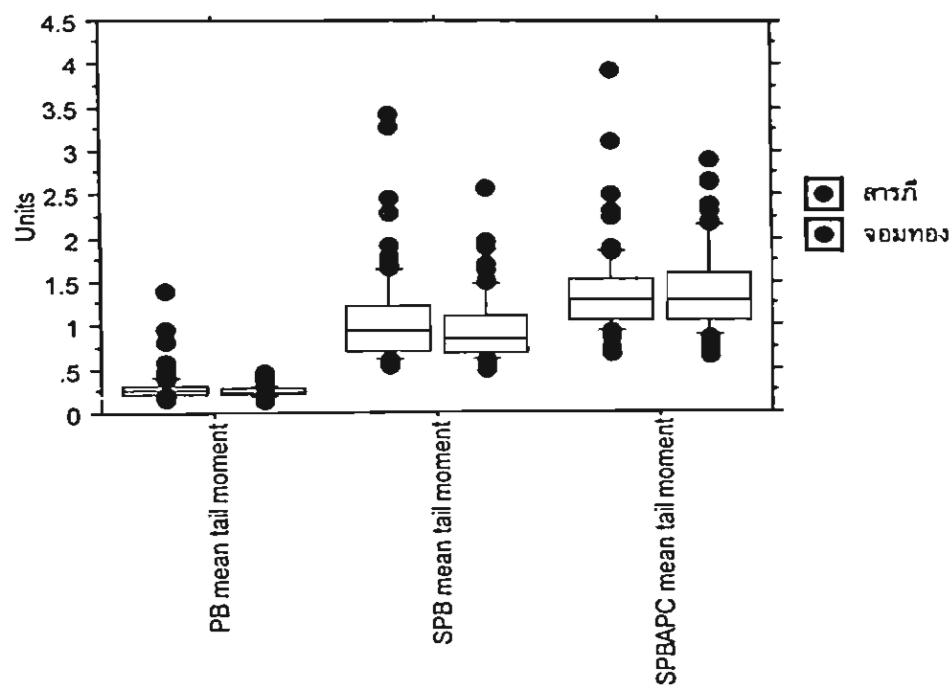


รูปที่ 8

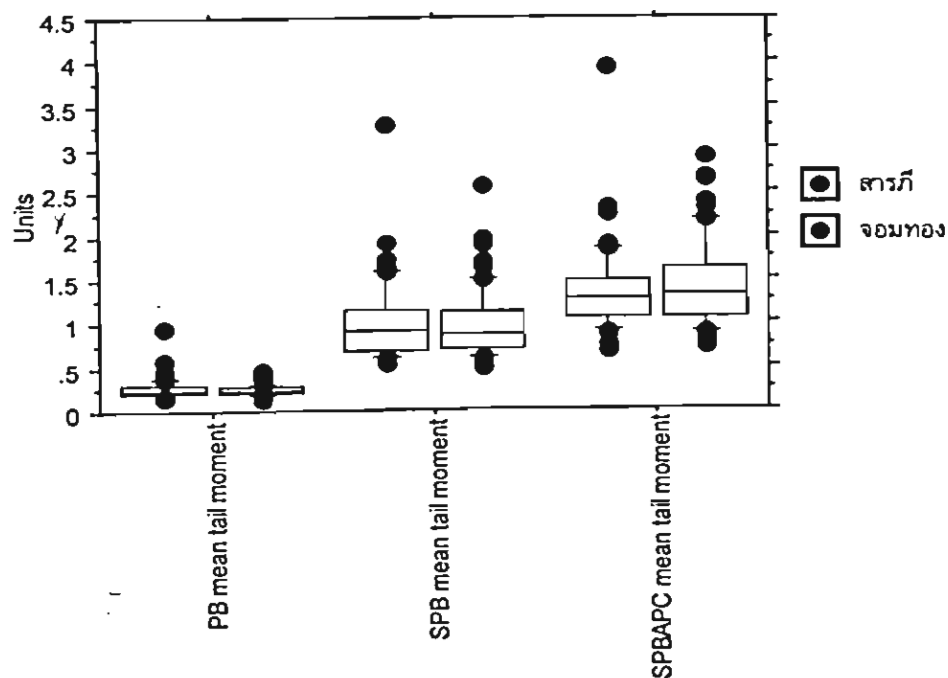
กราฟเปรียบเทียบ tail moment ที่วัดจาก

(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) แต่บางงานวิจัยก็ไม่พบว่าการสูบบุหรี่มีผลทำให้ดีเอ็นเอแตกหัก (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-ต่ำผิดกันมากนั้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ 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., Ballardini 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., Salanitro 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. ☐ ก่อ้งยา (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?)