บทที่ 4

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของสารละลายตะกั่วอะซีเตทต่อเยื่อเซลล์กระเพาะอาหารและลำไส้ โดยวิธีศึกษาผลการซึมผ่านและอันตรกิริยาของสารละลายตะกั่วต่อเยื่อเซลล์เทียมซึ่งเตรียมโดยวิธีของ Langmuir และศึกษาการเปลี่ยนแปลงเยื่อเซลล์กระเพาะอาหารและลำไส้ของหนูทางด้านจุลกายวิภาค เมื่อให้สารละลายตะกั่วอะซีเตทในขนาดต่าง ๆ กัน พบว่า

1. การศึกษาผลของสารละลายตะกั่วอะซีเตทต่อเยื่อเซลล์เทียมที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3 ซึ่งเป็นสภาวะความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะอาหารพบว่า เมื่ออัตราส่วนขององค์ประกอบของเยื่อเซลล์ไม่มี Bovine Serum Albumin เป็นองค์ประกอบ Cholesterol มีอัตราส่วนเพิ่มขึ้นในขณะที่ Egg Lecithin มีอัตราส่วนลดลง สารละลายตะกั่วอะซีเตทจะซึมผ่านเยื่อเซลล์ได้ลดลง มีบางส่วนตกค้างและเกิดอันตรกิริยาต่อเยื่อเซลล์มากขึ้น เยื่อเซลล์จะแตกตัวเร็วขึ้น และอันตรกิริยาที่เกิดจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของตะกั่วอะซีเตทที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นของตะกั่วอะซีเตทเป็น 400 ไมโครกรัม จะมีการซึมผ่านได้น้อยที่สุด และเกิดอันตรกิริยาต่อเยื่อเซลล์มากกว่าในความเข้มข้นอื่น ๆ

เมื่ออัตราส่วนของ Egg Lecithin และ Cholesterol เท่ากัน ตะกั่วอะซีเตทความเข้มข้นต่ำ ๆ ยังสามารถซึมผ่านเยื่อเซลล์ได้ดี ค่าแรงตึงผิวที่พื้นที่ต่าง ๆ ไม่แตกต่างจากเยื่อเซลล์ปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในขนาดความเข้มข้นสูงคือ 350 ไมโครกรัม และ 400 ไมโครกรัม ปรากฏว่าสารซึมผ่านเยื่อเซลล์ได้ไม่ดี มีบางส่วนตกค้างและเกิดอันตรกิริยาต่อเยื่อเซลล์ โดยตะกั่วอะซีเตทที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม จะมีผลมากกว่าตะกั่วอะซีเตทความเข้มข้น 350 ไมโครกรัม

เมื่ออัตราส่วนของเยื่อเซลล์มีโปรตีน (Bovine Serum Albumin) เป็นองค์ประกอบ พบว่าได้ผลในทำนองเดียวกัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผล

การศึกษาการซึมผ่านของสารละลายตะกั่วอะซีเตทเมื่อเยื่อเซลล์มีโปรตีนและไม่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ พบว่าในอัตราส่วนของ Egg Lecithin และ Cholesterol (Egg Lecithin : Cholesterol) ที่เท่ากันนั้น เมื่อไม่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในเยื่อเซลล์ สารดังกล่าวจะซึมผ่านได้น้อยกว่า และเกิดอันตรกิริยาต่อเยื่อเซลล์ได้มากกว่าเมื่อมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในเยื่อเซลล์ โดยอันตรกิริยาดังกล่าวจะเด่นชัดทุกระดับความเข้มข้นของสารตะกั่วอะซีเตทจาก 200 ไมโครกรัม ถึง 400 ไมโครกรัม แสดงว่าโปรตีนจะช่วยลดอันตรกิริยาระหว่างตะกั่วอะซีเตทและลิปิดลงได้

2. การศึกษาผลของสารละลายตะกั่วอะซีเตท ต่อเยื่อเซลล์เทียมที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 8 ซึ่งเป็นสภาวะความเป็นกรด-ด่างภายในลำไส้ปรากฏว่าได้ผลในทำนองเดียวกันกับระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3 แต่ปริมาณสารตกค้างและการเปลี่ยนแปลงจะเด่นชัดมากกว่า และเมื่อมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในเยื่อเซลล์นั้น สารดังกล่าวจะซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมได้ลดลงและมีอันตรกิริยามากขึ้นกว่าที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3 (Cerbon', 1970)

อย่างไรก็ตามในระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทั้งสองและในทุกอัตราส่วนของ Egg Lecithin : Cholesterol : Bovine Serum Albumin ที่ทำการศึกษาพบว่าการตกค้างของสารและการเกิดอันตรกิริยาต่อเยื่อเซลล์เทียมนั้น จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารตะกั่วอะซีเตทที่เพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาการซึมผ่านและอันตรกิริยาของสารละลายตะกั่วอะซีเตทต่อเยื่อเซลล์เทียมซึ่งเตรียมโดยวิธีของ Langmuir ดังกล่าว แสดงว่าการดูดซึมของตะกั่วเข้าสู่ร่างกายนั้น ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อเซลล์ Cholesterol ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์จะยึดกับ Phospholipid โดยที่ Cholesterol มีคุณสมบัติทำให้โครงสร้างของเยื่อเซลล์แข็ง และลดคุณสมบัติในการยอมให้สารผ่าน (Permeability) ของเยื่อเซลล์ (Demel et al., 1967; Shah and Schulman, 1967; Korn, 1968; Weiner and Felmeister, 1970; Bretschers and Raff, 1975; Zatz and Cleary, 1975; Giese, 1979) ดังนั้นเมื่อ Cholesterol มากขึ้น จึงมีผลทำให้สารละลายตะกั่วอะซีเตทซึมผ่านเยื่อเซลล์ลดลง ส่วนในอัตราส่วนของ Egg Lecithin และ Cholesterol ที่เท่ากันคือ 2 : 2 นั้น ให้ผลไม่แตกต่างจากเยื่อเซลล์เทียมซึ่งไม่ได้รับสารละลายตะกั่วอะซีเตท นอกจากความเข้มข้นของสารตะกั่วอะซีเตทสูง ๆ คือ 350 ไมโครกรัม

และ 400 ไมโครกรัม จึงจะมีผลต่อเยื่อเซลล์อย่างเด่นชัด เนื่องมาจากการจับยึดระหว่าง Cholesterol กับ Egg Lecithin นั้น เป็นแบบ 1 : 1 จึงทำให้ไม่มีส่วนเหลือของ Cholesterol ที่จับยึดสาร (Weiner and Felmeister, 1970; Zatz and Cleary, 1975; Fettiplace, 1978) แต่เมื่อปริมาณของสารมากขึ้น อิออนของตะกั่ว (Pb^{++}) จะจับยึดกับ Cholesterol และ Egg Lecithin โดยตรง จึงมีผลทำให้ผ่านเยื่อเซลล์ไม่ได้ ดังที่ Shah และ Schulman (1965) และ Snart (1967) ได้ศึกษาพบว่าอิออนของโลหะสามารถจับยึดกับ Lecithin และ Cholesterol ได้

เมื่ออัตราส่วนของ Egg Lecithin มากกว่า Cholesterol ปรากฏว่าสารบางส่วนซึมผ่านไม่ได้เช่นกัน แต่ผลดังกล่าวน้อยกว่าผลเนื่องจาก Cholesterol แสดงว่าอิออนของตะกั่วสามารถจับยึดกับ Egg Lecithin ได้เช่นกันแต่ไม่ดีเท่า Cholesterol

เมื่อมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์เทียมพบว่า ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3 โปรตีนมีผลเพิ่มการซึมผ่านของสารผ่านเยื่อเซลล์เทียม เนื่องจากโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์มีคุณสมบัติเพิ่มความสามารถในการยอมให้สารผ่านได้ของเยื่อเซลล์ (Papahajopoulous et al., 1973) ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 8 ได้ผลในทำนองเดียวกัน แต่เมื่อมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์กลับมีผลทำให้สารซึมผ่านเยื่อเซลล์ลดลง แสดงว่าอิออนของตะกั่วสามารถจับยึดกับโปรตีนได้อีกด้วย และการจับยึดนี้จะดีในภาวะความเป็นด่าง

จากการศึกษานี้แสดงว่าอิออนของตะกั่วจะมีการจับยึดกับองค์ประกอบทางเคมีหลักของเยื่อเซลล์คือ Cholesterol, Phospholipid และ Protein (ตามลำดับ ความสามารถจากมากไปหาน้อย) และการจับยึดนี้ ขึ้นกับระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (Ohki, 1969) เมื่อองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อเซลล์เปลี่ยนแปลง จึงมีผลทำให้การจัดเรียงโครงสร้างและคุณสมบัติของเยื่อเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ดังผลการศึกษาวิจัยนี้ที่พบว่า แรงตึงผิวของผิวหน้าเยื่อเซลล์เปลี่ยนแปลงสูงขึ้น และเยื่อเซลล์แตกตัวเร็วขึ้นเมื่อเพิ่มความดันให้แก่ เยื่อเซลล์โดยการลดพื้นที่ของการจัดเรียงโมเลกุลของโครงสร้างเยื่อเซลล์ แสดงว่ามีการจับยึดระหว่างอิออนของตะกั่วกับองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อเซลล์จึงมีผลทำให้มีพื้นที่โดยเฉลี่ยต่อโมเลกุลในชั้นโมเลกุลเรียงเดี่ยวของสารที่ผสมกันนั้นลดลงจากพื้นที่โดยเฉลี่ยต่อโมเลกุลเรียงเดี่ยวเดิมของสาร

