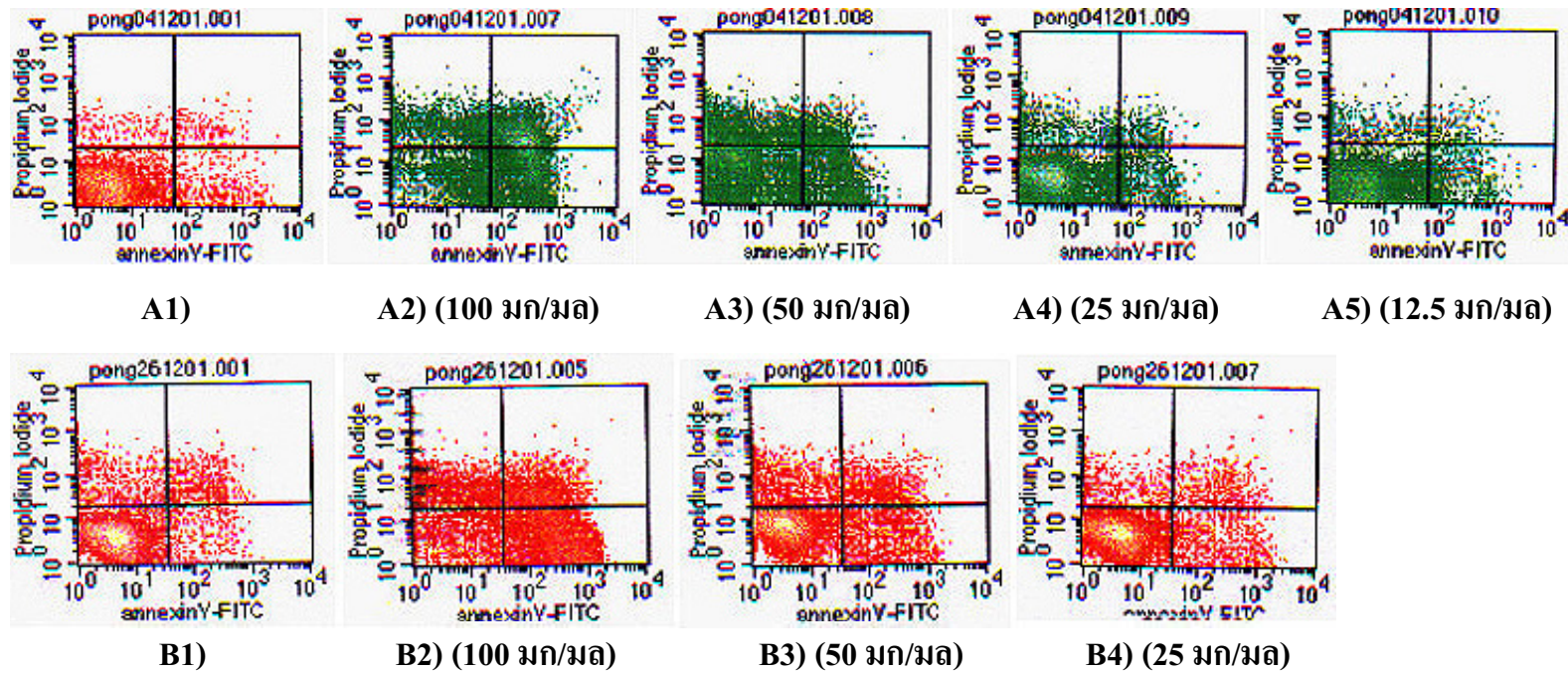
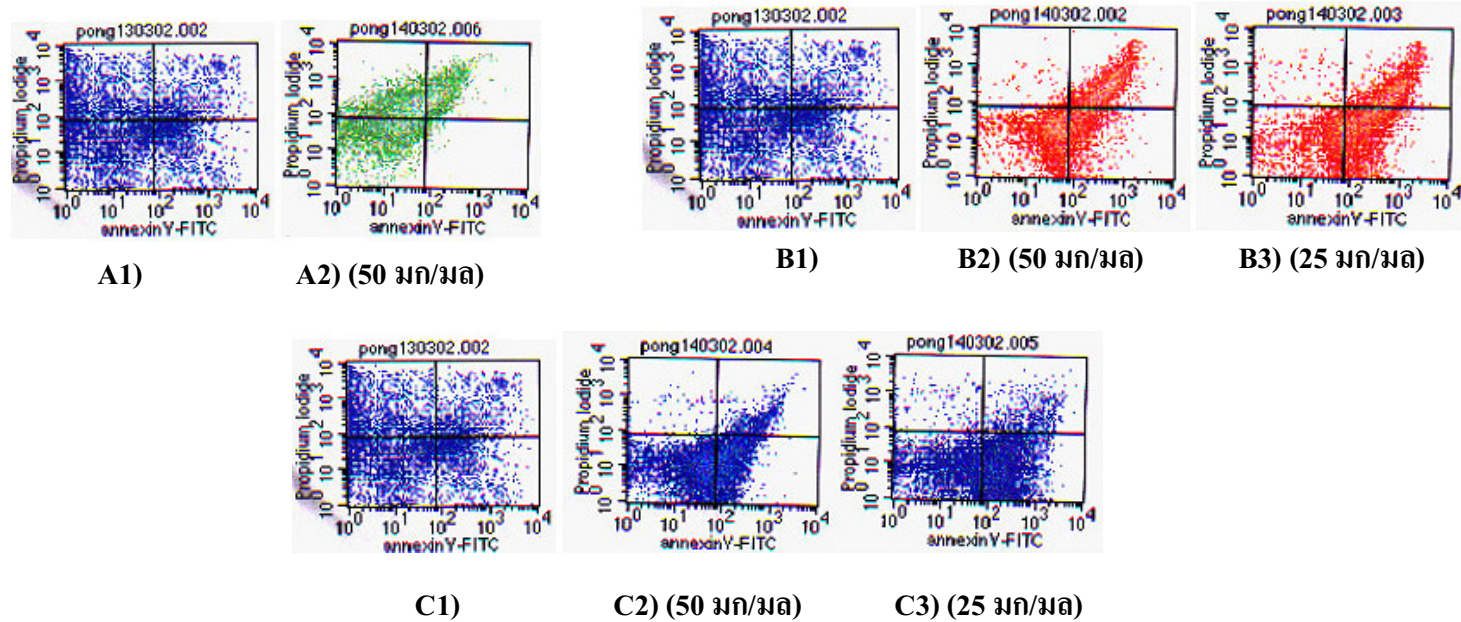




แผนภูมิที่ 13. ผลสารสกัดจากลำไยที่ใส่ไปแช่สเต็มเซลล์หลอดทางดินขนาด 8 ก/ม² ชุดที่ 3 (A 1- A5) และชุดที่ 2 (B1-B4) ในการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ใน HL-60 A1, B1 = ไม่ใส่สารใดๆ A2- A5 = ได้รับสารสกัดด้วยเอทานอลจากลำไยที่ใส่ไปแช่สเต็มเซลล์หลอดทางดินขนาด 8 ก/ม² ชุดที่ 3 A2 = 100 มก/มล, A3= 50 มก/มล, A4 = 25 มก/มล A5 = 12.5 มก/มล, B2- B4 = ได้รับสารสกัดด้วยเอทานอลจากลำไยที่ใส่ไปแช่สเต็มเซลล์หลอดทางดินขนาด 8 ก/ม² ชุดที่ 2 B2 = 100 มก/มล, B3= 50 มก/มล, B4 = 25 มก/มล



แผนภูมิที่ 14. ผลของสารสกัดจากลำไยที่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรตในการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ในเซลล์ปกติ Amnion cell

A1, B1, C1 = ไม่ใส่สารใด ๆ , A2 = สารสกัดลำไยที่ไม่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรต (A2 = 50 มก/มล) B2 – B3 = สารสกัดลำไยที่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรตทางดินขนาด 8 ก/ม² ชุดที่ 2 (B2 = 50 มก/มล, B3 = 25 มก/มล,) C2 – C3 = น้ำคั้นลำไยที่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรตทางใบขนาด 2000 ppm (C2 = 50 มก/มล, C3 = 25 มก/มล) จากรูปแสดงว่าเซลล์ปกติ amnion cell เกิดมีการตายได้ทั้งแบบ death, apoptosis และ necrosis (A1, B1, C1) การใส่สารสกัดลำไยที่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรตทางดินขนาด 8 ก/ม² ชุดที่ 2 และน้ำคั้นลำไยที่ใส่ไปแช่เยยมคลอเรตทางใบขนาด 2000 ppm มีการเหนี่ยวนำให้เซลล์ amnion cell ตายแบบ apoptosis ได้มากขึ้น

การทดลองกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (HL-60 cells)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 4 g/m² (ชุด B)

1. การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอพโทซิส (p=0.041) และแบบเนโครซิส (p=0.043)

2. การทดสอบสารสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด ไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอพโทซิส (p=0.332) และแบบเนโครซิส (p=0.244)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 8 g/m²

3. การทดสอบสารสกัดด้วยเอทานอล พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันสามารถทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.129) ส่วนการตายแบบเนโครซิส มีความแตกต่าง กัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.024)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 16 g/m²

4. การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันสามารถ ทำให้เซลล์ตาย ทั้งแบบอะพอพโทซิส (p=0.644) หรือแบบเนโครซิส (p=0.055)

5. การทดสอบด้วยสารสกัดกรดไฮโดรคลอริก พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันสามารถทำให้เซลล์ตายแบบ อะพอพโทซิส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.218) ส่วนการตายแบบเนโครซิส มีความแตกต่าง กัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.025)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 4 g/m² (ชุด C)

6. การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด ไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอพโทซิส (p=0.308) และแบบเนโครซิส (p=0.149)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 8 g/m² (ชุด C)

7. การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด ไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอพโทซิส (p=0.194) และแบบเนโครซิส (p=0.080)

ลำใยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอไรด์ทางราก 16 g/m² (ชุด C)

8. การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด ไม่สามารถทำให้เซลล์

มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอโพโทซิส ($p=0.180$) และแบบเนโครซิส ($p=0.180$)

9. การทดสอบสารสกัดด้วยอัลกอฮอล์ พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันของสารสกัด สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอโพโทซิส ($p=0.024$) และแบบเนโครซิส ($p=0.019$)

ลำไยที่ให้สารโพลีแซคคาไรด์ 1000 ppm (ชุด D)

10. การทดสอบด้วยน้ำคนสด พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งแบบอะพอโพโทซิส ($p=0.177$) และแบบเนโครซิส ($p=0.150$)

ลำไยที่ให้สารโพลีแซคคาไรด์ 2000 ppm (ชุด D)

11. การทดสอบด้วยน้ำคนสด พบว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแบบอะพอโพโทซิส ($p=0.118$) ส่วนการตายแบบเนโครซิส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.041$)

การทดลองกับเซลล์ปกติ (fibroblasts) ได้ผลดังนี้

เมื่อทดสอบเซลล์ fibroblasts กับสารสกัดลำไยควบคุมที่ไม่ได้ใส่โพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นของสารสกัดลำไยเท่ากับศูนย์ เซลล์ตายแบบอะพอโพโทซิสประมาณ 6% และตายแบบเนโครซิสประมาณ 13% และมีเซลล์ตายเป็นจำนวนมาก (49%) ตั้งแต่ยังไม่ได้ใส่สารสกัดใด ๆ (ตารางที่ 58)

การทดสอบด้วยสารสกัดลำไย ต่อการเหนี่ยวนำให้เซลล์ fibroblasts ตายแบบอะพอโพโทซิสพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างใดทั้ง

สารสกัดจากลำไยที่ไม่ใส่โพลีแซคคาไรด์ (ชุด A) ด้วยเอธานอล

ลำไยที่ให้สารโพลีแซคคาไรด์ 4, 8 และ 16 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด B) สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก

ลำไยที่ให้สารโพลีแซคคาไรด์ 8 และ 16 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด C) สกัดด้วยเอธานอล

ลำไยที่ให้สารโพลีแซคคาไรด์ 1000, 2000 ppm (ชุด D)

น้ำคั้นจากลำไยที่ใส่โพลีแซคคาไรด์ 8 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด E)

การทดลองกับเซลล์ epithelial cells ได้ผลดังนี้

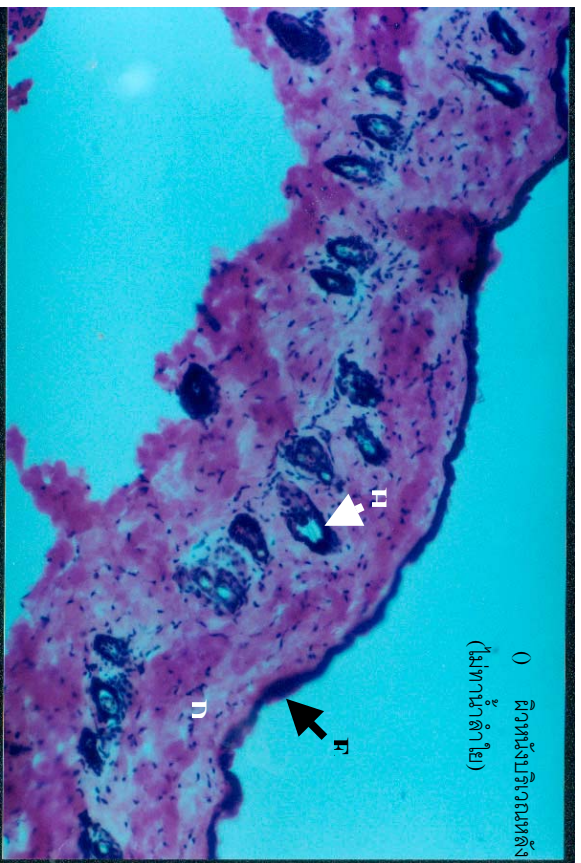
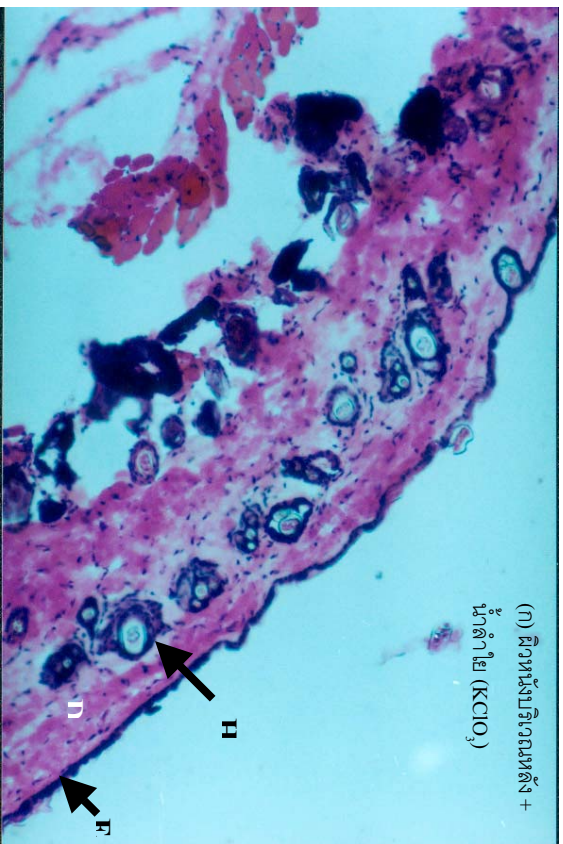
1. สารสกัดจากลำเยื่อในเส้นใยแต่สเซลล์ออเรต (ชุด A) ด้วยเอธานอล ความเข้มข้นต่าง ๆ ทำให้เซลล์ตายแบบเนโครสิส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p=0.021$ ส่วนการตายแบบอะพอพโทสิส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p=0.779$
และสารสกัดลำเยื่อไปนี้ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ epithelial ตายแบบอะพอพโทสิส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่
ลำเยื่อให้สารไป แต่สเซลล์ออเรตทางราก 4, 8 (ชุด B) สกัดด้วยเอธานอลและสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก
ลำเยื่อให้สารไป แต่สเซลล์ออเรตทางราก 4, 8 และ 16 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด B) สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก
ลำเยื่อให้สารไป แต่สเซลล์ออเรตทางราก 8 และ 16 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด C) สกัดด้วยเอธานอล
ลำเยื่อให้สารไป แต่สเซลล์ออเรตทางใบ 1000, 2000 ppm (ชุด D)
น้ำคั้นจากลำเยื่อเส้นใยแต่สเซลล์ออเรตทางราก 8 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ชุด E)

การทดลองที่ 4 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากลำไยต่อการอักเสบของผิวหนัง และการเหนี่ยวนำเอนไซม์ nitric oxide synthetase

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลลำไยต่อการอักเสบของผิวหนังและการเหนี่ยวนำเอนไซม์ nitric oxide synthetase

