการหายใจ โดยละอองหรือไอระเหยของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเข้าทางจมูกแล้วผ่านลงสู่ปอดแล้วแพร่ออกสู่กระแสเลือด

เมื่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสัมผัสร่างกายและเข้าสู่ร่างกายนั้นก็ก่อให้เกิดพิษได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ส่วนพิษของสารนั้นจะรุนแรงเพียงใดและเกิดผลทำลายอวัยวะและระบบต่างๆของร่างกายแบบใดนั้นก็ขึ้นกับชนิดของสาร ช่องทางที่เข้าสู่ร่างกาย สัดส่วนของส่วนผสมของสารที่ใช้ระดับความเข้มข้น ปริมาณที่ได้รับ และระยะเวลาที่สัมผัสหรือได้รับเข้าสู่ร่างกาย โดยพิษแบบเฉียบพลันนั้นมักทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง เยื่อเมือกและระบบต่างๆ ของร่างกาย ส่วนพิษแบบเรื้อรังนั้นจะมีผลทำลายระบบประสาท สมอง กล้ามเนื้อ ตับ ไต เนื้อเยื่อ และพันธุกรรม นอกจากนี้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทที่เป็นสารมลพิษตกค้างยาวนาน โดยเฉพาะสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนนั้นจะมีผลทำให้เกิดมะเร็งได้ โดยเฉพาะมะเร็งเต้านม นอกจากนี้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทที่มีส่วนผสมของสารหนูก็อาจทำให้เกิดโรคมะเร็งผิวหนังได้อีกด้วย⁵ อาชีพที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช คือ อาชีพเกษตรกร และผู้ประกอบการที่เกี่ยวข้องกับการผลิต การแบ่งบรรจุ การจำหน่ายสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การใช้ควบคุมพาหะนำโรค และอาชีพบริการการกำจัดแมลงและสัตว์ที่เป็นเหตุนำพาหะในบ้านเรือน ซึ่งการ

ประกอบอาชีพและการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชนี้จะมีผลทำให้มีการปนเปื้อนของสารเคมีดังกล่าวในสิ่งแวดล้อมการทำงานและสิ่งแวดล้อมทั่วไปแล้วส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ประกอบอาชีพ ผู้อยู่อาศัยในบริเวณใกล้เคียงและประชาชนทั่วไปได้

สถานการณ์การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพในประเทศไทย

จากรายงานสุขภาพคนไทย ปีพ.ศ. 2549 ของสถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล ได้แสดงข้อมูลว่า ในช่วง 10 ปี ระหว่าง พ.ศ. 2537-2547 นั้นมีการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมาใช้ในประเทศไทยสูงขึ้นทุกปี เนื่องมาจากนโยบายพัฒนาประเทศที่มุ่งเน้นรายได้โดยเพิ่มการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรและคาดหวังให้ประเทศไทยก้าวขึ้นสู่การเป็น "ครัวโลก"⁶ ข้อมูลจากวารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ ได้รายงานผลการสำรวจในปีพ.ศ. 2542 ไว้ว่า ในประเทศไทยนั้น "ผักที่ผู้บริโภคนิยมมากที่สุดมี 12 ชนิด ได้แก่ ผักคะน้า ผักบุ้งจีน ถั่วฝักยาว กะหล่ำปลี แตงกวา ผักกาดขาว ตำลึง กวางตุ้ง ต้นหอม ผักชี ข่า โปดอ่อน และหัวไชเท้า ซึ่งส่วนใหญ่ไม่ใช่เป็นพืชผักพื้นบ้านของไทย เราได้นำเมล็ดพันธุ์พืชเหล่านี้มาจากประเทศจีน จึงเป็นผักที่ต้องการการดูแลเอาใจใส่ทำให้เกษตรกรบางรายหันไปพึ่งพิงการใช้ปุ๋ยเคมีและยาฆ่าแมลง พืชผักเหล่านี้จึงมีสารเคมีปนเปื้อนมากกว่าผักพื้นบ้านของไทย"⁷ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับข้อมูลของหน่วยงานต่างๆ ที่มีการสำรวจและวิเคราะห์สารปนเปื้อนในพืชผักและผลไม้ในปีต่อๆ มา ที่แสดงว่ามีปริมาณนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น และมีอัตราการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชซึ่งเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 13.2 ต่อปี ในปีพ.ศ. 2546 พบว่ามีการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชคิดเป็นมูลค่า 10,035.8 ล้านบาท⁸ โดยสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่นำเข้า