นั้น ๆ ซึ่งทำให้ไม่เป็นไปตามกฎ "Additive Rule" (Shah and Schulman, 1967)

ผลที่ได้จากการศึกษาเกี่ยวกับการซึมผ่านและอันตรกิริยาของตะกั่วอะซีเตทต่อเยื่อเซลล์ที่เตรียมขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ในการประเมินสภาวะซึ่งอาจเกิดขึ้นกับเยื่อเซลล์ธรรมชาติได้ (Felmeister, 1972) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยการป้อนสารละลายตะกั่วอะซีเตทผ่านทางปากแก่หนูด้วยสารตะกั่วอะซีเตทความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม, 250 ไมโครกรัม, 300 ไมโครกรัม, 350 ไมโครกรัม และ 400 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักตัว 70 กิโลกรัม เป็นเวลา 1 วัน, 7 วัน และ 14 วัน พบว่าสารตะกั่วอะซีเตทปริมาณดังกล่าวมีผลทำให้เยื่อเซลล์ของผนังกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กด้านใน (Mucosa) เปลี่ยนแปลงไปจากปกติโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) การเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดโดยทั่วไปนั้นคือ Simple Columnar Cell ที่ชั้นเยื่อบุผิว (Epithelium) บวมและมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไปจากปกติโดยมี Goblet Cell เพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ชั้นเยื่อบุผิว (Epithelium) บางส่วนถูกทำลายและหลุดลอกออกไป ในกรณีที่ถูกทำลายมากพบว่า วิลไล (Villi) หลุดลอกออกไปด้วย ผลดังกล่าวจะปรากฏมากขึ้นตามปริมาณสารตะกั่วอะซีเตทที่เพิ่มขึ้น และระยะเวลาที่ได้รับนานขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มหนูที่ได้รับสารดังกล่าวติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน นั้น เยื่อเซลล์ดังกล่าวจะถูกทำลายมากกว่ากลุ่มอื่น ๆ

การเปลี่ยนแปลงของเยื่อเซลล์ที่ผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ด้านในหรือด้านเยื่อเมือก (Destruction of Gastrointestinal Mucosa) อาจเนื่องมาจากอิออนของตะกั่ว (Pb^{++}) จับยึดกับองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อเซลล์ (ดังผลการศึกษาจากเยื่อเซลล์เทียม) กลายเป็นสารตะกั่วแขวนลอย (Colloidal Lead) และเกิดการสะสมที่บริเวณเยื่อเซลล์ซึ่งมีผลลดความหนาแน่นของประจุไฟฟ้าบริเวณผิวเยื่อเซลล์ ซึ่งมีผลยับยั้งการแพร่ของโปแตสเซียมอิออน (K^+) และโซเดียมอิออน (Na^+) ที่เข้าสู่เยื่อเซลล์ (Cuthbert, 1967; Katz and Epstein, 1968; Moore, Goyer and Wilson, 1973; Junqueira and Carneiro, 1983) ทำให้ขบวนการโซเดียมอิออน-โปแตสเซียม ปั๊ม (Na^+-K^+ pump) เสียไป เนื่องจากโซเดียมอิออนเป็นอิออนสำคัญในการนำสารอาหารโมเลกุลเล็ก ๆ เข้าสู่เยื่อเซลล์ด้านใน แบบการแพร่จับคู่ (Coupling Transport หรือ Co-Transport) ที่สำคัญคือกลูโคส (Glucose) และกรดอะมิโน (Amino Acid) (Crane, Menard, Preiser and Cerda, 1976; Johnson, 1981;

Davenport, 1982; Guyton, 1985) เมื่อมีการยับยั้งโซเดียมอิออนแพร่เข้าสู่เซลล์จึงมีผลทำให้การขนส่งกลูโคสและกรดอะมิโนถูกยับยั้งไปด้วย ดังนั้นเซลล์ของเยื่อบุทางเดินอาหารจึงไม่สามารถสังเคราะห์พลังงานที่จะนำไปใช้ในกิจกรรมของเซลล์ได้ นอกจากนี้อิออนของตะกั่วยังสามารถจับยึดกับโครงสร้างของโปรตีน โดยอาจจับยึดกับกลุ่มอะมีน ($-NH_2$) กลุ่มซัลไฟด์ (-SH) หรือเชื่อมระหว่างกลุ่มซัลไฟด์ (-SH) กับกลุ่มคาร์บอกซิล (-COOH) ในเปปไทด์ (Peptide) ดังนั้นอิออนของตะกั่วจึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ชนิดที่เป็นโปรตีนได้ นอกจากนี้ยังทำให้เกิด Inclusion Body ที่ผิวเยื่อเซลล์ (Moore et al., 1973) สิ่งเหล่านี้มีผลทำให้เซลล์เยื่อบุเสื่อมสภาพไปในที่สุดและมีผลทำให้การย่อยและการดูดซึมอาหารไม่ดีและเกิดภาวะทุพโภชนาการ (Malnutrition) (Crane et al., 1975; Dixon, 1982) เมื่อนำผลน้ำหนักตัวของหนูทุกกลุ่มที่ทำการศึกษามาเปรียบเทียบกัน พบว่าน้ำหนักของหนูในกลุ่มที่ได้รับสารละลายตะกั่วอะซีเตท จะมีร้อยละของการเพิ่มของน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสารละลายตะกั่วอะซีเตท (กลุ่มควบคุม) น้ำหนักตัวจะลดลงตามความเข้มข้นของตะกั่วอะซีเตทที่ได้รับเพิ่มขึ้นและเป็นระยะเวลานานขึ้น (ดังแสดงในตารางที่ 14-17)

จากผลการศึกษาวิจัยแสดงว่าตะกั่วในปริมาณน้อย ๆ ที่มนุษย์มีโอกาสรับประทานเข้าสู่ร่างกายในแต่ละวันนั้นสามารถทำให้เซลล์เยื่อบุของผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ระคายเคืองและผิดปกติได้และอาจมีผลสืบเนื่องให้เกิดปัญหาสุขภาพในด้านอื่น ๆ อีกหลายประการ เช่น โรคขาดอาหาร โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบหรือเป็นแผล ตลอดจนมีแนวโน้มทำให้เกิดโรคร้ายแรงอื่น ๆ เช่น โรคมะเร็งได้ ถ้าผนังทางเดินอาหารถูกรบกวนและเกิดความระคายเคืองมากขึ้น ซึ่ง Weisner (1973) ได้ศึกษาพบว่า ไกลโคโปรตีนที่ผิวเยื่อเซลล์เป็นส่วนสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อเซลล์ ตลอดจนการกลายรูปเป็นเนื้องอก (Malignant Transformation)

จากการคาดคะเนเกี่ยวกับมะเร็งในคนและสัตว์พบว่าร้อยละ 70-90 ของมะเร็งทั้งหมดเกิดเนื่องมาจากสารพิษในสิ่งแวดล้อม ตะกั่วก็เป็นสารพิษในสิ่งแวดล้อมตัวหนึ่งที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ในหลายอวัยวะ แม้ว่าจากการประชุมคณะกรรมการเฉพาะกิจระหว่างประเทศ (International Agency for Research on Cancer, IARC) จะจัดตะกั่วและสารประกอบของตะกั่วเป็นสารในกลุ่มที่ยังไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มของสารที่ก่อมะเร็งในมนุษย์ได้ก็ตาม แต่ข้อมูลในสัตว์ทดลองพบว่าข้อมูลเกี่ยวกับเกลือของตะกั่วบางตัวนั้น สามารถก่อให้เกิดมะเร็งค่อนข้างแน่นอน

(ศุภกิจ อังศุภากร, 2530)

จากข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่า ปัญหาสุขภาพอนามัยของประชาชนนั้น ยังต้องอาศัยข้อมูลในหลาย ๆ ด้านในการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันสารพิษในสิ่งแวดล้อมได้นำโรคใหม่ ๆ มาสู่มนุษย์ ทั้งที่อาการของโรคที่เด่นชัดจนสามารถจำแนกโรคอื่นได้ชัดเจน และอาการของโรคที่คล้ายคลึงเหมือนโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่น ๆ ดังนั้นถ้าให้การป้องกันและแก้ไขไม่ตรงกับสาเหตุที่แท้จริงจึงนำมาซึ่งความสูญเสียทรัพยากรของชาติทั้งทรัพยากรบุคคล และเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศ ซึ่งการป้องกันและแก้ไขที่ได้ผลนั้นก็คือ การค้นหาสาเหตุที่แท้จริงนั่นเอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย