



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการการติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยง
ต่อสุขภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งอาศัยอยู่ใน
บริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด

โดย ดารุ่ง กังวานพงศ์ และวรภา หีบจันทร์ตรี

กุมภาพันธ์ 2546

Scan

S



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการการติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยง
ต่อสุขภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งอาศัยอยู่ใน
บริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด

โดย ดาวรุ่ง กังวานพงศ์ และวรา หีบจันทร์ตรี

กุมภาพันธ์ 2546

Scan 2

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของ
ประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงสูง
ต่อการเป็นมะเร็งปอด

Biomonitoring Study and Health Risk Assessment of Populations
Residing in Chiang Mai with High Risk of Lung Cancer

คณะผู้วิจัย

1. รศ.ดร.ดาวรุ่ง กังวานพงศ์
2. นางสาวรภา หีบจันทร์ตรี

สังกัด

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ BGI/40/2543

ชื่อโครงการ การติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด

ชื่อนักวิจัย รศ. ดร. ดาวรุ่ง กังวานพงศ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
scidkngw@chiangmai.ac.th

นางสาวรรภา หีบจันทร์ตรี
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
worapah@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ 2 ปี

การติดตามผลทางชีวภาพและประเมินความเสี่ยงในประชากรจากอำเภอสารภีซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดมะเร็งปอด โดยการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยวิธี comet assay (single cell gel electrophoresis) ในสภาวะเป็นด่างสูง เปรียบเทียบกับประชากรจากอำเภอจอมทองซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเสี่ยงต่ำ จากผลการวิเคราะห์พบว่าประชากรอำเภอสารภีมีจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติและมีจำนวนโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ น้อยกว่าประชากรอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีจำนวนไมโครนิวเคลียสที่นับจาก 1,000 binucleated cells และจำนวนเซลล์ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ มากกว่าประชากรอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกัน ปริมาณการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ เมื่อวัด tail length และ tail migration จากตัวอย่างเลือด peripheral blood ของประชากรอำเภอสารภีก็มากกว่าของประชากรอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อวิเคราะห์จากเลือดที่นำไปเพาะเลี้ยงโดยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของลิมโฟไซต์ แล้วเติมกับไมเด็ม aphidicolin ซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ จากผลการศึกษาทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าประชากรซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอดสูง มีปริมาณความเสียหายของสารพันธุกรรมมากกว่าประชากรซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอดต่ำ เนื่องจากพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ให้ผลไปในทางเดียวกันจากสองวิธีวิเคราะห์ คือ การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสและการทำ comet assay ส่วนผลจากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง พบว่าการสูบบุหรี่มีผลทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมและไมโครนิวเคลียสในประชากรทั้งจากสารภีและจอมทอง แสดงว่าการสูบบุหรี่น่าจะเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งนอกเหนือไปจากการสัมผัสสารพิษจากสิ่งแวดล้อม ที่ทำให้ประชากรทั้งสองกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งปอดสูงขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดขาวของประชากรที่มีความเสี่ยงจากการสัมผัสสารพิษในสิ่งแวดล้อม โดยใช้ genetic endpoint หลายๆ ชนิดร่วมกัน น่าจะทำให้การติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพแม่นยำยิ่งขึ้น

คำหลัก: การติดตามผลทางชีวภาพ, ความผิดปกติของโครโมโซม, ไมโครนิวเคลียส, โคเมทแอสเสย์

Abstract

Project code BJJ/40/2543

Project title Biomonitoring Study and Health Risk Assessment of Populations
Residing In Chiang Mai with High Risk of Lung Cancer

Investigators Assoc. Prof. Dr. Daoroong Kangwanpong
Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
scidkngw@chiangmai.ac.th

Ms. Worapa Heepchantree
Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
worapah@hotmail.com

Project period 2 years

Biomonitoring and risk assessment of population residing in the high risk area of lung cancer, Saraphi district, were investigated by chromosomal aberration test (CAT), micronucleus test (MNT) and comet assay (CA) for DNA damage. These analyses were compared with population residing in the low risk area of lung cancer, Chom Thong district, which enrolled in the study as a control. The percentage of aberration cells with chromosome aberration and chromosomal aberrations in Saraphi population were significantly lower than those in Chom Thong. Controversial results were observed in MNT and CA. The basal level of micronucleus determined in 1,000 binucleated cells and the percentage of binucleated cells with micronucleus in Saraphi population were significantly higher than those in Chom Thong. In CA, DNA damages evaluated by tail length and tail migration were significant higher in Saraphi population when the whole peripheral blood was tested. However, there were no significantly differences of DNA damage between two studied populations when stimulated blood lymphocytes with and without aphidicolin were employed. It could be concluded that population residing in Saraphi had more DNA damage than those in Chom Thong interpreting by higher amount of micronucleus and higher level of tail length and tail migration measured by comet assay in their white blood cells. When confound factors were considered, the smoking habit was found to be associated with higher level of chromosomal aberration and micronucleus in both Saraphi and Chom Thong populations. That means cigarette smoking might be one of the important factors in increasing the risk of lung cancer in these two populations apart from the environmental pollution exposure. Thus the investigation of white blood cells in populations exposed to environmental toxic substances using combination of various genetic endpoints might lead to the more precise biomonitoring and health assessment.

Keywords: biomonitor, chromosomal aberration test, micronucleus test, comet assay

Executive summary

ชื่อโครงการ การติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด
(Biomonitoring Study and Health Risk Assessment of Populations Residing in Chiang Mai with High Risk of Lung Cancer)

ชื่อนักศึกษาผู้เสนอขอ หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ชื่อ / สกุล	นางสาวรภา หิมจันทร์ตรี
สถานที่ติดต่อ	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์:	(053)943346/8
โทรสาร:	(053)892259
E-mail address:	worapah@hotmail.com

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ชื่อ / สกุล	รองศาสตราจารย์ ดร. ดาวรุ่ง กังวานพงศ์
สถานที่ติดต่อ	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์:	(053)943346 ต่อ 1305
โทรสาร:	(053)892259
E-mail address:	scidkngw@chiangmai.ac.th

สาขาวิชาที่ทำการวิจัย พันธุพิษวิทยา

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันมนุษย์มีโอกาสได้รับสารเคมีทั้งทางตรงและทางอ้อมตลอดเวลา สารเคมีเหล่านี้อาจจะมีพิษในระดับที่เป็นอันตรายต่อสารพันธุกรรม โดยอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ในระดับโมเลกุลของสารพันธุกรรมจนถึงเกิดจรรยาตักของโครโมโซม ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งทุกชนิด ในจังหวัดเชียงใหม่มีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งปอดสูงมาก สาเหตุหลักในเพศชายเกิดจากการสูบบุหรี่ แต่ในเพศหญิงกลับพบว่าการเกิดมะเร็งปอดไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการสูบบุหรี่ นอกจากนั้นยังพบว่าผู้หญิงที่อยู่ในต่างพื้นที่กันมีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดต่างกันด้วย แสดงว่าสิ่งแวดล้อมที่ต่างกัน เช่น มลภาวะของอากาศ อันเกิดจากสารพิษและเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อุบัติการณ์ของมะเร็งปอดต่างกันในพื้นที่ ดังนั้นจึงมีการใช้ตัวบ่งชี้ทางพันธุศาสตร์ (genetic marker) ชนิดต่างๆ ในการติดตามผลทางชีวภาพ (biomonitoring) ของประชากรที่ยังไม่ได้เป็นโรคซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการสัมผัสกับสารพิษในอากาศ เพื่อช่วยเตือนภัยให้ประชากรเหล่านั้นระวังและดูแลสุขภาพ ตลอดจนหาทางลดมลภาวะในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่ของตน หรือหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสารพิษในสิ่งแวดล้อมนั้น

วัตถุประสงค์

ศึกษาและติดตามผลทางชีวภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูง เปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรซึ่งอาศัยในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดต่ำ โดยใช้ genetic endpoint 3 ชนิด ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค comet assay (alkaline single cell gel electrophoresis) เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เป็นการเตือนภัยและเตรียมการป้องกันหรือหลีกเลี่ยงสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษนั้น

ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาและอนุมัติโดยคณะกรรมการพิทักษ์สิทธิสวัสดิภาพและป้องกันภัยอันตรายในการวิจัยกับมนุษย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ คือ ประชากรจากอำเภอสารภีและอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ อาสาสมัครเหล่านี้จะต้องเซ็นชื่อยินยอมในการเข้าร่วมงานวิจัย และในช่วง 6 เดือนก่อนบริจาคเลือด ต้องไม่เคยได้รับรังสีและต้องไม่อยู่ในระหว่างการรักษาด้วยยาชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างต่อเนื่อง การศึกษาทำตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้คือ

1. ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน ความเป็นอยู่และสิ่งแวดล้อมของประชากรและเก็บตัวอย่างเลือด

สัมภาษณ์ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสารภีและจอมทอง โดยสุ่มจากประชากรที่เคยเป็นกลุ่มอาสาสมัครของการศึกษาทางด้านระบาดวิทยา (Nakachi et al., 1999) หรืออาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกันกับประชากรกลุ่มที่กล่าวข้างต้น โดยใช้แบบสอบถามซึ่งมีข้อมูลต่างๆ ดังนี้ เพศ อายุ ข้อมูลส่วนตัว การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูดควันจากการเผาไหม้ ประวัติในการเจ็บป่วย การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ การเคี้ยวเมี่ยงหรือหมาก และการเกิดโรคมะเร็งในครอบครัว

การเก็บตัวอย่างเลือดทำโดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณข้อพับแขนปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มฉีดยาที่กลั้วด้วย heparin แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4°C ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงและวิเคราะห์ genetic endpoint

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ครั้งแรกสุ่มประชากรปกติจากอำเภอสารภี 107 คน (เพศชาย 52 คน เพศหญิง 55 คน) และจากอำเภอจอมทอง 118 คน (เพศชาย 51 คน เพศหญิง 67 คน) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมและไมโครนิวเคลียส ส่วนครั้งที่สองจากประชากรชุดเดียวกับครั้งแรกเพื่อวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยใช้วิธี comet assay แต่ปรากฏว่าในการเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่สองทำได้ไม่ครบทุกคน คือ ได้จากประชากรอำเภอสารภีเพียง 91 คน (เพศชาย 45 คน เพศหญิง 46 คน) และจากประชากรอำเภอจอมทองเพียง 94 (เพศชาย 43 คน เพศหญิง 51 คน)

2. การติดตามผลทางชีวภาพ โดยใช้ genetic endpoint 3 ชนิด ดังนี้

2.1 การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม

โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ซึ่งมี fetal calf serum, sodium bicarbonate และยาปฏิชีวนะเป็นองค์ประกอบ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เตรียมโครโมโซมบนสไลด์ตามกระบวนการมาตรฐาน แล้วย้อมด้วยสี Giemsa

วิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมทั้งชนิด chromatid type aberration และ chromosome type aberration จากการแบ่งเซลล์ครั้งแรกในระยะ metaphase จำนวน 100 เซลล์ พร้อมทั้งคำนวณหา mitotic index

2.2 การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส

โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ซึ่งมี fetal calf serum, sodium bicarbonate และยาปฏิชีวนะเป็นองค์ประกอบ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยในชั่วโมงที่ 44 หลังเริ่มการเพาะเลี้ยงเติม Cytochalasin-B ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ เตรียมเซลล์บนสไลด์ตามกระบวนการมาตรฐาน แล้วย้อมด้วยสี Giemsa

วิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสใน binucleated cell จำนวน 1,000 เซลล์ คำนวณหาจำนวนไมโครนิวเคลียสทั้งหมด ร้อยละของจำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียส และ nuclear division index ตามวิธีของ Eastmond and Tucker (1989)

2.3 การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยเทคนิค comet assay

ใช้ protocol ของ Singh *et al* (1988) ที่ดัดแปลงโดย Speit and Hartmann (1999) โดยมี referent standard เตรียมจากเซลล์ลิมโฟไซต์ที่แยกจากเลือดเป็นตัวอย่างควบคุมทุกการทดลอง ส่วนตัวอย่างเลือดจากประชากรของทั้งสองอำเภอ ใช้ peripheral blood, stimulated peripheral blood และ stimulated peripheral blood ที่เติม Aphidicolin (ซึ่งเป็นสารยับยั้งการซ่อมแซมดีเอ็นเอ) ในการศึกษา นำสไลด์ที่เตรียมจากตัวอย่างเลือด 3 แบบมาย่อยโปรตีนออก แล้วจึงนำไปแช่ใน Tris buffer ที่มีสภาวะเป็นด่างสูง (pH>13) เพื่อให้ดีเอ็นเอคลายเกลียว เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นทำ electrophoresis โดยใช้ไฟฟ้ากระแสตรง 25 โวลต์ 300 มิลลิแอมแปร์ นาน 25 นาที แล้วปรับสภาพสไลด์ให้เป็นกลางด้วย Tris Buffer, pH 7.5 ตึงน้ำออกจากสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ แล้วตากให้แห้ง

ก่อนการวิเคราะห์ย้อมสไลด์ด้วย Ethidium Bromide ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนซ์ แล้วจึงวิเคราะห์ด้วย Image Analyzer Comet II, V 1.02e (Perceptive Instruments, Haverhill, UK) โดยวัดการแตกหักของดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์ต่อหนึ่งตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความผิดปกติของโครโมโซม จำนวนไมโครนิวเคลียส และการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอที่ตรวจพบโดยวิธี comet assay ระหว่างประชากรจากอำเภอสารภีและจอมทอง ตลอดจนวิเคราะห์ผลของปัจจัยเสี่ยงต่างๆ (ที่ได้จากการสัมภาษณ์ประชากร) ที่มีต่อ genetic endpoint ทั้ง 3 ชนิด เพื่อสรุปผลและความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติของสารพันธุกรรมกับความเสื่อมต่อสุขภาพ ตลอดจนเปรียบเทียบความไวของวิธีการที่ใช้วิเคราะห์ทั้ง 3 ชนิด

ผลงานที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

- วารสาร** Mutagenesis หรือ Mutation Research ซึ่งมี impact factor เท่ากับ 1.802 และ 1.745 ตามลำดับ (ข้อมูลจากปี 1997 โดยอ้างอิงจาก <http://www.ebioinfogen.com>)
- ชื่อเรื่อง** Evaluation of the in vitro micronucleus test as an alternative to the chromosomal aberration assay: comparative biomonitoring study of population residing in a high risk of lung cancer.

เนื้อหางานวิจัย

วัตถุประสงค์

ศึกษาและติดตามผลทางชีวภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูง เปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรซึ่งอาศัยในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดต่ำ โดยใช้ genetic endpoint 3 ชนิด ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค comet assay (alkaline single cell gel electrophoresis) เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เป็นการเตือนภัยและเตรียมการป้องกันหรือหลีกเลี่ยงสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษนั้น

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. กลุ่มประชากรตัวอย่าง

กลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับการศึกษาครั้งนี้ คือ ประชากรจากอำเภอสารภีซึ่งมีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูง กับอำเภอจอมทองซึ่งมีอัตราการเกิดมะเร็งปอดต่ำ ประชากรตัวอย่างทั้งเพศหญิงและเพศชายจากสองอำเภอที่เข้าร่วมงานวิจัยนี้ เป็นกลุ่มเดียวกับประชากรที่เคยได้รับการคัดเลือกสำหรับการศึกษาทางด้านระบาดวิทยา ซึ่งเป็นงานวิจัยด้วยความร่วมมือระหว่าง Prof. Kei Nakachi และคณะ จากสถาบันมะเร็ง Saitama ประเทศญี่ปุ่น กับศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. ไมตรี สุทธจิตต์ และคณะ จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Nakachi *et al.*, 1999) พร้อมทั้งตัวอย่างที่เก็บเพิ่มเติมโดยการสุ่มจากประชากรซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกัน ประชากรกลุ่มหลังนี้คัดเลือกโดยเจ้าหน้าที่จากสถานีอนามัยประจำตำบล เฉพาะผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงและในช่วง 6 เดือนก่อนบริจาคเลือดต้องไม่เคยได้รับรังสีและต้องไม่อยู่ในระหว่างการรักษาด้วยยาชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างต่อเนื่อง ผู้วิจัยได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ กระบวนการวิจัยและประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัยก่อนการบริจาคเลือด โดยต้องมีลายเซ็นของอาสาสมัครที่เต็มใจเข้าร่วมการวิจัยในเอกสาร inform consent (ภาคผนวก 1)

กลุ่มตัวอย่างจากอำเภอสารภีประกอบด้วยประชากรที่อาศัยอยู่ในตำบลช้างมุง ชมภู ไซยสถาน ยางเน็ง ท่าวังตาล สันทราย สารภี และหนองผึ้ง จำนวน 107 คน (ชาย 52 คน หญิง 55 คน) สำหรับการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (ดังข้อ 3.1) และจำนวน 91 คน (ชาย 45 คน หญิง 46 คน) สำหรับการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 (ดังข้อ 3.2) ส่วนกลุ่มตัวอย่างจากอำเภอจอมทองประกอบด้วยประชากรที่อาศัยอยู่ในตำบลท่าข้าม แท่นดอกไม้ และหนองห้า จำนวน 118 คน (ชาย 51 คน หญิง 67 คน) สำหรับการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (ดังข้อ 3.1) และจำนวน 94 คน (ชาย 43 คน หญิง 51 คน) สำหรับการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 (ดังข้อ 3.2)

2. การศึกษาข้อมูลพื้นฐานความเป็นอยู่และสิ่งแวดล้อมของประชากร

สัมภาษณ์โดยใช้แบบสอบถามซึ่งมีข้อมูลต่างๆ ดังนี้ เพศ อายุ สถานภาพ ข้อมูลส่วนตัว การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูดควันจากการเผาไหม้ ประวัติในการเจ็บป่วย การสูบบุหรี่ การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น การดื่มแอลกอฮอล์ การเคี้ยวเมี่ยงหรือหมาก และการเกิดโรคมะเร็งในครอบครัว จากประชากรที่อาศัยในอำเภอจอมทองและสารภี (ภาคผนวก 2) โดยผู้วิจัยเป็นผู้สอบถามตามลำดับคำถามที่ระบุในแบบสอบถาม และบันทึกข้อมูลคำตอบของอาสาสมัครแต่ละคนลงในแบบสอบถาม

3. การเก็บตัวอย่างเลือด

การเก็บตัวอย่างเลือด ใช้เข็มพร้อมกระบอกฉีดยาที่กลั้วด้วย heparin (Leo : 5,000 IU/1 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณข้อพับแขน ปริมาตร 5 มิลลิลิตร. พลิกเข็มฉีดยาไปมาเบาๆ ให้เลือดกับ heparin ผสมเข้ากันดีเพื่อป้องกันเลือดจับตัวเป็นก้อน ตัดฉลากเลขที่อาสาสมัครให้ตรงกับชื่อในรายชื่อ แล้วเก็บตัวอย่างเลือดไว้ในกล่องโฟมที่บรรจุ ice pack ให้ความเย็น

การเก็บตัวอย่างเลือดทำ 2 ครั้งดังนี้

3.1 ครั้งที่ 1 ประชากรทั้งหมด 107 คน (เพศชาย 52 คน เพศหญิง 55 คน) จากอำเภอสาร์ภี และประชากรทั้งหมด 118 คน (เพศชาย 51 คน เพศหญิง 67 คน) จากอำเภोजอมทอง เพื่อนำไปเลี้ยงเซลล์และเตรียมโครโมโซมเพื่อวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมและการวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส

3.2 ครั้งที่ 2 ประชากรทั้งหมด 91 คน (เพศชาย 45 คน เพศหญิง 46 คน) จากอำเภอสาร์ภี และประชากรทั้งหมด 94 คน (เพศชาย 43 คน เพศหญิง 51 คน) จากอำเภोजอมทอง เพื่อนำไปตรวจการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ

จะเห็นได้ว่าจำนวนประชากรตัวอย่างที่บริจาคเลือดครั้งที่ 2 ลดลง เนื่องจากส่วนหนึ่งเจ็บป่วยและอีกส่วนหนึ่งไม่ยินยอมบริจาคเลือดซ้ำ จึงทำให้ประชากรตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์โครโมโซมผิดปกติและไมโครนิวเคลียส มีจำนวนมากประชากรตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ

4. การติดตามผลทางชีวภาพ

4.1 การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม

- (1) เพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์ โดยหยุดเลือด (จากข้อ 3.1) จำนวน 8 หยดลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่ผสม fetal calf serum (Seromed) 20%, penicillin และ streptomycin (Gibco) ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 100 หน่วย/มิลลิลิตรและ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร phytohaemagglutinin (Seromed : 1.25 มิลลิกรัม/5 มิลลิลิตร) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เพื่อกระตุ้นการแบ่งเซลล์ แล้วนำเข้าตู้เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- (2) เตรียมโครโมโซมตามกระบวนการมาตรฐานโดยหยุด colchicine (Sigma) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนการเก็บเกี่ยวเซลล์ 30 นาที
- (3) บั่นล้างเซลล์ในสารละลาย 0.075 M KCl อุณหภูมิ 37°C ด้วยความเร็ว 1,000 รอบ/นาที 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที
- (4) ทำให้เซลล์คงสภาพ ด้วยน้ำยาคงสภาพซึ่งประกอบด้วยเมทานอลและกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3:1 ที่เตรียมและแช่เย็นจัดก่อนใช้ทุกครั้ง โดยครั้งแรกค่อยๆ หยดน้ำยาคงสภาพที่เย็นจัดลงในหลอดทดลองที่ละหยดจนครบ 5 มิลลิลิตร แล้วบั่นล้างในน้ำยาคงสภาพด้วยความเร็ว 1,200 รอบ/นาทีอีก 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที
- (5) หยดเซลล์ที่ผสมกับน้ำยาคงสภาพลงบนสไลด์ แล้วย้อมด้วย สี Giemsa เจือจาง 5% ในสารละลาย Weise buffer

- (6) วิเคราะห์ผลโดยตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมทั้งชนิด chromatid และ chromosome ในระยะเมตาเฟสจากการแบ่งเซลล์ครั้งแรก คำนวณหาร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติ ร้อยละของจำนวนโครโมโซมที่พบ พร้อมทั้งนับจำนวนเมตาเฟสและนิวเคลียสของเซลล์ รวมกัน 1,000 เซลล์ แล้วคำนวณหาค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ (mitotic index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการแบ่งเซลล์} = \frac{\text{จำนวนเมตาเฟสที่พบใน 1,000 เซลล์}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับ (1,000 เซลล์)}}$$

4.2 การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส

- (1) เพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซตในอาหารเลี้ยงเซลล์ เช่นเดียวกับข้อ 4.1(1) หลังจากเลี้ยงเซลล์ได้ 44 ชั่วโมง เติม cytochalasin-B (Sigma) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วเลี้ยงเซลล์ต่อจนครบ 72 ชั่วโมง
- (2) บั่นล้างเซลล์ในสารละลาย 0.075 M KCl ซึ่งแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ด้วยความเร็ว 1,000 รอบ/นาที่ 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที
- (3) ทำให้เซลล์คงสภาพ ด้วยน้ำยาคงสภาพซึ่งประกอบด้วยเมทานอลและกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3:1 ที่เตรียมและแช่เย็นจัดก่อนใช้ทุกครั้ง โดยครั้งแรกค่อยๆ หยดน้ำยาคงสภาพที่เย็นจัดลงในหลอดทดลองทีละหยดจนครบ 5 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลาย formaldehyde 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วบั่นล้างในน้ำยาคงสภาพด้วยความเร็ว 1,200 รอบ/นาที่อีก 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที
- (4) หยดเซลล์ที่ผสมกับน้ำยาคงสภาพลงบนสไลด์ แล้วย้อมด้วย สี Giemsa เจือจาง 5% ในสารละลาย Weise buffer
- (5) วิเคราะห์ผลโดยนับจำนวนไมโครนิวเคลียสในเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส (binucleated cell) จำนวน 1,000 เซลล์ คำนวณหาจำนวนไมโครนิวเคลียสใน 1,000 เซลล์ และร้อยละของจำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียส จากนั้นนับเซลล์ที่มี 1, 2, 3 และ 4 นิวเคลียสเป็นจำนวนทั้งหมด 1,000 เซลล์ แล้วคำนวณหาค่าดัชนีการแบ่งนิวเคลียส (nuclear division index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการแบ่งนิวเคลียส} = \frac{[(N1) + 2(N2) + 3(N3) + 4(N4)]}{N}$$

โดยที่ (N1), (N2), (N3), (N4) คือจำนวนเซลล์ที่มี 1, 2, 3 และ 4 นิวเคลียสตามลำดับ และ N คือจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับ ซึ่งเท่ากับ 1,000 เซลล์ นั้นเอง (Eastmond and Tucker, 1989)

4.3 การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยวิธี comet assay

การทำ comet assay ใช้ protocol ของ Singh *et al.* (1988) ที่ดัดแปลงโดย Speit and Hartmann (1999) โดยใส่สไลด์ที่เตรียมจาก referent standard ลงใน electrophoresis chamber ร่วมกับสไลด์ที่เตรียมจากตัวอย่างเลือดจากประชากรทุกครั้ง เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นในการทำ electrophoresis แต่ละครั้ง

4.3.1 การเตรียม referent standard

- (1) ค่อยๆ เทเลือด (ที่เก็บจากผู้ทำวิจัยเอง) ลงในหลอดทดลองที่มี Ficoll-Paque™ PLUS (Amersham Pharmacia Biotech AB) อยู่หลอดละ 5 มิลลิลิตร โดยให้ชั้นของเลือดลอยอยู่ด้านบน แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 1,600 รอบ/นาที นาน 25 นาที
- (2) ดูดชั้นของลิมโฟไซด์ออกไปใส่ในหลอดทดลองใหม่ บั่นล้างเซลล์ด้วย Hank's balanced salt solution ครั้งหนึ่ง และ RPMI อีกครั้งหนึ่ง ที่ความเร็ว 1,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที
- (3) นำลิมโฟไซด์ที่แยกได้ไปผสมกับ cryopreservation solution ซึ่งประกอบด้วย RPMI 1640 ผสม 10% fetal calf serum และ 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) นับเซลล์โดยใช้ Haemocytometer แล้วเตรียมเซลล์ให้มีจำนวนประมาณ 1 ล้านเซลล์/มิลลิลิตร
- (4) แบ่งเซลล์เป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งใช้เป็น untreated referent standard อีกส่วนหนึ่งใช้เป็น treated referent standard ซึ่งได้จากการนำลิมโฟไซด์ไปฉายรังสีแกมมาที่มี cobalt เป็นแหล่งกำเนิดรังสี โดยใช้ความเข้ม 2 Gy แล้วแบ่งลิมโฟไซด์แต่ละส่วนใส่ใน microtube หลอดละ 10 ไมโครลิตร

4.3.2 การเตรียมเลือดจากประชากรเพื่อทำ comet assay

- (1) เตรียมสไลด์จากเลือด (ในข้อ 3.2) ด้วยวิธีต่างกัน 3 วิธี คือ
 - Peripheral blood (PB) โดยใช้เลือดปริมาตร 5 ไมโครลิตร/สไลด์
 - Stimulated peripheral blood (SPB) โดยนำเลือดมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ ที่เติม phytohaemagglutinin เพื่อกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เช่นเดียวกับข้อ 4.1(1) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บั่นตกตะกอนเซลล์และดูดของเหลวส่วนบนออกจนเกือบหมด เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วใช้เม็ดเลือดส่วนนี้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร/สไลด์
 - Stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin (SPB-APC) การเตรียมเลือดใช้วิธีเดียวกับ stimulated peripheral blood แต่เติม aphidicolin (Sigma) เพื่อยับยั้งกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์ไว้ 24 ชั่วโมงให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง บั่นตกตะกอนเซลล์และดูดของเหลวส่วนบนออกจนเกือบหมด เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วใช้เม็ดเลือดส่วนนี้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร/สไลด์
- (2) ผสมเลือดแต่ละชนิดตามปริมาตรที่ระบุในข้อ (1) กับ 0.5% low melting point agarose (Sea Plaque GTG agarose, BMA) แล้วเทลงบนสไลด์ที่เคลือบด้วย 1.5% normal agarose (NEEO) ซึ่งเตรียมไว้ล่วงหน้า ปิดทับด้วย cover glass และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นจน agarose แข็ง จึงดึง cover glass ออก
- (3) จุ่มสไลด์ใน lysing solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Trizma base ที่ต้องเตรียมทันทีก่อนใช้ทุกครั้ง และเติม 1% Triton X-100 กับ 10% DMSO) เพื่อกำจัดโปรตีนต่างๆ ออก อย่างน้อย 1 ชั่วโมง

(4) นำสไลด์ที่เตรียมจากข้อ 4.3.1 และ 4.3.2 ซึ่งมีดังนี้

- untreated referent standard
- treated referent standard
- Peripheral blood (PB)
- Stimulated peripheral blood (SPB)
- Stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin (SPB-APC)

มาใส่ในกล่อง electrophoresis ที่มีสารละลาย buffer (10 N NaOH 30 มิลลิลิตร, 200 mM EDTA 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร ปรับให้ค่า pH>13) แช่สไลด์ไว้ในสารละลาย buffer นาน 25 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอคลายเกลียว (unwinding) แล้วจึงต่อกระแสไฟฟ้าขนาด 25 โวลต์ 300 มิลลิแอมแปร์ กระตุ้นให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ออกจากเซลล์ เป็นเวลา 25 นาที

- (5) ทำสไลด์ให้เป็นกลางโดยแช่ใน Tris buffer, pH 7.5 ครั้งละ 8 นาที 2 ครั้ง
- (6) ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่น แล้วดึงน้ำออก (dehydrate) โดยจุ่มสไลด์ใน absolute ethanol ตามสไลด์ให้แห้งแล้วเก็บในกล่องสไลด์ทึบแสง
- (7) ย้อมสไลด์ด้วย ethidium bromide ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำสไลด์ไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โดยใช้กำลังขยาย 400X แล้วทำการวิเคราะห์โดยใช้ Image Analyzer Comet II, V 1.02e (Perceptive Instruments, Haverhill, UK) จากเม็ดเลือดขาว 50 เซลล์/ตัวอย่าง ใช้ parameter ต่างๆ ดังนี้ tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ใช้โปรแกรมทางสถิติ Statview (SAS Institute, version 5.0, USA.) เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่มพร้อมกับวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่างๆ ตามขั้นตอนดังนี้

5.1 วิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลความผิดปกติของโครโมโซม จำนวนไมโครนิวเคลียส กับการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอจาก comet assay ระหว่างกลุ่มประชากรจากอำเภอสาร์ภักดิ์และจอมทอง โดยใช้ Mann-Whitney U test เนื่องจากข้อมูลทั้งหมดมีลักษณะเป็นอันดับสเกล (ordinal scale)

5.2 ทำ analysis of variance (ANOVA) ของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูบบุหรี่ การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น การดื่มแอลกอฮอล์ และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยงระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่ม

5.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูลที่ได้จาก genetic endpoint ทั้งสามชนิด คือ ความผิดปกติของโครโมโซม ไมโครนิวเคลียส กับการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ที่วัดด้วยพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่

- จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ
- จำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ
- จำนวนไมโครนิวเคลียสทั้งหมดใน 1,000 binucleated cells
- จำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ
- ค่า tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment

โดยใช้ correlation analysis

ผลการวิจัย

1. การศึกษาข้อมูลทั่วไปของประชากรตัวอย่าง

จากการสัมภาษณ์ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภออำเภอสาร์ภีและจอมทอง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูงและต่ำที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 107 และ 118 คน ตามลำดับ และรวบรวมข้อมูลทั่วไป ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ การได้รับสารกำจัดศัตรูพืช การสูบบุหรี่ การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น การดื่มแอลกอฮอล์ และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง สามารถสรุปได้ว่า กลุ่มประชากรตัวอย่างส่วนมากมีอายุอยู่ในช่วง 51-80 ปี ประชากรประมาณครึ่งหนึ่งประกอบอาชีพหลัก คือ เกษตรกรรมและรับจ้างทำงานทั่วไป ส่วนที่เหลืออีกครึ่งหนึ่งไม่ได้ประกอบอาชีพอะไร เนื่องจากเป็นผู้สูงอายุ ประชากรประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ได้รับสารกำจัดศัตรูพืชจากการประกอบอาชีพ สำหรับการสูบบุหรี่พบว่า ประชากรอำเภอจอมทองประมาณครึ่งหนึ่งสูบบุหรี่อย่างต่อเนื่อง ในขณะที่มีประชากรอำเภอสาร์ภีเพียงประมาณหนึ่งในสี่ของประชากรทั้งหมดเท่านั้นที่สูบบุหรี่ นอกจากนั้นประชากรในอำเภอจอมทองยังได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่นมากกว่าประชากรในอำเภอสาร์ภีอีกด้วย ส่วนการดื่มแอลกอฮอล์และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง พบว่าจำนวนประชากรในทั้งสองอำเภอที่มีอุปนิสัยดังกล่าวไม่แตกต่างกันมากนัก ดังแสดงในตารางที่ 1

2. การวิเคราะห์โครโมโซมผิดปกติจากเซลล์ลิมโฟไซด์

ผลการวิเคราะห์โครโมโซมซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 2 ประกอบด้วย ดัชนีการแบ่งเซลล์ (mitotic index) จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ (% aberrant cell) และจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ (% aberrant) ที่ได้จากการทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรสองอำเภอ โดยใช้ Mann-Whitney U test พบว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสาร์ภีมีค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และ จำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ น้อยกว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1

ข้อมูลทั่วไปของประชากรตัวอย่างจากอำเภอสารภีและอำเภอจอมทอง

	สารภี			จอมทอง		
	รวม	หญิง	ชาย	รวม	หญิง	ชาย
จำนวนประชากร (%)	107	55 (51.40)	52 (48.60)	118	67 (56.78)	51 (43.22)
ช่วงอายุ (%)						
41-50 ปี	7 (6.54)	5 (4.67)	2 (1.87)	3 (2.54)	2 (1.69)	1 (0.85)
51-60 ปี	36 (33.64)	21 (19.63)	15 (14.02)	30 (25.42)	13 (11.02)	17 (14.41)
61-70 ปี	52 (48.60)	24 (22.43)	28 (26.17)	55 (46.61)	34 (28.81)	21 (17.80)
71-80 ปี	12 (11.21)	5 (4.67)	7 (6.54)	28 (23.73)	17 (14.41)	11 (9.32)
81-90 ปี	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.69)	1 (0.85)	1 (0.85)
อาชีพปัจจุบัน (%)						
เกษตรกร	25 (23.36)	8 (7.48)	17 (15.89)	45 (38.14)	19 (16.10)	26 (22.03)
คนงาน	21 (19.63)	5 (4.67)	16 (14.95)	9 (7.63)	3 (2.54)	6 (5.08)
รับราชการ	1 (0.93)	0 (0)	1 (0.93)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
เย็บผ้า	2 (1.87)	2 (1.87)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
คนขับรถ	1 (0.93)	0 (0)	1 (0.93)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ค้าขาย	8 (7.48)	7 (6.54)	1 (0.93)	5 (4.24)	5 (4.24)	0 (0)
ไม่ได้ประกอบอาชีพ	49 (45.79)	33 (30.84)	16 (14.95)	59 (50.00)	40 (33.90)	19 (16.10)
การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน (%)						
ไม่ได้รับ	82 (76.64)	50 (46.73)	32 (29.91)	84 (71.19)	56 (47.46)	28 (23.73)
ได้รับ	25 (23.36)	5 (4.67)	20 (18.69)	34 (28.81)	11 (9.32)	23 (19.49)
การสูบบุหรี่ (%)						
ปัจจุบันยังสูบบุหรี่	23 (21.50)	11 (10.28)	12 (11.21)	57 (48.31)	34 (28.81)	23 (19.49)
เคยสูบบุหรี่แต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	50 (46.73)	19 (17.76)	31 (28.97)	44 (37.29)	21 (17.80)	23 (19.49)
ไม่เคยสูบบุหรี่	34 (31.78)	25 (23.36)	9 (8.41)	17 (14.41)	12 (10.17)	5 (4.24)
การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น (%)						
ปัจจุบันยังได้รับอยู่	32 (29.91)	18 (16.81)	14 (13.08)	73 (61.86)	40 (33.90)	33 (27.97)
เคยได้รับแต่ปัจจุบันไม่ได้รับแล้ว	20 (18.69)	15 (14.02)	5 (4.67)	23 (19.49)	19 (16.10)	4 (3.39)
ไม่เคยได้รับ	55 (51.40)	22 (20.56)	33 (30.84)	22 (18.64)	8 (6.78)	14 (11.86)
การดื่มแอลกอฮอล์ (%)						
ปัจจุบันยังดื่มอยู่	39 (36.45)	8 (7.48)	31 (28.97)	28 (23.73)	5 (4.24)	23 (19.49)
เคยดื่มแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	11 (10.28)	3 (2.80)	8 (7.48)	18 (15.25)	3 (2.54)	15 (12.71)
ไม่เคยดื่ม	57 (53.27)	44 (41.12)	13 (12.15)	72 (61.02)	59 (50.00)	13 (11.02)
การเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง (%)						
ปัจจุบันยังเคี้ยวอยู่	70 (65.42)	42 (39.25)	28 (26.17)	96 (81.36)	61 (51.69)	35 (29.66)
เคยเคี้ยวแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	7 (6.54)	2 (1.87)	5 (4.67)	10 (8.47)	4 (3.39)	6 (5.08)
ไม่เคยเคี้ยว	30 (28.04)	11 (10.28)	19 (17.76)	12 (10.17)	2 (1.69)	10 (8.47)

ตารางที่ 2 โครโมโซมผิดปกติชนิดต่างๆ ในประชากรอำเภอสารภีและอำเภอจอมทอง

	สารภี	จอมทอง	P-value
	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
จำนวนประชากร	107	118	
ดัชนีการแบ่งเซลล์.	1.251 $\pm$ 0.439	1.331 $\pm$ 0.329	P=0.0246
เซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ	0.468 $\pm$ 0.905	1.042 $\pm$ 1.180	P=0.0001
โครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ	0.486 $\pm$ 0.905	1.076 $\pm$ 1.214	P<0.0001
<i>โครโมโซมผิดปกติชนิด chromatid</i>			
% gap	1.374	0.949	
% break	0.215	0.483	
% deletion	0	0.008	
% interchange	0	0	
% intrachange	0	0	
<i>โครโมโซมผิดปกติชนิด chromosome</i>			
% gap	0.047	0.195	
% break	0.075	0.263	
% acentric	0.121	0.195	
% dicentric	0.121	0.102	
% ring	0	0.025	

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา

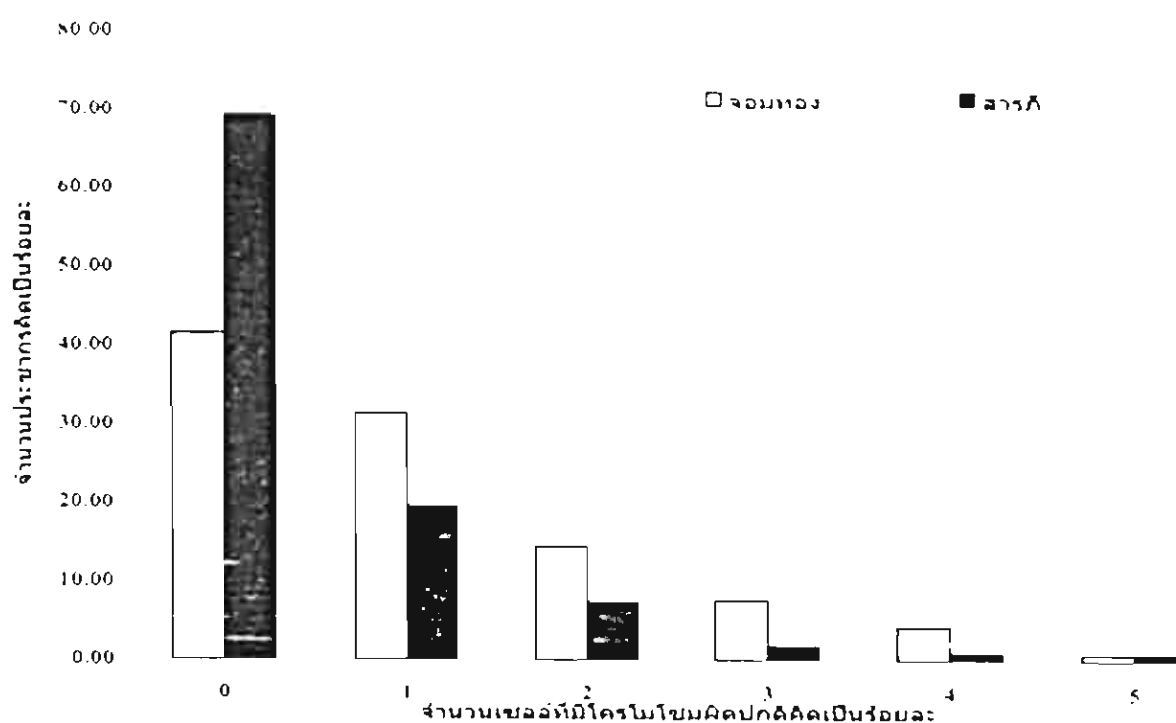
ชนิดของโครโมโซมผิดปกติที่พบมาก ได้แก่ gap แต่ความผิดปกติแบบนี้ไม่ได้นำมารวมไว้ในการคำนวณ เพราะความผิดปกติแบบนี้สามารถซ่อมแซมได้ง่ายด้วยกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอภายในเซลล์ ส่วนโครโมโซมผิดปกติชนิดอื่นๆ ทั้งชนิด chromatid break และ chromosome break ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสารภีมีน้อยกว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอจอมทองประมาณ 2 เท่า นอกจากนั้นยังตรวจพบโครโมโซมผิดปกติชนิด chromatid deletion และ ring เฉพาะในประชากรจากอำเภอจอมทองด้วย

ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสารภียังมีการกระจายของเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ น้อยกว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอจอมทองด้วย (รูปที่1)

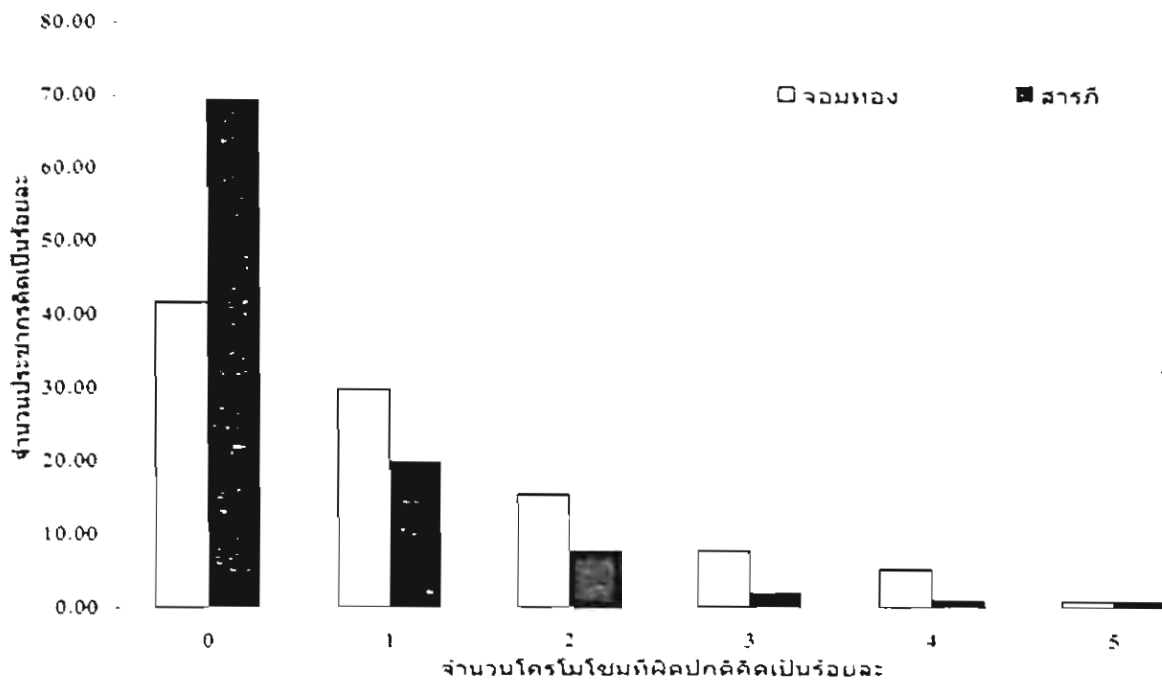
การวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่างๆ ต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ ในประชากรทั้งหมด โดยใช้ ANOVA พบว่า เพศ ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสัมผัสสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น และการใช้แอลกอฮอล์ มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ กับจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ อย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 เปอร์เซนต์ ดังแสดงในตารางที่ 3

ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ คือ การสูบบุหรี่ กับการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง ซึ่งเมื่อนำมาทดสอบความแตกต่างภายในกลุ่มการสูบบุหรี่และกลุ่มการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง พบว่า ผู้สูบบุหรี่มีจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ มากกว่าผู้ที่เลิกสูบบุหรี่และผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญ แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่กับผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่ ส่วนการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยงมีผลทำให้จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผู้ที่ไม่เคี้ยวมาตลอดเวลากับผู้ที่ไม่เคยเคี้ยวหมากหรือเมี่ยงเท่านั้น

(ก)



(ข)



รูปที่ 1

การกระจายของ

- (ก) จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ (% aberrant cell)
 (ข) จำนวนโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ (% aberrant)

ตารางที่ 3 จำนวนโครโมโซมผิดปกติชนิดต่างๆ วิเคราะห์แยกตามกลุ่มปัจจัย

ปัจจัย	จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติ คิดเป็นร้อยละ		จำนวนโครโมโซมผิดปกติ คิดเป็นร้อยละ	
	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	P-value	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	P-value
เพศ		0.1380		0.1898
หญิง	0.877 $\pm$ 1.217		0.885 $\pm$ 1.221	
ชาย	0.660 $\pm$ 0.913		0.689 $\pm$ 0.970	
ช่วงอายุ (ปี)		0.7594		0.8432
41-50	0.600 $\pm$ 0.699		0.700 $\pm$ 0.823	
51-60	0.697 $\pm$ 0.960		0.712 $\pm$ 0.973	
61-70	0.841 $\pm$ 1.167		0.841 $\pm$ 1.167	
71-80	0.750 $\pm$ 1.193		0.800 $\pm$ 1.285	
81-90	1.500 $\pm$ 0.707		1.500 $\pm$ 0.707	
การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน		0.9021		0.8989
ไม่ได้รับ	0.783 $\pm$ 1.155		0.801 $\pm$ 1.182	
ได้รับ	0.763 $\pm$ 0.897		0.780 $\pm$ 0.911	
การสูบบุหรี่		0.0147		0.0068
ปัจจุบันยังสูบบุหรี่	0.529 $\pm$ 0.987		0.529 $\pm$ 0.987	
เคยสูบบุหรี่แต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	0.681 $\pm$ 1.080		0.681 $\pm$ 1.080	
ไม่เคยสูบบุหรี่	1.050 $\pm$ 1.050		1.100 $\pm$ 1.176	
การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น		0.0699		0.0936
ปัจจุบันยังได้รับอยู่	0.545 $\pm$ 0.925		0.571 $\pm$ 0.992	
เคยได้รับแต่ปัจจุบันไม่ได้รับแล้ว	0.907 $\pm$ 1.151		0.970 $\pm$ 1.151	
ไม่เคยได้รับ	0.895 $\pm$ 1.160		0.914 $\pm$ 1.169	
การดื่มแอลกอฮอล์		0.6099		0.3688
ปัจจุบันยังดื่มอยู่	0.744 $\pm$ 1.134		0.752 $\pm$ 1.139	
เคยดื่มแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	0.966 $\pm$ 1.210		1.069 $\pm$ 1.334	
ไม่เคยดื่ม	0.761 $\pm$ 0.955		0.761 $\pm$ 0.955	
การเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง		0.0076		0.0100
ปัจจุบันยังเคี้ยวอยู่	0.328 $\pm$ 0.606		0.349 $\pm$ 0.650	
เคยเคี้ยวแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	0.706 $\pm$ 0.920		0.706 $\pm$ 0.920	
ไม่เคยเคี้ยว	0.903 $\pm$ 1.175		0.921 $\pm$ 1.200	

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา

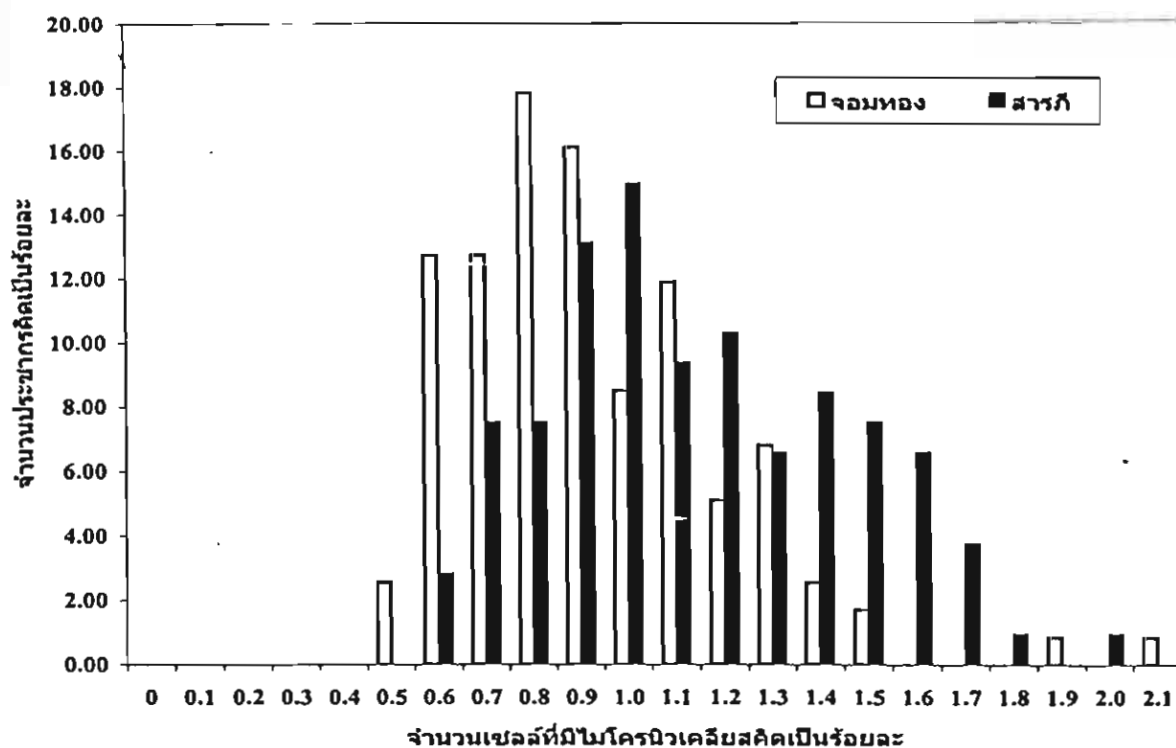
3. การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส

จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์เพื่อวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสในประชากรอำเภอสาร์ภีและอำเภोजอมทอง โดยการเติม Cytochalasin-B เพื่อยับยั้งกระบวนการแบ่งไซโทพลาซึมหลังจากแบ่งนิวเคลียส จากนั้นคำนวณหาค่าดัชนีการแบ่งนิวเคลียส จำนวนไมโครนิวเคลียสทั้งหมดที่พบใน 1,000 binucleated cells และจำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ แล้วจึงนำทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งสองอำเภอ โดยใช้ Mann-Whitney U test พบว่า ประชากรจากอำเภอสาร์ภีมีดัชนีการแบ่งเซลล์แตกต่างกับประชากรจากอำเภोजอมทองอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ทั้งสองประชากรมีจำนวนไมโครนิวเคลียสใน 1,000 binucleated cells และจำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ ประชากรที่อยู่ในอำเภอสาร์ภียังมีแนวโน้มการกระจายของจำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ มากกว่าในประชากรที่อยู่ในอำเภोजอมทองอีกด้วย (รูปที่ 2)

ตารางที่ 4 จำนวนไมโครนิวเคลียสในประชากรอำเภอสาร์ภีและอำเภोजอมทอง

	สารภี	จอมทอง	P-value [*]
	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	
จำนวนประชากร	107	118	
ดัชนีการแบ่งนิวเคลียส	1.491 $\pm$ 0.074	1.471 $\pm$ 0.112	P=.1759
จำนวนไมโครนิวเคลียสใน 1,000 binucleated cells	12.009 $\pm$ 3.570	9.992 $\pm$ 3.109	P<.0001
จำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียส คิดเป็นร้อยละ	1.141 $\pm$ 0.311	0.925 $\pm$ 0.277	P<.0001

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา



รูปที่ 2 การกระจายของจำนวน binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ

การวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่างๆ (ดังเช่นที่ได้กล่าวมาแล้ว) ต่อจำนวนไมโครนิวเคลียสที่พบใน 1,000 binucleated cells และจำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ โดยใช้การวิเคราะห์ ANOVA ในปัจจัยต่างๆ พบว่า ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสัมผัสสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น การดื่มแอลกอฮอล์และการเที่ยวเมียงหรือหมาก ไม่มีผลต่อจำนวนไมโครนิวเคลียสที่พบใน 1,000 binucleated cells และจำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ ในขณะที่เพศและการสูบบุหรี่ มีผลต่อจำนวนไมโครนิวเคลียสที่พบใน 1,000 binucleated cells และจำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าเพศหญิงมีจำนวนความผิดปกติทั้งสองแบบสูงกว่าในเพศชายอย่างมีนัยสำคัญ และการสูบบุหรี่มีผลต่อความผิดปกติดังกล่าวต่างกันระหว่างผู้ที่เลิกสูบบุหรี่แล้วกับผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่เท่า นั้น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนไมโครนิวเคลียส วิเคราะห์แยกกลุ่มตามปัจจัยต่างๆ

ปัจจัย	จำนวนไมโครนิวเคลียสที่พบใน 1,000 binucleated cells		จำนวนของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ	
	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน	P-value	มัธยฐาน $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน	P-value
	มาตรฐาน		มาตรฐาน	
เพศ		0.0037		0.0063
หญิง	11.566 $\pm$ 3.779		1.080 $\pm$ 0.342	
ชาย	10.223 $\pm$ 2.940		0.966 $\pm$ 0.262	
ช่วงอายุ		0.2428		0.3309
41-50 ปี	12.500 $\pm$ 4.696		1.150 $\pm$ 0.357	
51-60 ปี	11.197 $\pm$ 3.429		1.045 $\pm$ 0.294	
61-70 ปี	10.879 $\pm$ 3.406		1.026 $\pm$ 0.321	
71-80 ปี	10.550 $\pm$ 3.404		0.988 $\pm$ 0.308	
81-90 ปี	7.000 $\pm$ 0.000		0.700 $\pm$ 0.000	
การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน		0.5114		0.6542
ไม่ได้รับ	11.042 $\pm$ 3.600		1.033 $\pm$ 0.317	
ได้รับ	10.695 $\pm$ 3.125		1.012 $\pm$ 0.301	
การสูบบุหรี่		0.0374		0.0643
ปัจจุบันยังสูบบุหรี่	11.961 $\pm$ 3.435		1.116 $\pm$ 0.306	
เคยสูบแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	10.415 $\pm$ 2.868		0.991 $\pm$ 0.269	
ไม่เคยสูบบุหรี่	10.938 $\pm$ 4.020		1.014 $\pm$ 0.354	
การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่จากผู้อื่น		0.9067		0.9478
ปัจจุบันยังได้รับอยู่	10.909 $\pm$ 3.392		1.036 $\pm$ 0.303	
เคยได้รับแต่ปัจจุบันไม่ได้รับแล้ว	11.163 $\pm$ 4.123		1.028 $\pm$ 0.344	
ไม่เคยได้รับ	10.895 $\pm$ 3.281		1.021 $\pm$ 0.309	
การดื่มแอลกอฮอล์		0.4811		0.5232
ปัจจุบันยังดื่มอยู่	11.194 $\pm$ 3.516		1.048 $\pm$ 0.318	
เคยดื่มแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	10.621 $\pm$ 3.099		1.000 $\pm$ 0.280	
ไม่เคยดื่ม	10.627 $\pm$ 3.571		1.000 $\pm$ 0.316	
การเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง		0.3608		0.3505
ปัจจุบันยังเคี้ยวอยู่	11.302 $\pm$ 3.328		1.065 $\pm$ 0.289	
เคยเคี้ยวแต่ปัจจุบันเลิกแล้ว	9.882 $\pm$ 2.522		0.935 $\pm$ 0.212	
ไม่เคยเคี้ยว	10.970 $\pm$ 3.594		1.027 $\pm$ 0.326	

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา

4. การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยวิธี comet assay

4.1 การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอจาก untreated และ treated referent standard ซึ่งทำ electrophoresis ร่วมกับตัวอย่างเลือดของประชากรจากอำเภอสารภีและอำเภอจอมทองเสมอ เพื่อทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมให้แน่ใจว่าการทำ electrophoresis แต่ละครั้งไม่คลาดเคลื่อนจากกันมากนัก แล้วนำผลการวัด tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment มาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ยอมรับได้จากการทดลอง (De Boeck *et al.*, 2000) พบว่า ช่วงที่เหมาะสมในการยอมรับผลที่ได้จากการทดลองในชุดเดียวกัน ควรอยู่ในช่วงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 2 จากค่ามัธยฐาน ดังรูปที่ 3 และ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้อมูลส่วนใหญ่อยู่ในช่วงที่กำหนด มีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่อยู่นอกช่วงที่เหมาะสมแก่การยอมรับ สรุปได้ว่า การทำ electrophoresis ทั้งหมด มีความผันแปรระหว่างแต่ละการทดลองน้อย

