# ผลของซิลิเนียมต่อการการกระจายตัวของแคดเมียมในอวัยวะของแฮมสเตอร์

# Effect of selenium on distribution of cadmium in hamster organs

*วรรณา ศิริแสงตระกูล (Wanna Sirisangtrakul)**
*บังอร ศรีพานิชกุลชัย (Bungorn Sripanidkulchai)***

## บทคัดย่อ

ซิลิเนียมเป็นธาตุจำเป็นที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และยังพบว่าสามารถแย่งจับกับโปรตีนที่จับแคดเมียมได้ในหนูแรท งานวิจัยนี้จึงต้องการวัดผลของซิลิเนียมต่อการกระจายตัวของแคดเมียมในเลือด และอวัยวะต่าง ๆ คือ ตับ ไต และอัณฑะของแฮมสเตอร์เพศผู้โดยวัดโลหะทั้งสองชนิดด้วยวิธีอะตอมมิคแอบซอบชันสเปคโตโฟโตเมตรีที่ใช้กราไฟต์เฟอร์เนส และมีโมโนเบสิกแอมโมเนียฟอสเฟต ขนาด 25 μg/ml เป็นโมดิฟายเออร์ การตรวจวัดนี้สามารถวัดค่าแคดเมียมได้ต่ำสุดที่ 0.48 ppb การวัดนี้ให้ค่าสัมพันธ์กับความเข้มข้น ให้ค่า $r^2$ = 0.9839-0.9985 ความถูกต้องของการวัดสูงถึง 98.35±0.21% และค่า % $RSD_s$ เท่ากับ 3.19 และ 7.22 สำหรับ intra- และ inter-assay

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมด้วยวิธีข้างต้นในตับ ไต อัณฑะ และเลือดของแฮมสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียมทางช่องท้องความเข้มข้น 1-5 mg/kg และเลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 วัน พบว่า ค่าแคดเมียมในตับและเลือดสัมพันธ์กับขนาดแคดเมียมที่ได้รับ แต่ค่าแคดเมียมของไต และอัณฑะสูงขึ้นเมื่อให้แคดเมียมขนาด 1 และ 5 mg/kg การให้ซิลิเนียมขนาด 0.5 mg/kg ทางปาก 2 ครั้ง โดยครั้งแรกให้ก่อนได้รับแคดเมียมทางช่องท้อง 0.5 mg/kg และครั้งที่สองให้ในอีก 1 สัปดาห์ต่อมานั้น มีผลลดระดับแคดเมียมในตับ 2.2 เท่าได้ แต่กลับเพิ่มระดับแคดเมียมในอัณฑะประมาณ 3.5 เท่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีผลเพิ่มระดับแคดเมียมในไตเล็กน้อย ผลจากการวิจัยนี้ชี้แนะว่าซิลิเนียมเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวของแคดเมียมในอวัยวะต่าง ๆ ของแฮมสเตอร์

## Abstract

Selenium is an essential element that having anticancer effect. In rat, selenium showed competitive binding to cadmium-binding protein, metallothionine. This study is aimed to evaluate the effect of selenium on cadmium distribution in hamster organs. The determination of cadmium and selenium samples by atomic absorption spectrophotometer with graphite furnace was used. Monobasic ammonium phosplate at 25 μg/ml was used as an appropiate modifier in the detection system. The method validation gave limit of quantification, linearity regression and accuracy at 0.48 ppb, 0.9839-0.9985, and 98.35±0.21%, respectively. For precision determiantion, %RSDS were 3.19 and 7.22 for intra- and inter-assay, respectively. Then this method was used for measurement of cadmium in hamster tissues. Cadmium was given intraperitoneally, a single dose of 1, 2.5, 5 mg/kg to hamsters, 2 days later whole blood and organs were investigated for cadmium contents. Levels of liver and whole blood cadmium increased in proportion to the given doses. However, the levels of cadmium in kidney and testes were increased only at 1 and 5 mg/kg doses. Twice oral doses of 0.5 mg/kg selenium, the first dose at 2 hours prior to single intraperitoneally administration of 0.5 mg/kg cadmium and the second dose at 1 week later, caused 2.2 times decrement of hepatic cadmium level. In contrast, administration of selenium with cadmium significantly increased 3.5 times of testes cadmium level and slightly increased renal cadmium. The results suggest the interference of selenium on cadmium distribution of hamster organs.

**คำสำคัญ:** แคดเมียม ซิลิเนียม แฮมสเตอร์ อะตอมมิคแอบซอบชัน

**Keywords:** cadmium, selenium, hamster, atomic absorption

* *นักวิทยาศาสตร์ งานบริการทางวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

** *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเคมี และศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

## บทนำ

แคดเมียม เป็นโลหะที่พบได้ในธรรมชาติ และมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แก่ การเคลือบผิวหรือชุบโลหะ สีชนิดต่าง ๆ และการทำพลาสติก ตลอดจนใช้ในปุ๋ย (TEC.TCYE: Cadmium[home page], 2000; All information on cadmium [home page], 2000.) การปนเปื้อนสู่มนุษย์จึงเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา ทั้งจากสิ่งแวดล้อม และอาหารที่รับประทาน ตลอดจนการสูบบุหรี่ (Groten, Bladeren, 1994) ในประเทศไทยมีรายงานการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหารต่าง ๆ โดยเฉพาะในอาหารทะเล โดยพบในกุ้งกุลาดำ (Vongbuddhapitak, 1993; Pornsuttijanya and Jaengsawang, 1994) นอกจากนี้แคดเมียมในรูปอนินทรีย์ยังจัดเป็นสารก่อมะเร็งในคน (IARC, 1993) อวัยวะเป้าหมายที่เป็นผลจากพิษของแคดเมียม คือ ปอด ต่อมลูกหมาก หากได้รับจากสิ่งแวดล้อม และ ตับ ไต กระเพาะอาหาร หากได้รับทางปาก ส่วนในสัตว์แทะ ก็มีผลต่ออัณฑะได้ด้วย (Waalkes, 2000).

ซิลิเนียมเป็นธาตุจำเป็นที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส และมีรายงานว่าสามารถป้องกันพิษของแคดเมียมได้ในหนูแรทเพศผู้ (Early and Schell, 1981; Wlodarczyk et al., 1995) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ของการได้รับซิลิเนียมกับอุบัติการเกิดมะเร็งในคน (Hass, 2000) ซึ่งชี้แนะถึงฤทธิ์ต้านมะเร็งของซิลิเนียม Tapple and Vitjorn (1988) ได้เคยรายงานการแย่งกันจับโปรตีนชนิด metallothionein ของซิลิเนียมและแคดเมียมในตับ และไตของหนูแรท ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของซิลิเนียม ต่อการกระจายตัวของแคดเมียมในอวัยวะของแฮมสเตอร์ และยังได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดแคดเมียม โดยใช้อะตอมมิคแอบซอบชันสเปคโตโฟโตมิเตอร์ที่ใช้กราไฟต์เฟอร์เนสซึ่งมีความไวสูงเพื่อวัดปริมาณแคดเมียมในเนื้อเยื่อของแฮมสเตอร์ ผลการวิจัยนี้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ด้านบทบาทของซิลิเนียมที่อาจจะใช้ป้องกันมะเร็งหรือพิษที่เกิดจากแคดเมียมในแฮมสเตอร์ ซึ่งนิยมใช้เป็นรูปแบบสัตว์ทดลองเพื่อศึกษากลไกการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในคน

## วิธีการวิจัย

**1. สารเคมี** $HNO_3$(60% ultrapure), palladium, cadmium chloride monohydrate (extrapure) เป็นผลิตภัณฑ์ของ Merck, Germany; monobasic ammonium phosplate เป็นผลิตภัณฑ์ของ Baker Analyzed, USA; sodium selinite ($Na_2SeO_3$) เป็นผลิตภัณฑ์ของ Sigma, USA; standard cadmuim และ 60% $HNO_3$ (AR) เป็นผลิตภัณฑ์ของ BDH, England; tritonX-100 เป็นผลิตภัณฑ์ของ Fluka chemika; sodium chloride เป็นผลิตภัณฑ์ของ Carlo erba reagenti, Italy.

**2. การเตรียมสัตว์ทดลอง**

2.1 แฮมสเตอร์เพศผู้ชนิด Syrian Golden อายุ7-8 สัปดาห์ ได้จากหน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และตลอดการทดลองนี้ได้เลี้ยงในภาวะที่มี dark light cycle ที่ 25±5$^0$C และให้อาหารเม็ดและน้ำเป็น *ad libitum*

2.2 การทดสอบขนาดของแคดเมียม ใช้สัตว์ทดลอง 4 กลุ่ม ๆ ละ 7 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ให้ 0.9% โซเดียมคลอไรด์ทางช่องท้อง กลุ่มที่ 2,3 และ 4 ให้แคดเมียม (ในรูปแคดเมียมคลอไรด์ที่ละลายใน 0.9% โซเดียมคลอไรด์ ) ขนาด 1, 2.5 และ 5 mg/kg น้ำหนักตัวทางช่องท้อง จากนั้นตรวจดูอาการและพฤติกรรมของสัตว์ทดลองตลอดเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 2 วัน ทำการอดอาหารในตอนเช้าทำให้สัตว์ทดลองสลบลึกด้วย โซเดียมเบนโทบาร์บิตอล จากนั้นเปิดช่องท้อง รีบเก็บเลือด ตับ ไต และอัณฑะ ชั่งน้ำหนักอวัยวะ และแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว เก็บไว้ที่ -70$^0$C

2.3 การทดลองผลของซิลิเนียมต่อแคดเมียม ใช้สัตว์ทดลอง 4 กลุ่ม ๆ ละ 7 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมให้ 0.9% โซเดียมคลอไรด์ทางช่องท้อง กลุ่มที่ 2 ให้แคดเมียมขนาด 0.5 mg/kg น้ำหนักตัวทางช่องท้อง กลุ่มที่ 3 ให้ซิลิเนียม (ในรูปโซเดียมซิลิไนท์ละลายใน 0.9% โซเดียมคลอไรด์) ขนาด 0.5 mg/kg น้ำหนักตัว โดยการป้อนเข้าทางปากด้วย gastric

gavage tube กลุ่มที่ 4 ให้ซิลิเนียมเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 3 ต่อมาอีก 2 ชั่วโมงให้แคดเมียมขนาด 0.5 mg/kg ทางช่องท้อง ต่อมาอีก 1 สัปดาห์ให้ซิลิเนียมครั้งที่สองในขนาดเดิมกับสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 3 และ 4 เลี้ยงสัตว์ทดลองทุกกลุ่มไว้เมื่อครบ 2 สัปดาห์ โดยนับจากวันที่เริ่มทดลองให้นำสัตว์ทดลองมาทำให้สลบลึก เก็บตัวอย่างเลือดและอวัยวะเช่นเดียวกับข้อ 2.2

**3. การทดลองหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ระดับของแคดเมียมในตัวอย่าง**

การทดลองนี้ใช้เครื่องอะตอมมิคแอบซอบชัน (Spect AA-640z, Variance) ที่ใช้กระบวนการทำให้โลหะแตกตัวเป็นอะตอมอิสระด้วยความร้อนจากไฟฟ้า (Electrothermal หรือ Furnace) ที่ช่วงคลื่น 228.8 nm slit width 0.5 nm lamp curent 4.0 mA และทุกครั้งเครื่องจะวัดซ้ำ 3 ครั้ง ทุกตัวอย่างที่ทดสอบ

3.1 การทดสอบหาโมดิฟายเออร์ที่เหมาะสม โดยกำหนดทดสอบเปรียบเทียบโมดิฟายเออร์ 2 ชนิด คือ (1) โมโนเบสิค แอมโมเนีย ฟอสเฟต และ (2) พาลลาเดียม ซึ่งมีการแนะนำให้ใช้เพื่อเพิ่มความไวของการวัดแคดเมียม (Rothery, 1988) ดังนี้

3.1.1 การตรวจสอบผลของโมดิฟายเออร์ ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 228.8 nm ของสารมาตรฐานแคดเมียมความเข้มข้น 1-4 mg/l ในภาวะที่มีหรือไม่มีโมดิฟายเออร์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.1.2 ตรวจสอบผลของอุณหภูมิในภาวะที่มีโมดิฟายเออร์โดยทดสอบที่อุณหภูมิตั้งแต่ 250$^0$C ขึ้นไปในภาวะที่มีการเติมโมดิฟายเออร์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.2 การตรวจสอบความแม่นยำ และความถูกต้องของวิธีการวัดระดับของแคดเมียม เป็นการทดลองเพื่อให้แน่ใจว่าการตรวจวัดค่าแคดเมียมของสารมาตรฐานมีความเชื่อถือได้ ใช้สารมาตรฐานเริ่มต้นที่ 1000 ppm จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นตามต้องการ

3.2.1 การทดสอบความแม่นยำ (precision) เป็นการวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 2 ppb ซ้ำ 6 ครั้ง ภายในวัน (intra-assay) และ 3 วันติดต่อกัน (inter-assay) จากนั้นคำนวณค่า % relative standard deviation (% RSD = $\frac{SD \times 100}{\overline{X}}$ )

3.2.2 การทดสอบความถูกต้อง (accuracy) โดยการเติมสารละลายแคดเมียมที่ทราบปริมาณแน่นอน (1.5 ppb) ลงไปวัดซ้ำ 4 ครั้ง และคำนวณหา % recovery

3.2.3 การหาพิกัดต่ำสุดที่วัดได้ (limit of quantification, LOQ) และความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยการวัดสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ( 1-4 ppb) และคำนวณค่า LOQ โดยใช้สมการ y = 10Sb + Ya และทำ regression line correlation coefficient ($r^2$) (Sb = standard deviation ของ blank, Ya = intercept ใน regression line)

3.2.4 การหาความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่าง เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำกลั่นปราศจากไอออน และเนื่องจากตัวอย่างเนื้อเยื่อต้องทำให้ถูกย่อยละลายด้วยกรดไนตริกก่อนจึงเตรียมตัวอย่างโดยใช้ 20% กรดไนตริกเป็นตัวทำละลาย ทำการวัดระดับแคดเมียมในสารละลายมาตรฐานและในตัวอย่างจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นำมาวัดค่าแคดเมียมอีกครั้ง หาค่า% ความแตกต่างที่เกิดขึ้น

**4. การเตรียมตัวอย่างอวัยวะและเลือดเพื่อวัดค่าแคดเมียม**

นำเนื้อเยื่อของอวัยวะของสัตว์ทดลองที่แช่แข็งไว้ คือ ตับ ไต และอัณฑะ (น้ำหนักสดประมาณ 1-2 g) มาทำให้แห้งที่ 120$^0$C โดยชั่งหาน้ำหนักคงที่ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อย จากนั้นบดให้ละเอียดและนำมาย่อยใน 50% กรดไนตริก จนได้สารละลายใส จากนั้นนำมาละลายให้เจือจางใน 0.1 M กรดไนตริก นำไปวัดหาค่าแคดเมียม ส่วนตัวอย่างเลือดนั้นใช้จำนวน 750 µl มาเติม 50 µl ของ 2.5% triton X -100 จากนั้นเขย่าอย่างแรงให้เข้ากันและนำไปเติม 200 µl 0.1 M กรดไนตริก ปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสมาวัดหาค่าแคดเมียม โดยมี 25µg/ml ของโมโนเบสิค แอมโมเนียม ฟอสเฟต เป็นโมดิฟาย

เออร์ และแสดงค่าเป็น μg/g น้ำหนักแห้งของเนื้อเยื่อ อวัยวะ หรือ μg/ml ของเลือด

**5. การวิเคราะห์ทางสถิติ**

การหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มของข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้ ใช้ one-way analysis of variance (ANOVA) และใช้ค่า p ที่น้อยกว่า 0.05

## ผลการวิจัย

**1. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวัดค่าแคดเมียม**

1.1 การทดสอบหาโมดิฟายเออร์ที่ใช้

ผลจากการเปรียบเทียบโมดิฟายเออร์พบว่า ทั้งโมโนเบสิค แอมโมเนียมฟอสเฟต และพาลลาเดียม ให้ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามความเข้มข้นของสารมาตรฐานแคดเมียมในช่วงความเข้มข้น 1-4 mg/l (รูปที่ 1) และเมื่อปรับอุณหภูมิที่ใช้เผาเถ้าเพิ่มขึ้น พบว่าได้ค่าค่อนข้างคงที่อยู่ที่ประมาณ 250$^0$C โดยที่อุณหภูมิสูงเกิน 400$^0$C นั้น ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานลดต่ำลง แต่ในภาวะที่มีโมดิฟายเออร์จะยังให้ค่าคงที่ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 550$^0$C แต่ภาวะที่มีพาลลาเดียมที่อุณหภูมิต่ำนั้น ให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่าภาวะที่มีโมโนเบสิค แอมโมเนียมฟอสเฟต เป็นโมดิฟายเออร์ (รูปที่ 2) จึงเลือกใช้โมโนเบสิคแอมโมเนียมฟอสเฟตเป็นโมดิฟายเออร์ และพบว่าแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้นสูง (1-4 μm/l) และระดับความเข้มข้นต่ำ (0.2-1 μg/l) ในตัวอย่างที่วัดนั้นโมดิฟายเออร์ชนิดนี้ที่ความเข้มข้น 25 μg ให้ผลดีที่สุด (รูปที่ 1 และรูปที่ 3) ดังนั้นจึงเลือกใช้โมดิฟายเออร์ นี้ที่อุณหภูมิเผาเถ้า 250$^0$Cในการวัดค่าแคดเมียมทุกการทดลองต่อมา

1.2 การทำ validation

สำหรับการทดสอบหาความถูกต้องแม่นยำของการวัดค่าแคดเมียม พบว่าได้ค่า % RSD เท่ากับ 3.19 และ 7.22 สำหรับ intra-assay และ inter-assay ตามลำดับ ส่วนค่าความถูกต้องสูงถึง 98.35±0.21% ค่าพิกัดต่ำสุดของความเข้มข้นที่วัดได้เท่ากับ 0.48 ppb และให้ค่าแปรผันเป็นเส้นตรงที่ดี ค่า $r^2$ = 0.9839-0.9985 สำหรับความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมื่อทดลองเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไปมาก (3.15±1.47%)ในขณะที่สารละลายตัวอย่างซึ่งละลายในกรดไนตริกมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (0.07 ± 0.05%) (ตารางที่ 1) ดังนั้นจึงควรเตรียมสารละลายมาตรฐานใหม่ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

**2. ระดับแคดเมียมในตับ ไต อัณฑะ และเลือดของแฮมสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียม**

การให้แคดเมียมที่ความเข้มข้น 1, 2.5 และ 5 mg/kg โดยการฉีดเข้าช่องท้องสัตว์ทดลองนั้น ทำให้น้ำหนักของตับไม่เปลี่ยนแปลง แต่น้ำหนักของไต และอัณฑะของแฮมสเตอร์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ตารางที่ 2) และพบว่าระดับแคดเมียมในเลือดและในตับมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่ให้ส่วนในไตและอัณฑะ พบว่ามีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้นเฉพาะที่ความเข้มข้น 1 และ 5 mg/kg (ตารางที่ 3) การสังเกตอวัยวะต่างๆ ด้วยตาเปล่า พบว่า ตับ และไต ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ส่วนอัณฑะของกลุ่มทดลองมีการบวมและมีเลือดออกเป็นสีแดงคล้ำชัดเจน และยังพบว่ากลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 5 mg/kg เสียชีวิตไป 2 ตัว (28.57%) เมื่อวิเคราะห์ละเอียดหาความสัมพันธ์ของค่าแคดเมียมในอวัยวะต่างๆ กับในเลือด (correlation, $r^2$) พบว่าการกระจายตัวของแคดเมียมในตับสัมพันธ์กับในเลือดให้ค่า $r^2$ = 0.831 ส่วนของไต และอัณฑะ มีความสัมพันธ์กับค่าในเลือดต่ำกว่าให้ค่า $r^2$ = 0.708 และ 0.613ตามลำดับ

**3. ผลของซิลิเนียมต่อระดับแคดเมียมในอวัยวะของแฮมสเตอร์**

การให้ซิลิเนียมขนาดแรก 0.5 mg/kg แก่สัตว์ทดลองก่อนการได้รับแคดเมียม 0.5 mg/kg และต่อมาอีก 1 สัปดาห์ให้ซิลิเนียมขนาดที่สอง 0.5 mg/kg นั้นมีผลลดระดับของแคดเมียมในตับลงประมาณ 2.2 เท่า คือ จาก 21.247±2.844 เป็น 9.659±1.998 μg/g ส่วนในไตแม้จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่พบว่าค่าแคดเมียมในอัณฑะของสัตว์ทดลองที่

ได้รับซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียมกลับเพิ่มขึ้นมากกว่าการได้รับแคดเมียมอย่างเดียวถึง 3.5 เท่า คือ จาก 0.0186 ±0.0066 เป็น 0.0651±0.0269 μg/g ส่วนค่าแคดเมียมในเลือดของกลุ่มที่ได้รับซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม ลดต่ำลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 4)

## วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทดสอบวิธีการวัดแคดเมียมโดยเทคนิคอะตอมมิคแอบซอบชันที่ใช้ graphite furnace และมีโมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต (25 μg/ml) เป็นโมดิฟายเออร์ พบว่าวิธีนี้มีความไวสูง สามารถวัดค่าสารมาตรฐานแคดเมียมได้ต่ำถึง 0.48 ppb และยังแปรผันตามความเข้มข้น ซึ่งให้ค่าความสัมพันธ์สูง ($r^2$>0.9839) และความแม่นยำของการวัดสูง (98.35±0.21%) ต่อมาเมื่อทดสอบหาค่าความแปรปรวนของการวัด พบว่า % RSD ทั้งภายในวัน และระหว่างวันที่ทำการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คือ สูงสุดเพียง 7.22% ดังนั้นวิธีที่ใช้จึงเหมาะสมสำหรับใช้วัดค่าแคดเมียมในเนื้อเยื่อและอวัยวะของสิ่งมีชีวิตต่อไป

การทดลองวัดแคดเมียมในตับของแฮมสเตอร์ พบว่าการย่อยเนื้อเยื่อด้วยกรดไนตริกเข้มข้นที่อุณหภูมิ ประมาณ 120$^0$C นั้น มีความคงตัวเมื่อเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน พบมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าสารละลายมาตรฐานแคดเมียมมากถึง 45 เท่า (0.07±0.05 และ 3.15±1.47% ตามลำดับ) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ใช้วัดใหม่ทุกครั้ง ส่วนการวัดตัวอย่างจากอวัยวะหรือเลือดจะทำการย่อยตัวอย่างและเก็บไว้ที่ตู้เย็นจนครบทุกตัวอย่าง จึงวัดค่าแคดเมียมพร้อม ๆ กัน

ผลที่ได้จากการศึกษาขนาดความเป็นพิษของแคดเมียมต่อแฮมสเตอร์ และการสะสมในอวัยวะต่าง ๆ พบว่า แคดเมียมมีพิษต่ออัณฑะ และไต ของสัตว์ทดลองตามที่เคยมีรายงาน (Waalkes, 2000) คือมีการบวมและขนาดโตกว่าของกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะอัณฑะนั้นมีความไวต่อพิษของแคดเมียมเป็นอย่างมาก จนเกิดการคั่งของเลือดเห็นได้ชัดเจน แม้ว่าแคดเมียมขนาด 1-5 mg/kg ที่ใช้นี้ไม่ทำให้น้ำหนักตับเปลี่ยนแปลงจากกลุ่มควบคุม แต่กลับพบว่าระดับของแคดเมียมในตับสูงขึ้นตามขนาดที่ให้ และสัมพันธ์กับค่าในเลือด แต่สำหรับไต และอัณฑะนั้น กลับพบว่าที่ความเข้มข้น 2.5 mg/kg ระดับแคดเมียมลดลง และกลับสูงขึ้นมาอีกที่ 5 mg/kg แสดงถึงการมี threshold ของค่าแคดเมียมในอวัยวะเหล่านี้แตกต่างจากของตับชัดเจน อย่างไรก็ดีเมื่อเปรียบเทียบระดับการสะสมในอวัยวะต่าง ๆ แล้ว พบว่าตับยังคงเป็นอวัยวะที่มีการสะสมแคดเมียมสูงสุด มีรายงานในหนูแรทที่ได้รับแคดเมียมระดับต่ำในเวลาสั้น ๆ นั้น ระดับแคดเมียมในตับและไตไม่แตกต่างกัน แต่หากได้รับเป็นเวลานาน ระดับในไตจะสูงขึ้นกว่าในตับ และเมื่อได้รับขนาดสูงมาก จะทำให้ระดับในตับสูงกว่าในไต (Cahill et al, 1983;Lehman and Klaassen, 1986) ซึ่งการทดลองนี้เป็นการให้แคดเมียมแก่แฮมสเตอร์ในขนาดสูงในเวลาสั้น ๆ จึงให้ผลยืนยันรายงานดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบพิษของแคดเมียมต่ออัณฑะ เช่นเดียวกับที่เคยมีรายงานในหนูแรทมาแล้วว่าแคดเมียมทำให้เกิดมะเร็ง และมีความไวในการเป็นพิษต่อเพศผู้ (TEC.TCYE: cadmium[home page], 2000 ; Cadmium health effect, 2000)

