บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทำวิจัยในครั้งนี้ สามารถเตรียมสารสกัดจากใบมะรุมด้วยเอทานอลที่มีสารสำคัญอย่างน้อย 2 ชนิดคือ astragalin และ crypto-chlorogenic acid ในปริมาณที่อยู่ในช่วงของการสกัดตามวิธีของ Vongsak และคณะ, 2013 แนะนำไว้ เมื่อนำไปทดสอบการรอดชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งลำไส้ใหญ่ HT29 ในเวลา 6-48 h พบว่าความเข้มข้น 500 µg/ml เป็นความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายมากที่สุด ในขณะที่สารมาตรฐาน astragalin (0-224 µg/ml) และ crypto-chlorogenic acid (0-177 µg/ml) ในเกือบทุกความเข้มข้นกลับมีผลเพิ่มการเจริญของเซลล์

เมื่อตรวจสอบผลของสารสกัดใบมะรุมต่อการแสดงออกของโปรตีน VEGF-A, VEGF-B และ neuropilin-1 พบว่าสารสกัดจากใบมะรุมมีผลลดการแสดงออกของโปรตีน VEGF-A (รูปที่ 10) และเพิ่ม neuropilin-1 (รูปที่ 13) ในเวลา 24 h ก่อนที่จะเกิดการลด neuropilin-1 (รูปที่ 14) ในเวลา 48 h ซึ่งเป็นไปตาม เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน astragalin และ crypto-chlorogenic acid ที่ใช้ในการทดลองในความเข้มข้นที่เพิ่มการรอดชีวิตของเซลล์ แต่ยังสามารถมีผลลดการแสดงออกของโปรตีน VEGF-A (รูปที่ 10) และเพิ่ม neuropilin-1 (รูปที่ 13) ในเวลา 24 h ก่อนที่จะเกิดการลด neuropilin-1 (รูปที่ 14) ในเวลา 48 h เช่นกัน ผลที่เกิดเมื่อเปรียบเทียบกับ positive control พบว่ามีความใกล้เคียงกับ adriamycin มากกว่า cisplatin

ทั้งนี้ในการวิจัยนี้ไม่สามารถตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีน VEGF-B ได้ อาจเป็นผลเนื่องมาจากประสิทธิภาพของ antibody เอง หรืออาจมาจากปริมาณโปรตีนในการ load ลง gel ยังไม่มากพอ ซึ่งหากต้องการทดสอบอีกครั้งจำเป็นต้องใช้ปริมาณโปรตีนจากเซลล์ที่มากกว่า 40 µg/well และนั่นหมายถึงอาจต้องเพิ่มการเลี้ยงเซลล์ใน Flask ขนาดใหญ่ขึ้น อีกทางเลือกหนึ่งคือการลดการเจือจาง primary antibody เป็น 1:100 หรือ 1:50 นอกจากนี้อาจต้องทดสอบการแสดงออกของ VEGF-B mRNA ด้วย northern blot analysis เพื่อทดสอบการแสดงออกควบคู่กัน หรืออาจเลือกใช้วิธี immunoprecipitation ก่อนวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE ซึ่งจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มความจำเพาะต่อโปรตีนและทำให้มีโอกาสเห็นแถบโปรตีนได้เพิ่มขึ้น

จุดอ่อนของการวิจัยอีกประการอยู่ที่การทำ immunohistochemistry ที่ไม่สามารถทำให้เห็นผลได้ชัดเจน ปัญหาหลักมาจากเครื่องมือและอุปกรณ์มีคุณภาพของแสงฟลูออเรสเซนต์/กล้องด้อยลงจากอายุการใช้งาน ทำให้การสังเกตภาพไม่ชัดเจน การเลือกสีเรืองแสงเพียงตัวเดียว ไม่มีการย้อมสีนิวเคลียสของเซลล์เพิ่มเพื่อให้เกิดสีที่ตรงข้าม (contrast) การเพิ่มขั้นตอนการ treat เซลล์ด้วยการ fix และให้สาร penetrate จนแน่ใจว่ามีการจับของแอนติบอดีกับสารโปรตีนภายในเซลล์ อีกทั้งอาจต้องพยายามล้างสารสกัดให้หมด รวมทั้งการตรวจสอบอาจต้องใช้ Laser-scanning confocal microscopy เพื่อให้เห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้น

สำหรับข้อเสนอแนะจากผลการวิจัยนี้ในการศึกษาวิจัยต่อไป คือการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งจากสารสกัดใบมะรุมในความเข้มข้นที่สูงขึ้นในเซลล์อื่น ๆ การสกัดสารสำคัญจากใบมะรุมให้ได้สารเดี่ยว และนำไปทดสอบต่อเพื่อให้ทราบว่าผลการลด VEGF-A และ neuropilin-1 มาจากสารใด นอกจากนี้ยังควรศึกษา signaling molecule และฤทธิ์อื่น ๆ ที่น่าสนใจของมะรุม เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป