

บทที่ 2

บททวนเอกสาร

2.1 เอสโตรเจน (Estrogens)

เอสโตรเจน (estrogen) เป็นชื่อเรียกกลุ่มของฮอร์โมนเพศหญิงโดยรวม สารในกลุ่มนี้จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เอสโตรเจนเป็นสารจำพวกสเตอรอยด์ (steroid) ที่สร้างขึ้นมาจากไขมันที่ชื่อว่าโคเลสเตอรอล (cholesterol) (Louis and Mary, 1959) โดยในร่างกายของผู้หญิงจะถูกสังเคราะห์ขึ้นที่รังไข่และต่อมหมวกไต (นทีทิพย์, 2538) ในขณะที่เอสโตรเจนถูกผลิตขึ้นในร่างกายของผู้ชายที่อัณฑะและต่อมหมวกไต ชนิดของเอสโตรเจนที่มีบทบาทในงานสิ่งแวดล้อมมีอยู่สามชนิดคือ เอสโตรน (estrone, E1) เอสตราไดออล (estradiol, E2) และเอสโตรออล (estriol, E3) โดยอักษรย่อ E1 E2 และ E3 ที่ใช้ในที่นี้เพื่อความสะดวกในการทำความเข้าใจและสังเกตได้ง่ายคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจนนั้น มีค่าการละลายน้ำอยู่ในช่วงประมาณ 3-450 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสารเอสโตรเจนที่มีค่าการละลายน้ำมากที่สุดคือเอสโตรออล (E3) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 441 มิลลิกรัมต่อลิตร เอสโตรเจนทั้งหมดจะมีค่าความดันไออยู่ในช่วงระหว่าง 1.4×10^{-7} ถึง 1.97×10^{-10} มิลลิเมตรปรอท (Ling *et al.*, 2006) สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจนทั้งสามชนิดที่มีความสำคัญด้านสิ่งแวดล้อมสามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2.1

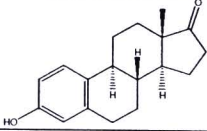
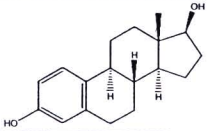
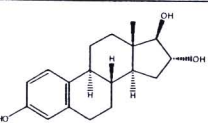
2.1.1 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของเอสโตรเจน

สารกลุ่มเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อมมีแหล่งที่มาที่แตกต่างกันดังนี้

ก. น้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชน

น้ำทิ้งที่มาจากบ้านเรือนและชุมชนเป็นแหล่งที่มาสำคัญของเอสโตรเจนที่พบในสิ่งแวดล้อม โดยเกิดจากการขับออกจากร่างกายของมนุษย์ ของเสียเหล่านี้ถูกปล่อยออกสู่ระบบบำบัดระบายน้ำโสโครกและสุดท้ายก็จะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย โดยปกติแล้วร่างกายของผู้หญิงจะขับสารเอสตราไดออล (E2) ออกมาประมาณ 2 ถึง 12 ไมโครกรัมต่อคนต่อวันและขับสารเอสโตรเจนโดยรวม ออกมา 3 ถึง 20 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน ส่วนสัตว์เพศเมียจะขับถ่ายเอสโตรน (E1) ออกมาในปริมาณที่ใกล้เคียงกับสัตว์เพศผู้คือ ประมาณ 5 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน (Gower, 1975) Johnson *et al.* (2000) ศึกษาระดับปริมาณการขับสารเอสโตรเจนออกจากร่างกายของมนุษย์เพศชายและเพศหญิง ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจน

คุณสมบัติ	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดออล (Estradiol : E2)	เอสไทรออล (Estriol : E3)
สูตรโครงสร้าง (chemical structure)			
สูตรโมเลกุล (Molecular formula)	$C_{18}H_{22}O_2$	$C_{18}H_{24}O_2$	$C_{18}H_{24}O_3$
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	270.4	272.4	288.4
จุดหลอมเหลว ($^{\circ}C$) (Melting point)	251-254 ^a	176 ^a	126 ^a
จุดเดือด ($^{\circ}C$) (Boiling point)	154 ^a	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ
ค่าการละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	30 ^b (ที่ 25 องศาเซลเซียส)	3.6 ^b (ที่ 27 องศาเซลเซียส)	441 ^b (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
ความดันไอ (มิลลิเมตรปรอท)	1.4×10^{-7} ^b	1.3×10^{-8} ^b	1.97×10^{-10} ^b
ค่าคงที่การกระจายตัว ระหว่างชั้นออกทานอล กับน้ำ (K_{ow})	2,700 ^c	8,600 ^c	650 ^c
ค่าคงที่สมดุลการแตก ตัวของกรด (pK_a)	10.40 ^d	10.23 ^c	10.05 ^c

ที่มา : ^a Lai *et al.* (2000), ^b Ling *et al.* (2006), ^c Danish EPA (2003), ^d Nghiemet *al.* (2002) และ
^c Hiroshi *et al.* (2003), Louis and Mary, (1959) ตารางจากวีณา (2550)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณการขับสารเอสโตรเจนออกจากร่างกายของมนุษย์(หน่วย : ไมโครกรัมต่อวัน)
(Johnson *et al.*, 2000)

