

บทที่ 1

บทนำ

ด้วยสภาวะปัจจุบันประเทศไทยได้นำวิทยาการและเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้เป็นอันมาก เพื่อพัฒนาการเกษตรและอุตสาหกรรมของประเทศ ตลอดจนชีวิตความเป็นอยู่ของประชาชน ทำให้มีการนำสารเคมีมาใช้ในกิจกรรมต่างๆทั้งในบ้านเรือน การเกษตรและอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาทางด้านการเกษตร สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์จำนวนมากถูกนำมาใช้ป้องกันศัตรูพืชและสัตว์ประเภทต่างๆเพื่อมิให้ทำลายผลผลิต หรือเพื่อใช้ในการเก็บรักษาผลผลิตเหล่านี้ให้อยู่ระยะเวลานานขึ้น จึงก่อให้เกิดปัญหาการเกิดสารตกค้างในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม การเกิดพิษในเกษตรกรผู้ใช้ รวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของประเทศไทยเช่น ปัญหาสิ่งตกค้างจากยาฆ่าแมลง ในแหล่งน้ำ ในตะกอนดิน และสะสมอยู่ในสัตว์บางชนิด

มีรายงานสารพิษตกค้างในพืช โดยพงศ์พันธุ์ จึงอยู่สุข และคณะ ปี 2538 ว่าพืชมีการตกค้างของสารพิษในกลุ่มคาร์บาเมตมากที่สุด รองลงไปที่ออร์กาโนฟอสเฟตและออร์กาโนคลอรีน กลุ่มคาร์บาเมตที่พบบ่อยคือ คาร์โบฟูราน กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตพบเมธามิโดฟอสมากที่สุด และกลุ่มออร์กาโนคลอรีนพบบ่อยที่สุดคือดีดีทีและอนุนันท์ และกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี 2530-2534 ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชในพืชผักทั่วไป จำนวน 132 ตัวอย่าง พบสารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต ในพืชผักร้อยละ 48 กอบทอง กล้วยหอมและคณะ ปี 2536 ได้ศึกษาระดับการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพืชผัก พบสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างร้อยละ 47.7 โดยพืชผักตระกูลถั่วมีสารตกค้างมากที่สุดร้อยละ 48.6 พืชที่รับประทานใบ พบสารตกค้างร้อยละ 37 และพืชตระกูลกระหล่ำพบสารตกค้างร้อยละ 16.4

การได้รับสารกำจัดศัตรูพืชเข้าสู่ร่างกาย สามารถรับได้โดยทางการหายใจ การกินหรือการสัมผัส การเกิดพิษของสารกำจัดศัตรูพืช ได้แก่การเกิดพิษแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ตัวอย่างเช่น อาการพิษของยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต อาการพิษเฉียบพลันระยะแรกคือ เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน น้ำตาไหล เหงื่อออก ม่านตาหดตัว ถ่ายอุจจาระและปัสสาวะโดยกลั้นไม่อยู่ การเกร็งของหลอดลม หลอดลมมีเมือกและเสมหะมาก นอกจากนี้จะมีการกระตุ้นของกล้ามเนื้อที่หน้า หน้าตา ลิ้น ถ้าอาการรุนแรงขึ้นจะพบว่ากระตุ้นทั่วร่างกาย

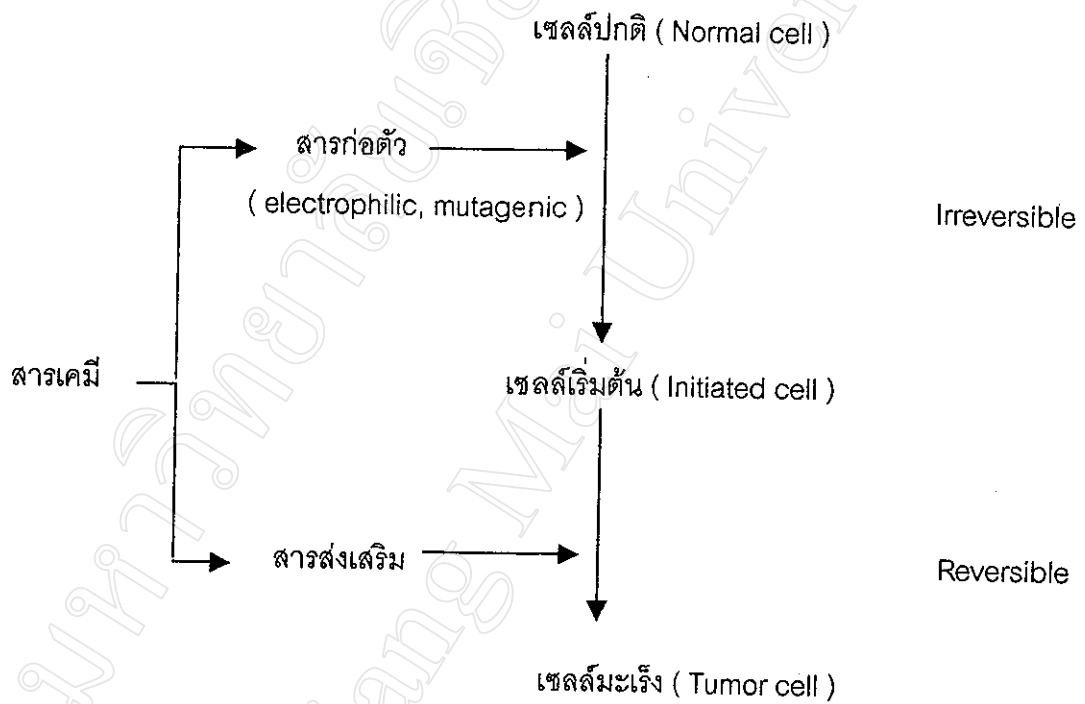
อาการทางสมองได้แก่ มึนศีรษะ ปวดศีรษะ งง และกระสับกระส่าย ตื่นตกใจง่าย ชักและหมดสติได้ อาการพิษเรื้อรังของยาฆ่าแมลงบางชนิดได้แก่ อาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน น้ำหนักลด เหน็ดเหนื่อย เมื่อยล้าตามร่างกาย (พาลาภ สิงหเสนี, 2537) มีรายงานบางฉบับ พบว่ายาฆ่าแมลงหลายชนิดในกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทำให้เกิดเนื้องอกได้ในสัตว์ทดลอง (Nunes and Tajara, 1998) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่ายาฆ่าแมลงที่ใช้กันมากในไทยนั้นจะเป็นสารก่อกลายพันธุ์หรือไม่

โรคมะเร็งเกิดจากการที่เซลล์ได้รับสารก่อมะเร็งและหรือสารก่อกลายพันธุ์ในชีวิตประจำวัน โดยที่สารก่อมะเร็งที่ได้รับเข้าไปนั้นจะทำให้ดีเอ็นเอของเซลล์ผิดปกติ และได้รับการส่งเสริมจนมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง (carcinogenesis) ในที่สุด

ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งมี 2 กลุ่ม คือ ยีนมะเร็ง (oncogenes) และยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes)

ยีนมะเร็งหรือ oncogenes เป็น mutate form ของยีนปกติที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เรียกว่า proto-oncogenes เมื่อดีเอ็นเอของยีนเหล่านี้ผิดปกติ จะทำให้มีการกระตุ้น proto-oncogene ให้กลายเป็น oncogene และมีโปรตีนที่ผิดปกติถูกสร้างขึ้นมารบกวนระบบปกติของเซลล์ ทำให้เซลล์มีการเพิ่มจำนวนขึ้นไม่หยุดยั้งและอาจมีการส่งเสริมจนเซลล์ผิดปกติกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (Thomson et al., 1991)

กลไกของการเกิดโรคมะเร็ง อธิบายด้วยทฤษฎีการเกิดมะเร็งแบบหลายขั้นตอน (multi stage carcinogenesis) ได้ดังนี้คือ เริ่มจากระยะก่อตัวหรือระยะเริ่มต้น (initiation) หมายถึงการเริ่มต้นมีความผิดปกติของดีเอ็นเอของเซลล์ โดยสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีชนิดไม่ย้อนกลับ (irreversible reaction) เช่น สารก่อกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็ง เรียกเซลล์ชนิดนี้ว่าเซลล์เริ่มต้น (initiation cell) และจะเข้าสู่ระยะส่งเสริม (promotion) เมื่อเซลล์เริ่มต้นถูกกระตุ้นด้วยสารส่งเสริมมะเร็ง (tumor promotor) หลายๆ ครั้ง จะทำให้เซลล์เริ่มต้นเข้าสู่ระยะของการเจริญและเพิ่มจำนวน (progression) โดยไม่สามารถควบคุมได้ (Ames et al., 1983)



แผนภาพที่ 1 แสดงการเกิดมะเร็งโดยสารเคมีแบบสองขั้นตอน

มีรายงานว่า ประมาณ 80% ของสารก่อกลายพันธุ์เป็นสารก่อมะเร็ง และสารก่อมะเร็ง 60-90 % มีฤทธิ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ดังนั้นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็งจึงมีความเกี่ยวข้องกัน (อุษณีย์, 2535; Miller และคณะ, 1981) สรุปว่า ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งคือ

1. ได้รับสารก่อมะเร็ง สารก่อกลายพันธุ์ และสารส่งเสริมมะเร็ง
2. ขาดสารยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ (antimutagen) และสารยับยั้งการเกิดมะเร็ง (anticarcinogen)

สารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) คือสารที่ทำให้เกิดความผิดปกติหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของดีเอ็นเอให้ผิดปกติ ตัวอย่างได้แก่ cyclophosphamide, mitomycin C, ethyl carbamate, heterocyclic amines, kaemferol และ quercetin (Caron และคณะ, 1995; Hayashi และคณะ, 1989)

สารส่งเสริมมะเร็ง (tumor promotor) คือสารเร่งและส่งเสริมให้เซลล์เริ่มต้น (initiated cell) เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง เช่น tobacco smoke เป็นสารส่งเสริมมะเร็งของปอดและหลอดลม, tryptophan และ saccharin เป็นสารส่งเสริมมะเร็งของกระเพาะปัสสาวะและ sodium chloride เป็นสารส่งเสริมมะเร็งของกระเพาะอาหารเป็นต้น (Sugimura, 1982)

สารก่อมะเร็ง (carcinogen) คือสารที่อาจก่อให้เกิดความผิดปกติต่อดีเอ็นเอ และทำให้การแบ่งตัวของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจนไม่สามารถควบคุมตัวเองได้ เช่น aflatoxin B1, alcohol, N-nitroso-dimethylamine, benzene, เชื้อไวรัสและกลุ่มรังสีชนิดต่างๆ เช่น รังสีเอกซ์ แกมมา รังสี เป็นต้น (Carr, 1985)

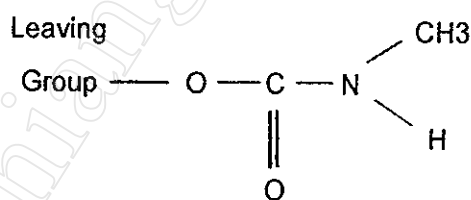
สารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagen) คือ สารที่สามารถลดความถี่ในการเกิดการกลายพันธุ์ ทั้งที่เกิดขึ้นและ/หรือถูกทำให้เกิดขึ้น เช่น โปรตีน Ardex F ในถั่วเหลือง D-glucarate จากส้มและผลไม้ สารสกัดจากตะไคร้ และอาหารที่มีกากใยเป็นต้น (อุษณีย์, 2535; Carr, 1985; กนกกาญจน์ และคณะ, 2536)

ปัจจุบันมนุษย์มีโอกาสดำรับสารก่อกลายพันธุ์ หรือสารก่อมะเร็งได้ง่าย เช่นจากอาหาร และยา สารเคมี และไวรัส ซึ่งจะมีโอกาสทำให้เกิดมะเร็ง หรือโรคทางพันธุกรรมต่างๆ และมีผลกระทบตามมาอีกมากมาย สารเคมีกำจัดศัตรูพืชก็เป็นสารเคมีกลุ่มหนึ่งที่นาสนใจว่าจะเป็นสารก่อกลายพันธุ์หรือไม่

สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่นำมาใช้ แบ่งตามประเภทศัตรูพืชและสัตว์ที่สำคัญคือ สารเคมีกำจัดแมลง (insecticides), สารเคมีกำจัดวัชพืช (herbicides) และสารเคมีกำจัดโรคพืช (fungicides) นอกจากนี้ยังมีประเภทย่อยๆ ที่มีการใช้ไม่มากนัก เช่น สารเคมีกำจัดหนู (rodenticides), สารเคมีกำจัดไร (acaricides) และสารเคมีกำจัดหอย (molluscicides) ในกลุ่มที่มีความสำคัญ 3 ประเภทใหญ่นั้น สารเคมีกำจัดวัชพืชมีปริมาณการใช้มากที่สุดและมีแนวโน้มว่าจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ สารเคมีกำจัดแมลงเคยมีการใช้มากที่สุด แต่ในปัจจุบันมีแนวโน้มว่าจะลดลง เนื่องจากปัญหาพิษอันตรายที่เกิดขึ้นกับผู้ไ้ ผู้บริโภค และ สิ่งแวดล้อม โดยจะมีการนำสิ่งอื่นมาทดแทนเช่น สารสกัดจากพืชพวกสะเดาหรือจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามปัญหาเรื่องพิษภัยอันตรายจากสารกำจัดแมลงในปัจจุบันยังมีอยู่ในระดับสูง และคงจะไม่หมดไปในระยะเวลาดังนั้น โดยสารกำจัดแมลงนี้สามารถแบ่งออกตามกลุ่มของสารเคมีได้เป็น กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต(organophosphate) กลุ่มคาร์บาเมต(carbamate) กลุ่มออร์กาโนคลอรีน(organochlorine) กลุ่มไพรีทรอยด์(Pyrethroid) กลุ่มสารยับยั้งการลอกคราบ(chitin inhibitor) กลุ่มสารรมควัน(fumigant) และกลุ่มสารเคมีอื่นๆ ซึ่งไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มใดๆที่กล่าวมาแล้ว ในกลุ่มสารเคมีเหล่านี้กลุ่มที่มีการใช้มากที่สุดคือ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต รองลงมาคือกลุ่มคาร์บาเมต แนวโน้มในอนาคตสารเคมีทั้งสองกลุ่มจะยังคงมีการใช้ต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่งเนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพสูงและมีราคาไม่แพง (สมิง เก้าเจริญ และยุพา ถีลาพฤทธิ, 2537) ในงานวิจัยนี้จึงได้มุ่งศึกษาผลของสารเคมีกำจัดแมลง 3 ชนิดที่มีการใช้มากทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ แลนเนท แอล ทามารอน 600 เอสแอล และฟูราดาน 3% จี

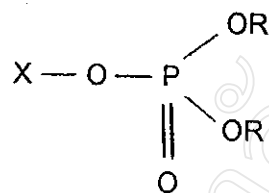
แลนเนท แอล เป็นสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ชื่อสามัญคือ เมโทมิล (metho myl) สารสำคัญคือ S-methyl-N-(methylcarbamoyloxy) ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น หนอน มวน เพลี้ย ที่เป็นศัตรูของ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ยาสูบ ละหุ่ง ถั่วเหลือง มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือเทศ แตงโม กระเจี๊ยบเขียว เป็นต้น โดยใช้แลนเนท ผสมกับน้ำในอัตรา 60 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร ความเข้มข้น 18% W/V พ่นไปตามใบและลำต้น

ฟูราดาน 3% จี เป็นสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ชื่อสามัญคือ คาร์โบฟูราน (carbofuran) สารสำคัญ คือ 2,3-dihydro-2,2 dimethylbenzofuran 7-yl methylcarbamate ใช้กำจัดแมลงและไล่เดือนฝอย ได้แก่ เพลี้ย หนอน จากแมลงต่างๆ เช่น ผีเสื้อ แมลงหวี่ เป็นต้น เหมาะสำหรับใช้กับศัตรูพืช คือ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย มันสำปะหลัง ฝ้าย ถั่วเหลือง กาแฟ มะเขือเทศ ถั่วฝักยาว โดยใช้หว่านในนาข้าว หว่านทางโคนต้นกาแฟ กลัวย หยอดในหลุมพร้อมปลูกยาสูบ โรยในร่องขณะปลูกถั่วเหลือง ร่องกันหลุมขณะปลูกถั่วฝักยาว

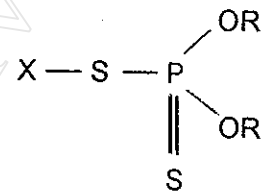


แผนภาพที่ 2 โครงสร้างพื้นฐานของสารเคมีกำจัดแมลงคาร์บาเมต

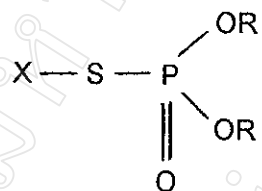
ทามารอน 600 เอสแอล เป็นสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ชื่อสามัญ คือ เมตามิโดฟอส (methamidophos) สารสำคัญคือ O,S-dimethyl-phosphoramidothioate ใช้ในการกำจัด หนอน เพลี้ย มวน แมลงหวี่ ที่เป็นศัตรูของฝ้าย ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ยาสูบ หม่อน ละหุ่ง ไม้ดอกไม้ประดับ โดยใช้ทามารอน 20-40 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร ความเข้มข้น 60% W/V พ่นทั่วต้นพืช เมื่อพบแมลงระบาด



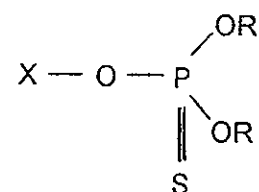
Phosphates



Phosphorothiolates



Phosphorodithiolates



Phosphorothionates

แผนภาพที่ 3 โครงสร้างพื้นฐานของสารเคมีกำจัดแมลงออร์กาโนฟอสเฟต



รูปที่ 4 แสดงขวดบรรจุสารกำจัดแมลงแลนเนท-แอ็ด



รูปที่ 5 แสดงขวดบรรจุสารกำจัดแมลงทามารอน 600 เอสแอล



รูปที่ 6 แสดงถุงบรรจุสารกำจัดแมลงฟิวราดาม 3% จี

รูปแบบของยาปราบศัตรูพืช

1. แบบผงผสมน้ำ : water soluble powder (WDP), wettable powder เวลาใช้ต้องผสมน้ำเป็นจำนวนมาก เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของส่วนผสมตามต้องการ
2. แบบน้ำมัน : emulsifiable concentrate (EC) ประกอบด้วยส่วนผสมของสารออกฤทธิ์ในตัวทำละลายซึ่งยังไม่สามารถเข้ากันกับน้ำได้ (non-water miscible solvents) ต่อมาก็เติมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชผสมกับน้ำได้ และยังสามารถเกาะใบพืช หรือติดผิวของแมลงได้ดีอีกด้วย
3. แบบน้ำเข้มข้นหรือน้ำ : solution concentrate (SC), water soluble concentrate (WSC), liquids (SCW), liquid concentrate (LC) รูปลักษณะโดยทั่วไปคล้ายแบบน้ำมัน ยาฆ่าศัตรูพืชแบบน้ำเข้มข้นนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ และตัวทำละลายที่ผสมน้ำได้ (water miscible solvent) ไม่มีสาร emulsifier
4. แบบผงละลายน้ำ : water soluble powder (WSP or SP) ยาฆ่าศัตรูพืชแบบนี้ผลิตออกมาในรูปเม็ดหรือเกล็ดสามารถละลายน้ำได้ทันที ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่ละลายน้ำได้ ทำเป็นผงหรือเกล็ดเล็กๆ
5. แบบผงฝุ่น : dust (D) เป็นแบบที่ผลิตออกมาโดยการนำสารออกฤทธิ์มาบดให้ละเอียด แล้วผสมกับผงของสารไม่ออกฤทธิ์อื่น เช่น ผงทัลก์ (talc) และ bentonite ซึ่งส่วนผสมเหล่านี้จะช่วยเป็นสารพาหะ หรือทำให้เจือจางลง มีเปอร์เซ็นต์ออกสารออกฤทธิ์ต่ำ ส่วนมากมักจะใช้ในแหล่งที่ขาดแคลนน้ำ
6. แบบเม็ด : granule (G) โดยทั่วไปแล้วยาฆ่าศัตรูพืชแบบนี้มีลักษณะคล้ายๆกับแบบผง แตกต่างกันตรงที่มีขนาดเม็ดใหญ่กว่า ส่วนประกอบได้แก่ สารออกฤทธิ์และสารพาหะ หรือสารทำให้เจือจาง โดยนำสารออกฤทธิ์ไปเคลือบกับเม็ดของสารไม่ออกฤทธิ์ เช่น ทราาย หรือวัสดุบางชนิดอาจเคลือบผิวภายนอกของเม็ดอีกชั้นหนึ่ง เพื่อป้องกันอันตราย ยาฆ่าศัตรูพืชแบบเม็ดนี้เป็นแบบที่ใช้ได้ทันที โดยใส่ทางดินเท่านั้น อาจใส่ระหว่างร่อง คลุกกับดิน หรือรองกันหลุม เป็นต้น หากดินมีความชื้นพอสารออกฤทธิ์จะซึมขึ้นไปทางระบบราก

การจำแนกระดับอันตรายของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ ขึ้นกับค่าความเป็นพิษของสาร (the median lethal dose, LD_{50}) ซึ่งเมื่อให้แกสัตว์ทดลองแล้วทำให้สัตว์ทดลองเสียชีวิตไปครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมด โดยกำหนดหน่วยของ LD_{50} เป็นมิลลิกรัมของสารพิษต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวสัตว์ทดลอง การทดลองเพื่อหาค่า LD_{50} นั้นสามารถทำได้โดยการให้สารทางปาก (oral route) หรือฉีดสารทางผิวหนัง (dermal route) หรือให้สารโดยการหายใจ (inhalation route) ค่า LD_{50} ซึ่งทดลอง ในสัตว์ทดลองต่างชนิดกันจะมีค่า LD_{50} ขึ้นกับชนิด เพศ และอายุของสัตว์ทดลองตลอดจนวิธีการให้สารเข้าสู่ร่างกาย สารที่มีค่า LD_{50} ต่ำจะก่อให้เกิดอันตรายหรือความเป็นพิษที่รุนแรงกว่าสารที่มีค่า LD_{50} สูง

อาการพิษของยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต (พาลาธา สิงหนณี, 2537) ได้แก่

อาการพิษเฉียบพลัน

อาการพิษแบบมัสคารินิก (muscarinic signs and symptoms) จุติรับสัมผัสมัสคารินิก (muscarinic receptors) สำหรับอะซิติลโคลีนพบส่วนใหญ่ในกล้ามเนื้อเรียบ หัวใจและต่อมมีท่อ อาการที่เกิดขึ้นในระยะแรกคือ เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน น้ำตาไหล เหงื่อออก ม่านตาหดตัว ถ่ายอุจจาระและปัสสาวะโดยกลั้นไม่อยู่ การเกร็งของหลอดลม หลอดลมมีเมือกและเสมหะมาก เป็นต้น

อาการแบบนิโคตินิก (nicotinic signs and symptoms) อาการแบบนี้เกิดขึ้นเนื่องจากสะสมของ อะซิติลโคลีน ที่ปลายประสาทมอเตอร์ที่ขึ้นแนบปลั๊กของระบบประสาทอัตโนมัติ อาการที่เกิดขึ้นคือ กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นมากกว่าปกติ มีการกระตุกของกล้ามเนื้อที่หน้า หนังตา ลิ้น ถ้าอาการรุนแรงขึ้นจะพบว่าการกระตุกมากขึ้นทั่วร่างกาย ต่อมาจึงมีอาการอ่อนเพลียตามกล้ามเนื้อทั่วไปและเกิดเป็นอัมพาตของกล้ามเนื้อในที่สุด

อาการทางสมอง เนื่องจากความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง อาการที่พบ ได้แก่ มึนศีรษะ ปวดศีรษะ งง และกระสับกระส่าย ตื่นตกใจง่าย อารมณ์พลุ่งพล่าน ถ้าอาการมากอาจชักและหมดสติได้ ผู้ป่วยอาจตายได้เนื่องจากระบบการหายใจล้มเหลว (respiratory failure) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากหลอดลมตีบตัน กล้ามเนื้อของระบบการหายใจเป็นอัมพาตและศูนย์ควบคุมการหายใจในสมองหยุดทำงาน

อาการพิษหลังจากช่วงเวลาหนึ่ง

ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตบางชนิด อาจก่อให้เกิดอาการเป็นพิษทางระบบประสาท ซึ่งเกิดหลังช่วงเวลาหนึ่ง อาการดังกล่าวเริ่มเกิดขึ้นที่ส่วนปลายประสาทของขา ก่อน ต่อมาจะมีอาการเดินเซ เสียความรู้สึก และอ่อนเพลียตามกล้ามเนื้อ ต่อมาเพิ่มความรุนแรงขึ้น อ่อนเพลียเพิ่มขึ้น และเริ่มเป็นตามแขนด้วยลักษณะทางพยาธิวิทยาที่พบจะเป็นลักษณะการทำลายที่เกิดขึ้นที่เซลล์ของแอกซอน(axon) ตามด้วยการทำลายไมอีลิน (myelin) ซึ่งเข้าใจว่าการทำลายเซลล์ดังกล่าวเกิดขึ้นเนื่องจากการรบกวนกระบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์ประสาทในไขสันหลัง การขาดการสังเคราะห์สารบางชนิดจึงทำให้เส้นประสาทแอกซอนที่มีความยาวมากซึ่งอยู่ไกลเป็นอันตรายก่อน หลังจากเกิดอาการพิษนี้แล้วประมาณ 2-3 วัน ถึง 2 อาทิตย์ อาการจะดีขึ้นอย่างช้าๆ

การปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในสิ่งแวดล้อม นับได้ว่ายังมีน้อยกว่ากลุ่มออร์กาโนคลอรีน ทั้งนี้เนื่องจากยาฆ่าแมลงออร์กาโนฟอสเฟตมีความคงทน (persistence) ในสิ่งแวดล้อมต่ำกว่า คือ สามารถสลายตัวได้ หรือถูกเปลี่ยนแปลงทางเคมี หรือโดยสิ่งมีชีวิตได้เร็วกว่า อีกทั้งยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต ยังมีศักยภาพในการสะสมในเนื้อเยื่อไขมัน ได้น้อยกว่ายาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงมักไม่พบสะสมอยู่ในวงจรห่วงโซ่อาหาร แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีการใช้ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตกันอย่างมากในกลุ่มเกษตรกรของประเทศไทย ปัญหาที่เกิดขึ้นมักจะเกิดจากการขาดความรู้ ความเข้าใจที่ถูกต้องของเกษตรกร ทำให้มีการใช้ยาฆ่าแมลงมากเกินไปจนเป็นพิษต่อสุขภาพของเกษตรกรเองหรือไม่ก็ทิ้งระยะเวลาการเก็บเกี่ยวให้นานพอ จึงทำให้พบมีการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและในแหล่งน้ำ

การเกิดพิษของสารเคมีสามารถเกิดได้กับเซลล์และสารพันธุกรรม genotoxicity คือ สภาวะการเกิดพิษต่อองค์ประกอบสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต สารพิษดังกล่าวจะเข้าไปทำอันตรายต่อสารพันธุกรรมภายในเซลล์และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม ส่วน cytotoxicity คือ สภาวะการเกิดพิษต่อองค์ประกอบของเซลล์ ได้แก่ เยื่อหุ้มเซลล์ และออร์แกเนลต่างๆ ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย ลิโซโซม เอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัม และนิวเคลียส ซึ่งทำหน้าที่ที่สำคัญในการดำรงชีวิต

วิธีทดสอบระยะสั้นในการตรวจสอบสารพันธุพิษ เป็นวิธีขั้นต้นในการตรวจหาความเป็นพิษเชิงพันธุกรรม การทดสอบที่นำมาใช้ได้แก่ การทดสอบความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซม (chromosome aberration assay), การทดสอบไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test), การทดสอบการแลกเปลี่ยนซิสเตอร์โครมาติด (sister chromatid exchanges test), single cell gel electrophoresis หรือ comet assay, gene mutation test

หลักการทดสอบความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซม

(World Health organization, 1985; อำนาจ มีเวที, 2534)

ความผิดปกติของโครโมโซมเกิดขึ้นเนื่องจากการขาดของสายดีเอ็นเอ ทำให้ DNA double helix ไม่ต่อกันตลอด ความผิดปกติเริ่มแรกอาจเป็น single หรือ double strand breaks, base damages, DNA-DNA หรือ DNA-protein crosslinks, alkylation ที่ bases หรือ phosphate groups เป็นต้น ความผิดปกติเหล่านี้อาจถูกซ่อมแก้ไขโดยขบวนการซ่อมแซมให้ปกติดั้งเดิม หรืออาจปรากฏในรูปความผิดปกติของยีน หรือความผิดปกติของโครโมโซม double strand breaks นั้น หากไม่สามารถซ่อมแซมได้จะปรากฏเป็นความผิดปกติบนโครโมโซม ส่วนความผิดปกติของสายดีเอ็นเอแบบอื่นนั้น จะปรากฏเป็นความผิดปกติที่ต่อเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโดย DNA replication หรือ repair processes เป็น double-strand break การทดสอบความผิดปกติของโครโมโซม นิยมตรวจสอบความผิดปกติเชิงโครงสร้างเป็นหลัก การทำให้เกิด double-strand breaks หรือความผิดปกติเชิงโครงสร้างนั้น ทำได้โดยใช้ ionizing radiation หรือสารเคมีบางชนิด เช่น mitomycin C cyclophosphamide และ bleomycin เป็นต้น การขาดของสายดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไม่สามารถซ่อมแซมได้ จะปรากฏให้ตรวจพบในระยะเมตาเฟส ซึ่งความผิดปกติที่พบอาจเป็น chromatid type หรือ chromosome type ขึ้นกับระยะของ cell cycle ที่เกิด double-strand break นั้น

วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) เป็นขบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ ที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงต่อเนื่อง แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ตามลำดับคือ G_1 , S, G_2 และ M เซลล์แต่ละชนิดจะใช้เวลาในแต่ละวัฏจักรเซลล์ต่างกันโดย G_1 จะใช้เวลาแตกต่างกันมากที่สุด ส่วนระยะ S, G_2 และ M เวลาค่อนข้างจะคงที่

G₁ (Gap phase I) เป็นช่วงที่เซลล์เตรียมจะสร้างสายดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น โดยเตรียมสิ่งต่างๆ เพื่อใช้ในการสร้างดีเอ็นเอ เป็นช่วงที่มีระยะเวลาแตกต่างกันระหว่างเซลล์ต่างชนิดกันโครโมโซมแต่ละตัวจะมีเพียงหนึ่งโครมาติด มีลักษณะเป็นเส้นโครมาติดยืดยาวอยู่ภายในนิวเคลียส

S (Synthetic phase) เป็นช่วงที่มีการสร้างดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นอีกเท่าหนึ่ง (DNA replication) เกิดเป็น 2 double helices ทำให้โครโมโซม แต่ละโครโมโซมมีสองโครมาติด

G₂ (Gap phase II) เป็นระยะที่เซลล์เตรียมพร้อมเพื่อเข้าสู่ระยะ mitosis เซลล์เตรียมพร้อมที่จะแบ่งตัว แต่รอดีเอ็นเอบางส่วนที่ยังไม่เรียบร้อย ในระยะนี้เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากการสร้าง RNA และ proteins เพิ่มขึ้น

M (mitosis phase) เป็นระยะที่ 4 ของ cell cycle เป็นระยะที่สั้นที่สุด mitosis เป็นปรากฏการณ์ที่ต่อเนื่อง แบ่งออกได้เป็น 5 ระยะได้แก่

Prophase เป็นระยะที่มีการหดตัวและแยกกันของโครโมโซม นิวคลีโอลัสเริ่มหายไป มี spindle fibers เกิดขึ้น centrioles เคลื่อนไปที่ขั้วของเซลล์ และให้เป็นที่ยึดของ spindle fibers ระยะนี้จะสามารถมองเห็นเส้นโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์

Prometaphase เซลล์เข้าสู่ระยะนี้เมื่อ nuclear membrane แตกออก และหายไป ทำให้โครโมโซมกระจายอยู่ในเซลล์ โดยยึดกับ spindle fiber ตรงตำแหน่งที่เรียกว่า kinetochore ซึ่งอยู่ทั้ง 2 ข้างของ centromere ของแต่ละโครโมโซม ระยะนี้โครโมโซมมีการหดตัวสั้นลงอีก

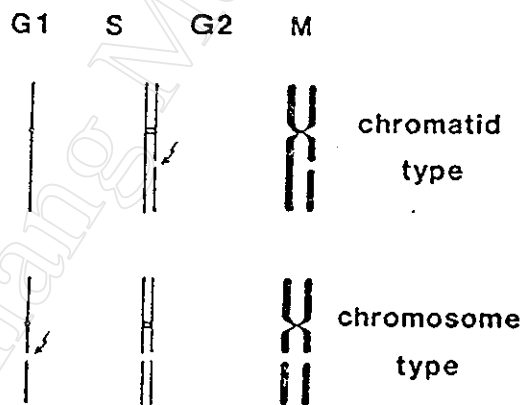
Metaphase ระยะนี้โครโมโซมจะหดสั้นลงอีก เห็นเป็น 2 โครมาติดชัดเจน ทั้งสองโครมาติดจะยึดกันตรงตำแหน่งที่เรียกว่า centromere โครโมโซมจะเคลื่อนไปอยู่ที่บริเวณกลางเซลล์ แต่ละโครโมโซมจะยึดกับ spindle fiber ตรงตำแหน่ง kinetochore

Anaphase เริ่มจากการแยกของโครมาติดจากแต่ละโครโมโซม ตรงตำแหน่ง centromere แล้วแต่ละโครมาติด จะเคลื่อนแยกจากกันไปแต่ละขั้วของเซลล์ ตรงตำแหน่งของ centriole

Telophase ระยะนี้เริ่มมีการคลายตัวของโครโมโซม และมี nuclear membrane เกิดขึ้นรอบๆ 2 daughter nuclei มีการคอดของผนังเซลล์ และมีการแบ่ง cytoplasm ที่เรียกว่า cytokinesis จนได้ 2 daughter cells และนิวเคลียสของเซลล์ลูกจะอยู่ในระยะ interphase ซึ่งโครโมโซม จะมีสายดีเอ็นเอที่เป็น double helix เพียง 1 double helix เป็นส่วนประกอบ หรือมีเพียงหนึ่งโครมาติด

เซลล์ที่กำลังแบ่งตัวอย่างต่อเนื่องโดยทั่วๆ ไปนั้น ระยะเวลา G_1 , S และ G_2 จะใช้เวลาประมาณ 16-24 ชั่วโมง และระยะ mitosis จะใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง ในเซลล์บางชนิดที่เจริญเปลี่ยนแปลงเต็มที่แล้วจะไม่แบ่งตัวต่อไปอีก จะหยุดที่ระยะที่เรียกว่า G_0 ซึ่งเป็นช่วงใดช่วงหนึ่งของระยะ G_1 เซลล์บางชนิดอาจเข้าสู่ระยะ G_0 สักระยะหนึ่ง แล้วค่อยกลับเข้าสู่ระยะ G_1 เมื่อต้องการจะแบ่งเซลล์ต่อไปอีก

ความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซม ถ้าเกิดในระยะ G_0 หรือ G_1 ความผิดปกติที่พบจะเป็นแบบ chromosome type และถ้าเกิดในระยะ S หรือ G_2 ความผิดปกติจะเป็นแบบ chromatid types



แผนภาพที่ 7 แสดงการเกิด chromatid type และ chromosome type aberrations

ความผิดปกติเชิงโครงสร้างแบบ chromosome - type aberration มีหลายแบบได้แก่

1. Chromosome gap (csg)

เป็นบริเวณที่ไม่ติดสับบนเส้นโครมาติดทั้งสองเส้น
ที่ตำแหน่งเดียวกัน บนแขนสั้นหรือแขนยาวของโครโมโซม



2. Chromosome breaks (csb)

เป็นส่วนของโครโมโซมที่ขาดแยกออกจากตัวโครโมโซม



3. Acentric fragment (ace)

เป็นส่วนของโครมาติดทั้งสองขาดออกมาจากตัวโครโมโซม
โดยไม่มี centromere ติดมาด้วย



4. Dicentric chromosome (dic)

เกิดเนื่องจากการแลกเปลี่ยนของโครมาติด 2 เส้น ในระยะ G_1
แล้วส่วนที่มี centromere มาต่อกัน ทำให้เกิดเป็นโครโมโซมที่มี
centromere 2 แห่ง



5. Ring chromosome (r)

เป็นโครโมโซมรูปวงแหวน เกิดจากการขาดที่ปลายทั้งสอง
ของเส้นโครมาติดในระยะ G_1 แล้วปลายทั้งสองมาเชื่อมต่อกัน
เป็นรูปวงแหวน



ความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมแบบ chromatid-type aberration มีหลายแบบได้แก่

1. Chromatid gap (ctg)

เป็นบริเวณที่ไม่ติดสับบนโครมาติด และมีความกว้างไม่เกิน
ขนาดของเส้นโครมาติด หรือเมื่อเกิดบริเวณที่ไม่ติดสับแล้ว
ไม่มีการเคลื่อนของโครมาติดออกจากกัน



2. Chromatid break (ctb)

เป็นบริเวณที่ขาดออกจากกัน แล้วมีการเคลื่อนของ
โครมาติดออกจากกัน



3. Chromatid deletion (ctd)

มีการขาดของโครมาติด แล้วหลุดแยกออกจากกัน
อาจเรียกว่า chromosome fragment



4. Chromatid exchange (cte)

4.1 Interchange (between chromosomes)

เกิดการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาติด ระหว่างโครโมโซมที่อยู่ชิดกัน



4.2 Intrachange (within chromosomes)

เป็นการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาติดที่เกิดขึ้นภายในโครโมโซมตัวเดียวกัน



การทดสอบโคเมทแอสเสย์ (comet assay หรือ single cell gel electrophoresis assay) (Fairbairn และคณะ, 1995; Ribas และคณะ, 1995; Maria และคณะ, 1996; Klaude และคณะ, 1996; Tuo และคณะ, 1996; Speit และคณะ, 1998)

หลักการทดสอบ single cell gel electrophoresis (comet assay)

Comet assay หรือ single cell gel electrophoresis (SCGE) assay เป็นการตรวจสอบ DNA strand breaks และ alkaline labile sites ในแต่ละเซลล์ ผู้ที่รายงานการใช้ comet assay คนแรกคือ Östling และ Johanson (1984) ทำใน neutral condition ต่อมา Singh และคณะ (1988) ได้ทำการปรับปรุงเปลี่ยนเป็นทำใน alkaline condition ซึ่งทำให้การทดสอบมีความไว (sensitivity) ขึ้น และมีการปรับปรุงพัฒนาเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

Comet assay มีประโยชน์นำมาใช้ในการตรวจสอบสารเคมีที่ทำให้ดีเอ็นเอขาดและแตก (DNA damage) เป็น screening test of mutagen and carcinogen ทำได้ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง นำมาใช้ตรวจติดตามสารในร่างกาย ตรวจสอบการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ข้อดีของ comet assay คือ เป็นการทดสอบที่ไม่ยุ่งยาก ทำได้รวดเร็ว มีความไวสูง ใช้ตัวอย่างเซลล์เพียงเล็กน้อย และทดสอบกับ eukaryotic cells ได้เกือบทุกชนิด (McCarthy และคณะ, 1997; Björn Hellman และคณะ, 1995; Fairbairn และคณะ, 1995)

หลักการทดสอบคือ เซลล์ที่ต้องการตรวจ จะถูกนำมาผสมกับวุ้น และ หยดลงบนสไลด์ผ้าเพื่อทำเป็น microgel หลังจากนั้นทำให้เซลล์แตกโดยใช้ detergent และ เกลือความเข้มข้นสูง เมื่อทำให้เซลล์แตกแล้ว จะทำให้สายดีเอ็นเอคลายเกลียวออก (DNA unwinding) โดยใช้สารละลายที่เป็นด่างแก่ นำ microgel ไปผ่านสนามไฟฟ้าที่มีสารละลายที่เป็นด่างเป็นตัวกลาง ดีเอ็นเอซึ่งมีประจุลบจะวิ่งไปหาขั้วบวก ดีเอ็นเอที่แตกออกมาซึ่งมีขนาดเล็กกว่าดีเอ็นเอส่วนใหญ่ จะวิ่งในสนามไฟฟ้าได้เร็วกว่า ใช้เวลาในการผ่านกระแสไฟฟ้านานพอควร นำมาย้อมด้วยสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ เช่น ethidium bromide, acridine orange หรือ propidium iodide เมื่อนำไปดูด้วยกล้องฟลูออเรสเซนต์ จะเห็นเซลล์ที่ดีเอ็นเอถูกทำลาย มีลักษณะคล้ายดาวหาง คือ ดีเอ็นเอสายสั้นๆจะวิ่งไปเร็วกว่า เห็นเป็นส่วนหางของเซลล์ ส่วนดีเอ็นเอส่วนใหญ่ของเซลล์จะวิ่งได้ช้ากว่า จะเห็นเป็นส่วนหัวของเซลล์ ด้วยลักษณะของเซลล์เช่นนี้จึงเรียกการทดสอบนี้ว่า comet assay โดยความยาวของเซลล์จะขึ้นอยู่กับการปริมาณดีเอ็นเอที่ถูกทำลายภายในเซลล์ ถ้าเซลล์ดีเอ็นเอถูก

ทำลายมากก็จะทำให้เซลล์นั้นมีหางยาวมาก เซลล์ที่ดีเอ็นเอไม่ถูกทำลายก็จะมีหาง (Fairbairn และคณะ, 1995)

การตรวจวิเคราะห์เซลล์ที่ได้จากการทำ comet assay โดยใช้กล้องฟลูออเรสเซนซ์ ที่มี excitation filter 515 nm barrier filter 590 nm ตรวจวิเคราะห์ได้ 4 วิธี (Speit G และคณะ, 1998)

1. นับจำนวนเซลล์ที่มีหาง (tail) และ เซลล์ที่ไม่มีหาง
2. ประเมินเซลล์เป็น 5 ระดับ ได้แก่ 0 1 2 3 4 โดย 0 คือ เซลล์ที่ไม่มีหาง และ 4 คือ เซลล์ที่มีหางยาวที่สุด ทำการประเมินทั้งหมด อย่างน้อย 50 เซลล์ แล้วทำการนับ score โดย score ได้จาก ระดับคูณด้วยจำนวนเซลล์ นำคะแนนแต่ละระดับมารวมกัน ประเมิน 50 เซลล์ คะแนนต่ำสุดคือ 0 คะแนนสูงสุดคือ 200
3. วัดความยาวของเซลล์โดยใช้ eyepiece micrometer วัดความยาวของเซลล์ตั้งแต่ หัวจรดหาง จะมีหน่วยความยาวเป็นไมโครเมตร วัดอย่างน้อย 50 เซลล์ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
4. ใช้เครื่อง image analyser ซึ่งเชื่อมต่อกับ CCD camera วัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนหัวดาวหาง (head diameter), ความยาวของหาง (tail length) และความเข้มของหาง (tail intensity), tail moment (DNA migration+ tail intensity) ซึ่งแต่ละ image analysis systems อาจใช้ parameter ที่แตกต่างกัน

McCarthy และคณะ (1997) ได้รายงานการประเมินวิธีการวัดขนาดของเซลล์ที่ได้จากการทำ comet assay โดยวิธี manual และ image analysis โดย McCarthy ได้ใช้ hydrogen peroxide ใส่ลงในเซลล์ 707 FEL ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 30 นาที เพื่อทำให้เกิด DNA damage แล้วนำมาทำการทดสอบตามขั้นตอนของ comet assay แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์โดยใช้กล้องฟลูออเรสเซนซ์ จำนวน 50 เซลล์ ใช้ image analyser วิเคราะห์ได้ % head DNA, %tail DNA, Tail length, tail length/head radius (L/H) และ tail moment วัดวิธี manual โดยการถ่ายภาพเซลล์แล้วนำมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนหัวของเซลล์ ความยาวตั้งแต่หัวจรดหาง และ comet area ผลปรากฏว่า ทั้งสองวิธีให้ผลที่ดี เชื่อถือได้และไม่แตกต่างกัน แต่วิธี manual มีข้อเสีย คือ การทำยุ่งยากและช้า เพราะต้องถ่ายรูปเซลล์ ขณะที่วิธี image analysis ทำได้รวดเร็วกว่า

