

บทที่ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหาการทดลอง

โรคมะเร็งปัจจุบันถือเป็นโรคร้ายแรงที่คร่าชีวิตคนไทยและทำให้เกิดการสูญเสียอย่างใหญ่หลวงแก่ประชาชนทุกชาติ โดยในแต่ละประเทศการพบชนิดของมะเร็งก็แตกต่างกันอันเนื่องมาจากประชาชนของแต่ละประเทศมีโอกาสได้รับรังสี มลพิษทางอากาศ ความเครียด สารเคมี รวมทั้งพฤติกรรมการบริโภคแตกต่างกัน มะเร็งเป็นโรคที่มีอัตราการตายสูงเป็นอันดับสอง รองจากอุบัติเหตุ จากรายงานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าในปี พ.ศ.2550 มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (colorectal cancer) มีอุบัติการณ์เป็นอันดับ 3 ทั้งในเพศชาย (14.2%) และเพศหญิง (6.2%) โดยในเพศชายอุบัติการณ์รองมาจากมะเร็งปอดและหลอดลม (17.1%) และมะเร็งตับ (14.8%) ในเพศหญิงอุบัติการณ์รองมาจากมะเร็งเต้านม (40.0%) และมะเร็งปากมดลูก (18.6%) จากรายงานทางสถิติพบว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงมีแนวโน้มอุบัติการณ์สูงขึ้น อาจเป็นผลเนื่องมาจากพฤติกรรมการบริโภคได้เปลี่ยนแปลงไป โดยหันไปให้ความนิยมกับอาหารประเภทแป้ง ไขมันและเนื้อสัตว์ รวมทั้งมีโอกาสสัมผัสกับสารก่อมะเร็งมากขึ้น เช่น สารเคมีและสารพิษในอาหาร ควันบุหรี่ รังสี สารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เป็นต้น

มะเร็งเป็นโรคทางพันธุกรรมโดยมีการเกิดโรค เป็นขบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอน (multistep carcinogenesis) เริ่มต้นจากการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมที่โครโมโซมและดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความผิดปกติในระบบควบคุมการเจริญของเซลล์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) การพัฒนาของเซลล์ (cell differentiation) และการหลีกเลี่ยงโปรแกรมการตายของเซลล์แบบ apoptosis นั่นคือเกิดการเปลี่ยนแปลงจากชีวเคมีภายในเซลล์ เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก genotypic ไปสู่ phenotypic มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและคุณสมบัติของเซลล์ปกติให้กลายเป็นเซลล์ก่อนเกิดมะเร็ง (premalignant cells) จนเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็ง (malignant cells) ในที่สุดต่อจากนั้นจะมีการเปลี่ยนจำนวนเซลล์มะเร็งขึ้น เกิดเป็นก้อนมะเร็ง (tumors) สามารถตรวจพบได้ทางคลินิก มีอาการและอาการแสดงต่างๆ เกิดขึ้น เกิดการแพร่กระจาย (Metastasis) หรือทำลายอวัยวะที่เกิดมะเร็งหรือบริเวณใกล้เคียง จนทำให้ผู้ป่วยเกิดโรคเสียชีวิตจากโรค เมื่อมีความก้าวหน้าทาง molecular biology มากขึ้น ทำให้สามารถศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของอาการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง แม้ว่าในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมจะมีสารก่อมะเร็งปะปนอยู่ แต่ในธรรมชาติก็ยังมีสารบางอย่างที่มีฤทธิ์ป้องกันการก่อมะเร็งและยับยั้งการรุกรามของมะเร็งอยู่เช่นกัน จึงมีนักวิจัยและนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากที่ศึกษาและวิจัยสารที่สำคัญจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ป้องกันการก่อมะเร็งและยับยั้งการรุกรามของมะเร็ง (Guengerich FP, 1992; Hawk *et al.*, 1999)

ปัจจุบันการรักษาโรคมะเร็งอาศัยเคมีบำบัด รังสีบำบัด การผ่าตัดและฮอร์โมนบำบัด เพื่อทำลายและกำจัดเซลล์มะเร็งที่เกิดขึ้น ยาต้านมะเร็งที่ใช้ในปัจจุบันนี้มีเป้าหมายการออกฤทธิ์เพื่อหยุดยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ผิดปกติสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ยาที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ที่อยู่ในทุกระยะของวงจรการแบ่งตัวและยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะบางระยะของวงจรการแบ่งตัว ถึงแม้ยาที่ออกฤทธิ์แบบจำเพาะต่อระยะวงจรการแบ่งตัวจะทำงานได้ผลดี แต่มีช่วงระยะเวลาการออกฤทธิ์สั้น การรักษาามะเร็งจึงมักต้องใช้ยาที่ออกฤทธิ์ต่างกันมาช่วยเสริมฤทธิ์กัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการกำจัดเซลล์มะเร็ง แต่ยังคงพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยวิธีเหล่านี้ยังคงมีปัญหา เช่น อาการข้างเคียง การดื้อยา และค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ในปัจจุบันยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ได้เป็น 6 กลุ่มคือ

1. Alkylating agents

ยาในกลุ่มนี้จะเกิดปฏิกิริยา alkylation โดยที่ alkylating group จะเข้าแทนที่อะตอมของไฮโดรเจนในกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) หรือโปรตีน ทำให้กรดนิวคลีอิกหรือโปรตีนดังกล่าวสูญเสียสภาพการทำงานไป ซึ่งพบว่าตำแหน่ง N-7 ของ guanine ในดีเอ็นเอเป็น strong nucleophilic group ตัวอย่างของยาในกลุ่มนี้ได้แก่ cyclophosphamide, carmustine, mitomycin C, cisplatin และ carboplatin เป็นต้น

2. Antimetabolites

เป็นยาที่ป้องกันกระบวนการสังเคราะห์หรือป้องกันการใช้เมแทบอลิต์ของร่างกาย โดยปกติแล้ว antimetabolites จะมีสูตรโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับเมแทบอลิต์และสามารถไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (substrate) หรือ cofactor ทำให้สามารถไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ส่งผลให้เซลล์มะเร็งตายในที่สุด ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ได้แก่ methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine และ 5-fluorouracil เป็นต้น

3. Antibiotics

เป็นยารักษาามะเร็งที่ได้จากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งยาในกลุ่มนี้จะมี chromophore ขนาดใหญ่ กลไกของยาในกลุ่มนี้จะอาศัยการ intercalate เข้าไปใน base pair ของดีเอ็นเอ ทำให้มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ตัวอย่างของยาในกลุ่มนี้ได้แก่ dactinomycin, daunorubicin, doxorubicin, bleomycin และ mithramycin เป็นต้น

4. ฮอร์โมน (hormones)

การรักษาามะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนสามารถทำได้ 5 ลักษณะ คือ

4.1 การผ่าตัดเอาอวัยวะที่สร้างฮอร์โมนออก ทำให้เกิดการขาดฮอร์โมนที่มีผลต่อการแบ่งตัวและเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

4.2 การใช้ฮอร์โมนเพศตรงข้าม เช่น การใช้แอนโดรเจน (androgen) หรือโปรเจสเตอโรน (progesterone) รักษาามะเร็งเต้านม

4.3 การใช้ฮอร์โมนเพศขนาดสูง เช่น การใช้คอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroid) รักษา lymphoma

4.4 การใช้ต้านฮอร์โมน เช่น การใช้แอนโดรเจนรักษามะเร็งเต้านม

4.5 การใช้ Inhibitor ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะโรมาเตส (aromatase)

ตัวอย่างของยาในกลุ่มนี้เช่น medroxyprogesterone, testosterone propionate, prednisolone, tamoxifen, aminoglutethimide และ fadrozole เป็นต้น

5. ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural products) เป็นยารักษามะเร็งที่ได้จากพืช โดยกลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้มี 4 กลไกคือ

5.1 อาศัยการเข้าจับกับ microtubules ทำให้ไม่เกิด spindle microtubules ในระยะ metaphase ทำให้เซลล์ไม่มีการแบ่งตัว ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ vinca alkaloids (vinblastine และ vincristine)

5.2 ยับยั้งการเกิด disassembly (depolymerization) ทำให้เซลล์มะเร็งเกิด microtubule elongation อย่างต่อเนื่องและทำให้เซลล์แตกในที่สุด ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ taxoids (paclitaxel และ docetaxel)

5.3 ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ทำให้มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยจะออกฤทธิ์ยับยั้งใน S-phase มากกว่า M-phase ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ podophyllotoxin

5.4 ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase I ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ camptothecins (topotecan และ irinotecan)

6. กลุ่มอื่นๆ

6.1 Interferon (IFN)

ฤทธิ์ในการรักษามะเร็งของ interferon ยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอน แต่คาดว่าน่าจะออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์มะเร็งหรือระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดคือ IFN- α , IFN- β และ IFN- γ สำหรับที่ใช้รักษามะเร็งคือ IFN- α โดยใช้รักษา hairy cell leukemia

6.2 Monoclonal antibody

เป็นแอนติบอดี (antibody) ที่ถูกสร้างขึ้นจาก single clone cell โดยใช้ hybridoma technology โดยแอนติบอดีที่ผลิตได้จะมีสมบัติเป็น homogeneous antibody ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจน (antigen) สูง มีประสิทธิภาพสูงและสามารถทำนายความเป็นพิษในร่างกายได้ดีกว่า polyclonal antibody

6.3 L-asparaginase

ยาในกลุ่มนี้จะไปเร่งการเปลี่ยน L-asparagine ไปเป็น aspartate และ ammonia และยังสามารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ asparagine synthetase ส่งผลให้ยับยั้งการสร้าง

โปรตีนในเซลล์ที่ไวต่อยา ทำให้เซลล์ขาดสารตั้งต้นในการสร้างดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ทำให้สามารถป้องกันไม่ให้เซลล์เข้าสู่ S-phase

ในการศึกษาสารต้านมะเร็งจากธรรมชาตินั้น สถาบันมะเร็งแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (National Cancer Institute, NCI) ได้ให้คำนิยามเพื่อแบ่งกลุ่มสารที่ออกฤทธิ์ในระดับต่างๆ ดังนี้

1. สารที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic agent) หมายถึงสารที่มีพิษต่อเซลล์มะเร็งที่เลี้ยงในหลอดทดลอง (*in vitro* culture)
2. สารต้านเนื้องอก (antitumor หรือ antineoplastic agent) หมายถึงสารที่มีฤทธิ์ต้านเนื้องอกและมะเร็งในสัตว์ทดลอง (*in vivo*)
3. สารต้านมะเร็ง (anticancer agent) หมายถึงสารที่ให้ผลในการต้านมะเร็งในการทดลองขั้นคลินิกในคนเท่านั้น (human clinical study)

ด้วยเหตุผลที่การใช้ยาเคมีบำบัดในการรักษาโรคมะเร็งนั้นทำให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง ทั้งยังมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง จึงแนวความคิดการเกี่ยวกับการป้องกันการเกิดมะเร็งจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เช่น โภชนบำบัด รวมถึงการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ รวมทั้งมีพิษน้อยต่อร่างกายและเซลล์ปกติ เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยาป้องกันและรักษามะเร็งในอนาคต ความสำเร็จในการค้นหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการด้วยกัน แต่ปัจจัยที่สำคัญที่สุดก็คือ วิธีการที่ใช้ในการคัดกรอง (screening procedure) ซึ่งในกรณีต้านมะเร็งการทดสอบจะต้องรวมถึงการศึกษาขั้นคลินิกด้วย การศึกษาดังกล่าวต้องใช้งบประมาณสูงมาก ทั้งยังต้องใช้เวลาเป็นหลายปีจึงจะสามารถสรุปผลได้ว่าสารนั้นมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งได้หรือไม่ วิธีการคัดกรองที่ให้ผลดีในการสำรวจสารสกัดจากพืชจำนวนมากเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพนี้จะต้องมีความจำเพาะเจาะจงพอสมควรและในขณะเดียวกันก็ต้องมีความไวพอที่จะตรวจวัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีในพืชปริมาณต่ำได้ ดังนั้นสถาบันมะเร็งแห่งชาติสหรัฐอเมริกาจึงได้พัฒนาวิธีการทดสอบเบื้องต้น (preliminary screening procedure) สำหรับทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity test) เพื่อเป็นแนวทางในการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช เมื่อผลการทดสอบสารสกัดหยาบได้ผลดีแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ การแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธี bioassay direction fractionation ต่อไป ประเทศไทยนั้นตั้งอยู่บริเวณที่มีความหลากหลายของพันธุ์พืช จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาและพัฒนาสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรไทยที่มีศักยภาพต้านมะเร็ง โดยการศึกษาขั้นพื้นฐานจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxic activity screening) และความสามารถในการเกาะติดเซลล์มะเร็ง (cancer cell adhesion) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาในขั้นสูงต่อไป คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและความสามารถเกาะติดเซลล์มะเร็งของสมุนไพรไทย โดยทำการคัดเลือกสมุนไพรไทยในวงศ์รูตาซีอี (Rutaceae) ที่มีข้อมูลการศึกษาศักยภาพในการต้านมะเร็งมาบ้างแล้ว โดยเป็นการศึกษาในส่วนของเปลือกไม้ (bark), เปลือกราก (root bark, stem bark) และใบ แต่ยังไม่

มีข้อมูลการศึกษาในส่วนของเนื้อไม้ โดยทำการคัดเลือกสุมไพรไทยมาทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย มะกรูด ส้มโอ มะขวิด มะเขว่นและหัสคุณ มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และการยับยั้งการเกาะติดเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง 2 ชนิด คือ HCT 116 และ HT-29