ประเภท	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดออล (Estradiol : E2)	เอสไทรออล (Estriol : E3)
ผู้ชาย	3.9	1.6	1.5
ผู้หญิงที่มีประจำเดือน	8	3.5	4.8
ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน	4	2.3	1
ผู้หญิงตั้งครรภ์	600	259	600

นักวิจัยหลายกลุ่มได้รายงานถึงความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่ถูกพบในน้ำเข้าและน้ำออกจากระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศต่าง ๆ Barrontiet *al.* (2000) ได้ตรวจพบระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำที่เข้าระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศอิตาลี 6 แห่ง พบว่าความเข้มข้นของเอสโตรน (E1) เอสตราไดออล (E2) และเอสไทรออล(E3) มีค่าประมาณ 52, 12 และ 80 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ Terneset *al.* (1999) ได้ตรวจพบระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำทิ้งที่เข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแห่งหนึ่งในประเทศบราซิลพบว่าความเข้มข้นของเอสโตรน (E1) และเอสตราไดออล (E2) มีค่าประมาณ 40 และ 21 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ Johnson *et al.* (2000) ได้ตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในน้ำทิ้งที่เข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสีย 3 แห่ง ในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่าความเข้มข้นของเอสโตรน (E1) มีค่าประมาณ 11 ถึง 140 นาโนกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของ เอสตราไดออล (E2) มีค่าประมาณระดับที่ต่ำกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (limit of detection) จนถึง 48 นาโนกรัมต่อลิตร Nasuet *al.* (2000) ได้ตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในน้ำทิ้งก่อนเข้าระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศญี่ปุ่น พบว่าความเข้มข้นของ เอสตราไดออล (E2) ในน้ำมีค่าประมาณ 30 ถึง 90 นาโนกรัมต่อลิตรในฤดูใบไม้ร่วง และประมาณ 20 ถึง 94 นาโนกรัมต่อลิตรในฤดูร้อน Desbrowet *al.* (2000) ได้ตรวจพบเอสโตรน (E1) ในระบบบำบัดน้ำเสียมีค่าประมาณ 1.4 ถึง 76 นาโนกรัมต่อลิตร และ เอสตราไดออล(E2) มีค่าประมาณ 2.7 ถึง 4.8 นาโนกรัมต่อลิตร ในประเทศอังกฤษ

ข. ของเสียจากสัตว์

แหล่งที่มาของฮอร์โมนเอสโตรเจนอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงหลายชนิด ได้แก่ แกะ วัวควาย หมู และ สัตว์ปีก (เป็ด ไก่ ห่าน) รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่นๆ ด้วย เนื่องจากการใช้ยาจำพวกสเตอรอยด์ใน

สัตว์โดยใช้เพื่อการคุมกำเนิด การป้องกันความผิดปกติในการสืบพันธุ์ และป้องกันการทำแท้ง (Refsdal, 2000) งานวิจัยที่ผ่านมามีการตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในของเสียจากสัตว์ เช่น Shemesh and Shore (1994) ได้ตรวจพบปริมาณเอสตราไดออก (E2) โดยตรวจพบในปัสสาวะและอุจจาระของสัตว์ปีก ความเข้มข้นที่ตรวจพบมีค่าระหว่าง 14 ถึง 553 นาโนกรัมต่อลิตร Erbet *al.* (1977) ได้ตรวจพบเอสตราไดออก (E2) อยู่ในช่วงประมาณ 13 นาโนกรัมต่อลิตรในสัตว์ประเภทวัวควาย

ก. น้ำผิวดิน

มีงานวิจัยหลายฉบับได้รายงานถึงการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำผิวดินโดย Tabata *et al.* (2001) ได้ศึกษาระดับปริมาณเอสโตรเจนในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวของแม่น้ำ 109 สายในประเทศญี่ปุ่น พบว่ามีการปนเปื้อนของเอสตราไดออก (E2) ใน 222 ตัวอย่างจาก 256 ตัวอย่างในช่วงฤดูร้อน โดยมีค่าเฉลี่ย 2.1 นาโนกรัมต่อลิตร ในขณะที่น้ำตัวอย่างที่ทำการเก็บในช่วงฤดูใบไม้ร่วง ตรวจพบเอสตราไดออก (E2) ใน 189 ตัวอย่างจาก 261 ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ย 1.8 นาโนกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2.3 Belfroid *et al.* (1999) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์เอสโตรเจนในน้ำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมจากบริเวณชายฝั่งทะเลและปากอ่าวของแหล่งน้ำในประเทศเนเธอร์แลนด์จำนวน 11 แห่ง พบว่า เอสโตรเจน (E1) ถูกพบใน น้ำตัวอย่างที่เก็บได้ 7 แห่ง โดยมีความเข้มข้นโดยเฉลี่ย 0.3 นาโนกรัมต่อลิตร ขณะที่เอสตราไดออก (E2) ถูกพบในน้ำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้เพียง 4 แห่ง Barontiet *al.* (2000) ได้ทำการศึกษาปริมาณของเอสโตรเจนในแม่น้ำ Tiber ของประเทศอิตาลี พบว่า มีความเข้มข้นของเอสโตรไดออก (E3) เอสตราไดออก (E2) และเอสโตรเจน (E1) ประมาณ 0.33, 0.11 และ 1.5 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในประเทศเยอรมนี มีลักษณะการตรวจพบที่คล้ายคลึงกันกับประเทศเนเธอร์แลนด์ (Belfroid *et al.*, 1999; Kuch และ Ballschmiter, 2001) (ตารางที่ 2.4)