4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของประชากรที่เตรียมไว้ 3 ชนิดในหัวข้อ 4.3.2 คือ peripheral blood (PB), stimulated peripheral blood (SPB) และ stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin (SPB-APC)

ข้อมูลที่ได้จัดแบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดที่หนึ่ง เป็นค่า tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment จากตัวอย่างประชากรทั้งหมด ชุดที่สอง เป็นค่า tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment จากตัวอย่างประชากร ซึ่งคัดเอาประชากรที่ค่าพารามิเตอร์ใดพารามิเตอร์หนึ่งหรือหลายพารามิเตอร์อยู่นอกช่วงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 2 จากค่ามัธยฐาน (ตารางที่ 6)

4.3 การทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ โดยใช้ Mann-Whitney U test เปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทั้ง 4 ชนิดที่วัดได้ จากข้อมูลประชากรทั้งสองชุด พบว่า ข้อมูลทั้งสองชุดในทุกพารามิเตอร์ให้ผลไปในแนวทางเดียวกัน กล่าวคือ มีเพียง tail length และ tail migration ที่วัดจาก peripheral blood (PB) เท่านั้น ที่ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่ม ในขณะที่การวัด tail intensity และ tail moment เห็นความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการวัดการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอจากเลือดอีกสองชนิด คือ stimulated peripheral blood (SPB) และ stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin (SPB-APC) พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่มจากการวัดพารามิเตอร์ทุกอย่าง (ตารางที่ 7, รูปที่ 5-8)

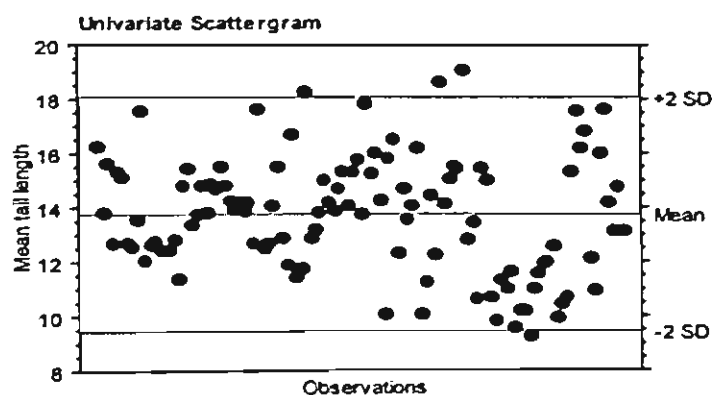
นอกจากนั้น ผลที่ได้ยังแสดงให้เห็นว่า การใช้เลือดต่างชนิดกันนั้น ไม่ได้ช่วยเพิ่มความไว (sensitivity) ในการตรวจวัด และจากการที่เห็นความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของปริมาณการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่างประชากรทั้งสองชุดนั้น อาจสรุปได้ว่า การใช้ peripheral blood เพียงชนิดเดียวในการวิเคราะห์น่าจะเพียงพอสำหรับการติดตามผลทางชีวภาพ เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว ไม่ต้องใช้สารเคมีที่มีราคาแพงเหมือนการตรวจโดยใช้ stimulated peripheral blood และ stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin

ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ จากพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการวัด แสดงให้เห็นว่าประชากรทั้งสองอำเภอมีกความแตกต่างจากกันเพียงค่า tail length (รูปที่ 5) และ tail migration (รูปที่ 6) ที่วัดจาก peripheral blood เท่านั้น ส่วนที่วัดจากเลือดชนิดอื่นด้วย parameter อื่น ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ข้อมูลจากประชากรทั้งหมดหรือจากข้อมูลของประชากรที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับจากการทำ referent standard ให้ผลเหมือนกันแสดงให้เห็นว่าการทดลองมีความเที่ยงตรงสูง โดยมีการกระจายของข้อมูลจากประชากรทั้งหมด และจากประชากรที่ข้อมูลอยู่ในช่วงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 2 จากค่ามัธยฐาน (ใช้ referent standard) เป็นไปในแนวทางเดียวกัน และค่ามัธยฐานของข้อมูลทั้งสองชุดก็มีค่าใกล้เคียงกัน ในลักษณะที่ข้อมูลชุดหลังมีค่าที่เบี่ยงเบนมาก (outlier) ในประชากรจำนวนน้อยกว่าในชุดแรก

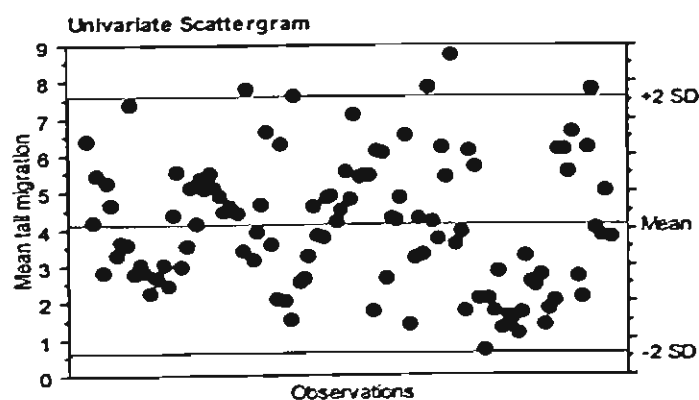
รูปที่ 3

ช่วงที่เหมาะสมในการยอมรับผลที่ได้จากการทดลองในชุดเดียวกันของ untreated referent standard

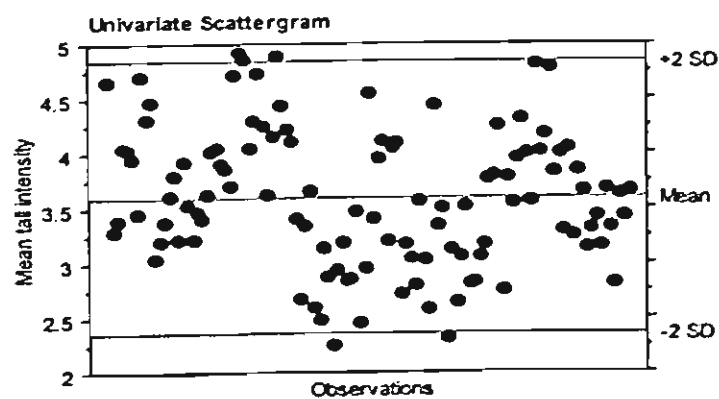
(ก)



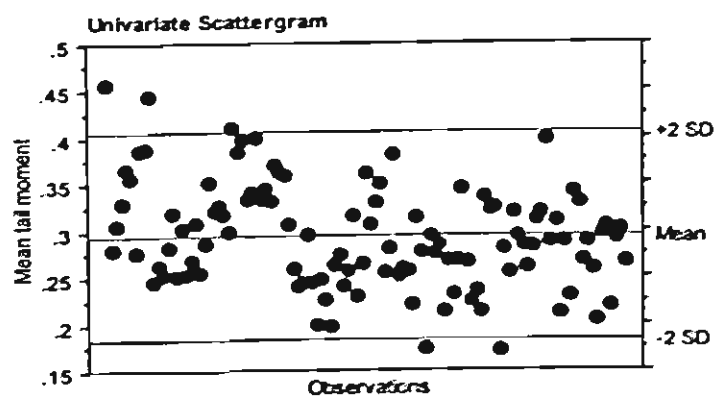
(ข)



(ค)



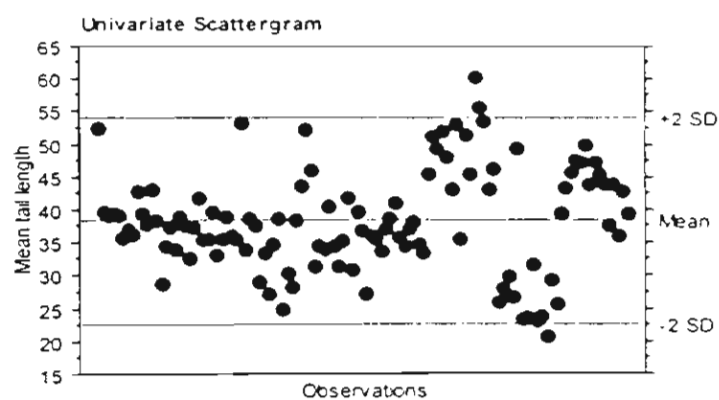
(ง)



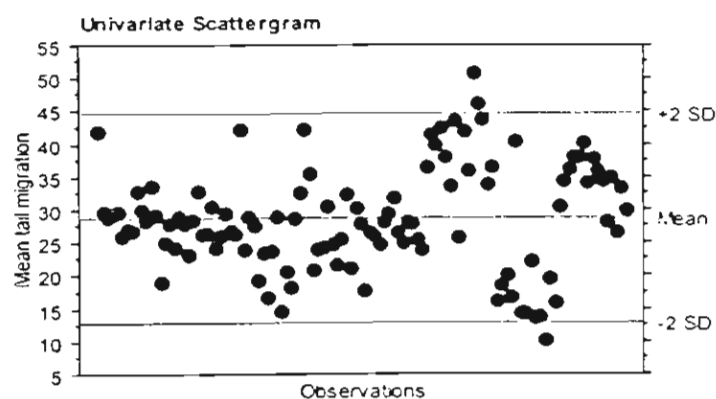
รูปที่ 4

ช่วงที่เหมาะสมในการยอมรับผลที่ได้จากการทดลองในชุดเดียวกันของ treated referent standard

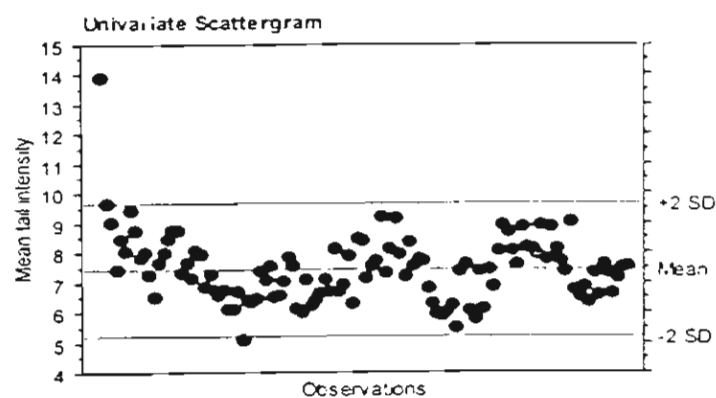
(n)



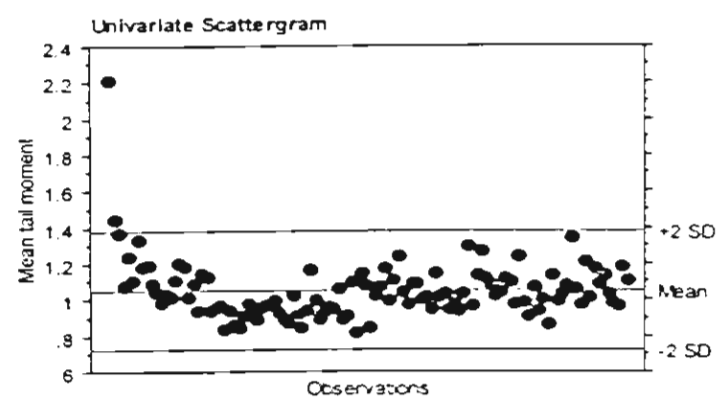
(ง)



(ค)



(จ)



ตารางที่ 6 ผลการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอวัดด้วยพารามิเตอร์ต่างๆจาก
(ก) ประชากรทั้งหมด
(ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)

ประชากร	ชนิดของเลือด	Tail length	Tail migration	Tail intensity	Tail moment
สารภี (n=91)	PB	14.638 ± 4.650	3.886 ± 3.777	3.387 ± 0.867	0.297 ± 0.168
	SPB	25.538 ± 5.747	14.231 ± 5.203	7.639 ± 7.639	1.060 ± 0.518
	SPB-APC	30.322 ± 6.502	18.904 ± 5.941	9.057 ± 1.984	1.371 ± 0.493
จอมทอง (n=94)	PB	12.895 ± 1.944	2.663 ± 1.615	3.368 ± 0.509	0.252 ± 0.054
	SPB	24.926 ± 5.618	13.796 ± 5.444	7.372 ± 1.730	0.943 ± 0.356
	SPB-APC	30.959 ± 6.700	19.764 ± 6.396	9.389 ± 2.053	1.384 ± 0.478

(ข)

ประชากรที่ศึกษา	ชนิดของเลือด	Tail length	Tail migration	Tail intensity	Tail moment
สารภี (n=73)	PB	13.818 ± 2.610	3.257 ± 2.181	3.341 ± 0.788	0.277 ± 0.112
	SPB	25.205 ± 4.940	13.914 ± 4.631	7.385 ± 2.144	1.005 ± 0.435
	SPB-APC	29.720 ± 6.151	18.393 ± 5.615	8.869 ± 1.911	1.324 ± 0.463
จอมทอง (n=86)	PB	12.830 ± 1.926	2.609 ± 1.591	3.387 ± 0.508	0.254 ± 0.055
	SPB	25.179 ± 5.770	14.092 ± 5.559	7.473 ± 1.745	0.959 ± 0.364
	SPB-APC	31.339 ± 6.807	20.171 ± 6.461	9.480 ± 2.076	1.406 ± 0.486

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบทางสถิติโดย Mann-Whitney U test จาก
(ก) ประชากรทั้งหมด
(ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)

ชนิดของเลือด	Tail length	Tail migration	Tail intensity	Tail moment
PB	P=0.0004	P=0.0050	P=0.2258	P=0.1509
SPB	P=0.3915	P=0.4084	P=0.9540	P=0.1793
SPB-APC	P=0.4958	P=0.4250	P=0.3323	P=0.8605

(ข)

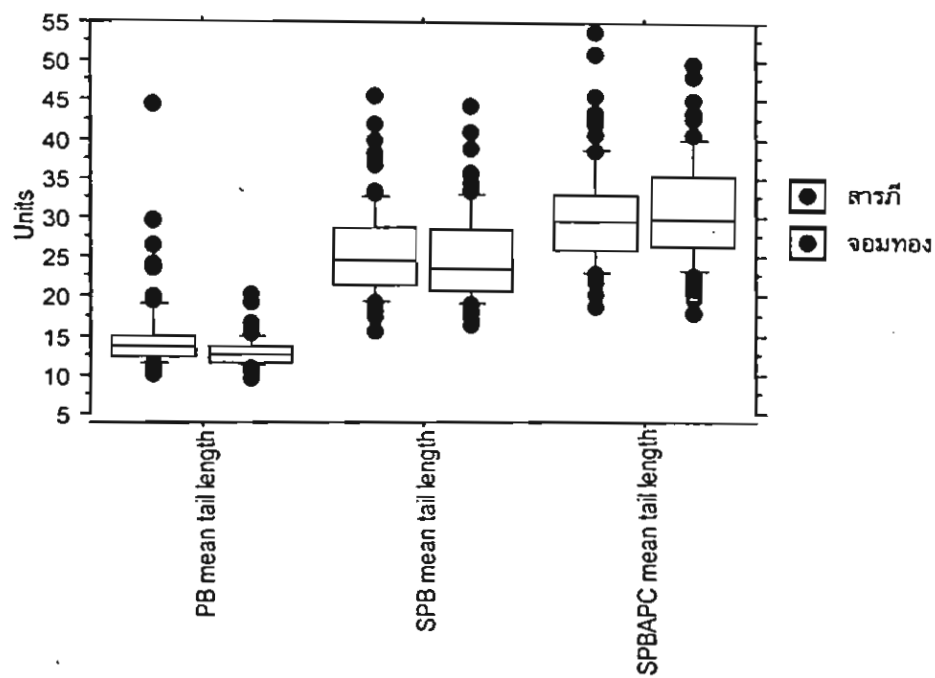
ชนิดของเลือด	Tail length	Tail migration	Tail intensity	Tail moment
PB	P=0.0031	P=0.0272	P=0.1381	P=0.4981
SPB	P=0.6885	P=0.8196	P=0.2569	P=0.6707
SPB-APC	P=0.1215	P=0.0900	P=0.0871	P=0.3246

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา

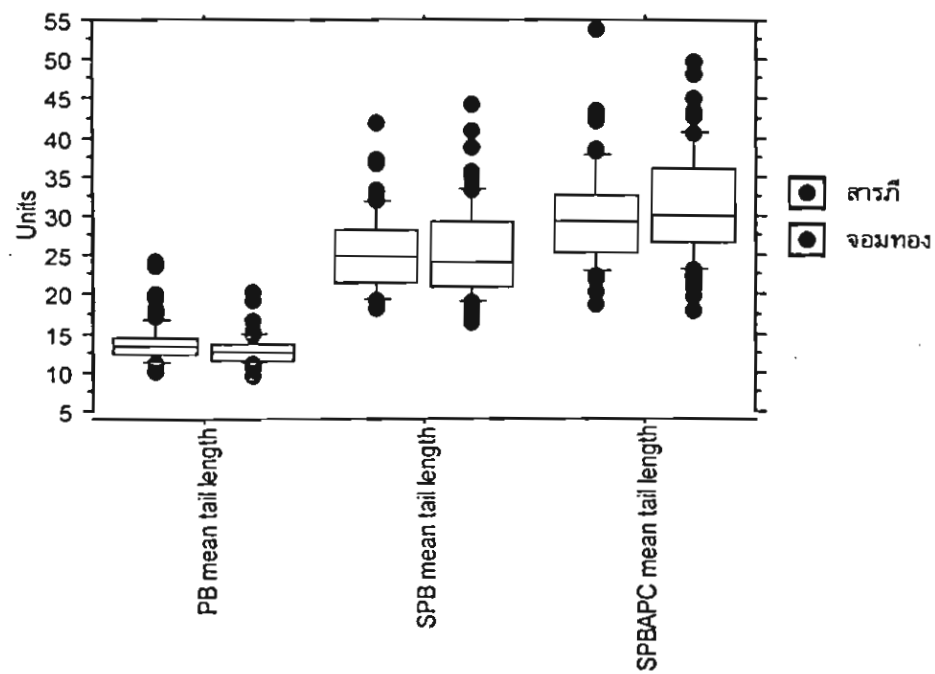
รูปที่ 5 กราฟเปรียบเทียบ tail length ที่วัดจาก

(ก) ประชากรทั้งหมด และ (ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)



(ข)

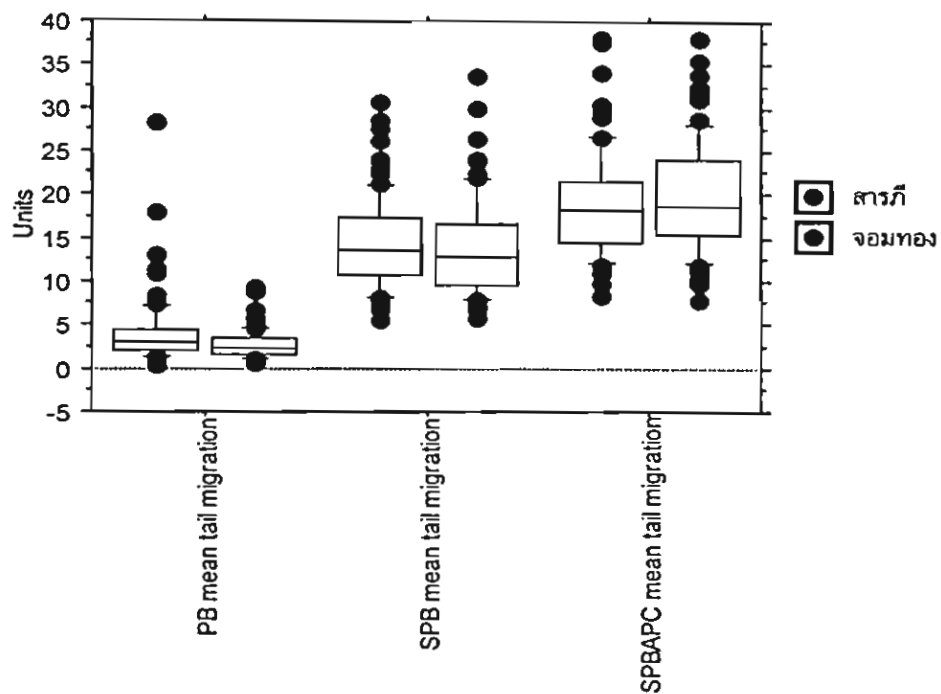


รูปที่ 6

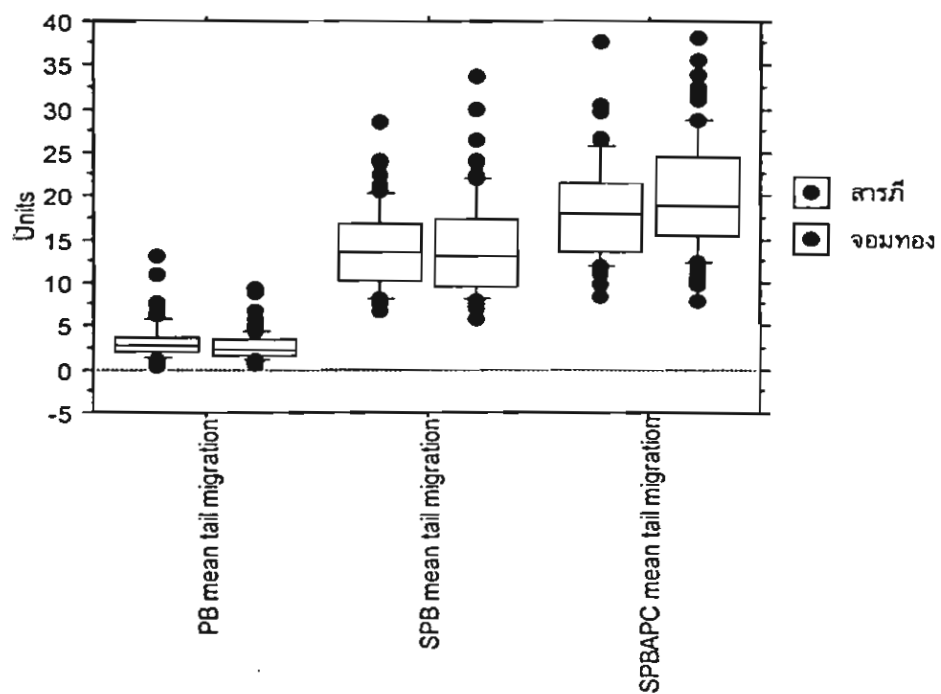
กราฟเปรียบเทียบ tail migration ที่วัดจาก

(ก) ในประชากรทั้งหมดและ (ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)



(ข)

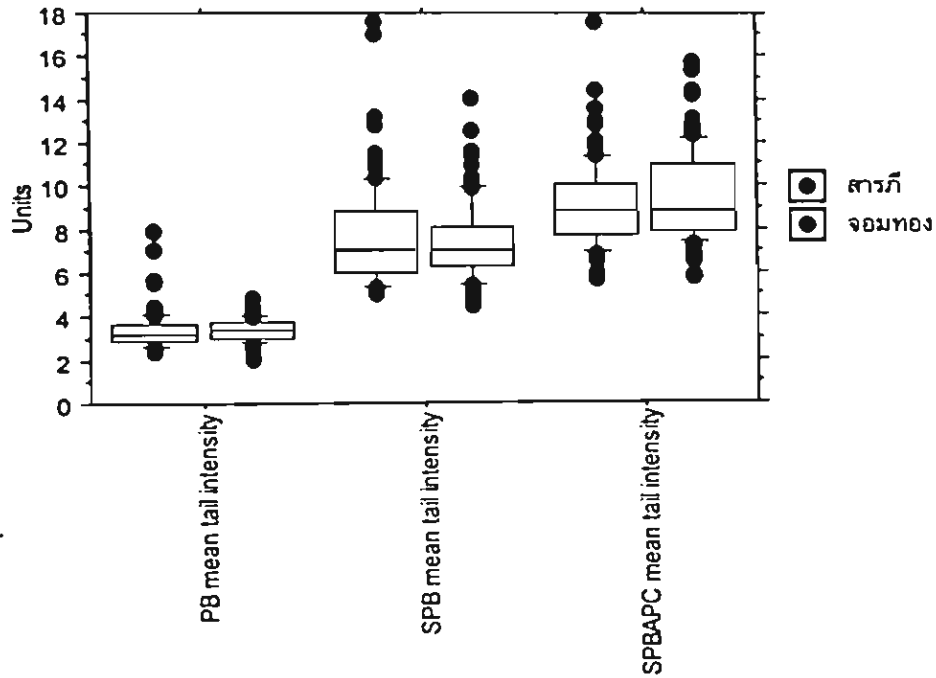


รูปที่ 7

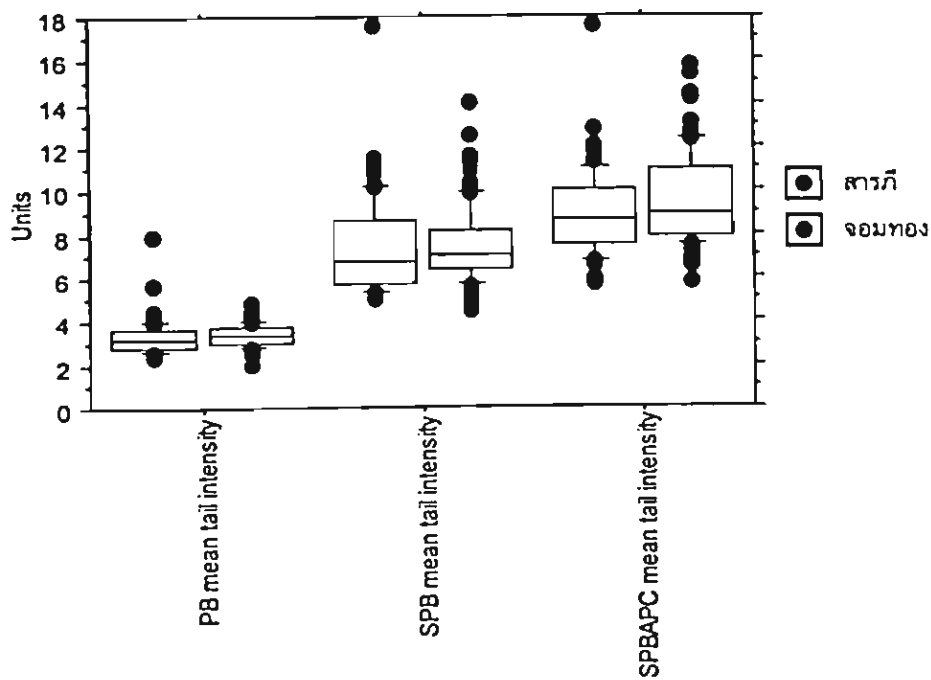
กราฟเปรียบเทียบ tail intensity ที่วัดจาก

(ก) ประชากรทั้งหมดและ (ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)



(ข)

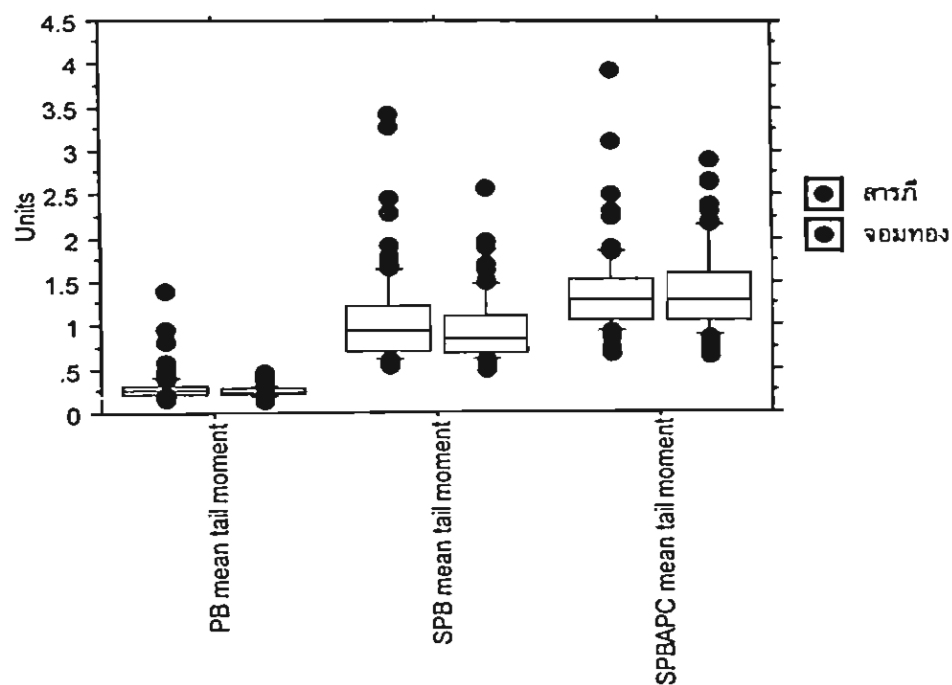


รูปที่ 8

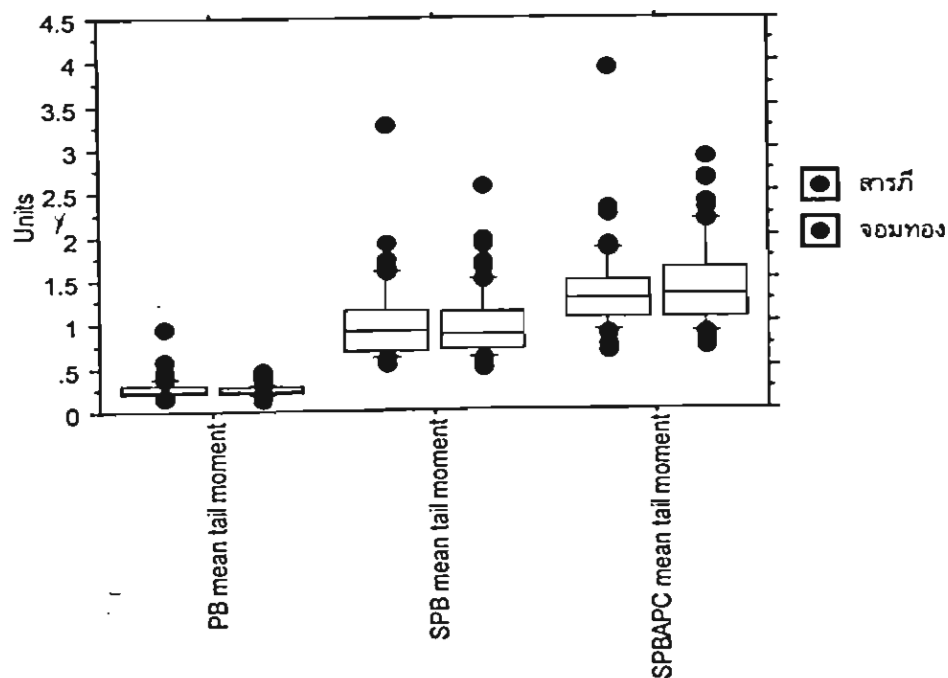
กราฟเปรียบเทียบ tail moment ที่วัดจาก

(ก) ประชากรทั้งหมดและ (ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)



(ข)



4.4 จากผลในข้อ 4.3 ซึ่งพบว่าประชากรทั้งสองอำเภอมีความแตกต่างจากกันเพียงที่ค่า tail length และ tail migration ที่วัดจาก peripheral blood (PB) เท่านั้น จึงนำผลของค่าดังกล่าวมาวิเคราะห์ ANOVA ของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูบบุหรี่ การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น การดื่มแอลกอฮอล์ และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง โดยวิเคราะห์จากข้อมูลของประชากรทั้งหมดและจากข้อมูลของประชากรที่ค่าซึ่งวัดโดยทุกพารามิเตอร์อยู่ในช่วงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 2 จากค่ามัธยฐาน ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลของปัจจัยต่างๆ ต่อปริมาณการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอใน PB วัดทุกพารามิเตอร์จาก (ก) ประชากรทั้งหมด (ข) ประชากรที่คัดเลือกดังข้อ 4.2

(ก)				
ปัจจัย	Tail length	Tail migration	Tail Intensity	Tail moment
เพศ	P=0.3599	P=0.3282	P=0.9024	P=.7253
ช่วงอายุ	P=0.3788	P=0.5022	P=0.7345	P=0.6064
การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน	P=0.0120	P=0.0521	P=0.9647	P=0.2589
การสูบบุหรี่	P=0.0567	P=0.0745	P=0.9464	P=0.3165
การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น	P=0.1131	P=0.1547	P=0.9224	P=0.4682
การดื่มแอลกอฮอล์	P=0.4273	P=0.5204	P=0.3449	P=0.3396
การเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง	P=0.5540	P=0.4639	P=0.0387	P=0.1452

(ข)				
ปัจจัย	Tail length	Tail migration	Tail Intensity	Tail moment
เพศ	P=0.1407	P=0.1425	P=0.2419	P=0.1102
ช่วงอายุ	P=0.9997	P=0.9814	P=0.5913	P=0.8627
การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน	P=0.6449	P=0.8028	P=0.3505	P=0.6231
การสูบบุหรี่	P=0.0542	P=0.1205	P=0.6067	P=0.8349
การได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่ของผู้อื่น	P=0.1223	P=0.1933	P=0.2108	P=0.6003
การดื่มแอลกอฮอล์	P=0.7484	P=0.2171	P=0.2073	P=0.1235
การเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง	P=0.6314	P=0.5257	P=0.0734	P=0.1670

* P-value ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงด้วยอักษรตัวหนา

4.5 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation analysis) ของข้อมูลที่ได้จาก genetic endpoint ทั้งสามชนิด คือ ความผิดปกติของโครโมโซม ไมโครนิวเคลียส กับการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ที่วัดด้วยพารามิเตอร์ต่างๆ พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมกับการวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสเท่านั้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมกับการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยวิธี comet assay และ ระหว่างการวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสกับการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยวิธี comet assay โดยพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ มีความสัมพันธ์กับจำนวน binucleated cells ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ ที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.666 และ จำนวนโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ มีความสัมพันธ์ กับจำนวน binucleated cells ที่มีไมโครนิวเคลียสคิดเป็นร้อยละ ที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.669 ตามลำดับ

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามผลทางชีวภาพ (biomonitoring) โดยใช้ genetic endpoint ต่างๆ ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค comet assay (alkaline single cell gel electrophoresis) ของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากมีรายงานว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูง

รายงานการวิจัยที่ผ่านมาระบุว่า การสูบบุหรี่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งปอดในผู้ชาย แต่การสูบบุหรี่ไม่มียาลอยอย่างมีนัยสำคัญกับการเกิดมะเร็งปอดในผู้หญิง (Martin *et al.*, 1993; Parkin *et al.*, 1992; Simarak *et al.*, 1977; Vatanasapt *et al.*, 1995) สำหรับในประชากรจังหวัดเชียงใหม่ยังพบว่า การเคี้ยวเมี่ยงซึ่งทำจากใบชาหมักมีส่วนเพิ่มโอกาสของการเกิดมะเร็งปอด และจากการสำรวจในปี 1998 พบว่า สตรีที่อาศัยในเขตอำเภอสารภีมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปอดมากที่สุด (41.9 คนในประชากรเพศหญิง 100,000 คน) รองลงมาคือสตรีที่อาศัยในอำเภอสันทราย หางดง และดอยสะเก็ด ตามลำดับ ส่วนอำเภอที่มีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งปอดในเพศหญิงน้อยที่สุด คือ อำเภอจอมทอง (8.5 คนในประชากรเพศหญิง 100,000 คน) (Srisukho and Lowidhaya, 1998) ในขณะที่ประชากรสตรีทั่วประเทศไทยมีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดเฉลี่ย 12.1 คนในประชากรเพศหญิง 100,000 คน และในประเทศใกล้เคียง เช่น ประเทศญี่ปุ่น อินเดีย ฟิลิปปินส์ และจีน พบอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดเพียง 11.7, 3.0, 16.3 และ 18.1 ในประชากร 100,000 คน ตามลำดับ และแม้เมื่อพิจารณาจากสตรีเชื้อชาติจีนที่มีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูง เช่น ในสิงคโปร์ ฮองกง และเทียนจิน แล้ว (21.9, 32.6 และ 33.2 ในประชากร 100,000 คน ตามลำดับ) ก็ยังพบว่าสตรีดังกล่าวมีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดต่ำกว่าสตรีในอำเภอสารภี

จากโครงการความร่วมมือระหว่างสถาบันมะเร็ง Saitama ประเทศญี่ปุ่น กับคณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดย Nakachi และคณะ (1999) ซึ่งทำงานวิจัยด้านระบาดวิทยาของมะเร็งปอดในจังหวัดเชียงใหม่ โดยศึกษาลักษณะชีวิตความเป็นอยู่ ตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ จากซีรัมและปัสสาวะ ตรวจหาเชื้อราและแบคทีเรียในอากาศและในบ้านเรือนของสตรีที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูง (อำเภอสารภี) เปรียบเทียบกับสตรีที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอุบัติการณ์ต่ำ (อำเภอจอมทอง) พบว่าสตรีในอำเภอสารภีสูบบุหรี่และสัมผัสควันบุหรี่จากสามีน้อยกว่าสตรีในอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบเชื้อรา *M. canis* มากกว่าในบ้านของสตรีที่อำเภอสารภี ซึ่งมีประวัติการเป็นโรคระบบทางเดินหายใจ อีกทั้งยังพบสารก่อมะเร็งในปัสสาวะของสตรีจากอำเภอสารภีซึ่งมีประวัติการเป็นโรคระบบทางเดินหายใจอีกด้วย แต่ไม่มีความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้ในสตรีจากอำเภอจอมทอง

ในโครงการวิจัยเดียวกัน Sone และคณะ (1998) ศึกษาลักษณะการบริโภคอาหารในประชากรทั้งสองอำเภอพบว่าสตรีในอำเภอสารภีและอำเภोजอมทองบริโภคอาหารที่ไม่แตกต่างกัน คือ บริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก และประมาณ 40% ของสตรีจากทั้งสองอำเภอบริโภคหมู ปลา ไข่ ผัก ผลไม้ แต่สตรีในอำเภอสารภีบริโภคผักและผลไม้มากกว่า ส่วนน้ำที่ใช้สำหรับบริโภคนั้น พบว่ามีโลหะหนักและสารหนูอยู่ในค่ามาตรฐานที่ปลอดภัยต่อสุขภาพ

จากข้อมูลทีกล่าวนมาแล้วจะเห็นได้ว่า ปัจจัยสำคัญที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพและอาจเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง คือ สภาพแวดล้อมที่มีมลภาวะ เช่น มลภาวะในอากาศจากการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชหรือจากการเผาไหม้เป็นประจำ ซึ่งทำให้ผู้อยู่อาศัยในอำเภอสารภีและอำเภोजอมทองมีโอกาสเสี่ยงต่างกันในการเป็นมะเร็งปอด

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะติดตามผลทางชีวภาพของประชากรในอำเภอทั้งสอง และนำมาเปรียบเทียบเพื่อประเมินว่าผู้ที่อยู่อาศัยในสิ่งแวดล้อมที่ทำให้เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งปอดสูงต่ำต่างกันนั้น จะมีความผิดปกติของสารพันธุกรรมต่างกันหรือไม่ อย่างไร โดยใช้เทคนิคทางพันธุพิษวิทยา (genotoxicology) หลายๆ วิธีประกอบกัน ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส กับการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค comet assay เพื่อประเมินความเสี่ยงของประชากร เป็นการช่วยเตือนภัยให้กับประชากรที่ยังไม่เป็นโรค จะได้ป้องกันและดูแลสุขภาพของตนเองให้เข้มงวดยิ่งขึ้นก่อนที่จะเกิดอันตรายต่อสุขภาพ

งานวิจัยนี้ใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวในการวิเคราะห์ทั้งหมด เนื่องจากเหตุผลหลายประการคือ มีรายงานว่า การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง (Bonassi *et al.*, 1995; Hahmar *et al.*, 1994; Smerhovsky *et al.*, 2002) ส่วนการวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสนั้นนิยมนำมาใช้ในการติดตามผลทางชีวภาพ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ไม่ยุ่งยาก รวดเร็ว ไม่ต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญในการวิเคราะห์เหมือนกับการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม และสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งการแตกหักทั้งโครโมโซมหรือเพียงบางชิ้นส่วน (Fenech, 1993; Fenech, 1997; Fenech, 2000) ส่วนเทคนิค comet assay ซึ่งในปัจจุบัน มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการติดตามผลทางชีวภาพของประชากรกลุ่มที่สัมผัสกับสารเคมีหรือรังสีเป็นประจำ (Carere *et al.*, 2002; Crebelli *et al.*, 2002; Somorovská *et al.*, 1999) เนื่องจากสามารถวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอทั้งจากเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือเซลล์ที่สัมผัสกับสิ่งที่ก่อให้เกิดการแตกหักโดยตรงได้

1. การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม

ผลการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมจากประชากรอำเภอสารภี (มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูง) (สารภี) กับประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภोजอมทอง (มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดต่ำ) พบว่า ประชากรจากอำเภอสารภีมีค่าเฉลี่ยมัธยฐาน (mean) ของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคิดเป็นร้อยละ และจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติคิดเป็นร้อยละน้อยกว่าประชากรจากอำเภोजอมทองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลที่ได้ตรงกันข้ามกับสมมุติฐานที่คาดว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสารภีน่าจะมีโครโมโซมผิดปกติมากกว่า แสดงว่าจำนวนโครโมโซมผิดปกติกับการทำนายโอกาสในการเกิดมะเร็งยังมีความขัดแย้งกันอยู่ เห็นได้จากการที่มีบางรายงานระบุแน่ชัดว่าการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์ร่างกายมนุษย์ที่วิเคราะห์จากลิมโฟไซต์ มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง (Bonassi *et al.*, 1995; Hahmar *et al.*, 1994) ในขณะที่งานวิจัยบางเรื่องไม่พบเกี่ยวกับความสัมพันธ์ที่แน่ชัดระหว่างการติดตามผลทางชีวภาพในลิมโฟไซต์โดยใช้ cytogenetic endpoint จาก การเกิดมะเร็ง (Dulout *et al.*, 1996; Smerhovsky *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตาม การติดตามผลทางชีวภาพโดยใช้การวิเคราะห์ความผิดปกติ

ของโครโมโซมในกลุ่มประชากรที่ได้รับสารพิษก็ยังคงเป็นที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน (Davies *et al.*, 1998; Perera *et al.*, 1992; Hüttner *et al.*, 1999)

การวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่างๆ (confounding factor) ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง จะทำให้เกิดโครโมโซมผิดปกติหรือไม่ พบว่า การสูบบุหรี่และการเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากมีผลต่อจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมในกลุ่มประชากรที่ศึกษา โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่กับผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ แต่ผลของการสูบบุหรี่ในการติดตามผลทางชีวภาพจากนักวิจัยกลุ่มต่างๆ ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน เนื่องจากบางงานวิจัยพบความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่กับความผิดปกติของโครโมโซม (Stephan and Pressl, 1999) แต่บางกลุ่มไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่กับความผิดปกติของโครโมโซม (Perera and Whyatt, 1994; Kasuba *et al.*, 1995; Van Diemen *et al.*, 1995; Gonsebatt *et al.*, 1997)

สำหรับการวิเคราะห์ผลของการเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากในงานวิจัยนี้ พบว่ามีโครโมโซมแตกต่างกันระหว่างผู้ที่ยังเคี้ยวหมากกับผู้ที่ไม่เคยเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง แต่การศึกษาผลของการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยงมีผู้ทำน้อย เพราะการเคี้ยวหมากและเมี่ยงเป็นลักษณะเฉพาะของประชากรในบางประเทศและบางช่วงอายุเท่านั้น ซึ่งจากการวิจัยของ Simarak *et al.* (1977) เกี่ยวกับการเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากในผู้ที่อาศัยทางภาคเหนือของประเทศไทย พบความสัมพันธ์ของการเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากกับการเกิดมะเร็งที่คอหอย (Pharynx) ส่วนในประเทศอินเดียมีการศึกษาโดย Mahimkar *et al.* (2001) ถึงผลการเคี้ยว Mava หรือ Gudakhu ซึ่งประกอบด้วยใบยาสูบเป็นหลัก มักเคี้ยวร่วมกับหมากหรือกากน้ำตาล ผลการทดลองพบว่าประชากรที่เคี้ยว Mava หรือ Gudakhu เป็นประจำจะมีจำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติของโครโมโซมมากกว่าผู้ที่ไม่ได้เคี้ยว

2. การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส

การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียสระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่มพบว่า ได้ผลการทดลองขัดแย้งกับผลการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม แต่ทว่าสอดคล้องกับอัตราการเกิดมะเร็งปอด นั่นคือ ประชากรจากอำเภอสารภี (มีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูง) มีทั้งจำนวนไมโครนิวเคลียสใน 1,000 binucleated cells และร้อยละของ binucleated cell ที่มีไมโครนิวเคลียส มากกว่าประชากรจากจอมทอง (มีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดต่ำ) อย่างมีนัยสำคัญ จากการทบทวนเอกสารพบว่าจำนวนไมโครนิวเคลียสในประชากรที่สัมผัสกับสารเคมี มักจะมีค่าสูงกว่ากลุ่มเปรียบเทียบกับหรือกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสกับสารเคมีเสมอ (Davies *et al.*, 1998; Lacero *et al.*, 2000; Velglenov *et al.*, 1998)

ส่วนปัจจัยอื่นๆที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเพศ และการสูบบุหรี่มีผลต่อจำนวนไมโครนิวเคลียส โดยประชากรเพศหญิงจะมีจำนวนไมโครนิวเคลียสสูงกว่าในเพศชาย และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผู้ที่เลิกสูบบุหรี่กับผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่ในทั้งสองเพศ อย่างไรก็ตาม ผลของการสูบบุหรี่ก็ยังมาสามารถสรุปได้แน่นอน เนื่องจากบางงานวิจัยพบความสัมพันธ์ของการสูบบุหรี่ (Da Cruz *et al.*, 1994; Holmen *et al.*, 1995; Tomanin *et al.*, 1991) แต่บางงานไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กัน (Ban *et al.*, 1993; Migliore *et al.*, 1991) นอกจากนั้น จากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ได้แก่ เพศ อายุ และการดื่มแอลกอฮอล์ กล่าวคือ จากงานวิจัยในประชากรที่อาศัยในยุโรปโดย Bonassi *et al.*, 2000 และ Carbonell *et al.*, 1993 พบว่า เพศ อายุ ไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนไมโครนิวเคลียส ในขณะที่รายงานส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่า เพศ อายุ มีความสัมพันธ์กับจำนวนไมโครนิวเคลียส (Barale *et al.*, 1998; Ballardin *et al.*, 2002; Bukvic *et al.*, 2001; Davies *et al.*, 1998; Titenko-Holland *et al.*, 1997) โดยจำนวนไมโคร

นิวเคลียสจะเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ และผู้หญิงจะมีจำนวนไมโครนิวเคลียสมากกว่าในเพศชาย (Bolognesi *et al.*, 1993) ส่วนการดื่มแอลกอฮอล์ พบว่าไม่มีผลต่อโครโมโซมและการเกิดไมโครนิวเคลียส (Maffei *et al.*, 2002)

ส่วนตัวบ่งชี้อีกอย่างหนึ่งที่ใช้ในการติดตามผลทางชีวภาพ คือ อัตราการแบ่งเซลล์ (ดัชนีการแบ่งเซลล์ และดัชนีการแบ่งนิวเคลียส) ให้ผลดังนี้ จากผลการทดสอบทางสถิติพบว่า ดัชนีการแบ่งเซลล์ในประชากรที่อาศัยในอำเภอสารภี มีค่าต่ำกว่าประชากรที่อาศัยในอำเภอจอมทองอย่างมีนัยสำคัญ แต่ดัชนีการแบ่งนิวเคลียสแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งจากการทบทวนเอกสารได้ข้อมูลว่า การสัมผัสกับสารเคมีบางชนิดมีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง (Bogin *et al.*, 1976) เนื่องจากสารเคมีเหล่านั้นมีผลต่อเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA synthesis) หรือกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) นอกจากนั้นอายุก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้อง โดยระบบภูมิคุ้มกันของผู้ที่มีอายุมากจะตอบสนองต่อกระบวนการกระตุ้นการแบ่งเซลล์น้อยลง (Fenech *et al.*, 1999) นอกจากนั้นความผันแปรในกระบวนการทดลอง (experimental variables) ก็มีส่วนในการทำให้การวิเคราะห์ดัชนีการแบ่งเซลล์และดัชนีการแบ่งนิวเคลียสเปลี่ยนแปลงไปได้

3. การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยวิธี comet assay

การวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอโดยวิธี comet assay ในสภาวะที่เป็นด่างสูง (pH>13) เป็นวิธีที่นำมาใช้ในการติดตามผลทางชีวภาพในกลุ่มประชากรที่สัมผัสกับสารพิษหรืออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีมลพิษสูงอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (Kassie *et al.*, 2000; Singh, 1997; Somorovská *et al.*, 1999) เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้ตรวจได้ทั้งจากเซลล์เม็ดเลือดขาวและจากเซลล์ต่างๆ ที่สัมผัสกับสารเคมีโดยตรง เช่นเซลล์เยื่อบุโพรงจมูก เซลล์เยื่อบุข้างแก้ม และยังใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นสำหรับการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีอื่นๆ นอกจากนั้น เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอได้ครอบคลุมมากที่สุด คือสามารถตรวจหาความเสียหายของดีเอ็นเอทั้งสายเดี่ยวและสายคู่ที่เกิดการแตกหัก ดีเอ็นเอบริเวณที่ง่ายต่อการแตกหัก (labile site) ดีเอ็นเอบริเวณที่มีการจับกันของดีเอ็นเอกับโปรตีน (DNA-protein cross link) หรือดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอ (DNA-DNA cross link) (Speit and Hartmann, 1999) และกระบวนการ apoptosis ด้วย (Singh *et al.*, 2000)

การวิเคราะห์ปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคนี้ ทำได้ 2 วิธี วิธีแรกคือ วัดความยาวและความเข้มของส่วนที่มีลักษณะเหมือนหาง ซึ่งก็คือดีเอ็นเอที่แตกหักและสลายที่เคลื่อนที่ออกมาหลังจากผ่านกระบวนการ electrophoresis โดยดูด้วยสายตาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แล้วแบ่งเป็นระดับ 0 ถึง 4 ตามความเข้มและความยาวของส่วนที่เป็นหางนั้น ในกรณีผู้วิเคราะห์จะต้องมีทักษะและมีเกณฑ์ในการวิเคราะห์เป็นอย่างดี (Kobayashi *et al.*, 1995) ส่วนอีกวิธีหนึ่งคือ การใช้เครื่องวิเคราะห์ภาพอัตโนมัติ ซึ่งสามารถวัดออกมาได้เป็นตัวเลขที่แท้จริง พารามิเตอร์ที่นิยมใช้วัดการแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ ได้แก่ tail length (Collin *et al.*, 1997), tail intensity (Collin *et al.*, 1996) และ tail moment (Hartmann *et al.*, 1998)

อย่างไรก็ตาม การวัดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ภาพอัตโนมัติยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอนว่า พารามิเตอร์ใดมีความเหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์และแปลผล เนื่องจากเกณฑ์ของแต่ละพารามิเตอร์แตกต่างกัน กล่าวคือ tail length จะแสดงปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอที่วัดโดยใช้ความยาวของหางเป็นหลัก ในขณะที่ tail intensity แสดงถึงปริมาณความเข้มของดีเอ็นเอที่อยู่ในส่วนหางเมื่อเทียบกับปริมาณความเข้มของดีเอ็นเอในส่วนหัว ส่วน tail moment แสดงถึงปริมาณของดีเอ็นเอโดยพิจารณาทั้งส่วนที่เป็นความยาวและพิจารณาจากปริมาณในส่วนหาง (Fairbairn *et al.*, 1995)

การวิเคราะห์ปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอ พบว่าค่าที่ได้จากทุกพารามิเตอร์ที่วัดด้วยเครื่องวิเคราะห์ภาพอัตโนมัติ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่ม มีข้อสังเกตเมื่อพิจารณาคุณลักษณะ

ของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ไม่ได้กระตุ้นให้มีการแบ่งเซลล์พบว่าเซลล์มีการแตกหักน้อย สังเกตได้จากส่วนหางมีความยาวและความเข้มข้นน้อย อธิบายได้ว่า ปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความยาวของหางจากการวัด tail length และ tail migration (รูปที่ 5 และ 6) ซึ่งโดยปกติค่าทั้งสองนี้จะสัมพันธ์โดยตรงกับความยาวของหางจนถึงการแตกหักของดีเอ็นเอที่ระดับหนึ่ง แต่เมื่อดีเอ็นเอแตกหักเกินระดับดังกล่าว ความยาวของส่วนหางจะไม่เพิ่มแต่ความเข้มข้นของส่วนหางจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามปริมาณดีเอ็นเอที่แตกหัก จนกระทั่งเซลล์นั้นตาย ซึ่งสามารถสังเกตได้จากเซลล์ที่มีแต่ส่วนที่เป็นหางแต่ไม่มีส่วนที่เป็นหัว

สำหรับงานวิจัยนี้ ใช้เครื่องวิเคราะห์ภาพอัตโนมัติในการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายของดีเอ็นเอระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่มโดยใช้เลือดที่เตรียมต่างกัน 3 วิธี คือเตรียมจาก (n) peripheral blood (PB), stimulated peripheral blood (SPB) และจาก stimulated peripheral blood ที่เติมสาร aphidicolin (SPB-APC) ค่าที่วิเคราะห์วัดได้คือ tail length, tail migration, tail intensity และ tail moment ซึ่งพบว่าค่า tail length และ tail migration เท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่ม เมื่อเตรียมจากเลือดแบบ peripheral blood (PB)

มีรายงานการวิจัยที่ใช้เลือดที่เตรียมโดยวิธีต่างๆในการติดตามผลทางชีวภาพ ได้แก่งานวิจัยของ Crebelli *et al.*, 2002 ที่ทำการติดตามผลทางชีวภาพในคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมอะลูมิเนียมโดยใช้การวิธี comet assay จากตัวอย่างเลือดที่ได้จากการเตรียม 3 แบบดังกล่าว แต่ในการเตรียมเลือดแบบสุดท้าย เติมสาร cytosine arabinoside ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอชนิดหนึ่ง (แทนที่จะใช้สาร aphidicolin เช่นในการทดลองนี้) การกระตุ้นให้ลิโมนโฟไซด์แบ่งเซลล์เพื่อต้องการให้เซลล์เกิดกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอนั้นเอง ดังนั้นเราจึงสามารถทราบว่าดีเอ็นเอของลิโมนโฟไซด์มีการแตกหักมากหรือน้อยจากการวัดจากเลือดที่เติม cytosine arabinoside จากผลการวิจัย Crebelli และคณะ พบว่าคนงานที่สัมผัสกับสารประกอบของอะลูมิเนียมเป็นประจำ มีการแตกหักของดีเอ็นเอที่วัดด้วยค่า tail moment แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อวิเคราะห์โดยใช้เลือด PB และ SPB แต่ค่า tail moment ที่วัดจากเลือด SPB-cytosine arabinoside สูงกว่าค่า tail moment ที่ได้จากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่จากผลการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างประชากรที่อาศัยอยู่ท่ามกลางสารพิษกับประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอจอมทอง เมื่อใช้เลือด SPB และ SPB-APC

การศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ต่อปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอที่วัดโดยใช้วิธี comet assay ในงานวิจัยนี้ พบว่า ปัจจัยต่างๆ ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ การสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการเคี้ยวหมากหรือเมี่ยง ไม่มีผลต่อปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอเลย แสดงว่าผลของปัจจัยต่างๆต่อการวัดการแตกหักของดีเอ็นเอด้วยวิธี comet assay นี้ไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่าปัจจัยใดเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการแตกหักของดีเอ็นเอ เนื่องจากเทคนิคนี้เป็นวิธีที่มีความประสิทธิภาพสูง การแตกหักของดีเอ็นเอเกิดได้ทั้งปัจจัยภายในและภายนอกหลายประการ ทั้งปัจจัยทางสรีรวิทยา ลักษณะการบริโภคอาหาร การเจ็บป่วย ตลอดจนความแตกต่างของยีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอหรือเกี่ยวกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารเคมีต่างๆ จึงเป็นการยากที่จะระบุได้ว่าการแตกหักของดีเอ็นเอเกิดจากเพียงปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งเพียงอย่างเดียว (Klaude *et al.*, 1996; Collin *et al.*, 1997; Duthie *et al.*, 1996; Green *et al.*, 1994; Hartmann *et al.*, 1995; Holz *et al.*, 1995; Kassie *et al.*, 2000; Perera *et al.*, 1992)

จากการทบทวนเอกสารพบว่า ผู้ชายปกติจะมีระดับปริมาณการแตกหักของดีเอ็นเอระดับพื้นฐาน (base line) สูงกว่าในผู้หญิง (Bajpoayee *et al.*, 2002) ส่วนผลของการสูบบุหรี่ ในรายงานส่วนใหญ่พบว่า การสูบบุหรี่มีผลทำให้ดีเอ็นเอแตกหักเพิ่มขึ้น (Bettl *et al.*, 1994; Sardas *et al.*, 1997; Sardas *et al.*, 1998) แต่บางงานวิจัยก็ไม่พบว่า การสูบบุหรี่มีผลทำให้ดีเอ็นเอแตกหัก (Blinkova *et al.*, 1996; Friis *et al.*, 1997; Valverde *et al.*, 1997)

สำหรับการดื่มแอลกอฮอล์อาจมีผลทำให้ดีเอ็นเอมีการแตกหักมากขึ้นได้ (Betti *et al.*, 1995, Dhawan *et al.*, 2001)

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำผลจากการทดสอบทั้งสามวิธี ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซม การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และ การวิเคราะห์การแตกหักและเชื่อมสลายของดีเอ็นเอด้วยวิธี comet assay มาพิจารณาร่วมกัน สามารถสรุปได้ว่า ประชากรจากอำเภอสารภี (อุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูง-เพศหญิง 41.9 คนในประชากร 100,000 คน) กับประชากรจากอำเภอจอมทอง (อุบัติการณ์ของมะเร็งปอดต่ำ-เพศหญิง 8.5 คนในประชากร 100,000 คน) มีความเสี่ยงที่จะเกิดอันตรายต่อสุขภาพ เนื่องจากอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ทำให้มีผู้เป็นมะเร็งปอดสูง-ต่ำแตกต่างกันอย่างมากนั้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสารภีควรจะระวังตัวมากกว่า เนื่องจากมีจำนวนไมโครนิวเคลียสเฉลี่ยสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งยังมีการแตกหักของดีเอ็นเอที่วัดด้วยบางพารามิเตอร์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย แสดงถึงว่าในอำเภอสารภีอาจมีปัจจัยบางประการในสิ่งแวดล้อมที่มีส่วนทำให้ประชากรมีโอกาสได้รับสารที่ทำให้เกิดอันตรายต่อสารพันธุกรรมมากกว่า แต่ประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอจอมทองก็ต้องหลีกเลี่ยงต่อการสัมผัสสารพิษด้วยเช่นกัน เนื่องจากบางคนมีความผิดปกติของโครโมโซมค่อนข้างสูง ถ้ายังคงได้รับสารเคมีหรืออยู่ในสภาวะที่มีมลพิษสูงต่อไปเรื่อย ๆ ก็อาจเกิดอันตรายต่อสุขภาพหรืออาจมีโอกาพัฒนาเป็นมะเร็งได้

ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า เราไม่สามารถประเมินความเสี่ยงต่อการเป็นอันตรายจากการได้รับสารพิษหรืออยู่ในมลภาวะจากการติดตามผลทางชีวภาพโดยใช้การวิเคราะห์ genetic endpoint เพียงวิธีใดวิธีหนึ่ง การวิเคราะห์โดยใช้หลายวิธีร่วมกัน เพื่อดูแนวโน้มของผลการศึกษาน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด นอกจากนั้นการวิเคราะห์ในระดับชีวโมเลกุลเกี่ยวกับยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ และ/หรือที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารเคมีเมื่อเข้าสู่ร่างกาย ร่วมกับการวิเคราะห์โดยใช้ genetic endpoint ต่างๆร่วมกัน น่าจะทำให้การประเมินความเสี่ยงในการเป็นอันตรายต่อสุขภาพของประชากรแม่นยำมากขึ้น

ประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการ

งานวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาติดตามผลทางชีวภาพโดยใช้การวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์ในการประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายต่อสุขภาพ เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยมีปัญหาเกี่ยวกับการได้รับสารพิษทั้งจากสิ่งแวดล้อมจากการทำงานและจากมลภาวะต่างๆ ซึ่งสามารถเห็นได้จากการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากการได้รับสารพิษในโรงงานอุตสาหกรรมหรือจากการทำเกษตรกรรมที่ใช้สารเคมี ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับสารพันธุกรรมประกอบกับการกระตุ้นจากปัจจัยต่างๆ ภายนอก เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรค โดยเฉพาะการเกิดมะเร็ง การใช้วิธีต่างๆ ทางพันธุศาสตร์ ตรวจหาความผิดปกติในระดับต่างๆ ของสารพันธุกรรม ได้แก่ การวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมเชิงโครงสร้าง การวิเคราะห์ไมโครนิวเคลียส และการวิเคราะห์การแตกหักและเสื่อมสลายในระดับเซลล์โดยวิธี single cell gel electrophoresis ซึ่งแต่ละวิธีสามารถตรวจหาความผิดปกติในระดับต่างๆ กันมาแล้วนำวิเคราะห์ผลรวมกัน ซึ่งผลที่ได้สามารถนำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของประชากร เพื่อหลีกเลี่ยงและป้องกันตัวเองจากการได้รับสารพิษ และสามารถนำมาปรับใช้หรือศึกษาเพิ่มเติมทางด้านชีวโมเลกุลของ susceptible gene หรือเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหรือซ่อมแซมสารพันธุกรรม และศึกษาความสัมพันธ์ของ exogenous และ endogenous factors เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับกลุ่มประชากรอื่นต่อไปในอนาคต

ผลงานตีพิมพ์ที่คาดว่าจะได้จากโครงการ

วารสาร Mutagenesis หรือ Mutation Research ซึ่งมี impact factor เท่ากับ 1.802 และ 1.745 ตามลำดับ (ข้อมูลจากปี 1997 โดยอ้างอิงจาก: <http://www.ebioinfogen.com>)

ชื่อเรื่อง Evaluation of the in vitro micronucleus test as an alternative to the chromosomal aberration assay: comparative biomonitoring study of population residing in a high risk of lung cancer.

การเสนอผลงานในที่ประชุม

คาดว่าจะเสนอผลงานในงานประชุมพันธุศาสตร์แห่งชาติ ที่จะจัดขึ้นระหว่างวันที่ 2-5 มิถุนายน 254 ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ในหัวข้อเรื่อง: Biomonitoring of population residing in Chiang Mai with high risk of lung cancer by alkaline single cell gel electrophoresis

เอกสารอ้างอิง

- Bajpoayee M., Dhawan A., Parmar D., Pandey A.K., Mathur N., Seth P.K. (2002) Gender-related differences in basal DNA damage in lymphocytes of a healthy Indian population using the alkaline Comet assay, *Mutat. Res.*, 520, 83-91.
- Ballardin M., Gemignani F., Bodei L., Mariani G., Ferdeghini M., Rossi A.M., Migliore L., Barale R. (2002) Formation of micronuclei and clastogenic factor(s) in patients receiving therapeutic dose of iodine-131, *Mutat. Res.*, 514, 77-85.
- Ban S., Cologne J.B., Fujita S., Awa A.A. (1993) Radiosensitivity of atomic bomb survivors as determined with a micronucleus assay, *Radiat. Res.*, 134, 170-178.
- Barale R., Chelotti L., Davini T., Del Ry S., Andreassi M.G., Ballardin M., Bulleri M., He J., Baldacci S., Di Pede F., Gemignani F., Landi S. (1998) Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1650 subjects in an Italian population. II contribution of sex, age and lifestyle, *Environ. Mol. Mutagen.*, 31, 228-242.
- Betti C., Davini T., Giannessi L., Loprineno N., Barale R. (1994) Microgel electrophoresis assay (Comet assay) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects, *Mutat. Res.*, 307, 323-333.
- Betti C., Davini T., Giannessi L., Loprineno N., Barale R. (1995) Comparative studied by Comet test and SCE analysis in human lymphocytes from 200 healthy subjects, *Mutat. Res.*, 307, 201-207.
- Binkova B., Lewtas J., Miskova I., Rössner P., Cerna M., Mrackova G., Peterkova K., Mumford J., Meyer S., Sram R.J. (1996) Biomarker studies in Northern Bohemia, *Environ. Health Perspect.*, 104 (3), 591-597.
- Bogin E.M., Abrams M., Avidar Y., Isreali B. (1976) Effect of fluoride on enzymes from serum, liver, kidney, skeletal and heart muscles of mice, *Fluoride*, 9, 42-56.
- Bolognesi C., Parrini M., Bonassi S., Izziello G., Salanitto A. (1993) Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides, *Mutat. Res.*, 285, 239-249.
- Bonassi S., Abbonddandolo A., Camurri L., Dal Pra L., De Ferrari M., Degrassi F., Forni A., Lamberti L., Lando C., Padovani P., Sbrana I., Vecchino D., Puntoni R. (1995) Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in human? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 79, 133-135.

Bonassi S., Hagmar L., Stromberg U., Montagud A. H., Tinnerberg H., Fomi A., Heikkila P., Wanders S., Wilhardt P., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Norppa H. (2000) Chromosomal aberrations in lymphocyte predict human cancer independently of exposure to carcinogens: European study group on cytogenetic biomarkers and health, *Cancer Res.*, 60, 1619-1625.

Bukvic N., Gentile M., Susca F., Fanelli M., Serio G., Bounadonna L., Capurso A., Guanti G. (2001) Sex chromosome loss, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians, *Mutat. Res.*, 498, 159-167.

Carbonell E., Xamena N., Creus A., Marcos R. (1993) Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides, *Mutagenesis*, 8, 511-517.

Carere A., Andreoli C., Galati R., Leopardi P., Marcon F., Rosati M.V., Rossi S., Tomei F., Verdina A., Zijno A., Crebelli R. (2002) Biomonitoring of exposure to urban air pollutions: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen, *Mutat. Res.*, 518, 215-224.

Collins A.R., Dušinská M., Gedik C.M., Štětina R. (1996) Oxidative damage to DNA: do we have a reliable biomarker? *Environ. Health Perspect.*, 104, 465-469.

Collins A.R., Dušinská M., Franklin M., Somorovská M., Petrovská H., Duthie S., Fillion L., Panayiotidis M., Rašlová K., Vaughan N. (1997) Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and applications, *Environ. Molec. Mutagen.*, 30, 139-146.

Crebelli R., Carta P., Andreoli C., Aru G., Dobrowolny G., Rossi S., Zijno A. (2002) Biomonitoring of primary aluminium industry workers: detection of micronuclei and repairable DNA lesion by alkaline SCGE, *Mutat. Res.*, 516, 63-70.

Da Cruz A.D., McArthur A.G., Silva C.C., Curado M.P., Glickman B.W. (1994) Human micronucleus counts are correlated with age, smoking and cesium-137 dose in the Goiana (Brazil) radiological accident, *Mutat. Res.*, 313, 57-68.

Dhawan A., Mathur N., Seth P.K. (2001) The effect of smoking and eating habits on DNA damage in Indian populations as measured in the comet assay, *Mutat. Res.*, 474, 121-128.

Davies H.W., Kennedy S.M., Teschke K., Quintana P.J. E. (1998) Cytogenetic analysis of South Asian berry pickers in British Columbia using micronucleus assay in peripheral lymphocytes, *Mutat. Res.*, 416, 101-113.

De Boeck M., Touil N., De Visscher G., Aka Vende P., Kirsch-Volders M. (2000) Validation and implementation of an internal standard in comet assay analysis, *Mutat. Res.*, 469, 181-197.

Dulout F.N., Grillo C.A., Seoane A.I., Maderna C.R., Nilsson R., Vahter M., Darroudi F., Natarajan A.T. (1996) Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes from native Andean women and children from Northwestern Argentina exposed to arsenic in drinking water, *Mutat. Res.*, 370, 151-158.

Duthie S.J., Ma A., Ross M.A., Collins A.R. (1996) Antioxidant supplementation decreases oxidative damage in human lymphocytes, *Cancer Res.*, 56, 1291-1295.

Eastmond D.A., Tucker J.D. (1989) Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an anti-kinetochore antibody, *Environ. Mol. Mutagen.*, 13, 34-43.

Fairbairn D.W., Olive P.L., O'Neill K.L. (1995) The comet assay: a comprehensive review, *Mutat. Res.*, 339, 37-59.

Fenech M. (1993) The cytokinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations, *Environ. Health Perspect.*, 101, 101-107.

Fenech M. (1997) The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method, *Mutat. Res.*, 392, 11-18.

Fenech M. (2000) The in vitro micronucleus technique, *Mutat. Res.*, 455, 81-95.

Fenech M., Holland N., Chang W.P., Zeiger E., Bonassi S. (1999) The Human Micronucleus Project-An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in human, *Mutat. Res.*, 428, 271-283.

Friis L., Vaghef H., Edling C., Hellman B. (1997) No increased DNA damage in peripheral lymphocytes of sewage workers as evaluated by the alkaline single cell gel electrophoresis, *Occup. Environ. Med.*, 54, 494-498.

Gonsebatt M.E., Vega L., Salazar A.M., Montero R., Guzmán P., Blas J., Del Razo L.M., García-Vargas, Albores A., Cebrián M.E., Kelsh M., Ostrosky-Wegman P. (1997) Cytogenetic effects in human exposure to arsenic, *Mutat. Res.*, 386, 219-228.

Green M.H.L., Lowe J.E., Waugh A.P.W., Aldridge K.E., Cole J., Arlett C.F. (1994) Effect of diet and vitamin C on DNA strand breakage in freshly-isolated human white blood cells, *Mutat. Res.*, 316, 91-102.

Hahmar L., Brogger A., Hansteen I.L., Heim S., Högstedt B., Knudsen L., Lambert B., Linnainmaa K., Mitelmann F., Nordenson I., Reuterwall C., Salomaa S., Skerfving S., Sorsa M. (1994) Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res.*, 54, 2919-2922.

Hartmann A., Fender H., Speit G. (1998) Comparative biomonitoring study of workers at a waste disposal site using cytogenetic tests and the comet (single-cell gel) assay, *Environ. Mol. Mutagen.*, 32, 17-24.

Hartmann A., Niess A.M., Grünter-Fachs M., Poch B., Speit G. (1995) Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage, *Mutat. Res.*, 346, 195-202.

Holmen A., Karlsson A., Bratt I., Hogstedt B. (1995) Increased frequencies of micronuclei in T-lymphocytes of smokers, *Mutat. Res.*, 334, 205-208.

Holz O., Jörres R., Kästner A., Krause T., Magnussen H. (1995) Reproduction of basal and induced DNA single strand breaks detected by the single cell gel electrophoresis assay in human peripheral mononuclear leucocytes, *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, 67, 305-310.

Hüttner E., Götze A., Nikolova T. (1999) Chromosomal aberrations in human as genetic endpoints to assess the impact of pollution, *Mutat. Res.*, 445, 251-257.

Kassie F., Parzefall W., Knasmüller S. (2000) Single cell gel electrophoresis: a new technique for biomonitoring studies, *Mutat. Res.*, 463, 13-31.

Kasuba V., Sentija K., Garaj-Vrhovac V., Fucic A. (1995) Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes from control individuals, *Mutat. Res.*, 346, 487-495.

Klaude M., Erikson S., Nygren J., Ahnstrom G. (1996) The comet assay: mechanisms and technical considerations, *Mutat. Res.*, 363, 89-96.

Kobayashi H., Sugiyama C., Morikawa Y., Hayashi M., Sofuni T. (1995) A comparison between manual microscopic analysis and computerized image analysis in the single cell gel electrophoresis assay, *MMS Commun.*, 3 (2), 103-115.

Lecero L., Pastor S., Suárez S., Durbán R., Gómez C., Parrón T., Creus A., Marcos R. (2000) Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells, *Mutat. Res.*, 464, 25-262.

Maffei F., Forti G.C., Castelli E., Stefanini G. F., Mattioli S., Hrelia P. (2002) Biomarker to assess the genetic damage induced by alcohol abuse in human lymphocytes, *Mutat. Res.*, 516, 49-58.

Mahimkar M.B., Buch S.C. Samant T.A., Kapoor M.D., Bhisey R.A. (2001) Influence of smokeless tobacco exposure on detoxification status and chromosomal damage in male and female habitués, *Mutat. Res.*, 491, 111-117.

Martin N., Changwaiwit W., Sutajit M., Chaimongkol B, Lorvidhaya V., Phornphutkul K., Cancer Committees. (1993) "Tumor Registry, Cancer unit, 1991". Statistical report vol. 14, Maharaj Nakhon Chiang Mai Hospital, Chiang Mai.

Migliore L., Parrini M., Sbrana I., Biagini C., Battaglia A., Loprieno N. (1991) Micronucleated lymphocytes in people occupationally exposed to potential environmental contaminants: the age effect, *Mutat. Res.*, 256, 13-20.

Nakachi K., Limtrakul P., Sonklin P., Sonklin O., Torcharoen C., Lipigorngoson S., Arai K., Sone Y., Imai K., Suga K., Matsuyama S., Shimizu H., Takahashi T., Suttajit M. (1999) Risk factors for lung cancer among Northern Thai women; epidemiological, nutritional, serological, and bacteriological surveys of residents in high-and low-incidence areas, *Jpn. J. Cancer Res.*, 90, 1-9.

Parkin D.M., Muir C.S., Whelan S.L., Gao Y.T., Ferlay J., Powell J. (Eds.) (1992) "Cancer Incidence in Five Continents, Volume VI", IARC Scientific Publications, No.120, IARC, Lyon.

Perera F.P., Hemminki K., Gryzbowska E., Motykiewicz G., Michalska J., Santella R.M., Young, Dicky C., Brandt-Rauf P., De Vivo I., Blaner W., Tsai W.-Y., Chorazy M. (1992) Molecular and genetic damage in human from environmental pollution in Poland, *Nature*, 360, 256-258.

Perera F.P., Whyatt R.M. (1994) Biomarkers and molecular epidemiology in mutation/cancer research, *Mutat. Res.*, 313, 117-129.

Sardas S., Aygün N., Karakaya A.E. (1997) Genotoxicity studies on professional hair colorists exposed to oxidation hair dyes, *Mutat. Res.*, 394, 153-161.

Sardas S., Aygün N., Gamil M., Ünal Y., Berk N., Karakaya A.E. (1998) Use of alkaline comet assay (single-cell gel electrophoresis technique) to detect DNA damage in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to anaesthetic gases, *Mutat. Res.*, 418, 93-100.

Simarak S., De Jong U.W., Breslow N., Dahl C.J., Ruckphaopunt K., MacLennan R. (1977) Cancer in the oral cavity, pharynx and lung in north Thailand: case control study and analysis of cigar smoke. *Br. J. Cancer*, 36, 130-140.

Singh N.P. (2000) Microgels for estimation of DNA strand breaks, DNA protein crosslinks and apoptosis, *Mutat. Res.*, 455, 111-127.

Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R., Schneider E.L. (1988) A simple technique for quantitation of low level DNA damage in individual cells, *Exptl. Cell Res.*, 175, 184-191.

Singh N.P., Stephens R.E. (1997) Microgel electrophoresis: sensitivity, mechanisms, and DNA electrostretching, *Mutat. Res.*, 383, 167-175.

Smerhovský Z., Landa K., Rössner, Brabec M., Zudová Z., Hola N., Pokorna Z., Marecková J., Hurychová D. (2001) Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations, *Environ. Health Perspect.*, 109, 41-45.

Smerhovský Z., Landa K., Rossner P., Juzová D., Brabec M., Zudová Z., Hola N., Zarska H., Nevšimalová E. (2002). Increase risk of cancer in radon-exposed miners with elevated frequency of chromosome aberrations, *Mutat Res.*, 514, 165-176.

Somorovská M., Jahnová E., Tulinská J., Zámečníková M., Šarmanová J., Terenová A., Vodičková, L., Lišková A., Vallová B., Souček P., Hemminki K., Norppa H., Hirvonen A., Bates A.D., Fuortes L., Dušinská M., Vodička P. (1999) Biomonitoring of occupational exposure to styrene in a plastics lamination plant, *Mutat. Res.*, 428, 255-269.

Somorovská M., Szabová E., Vodička P. Tulinská J., Barančoková M., Fábry R., Lášková A., Riegerová Z., Petrovská H., Kubová J., Rausoá V K., Dušinská M., Collins A. (1999) Biomonitoring of genotoxic risk in workers in a rubber factory; comparison of the Comet assay with cytogenetic methods and immunology, *Mutat. Res.*, 445, 181-192.

Sone Y., Sakamoto N., Suga K., Imai K., Nakachi K., Sonklin P., Sonklin O., Lipikongoson S., Limtrakul P., Suttajit M. (1998) Comparison of diets among elderly female residents in two suburban districts in Chiang Mai Province, Thailand, In dry season survey on high and low risk districts of lung cancer incidence, *App. Hum. Sci.*, 17 (2), 49-56.

Speit G., Hartmann A. (1999) The comet assay (single-cell gel test)—a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. In: Henderson S.D. (Ed.), *Method in molecular biology*, Vol 113: DNA repair protocols: Eukaryotic Systems, Humana Press, New Jersey, pp. 203-212.

Srisukho S., Lowidhaya V. (1998) Lung cancer in Chiang Mai, 1983-1995; an epidemiologic study and survival analysis. The first Thai-Japan cancer research symposium Chiang Mai, The Academic Journal Unit, p 6.

Stephan G., Pressl S. (1999) Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from healthy subjects as detected in first cell division, *Mutat. Res.*, 446, 231-237.

Titenko-Holland N., Windham G., Kolachanna P., Reinisch F., Parvatham S., Osorio A.M., Smith M.T. (1997) Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: A study of malathion-exposed workers, *Mutat. Res.*, 388, 85-95.

Tomanin K., Ballarin C., Nardini B., Mastrangelo G., Sarto F. (1991) Influence of smoking habits on the frequency of micronuclei in human lymphocytes by cytokinesis block method, *Mutagenesis*, 6, 123-126.

Valverde M., Lopez M.C., Lopez I., Sanchez I., Fortoul T.I., Ostrosky-Wegman P., Rojas E. (1997) DNA damage in leukocytes and buccal and nasal epithelial cells of individual exposed to air pollution in Mexico City, *Environ. Mol. Mutagen.*, 30, 147-152.

Van Diemen P.C.M., Massdam D., Vermeulen S., Darrouidi F., Natarajan A.T. (1995) Influence of smoking habits on the frequency of structural and numerical chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique, *Mutagenesis*, 10, 487-495.

Vatanasapt V., Martin N., Sriplung H., Chindavijak K., Sontipong S., Sriamporn S., Parkin D.M., Farley J. (1995) Cancer incidence in Thailand, 1988-1991, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 4, 475-483.

Velglenov A., Varbonell E., Marcos R. (1998) Biomonitoring of workers exposed to lead. Genotoxic effects, its modulation by polyvitamin treatment and evaluation of the induced radioreistance, *Mutat. Res.*, 418, 79-92.

ภาคผนวก

รายละเอียดของแบบสัมภาษณ์โครงการวิจัย

หมายเลขแบบสัมภาษณ์ □□ □□□

serial questionnaire number

แบบสัมภาษณ์โครงการวิจัย

(QUESTIONNAIRE FORM)

เรื่อง การติดตามผลทางชีวภาพและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด

**Biomonitoring Study and Health Risk Assessment of Populations Residing
in Chiang Mai with High Risk of Lung Cancer**

กลุ่มผู้รับการสัมภาษณ์ : อายุ 50 ปีขึ้นไปและอยู่ในอำเภอนั้นไม่ต่ำกว่า 10 ปี

(Subject groups: aged over 50 years and to be resident at least 10 years in the area)

1. ☐ กลุ่มชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดสูง

(Villagers reside in high incidence area of lung cancer)

2. ☐ กลุ่มชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอัตราการเกิดมะเร็งปอดต่ำ

(Villagers reside in low incidence area of lung cancer)

3. ☐ กลุ่มอื่นๆ (ระบุ)

(other areas)

☐ อำเภอสารภี (Saraphi District)☐ อำเภอจอมทอง (Chom Thong District)☐ อำเภออื่นๆ (Other Districts)

วันที่สัมภาษณ์ วันที่ (date).....เดือน (month).....พ.ศ. (year).....

.....
ผู้สัมภาษณ์ (Interviewer)☐ ตรวจแล้ว (Checked already).....
ผู้ตรวจสอบ (Checker)

แบบสัมภาษณ์

(Questionnaire Form)

ประวัติส่วนตัว (Personal life)

ชื่อ (name).....นามสกุล (last Name).....อายุ (age)ปี (year)

เพศ (sex) 1. ☐ ชาย (male) 2. ☐ หญิง (female)

วันเดือนปี/เกิด (birthday)...../...../.....

สถานที่เกิด (birthplace):.....ตำบล (subdistrict).....

อำเภอ (district).....จังหวัด (province).....

เชื้อชาติ / สัญชาติ 1. ☐ ไทย (Thai) 1.1 ☐ ไทยพื้นเมือง (native) 1.2 ☐ ชาวเขา (Hill tribe)(nationality). 1.3 ☐ คนไทยภาคอื่น (other part) ระบุ (other).....2. ☐ จีน (China) 3. ☐ อื่นๆ ระบุ (others).....ศาสนา 1. ☐ พุทธ (Buddhist) 2. ☐ คริสต์ (Christian) 3. ☐ อิสลาม (Muslim)(religion) 4. ☐ ไม่มี (none) 5. ☐ อื่นๆ ระบุ (others)สถานภาพสมรส 1. ☐ โสด (single) 2. ☐ แต่งงาน (married) 3. ☐ หย่า (divorced)(married status) 4. ☐ หม้าย (Widow) 5. ☐ แยก (separated)อาชีพปัจจุบัน (present occupation) 1. ☐ ไม่มี (none) 2. ☐ เกษตรกรรม (agricultural)3. ☐ ทำงานอาชีพ ระบุ (occupation) ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ

1.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

2.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

3.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

ถ้าเคยทำการเกษตรกรรม ท่านเคยใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชหรือไม่

(Have you ever used pesticides in your work?)

1. ☐ เคย (yes)

2. ☐ ไม่เคย (no)

โปรดระบุสารที่เคยใช้ (Please indicate the pesticides)

1.....2.....3.....

อาชีพในอดีต

1. ☐ ไม่มี (none)

2. ☐ เกษตรกรรม (agricultural)

(past occupation) 3. ☐ ทำงานอาชีพ ระบุ ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ

1.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

2.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

3.....ระยะเวลา (How long?)

.....ปี (year)

ถ้าเคยทำการเกษตรกรรม ท่านเคยใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชหรือไม่ (Did you used pesticides in your work?)

1. ☐ เคย (yes)

2. ☐ ไม่เคย (no)

โปรดระบุสารที่เคยใช้ (Please indicate the pesticides)

1.....2.....3.....

สภาวะแวดล้อม (Environment)

ลักษณะบ้าน

1. ☐ บ้านไม้ (wooden house)

2. ☐ บ้านซีเมนต์ (cement house)

(house pattern) 3. ☐ บ้านครึ่งไม้ครึ่งซีเมนต์ (wood-half cement house) 4. ☐ อื่นๆระบุ (others)

สภาพบริเวณบ้าน 1. ☐ อยู่ในสวน/ไร่/นา (in/near the garden or field) 3. ☐ อยู่ติดถนน (near roadside)

(house condition) 4. ☐ อยู่ติดโรงงาน (near the factory)

ระบุโรงงาน (specific type).....

5. ☐ อื่นๆระบุ others).....

ลักษณะห้องครัว 1. ☐ อยู่ในบ้าน (inside the house)

(kitchen condition)

1.1. ☐ อากาศถ่ายเทดี (good air circulation)

1.2. ☐ อากาศถ่ายเทไม่ดี (poor air circulation)

2. ☐ อยู่นอกบ้าน (outside the house)

2.1. ☐ อากาศถ่ายเทดี (good air circulation)

2.2. ☐ อากาศถ่ายเทไม่ดี (poor air circulation)

แหล่งน้ำที่ใช้ (water source)

1. ☐ น้ำประปา (piped water system)

2. ☐ น้ำบาดาล (underground)

3. ☐ แม่น้ำ/คลอง (river, canal)

4. ☐ น้ำสระ/บ่อ (pool, well)

5. ☐ อื่นๆระบุ (others).....

แหล่งน้ำดื่ม (source of drinking water)

1. ☐ น้ำประปา (piped water system)

2. ☐ น้ำบาดาล (underground)

3. ☐ น้ำซื้อเป็นขวด (bottled)

4. ☐ น้ำฝน (rain)

5. ☐ อื่นๆระบุ (others).....

วิธีเตรียมน้ำดื่ม (drinking water preparation)

1. ☐ ต้ม (boiled)

2. ☐ กรอง (filtered)

3. ☐ ไม่ผ่านกรรมวิธีใดๆ (no processing)

กิจกรรมการเผาไหม้ (Burning activity)

กิจกรรมการเผาไหม้ในบริเวณบ้าน (Burning activities around your house)

มีการเผาเศษไม้ ใบหญ้าบริเวณบ้านท่านหรือไม่ (Are there burning activities, any grass, leaves, etc, around your house)

1. ☐ มี (yes)

2. ☐ ไม่มี (no)

ถ้ามีการเผาโดยเผาบริเวณบ้านของท่านเฉลี่ยกี่ครั้งต่อเดือน (How often of burning activities around your house in a month?).....\.....ครั้ง (times)

มีการเผาเศษไม้ ใบหญ้าบริเวณบ้านของเพื่อนบ้านของท่านหรือไม่ (Are there burning activities, any grass, leaves, etc, of your neighbor house?)

1. ☐ มี (yes)

2. ☐ ไม่มี(no)

ถ้ามีการเผาโดยเผาบริเวณบ้านของเพื่อนบ้านของท่านเฉลี่ยกี่ครั้งต่อเดือน (How often of burning activities of your neighbor house in a month?).....ครั้ง (times)

ประวัติเกี่ยวกับสุขภาพ (health and disease)

ส่วนสูง (height).....เซนติเมตร.(centimeter) น้ำหนักตัว(weight).....กิโลกรัม (kilogram)

คำถามสำหรับสตรีเท่านั้น

การมีประจำเดือน การตั้งครรภ์ และการหมดประจำเดือน (menstruation, pregnancy and menopause)

ท่านมีประจำเดือนครั้งแรกอายุ (When did you have menstruation?)ปี (year)

ท่านหมดประจำเดือนแล้วหรือยัง (Do you menopause?)

☐ ยังไม่หมด (have menstruation)

☐ ใกล้จะหมด (near finish menstruation)

☐ หมดแล้ว (menopause) หมดเมื่ออายุ (When did you menopause?)ปี (year)

สาเหตุของการหมดประจำเดือน (What is the cause of menopause?)

☐ ธรรมชาติ (natural)

☐ โรค (disease) ระบุ.....

ท่านแต่งงานเมื่ออายุ (When did you get married?)ปี (year)

ท่านตั้งครรภ์กี่ครั้ง (How many did you have pregnancy?)ครั้ง (time)

ท่านเคยแท้งหรือไม่ (Did you have abortion?)

☐ ไม่เคย (no)

☐ เคย (yes) ครั้ง (time)

สุขภาพ (health)

สุขภาพในอดีต (past health)

1. ☐ สุขภาพแข็งแรงดี (good health)

2. ☐ สุขภาพไม่ค่อยแข็งแรง (poor health)

สุขภาพในปัจจุบัน (present health) 1. ☐ สุขภาพแข็งแรงดี (good health)

2. ☐ สุขภาพไม่ค่อยแข็งแรง (poor health)

ประวัติการเจ็บป่วยที่ไม่เกี่ยวกับระบบหายใจ (history of non-respiratory disease)

1. ☐ ไม่เคยเป็นโรค (never)

2. ☐ มาลาเรีย (malaria) อายุ (age).....ปี (year)

3. ☐ ทาลัสซีเมีย (thalassemia) อายุ (age).....ปี (year)

4. ☐ โรคพยาธิ (fuke) อายุ (age).....ปี (year)

5. ☐ โรคตับอักเสบ (hepatitis) อายุ (age).....ปี (year)

4. ☐ โรคอื่นๆ (others) ระบุ

โรค (disease)..... อายุ (age).....ปี (year)

โรค (disease)..... อายุ (age).....ปี (year)

ประวัติการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องกับระบบหายใจ (history of respiratory disease)

1. ☐ ไม่เคยเป็นโรค (never)

2. ☐ โรควัณโรค (tuberculosis) อายุ (age).....ปี (year)

3. ☐ โรคปอดบวมเฉียบพลัน (acute pneumonia) อายุ (age).....ปี (year)

4. ☐ โรคหลอดลมอักเสบ (bronchitis) อายุ (age).....ปี (year)

5. ☐ โรคหืดหอบ โรคทางเดินหายใจเรื้อรัง อายุ (age).....ปี (year)

(Chronic obstructive pulmonary disease)

6. ☐ โรคอื่นๆ ระบุ (others)

โรค (disease)..... อายุ (age).....ปี (year)

โรค (disease)..... อายุ (age).....ปี (year)

โรค (disease)..... อายุ (age).....ปี (year)

ประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว (history of cancer disease in your family)

☐ มี☐ ไม่มี

1. ☐ บิดา (father) ชนิด (type).....
2. ☐ มารดา (mother) ชนิด (type).....
3. ☐ คู่สมรส (spouse) ชนิด (type).....
4. ☐ พี่ชาย, น้องชาย (brother) ชนิด (type).....
5. ☐ พี่สาว, น้องสาว (sister) ชนิด (type).....
6. ☐ ลูกสาว (daughter) ชนิด (type).....
7. ☐ ลูกชาย (son) ชนิด (type).....
8. ☐ ญาติ (cousin) ชนิด (type).....

ในปัจจุบันท่านป่วยเป็นโรค (disease in the present) ระบุ

โรค (disease).....

โรค (disease).....

การสูบบุหรี่ (tobacco smoking)

นิสัยการสูบบุหรี่ของท่าน (tobacco smoking habit)

1. ☐ ไม่เคยสูบบุหรี่ (non-smoking)2. ☐ เคยสูบแต่ปัจจุบันเลิกสูบแล้ว (ex-smoking)

รวมระยะเวลาในการสูบ (smoking time).....ปี

ระยะเวลาในการเลิกสูบ (quit smoking time).....ปี (year)

3. ☐ ปัจจุบันยังสูบบุหรี่อยู่ (smoking)

รวมระยะเวลาในการสูบ (smoking time).....ปี

ชนิดของบุหรี่ที่สูบ (What kinds of tobacco are you smoking?)

1. ☐ บุหรี่มีก้านกรอง (cigarette with filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน

ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

2. ☐ บุหรี่ไม่มีก้านกรอง (cigarette without filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน

ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?).....ปี (year)

3. ☐ ซิโย (Kiyō)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

4. ☐ ใบตองม้วนใบยาสูบ (banana leave with tobacco)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

5. ☐ ซิการ์ (cigar)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

6. ☐ กล้องยา (pipe)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

7. ☐ อื่นๆ (others)

จำนวนมวนต่อวัน (pieces/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

ปัจจุบันนี้มีบุคคลในครอบครัวของคุณกี่คนที่สูบบุหรี่ (ไม่รวมตัวคุณ) (How many persons in your family are smoking?).....คน ระบุ.....

ชนิดของบุหรี่ที่สูบ (What kinds of tobacco smoking)

1. ☐ บุหรี่มีก้านกรอง (cigarette with filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

2. ☐ บุหรี่ไม่มีก้านกรอง (cigarette without filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

3. ☐ ซิโย (Kiyō)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

4. ☐ ใบตองม้วนใบยาสูบ (banana leave with tobacco)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

5. ☐ ซิการ์ (cigar)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

6. ☐ กล้องยา (pipe)

จำนวนมวนต่อวัน (pieces/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

7. ☐ อื่นๆ (others)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

ถ้าเคยสูบหรือกำลังสูบ อยู่รวมระยะเวลาในการสูบ (How long have another persons in family smoked?).....ปี (year)

ระยะเวลาในการเลิกสูบ (quit smoking time).....ปี(year)

คู่ครองของคุณสูบบุหรี่หรือไม่ (Do your spouse smoke?)

1. ☐ สูบ (smoking)

2. ☐ ไม่สูบ (non-smoking)

3. ☐ หยุดสูบ (ex-smoking)

ชนิดของบุหรี่ที่สูบ (What kinds of tobacco smoking)

1. ☐ บุหรี่มีก้านกรอง (cigarette with filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

2. ☐ บุหรี่ไม่มีก้านกรอง (cigarette without filter)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

3. ☐ รีโย (Kryo)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

4. ☐ ใบตองม้วนใบยาสูบ (banana leave with tobacco)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

5 ☐ ซิการ์ (cigar)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

6. ☐ กาลังยา (pipe)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?)..... ปี (year)

7. ☐ อื่นๆ (others)

จำนวนมวนต่อวัน (piece/day).....มวน ระยะเวลาในการสูบ (How long of smoking?).....ปี (year)

ถ้าเคยสูบหรือกำลังสูบอยู่ ระยะเวลาในการสูบ(How long have your spouse smoked?).....ปี (year)

ระยะเวลาในการเลิกสูบ (quit smoking time).....ปี (year)

การดื่มสุรา (Alcohol drinking)

ท่านดื่มสุราหรือไม่ (Do you alcohol drink?)

1. ☐ ดื่ม (Drinking) 2. ☐ ไม่ดื่ม (non-drinking) 3. ☐ เลิกดื่ม (ex-drinking)

ถ้าเคยดื่มหรือยังดื่มอยู่ ระยะเวลาในการดื่ม.....ปี (How long have you drunk?)

ระยะเวลาในการเลิกดื่ม.....ปี (How long have you quit drinking?)

ชนิดของสุราที่ดื่ม (What types of beverage do you drink?)

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1. ☐ สุรากลั่น (distilled alcohol) | จำนวนที่ดื่ม.....แก้ว/วัน (glass/day) |
| 2. ☐ สุราไม่กลั่น (undistilled alcohol) | จำนวนที่ดื่ม.....แก้ว/วัน (glass/day) |
| 4. ☐ ไวน์ (wine) | จำนวนที่ดื่ม.....แก้ว/วัน (glass/day) |
| 5. ☐ เบียร์ (beer) | จำนวนที่ดื่ม.....แก้ว/วัน (glass/day) |
| 6. ☐ อื่นๆ (others) ระบุ..... | จำนวนที่ดื่ม.....แก้ว/วัน (glass/day) |

การเคี้ยวเมี่ยงหรือหมาก (Fermented leaves or betel chewing)

ท่านมีนิสัยในการเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากหรือไม่ (Do you fermented tea leaves or betel chewing?)

1. ☐ เคี้ยว (chewing) 2. ☐ ไม่เคี้ยว (non-chewing) 3. ☐ เคยเคี้ยวแต่เลิกเคี้ยวแล้ว (ex-chewing)

ชนิดของการบเคี้ยว (What types of chewing?)

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. ☐ หมาก (betel nut) | จำนวน.....ครั้งต่อวัน (times/day) |
| 2. ☐ ยาสูบ (tobacco) | จำนวน.....ครั้งต่อวัน (times/day) |
| 3. ☐ เมี่ยง (Miang /fermented tea leaves) | จำนวน.....ครั้งต่อวัน (times/day) |
| 4. ☐ อื่นๆ (others) ระบุ..... | จำนวน.....ครั้งต่อวัน (times/day) |

ถ้าเคยเคี้ยวเมี่ยงหรือหมากระยะเวลาในการบเคี้ยว (How long have you chew?).....ปี (year)

ระยะเวลาในการเลิกเคี้ยวเมี่ยงหรือหมาก.....ปี (How long have you quit chewing?)