

อภิปรายและสรุปผล

การศึกษาฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์และผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของสารสกัด 6 ชนิดจากพืช 5 ชนิด ที่เก็บจากพื้นที่เขื่อนอุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น พบว่า ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี S-9 mix สารสกัดทุกชนิดที่ทดสอบไม่มีฤทธิ์กลายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดที่ทดสอบทั้งหมดมีความปลอดภัยในแง่ของการไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดมะเร็ง ทั้งในสภาวะที่ได้รับสารสกัดโดยตรงและการได้รับสารสกัดที่ผ่านกระบวนการเมทาโบลิซึมแล้ว ยิ่งไปกว่านั้น สารสกัดทุกชนิดที่ทดสอบ โดยเฉพาะสารสกัดพืชมะเขือเทศ มีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ได้อย่างเด่นชัดเมื่อทดสอบในภาวะที่มี S-9 mix แม้ว่าในภาวะที่ไม่มี S-9 mix สารสกัดเหล่านี้มีฤทธิ์ในการด้านการกลายพันธุ์ได้น้อยกว่าเมื่ออยู่ในภาวะที่มี S9 mix แสดงให้เห็นว่า สารสกัดที่เลือกมาทดสอบทั้งหมด โดยเฉพาะสารสกัดพืชมะเขือเทศ สามารถลดการก่อเกิดของมะเร็งได้ทั้งในสภาวะที่ได้รับสารสกัดโดยตรงและในสภาวะที่มีการทำงานของ enzyme ในตัวร่วมด้วย หรือในสภาวะที่สารสกัดอยู่ในรูป metabolic forms ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของสารสกัดและพืชสมุนไพรเหล่านี้ ควรที่จะได้รับการศึกษามากขึ้น และอาจจะสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาได้ในอนาคต

ส่วนฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ศึกษาในระบบเซลล์ม้ามของหนู พบว่า IC_{50} ของสารสกัดต่อเซลล์อยู่ในช่วง $15.64 \pm 2.33 - 120.65 \pm 24.82 \mu\text{g/ml}$ ยกเว้น กรณีของสารสกัดจี่วป่าดอกขาวและหนามแท่งที่มีค่า IC_{50} มากกว่า $400 \mu\text{g/ml}$ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยมากในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ และพบว่าสารสกัดทุกชนิดไม่มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์โดยตรง แต่เมื่อมี mitogen อยู่ด้วยพบว่าสารสกัดที่มีผลเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญในภาวะที่มี PHA แบบ dose-response ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ คือ สารสกัดจี่วป่าดอกขาว หนามแท่ง กอกก้นและพืชมะเขือเทศ ส่วนภาวะที่มี PWM พบว่า ไม่มีสารสกัดชนิดใดที่สามารถเสริมฤทธิ์ของ PWM อย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ การศึกษานี้สรุปได้ว่า สารสกัดทั้ง 6 ชนิด โดยเฉพาะสารสกัดจี่วป่าดอกขาว หนามแท่ง กอกก้นและพืชมะเขือเทศ มีฤทธิ์น่าสนใจที่ควรศึกษาในรายละเอียดของสารสำคัญและกลไกการทำงานต่อไป

ภาคผนวก

วิธีการเตรียมสารต่างๆ

ACK lysing solution

1. ละลาย 0.15M NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 0.1 mM Na_2EDTA และน้ำ เข้าด้วยกัน
2. ปรับ pH = 7.4 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการใช้ autoclave

RPMI media

1. ละลาย RPMI media สำเร็จรูป 1 ซอง ต่อน้ำ deionized water 1000 ml ให้ละลายเข้ากันดี
2. เติม 2.0 กรัม NaHCO_3 คนให้ละลายเข้ากันดี
3. ปรับ pH 7.4 ด้วย 1 mM HCl หรือ 1 mM NaOH จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อด้วยการกรองผ่าน membrane ขนาด 0.45 μm เก็บในตู้เย็น 4 °C

Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

1. ละลาย สาร 13.7 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10.14 mM Na_2HPO_4 , 1.8 mM KH_2PO_4 ด้วยน้ำ deionized water 1000 ml
2. ปรับ pH 7.4 ด้วย 1 mM HCl หรือ 1 mM NaOH จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อด้วยการนึ่ง 121 °C , 15 นาที

MTT solution

1. ละลาย MTT 1 g ใน PBS pH 7.4 ปริมาตร 200 ml แล้วกรองด้วย 0.45 μm filter เก็บเป็น stock solution
2. ก่อนทำการวิเคราะห์ ทำชุด MTT stock solution มา 1 ml ละลายใน ใน PBS pH 7.4 ปริมาตร 5 ml แล้วใช้ทันที เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำกรวิเคราะห์