ผลของรางจืดต่อการลดพิษพาราไธออนในหนูขาว

Effect of *Thunbergia Laurifolia* Linn. On Detoxication of Parathion in Rat

*สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์ (Skunrat Ussanawarong)**
*ธานี เทศศิริ (Thanee Thesiri)***

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพสารสกัดจากใบรางจืดในการลดพิษพาราไธออนในหนูขาว (Sprague-Dawley) โดยดูการเพิ่มขึ้นของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในกลุ่มทดลองเทียบกับกลุ่มควบคุม การทดลองนี้พบว่าหนูขาวที่เกิดพิษจากพาราไธออน (2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, i.p.) และป้อนด้วยสารสกัดจากใบรางจืด 1 กรัม/กิโลกรัม $\frac{1}{2}$ ครั้ง/วัน ครั้งแรกให้หลังจากฉีดพาราไธออน (i.p.) ในหนูขาว 5 นาที ครั้งที่สองให้ห่างจากครั้งแรก 8 ชั่วโมง ใน 1 วัน และ 3 วัน (กลุ่มทดลอง) พบว่าระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมที่เกิดพิษจากพาราไธออนและถูกป้อนด้วยน้ำ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากผลการศึกษานี้มีความเห็นว่าสารสกัดจากใบรางจืดสามารถช่วยลดพิษจากการเกิดพิษของพาราไธออนในหนูขาว

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of aqueous leaf extract of *Thunbergia Laurifolia* Linn. on detoxication in parathion-intoxicated rat (Sprague-Dawley), by observing the increase of plasma enzyme cholinesterase level in treated group compared to the control group. This experiment found that parathion intoxicated rat (2 mg/kg, i.p.) and fed with aqueous leaf extract of *Thunbergia Laurifolia* Linn., 1 gm/kg, 2 times/day, first time after injected parathion 5 minutes and the second 8 hours after, in 1 day and 3 days (treated group), found that plasma enzyme cholinesterase level increased significantly, different from the level found in the control group (parathion intoxicated rat and fed with water) ($p<0.05$). This result suggested that leaf extract of *Thunbergia Laurifolia* Linn. confers marked detoxication against parathion-intoxicated rats.

คำสำคัญ: พาราไธออน, โคลีนเอสเตอเรส, รางจืด

Keywords: Parathion, Cholinesterase, *Thunbergia Laurifolia* Linn.

* *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

** *นักวิทยาศาสตร์ งานบริการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทนำ

พาราไธออน (parathion) เป็นสารกำจัดศัตรูพืชอินทรีย์สังเคราะห์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชสูง เป็นที่นิยมนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง ในขณะเดียวกันย่อมทำให้เกิดพิษต่อมนุษย์และสัตว์สูงด้วยเช่นกัน ดังเช่นเคยมีรายงานว่าประเภทของสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดพิษเฉียบพลันมากที่สุดคือ สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (กระทรวงสาธารณสุข, 2536) การเกิดพิษของพาราไธออน จะยับยั้งเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterases, ChE) ในร่างกายทำให้เกิดการสะสมของ acetylcholine ที่ปลายประสาทและจะไปกระตุ้นที่ตัวรับ (receptors) เกิดอาการแสดงทางโคลีนเนอจิกที่มากเกิน (over-cholinergic activity) ทำให้มีอาการวิงเวียน ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย เหงื่อออกมาก หายใจลำบาก กล้ามเนื้อเป็นอัมพาต โดยเฉพาะกล้ามเนื้อที่ช่วยในการหายใจเป็นอัมพาต ทำให้ถึงตายได้ ปัจจุบันการรักษาผู้ที่เกิดพิษจากพาราไธออนจะให้ 2-PAM เพื่อช่วยกระตุ้น (reactivate) เอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสที่ถูกยับยั้งให้กลับมาอยู่ในรูปอิสระ ที่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติและให้ atropine เพื่อต้านฤทธิ์โคลีนเนอจิก (สกุลรัตน์, 2535) จะเห็นว่าการรักษาผู้ป่วยที่เกิดพิษจากพาราไธออนหรือกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีข้อจำกัด และอาจไม่ทันการณ์ เนื่องจากยาถอนพิษทั้งสองมีใช้เฉพาะในสถานพยาบาลเท่านั้นและราคาแพง ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ ถ้าหากมีสมุนไพรที่ใช้ถอนพิษพาธาไธออนซึ่งเกษตรกรสามารถปลูกไว้ใช้ตามครัวเรือนเพื่อใช้รักษาผู้ที่เกิดพิษก่อนพาไปพบแพทย์ จะทำให้สามารถช่วยชีวิตผู้ป่วยได้เพิ่มขึ้นและอาจพัฒนาเพื่อการค้า สามารถนำมาใช้แทนยาที่สั่งเข้าจากต่างประเทศ จะทำให้ประหยัดเศรษฐกิจของประเทศชาติทางหนึ่งด้วย

รางจืด (*Thunbergia Laurifolia* Linn) เป็นสมุนไพรและยาพื้นบ้าน เป็นที่รู้จักและนิยมใช้กันทั่วไปในแถบชนบทของประเทศไทย (พาณีและชัชวดี, 2523) นำมาใช้แก้พิษต่าง ๆ เช่น ยาพิษ พิษจากสัตว์ พิษจากสารกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้ได้มีการทดลองนำสารสกัดจากใบรางจืดมาลดพิษหนูขาว (wistar) ที่ถูกทำให้เกิดพิษจากพาราไธออน พบว่าสามารถลดเปอร์เซนต์การตายของหนูขาวลงได้ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) (พาณี และชัชวดี, 2523) การใช้สารสกัดจากใบรางจืดจะได้ผลดียิ่งขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับ atropine ซึ่งจะได้ผลดีเท่ากับการใช้ atropine ร่วมกับ 2-PAM จากข้อมูลนี้สารสกัดจากใบรางจืดน่าจะมีผลต่อระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสโดยทำให้ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสเพิ่มขึ้นต่างจากกลุ่มควบคุมที่เกิดพิษจากพาราไธออนและได้รับน้ำ คณะผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาเรื่องผลของรางจืดต่อการลดพิษพาราไธออนในหนูขาว โดยดูการเปลี่ยนแปลงของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดความสามารถในการลดพิษของสารสกัดจากใบรางจืด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์ทั่วไป

เพื่อศึกษาหาสมุนไพรที่ใช้ ลดพิษพาราไธออน

วัตถุประสงค์เฉพาะ

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนูที่เกิดพิษจากพาราไธออน

วิธีการวิจัย

สัตว์ทดลอง

หนูขาวพันธุ์ Sprague-Dawley ไม่จำกัดเพศ ในการทดลองแต่ละครั้งจะใช้จำนวนเท่า ๆ กัน น้ำหนักระหว่าง 150-200 กรัม ซึ่งเพาะพันธุ์และเลี้ยงในสิ่งแวดล้อมเดียวกันจากหน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การเตรียมน้ำสกัดใบรางจืด

ใช้ใบรางจืด (*Thunbergia Laurifolia* Linn.) สด ชนิดดอกสีม่วง แก่ปานกลางถึงแก่ นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปปั่นให้ละเอียด เติมน้ำลงไปเป็น 3 เท่าของปริมาตรใบรางจืดที่ปั่นได้ ใช้เวลาคั้นใบรางจืด 10 นาที นำไปกรองบนผ้ากรอง น้ำที่กรองได้ (filtrate) แบ่งใส่ภาชนะหลาย ๆ ใบ แล้วนำไประเหยแห้งในเครื่อง

speed vac ผงที่แห้งแล้วนำใส่ภาชนะที่มีฝาปิดแล้วนำไปแช่ในช่องแช่แข็งของตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C เพื่อเก็บไว้ใช้ตลอดการทดลอง เมื่อต้องการใช้ทดลองจะแบ่งออกมาใช้เป็นครั้ง ๆ ไป (สกัดได้ 3.96% w/w)

การเตรียมน้ำต้มใบรางจืด

ใช้ใบรางจืดสดชนิดดอกสีม่วง แก่ปานกลาง ถึงแก่ นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปใส่ใน beaker ขนาด 2,000 cc 200 กรัม เติมน้ำจนถึงขีด 2,000 นำไปต้มบน hot plate อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปกรองบนผ้าขาว น้ำที่กรองได้ (filtrate) แบ่งใส่ภาชนะแล้วนำไประเหยแห้งในเครื่อง speed vac ผงที่แห้งเก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดแล้วนำไปเก็บในตู้ดูดความชื้น (dessicator) เพื่อเก็บไว้ใช้ตลอดการทดลอง (สกัดได้ 3.96% w/w)

การทดลอง

1. การหาค่าปกติของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE)

หนูขาว (Sprague-Dawley) เพศผู้และเพศเมียชนิดละ 29 ตัว นำมาเจาะเลือดจากปลายหาง เก็บเลือด 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งให้เลือดแข็งตัว 30 นาที นำไป centrifuge 5,000 r.p.m. ที่อุณหภูมิ 4°C 20 นาที แยกส่วนที่เป็นพลาสม่า (ระวังอย่าให้เม็ดเลือดแดงแตก สีของเม็ดเลือดแดงจะรบกวนการวิเคราะห์และค่าที่วัดได้จะสูงกว่าปกติ) เพื่อนำไปวิเคราะห์ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส ตัวอย่างแต่ละอันจะวิเคราะห์ 2 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย และทุกตัวอย่างทำการวิเคราะห์ให้เสร็จในวันเดียวกัน ใช้สารเคมีที่เตรียมไว้ชุดเดียวกัน

2. ผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส

หนูขาวเพศผู้ 6 ตัวเพศเมีย 9 ตัว วันแรกนำมาเจาะเลือดจากปลายหางและแยกพลาสม่า เช่นเดียวกับข้อ 1 วันที่สองป้อน (feed) สารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/กิโลกรัม/5 มิลลิลิตร เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) วันที่ 3 เจาะเลือดจากหางแยกพลาสม่าและป้อนสารสกัดจากใบรางจืด 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น วันที่ 4 ป้อนสารสกัดจากใบรางจืด 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น วันที่ 5 เจาะเลือดจากหางแยกพลาสม่า พลาสม่าที่แยกได้ทั้งหมดนำไปวัดระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส เป็นค่าเอ็นไซม์ก่อนให้สารสกัดจากใบรางจืด, หลังให้สารสกัดจากใบรางจืด 1 วัน และ 3 วัน

พลาสม่าส่วนที่แยกไว้ก่อนที่ยังไม่วิเคราะห์ให้เก็บไว้ในตู้เย็นช่องเย็นปกติ อุณหภูมิประมาณ 10°C (ไม่ต้องใส่ในช่องแช่แข็ง) เมื่อต้องการวิเคราะห์ให้นำมาวิเคราะห์พร้อมกันให้เสร็จในวันเดียวกัน และใช้สารเคมีที่เตรียมไว้ชุดเดียวกัน

3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและน้ำที่อุณหภูมิห้องในการลดพิษพาราไธออนในหนูขาวเพศผู้

หนูขาวเพศผู้แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว, 9 ตัว, และ 8 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและน้ำที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ หนูทั้ง 3 กลุ่มวันแรกจะถูกเจาะเลือดและแยกพลาสม่าเช่นเดียวกับข้อ 1 วันที่สองจะถูกทำให้เกิดพิษด้วยพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง (i.p) หลังฉีดพาราไธออน 5 นาทีกลุ่มแรกป้อนด้วยน้ำ 5 มิลลิลิตร/กิโลกรัม กลุ่มที่สองและสามป้อนด้วยสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำเย็น 1 กรัม/5 มิลลิลิตร/กิโลกรัม เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) วันที่ 3 เจาะเลือดแยกพลาสม่าหนูทั้ง 3 กลุ่ม นำพลาสม่ามาวิเคราะห์ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสก่อนการทดลองและหลังการทดลอง 1 วัน เปรียบเทียบผลของสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและน้ำเย็นเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ป้อนด้วยน้ำ

4. ผลของสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำร้อนใน 1 วันและ 3 วัน ต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนูขาวที่เกิดพิษจากพาราไธออน หนูขาวเพศผู้ 16 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง เพศเมีย 16 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หนูทุกกลุ่มวันแรกถูกเจาะเลือดแยกพลาสม่าเช่นเดียวกับข้อ 1 เก็บไว้วิเคราะห์ ChE ก่อนการทดลอง วันที่สองหนูทุกกลุ่มถูกทำให้เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง

(i.p) หลังฉีด 5 นาที หนูกลุ่มควบคุมถูกป้อนด้วยน้ำ 5 มิลลิลิตร/กิโลกรัม เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) ติดกัน 3 วัน หนูกลุ่มทดลองถูกป้อนด้วยสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/5 มิลลิลิตร/กิโลกรัม เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) ติดกัน 3 วัน (วันที่ 2-4) เจาะเลือดหนูทุกกลุ่มในวันที่ 3 และ 5 ของการทดลอง แยกพลาสม่า เก็บพลาสม่าไว้วิเคราะห์หา ChE หลังได้รับรางจืด 1 วัน และ 3 วัน

การวิเคราะห์หาระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE)

เครื่องมือและอุปกรณ์

PU 8630 UV/VIS/NIR Kinetics Spectrophotometer Philips

สารเคมี

1. Folidol-E 605 M 50, 50% w/v EC BAYER (Methyl parathion) comercial grade
2. Heparin Leo 5,000 i.u/u.i./ml
3. 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (3,3'6) Fluka
4. Acetylthiocholine iodide (AT) Fluka
5. Na_2HPO_4 (Disodium hydrogen phosphat) (AR) Fluka
6. KH_2PO_4 (Potassium dihydrogen phosphat) (AR) Fluka
7. Absolute Ethanol (AR) Merck
8. 70% Ethanol วิทยาศรม

การวิเคราะห์ระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE) (วิธีของ Ellman) (สกุลรัตน์, 2536)

หมายเหตุ 1 ตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์ 2 ครั้งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย การทดลองในแต่ละชุดจะวิเคราะห์ให้เสร็จภายในวันเดียวกัน สารเคมีจะเตรียมให้พอวิเคราะห์ ในแต่ละชุดจะใช้สารเคมีชุดเดียวกัน พลาสม่าที่เตรียมไว้ เพื่อจะรอวิเคราะห์พร้อมกับพลาสม่าวันต่อ ๆ ไป ให้เก็บในตู้เย็นช่องธรรมดาอุณหภูมิประมาณ 10°C เมื่อต้องการจะวิเคราะห์จะต้องนำพลาสม่าออกจากตู้เย็น ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าพลาสม่ามีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้องจึงนำไปวิเคราะห์ สารเคมีอื่น ๆ ที่เตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์ให้เก็บและเตรียมเช่นเดียวกับพลาสม่า

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองจะเสนอเป็นค่า mean ± SD การศึกษาที่มีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม การวิเคราะห์จะใช้ T-test การศึกษาที่มีการเปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกัน การวิเคราะห์จะใช้ Paired-T test กำหนดค่าความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ P value <0.05