ง. น้ำใต้ดิน

การปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำใต้ดินอาจเกิดจากน้ำที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียแล้วถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ และมีการดูดซับเอสโตรเจนเข้าสู่ดินและซึมเข้าสู่ น้ำใต้ดิน โดยน้ำใต้ดินจะมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำดื่ม อีกทั้งยังพบว่าการใช้ปุ๋ยธรรมชาติ (ปุ๋ยคอก) ในพื้นที่เกษตรกรรมเกิดการนำพาสารเอสโตรเจนไปสู่ น้ำผิวดินและน้ำใต้ดิน (Busche *et al.*, 1998; Nichols *et al.*, 1997, 1998; Peterson *et al.*, 2001; Shore *et al.*, 1995a, 1995b)

ตารางที่ 2.3 ความเข้มข้นของฮอร์โมนในน้ำผิวดิน

ประเทศ	ความเข้มข้น (นาโนกรัมต่อลิตร)			อ้างอิง
	เอสโตรเจน(E1)	เอสตราไดออล (E2)	เอสโตรรอล (E3)	
ญี่ปุ่น	NA	<LOD-27 (S) <LOD-24 (A)	NA	Tabataet al., 2001
เยอรมนี	0.1-4.1	0.15-3.6	NA	Kuch and Ballschmiter , 2001
อิตาลี	1.5	0.11	0.33	Barontiet al., 2000
เนเธอร์แลนด์	<0.1-3.4	<0.3-5.5	NA	Belfroidet al., 1999
เกาหลี	1.5-5.0	NA	NA	Kim et al., 2006

NA = not analyzed ; S = Summer ; A = Autumn ; LOD = limit of detection

ปรับปรุงจาก Kim *et al.*, (2006), Belfroidet *al.*, (1999), Barontiet *al.*, (2000), Kuch and Ballschmiter , (2001), Tabataet *al.*, (2001)

Nichols *et al.* (1997, 1998) ได้ทำการศึกษาการเคลื่อนที่ของสารเอสตราไดออล(E2)ในพื้นที่การทำปฏิกิริยาธรรมชาติ พบว่าเอสตราไดออล (E2) มีการเคลื่อนย้ายและถูกชะออกจากพื้นที่ไปตามธรรมชาติ Shore *et al.* (1995a,1995b) ทำการศึกษาปริมาณของเอสตราไดออล (E2) ในน้ำใต้ดินในช่วงฤดูใบไม้ผลิ พบว่าเอสตราไดออล(E2) มีความเข้มข้นคงที่อยู่ที่ประมาณ 5 นาโนกรัมต่อลิตร โดยมีสาเหตุมาจากการซึมผ่านของเอสตราไดออล (E2) จากน้ำผิวดินไปสู่ใต้ดิน Peterson *et al.* (2001) ทำการวิเคราะห์ปริมาณเอสตราไดออล (E2) ในน้ำใต้ดินบริเวณที่มีหินปูนปกคลุมในพื้นที่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของรัฐอาร์คันซอ สหรัฐอเมริกา พบว่ามีความเข้มข้นของเอสตราไดออล(E2) อยู่ในช่วงระหว่าง 6 ถึง 66 นาโนกรัมต่อลิตร

2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจน

ก. ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ประสิทธิภาพในกระบวนการโฟโตออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า

ความเป็นกรดต่างในสารละลายซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเนื่องจากค่าความเป็นกรดต่างมีผลต่อความสามารถในการดูดกลืนแสงของสาร Luiet *al.* (2003) ทำการศึกษาผลของค่าความเป็นกรดต่างต่อการสลายตัวด้วยแสงของเอสตราไดโอดอล(E2) และเอสโตรน(E1)ในสารละลาย พบว่า การสลายตัวด้วยแสงของสารทั้งสองมีผลคล้ายคลึงกัน คือสลายตัวได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5 และพบว่าค่าความเป็นกรดต่างที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสเพิ่มขึ้นด้วย

ข. ความเข้มของแสง การเพิ่มความเข้มแสงไปยังสารละลายจะเป็นการเพิ่มจำนวนโฟตอนให้มากขึ้นทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยามากขึ้นตามสัดส่วนของความเข้มแสง ความเข้มของแสงมีผลต่อปฏิกิริยา คือ ระดับความเข้มแสงที่ต่ำอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อความเข้มแสง ที่ระดับความเข้มแสงปานกลางอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะแปรผันตามรากที่สองของความเข้มแสง และที่ระดับความเข้มแสงสูงอัตราการเกิดปฏิกิริยาไม่ขึ้นกับความเข้มแสง และอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะมีค่าคงที่ เมื่อถึงจุดจำกัดของการเคลื่อนย้ายมวล(Luiet *al.*, 2003)

ค. อุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ของสารละลายมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสารละลาย ค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิ (temperature coefficient) ของการเกิดปฏิกิริยาโดยทั่วไปลดลงประมาณร้อยละ 1 ต่อองศาของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

ง. ปริมาณออกซิเจนละลาย อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนละลายเพิ่มขึ้น ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในปฏิกิริยาโฟโตไลซิส(photolysis) เพราะออกซิเจนจะทำ ปฏิกิริยากับอิเล็กตรอนที่แถบการนำไฟฟ้า ทำให้โมเลกุลของก๊าซออกซิเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปซูเปอร์ออกไซด์ไอออนแรดิคัล ซึ่งสามารถที่จะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และทำให้เกิดไฮดรอกซิลแรดิคัล ซึ่งจะสลายโมเลกุลสารอินทรีย์ที่อยู่ในสารละลาย (วิณา, 2550)

2.2 สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน

ปัจจุบันมีการใช้สารที่ออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนกันอย่างแพร่หลาย ทั้งในด้านอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และในชีวิตประจำวัน ทั้งนี้สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ใช้กันส่วนใหญ่ เกิดจากการสังเคราะห์ขึ้นและที่อยู่ตามธรรมชาติ จากหลักฐานรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง สามารถจำแนกกลุ่มสารแต่ละชนิดได้ดังนี้

2.2.1 สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนจากการสังเคราะห์ (synthesis xenoestrogen)

ได้แก่

- ก. Phthalates มีการใช้สารกลุ่มนี้ในกระบวนการผลิตพลาสติก โดยใช้ทำให้พลาสติกเกิดการยืดหยุ่น นอกจากนี้ยังใช้ในงานหมึกพิมพ์บนแผ่นพลาสติกฟอยล์ห่อซองนม สำหรับเด็กทารก หรือใช้ทำของเด็กเล่นที่ทำด้วยพลาสติก (Harris *et al.*, 1996)
- ข. Bisphenol A สารกลุ่มนี้เป็นส่วนประกอบในแลคเกอร์ โดยมีการใช้สารกลุ่มนี้ในการเคลือบภาชนะที่ใช้บรรจุอาหารจำพวก อาหารทะเล ผลไม้ กระป๋อง และการผลิตพลาสติก (Zhenget *al.*, 2007) มีรายงานว่าสารเหล่านี้มีการรั่วไหลจากการเคลือบกระป๋องเข้าสู่อาหารและสารนี้มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนต่อเซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านมในหลอดทดลอง (Shekhar *et al.*, 1997)
- ค. Polychlorinated bisphenyls (PCBs) และ Dioxin สารกลุ่มนี้เป็นสารที่เกิดจากการเผาไหม้และบางกระบวนการในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น กระบวนการผลิต Chlorinated hydrocarbons กระบวนการผลิตพลาสติก การผลิตอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ การผลิตกระดาษ เป็นต้น (Salamaet *al.*, 2003; Desai, 2007)
- ง. Butylatedhydroxyanisole (BHA) เป็นสารที่พบในอาหารและพืชบางชนิด ซึ่งสามารถออกฤทธิ์เป็นแอนติออกซิเดนท์ (Lampe, 2003; Zasshi, 2003)
- จ. Parabens เป็นสารที่คุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ได้จึงนิยมใช้เป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง ยาและอาหาร (Darbre *et al.*, 2004)
- ฉ. สารในกลุ่มยาฆ่าแมลง (Pesticides) ได้แก่ Organochlorine, Lindane Atrazine, Chlodecone, Endosulfan, DDT, Endrin และ Aldrin เป็นกลุ่มสารที่ใช้เกษตรกรรม โดยมีการใช้ในการกำจัดแมลงในพื้นที่ที่ทำการเกษตร ทำให้มีการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำ (Shekhar *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้มีผลต่อระบบสืบพันธุ์เพศชายผิดปกติ (Cossette *et al.*, 2002; Zhenget *al.*, 2007)

2.2.2 สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในธรรมชาติ (natural xenoestrogen)

สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่พบในธรรมชาติ โดยส่วนใหญ่เรียกว่า
 สอร์โมนธรรมชาติ (Phytoestrogen) (กาญจน์, 2005) ที่พบในพืชหลายชนิด
 และสามารถออกฤทธิ์ได้คล้ายเอสโตรเจนในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม
 (Darbre *et al.*, 2004) ได้แก่

- ก. Isoflavones สารในกลุ่มนี้พบได้ในพืชตระกูลถั่ว กระเทียม ข้าวสาลี แคร
 รอท เซอร์รี่ แอปเปิ้ล กาแฟ ซึ่งมีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์
 ได้คล้ายเอสโตรเจน (พรงาม, 2546; Jungbauer and Medjakovic, 2005)
- ข. Lignans เป็นสารในกลุ่มที่ได้จากการสกัดจากเมล็ดงาและน้ำมันงา
 ซึ่งสารกลุ่มนี้ก็สามารถออกฤทธิ์ได้คล้ายเอสโตรเจนในระดับความ
 เข้มข้นที่เหมาะสม (Darbre *et al.*, 2004)

2.3 ผลกระทบของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน

2.3.1 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน

สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้อ 2.2.1 และ 2.2.2
 จะเห็นว่าแหล่งที่มาของสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนมีที่มาแตกต่างกันโดย
 ในที่นี้จะกล่าวถึงพอเป็นสังเขปดังนี้

สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนจากการสังเคราะห์ สารในกลุ่มนี้มีการ
 ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้โดยมนุษย์มีการใช้สารจำพวกนี้ในอุตสาหกรรม
 เมื่อมีการปล่อยน้ำเสียเข้าสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหลังจากที่มีการบำบัดน้ำเสีย
 ทางด้านเคมีแล้ว แต่เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีมีการตรวจวัดเอสโตรเจนและ
 สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในระดับที่มีพิษต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะพื้นที่
 เกษตรกรรมที่มีการใช้ยาฆ่าแมลง ยังเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการ
 ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ

2.3.2 ผลกระทบต่อสัตว์น้ำ

จากข้อมูลข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่าแหล่งที่สำคัญของเอสโตรเจนใน
 สิ่งแวดล้อม คือ มนุษย์และสัตว์ ซึ่งสามารถขับถ่ายออกได้ทางปัสสาวะเป็นส่วน
 ใหญ่ ทำให้น้ำทิ้งที่มาจากบ้านเรือนและชุมชนเป็นแหล่งที่มาสำคัญของเอสโตร

เจนที่พบในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเมื่อน้ำทิ้งเหล่านี้ผ่านเข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสีย แล้วปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมก็ยังคงมีปริมาณของเอสโตรเจนหลงเหลืออยู่ เนื่องจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียในปัจจุบันไม่มีการกำจัดเอสโตรเจนออกจากน้ำเสียทำให้มีการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งความเข้มข้นอยู่ในระดับที่สูงพอที่จะทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ ทำให้พฤติกรรมทางเพศของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไป เช่นทำให้ระดับปริมาณอสุจิในเพศชายลดลงและมีลักษณะความเป็นเพศเมียในหมู่ประชากรของสัตว์มากขึ้น (Purdomet *et al.*, 1994; Harries *et al.*, 1996; Harries *et al.*, 1999; Jobling *et al.*, 1998) ซึ่งรายงานการวิจัยของ Metcalfe *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาถึงผลกระทบของปริมาณของเอสโตรเจนต่อจำนวนเพศของปลา ซึ่งได้รับเอสโตรเจนตั้งแต่ที่ยังเป็นไข่ปลาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 100 วันพบว่าปลามีลักษณะสองเพศเมื่อได้รับเอสโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อลิตร และเปลี่ยนเป็นเพศเมียทั้งหมดเมื่อความเข้มข้นของเอสโตรเจนเพิ่มขึ้นเป็น 1,000 นาโนกรัมต่อลิตร Routledge *et al.* (1998) ทำการศึกษาดูตามถึงผลกระทบของน้ำทิ้งจากโรงงานบำบัดน้ำเสียจากบ้านเรือนและชุมชนต่อปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ได้รับน้ำทิ้งพบว่าจำนวนประชากรของปลาโดยส่วนใหญ่เป็นปลาเพศเมีย

2.3.3 ผลกระทบต่อมนุษย์

เอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ปนเปื้อนมากับอาหารและเครื่องดื่ม มีรายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อมนุษย์ เนื่องจากสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในกลุ่ม phytoestrogen ที่พบในธรรมชาติเป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารที่เรารับประทานเข้าไปและยังมีผลป้องกันปรับเปลี่ยนภาวะความผิดปกติของร่างกายหรือโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ รวมทั้งปัญหาที่เกี่ยวกับภาวะหมดประจำเดือน (Heather *et al.*, 1999; Jin *et al.*, 1999; Hyeet *et al.*, 2011) มีรายงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ศึกษาสารในกลุ่มนี้ เช่น Yuliya *et al.* (1999) ได้ศึกษาสารในกลุ่ม flavonoid ในพืช ได้แก่ quercetin และ epigenin เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืช ใน ชา กาแฟ เมล็ด ธัญพืช ซึ่งสารในกลุ่มนี้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้ นอกจากนี้



ยังมีรายงานวิจัยที่ได้รายงานว่าพบ phytoestrogen กลุ่ม isoflavonoid ได้แก่ genistin และ daidzein ในถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ในถั่วเหลือง เช่น เต้าหู้ น้านมถั่วเหลือง (Chinget *al.*, 1998) นอกจากนี้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์หลายชนิด เช่น เบียร์ ไวน์ ก็พบว่ามี phytoestrogen ทั้งนี้เนื่องจากเครื่องดื่มเหล่านี้ผลิตขึ้นมาจากการหมักเมล็ดธัญพืชหลายชนิด หรือจากองุ่น ซึ่งองุ่นที่ต่างชนิดกันที่ใช้ทำไวน์จะให้ปริมาณของ phytoestrogen ต่าง ๆ กัน ไปแต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับเทคนิคในการหมักไวน์ด้วย สารกลุ่ม isoflavonoid ที่มีรายงานว่าพบในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เหล่านี้ ได้แก่ genistein, daidzein และ biochani (Marek and Katarzynna, 2005); Jungbauer and Medjakovic, 2005)

ในขณะที่สารเหล่านี้มีที่มาได้ต่าง ๆ กัน การรับประทานสารกลุ่มนี้เข้าไปก็มีผลต่อสุขภาพได้ หลายแบบเช่นกัน คุณสมบัติของการได้รับ phytoestrogen ในอาหารซึ่งมักจะได้รับการกล่าวถึงกันอยู่เสมอ ได้แก่ ผลในการไปเปลี่ยนแปลงการเจริญของมะเร็งบางชนิดที่ต้องอาศัยฮอร์โมน ช่วยป้องกันการสูญเสียเนื้อเยื่อกระดูกหรือภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) (Robert and Jack, 1990) ผลของ phytoestrogen ต่อสุขภาพเหล่านี้อาจแยกได้เป็น 2 แบบ คือจากการออกฤทธิ์เป็นเอสโตรเจน (Jinet *al.*, 1999) และจากฤทธิ์ antioxidant ของสารคือ สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (Feliciaet *al.*, 1997)

2.4 กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นมีความสำคัญต่องานวิจัยนี้ เนื่องจากเป็นการตรวจสอบยืนยันผลการทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่างต่อเซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม (MCF-7) มนตรี และคณะ (2542) ได้รายงานกลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน โดยแบ่งเป็นสองกลุ่มตามกลไกการออกฤทธิ์ดังนี้

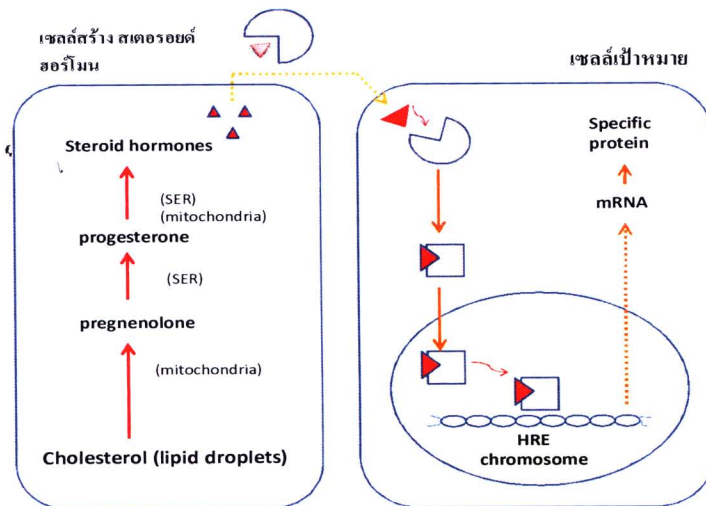
- (1) ฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ได้แก่ สเตอรอยด์ฮอร์โมนชนิดต่างๆ ไครอยด์ฮอร์โมน และอนุพันธ์ของวิตามินดี (1,25 dihydroxycholecalciferol) ซึ่งฮอร์โมนกลุ่มนี้มีคุณสมบัติละลายได้ดีในไขมันทำให้สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าไปออกฤทธิ์ในเซลล์ของอวัยวะเป้าหมายได้ ฮอร์โมนจะจับกับตัวรับที่อยู่ในนิวเคลียส (nuclear receptor) หรือตัวรับที่อยู่ในไซโทพลาสซึม

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	
ห้องสมุดวิจัย	
วันที่.....	25 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน.....	247910
เลขเรียกหนังสือ.....	

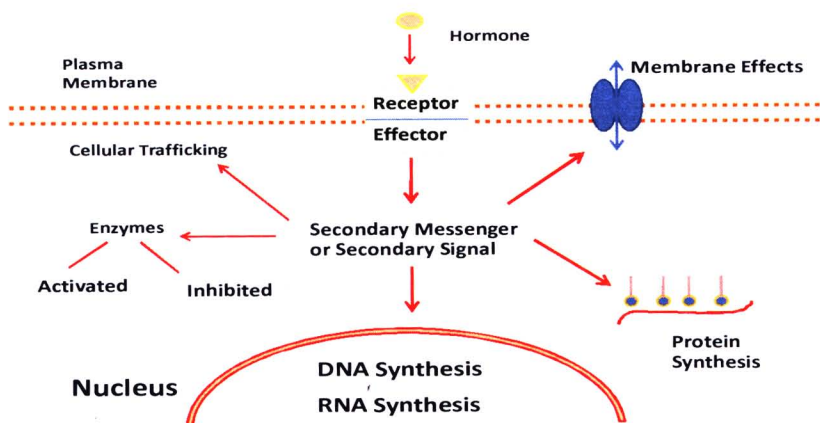


(cytoplasmic receptor) แสดงดังภาพ 2.1

- (2) สอร์โมนที่ออกฤทธิ์บนเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ เปปไทด์ โปรตีน สอร์โมน และ คาเตคอลามีน (catecholamines) ซึ่งสอร์โมนกลุ่มนี้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายได้ สอร์โมนพวกนี้จะจับกับตัวรับเฉพาะที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก แล้วส่งสัญญาณเข้าไปออกฤทธิ์ภายในเซลล์ เป้าหมายแสดงดังภาพ 2.2



ภาพ 2.1 กลไกการออกฤทธิ์ที่นิวเคลียสของสเตอรอยด์สอร์โมนในระดับยีนของเซลล์เป้าหมาย ที่มีอยู่ในไซโทพลาสมและนิวเคลียส ภาพจากมนตรีและคณะ (2542)



ภาพ 2.2 กลไกการออกฤทธิ์บนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกของเปปไทด์สอร์โมนและคาเตคอลามีนภาพจากมนตรีและคณะ (2542)

2.5 กลไกของสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน

กลุ่มสารที่ออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนมีหลายกลุ่มด้วยกันโดยในแต่ละกลุ่มมีการออกฤทธิ์ต่อเซลล์แตกต่างกันดังนี้

ก. กลุ่มสารที่เลียนแบบฮอร์โมนในร่างกาย

โดยส่วนใหญ่เป็นสารเคมีบางชนิดที่มีโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมน เอสโตรเจน ได้แก่สารในกลุ่ม Diethylstilbestrol (DES) เป็นสารเอสโตรเจนสังเคราะห์ สารกลุ่มนี้จะทำตัวเหมือนฮอร์โมนในร่างกายที่ใช้ป้องกันการแท้งลูกในหญิงที่มีปัญหาการตั้งครรภ์ ซึ่งพบว่า ลูกสาวที่มารดาได้รับ DES ในระหว่างตั้งครรภ์ จะมีระบบสืบพันธุ์ผิดปกติ รุนแรงในระดับต่าง ๆ กัน อาการรุนแรงมากที่สุดที่ตรวจพบคือ เกิดมะเร็งในช่องคลอด ในเพศชายพบว่ามีผลให้อสุจิลดลง การเกิดกลไกสามารถเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยตามจำนวนของตัวรับ (receptor) บนผิวของเซลล์ (Bigsby *et al.*, 1999)

ข. ขัดขวางการทำงานของฮอร์โมน (hormone blockers)

สารกลุ่มนี้จะไปแย่งจับกับตัวรับ (protein receptor) ของฮอร์โมนตัวจริง ทำให้ไม่มีการกระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนดังกล่าวจริง เช่น DDE เป็นสารแตกตัวมาจากยาฆ่าแมลง DDT ที่มีผลต่อการพัฒนาการของจระเข้ดินเปิดในทะเลสาบ Apokafloida ในอเมริกาโดย DDE ไปขัดขวางการทำงานของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ซึ่งเป็นฮอร์โมนของเพศผู้ มีผลต่อการพัฒนาลักษณะเพศผู้ผิดปกติ เช่นทำให้อวัยวะเพศมีขนาดเล็กกว่าปกติ (Brown *et al.*, 1999)

ค. สารกระตุ้น (Triggers)

สารกลุ่มนี้จะรบกวนการทำงานของฮอร์โมน โดยไปวางติดกับตัวรับฮอร์โมน (Attaching to protein receptors) แล้วกระตุ้นให้เซลล์ตอบสนองอย่างผิดปกติไปจากการตอบสนองของฮอร์โมนตัวจริงตัวอย่างที่พบได้แก่ การเจริญเติบโตของร่างกายที่ไม่ใช่เวลาปกติ การเปลี่ยนแปลงของเมแทบอลิซึมในร่างกาย การสร้างสารสำคัญในร่างกาย ที่ต่างไปจากปกติ ได้แก่ สารในกลุ่ม ไดออกซิน (Dioxin) (Bigsby *et al.*, 1999)

ง. เปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของฮอร์โมนในร่างกาย

สารกลุ่มนี้ได้แก่ยาฆ่าแมลง Lindane และ Atrazine (กลุ่ม organochlorine) (Karlock et al., 1996) มีผลให้มีการสร้างสารเมตาโบไลต์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มขึ้น สารเคมีบางตัวไปกระตุ้นเอนไซม์ที่ไปเร่งเมแทบอลิซึมของฮอร์โมนทำให้สมดุลของฮอร์โมนนั้น ๆ ผิดปกติ ในอันทะจะมีเอนไซม์ที่สามารถทำลายฮอร์โมนเอสโตรเจนได้อย่างรวดเร็วให้อยู่ในโครงสร้างทางเคมี ที่ไม่สามารถจับกับตัวรับได้ตามปกติ (Chan, 2005) ถ้าเอนไซม์ตัวนี้ถูกรบกวนโดยเอสโตรเจนจากภายนอกในร่างกาย (xenoestrogen) (Oetken et al., 2004) ทำให้เมแทบอลิซึมดังกล่าวลดลง มีผลให้อันตะได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น ทำให้พัฒนาการลักษณะกายวิภาคของเพศชายผิดปกติ (Depledge and Billingham, 2003)

จ. การเปลี่ยนแปลงปริมาณตัวรับฮอร์โมน

สารกลุ่มนี้สามารถลดหรือเพิ่มปริมาณของตัวรับฮอร์โมน (Ballschmiter et al., 2001) มีผลให้การตอบสนองต่อฮอร์โมนในร่างกายหรือที่ร่างกายได้รับจากภายนอกผิดปกติ (Chan, 2005)

ฉ. เปลี่ยนแปลงการสร้างฮอร์โมนของร่างกาย สารกลุ่มนี้ จะรบกวนระดับยีนการสร้างฮอร์โมนของร่างกาย (Pinder et al., 1999 ; Atienza et al., 2002) สารกลุ่มนี้จะรบกวนระดับยีนการสร้างฮอร์โมนของร่างกาย มีผลให้ระบบการส่งสัญญาณผิดปกติ ได้แก่ ระบบฮอร์โมนไทรอยด์ ระบบภูมิคุ้มกัน และระบบประสาท (Oehlmann and Schulte, 2003)

2.6 ผลของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการแบ่งตัวของเซลล์

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในระดับยีนนั้นมีรายงานวิจัยจำนวนมากที่ได้กล่าวถึง กลไกการออกฤทธิ์ในระดับยีนของยีนที่เกี่ยวข้องดังนี้

ก. ผลต่อระดับการแสดงออกของยีน estrogen receptor- α (ER α)

มีรายงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน estrogen receptor- α (ER α) ในเซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม MCF-7 เมื่อทดสอบด้วย 17 β -estradiol พบว่าระดับการแสดงออกของยีนที่เพิ่มขึ้น โดยผ่านวิธี estrogen receptor (ER) ซึ่งมวล

โมเลกุลของ estrogen (E2) จะไปจับกับER เกิดเป็น E2-ER complex จากนั้นจึง สัญญาให้มีการถอดรหัส (transcription) และแปลรหัส (translation) ของ ER mRNA ส่งผลให้เซลล์สามารถเพิ่มจำนวนมากขึ้นได้(ดังภาพ 2.3)(Bulayeva and Watson, 2004; Chang *et al.*, 2009; Li and Fanaly, 2004; Watson and Yager, 1995)

ข. ผลต่อระดับการแสดงออกของยีน phosphatidylinositol 3'-kinase(*Akt*)

มีรายงานวิจัยที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *Akt* ในเซลล์เมื่อทดสอบด้วย สารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน ได้แก่ สารในกลุ่ม organochlorine pesticide (OCP) พบว่ามีระดับการแสดงออกของยีน *Akt* เพิ่มขึ้นส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นด้วย ในระดับความเข้มข้นของสารที่เหมาะสม(Chang *et al.*, 2009; Capodanno *et al.*, 2009; Geffroy *et al.*, 2005)

ค. ผลต่อระดับการแสดงออกของยีน phosphoinositide 3-kinase (*PI3K*)

มีรายงานวิจัยที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *PI3K* ในเซลล์เชื้อสายมะเร็ง เต้านม MCF-7 เมื่อทดสอบด้วยสารในกลุ่ม organochlorine pesticide (OCP), phthalates, Bisphenol A พบว่ามีระดับการแสดงออกของยีน *PI3K* ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ เซลล์เพิ่มจำนวนด้วย (Capodanno *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2009) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *Akt* และ *PI3K* ในเซลล์เชื้อสาย มะเร็งเต้านม (MCF-7) เมื่อทดสอบด้วยเอสโตรเจน พบว่า ระดับการแสดงออกของ ทั้งสองยีนเพิ่มขึ้นส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน(Capodanno *et al.*, 2009)

ง. ผลต่อระดับการแสดงออกของยีน transferin receptor(*TFRC*)

มีรายงานวิจัยที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *TFRC* ในเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก เมื่อทดสอบด้วย 17 β -estradiol พบว่าระดับการแสดงออกของยีน *TFRC* ลดลงส่งผลให้เซลล์เพิ่มขึ้น (Kapoor and Sheng, 2007; Falany *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* และ *TFRC* ในเซลล์ แสดงออกของยีน *TFRC* เพิ่มขึ้น (Sampey *et al.*, 2007) และระดับการแสดงออกของ *SULT1E1* ลดลงส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน (Suiko *et al.*, 2005 ; Kapoor and Sheng, 2007)

จ. ผลต่อระดับการแสดงออกของยีน Sulfotransferase (*SULT1E1*)

มีรายงานการวิจัยที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* ในเซลล์ เมื่อทดสอบด้วย 17β -estradiol พบว่ามีระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน (Falany *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* ในเซลล์เมื่อทดสอบด้วยสารในกลุ่ม organochlorine pesticide (OCP) และ Bisphenol A พบว่าระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน (Kapoor and Sheng, 2007) นอกจากนี้ Suiko *et al.*, 2005 ได้ศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *ER α* และ *SULT1E1* ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เมื่อทดสอบด้วยเอสโตรเจน พบว่ามีระดับการแสดงออกของยีน *ER α* เพิ่มขึ้น และ ระดับการแสดงออกของยีน *SULT1E1* ลดลงส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน

2.7 เทคนิค sulforhodamine B (SRB)

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เทคนิค SRB เพื่อตรวจสอบการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนโดยใช้เซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม (MCF-7) เป็นโมเดลเพื่อคัดเลือความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เนื่องจาก SRB เป็นสารประกอบประเภท aminoxanthene ซึ่งในโมเลกุลของสียประกอบด้วย sulfonic group 2 หมู่มีคุณสมบัติในการจับกับกรดอะมิโนพื้นฐานในสภาวะที่เป็นกรดอ่อน และสีจะหลุดออกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีคุณสมบัติเป็นเบส จากคุณสมบัตินี้จึงนำมาใช้ตรวจสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ซึ่งความเข้มของสีจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ และมีความสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ที่มีอยู่ (Skehan *et al.*, 1990; Vanicha and Kanyawim, 2006) เทคนิคนี้สามารถใช้วัดการเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีความหนาแน่นขนาดต่างๆ และสามารถประเมินประสิทธิภาพของสารตัวอย่างที่มีผลต่อภายในเซลล์ทั้ง pathogen และ host cells ที่เกิดขึ้นพร้อมกันในสภาพเลี้ยง (Monks *et al.*, 1991) เทคนิค SRB นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารตัวอย่างหรือสารสกัดต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ เนื่องจากสีย SRB ค่อนข้างเสถียร เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจสอบอยู่เป็นประจำ และมีราคาไม่สูงมากเมื่อเทียบกับสียชนิดอื่น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ SRB ในการวัดการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์