20 ลำดับแรกนั้นเป็นสารที่มีพิษระดับร้ายแรงมาก (ชั้น 1 เอ) จำนวน 4 รายการ และในปี พ.ศ. 2550 นั้นมีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่นำเข้ามาจากต่างประเทศประมาณ 30.15 ล้านตัน² ในด้านการสาธารณสุขนั้นได้มีการนำสารเคมีกำจัดแมลงมาใช้ควบคุมพาหะนำโรคมาเป็นระยะเวลาอันยาวนานจนกระทั่งปัจจุบัน โดยเฉพาะใช้กำจัดและควบคุมยุงที่เป็นพาหะนำโรคใช้มาลาเรียและไข้เลือดออก และเนื่องจากมีการระบาดของโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) และ โรคไข้หวัดนก (Avian Influenza หรือ Bird Flu) จึงมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพื่อควบคุมโรคดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง ในกรณีของดีดีทีนั้น กรมควบคุมโรค (เดิมชื่อกรมควบคุมโรคติดต่อ) ได้เคยมีการใช้สารกลุ่มดีดีทีในการกำจัดและควบคุมยุง และได้ยกเลิกการใช้ในปี พ.ศ. 2544⁹

ในส่วนของผลกระทบต่อด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพต่อประชกรนั้นพบว่าในปีพ.ศ. 2541 กรมวิชาการเกษตรตรวจพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และพาราควอท ในพีชน้ำและดินตะกอนในลุ่มน้ำปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช นอกจากนี้ยังตรวจพบสารเคมีกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในตัวอย่างน้ำและดินตะกอนดังกล่าวอีกด้วย ในช่วงปีเดียวกัน กรมส่งเสริมการเกษตรและกรมควบคุมมลพิษก็ได้มีการตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างด้วยเช่นกัน โดยกรมส่งเสริมการเกษตรได้ตรวจสอบปริมาณตกค้างของสารเคมีในพืชผักผลไม้ด้วยชุดตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Pesticides Test Kit) ที่ใช้ตรวจสอบอย่างง่ายและสะดวกในการนำไปใช้ภาคสนาม โดยสำนักงานเกษตรจังหวัดทั่วประเทศได้รายงานว่าตรวจพบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมต และสารพิษอื่นๆ ตกค้างประมาณร้อยละ 42 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 4,000 ตัวอย่าง ในส่วนของกรมควบคุมมลพิษนั้น

ตรวจพบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต ในดินและในน้ำในพื้นที่เกษตรกรรมภาคกลาง 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม สระบุรี ลพบุรี ชัยนาทและสุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2542 กรมควบคุมมลพิษตรวจสอบดินและน้ำในพื้นที่เกษตรกรรมภาคเหนือ 8 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตรและนครสวรรค์ พบสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต โดยตรวจพบสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนมากที่สุด โดยเฉพาะเอ็นโดซัลแฟน ในปี พ.ศ. 2543 พบว่า มีเอ็นโดซัลแฟนปนเปื้อนในแม่น้ำบางปะกง แม่น้ำท่าจีน และแม่น้ำเจ้าพระยา โดยตรวจพบมากที่สุดที่แม่น้ำท่าจีน โดยเฉพาะในช่วงเดือนตุลาคม นอกจากนี้ยังได้มีการตรวจสอบน้ำใต้ดินในบริเวณใกล้แปลงเกษตรที่ปลูกผลไม้และข้าวในพื้นที่เกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ และยโสธร โดยเฉพาะในจังหวัดศรีสะเกษนั้นมีการตรวจพบสารดีดีทีตกค้างในเขตอำเภอศรีรัตนะ และคลองเดน (Chlordane) ในเขตอำเภอกันทรารมย์⁴ นอกจากนี้ยังพบปัญหาเรื่องเรียนของประชาชนที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่ต่างๆ ในประเทศไทยอีกด้วย ตัวอย่างเช่น ในปี พ.ศ. 2546 มีการร้องเรียนเกี่ยวกับเหตุราคาจากกลิ่นเหม็นและปัญหาสุขภาพเกี่ยวกับการระคายเคืองระบบทางเดินหายใจและผิวหนังมีผื่นคันของประชาชนในพื้นที่ที่มีการปลูกสวนส้มในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่ตรวจพบว่าสาเหตุมาจากในพื้นที่นั้นมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดผสมกัน ได้แก่ สารเคมีในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมต กลุ่มไพรีทรอยด์ส กลุ่มสารเคมีกำจัด