การทดลองเพื่อศึกษาผลของซิลิเนียมต้านพิษแคดเมียมนั้น พบว่าซิลิเนียมสามารถลดระดับแคดเมียมได้ดีในตับ แต่ไม่มีผลต่อระดับแคดเมียมในไต และกลับพบว่าระดับแคดเมียมในอัณฑะกลับเพิ่มขึ้น เมื่อให้ซิลิเนียมร่วมด้วยแสดงถึงผลของซิลิเนียมต่อการกระจายตัวของแคดเมียมในอวัยวะต่าง ๆ ของแฮมสเตอร์ แม้จะเป็นการได้รับแคดเมียมขนาดต่ำ คือ 0.5 mg/kg เพียงครั้งเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากซิลิเนียมสามารถจับกับแอลบูมิน หรือ metallothionein ในตับทำให้ค่าแคดเมียมในตับลดลง และส่งผลให้แคดเมียมกระจายตัวไปยังอวัยวะต่าง ๆ รวมถึงไต และอัณฑะได้ จึงเป็นที่น่าสนใจจะได้ศึกษาถึงขนาดที่เหมาะสมของซิลิเนียมในการเร่งการกระจายตัวเพื่อลดการสะสมของแคดเมียมในอวัยวะต่าง ๆ ต่อไป เพื่อนำไปสู่แนวคิดการต้านพิษของแคดเมียมต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ หน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร และหน่วยบริการวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่อนุญาตให้ใช้สถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง และเครื่องมือสำหรับงานวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

**All information on cadmium** [home page]. [2000 May 31]. Available from URL: **http://www.cadmium.org/introduction.html**

**Cadmium: health effects and people at risk** [home page]. [2000 May 24]. Available from URL: http://www.nec.NSW.org.an/member/tec.html

Cahill AL, Nyberg D, Ehret CF. Tissue distribution of cadmium and metallothionein as a function of time of day and dosage. **Environ Res.** 1983; 31(1): 54-65.

Early JL Jr., Schell RC. Selenium antagenism of cadmium induced inhibition of hepatic drug metabolism in the male rats. **Toxicol Appl Pharmacol** 1981; 58:57-66.

Groten JP, Bladeren PJV. Cadmium bioavailability and health risk in food. **Trends Food Sci Tech** 1994; 5:50-55.

Haas EM. Selenium:health world online [home page]. [2000 May 5]. Available from URL: http://www.healthy.net/library/books/haas/minerals/Se.html.

IARC monograph 1993; 1-42:139-141.

Lehman LD, Klaassen CD. Dosage-dependent disposition of cadmium administered orally to rats. **Toxicol Appl Pharmacol** 1986; 84(1): 159-167.

Pornsuttijanya S, Jaengsawang J. Cadmium in black tiger prawn, *Penaeus monodon*, **J. Med Sci** 1994; 37(2):121-126.

Rothery E. Analytical method for graphite tube atomizers. Variance Australia, Victoria. Publication No. 88-1008 48-00, 1988, p.42.

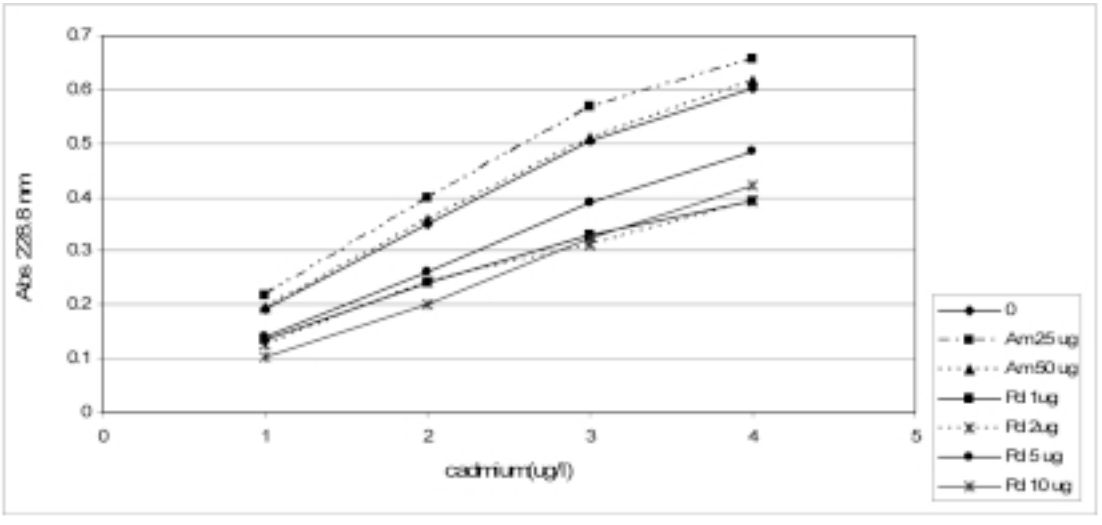
Tapple AL, Viljoen AJ. Interaction of selinium and cadmium with metallothionein-like and other cytosolic protein of rat kidney and liver. **J. Inorg Biochem** 1988; 34:277-290.