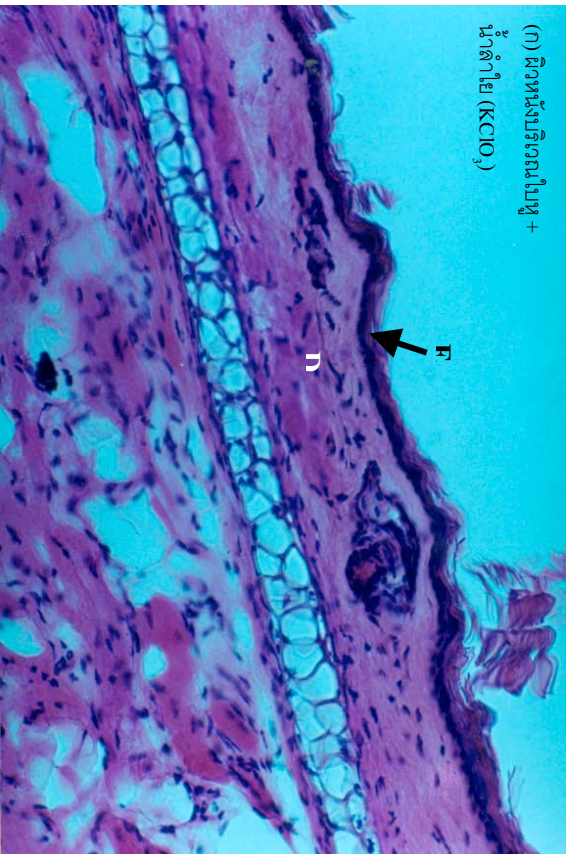
ผลการทดลอง

จากกราฟสังเกตด้วยตาเปล่าระหว่างการทาผิวหนัง ทั้งบริเวณหลัง และใบหูสัตว์ทดลองด้วยน้ำคั้นลำไย ตรวจไม่พบรอยแดง เม็ดผดผื่น หรือความผิดปกติใดๆที่จะแสดงถึงการระคายเคืองหรืออักเสบที่ผิวหนังในสัตว์ทดลองทุกกลุ่ม ทั้งที่ได้รับการทาน้ำลำไยจาก unknown samples (กลุ่ม 1 และ 2) และกลุ่มที่ทาด้วยน้ำคั้นลำไยซึ่งแรงการติดผลด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ (กลุ่ม 3 และ 4) แม้จะนำผิวหนังส่วนที่ทา ทั้งบริเวณหลังและใบหู มาศึกษาต่อด้วยวิธีทาง Histology โดยการย้อมชิ้นเนื้อด้วยสี Mayer's Hematoxylin and Eosin ตามวิธีมาตรฐานก็ไม่พบความผิดปกติใดๆเมื่อ เทียบกับผิวหนังปกติ (ไม่ได้ทาด้วยน้ำคั้นลำไย) ดังแสดงในรูป ซึ่งจะเห็นว่าผิวหนังนอกสุด (ชั้นผิวหนังกำพ่ำ: epidermis; E) ทั้งที่หลัง (แผนภูมิที่ 15) และใบหู (แผนภูมิที่ 16) ที่ทาด้วยน้ำคั้นลำไยซึ่งแรงการติดผลด้วยสารโพลีแซคคาไรด์มีลักษณะเรียบสม่ำเสมอและยึดติดแน่นกับชั้น dermis (D) ไม่ต่างจากผิวหนังปกติ ไม่พบการหลุดลอก หรือโป่งพอง หรือความผิดปกติอื่นใดที่แสดงถึงการอักเสบ ทั้งที่ผิวหนังชั้นนี้ และลึกลงไปชั้น dermis

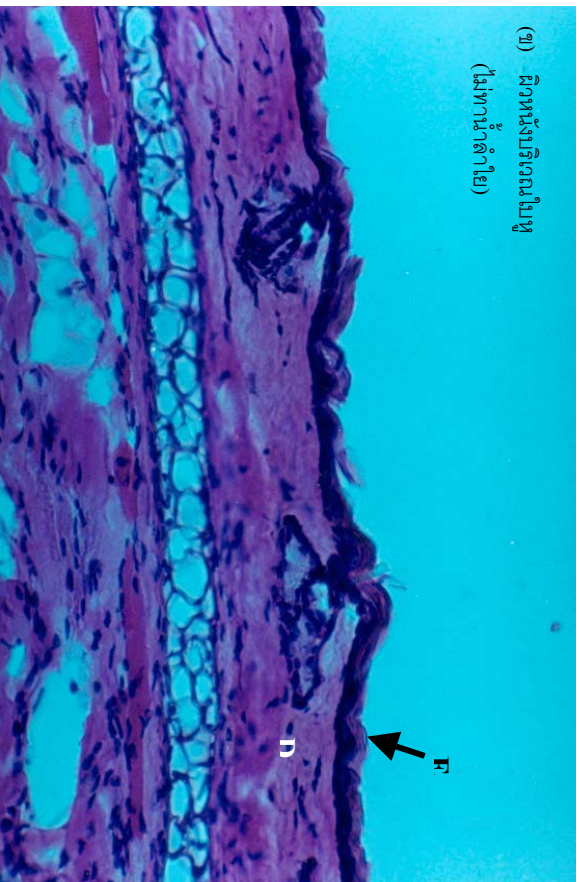


แผนภูมิที่ 15. แสดงผิวหนังบริเวณหลัง (กำลังขยายของภาพ x 580) ส่วนที่ทาด้วยน้ำคั้นลำไยที่ผู้สําร
ไปแช่สัปดาห์ละเจ็ด (๗) เทียบกับผิวหนังปกติ (๗) ซึ่งเนื้อดังกล่าวถูกย้อมด้วยสี Mayer's
Heamatoxylin and Eosin ตามวิธีมาตรฐาน (E = epidermis; D = dermis; H = hair follicle)

(ก) ผิวหนังบริเวณใบหู +
น้ำด่างไอ (KClO₃)



(ข) ผิวหนังบริเวณใบหู
(ไม่ทาน้ำด่างไอ)



แผ่นฉลุสีที่ 16. แสดงผิวหนังหนังบริเวณหลังใบหู (กำลังขยายของภาพ x 2900) ส่วนที่ขาดอยู่บนด้านซ้ายที่ชี้
 ตัวรูปแสดงสีเขียวคลอเรต (ก) เทียบกับผิวหนังปกติ (ข) ขึ้นเมื่อตั้งกล้องถ่ายภาพด้วยสี Mayer's
 Heamatoxylin and Eosin ตามวิธีมาตรฐาน (E = epidermis; D= dermis; H = hair follicle;
 C= elastic cartilage)

ผู้ดูแลระบบ

ผลความเป็นพิษต่อเอ็น (mutagenicity)

ถ้าเยื้องหนึ่งข้อไปแต่สี่เหลี่ยมคางหมูหรือไม่ใช่ เมื่อนำมาตัดด้วยปากฉันทันหรือเอทานอลหรือ 0.1 N HCl ไม่มีความเป็นพิษต่อยีน (mutagenicity) ต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์กระตุ้น

เมื่อทำการทดสอบผล antimutagenicity พบว่าสารสกัดจากลำไยที่มีการใส่สารโสมแปดสัปดาห์แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเกิด mutagenicity อย่างอ่อนต่อสารก่อมะเร็งชนิด IQ

ในทางตรงกันข้ามกลับพบว่าถ้าใช้ยาในขนาดสูงแต่ใช้มคอเวทนานไปอบแห้ง เป็นลำเยแห้ง เมื่อ นำมาสกัดด้วยวิธีเดียวกันแสดงฤทธิ์ต้านการกลายต่อ IQ ได้อย่างมีความสัมพันธ์แบบ dose dependent inhibition

ผลต่อการเกิดความผิดปกติของโครโมโซม (chromosomal aberration)

จากผลการทดลองพบว่า ถ้าใช้น้ำมาทดสอบมีผลทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้น เช่น จากค่าเฉลี่ยได้รับสารโปแตสเซียมคลอเรตทางใบในปริมาณ 2000 ppm และที่ได้รับสารโปแตสเซียมคลอเรตทางรากในปริมาณ 4 g, 8 g และ 16 g/m² ตามลำดับ ความผิดปกติที่พบ เกิดขึ้นได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เมล็ดใส่แอมโมเนียม S9 mix ทั้งในเมล็ดเดิม S9 mix ลงไปด้วยฤทธิ์ก่อให้เกิดความผิดปกติในโครโมโซมของโครโมโซมจะหายไป

สำหรับค่าเฉลี่ยปฏิภาณจรตามชาติ เมื่อเติมลงไปให้สอดคล้องของวงกลม S9 และเมื่อ S9 ไม่ผูกพัน

สำหรับชนิดของความผิดปกติโครโมโซมขนาดใหญ่จะเป็น chromatid type aberration ได้แก่ chromatid gaps, chromatid breaks, chromatid deletions และ chromatid exchanges ส่วน chromosome type aberration นั้นจะพบได้บ่อยกว่า เช่น chromosome gaps, chromosome breaks, chromosome deletions, acentric fragments, dicentric chromosomes และ ring chromosomes

อาจมีความเป็นไปได้ที่ถ้าได้เมื่อได้รับการไปแต่สแตย์มคดเอเรต แล้วอาจมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เมื่อมีการออกดอกและติดผล อาจมีการสร้างสารบางอย่างเกิดขึ้นในผลถ้าใช่ โดยสารที่เกิดขึ้นนี้จะไปมีผลทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม แต่สารนี้อาจถูกเปลี่ยนแปลงโดยถูกเอนไซม์ใน S9 fraction ที่เตรียมมาจากตับของหนูขาว และเป็นการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ลดความเป็นพิษดังกล่าว ทำให้ไม่มีผลทำให้เกิดอันตรายต่ออีเอ็มเอนโครโมโซมต่อไป

อย่างแรกตาม เมืองจากผลงานวิจัยนี้อาจจะมีผลกระทบในวงกว้างต่อไป ซึ่งน่าจะมีการทดลองซ้ำ และควรพยายามวิเคราะห์หาสาเหตุต่อไปให้แตกต่างในผลลัพท์ตามสภาพทำ

โครงสร้างโครโมโซมผิดปกติได้

ผลต่อการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายก่อนเวลา

พบว่าสารสกัดจากลำไยทำให้เซลล์และไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 50 มก/มล ขึ้นไป ทำให้เซลล์ที่ทดสอบตาย (death) โดยไม่ผ่านกลไกของ apoptosis แต่สารสกัดจากลำไยสกัดด้วยเอธานอล จากลำไยที่ใส่ไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ความเข้มข้น 8 มก/ม² แสดงแนวโน้มทำให้ทำให้เซลล์มะเร็ง HL-60 ตายโดยอะพอพโทสิสแบบ dose response

ส่วนนี้มาต้นสดจากลำไยที่ใส่ไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ขนาด 2000 ppm และสารสกัดจากลำไยที่ใส่ไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ขนาด 4 มก/ม² อาจทำให้เซลล์ปกติ amnion cell ตายแบบอะพอพโทสิส และ necrosis ได้ แต่จากการทดลองครั้งนี้พบว่าความแตกต่างทางสถิติ ผลการทดลองครั้งนี้มีจุดอ่อนคือ เซลล์ปกติ epithelial cells ในขณะตั้งต้น ที่ยังไม่ได้ใส่สารสกัดลำไยมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงอยู่ก่อนแล้ว กล่าวคือตายแบบอะพอพโทสิสสูงถึง 40% ส่วนเซลล์ fibroblasts ในขณะที่ยังไม่ได้ใส่สารสกัดลำไย มีเปอร์เซ็นต์การตายแบบอะพอพโทสิสสูงถึง 35% อยู่ก่อนแล้ว จึงทำให้เซลล์ที่ได้ไม่แข็งแรงเท่าที่ควรจะเป็น

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเฉพาะการตายแบบอะพอพโทสิส จะเห็นว่าสารสกัดจากลำไยที่มีการใช้ไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโร แสดงแนวโน้มถึงความสามารถกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งตายแบบอะพอพโทสิสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ที่ทดลองคือ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว) ส่วนเซลล์ปกติ fibroblasts และ epithelial cells นั้น ไม่สามารถกระตุ้นให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทสิสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกระตุ้นให้เซลล์มะเร็ง HL-60 cells ตายแบบอะพอพโทสิสได้อย่างมีความสำคัญทางสถิติได้แก่ถั่วคันนี้

1. สารสกัดด้วยน้ำของลำไยที่ให้สารไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ขนาด 4 g/m² (ชุด B)
2. สารสกัดด้วยเอธานอลของลำไยที่ใส่สารไฟโบรแบสทีเซลล์อเนโรที่ความเข้มข้น 16 g/m² (ชุด C)

การตายแบบอะพอพโทสิส (apoptosis) เป็นการตายชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างพิเศษ การตายแบบ อะพอพโทสิสเป็นการตายที่แตกต่างจากการตายแบบเนโครสิส (necrosis) การตายแบบอะพอพโทสิส จะไม่มีการอักเสบ เนื่องจากไม่มีการบวมน้ำ เพราะการดึงน้ำเข้าเซลล์จนทำให้เซลล์แตกออกจะพบในการตายแบบเนโครสิส ส่วนการตายแบบอะพอพโทสิส เซลล์จะมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงที่เฉพาะ คือ cytosol มีขนาดเล็ก นิวเคลียสมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ขนาดเล็กลง และมีการเคลื่อนที่ของ nuclear matrix ไปที่ขอบของเยื่อไมโทคอนเดรีย ทำให้ไมโทคอนเดรียมีรูปร่างเป็นเส้นยาวประจันหัว และเซลล์มีการแตกออกโดยยังมี membrane หุ้มอยู่ การตายแบบอะพอพโทสิสไม่มีการหลั่งสารออกสู่สิ่งแวดล้อมจึงไม่มีการอักเสบตามมา เรียกส่วนที่แตกออกเป็นชิ้นเล็กๆว่า apoptotic bodies หรือ fragmented bodies (26) Phosphatidylserine ซึ่งอยู่ใน inner leaflet ของ cell membrane จะเคลื่อนที่ (flip-flop) มาอยู่ที่ outer

leaflet ใน apoptotic cells ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยใช้ annexin V ที่ติดฉลากกับสาร fluorescence เช่น fluorescein isothiocyanate (FITC) และใช้ propidium iodide ซึ่งจะย้อมติด DNA (27) และตรวจสอบด้วย flow cytometry

มีรายงานถึงสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งให้ตายโดยยบยวการอะพอพโทซิส (28,29,30) และยังยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (31) นอกจากนี้ยังมีบางรายงานกล่าวถึงความสามารถในการป้องกันการตายของเซลล์ปกติ เช่น thymocytes (32), hair follicles ในหนูขาว (33) ความสำคัญของการที่สารสกัดสมุนไพรสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง และกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งตายโดยยบยวการอะพอพโทซิส ทำให้สามารถนำไปเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไป หรือหากสารสกัดสมุนไพรกระตุ้นให้เซลล์ปกติตายโดยยบยวการอะพอพโทซิส ก็จะเป็นข้อมูลที่เหมาะสมำให้คนเราหลีกเลี่ยงการบริโภคสมุนไพรนั้นๆ และในทำนองเดียวกันหากสารสกัดสมุนไพรไปป้องกันเซลล์ปกติจากการตายแบบอะพอพโทซิสก็เป็นประโยชน์ในการรักษาสุขภาพเช่นกัน

ข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้ นับเป็นข้อมูลพื้นฐานข้อดีของลำไยในด้านความสามารถที่จะเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดตายได้ ซึ่งควรที่จะต้องศึกษาวิจัยในระดับโมเลกุลต่อไป เพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้ครั้งนี้ และหากได้ข้อมูลที่ดีมากกว่านี้จะทำให้ลำไยสามารถนำมาพัฒนาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพชีวิตของคนทั่วไปได้

ผลต่อการได้รับสารสกัดจากลำไยต่อการเกิดรอยโรคก่อนเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่

จากการให้หนูขาวพันธุ์ Wistar ได้รับสารสกัดจากลำไยทุก ๆ วัน เป็นเวลา 4- 16 อาทิตย์ พบว่าหนูแต่ละกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากลำไยทั้งที่ไม่ใช้แต่สเซลล์และใช้ การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวหนู ไม่มีความแตกต่างกัน

แต่พบว่าสารสกัดจากลำไยที่ใช้ไปแต่สเซลล์เรตทางรากขนาด 8 ก/ม² และใช้ทางใบขนาด 2000 ppm สามารถส่งเสริมให้เกิดรอยโรค aberrant crypt foci เพิ่มขึ้นจากการได้รับการเหนี่ยวนำด้วย azoxymethane อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในขั้นเริ่มต้นของการเกิดมะเร็ง คือระยะเวลา 4 สัปดาห์ของการเหนี่ยวนำ แต่การได้รับสารสกัดจากลำไยเป็นระยะเวลาจนถึง 16 สัปดาห์ พบว่าไม่พบพฤติการส่งเสริมรอยโรคของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีเพียงจำนวนรอยโรคที่มีมากขึ้น (จำนวน aberrant crypt ต่อ focus) ซึ่งอาจหมายความว่าในสารสกัดจากลำไยอาจเพิ่มการกระตุ้นเมแทบอลิซึมของเอชอกซิมิแทน ทำให้เกิดควาผิดปกติของดีเอ็นเอมากเกินไป aberrant crypt แต่สารสกัดไม่ส่งเสริมให้ดีเอ็นเอผิดปกตินี้มีการแสดงออก (over expression) จึงทำให้เซลล์ที่มีดีเอ็นเอผิดปกตินี้ไม่มีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นตาม จึงไม่มีการส่งเสริมให้เกิด cell proliferation ทำให้ขนาดของ aberrant crypt ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารก่อมะเร็งเอชอกซิมิแทนอย่างเดียว

ความสัมพันธ์ของ aberrant crypt foci (ACF) กับกระบวนการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่

พัฒนาการของโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่นั้น มีความสัมพันธ์กับลักษณะของพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น เริ่มตั้งแต่การมีภาวะเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผิดปกติเพิ่มขึ้นในลำไส้ใหญ่จนกลายเป็นเนื้องอก และกลายเป็นมะเร็ง ในระหว่างขั้นตอนของการเกิดมะเร็ง จะพบ dysplastic crypts ที่เรียกว่า aberrant crypts foci (ACF) ซึ่งจัดเป็น preneoplastic lesion (34,35) ของโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยปกติโครงสร้างของ crypts of Lieberkuhn ประกอบด้วยเซลล์เยื่อบุลำไส้ (colonic epithelium) ที่มีการแบ่งตัวอย่างสม่ำเสมอ และคงที่ โดยเซลล์เยื่อบุจะถูกสร้างขึ้นมาตลอดเวลาจากส่วนกลางและส่วนกลางของ crypt แล้วเคลื่อนขึ้นมาเรื่อย ๆ ตามผนังด้านข้าง (crypt wall) จนออกมาสู่ผิวหน้าของเยื่อบุ (epithelium) เมื่อเซลล์มีการพัฒนาการเปลี่ยนแปลงไป (differentiate) ขนาดและรูปร่างของ crypt ขึ้นอยู่กับอัตราเร็วของการเจริญงอกงาม (proliferation) ตามการเคลื่อนที่ขึ้นมาสู่ผิวด้านหน้าและการหลุดออกไปของเซลล์ที่ตาย ชนิดและการกระจายตัวของ crypt จะแตกต่างกันตามการสร้างใหม่ (36) ระหว่างที่มีการแบ่งตัวและการสร้างเซลล์ จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) ภายใน crypt (37) ลักษณะของ crypts จึงเป็นตัวบอกระดับความผิดปกติที่เกิดขึ้นได้ โดยพิจารณาจากขนาด รูปร่างและพื้นที่รอบ crypts

มะเร็งลำไส้ใหญ่พบว่ามีกำเนิดมาจากการมี neoplastic transformation ของ stem cell ใน Lieberkuhn crypt ทำให้ crypt ประกอบด้วยเซลล์ที่ผิดปกติไป (16) การเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดจากการเหนี่ยวนำโดยสารก่อมะเร็งที่จำเพาะ (colon-specific carcinogen) ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาเติมหมู่เมทิล (methylation) ให้แก่กรดนิวคลิอิกในนิวเคลียสของเซลล์เยื่อบุลำไส้ (37,38,39) ทั้งนี้ปฏิกิริยาดังกล่าวจะเริ่มเกิดที่ 3 ชั่วโมงหลังจากได้รับสารก่อมะเร็งดังกล่าว (40) และถึงจุดสูงสุดประมาณ 24 ชั่วโมง (41,42,43,44) ประมาณ 1-2 วันหลังจากได้รับสารก่อมะเร็งจะมีจำนวนเซลล์ต่อ crypts ลดลง จากนั้นร่างกายจะมีการสร้างกรดนิวคลิอิกและเกิดกระบวนการแบ่งตัว (mitosis) มากขึ้น เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนที่ถูกทำลายไป ทำให้มีจำนวนเซลล์ ต่อ crypts เพิ่มขึ้น ลักษณะของ crypts จะแตกต่างกันจาก crypt ปกติเรียก Aberrant crypts foci (ACF) ซึ่งใช้เวลาในการเห็นอย่างน้อยด้วยสารเคมีประมาณ 2 สัปดาห์ (45)

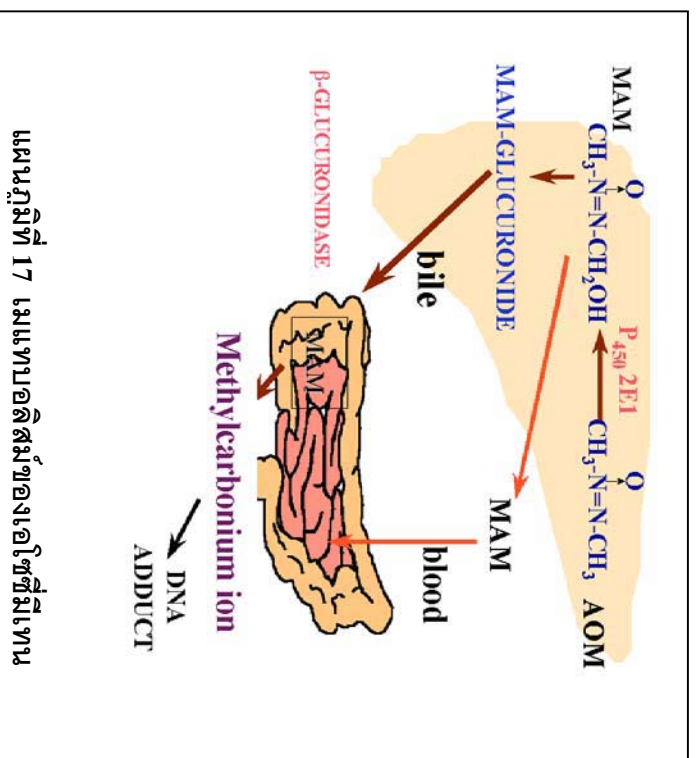
เหตุผลที่ ACF จัดเป็นลักษณะจำเพาะของรอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง (preneoplastic lesion) และเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ เนื่องจาก

1. ACF เกิดจากการเหนี่ยวนำอย่างจำเพาะจะคงจากการก่อมะเร็งที่จำเพาะต่อลำไส้ใหญ่ (16,45) โดยจะไม่พบ ACF ในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับสารก่อมะเร็ง
2. จำนวน ACF มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาในสัตว์ที่มีการบริโภคอาหารที่มีไขมันต่าง ๆ กัน (46,47) พบว่า จำนวน ACF เพิ่มขึ้นในสัตว์ที่มีการบริโภคอาหารที่มีไขมันมาก (48,49) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอาหารที่มีไขมันสูงสามารถส่งเสริมการเกิดมะเร็ง

- (50.51)
3. สามารถพบ ACF ในลำไส้ของคนก่อนเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด Familial polyposis หรือ ulcerative colitis (37)
4. สามารถตรวจพบ ACF ในลำไส้ของหนูขาวได้ภายหลัง 2 สัปดาห์เมื่อเหนี่ยวนำด้วยเอซอกซีมีเทน (40)
5. การวิเคราะห์ดูจำนวนการเกิด ACF และการเจริญของ ACF สามารถใช้เป็นวิธีศึกษาการเกิดมะเร็งได้ทั้งขั้นเริ่มต้น (initiation stage) และขั้นส่งเสริมการเกิดมะเร็ง (promotion stage) (52)
6. จำนวนและลักษณะรูปร่างของ ACF รวมทั้งความหนาของ epithelial lining และการเพิ่ม pericryptal zone ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ พบมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (53)
7. สารที่มีผลป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ สามารถป้องกันการเจริญและการพัฒนาของ ACF ได้ (53,54)

เอซอกซีมีเทน (Azoxymethane : AOM) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ก่อให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ใน

หนู ได้มีการนำ AOM มาเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ในสัตว์ทดลองเพื่อใช้เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์ป้องกันมะเร็งของสารเคมีป้องกัน (chemopreventive agent) ที่จะสามารถนำไปป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ การออกฤทธิ์ในการก่อให้เกิดมะเร็งลำไส้ของ AOM เกิดขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึม (แผนภูมิที่ 17) ภายหลังจากการได้รับ AOM เข้าไปในร่างกาย จะเกิดปฏิกิริยาซึ่งอาศัยเอนไซม์ (P450 2E1- dependent monooxygenase) ที่ตับเกิดเป็น methylazoxymethanol (MAM) (55)



เพื่อจะนำไปรวม (conjugate) กับกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) ได้เป็น MAM-glucuronide โดยอาศัยเอนไซม์กลูคูโรนิลทรานส์เฟอเรส (Glucuronyl transferase) และลำเลียงโดยน้ำดีไปยังลำไส้เพื่อการกำจัดออกไป แต่จะถูกเอนไซม์ β -glucuronidase ของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่สลาย MAM-glucuronide ไปเป็น MAM ในรูปอิสระ ซึ่งเป็นสารที่สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น methyl diazonium ion

และเกิดเป็น methyldiazohydroxide ได้เอง สารตัวกลางทั้ง 2 ตัวนี้สามารถเติมหมู่ Alkyl ให้กับดีเอ็นเอของตัวได้ การเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ภายหลังการได้รับสารก่อมะเร็งเช่นเอซีซีมีสาเหตุเข้าไป จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายอย่างซึ่งสามารถตรวจวัดได้ก่อนที่จะเป็นมะเร็ง เช่น การเกิดความผิดปกติต่อโครงสร้างดีเอ็นเอ ได้แก่ การเกิด N7-methylguanine และ O6-methylguanine ในดีเอ็นเอของลำไส้ใหญ่ ดีเอ็นเอที่ผิดปกติ เช่น O6-methylguanine มีความเกี่ยวข้องกับกรณีการผิดปกติของยีนมะเร็งที่อาจพัฒนาไปจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งเรื้อรังของลำไส้ใหญ่ (56,57,58) สามารถตรวจวัดได้โดยดูลักษณะของเซลล์ลำไส้ใหญ่ที่เจริญแบบผิดปกติซึ่งเรียกว่า Aberrant Crypt Foci การตรวจดู foci ที่ผิดปกติของเซลล์ลำไส้ใหญ่จึงเป็นวิธีการหาสารต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยใช้เวลาระยะสั้น โดยใช้เวลา 5 นาทีโดยสำหรับการรักษาขั้น

เหตุของสารสกัดจากเมล็ดน้ำเต้ากับการออกแบบของผิวหนัง

จากคำเล่าลือเกี่ยวกับการเกิดผิวงหน้าอีกแบบเป็นแผนุพของนักกลุ่มคนงานแกะสลักเขานอกฤดูการซึ่งเป็นลำไยที่ได้จากการเร่งด้วยสารไปแต่สเขียวมคธเรตนั้น ทำให้เกิดความวิตกว่าสารพิษตกค้างในน้ำลำไยดังกล่าว จนเป็นสาเหตุของการเกิดผิวงหน้าอีกแบบ อย่างเร่งตามผลการทดลองของต้นตอรั้นนี้ ไม่พบว่าน้ำลำไยสดที่ใส่สารไปแต่สเขียวมคธเรตก่อให้เกิดการระคายเคืองหรือการอักเสบที่ผิวงหน้าบริเวณหลังและใบหูหนูถีบจักรที่ใช้ทดลอง ทั้งที่สัตว์ดังกล่าวได้รับการทาผิวหนึ่งซ้ำ ๆ บริเวณเดิมด้วยน้ำต้นลำไยถึงห้าครั้งต่อวัน ติดต่อกันนานหนึ่งอาทิตย์โดยไม่มีการล้างออกเลย อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพที่เกิดขึ้นจริงของคนงานแกะลำไย พบว่าคนงานแกะลำไยส่วนใหญ่จะเริ่มแกะลำไยตั้งแต่เช้าตรู่และแกะต่อเนื่องกันไปโดยไม่มีการล้างมือจนกระทั่งถึงเวลาเที่ยงวันจึงล้างมือเพื่อพักรับประทานอาหาร จากนั้นจึงแกะต่อไปอีกโดยไม่หยุดพักจนกระทั่งเย็นจึงล้างมืออีกครั้งก่อนกลับบ้าน ดังนั้นโดยทั่วไป คนงานแกะลำไยจะมีการล้างมือเพียงประมาณ 2-3 ครั้งต่อวัน อีกทั้งสภาพแวดล้อมโดยทั่วไปของบริเวณที่แกะลำไยมีความชื้นและมากกว่าสภาพแวดล้อมของสัตว์ทดลองในกรณีนี้ จึงอาจเอื้อโอกาสให้มีการเจริญของเชื้อราหรือเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะเมื่อมีแหล่งอาหารที่สำคัญคือน้ำตาลในลำไย ขณะที่มีการแกะเปลือกหรือแกะลำไยออก ทำให้ผู้ที่แกะลำไยเป็นเวลานานอาจติดเชื้อที่มือ ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นบริเวณซอกเล็บ หรือข่ามมือ โดยมีลักษณะคล้ายโรคผิวงหน้าที่เกิดจากการติดเชื้อรามากกว่า

หากนำคำเย้ยสามารถทำให้เกิดความระคายเคืองหรือการอึกเสียดสีผิวหนึ่งได้จริง น่าจะยังคงมีฤทธิ์ทำให้เกิดความผิดปกติผิวหนังของสัตว์ทดลองได้ แม้จะผ่านขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองทำให้เกิดความผิดปกติผิวหนังของสัตว์ทดลองได้ แม้จะผ่านขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรอง ซึ่งในการทดลองนี้เครื่องนี้แตกต่างแต่เชื้อราหรือเชื้อจุลินทรีย์อาจไม่เป็นอันตรายระหว่างขั้นตอนการแกะเปลือกแล้ว อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองครั้งนี้ดูเหมือนเพียงการรายงานเบื้องต้นเท่านั้น

จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่าคนไข้ที่ได้รับการใช้แปดเหลี่ยมลดแรงกดและ
น้ำหนักจากลำโพงรวมชาติ ไม่สามารถก่อให้เกิดการระคายเคืองหรือการอักเสบผิวหนังสังเกต

ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าน้ำคั้นลำไยดังกล่าวไม่มีสารตกค้างใด ๆ ที่ก่อให้เกิดการอักเสบที่ผิวหนังตามที่เกษตรกรวิตกกังวล ความผิดปกติที่ผิวหนังบริเวณง่ามมือและข้ออกเลืมมือของเกษตรกรที่ทำหน้าที่แกะลำไยอาจเกิดจากการติดเชื้ือรา ซึ่งอาจเกิดได้หากผิวหนังสัมผัสกับความชื้นและเป็นเวลานานและแม้จะเป็นการแกะลำไยที่ให้ผลผลิตตามวิธีธรรมชาติ

อย่างไรก็ตาม ผลลบ (negative results) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างทางชีวเคมีบางประการระหว่างผิวหนังมนุษย์ที่ใช้ทดลองในครั้งนีี้กับผิวหนังคน ทำให้ผิวหนังมนุษย์สามารถเปลี่ยนแปลงต่าง (หากมี) ในน้ำคั้นลำไยที่เร่งด้วยไฟ้แต่สเชื้อยมคผลอเรตให้ออยู่ในแผนภูมิที่ไม่เป็นพิษได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ animal model ของการทดลองในครั้งนี้จึงอาจไม่เหมาะสม ดังนั้น เพื่อที่จะให้ได้ผลการทดสอบที่ดีที่สุด จะต้องทดลองบนผิวหนังคนอาสาสมัครโดยตรง แต่อาจมีความยุ่งยากในการควบคุมปัจจัยต่างๆ ตลอดจนเกี่ยวข้องกับจริยธรรมการวิจัย อีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือ งานวิจัยจากการเก็บข้อมูลเปรียบเทียบกับสถิติในอุบัติการณ์การเกิดโรคผิวหนังอักเสบที่มื่อ ในกลุ่มคนงานแกะลำไยที่เร่งด้วยไฟ้แต่สเชื้อยมคผลอเรตเทียบกับกลุ่มคนงานที่แกะเฉพาะลำไยที่ปลูกตามฤดูกาลเท่านั้น ซึ่งข้อมูลที่ได้ อาจช่วยให้ได้คำตอบที่น่าสนใจเกี่ยวกับเกษตรกรผู้แกะลำไย ไม่ว่าผลที่ออกมาจะเป็นบวก หรือลบก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

1. Fisher Scientific Corporation, University of California-MSDS System, Potassium chlorate. Available from <http://chem-course.ucsd.edu/CoursePages/Uglabs/MSDS/potassium.chlorate.-fisher.html>.
2. VWR Scientific Corporation, University of California-MSDS System, Potassium chlorate. Available from <http://chem-course.ucsd.edu/CoursePages/Uglabs/MSDS/potassium.chlorate.-baker.html>.
3. American Scientific, University of California-MSDS System, Potassium chlorate. Available from <http://chem-course.ucsd.edu/CoursePages/Uglabs/MSDS/potassium.chlorate.-mal.html>.
4. International Chemical Safety Cards, Potassium chlorate. Available from <http://www.cdc.gov/niosh/ipc/sineng/eng0548.html>.
5. Fiume MZ, Final report on the safety assessment of potassium chlorate. J Am Coll Toxicol, 1995; 14(3), 221-30.
6. Dreisber RH, Robertson WO. 1987 Handbook of poisoning: Prevention, Diagnosis & Treatment. 12ed Appleton & lange. California.
7. Ames BN (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens. Science, 221, 1256-1264
8. Maron DM and Ames BN (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat. Res., 113, 173 – 215
9. Matsushima T, Sugimura T, Nagao T, Shirai A and Suwamura M (1980) Factors modulating mutagenicity in microbial tests. In K.H. Norporth and R.C. Garner (eds) Short-term test system for detecting carcinogens. Springer-Verlag, Berlin. pp 273-285
10. Azizan A, Blevins R.D. (1995) Mutagenicity and Antimutagenicity Testing of Six Chemicals Associated with the Punget Properties of Specific Spices as Revealed by the Ames Salmonella/Microsomal Assay. Arch. Environment. Contam. Toxicology, 28, 248-258
11. Matsushima T, Suwamura M, Hara K and Sugimura T (1976) A safe substitute for polychlorinated biphenyl as an inducer of metabolic activation system. In F. de Serres., *et al.* (eds) In vitro metabolic activation in mutagenesis testing. Elsevier/ North-Holland, Amsterdam. pp 85-88
12. Carrano AV, Natarajan AT (1988). Consideration for population monitoring using cytogenetic techniques. Mutation Res, 204, 379-406
13. Hsu TC, Collie CL, Lusby AF, Johnston DA (1977). Cytogenetic assays of chemical

clastogens using mammalian cells in culture. *Mutation Res*, 45, 233-247.