วัชพืช ได้แก่ พาราควอท เป็นต้น¹⁰ จะเห็นได้ว่ามีพื้นที่เสี่ยงต่อการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทั่วประเทศไทย ซึ่งปัญหาการใช้สารเคมีกำจัดแมลงและวัชพืชนั้น นอกเหนือจากการปนเปื้อนเนื่องจากใช้กำจัดแมลงและวัชพืชตามวัตถุประสงค์แล้ว ยังพบว่ามีกรปนเปื้อนเนื่องจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชผิดวัตถุประสงค์อีกด้วย ตัวอย่างเช่น การปนเปื้อนของสารเอ็นโดซัลแฟนซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลงนั้น เกษตรกรนิยมใช้เอ็นโดซัลแฟนกำจัดหอยเชอรี่ในทุ่งนาข้าว จึงมีผลทำให้มีสารเอ็นโดซัลแฟนปนเปื้อนในหลายพื้นที่และมีผลทำลายระบบนิเวศน์ โดยเฉพาะพืชและสัตว์น้ำ ในกรณีของประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นพบว่าประมาณร้อยละ 80 ของประชากรไทยมีความเกี่ยวข้องอย่างใดอย่างหนึ่งกับการเกษตร และจากข้อมูลสถิติประชากรไทยในปี พ.ศ. 2550 พบว่ามีประชากรไทยจำนวน 62.9 ล้านคน ซึ่งแสดงว่าประเทศไทยนั้นมีประชากรจำนวนมากที่เสี่ยงต่อการเป็นโรคจากพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งรวมทั้งโรคมะเร็งที่เกิดจากพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชอีกด้วย²

สถานการณ์การเจ็บป่วยด้วยพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทยและอัตราด้านระบาดวิทยาเกี่ยวกับโรคมะเร็งในประเทศไทย

จากข้อมูลการตรวจเลือดเกษตรกร ในปี พ.ศ. 2535-2544 โดยกองอาชีวอนามัย กรมอนามัย (ปัจจุบันคือ สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค) พบว่ามีจำนวนร้อยละของผู้เสี่ยงต่อโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตตามลำดับจำแนกตามรายปีเป็น 23.46, 18.28, 15.80, 18.41, 19.00, 18.39, 17.44, 17.80, 18.88 และ 24.19 โดยในปีพ.ศ. 2543-2544 นั้น พบว่า จังหวัดนครศรีธรรมราชมี

จำนวนของเกษตรกรกลุ่มเสี่ยงสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 52.12 รองลงมาได้แก่ จังหวัดภูเก็ต สุราษฎร์ธานี ตาก นครสวรรค์ ศรีสะเกษ มุกดาหาร ยโสธร บุรีรัมย์ และอุบลราชธานี⁴

จากรายงานของสำนักระบาดวิทยา พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยและผู้เสี่ยงชีวิตจากการได้รับสารอันตรายทางการเกษตรในปีพ.ศ. 2548-2550 จำนวน 1,321 คน 1,251 คน และ 1,286 คน ตามลำดับ^{2,11} ซึ่งข้อมูลจากสำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมได้รายงานว่าเป็นปีพ.ศ. 2550 นั้น พบว่าเป็นผู้ป่วยด้วยโรคพิษออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตมากที่สุดคิดเป็นอัตราป่วย 7.57 ต่อประชากรแสนคน รองลงมาคือโรคพิษสารเคมีกำจัดวัชพืชคิดเป็นอัตราป่วย 5.47 ต่อประชากรแสนคน และในปีพ.ศ. 2549 นั้นพบว่า จังหวัดที่มีอัตราป่วยด้วยโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูงสุด ได้แก่ จังหวัดจันทบุรีและจังหวัดระยอง¹² จากข้อมูลผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งจากสถิติผู้ป่วยรายใหม่ที่เข้ารับการรักษา ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ในปี พ.ศ. 2544 นั้นพบว่า มีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งจากภาคกลางมากที่สุด (ร้อยละ 68.6) รองลงมาได้แก่ ภาคเหนือ (ร้อยละ 15) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ร้อยละ 10.8) และภาคใต้ (ร้อยละ 5.5) นอกนั้นเป็นผู้ป่วยที่ไม่สามารถระบุว่าเป็นมาจากภาคใด¹³ และจากข้อมูลของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขปี พ.ศ. 2550 พบว่า มีอัตราผู้ป่วยนอกด้วยโรคเนื้องอก (รวมมะเร็ง) ทั่วประเทศเป็นอัตรา 14.78 ต่อประชากรพันคน โดยมีอัตราผู้ป่วยสูงสุดในภาคเหนือ (20.17 ต่อประชากรพันคน) รองลงมาได้แก่ ภาคกลาง (15.09 ต่อประชากรพันคน) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (13.42 ต่อประชากรพันคน) และภาคใต้ (10.22 ต่อประชากรพันคน) ตามลำดับ¹⁴ นอกจากนี้ยังพบว่า "อัตราการตาย" ด้วยโรคมะเร็งและเนื้องอกทุกชนิดต่อประชากรแสนคนสูงเป็น

