

บทที่ 4

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง (Conclusion & Discussion)

อภิปรายผล

ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ SW480 cell line ด้วยวิธี MTT assay และ Crystal violet staining assay โดยมีแนวโน้มของการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่เป็นไปในทางเดียวกัน พบว่า สารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่ความเข้มข้นต่ำๆ (0.625-2.5 $\mu\text{g/ml}$) ยังสามารถทำให้เซลล์มะเร็งลำไส้มีการแบ่งตัว และยังมีการเจริญเติบโตที่ลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control cell) ซึ่งอาจจะเป็นการตายแบบภาวะ apoptosis ส่วนสารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่ความเข้มข้นสูงๆ ตั้งแต่ 5.0 $\mu\text{g/ml}$ ขึ้นไปทำให้จำนวนเซลล์มะเร็งลำไส้ลดลงไปจำนวนมาก และเมื่อยืนยันผลโดยการศึกษากการหลั่ง LDH ก็ให้ผลที่เป็นไปในทางเดียวกัน พบว่า สารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่ความเข้มข้นสูงๆ จะสามารถเหนี่ยวนำให้มีการหลั่ง LDH มากขึ้น ซึ่ง LDH เป็นเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกจากเซลล์ที่ตายแบบ necrosis ดังนั้นที่ความเข้มข้นสูงๆ ของสารสกัดเถาวัลย์เปรียง เซลล์อาจจะมีการตายแบบ necrosis

จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเถาวัลย์เปรียงมีสารสำคัญพวก isoflavone เช่น genistein และอนุพันธ์ ซึ่งมีรายงานทางระบาดวิทยาว่าประชากรที่รับประทานอาหารที่มี isoflavone สูง เช่น ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่มี genistein และ daidzein เป็นส่วนประกอบหลัก จะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งเต้านม และลดอัตราการตายจากมะเร็งต่อมลูกหมากได้ [12] ในการศึกษาสารสกัดเถาวัลย์เปรียง อาจจะเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งตายทั้งภาวะที่เป็นแบบ necrosis หรือ apoptosis หรือทำให้เกิดการหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ จึงได้มีการศึกษาการทำงานของ caspase-3 activity ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์แบบ apoptosis [13] โดยศึกษาในระยะยาว เป็นเวลา 24 ชม พบว่าการทำงานของเอนไซม์ caspase-3 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงเพิ่มมากขึ้น แต่จากการทดลองจะพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เดิม อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM/F-12 ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับการวัดเซลล์ apoptosis ด้วยเครื่อง flow cytometer ที่พบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis เพิ่มขึ้น แต่เซลล์ที่พบส่วนใหญ่อยู่ในระยะสุดท้ายของกระบวนการตายแบบ apoptosis ซึ่งใกล้เคียงกับการตายของเซลล์แบบ necrosis มาก จึงอาจเป็นไปได้ว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะความเข้มข้นที่ 5-10 $\mu\text{g/ml}$ สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มีการตายแบบ apoptosis ในระยะสุดท้ายก่อนที่ membrane จะเสียหายและแตกออก จนกลายเป็นการตายแบบ necrosis ทำให้ตรวจพบการทำงานของเอนไซม์ caspase-3 เพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เนื่องจากเซลล์บางส่วนมีการตายแบบ necrosis ร่วมด้วย

กระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis นอกจากเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-3 ยังเกี่ยวข้องกับการโปรตีนในกลุ่มของ Bcl-2 family Bcl-2 เป็นโปรตีนที่ยับยั้งหรือกีดการทำงานของกระบวนการ apoptosis และในทางตรงกันข้าม Bax เป็นโปรตีนที่กระตุ้นหรือส่งเสริม

ให้เกิด กระบวนการ apoptosis ภายในเซลล์ [14] ในการทดสอบสารสกัดเถาวัลย์เปรียงต่อการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 และ Bax จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงสูงขึ้น (5-10 $\mu\text{L/ml}$) การแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 และ Bax แปรผกผันกัน กล่าวคือ Bcl-2 มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่โปรตีน Bax มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM/F-12 จากการศึกษาครั้งนี้จึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงอาจจะเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ SW480 เกิด cell apoptosis โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 และ Bax แต่เนื่องจากข้อมูลที่ได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ จึงอาจเป็นไปได้ว่า การที่สารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีผลต่อการลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ได้อาจจะเป็นผลจากการตายของเซลล์แบบ necrosis มากกว่าการตายแบบ apoptosis ดังจะเห็นได้จากการหลั่งของเอนไซม์ LDH ที่เพิ่มขึ้น

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดเถาวัลย์เปรียงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ โดยสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ให้มีการตายทั้งแบบ apoptosis และ necrosis ได้ เนื่องจากมีองค์ประกอบที่สำคัญพวก isoflavone และอนุพันธ์ต่างๆ ของ isoflavone ดังนั้น จากผลการทดลองเถาวัลย์เปรียงจึงสามารถพัฒนาให้มีศักยภาพเพิ่มมากขึ้นในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ต่อไปในอนาคต