14. IPCS (International programme on chemical safety) (1985). Environmental health criteria 51, guide to short term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals. World Health Organization Geneva, pp. 100-115
15. Venitt S, Parry JM (1984). Mutagenicity testing, a practical approach. IRL Press, Oxford, Washington DC, pp. 187-232
16. Bird R P. (1987) Observation and quantification of aberrant crypt in the murine colon treated with a colon carcinogen : preliminary findings. *Cancer Lett*, 57 : 147-151
17. McLellan E A, and Bird R P. (1988) Aberrant crypts : potential preneoplastic lesions in the murine colon. *Cancer. Res*. 48 : 6187-6192
18. Bird R P. (1995) Role of aberrant crypts foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Cancer Letters*. 93 : 55-71
19. Shapiro HM. Practical flow cytometry. (3rd ed.) New York: John Wiley & Sons, Inc., Publication, 1995.
20. Cortman, R.S., Kumar, V., Path, F.R.C., and Collin, T. (1999) Acute and chronic inflammation. In: *Robbins "Pathologic Basis of Diseases"* (6th ed.) W.B. Saunders company, Pennsylvania. pp: 50-88
21. Szabo, C. (1996) DNA strand breakage and activation of poly-ADP ribosyltransferase : a cytotoxic pathway triggered by peroxynitrite. *Free Radic Biol Med* 21:855-869.
22. Zingarelli, B., O'Connor, M., Wong, H., and Szabo, C. (1996) Peroxynitrite-mediated DNA strand breakage activates poly-adenosine diphosphate ribosyl synthetase and causes cellular energy depletion in macrophages stimulated with bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol* 156: 350-358.
23. Bruch-Gerharz, D., Ruzicka, T. and Kolb-Bachofen, V. (1998) Nitric oxide in human skin: current status and future prospects
24. Ormerod, A.D., Copeland, P., Hay, I., Husain, A., and Ewen, S.W. (1999) The inflammatory and cytotoxic effects of a nitric oxide releasing cream on normal skin. *J Invest Dermatol* 113 (3):392-7
25. Ormerod, A.D., Dwyer, C.M., Reid, A., Copeland, P. and Thompson, W.D. (1997) Inducible nitric oxide synthase demonstrated in allergic and irritant contact dermatitis. *Acta Derm Venereol* 77(6):436-40

26. Umansky SR. (1982) The genetic program of cell death. Hypothesis and some applications: transformation, carcinogenesis, ageing. *J Theor Biol.* 97 : 591-602
27. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR.(1972) Apoptosis: a ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 26 : 239-57
28. Rotello RJ, Hocker MB, Gerschenson LE. (1989) Biochemical evidence for programmed cell death in rabbit uterine epithelium. *Am J Pathol.* 134 : 491-5
29. Carson DA, Ribeiro JM. (1993) Apoptosis and disease. *Lancet.* 341 : 1251-54.
30. Williams GT, Smith CA. (1993) Molecular regulation of apoptosis : genetic controls on cell death. *Cell.* 74 : 777-9
31. Bishop CJ, Whiting VA.(1983) The role of natural killer cells in the intravascular death of intravenously injected murine tumour cells *Br J Cancer.* 48 : 441-4.
32. Schwartzman RA, Cidlowski JA.(1993) Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocr Rev.* 14 : 133-51.
33. Gorczyca W, Gong J. Aldelt B, Traganos F, Darzymkiewicz Z.(1993) The cell cycle related differences in susceptibility of HL-60 cells to apoptosis induced by various antitumor agents. *Cancer Res.* 53 : 3186-92
34. Altmann GG (1983) Morphological observation on mucus-secreting nongoblet cells in the deep crypts of the ascending colon. *Am J Anat.* 167. 95-117
35. Pretlow TP, O'Riordan MA, Pretlow TG and Stellata TA (1992) Aberrant crypts in human colonic mucosa : putative preneoplastic lesions. *J Cell Biochem* 16G(suppl), 55-62
36. Chang, WL (1981) Degenerative behavior of epithelial cells in the colonic crypt of the mouse following administration of colonic carcinogen, 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Lett* 13, 111-118
37. Babara T, Rangana P, Bird RP and Bruce W (1989) Foci of aberrant crypts in the colons of mice and rats exposed to carcinogens associated with foods. *Cancer. Res.* 49, 1236-1240
38. Fiala ES (1975) Investigation into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1,2 dimethylhydrazine. *Cancer* 36, 2407-2412
39. Beaker R A, Barrows LR and Shank RC (1981) Methylation of liver DNA guanine in hydrazine hepatotoxicity : dose-response and kinetic characteristic of N⁷-methylguanine and O⁶-methylguanine formation and persistence in rats. *Carcinogenesis.* 2(11), 1181
40. Mclellan EA and Bird RP (1988a) Study to evaluate induction of aberrant crypts in

- murine colon. *Cancer.Res.* 48, 6183-6186
41. Bird RP (1987) Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen : preliminary finding *Cancer Lett.* 37. 147-151
 42. Chang WL (1984) Histogenesis of colon cancer in experimental animals. *Scand J Gastroenterol* .104 (suppl), 327-343
 43. Fearon ER and Jones PA (1992) Progressing toward a molecular description of colorectal cancer development. *FASEB J.* 6, 2783-2790
 44. Mclellan EA and Bird RP (1988b) Aberrant crypts : potential preneoplastic lesion in the murine colon. *Cancer Res* 48: 6187-6192
 45. Wargovich MJ, Medline A and Bruce WR (1983) Early histopathologic events to evolution of colon cancer in C57BL/6 and CF1 mice treated with 1,2-dimethylhydrazine. *J Natl Cancer Res.* 71, 125-131
 46. Pretlow TP, Barrow BJ, Ashton WS, O'Riordan MA, Pretlow TG, Jurcisek JA and Stelato TA(1991) Aberrant crypts : putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. *Cancer Res* 51, 1564-1567
 47. Singh J, Hamid R and Reddy BS (1997) Dietary fat and colon cancer: modulating effect of types and amount of dietary fat on ras-p21 function during promotion and progression stages of colon cancer. *Cancer.Res.* 57, 253-258
 48. Bartoli E, Fernandez-Banares F, Navarro E, Castella E, Mane J, Alvarez M, Pastor C, Cabre E and Gassull MA (2000) Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation or arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E2 synthesis. *Gut.* 46, 191-199
 49. Reddy BS, Simi B, Patel N and *et al.* (1996) Effect of amount and types of dietary fat on intestinal bacteria **7α**-dehydroxyklase and phosphatidylinositol-specific phospholipase C and colonic mucosal diacylglycerol kinase and PKC activities during different stages of colon tumor promotion. *Cancer.Res.* 56, 2314-2320
 50. Reddy BS (1994) Chemoprevention of colon cancer by dietary fatty acids. *Cancer and Metastasis Review* 13, 285-302
 51. Shivapurkar N, Tang, ZC and Alabaster O (1992) The effect of high-risk and low-risk diets on aberrant crypt and colonic tumor formation in Fisher 344 rats. *Carcinogenesis* 13, 887-890

52. Pereira MA, Barner LH, Rassman V, Kelloff GV and Steels VE (1994) Use of azoxymethane-induced foci of aberrant crypts in rat colon to identify potential cancer chemopreventive agents. *Carcinogenesis* 15, 1049-1054
53. Bull AW, Burd, AD and Nigro ND (1981) Effect of inhibitors of tumorigenesis on the formation of O6-methylguanine in the colon of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. *Cancer Res* 41(12Pt1), 4938-4941
54. Pereira MA and Khoury MD (1991) Prevention by chemopreventive agents of azoxymethane-induced foci of aberrant crypts in rat colon. *Cancer Lett* 62, 27-33
55. Sohn OS, Ishizaki H, Yang CS and Fiala ES (1991) Metabolism of azoxymethane, methylazoxymethanol and N-nitrosodimethylamine by cytochrome P450IIE1. *Carcinogenesis* 12, 127-131
56. DeRubertis FR, and Craven PA (1980) Early alterations in rat colonic mucosal cyclic nucleotide metabolism and protein kinase activity induced by 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Res.* 40, 4589-4598
57. Lohr U, Wiebecke B and Eder MZ (1969) Morphological and autoradiographic investigation of alterations of intestinal mucosa after a single injection of 1,2-dimethylhydrazine. *Ges Exp Med* 151: 297-307
58. Fiala ES (1975) Investigation into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1,2 dimethylhydrazine. *Cancer* 36, 2407-2412

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผน กิจกรรมที่ดำเนินการและผลที่ได้รับ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการ	ผลที่ได้รับ
เพื่อศึกษาความเป็นพิษของผลลำไยที่ได้จากการใช้สารโปแตสเซียมเป็นสารเร่งการออกดอก โดยการวิจัย 1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ที่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมและฤทธิ์ด้านการเกิดความผิดปกติ 2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต่อการเหนี่ยวนำและฤทธิ์ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ 3. เพื่อศึกษาฤทธิ์การกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง 4. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากลำไยต่อการอักเสบของผิวหนังและการเหนี่ยวนำเอนไซม์ nitric oxide synthetase	1. การทดสอบผลต่อการทำให้เกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างของยีน 1.1 ทดสอบความผิดปกติต่อยีนของแบคทีเรีย 1.2 ทดสอบความผิดปกติต่อโครโมโซมของคน 2. การทดสอบฤทธิ์การเหนี่ยวนำและฤทธิ์ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ 3. การทดสอบการกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง 4. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากลำไยต่อการอักเสบของผิวหนังและการเหนี่ยวนำเอนไซม์ nitric oxide synthetase	1. การทดสอบผลต่อการทำให้เกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างของยีน 1.1 ทดสอบฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติต่อยีนแบคทีเรียโดยการทดสอบเอมส์ 1.2 ทดสอบฤทธิ์ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติต่อยีนแบคทีเรียของสารก่อการกลายมาตรฐานโดยการทดสอบเอมส์	ค ว า ม เ ป็ น พิ ษ ต่ อ ยี น (mutagenicity) 1.1 ลำไยทั้งที่ใช้โปแตสเซียมคลอเรตหรือไม่ใช้ เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำกลั่นหรือเอทานอลหรือ 0.1 N HCl ไม่มีความเป็นพิษต่อยีนแบคทีเรีย <i>Salmonella typhimurium</i> สายพันธุ์ TA98 และ TA100 1.2 ฤทธิ์ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติต่อยีนแบคทีเรียของสารก่อการกลายมาตรฐาน (antimutagenicity) พบว่าสารสกัดจากลำไยที่มีการใส่สารโปแตสเซียมคลอเรตทางใบแสดงฤทธิ์ co-mutagenicity อย่างอ่อนต่อสารก่อมะเร็งชนิด IQ แต่พบว่าลำไยที่ไม่ใช้โปแตสเซียมคลอ

		1.3 ทดสอบความผิดปกติต่อ โครโมโซมของคน	เรตที่นำไปอบแห้ง เป็นลำไยแห้ง เมื่อนำ มาสกัดด้วยวิธีเดียวกันจะแสดงฤทธิ์ ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติ ต่อยีนแบบที่เรียกว่าของ IQ ได้อย่างมีความ สัมพันธ์แบบ dose dependent inhibition สำหรับลำไยที่มีการใช้โปแตสเซียมคลอ เรตที่นำไปอบแห้ง ยังไม่สามารถทดลอง เพราะยังไม่มีตัวอย่าง 1.3 ผลต่อการเกิดความผิดปกติของ โครโมโซม พบว่าลำไยที่ได้รับสารโปแตสเซียมคลอ เรตทางใบในปริมาณ 2000 ppm และที่ ได้รับสารโปแตสเซียมคลอเรตทางราก ในปริมาณ 4 g, 8 g และ 16 g/m² ตาม ลำดับ ทำให้เกิดความผิดปกติของ โครโมโซมเกิดขึ้น แต่เกิดขึ้นได้เมื่ออยู่ใน สภาวะที่ไม่ได้ใส่เอนไซม์ S9 mix ทั้งนี้ เมื่อเติม S9 mix ลงไปด้วยฤทธิ์ที่ก่อให้เกิด
--	--	--	--

		2. การทดสอบฤทธิ์การเหนี่ยวนำและฤทธิ์ด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่เกิดจากสารก่อมะเร็งลำไส้เอซอกซีมีเทนในหนูขาว	เกิดความผิดปกติในโครงสร้างของโครโมโซมจะหายไป สำหรับลำไยที่ปลูกตามธรรมชาติเมื่อเติมลงไปในห้องทดลองทั้งที่มี S9 และไม่มี S9 ไม่มีผลทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้น 2. ผลต่อการได้รับสารสกัดจากลำไยต่อการเกิดรอยโรคก่อนเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ การให้หนูขาวพันธุ์ Wistar ได้รับสารสกัดจากลำไยทุก ๆ วัน เป็นเวลา 4- 16 อาทิตย์ พบว่าหนูแต่ละกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากลำไยทั้งที่ไม่ใช่โปแตสเซียมคลอเรตและใช่ ไม่มีความแตกต่างกันของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวหนู แต่พบว่าสารสกัดจากลำไยที่ใช้โปแตสเซียมคลอเรตทางรากขนาด 8 ก/ม² และใช้ทางใบขนาด 2000 ppm สามารถส่ง
--	--	---	---

		3. การทดสอบการกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ปกติที่ได้จากน้ำคร่ำ ซึ่งจัดเป็นเซลล์ปกติตามธรรมชาติแยกได้เป็นเซลล์ 2 ประเภทคือ fibroblasts และ epithelial cells และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (promyelocytic leukemic cell lines or HL-60 cells)	เสริมให้เกิดรอยโรค aberrant crypt foci เพิ่มขึ้นจากการได้รับการเหนี่ยวนำด้วย azoxymethane อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในขั้นเริ่มต้นของการเกิดมะเร็ง คือระยะเวลา 4 สัปดาห์ของการเหนี่ยวนำ แต่การได้รับสารสกัดจากลำไยเป็นระยะเวลาจนถึง 16 สัปดาห์ ไม่พบฤทธิ์การส่งเสริมรอยโรคของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีเพียงจำนวนรอยโรคที่มีมากขึ้น (จำนวน aberrant crypt ต่อ focus) ซึ่งอาจหมายความว่าในสารสกัดจากลำไยอาจเพิ่มการกระตุ้นเมแทบอลิซึมของสารก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่เอซอกซีมีเทน 3. สารสกัดจากลำไยที่มีการใช้ไปแต่สเซียมคลอเรต แสดงแนวโน้มสามารถกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตายแบบอะพอพโทซิสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน
--	--	--	--

		4. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากลำไยต่อการอักเสบผิวหนังในหนูขาว	เซลล์ปกติ fibroblasts และ epithelial cells นั้น ไม่สามารถกระตุ้นให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกระตุ้นให้เซลล์มะเร็ง HL-60 cells ตายแบบอะพอพโทซิสได้อย่างมีความสำคัญทางสถิติได้แก่สภาวะดังนี้ สารสกัดด้วยน้ำของลำไยที่ให้สารโปแตสเซียมคลอเรตทางราก 4 g/m^2 และสารสกัดด้วยเอธานอลของลำไยที่ใส่สารโปแตสเซียมคลอเรตที่ดินความเข้มข้น 16 g/m^2 4. น้ำคั้นลำไยสดจากลำไยที่ได้จากการใช้โปแตสเซียมคลอเรตและน้ำคั้นลำไยสดจากลำไยธรรมชาติ ไม่สามารถก่อให้เกิดการระคายเคืองหรือการอักเสบที่ผิวหนังสัตว์ทดลอง เนื่องจากคำแนะนำจากผู้ทรงคุณวุฒิให้
--	--	---	--

			ทดลองงานวิจัยข้อ 4 ในชั้นเริ่มต้น เพียง หกเดือนก่อนหากได้ผลจึงทดลองการ กระตุ้นเอนไซม์ nitric oxide synthetase ดังนั้นเมื่อผลการทดลองไม่แสดงผลก่อน เกิดการอักเสบที่ผิวหนัง จึงไม่ได้ทดลอง การกระตุ้นเอนไซม์ต่อ
--	--	--	--

ภาคผนวกที่ 1 รายละเอียดของการให้สารโปแตสเซียมคลอเรต

การให้สารโปแตสเซียมคลอเรตทางดิน (ราก)

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 4 treatment 4

ซ้ำๆ ละ 1 ต้น คือ

Treatment 1 ไม่ให้สาร (Control)

Treatment 2 ให้สารโปแตสเซียมคลอเรต อัตรา 4 กรัม/ตารางเมตร

Treatment 3 ให้สารโปแตสเซียมคลอเรตอัตรา 8 กรัม/ตารางเมตร

Treatment 4 ให้สารโปแตสเซียมคลอเรตอัตรา 16 กรัม/ตารางเมตร

ทำการทดลอง ณ อุทยานเกษตรและฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ โดยการให้สารทำการหว่านสารรอบ ๆ ทรงพุ่มแล้วรดน้ำให้ชุ่ม ดูแลป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูลำไยตลอดจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต

การให้สารโปแตสเซียมคลอเรตทางใบ (พ่น)

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 3 treatment 3

ซ้ำๆ ละ 1 ต้น คือ

Treatment 1 ไม่ให้สาร (Control)

Treatment 2 การให้สารโปแตสเซียมคลอเรตความเข้มข้น 1,000 ppm

Treatment 3 การให้สารโปแตสเซียมคลอเรตความเข้มข้น 2,000 ppm

ทดลอง ณ อุทยานเกษตรและฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ โดยการผสมสารกับน้ำคนให้ละลายแล้วใส่ถึงพ่นที่ใบลำไยให้ทั่วทั้งทรงพุ่ม

หมายเหตุ ผลผลิตชุดที่ 3 การให้สารอัตรา 8 กรัม/ตารางเมตร วิธีการให้เช่นเดียวกันกับการให้สารทางราก