อันดับหนึ่งตลอดช่วง 5 ปี (พ.ศ. 2545-2549)¹⁵ ซึ่ง “อัตราผู้ป่วยและตายด้วยโรคเนื้องอกและมะเร็ง” นี้ ยังไม่สามารถระบุได้ว่ามีเหตุเนื่องมาจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหรือไม่ ทั้งนี้เนื่องจากในส่วนของ การวินิจฉัยโรคมะเร็งจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นขาด ข้อมูลในการจัดทำเกณฑ์การวินิจฉัย นอกจากนี้การวินิจฉัยโรคมะเร็งนั้นยังทำได้ยากเพราะสาเหตุการเกิดโรคมะเร็งนั้นมีหลายประการ ทั้งจากการสัมผัส สารมลพิษอื่นๆ นอกเหนือจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็ง การสูบบุหรี่ และการถ่ายทอดทางพันธุกรรมอีกด้วย อย่างไรก็ตามการหาความสัมพันธ์ของพื้นที่ที่มีการใช้ อาชีพ และสิ่งแวดล้อมที่ทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเข้าสู่ร่างกายนั้นก็ช่วยในการคัดกรองสาเหตุ และช่วยในการวางแผนการตรวจวินิจฉัยได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่นในปีพ.ศ. 2547 ได้มีการศึกษาวิจัยเรื่องสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับการเกิดโรคมะเร็งเต้านม¹⁶ ซึ่งมีวิธีการศึกษาโดยการเก็บข้อมูลที่เกี่ยวข้องจากการสัมภาษณ์ประชากรอาชีพต่างๆ และเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของประชากรกลุ่มตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดปทุมธานีเพื่อวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดในผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งเต้านม และศึกษาข้อมูลของโรงพยาบาลปทุมธานีในช่วงปีพ.ศ. 2544-2546 ประกอบด้วยพบว่ากลุ่มที่เป็นมะเร็งเต้านมมากที่สุดได้แก่ กลุ่มรับจ้างฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและรับจ้างเก็บพืชผักเพื่อขนส่งไปยังตลาดค้าส่งโดยไม่มี การป้องกันตนเองที่เหมาะสมในการทำงาน รองลงมาได้แก่ กลุ่มนักเรียน/นักศึกษา/แม่บ้าน ช่างราชการและกลุ่มค้าขาย ตามลำดับ โดยพบว่า ร้อยละ 90 ของประชากรในกลุ่มนักเรียน นักศึกษาและแม่บ้านนั้น มักมีบ้านอยู่ใกล้สวนผักและทุ่งนา ซึ่งได้กลิ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากสวนผักดังกล่าวทุกครั้งที่มีการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ส่วนผลของฮอร์โมนใน

ร่างกายของกลุ่มเป้าหมายเพศหญิงนั้นพบว่า ไม่มีผู้ที่มีการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอสตราไดโอดชัดเจน แต่มีผู้ที่มีระดับของฮอร์โมนโปรแลคตินสูงกว่าปกติ ร้อยละ 10 (จำนวน 14 คนจาก กลุ่มเป้าหมายจำนวน 92 คน) ซึ่งในกลุ่มที่สูงกว่าปกตินี้เป็นกลุ่มที่ทำการเกษตรกรรมปลูกพืชผักด้วยและใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วยตนเอง อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถระบุได้ว่าประชากรกลุ่มตัวอย่างดังกล่าวเป็นโรคมะเร็งเต้านมจากการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหรือไม่ เนื่องจากไม่มีบันทึกข้อมูลผู้ป่วยที่ชัดเจน ซึ่งในปัจจุบันนี้ในประเทศไทยยังประสบปัญหาเกี่ยวกับการวินิจฉัยจำแนกโรคมะเร็งจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชออกจากสาเหตุอื่น เนื่องจากไม่มีระบบการบันทึกข้อมูลผู้ป่วยที่จำแนกอาชีพ ลักษณะการทำงาน การสัมผัสสิ่งแวดล้อมในภูมิลำเนา และการสัมผัสสารพิษอื่นๆ ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปนอกเหนือจากการทำงาน จากรายงานการศึกษาวิจัยสถานการณ์การเกิดมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยในปีพ.ศ. 2548¹³ นั้นพบว่าอวัยวะเป้าหมายที่เป็นมะเร็งนั้นมีความแตกต่างกันเพศและที่อยู่อาศัย ซึ่งคาดว่าน่าจะมีคล้อยกับข้อมูลการใช้สารเคมีและการตกค้างของสารเคมีในพื้นที่ต่างๆ แต่เนื่องจากระบบรายงานผู้ป่วยไม่มีการจำแนกผู้ป่วยตามอาชีพและภูมิลำเนา ทำให้ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดมะเร็งกับสาเหตุจากสารเคมีประเภทต่างๆ โดยเฉพาะสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ยาก นอกจากนี้ยังพบว่าระบบของการลงทะเบียนผู้ป่วยตาม “ระบบรายงานโรค” ของสำนักระบาดวิทยา การลงทะเบียนโรคตาม “ระบบ ICD 10” ของสถาบันบริการสาธารณสุขทั่วไปและการลงทะเบียนโรคตาม “ระบบ ICD O” ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติและศูนย์มะเร็งนั้นมีความแตกต่างกันในการจำแนกผู้ป่วย แต่มีสิ่งที่เหมือนกันคือไม่มีการระบุอาชีพ ลักษณะการทำงาน และความเสี่ยงในสิ่งแวดล้อมในภูมิลำเนา และสิ่งแวดล้อมทั่วไปที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการได้รับสาร

เคมีประเภทต่างๆ เข้าสู่ร่างกาย จึงทำให้การวิเคราะห์แนวโน้มการป่วยด้วยโรคมะเร็งในประเทศไทยนั้นคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริง ซึ่งจากการศึกษานี้บ่งชี้ว่าการจัดทำบัญชีรายชื่อสารก่อมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมพร้อมแนวทางการป้องกัน ควบคุมเพื่อลดความเสี่ยงต่อการสัมผัสสารก่อมะเร็งเพื่อเผยแพร่ทางวิชาการ รวมทั้งการปรับปรุงระบบข้อมูลผู้ป่วยนับตั้งแต่ บันทึกข้อมูลผู้ป่วยที่มีการจำแนกตามอาชีพและภูมิลาเนาตลอดจนกระทั้งการลงรหัสโรคให้เป็นมาตรฐานเดียวกันในระบบบริการสุขภาพนั้นเป็นสิ่งสำคัญและควรทำเป็นแผนปฏิบัติการเพื่อการป้องกัน ควบคุมโรคมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มาตรการความปลอดภัยและกลไกทางกฎหมายเกี่ยวกับการห้ามใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิด

ในประเทศไทยในปัจจุบันมีมาตรการและกลไกทางกฎหมายมากมายที่เกี่ยวข้องกับการควบคุม

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยมีการกำหนดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชไว้ในกลุ่มของวัตถุอันตรายที่ต้องมีการควบคุมตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 ในปัจจุบันได้มีการกำหนดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิดไว้ในกลุ่มวัตถุอันตรายชนิดที่ 4 (วัตถุอันตรายที่ห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้า ส่งออก หรือมีไว้ครอบครอง) จำนวนทั้งสิ้น 96 ชนิด ตามประกาศพระราชกฤษฎีกาเมื่อวันที่ 18 ตุลาคม พ.ศ. 2547 และกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้มีการกำหนดวิธีการตรึงฉลากและสัญลักษณ์ข้างภาชนะบรรจุของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (รูปที่ 1) ตามระดับความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (องค์การอนามัยโลก ใช้ค่า LD50 ของสารเคมีเป็นเกณฑ์การกำหนดระดับความเป็นพิษ)โดยต้องมีเครื่องหมายและข้อความที่อยู่ในแถบสี^{17, 18} ดังนี้

1. วัตถุอันตรายที่มีระดับความเป็นพิษในชั้น 1 เอ ให้มีเครื่องหมายหัวกะโหลกกับกระดูกไขว้พร้อมด้วยข้อความว่า “พิษร้ายแรงมาก” และต้องมีภาพแสดงคำเตือนต่างๆ (สัญลักษณ์รูปภาพ) อยู่ในแถบสีแดง



รูปที่ 1 ตัวอย่างการตรึงฉลากและสัญลักษณ์ข้างภาชนะบรรจุสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2. วัตถุอันตรายที่มีระดับความเป็นพิษในชั้น 1 ให้มีเครื่องหมายหวั่งกะโหลกกับกระดูกไขว้พร้อมด้วยข้อความว่า "พิษร้ายแรง" และต้องมีภาพแสดงคำเตือนต่างๆ (สัญลักษณ์รูปภาพ) อยู่ในแถบสีแดง

3. วัตถุอันตรายที่มีระดับความเป็นพิษในชั้น 2 ให้มีเครื่องหมายกากบาทพร้อมด้วยข้อความว่า "อันตราย" และต้องมีภาพแสดงคำเตือนต่างๆ (สัญลักษณ์รูปภาพ) อยู่ในแถบสีเหลือง

4. วัตถุอันตรายที่มีระดับความเป็นพิษในชั้น 3 ให้มีข้อความว่า "ระวัง" และต้องมีภาพแสดงคำเตือนต่างๆ (สัญลักษณ์รูปภาพ) อยู่ในแถบสีน้ำเงิน

ความร่วมมือระหว่างประเทศภายใต้อนุสัญญาต่าง ๆ

ประเทศไทยได้เข้าเป็นภาคีสมาชิกของอนุสัญญาระหว่างประเทศด้านสารเคมีและของเสียอันตรายต่างๆ หลายอนุสัญญา เพื่อความร่วมมือระหว่างประเทศ ปัจจุบันกรมควบคุมมลพิษเป็นหน่วยงานประสานงานหลักของประเทศไทยในการปฏิบัติตามอนุสัญญา ซึ่งอนุสัญญา ที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่สำคัญ^{2,18, 19} ได้แก่

- อนุสัญญาบาเซล (Basel Conventions) ซึ่งว่าด้วยการเคลื่อนย้ายข้ามแดนของของเสียอันตรายและการกำจัด

- อนุสัญญาสตอกโฮล์ม (Stockholm Conventions) ซึ่งมีจุดมุ่งหมายในการคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Persistent Organic Pollutants: POPs) ปัจจุบันได้มีการกำหนดสารเคมีในกลุ่มของสาร POPs ไว้เบื้องต้น 12 ชนิด ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (Pesticides) จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ อัลดริน (Aldrin) คลอเดน (Chlordane) ดีลดริน (Dieldrin) ดีดีที (DDT) เอนดริน

(Endrin) เฮปตาคลอร์ (Heptachlor) มีเรกซ์ (Mirex) ทอกซ์ซาฟิน (Toxaphene) เฮกซาคลอโรเบนซีน (Hexachlorobenzene) นอกนั้นเป็นสารที่พบในอุตสาหกรรม ได้แก่ โพลีคลอริเนตเตดไบบีนิลหรือพีซีบี (Polychlorinated Biphenyls : PCBs) และจากการกระทำโดยไม่ตั้งใจของมนุษย์ ได้แก่ ไดออกซิน (Polychlorinated dibenzo-p-dioxins : PCDDs) และฟิวแรน (Polychlorinated dibenzofurans : PCDFs)

- อนุสัญญาออตเตอร์ดัม (Rotterdam Conventions) ซึ่งว่าด้วยกระบวนการแจ้งข้อมูลสารเคมีล่วงหน้าสำหรับสารเคมีอันตรายและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์บางชนิดในการค้าระหว่างประเทศ

ความร่วมมือของภาครัฐ ภาคเอกชนและภาคประชาชนในการผลักดันกฎหมายด้านสุขภาพในรูปแบบของสมัชชาสุขภาพแห่งชาติ

เนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นเป็นสิ่งที่ยอมรับซื้อขายมาใช้ในการเกษตรและกิจกรรมอื่นๆ ทำให้มีการใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีดังกล่าวใช้ในประเทศสูงมากทั้งที่สารนี้เป็นสารที่มีผลกระทบต่อสุขภาพ-อนามัยของประชาชน จึงมักเป็นที่สนใจในการควบคุมดูแล ในขณะเดียวกันก็มักประสบปัญหาเกี่ยวกับความร่วมมือจากเกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องที่เป็นผู้ผลิตสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมาขายในท้องตลาดและความอ่อนแอของมาตรการการควบคุมทางกฎหมายของภาครัฐ อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน คณะกรรมการสุขภาพแห่งชาติได้จัดตั้งสมัชชาสุขภาพแห่งชาติในการขับเคลื่อนนโยบายสาธารณะ ซึ่งรวมทั้งการขับเคลื่อนการทำเกษตรอินทรีย์เป็นนโยบายสาธารณะที่สำคัญเรื่องหนึ่งด้วย เพื่อเปลี่ยนแปลงค่านิยมการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชให้กลายมาเป็น "การลด ละ เลิกการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชใน

การทำเกษตร” และมีการบรรจุเรื่องการดูแลสุขภาพและธรรมชาติไว้ในพระราชบัญญัติสุขภาพแห่งชาติ พ.ศ. 2550 นอกจากนี้ยังมีกรจัดทำ(ร่าง)พระราชบัญญัติกองทุนส่งเสริมและพัฒนาระบบเกษตรกรรมยั่งยืน และมีการจัดทำ(ร่าง) พระราชบัญญัติอาหารแห่งชาติเพื่อเสนอต่อรัฐบาล ซึ่งปัจจุบันสภานิติบัญญัติแห่งชาติเห็นสมควรประกาศใช้เป็นกฎหมายแล้ว⁸

จากข้อมูลดังกล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าในประเทศไทยนั้นประชาชนมีโอกาสเสี่ยงต่อโรคมะเร็งจากการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดที่มีพิษร้ายแรงและเป็นสารก่อมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ แต่ในปัจจุบันการแพทย์และสาธารณสุขของประเทศไทยยังไม่สามารถจำแนกโรคมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม (Occupational and Environmental Cancer) ออกจากโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นจากสาเหตุอื่นๆ ได้ ดังนั้นจึงยังต้องมีการพัฒนาด้านการแพทย์และสาธารณสุขในด้านการวินิจฉัยโรค และในด้านระบบข้อมูลสุขภาพเกี่ยวกับข้อมูลผู้ป่วยเพื่อจำแนกผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชออกจากผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งอื่นๆ อย่างไรก็ตามการป้องกันควบคุมโรคมะเร็งนั้นย่อมสำคัญกว่าการรอให้เป็นโรคมะเร็งแล้วรับการรักษาพยาบาล ดังนั้นมาตรการและกลไกทางกฎหมายเพื่อการป้องกันควบคุมโรคจึงเป็นสิ่งสำคัญในการกำกับดูแล แต่ในปัจจุบันพบปัญหาว่า แม้ว่าจะมีมาตรการและกลไกทางกฎหมาย รวมทั้งความร่วมมือของภาคีต่างๆ ในประเทศในรูปของสมัชชาสุขภาพแห่งชาติ และภาคระหว่างประเทศภายใต้สนธิสัญญาต่างๆ ก็ตาม แต่ก็ยังไม่สามารถควบคุมและป้องกันโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะโรคมะเร็งได้ ดังนั้นการที่ประชาชนตระหนักถึงอันตรายของพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วยตนเองการมีพฤติกรรมที่ปลอดภัย ได้แก่ การรู้วิธีใช้ วิธี

ป้องกันตนเอง และวิธีกำจัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชการทำเกษตรอินทรีย์โดยการไร้สารจากธรรมชาติหรือวิธีภูมิปัญญาท้องถิ่นทดแทนการใช้สารเคมี และการช่วยกันรักษาสิ่งแวดล้อมไม่ให้มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างย่อมเป็นสิ่งที่ป้องกันควบคุมโรคมะเร็งจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ดีและยั่งยืนกว่าการรอรับการรักษาพยาบาลและการเสียทรัพย์สินในการแก้ไขเมื่อเกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมและสุขภาพแล้ว

เอกสารอ้างอิง

1. โชติมา วิไลวัลย์. สารเคมีภัณฑ์, ฐานความรู้เรื่องความปลอดภัยด้านสารเคมี. Available from: <http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=4&ID=4>. Accessed August 20, 2008.
2. คณะเลขาธิการอนุสัญญาการรอตเตอร์ดัมว่าด้วยกระบวนการแจ้งข้อมูลสารเคมีล่วงหน้าสำหรับสารเคมีอันตรายและสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์บางชนิดในการค้าระหว่างประเทศ. กรมควบคุมมลพิษ. เอกสารประกอบการประชุมคณะอนุกรรมการอนุสัญญาการรอตเตอร์ดัมว่าด้วยกระบวนการแจ้งข้อมูลสารเคมีล่วงหน้าสำหรับสารเคมีอันตรายและสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์บางชนิดในการค้าระหว่างประเทศ ครั้งที่ 3/2551; 16 กันยายน 2551; กรุงเทพมหานคร: กรมควบคุมมลพิษ; 2551.
3. มูลนิธิสายใยแผ่นดิน, สหกรณ์กรีนเนท(Green Net Coop). Available from: <http://www.greennet.or.th/consumers/t2100.htm>. Accessed August 20, 2008.
4. กลุ่มพัฒนาความปลอดภัยด้านสารเคมี, โครงการประเมินความเสี่ยงอันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกรจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช. นนทบุรี : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2547.
5. นลินี ศรีพวง. คู่มือดำเนินการป้องกันและควบคุมสุขภาพและสิ่งแวดล้อมชุมชนจากสารเคมีอันตราย. นนทบุรี: สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค; 2548.
6. สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล. สุขภาพคนไทย 2549. กรุงเทพมหานคร : บริษัท อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน); 2549. หน้า 36-49.
7. กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและ

- ยา. ไร้เท่าทันพิษภัยในแหล่งอาหาร. Available from: http://www.tei.or.th/Plibai/th_plibai45_1_2_.htm. Accessed September 23, 2008.
8. สำนักงานคณะกรรมการสุขภาพแห่งชาติ. เอกสารรายงานผลการประชุมคณะกรรมการสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 1/2551; 14 มกราคม 2551; นนทบุรี : สำนักงานคณะกรรมการสุขภาพแห่งชาติ ; 2551.
 9. คณะอนุกรรมการประสานนโยบายและแผนการดำเนินงานว่าด้วยความปลอดภัยด้านสารเคมี, สรุปข้อมูลสถานการณ์เพื่อการจัดการสารเคมีของประเทศไทย พ.ศ. 2548. นนทบุรี: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ; 2548.
 10. นลินี ศรีพวง. สถานการณ์มลพิษทางอากาศในประเทศไทย. นนทบุรี: สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค; 2547.
 11. สำนักระบาดวิทยา สรุปการรายงานการเฝ้าระวังโรค 2548, กรมควบคุมโรค 2548; หน้า 444-52.
 12. สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม รายงานประจำปี 2550. กรมควบคุมโรค 2550; หน้า 6-7.
 13. นลินี ศรีพวง, พนิดา นวสัมฤทธิ์, ศุภสิพร แสงกระจ่าง, เพ็ญศรี อนันตกุลณี, จุไรวรรณ ศิริรัตน์. สถานการณ์การเกิดมะเร็งจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย (ปีงบประมาณ 2548), นนทบุรี: กรมควบคุมโรค; 2548.
 14. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. จำนวนและอัตราผู้ป่วยนอกตามกลุ่มสาเหตุ (21 กลุ่มโรค) จากสถานบริการสาธารณสุขของกระทรวงสาธารณสุข ราชอาณาจักรต่อประชากร 1,000 คน พ.ศ. 2550. Available at: <http://bps.ops.moph.go.th/ill-out-ket50.xls>. Accessed August 20, 2008.
 15. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. จำนวนและอัตราตายต่อประชากร 100,000 คน จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ. 2545-2549. Available from: <http://bps.ops.moph.go.th/2.3.4-49.xls>. Accessed September 23, 2008.
 16. นลินี ศรีพวง, เพ็ญศรี อนันตกุลณี, จุไรวรรณ ศิริรัตน์, จุไรรัตน์ ศรีมณี. สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับการเกิดโรคมะเร็งเต้านม (ปีงบประมาณ 2547), นนทบุรี: กรมควบคุมโรค; 2547.
 17. Clark T. Pesticides in perspective. J Environ Monit 2001; 3: 45-50.
 18. ศักดา ศรีนิเวศน์, ศุภลักษณ์ กลิ่นน่วม, อารีพันธุ์ อุปนิสากร, อรุณพล พยัคฆพันธ์, ลาวัลย์ จีระพงษ์. คู่มือการจัดการความปลอดภัยด้านสารเคมีสำหรับองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น สำนักพัฒนา-คุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร พ.ศ. 2550. กรุงเทพมหานคร: ห้างหุ้นส่วนจำกัด บี.บี. การพิมพ์และบรรจุภัณฑ์; 2550.
 19. ศูนย์ประสานงานอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน แผนจัดการระดับชาติเพื่อการปฏิบัติตามอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษตกค้างยาวนาน. กรมควบคุมมลพิษ 2550; หน้า 42-5.