ผลการวิจัย

ค่าปกติของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนูขาว (Sprague-Dawley) ในเพศผู้อยู่ระหว่าง 315.9-713.70 mU/ml ค่า mean เท่ากับ 446.99±413.87 mU/ml ในเพศเมียอยู่ระหว่าง 573.30-2,000.70 mU/ml ค่า mean เท่ากับ 1123.6±1199.94 mU/ml ในเพศเมียระดับเอ็นไซม์ผันแปรและมีระดับสูงกว่าเพศผู้มาก เมื่อไม่แยกเพศค่าปกติของเอ็นไซม์จะอยู่ระหว่าง 315.9-2,000 mU/ml ดังตารางที่ 1

ผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE) ในหนูขาว เพศผู้และเพศเมียหลังให้สารสกัดจากใบรางจืดสามวัน วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) พบว่าหลังให้สารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน ระดับเอ็นไซม์มีแนวโน้มลดต่ำลงผันแปรตามจำนวนวันที่ให้ เช่น หลังให้ 3 วัน จะต่ำกว่าหลังให้ 1 วัน แต่ในภาพรวมแล้วยังไม่แตกต่างจากค่าเอ็นไซม์ก่อนให้สารสกัดจากใบรางจืด พบเฉพาะในเพศผู้ หลังให้สารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสต่ำกว่าระดับระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสก่อนให้สารสกัดจากใบรางจืด (P± 0.01) ดังตารางที่ 2

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและน้ำที่อุณหภูมิห้องในการลดพิษพาราไธออนในหนูขาวเพศผู้ พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับสาร

สกัดจากใบรางจืด 1 วัน เช้า-เย็น (ห่างกัน 8 ชั่วโมง) ทั้งสองกลุ่ม ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่เกิดพิษจากพาราไธออน และได้รับน้ำ 1 วัน เช้า-เย็น ($p<0.05$) ในขณะที่ระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสไม่ต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ($p>0.05$) ดังตารางที่ 3

ผลของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนใน 1 วันและ 3 วัน ต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนูขาวที่เกิดพิษจากพาราไธออน ผลการทดลองในหนูเพศผู้และเพศเมียจะแตกต่างกันเล็กน้อย คือ ในหนูเพศเมียที่เกิดพิษจากพาราไธออน หลังได้รับสารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน ระดับ เอ็นไซม์เพิ่มขึ้นมากกว่าหลังได้รับสารสกัดจากใบรางจืด 1 วัน และไม่ต่างจากระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p>0.05$) ในขณะที่หนูเพศผู้หลังได้รับสารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน ระดับเอ็นไซม์เพิ่มขึ้นมากกว่าหลังได้รับสารสกัดจากใบรางจืด 1 วัน แต่ยังเพิ่มขึ้นไม่ถึงระดับก่อนการทดลอง ($p<0.01$) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่าต่างระหว่าง ChE หลังได้รับน้ำ 3 วัน กับ ChE ก่อนการทดลองในหนูเพศผู้กลุ่มควบคุม น้อยกว่า ค่าต่างระหว่าง ChE ในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน กับ ChE ก่อนการทดลอง ($p<0.01$) ในเพศเมียหลังได้รับน้ำ 3 วัน ระดับเอ็นไซม์สูงกว่าหลังได้รับน้ำ 1 วัน แต่ยังต่ำกว่าระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p<0.01$) หนูเพศผู้ หลังได้รับน้ำ 3 วัน ระดับเอ็นไซม์ไม่ต่างจากหลังได้รับน้ำ 1 วัน คือระดับเอ็นไซม์หลังได้รับน้ำ 3 วันไม่เพิ่มขึ้นจากระดับเอ็นไซม์หลังได้รับน้ำ 1 วัน และยังต่ำกว่าระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p<0.01$) ดังตารางที่ 4 และรูปที่ 1 และ 2

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาพบว่า ค่าปกติของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนูขาว (Sprague-Dawley) ผันแปรในช่วงกว้าง คือ 315.9-2000.7 mU/ml หนูเพศผู้อยู่ระหว่าง 315.9-713.70 mU/ml หนูเพศเมียอยู่ระหว่าง 573.3-2000.7 mU/ml ดังนั้นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสควรเปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกัน เช่น การศึกษาผลของสารสกัดจากใบรางจืดต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส จะเปรียบเทียบเอ็นไซม์ก่อนการทดลองและหลังการทดลองภายในหนูกลุ่มเดียวกัน ซึ่งพบว่าในหนูปกติเมื่อให้สารสกัดจากใบรางจืด ระดับเอ็นไซม์มีแนวโน้มลดลงแปรผันตามจำนวนวันที่ให้ โดยภาพรวมแล้วหลังให้สารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน ระดับเอ็นไซม์ยังไม่ต่ำกว่าระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p>0.05$) จากข้อมูลนี้ คนปกติที่จะนำรางจืดไปบริโภคเพื่อลดสารพิษในชีวิตประจำวันจะต้องระวัง เพราะการบริโภคเป็นประจำทุกวัน อาจจะทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยเนื่องจากระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสต่ำกว่าปกติได้

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและน้ำที่อุณหภูมิห้องในการลดพิษพาราไธออน โดยดูการเปลี่ยนแปลงของระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส การศึกษาต้องศึกษาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยมีการควบคุมภายในกลุ่ม เลือกศึกษาในหนูเพศผู้ หนูถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มได้รับสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน และสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง หลังทดลอง 1 วัน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากใบรางจืดทั้ง 2 กลุ่ม ระดับเอ็นไซม์โอลีนเอสเตอเรสสูงขึ้นมากกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างของเอ็นไซม์ในหนูที่ได้รับสารสกัดจากใบรางจืดทั้งสองกลุ่ม ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าจะเลือกใช้สารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน หรือสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องในการทดลองได้ทั้งสองชนิดซึ่งมีประสิทธิภาพเท่ากัน การศึกษานี้ทำให้หนูเกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เนื่องจากไม่ต้องการให้หนูตาย (Subacute toxic) โดยให้ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสลดต่ำลงกว่าค่าปกติเท่านั้น [พาราไธออน LD50 = 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Dreisbach, 1980)] การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบรางจืดจะช่วยลดพิษในหนูที่เกิดพิษจากพาราไธออนได้โดยมีผลให้ระดับเอ็นไซม์สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ข้อมูลนี้ช่วย

สนับสนุนการศึกษาที่ผ่าน ๆ มาว่าสารสกัดจากใบรางจืดสามารถลดเปอร์เซนต์การตายของหนูที่เกิดพิษจากพาราไธออนได้ (พาณี และชัชวดี, 2523)

การศึกษาในตารางที่ 4 แสดงผลที่สนับสนุนสารสกัดจากใบรางจืดในการลดพิษหนูขาวที่เกิดพิษจากพาราไธออน เลือกใช้สารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนในการลดพิษทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย โดยให้สารสกัดจากใบรางจืด 3 วัน เปรียบเทียบผลใน 1 วัน และ 3 วัน เทียบกับกลุ่มควบคุมที่เกิดพิษจากพาราไธออนแล้วได้รับน้ำ 3 วัน พบว่าระดับเอ็นไซม์เพิ่มขึ้นแปรผันตามจำนวนวันที่ได้รับสารสกัดจากใบรางจืด โดยเฉพาะในกลุ่มหนูเพศเมีย หลังวันที่ 3 ระดับเอ็นไซม์ขึ้นมาไม่ต่างจากระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p>0.05$) แม้ว่าระดับเอ็นไซม์หลังวันที่ 3 ในหนูเพศผู้สูงขึ้นแต่ยังต่ำกว่าระดับเอ็นไซม์ก่อนการทดลอง ($p<0.01$) อย่างไรก็ตามระดับเอ็นไซม์ในหนูเพศผู้หลังได้รับสารสกัดใบรางจืด 3 วัน เพิ่มขึ้นมากกว่าหนูเพศผู้กลุ่มควบคุมหลังได้รับน้ำ 3 วัน ($p<0.01$)

จากการศึกษานี้มีความเห็นว่าสารสกัดจากใบรางจืดสามารถลดพิษหนูขาวที่เกิดพิษจากพาราไธออนโดยมีผลทำให้ระดับเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

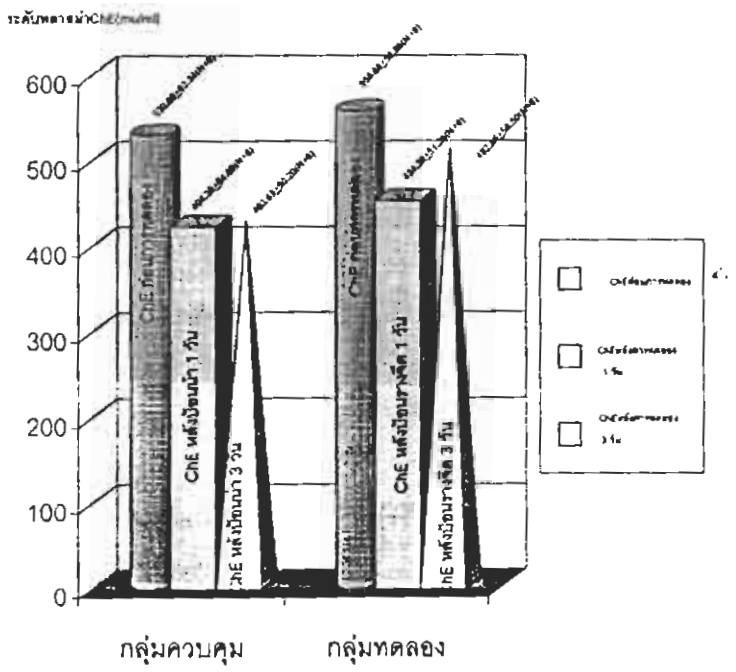
กระทรวงสาธารณสุข กองระบาดวิทยา. 2536. โรคจากการประกอบอาชีพ สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค. กรุงเทพฯ: สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข.

พาณี เดชะเสนและชัชวดี ทองทาบ. 2523. การทดลองใช้รางจืดแก้พิษยาฆ่าแมลง เชียงใหม่เวชสาร 19, 3 (ก.ค.): 105-114.

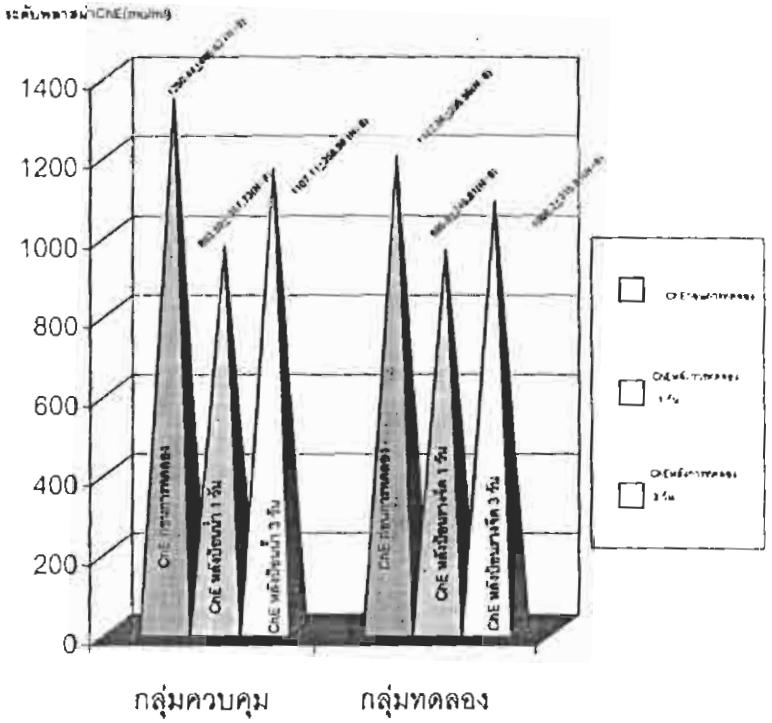
สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์. 2535. สารปราบศัตรูพืช. ขอนแก่น: ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์. 2536. คู่มือปฏิบัติการพิษวิทยา 2. ขอนแก่น: ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

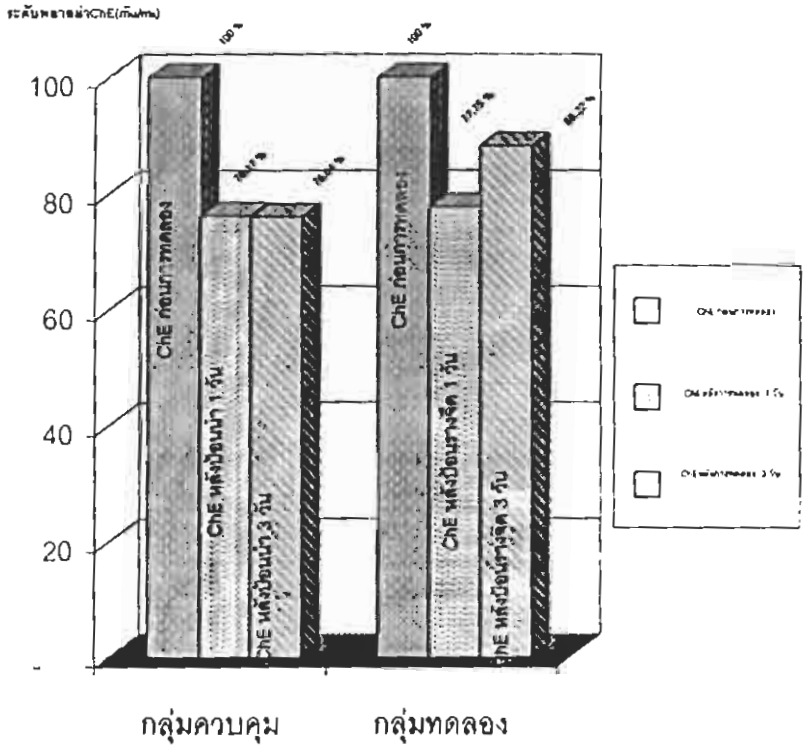
Dreisbach, Robert H. 1980. **Handbook of Poisoning.** Singapore : Maruzen Asia PTE.



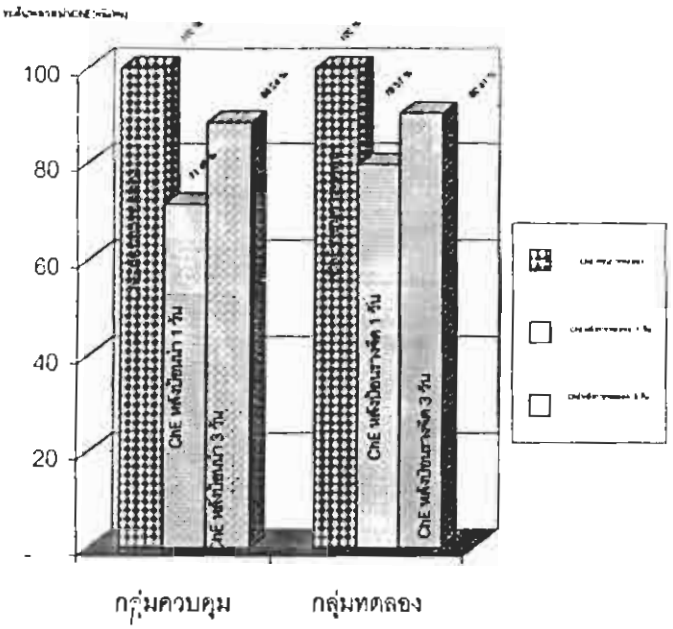
รูปที่ 1 แสดงระดับพลาสม่า ChE ในหนูเพศผู้ที่เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (i.p.) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (ป้อนน้ำ) และกลุ่มทดลอง (ป้อนสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น) ใน 1 วัน และ 3 วัน



รูปที่ 2 แสดงระดับพลาสม่า ChE ในหนูเพศเมียที่เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกัม (i.p.) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (ป้อนน้ำ) และกลุ่มทดลอง (ป้อนสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น) ใน 1 วัน และ 3 วัน



รูปที่ 3 แสดงระดับพลาสม่า ChE ในหนูเพศผู้ที่เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกัม (i.p.) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (ป้อนน้ำ) และกลุ่มทดลอง (ป้อนสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น) ใน 1 วัน และ 3 วัน เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์



รูปที่ 4 แสดงระดับพลาสม่า ChE ในหนูเพศเมียที่เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกัม (i.p.) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (บอนน้ำ) และกลุ่มทดลอง (ป้อนสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น) ใน 1 วัน และ 3 วัน เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์

ตารางที่ 1 ค่าปกติของระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในหนู Rat (Sprague-Dawley) เพศผู้และเพศเมีย

หนูเพศผู้				หนูเพศเมีย			
No.	ค่าปกติ	No.	ค่าปกติ	No.	ค่าปกติ	No.	ค่าปกติ
1	315.9	16	444.6	1	573.3	16	1111.5
2	327.6	17	444.6	2	573.3	17	1123.2
3	339.3	18	444.6	3	631.8	18	1240.2
4	351	19	456.3	4	655.2	19	1251.9
5	351	20	468	5	760.2	20	1368.9
6	351	21	491.4	6	772.2	21	1404
7	351	22	503.1	7	807.3	22	1404
8	362.7	23	514.8	8	889.2	23	1415.7
9	386.1	24	514.8	9	924.3	24	1427.4
10	397.8	25	538.2	10	936	25	1450.8
11	409.5	26	549.9	11	936	26	1497.6
12	421.2	27	561.6	12	994.5	27	1579.5
13	421.2	28	666.9	13	1006.2	28	1801.8
14	432	29	713.7	14	1006.2	29	2000.7
15	432.9			15	1041.3		
$\bar{X}$ = 446.99 ± 413.87				$\bar{X}$ = 1123.6 ± 1199.94			

ตารางที่ 2 ผลของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE) ในหนูขาว (Sprague-Dawley) เพศผู้และเพศเมีย

ChE หนูเพศผู้				ChE หนูเพศเมีย			
No.	ก่อนให้รางจืด	ให้รางจืด* 1 วัน	ให้รางจืด** 3 วัน	No.	ก่อนให้รางจืด	ให้รางจืด* 1 วัน	ให้รางจืดΔ 3 วัน
1	631.80	678.60	468	1	631.8	608.4	596.7
2	444.60	386.10	409.50	2	924.3	865.8	982.8
3	444.60	444.60	397.80	3	655.2	690.3	655.2
4	713.70	666.90	620.10	4	1111.5	1017.9	959.4
5	456.30	432.90	397.80	5	760.5	830.7	713.7
6	409.50	351	351	6	1579.5	1193.4	936
7				7	1404	1064.7	1146.6
8				8	1801.8	1602.9	1345.5
9				9	936	807.3	1287
	$\bar{X}$ = 516.75 ± 113.72	$\bar{X}$ = 493.35 ± 130.53	$\bar{X}$ = 440.70 ± 87.21		$\bar{X}$ = 1089.4 ± 418.93	$\bar{X}$ = 964.60 ± 301.49	$\bar{X}$ = 958.1 ± 268.56

* ระดับพลาสม่า ChE หลังให้สารสกัดใบรางจืด 1 วัน ในหนูเพศผู้และเพศเมีย ไม่ต่างจากระดับพลาสม่า ChE ก่อนให้สารสกัดใบรางจืด ($p>0.05$)

** ระดับพลาสม่า ChE หลังให้สารสกัดใบรางจืด 3 วัน ในหนูเพศผู้ต่ำกว่าระดับพลาสม่า ChE ก่อนให้สารสกัดใบรางจืด ($p<0.01$)

Δ ระดับพลาสม่า ChE หลังให้สารสกัดใบรางจืด 3 วัน ในหนูเพศเมีย ไม่ต่างจากระดับ พลาสม่า ChE ก่อนให้สารสกัดใบรางจืด ($p>0.05$)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง [ป้อนหนู (feed) 1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น 1 วัน] ต่อระดับพลาสม่าเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE) ในหนูขาวเพศผู้ที่ทำให้เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ip) เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ทำให้เกิดพิษจากพาราไธออนและถูกป้อนด้วยน้ำ

	ChE กลุ่มควบคุม (ให้น้ำ)		ChE กลุ่มให้สารสกัดใบ*(รางจืดด้วยน้ำร้อน)		ChE กลุ่มให้สารสกัดใบรางจืด*Δ ด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	
No.	ChE ก่อนทดลอง	ChE หลังทดลอง	ChE ก่อนทดลอง	ChE หลังทดลอง	ChE ก่อนทดลอง	ChE หลังทดลอง
1	456.3	304.2	561.6	538.2	421.2	386.1
2	386.1	362.7	339.3	432.9	432.9	362.7
3	468	351	549.9	479.7	666.9	432.9
4	444.6	397.8	315.9	304.2	362.7	386.1
5	503.1	292.5	538.2	479.7	386.1	327.6
6	514.8	421.2	327.6	315.9	514.8	409.5
7	421.2	327.6	397.8	386.2	421.2	421.2
8	444.6	292.5	351	351	444.6	479.7
9	351	292.5	351	339		
10	491.4	421.2				
	$\bar{X}$ = 448.11 ± 48.82	$\bar{X}$ = 346.32 ± 52.69	$\bar{X}$ = 414.70 ± 98.06	$\bar{X}$ = 402.97 ± 83.19	$\bar{X}$ = 456.3 ± 89.87	$\bar{X}$ = 400.73 ± 19.07

Δ ระดับพลาสม่า ChE ในหนูขาว กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบรางจืดสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ 1 วัน ($P < 0.05$)

* ระดับพลาสม่า ChE ไม่ต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดใบรางจืดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน ($p>0.05$)

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดจากใบรางจืดด้วยน้ำร้อน (1 กรัม/กิโลกรัม เช้า-เย็น) ใน 1 วัน และ 3 วัน ต่อระดับพลาสม่าโคลีนเอสเตอเรส (ChE) ในหนู Rat ที่ถูกทำให้เกิดพิษจากพาราไธออน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

	หนูเพศผู้						หนูเพศเมีย					
	ChE กลุ่มควบคุม			ChE กลุ่มได้รับสารสกัดใบรางจืด			ChE กลุ่มควบคุม			ChE กลุ่มได้รับสารสกัดใบรางจืด		
	ก่อนทดลอง	น้ำ 1 วัน*	น้ำ 3 วัน*Δ	ก่อนทดลอง	รางจืด 1 วัน*	รางจืด 3 วัน*Δ	ก่อนทดลอง	น้ำ 1 วัน*	น้ำ 3 วัน*	ก่อนทดลอง	รางจืด 1 วัน*	รางจืด 3 วัน**
1	479.70	339.30	327.60	503.10	479.70	585	1427.40	994.50	1333.80	1123.20	1076.40	1415.70
2	514.80	421.20	421.20	538.20	479.70	456.30	1497.60	865.80	1017.90	573.30	486	538.20
3	438.75	304.20	374.70	491.40	409.50	444.60	1006.20	678.60	1134.90	936	549.90	725.40
4	549.90	339.30	374.70	538.20	351	444.60	1006.20	760.50	1017.90	1415.70	982.80	947.70
5	579.15	555.75	503.10	678.60	503.10	573.30	2000.70	1602.90	1626.90	1450.80	1193.40	1439.10
6	532.35	374.40	397.80	585	444.60	514.80	772.20	503.10	585	994.50	877.50	889.20
7	508.95	409.50	374.40	585	397.80	479.70	889.20	585	690.30	1368.90	994.50	1158.30
8	643.50	491.4	456.30	549.90	409.50	444.60	1404	1158.30	1450.80	1041.30	924.30	936
	$\bar{X}$ = 530.89 ± 62.34	$\bar{X}$ = 404.38 ± 84.69	$\bar{X}$ = 403.69 ± 55.20	$\bar{X}$ = 558.68 ± 58.86	$\bar{X}$ = 434.36 ± 51.38	$\bar{X}$ = 492.86 ± 58.50	$\bar{X}$=1250.44 ± 406.62	$\bar{X}$ = 893.59 ± 357.73	$\bar{X}$=1107.11 ± 358.98	$\bar{X}$=1112.96 ± 295.96	$\bar{X}$ = 885.6 ± 246.81	$\bar{X}$ = 1006.2 ± 315.81

* ระดับพลาสม่า ChE หลังทดลองต่ำกว่าระดับพลาสม่า ChE ก่อนการทดลอง ($p<0.01$)

** ระดับพลาสม่า ChE หลังให้สารสกัดใบรางจืด 3 วันในเพศเมียไม่ต่างจากระดับพลาสม่า ChE ก่อนการทดลอง ($p>0.05$)

Δ ค่าต่างระหว่าง ChE หลังให้สารสกัดใบรางจืด 3 วัน กับ ChE ก่อนการทดลองในเพศผู้เพิ่มขึ้นมากกว่าค่าต่างระหว่าง ChE ในหนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับน้ำ 3 วันกับ ChE ก่อนการทดลอง ($p<0.01$)