**TEC.TCYE:** Cadmium[home page] [2000 May 24]. Available from URL: http://www. necnsw.org.an/member/tec/project/tcye/tox/cadmium.html.

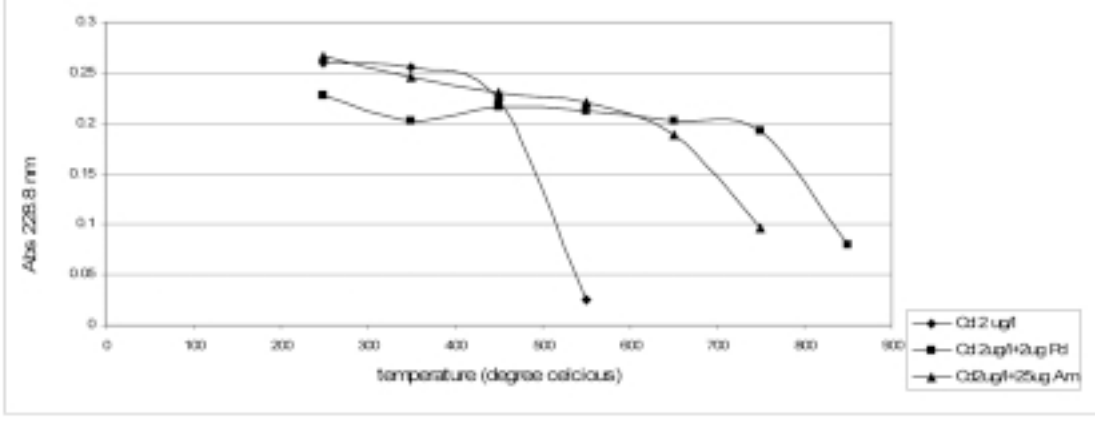
Vongbuddhapitak A. Contamination of Thai food during BE 2530-2534. **J. Med Sci** 1993; 36(1):19-30.

Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis in review. **J. Inorg Biochem** 2000; 79(1-4): 241-244.

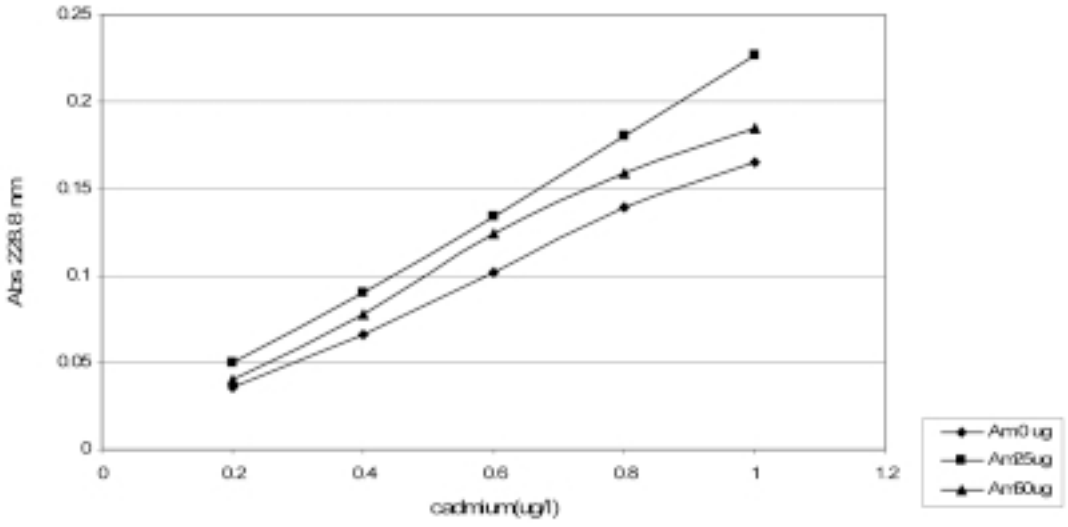
Wlodarczyk B, Biernacki B, Minta M, Kozaczynski W, Juszkiewicz T. Male golden hamster in male reprodictive toxicology testing: assessment of protective activity of selenium in acute cadnium intoxication. **Bull Environ Contam Toxicol** 1995; 54: 907-912.




**รูปที่ 1** ผลของโมดิฟายเออร์ทั้ง 2 ชนิดต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแคดเมียม เมื่อใช้อุณหภูมิเผาเถ้าที่ 250$^{0}$C Am = โมโนเบสิคแอมโมเนียมฟอสเฟต , Pd = พาลลาเดียม




**รูปที่ 2** ผลของโมดิฟายเออร์ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแคดเมียมที่อุณหภูมิ สำหรับการเผาเถ้าที่ 250$^{0}$C -850$^{0}$C Am= โมโนเบสิคแอมโมเนียมฟอสเฟต , Pd= พาลลาเดียม




**รูปที่ 3** ผลของการใช้โมโนเบสิคแอมโมเนียมฟอสเฟต(Am)เป็นโมดิฟายเออร์ ต่อการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแคดเมียมที่ความเข้มข้น 0.2-1 mg/l

**ตารางที่ 1** ค่าความแม่นยำ ความถูกต้อง พิกัดต่ำสุดที่วัดได้ และความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ค่าแคดเมียมและความคงตัวของสารมาตรฐานและตัวอย่าง

| Precision (%RSD, n=6) | | Accuracy % recovery (n=4) | LOQ (ppb) | Linearity ($r^2$, n= 4) | Stability (%change) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| intra-assay | inter-assay | | | | standard[a] | sample[b] |
| 3.19 | 7.22 | 98.35± 0.21 | 0.48 | 0.9839-0.9985 | 3.15±1.47 | 0.07±0.05 |

[a] เป็นค่าเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1-4 ppb (n=4)
[b] เป็นค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง (n=6)

**ตารางที่ 2** น้ำหนักสดของตับ ไต และอัณฑะของแฮมสเตอร์ ที่ได้รับแคดเมียมขนาดต่างๆ

| Dose (mg/kg) | Liver[1] | Kidney[1] | Testes[1] |
|---|---|---|---|
| Control | 4.291± 0.111(7) | 0.399± 0.012(7) | 0.514± 0.042(7) |
| 1 | 4.929± 0.256(7) | 0.540± 0.013[a](7) | 1.319± 0.090[a](7) |
| 2.5 | 4.489± 0.296(7) | 0.532± 0.013[a] (7) | 0.902± 0.065[a](7) |
| 5.0 | 4.594± 0.247(5) | 0.523± 0.025[a] (5) | 1.087± 0.135[a](5) |

[1] แสดงค่าเป็น mean ± SE(n) หน่วยเป็น g/100g ของน้ำหนักตัว
[a] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)

**ตารางที่ 3** ระดับของแคดเมียมในตับ ไต อัณฑะ และเลือดของแฮมสเตอร์ ที่ได้รับแคดเมียมขนาดต่าง ๆ

| Dose (mg/kg) | Hepatic[1] | Kidney[1] | Testes[1] | Whole blood[2] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 0.330± 0.024(7) | 0.0218± 0.004(7) | 0.0014± 0.0003(7) | 0± 0(7) |
| 1 | 75.280± 8.100[a](7) | 1.261± 0.312[a](7) | 0.0647± 0.0116[a](7) | 0.059± 0.004[a](7) |
| 2.5 | 207.899± 3.145 [a,b] (7) | 0.534± 0.286 [a] (7) | 0.0234± 0.003 [a,b] (7) | 0.076± 0.00 [a] (7) |
| 5.0 | 370.900± 50.307 [a,b,c] (5) | 2.257± 0.167 [a] (5) | 0.159± 0.016 [a,b,c](4) | 0.246± 0.043 [a,b,c](4) |

[1] แสดงค่าเป็น mean ± SE(n) หน่วยเป็น μg/g น้ำหนักแห้งของอวัยวะ
[2] แสดงค่าเป็น mean ± SE(n) หน่วยเป็น μg/ml ของเลือด
[a] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)
[b] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมความเข้มข้น 1 mg/kg ($p<0.05$)
[c] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมความเข้มข้น 2.5 mg/kg ($p<0.05$)

**ตารางที่ 4** ผลของซิลิเนียมต่อระดับของแคดเมียมในอวัยวะ และเลือดของแฮมสเตอร์

| Treatment | Hepatic[1] | Kidney[1] | Testes[1] | Whole blood[2] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 0.170± 0.025(7) | 0.0142± 0.0009(7) | 0.0001± 0.0000(7) | 0± 0(7) |
| Cd | 21.247± 2.844[a](7) | 0.3693± 0.0321[a](6) | 0.0186± 0.0066[a](6) | 0.012± 0.001(7) |
| Se | 0.172± 0.023 [b] (7) | 0.0175± 0.0016 [b] (7) | 0.0003± 0.000 [b] (7) | 0± 0 (7) |
| Cd+Se | 9.659± 1.998 [a,c] (7) | 0.3925± 0.0182 (5) | 0.0651± 0.0269 [a,b,c](5) | 0.010± 0.00(7) |

[1] แสดงค่าเป็น mean ± SE(n) หน่วยเป็น μg/g น้ำหนักแห้งของอวัยวะ
[2] แสดงค่าเป็น mean ± SE(n) หน่วยเป็น μg/ml ของเลือด
[a] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)
[b] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ($p<0.05$)
[c] แสดงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับซิลิเนียม ($p<0.05$)