การเป็นพิษต่อดีเอ็นเอและยีน (genotoxicity) ของยาฆ่าแมลง

มีรายงานเกี่ยวกับสารเคมีกำจัดแมลงที่เป็นพิษต่อยีน ดังนี้

ในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต Sunil Kumar และคณะ (1993) ได้ทดสอบความเป็นพิษต่อยีนของ methyl parathion ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง กับเซลล์ลิมโฟไซต์ของคน ที่สับบุทรีและดิมเฮลล่า โดยวิธี chromosome aberration assay พบว่ากลุ่มที่สับบุทรีเป็นประจำ และกลุ่มที่สับบุทรีและดิมเฮลล่าเป็นประจำ มี chromosome aberration แตกต่างกับกลุ่มที่ไม่สับบุทรีและดิมเฮลล่าเป็นประจำอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาของ Balaji และคณะ (1993) พบว่า malathion เป็นพิษต่อยีน (genotoxicity) โดยใช้วิธี chromosome aberration assay และ sister chromosome exchanges รวมทั้งค่า mitotic index ยังลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่การศึกษาของ Titenko และคณะ (1997) พบว่า malathion มี low potential ที่จะทำให้เกิด chromosome damage ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง การศึกษาของ Vijayaraghavan และ คณะ (1994) พบว่า methyl parathion และ Hinosan เป็นพิษต่อยีนและเซลล์ ทดสอบโดยวิธี chromosome aberration และ micronucleus test ในเซลล์ไขกระดูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดย methyl parathion เป็นพิษมากที่สุด สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตชนิดอื่นๆ ได้แก่ acephate, tafethion(ethion), dichlofos ก็มีความเป็นพิษต่อยีน ทดสอบโดยวิธี chromosome aberration และ micronucleus test (Jena และ Bhunya, 1994) แต่ก็มีสารกำจัดแมลงในกลุ่มนี้บางชนิดเช่น chlorpyrifos ที่ไม่มีผลต่อเซลล์และยีน โดยการทดสอบ Ames test, CHO/HGPRT assay, rat lymphocyte chromosomal aberration (RLCAT) และ mouse bone marrow micronucleus test (Gollapudi และคณะ, 1995)

ในกลุ่มคาร์บาเมต มีการศึกษา genotoxicity โดย Topaktas และคณะ (1993) พบว่า carbosulfan ทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้น เมื่อทดสอบโดยวิธี chromosome aberration กับเซลล์ลิมโฟไซต์ของคน และการศึกษาของ Bonatti และคณะ (1994) ได้ทดสอบ Lannate 25 ชื่อสามัญคือ methomyl พบว่ามีผลทำให้เกิด DNA damage โดยใช้วิธี alkaline elution assay, chromosome aberration assay และ micronucleus test แต่วิธี sister chromatid exchanges พบว่าไม่มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และต่อมาได้มีผู้ศึกษาเพิ่มมากขึ้น เช่น Amer และคณะ (1996) ศึกษาพบว่า Lannate ทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ทดสอบกับเซลล์ม้ามของหนู mouse นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาสารเคมีกำจัดแมลงชนิดอื่นคือ DDT, malathion, Dursban และ Sevin พบว่าสารเคมีกำจัดแมลงที่กล่าวมาทุกชนิดเป็นพิษต่อเซลล์ของม้ามหนู mouse Wei และคณะ (1997)

ได้ทดสอบสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต คือ propoxur, methomyl และ aldicarb พบว่าสารทั้ง 3 ชนิด ทำให้เกิด micronucleated binucleate cells เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบกับเซลล์ Chinese hamster ovary (CHO cells) ซึ่งเป็นการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro) และยังทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ micronucleated reticulocytes(MNRETS) ใน peripheral blood ของหนู mouse อย่างมีนัยสำคัญ สารเคมีกำจัดแมลงทั้ง 3 ชนิด สามารถทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมทั้งจำนวนและโครงสร้างในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทั้งในสัตว์ทดลองและหลอดทดลอง

นอกจากการศึกษา genotoxicity ของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตแล้ว ยังมีการศึกษา genotoxicity สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid)ดังนี้ permethrin ศึกษาโดย Barrueco และคณะ (1992) พบว่า permethrin ทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซม และ micronucleus เพิ่มขึ้น เมื่อทดสอบกับ human peripheral blood แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบด้วยวิธี sister chromatid exchanges Institoris และคณะ (1999) รายงานว่า permethrin มีพิษต่อยีน โดยใช้วิธี chromosome aberration ในเซลล์ไขกระดูกของ Wistar rats แต่การศึกษาของ Surrall และคณะ (1999) พบว่า permethrin ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อทดสอบในหลอดทดลอง

การศึกษานี้พบว่า supermethrin, deltamethrin, fenpropathrin มีพิษต่อยีนเล็กน้อย Surrall และคณะ (1995) รายงานว่า supermethrin, fenvalerate ไม่เป็นพิษต่อยีน สรุปว่าสารเคมีกลุ่ม pyrethroids มีความเป็นพิษต่อเซลล์ มากกว่า ความเป็นพิษต่อยีน และโครโมโซม

ได้มีรายงานการนำ comet assay มาใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อยีนของสารเคมีกำจัดวัชพืชและสารเคมีกำจัดแมลง(insecticides) เช่น Duranti และคณะ (1998) ได้ทดสอบความเป็นพิษต่อยีนและเซลล์ โดยใช้วิธี colony forming ability (CFA) และ growth indices ในการทดสอบ cytotoxicity ใช้ comet assay และ chromosome aberration assay ในการทดสอบ genotoxicity พบว่าสารกำจัดวัชพืชได้แก่ Lasso, Mixomix และ Tramet เป็นพิษต่อยีนและเซลล์ CHO cells และ CHEL cells แต่ Cyrtoxin ไม่เป็นพิษต่อยีนและเซลล์ Vigreux และคณะ (1998) พบว่า isoproturon ไม่เป็นพิษต่อดีเอ็นเอ ทดสอบด้วย comet assay และ chromosome aberration assay Speit และคณะ(1998) พบว่า paraquat ทดสอบกับเซลล์ V79 Chinese Hamster cells ทำให้เกิดพิษต่อยีน และมีความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้น แต่ไม่ทำให้เกิด gene mutation ที่ HPRT locus หรือ DNA damage โดยวิธี comet assay Clement และคณะ (1997) ใช้วิธี SCGE ทดสอบสารเคมีกำจัดวัชพืช (herbicides) กับ Rana catesbeiana

tadpoles พบว่า AAtrex Nine-O (atrazine), Dual-960E (metachlor), Round up (glyphosate), Sencor-500 F (metribuzine) ทำให้เกิด DNA damage เพิ่มขึ้น แต่ Amsol (2,4-D amine) ไม่ทำให้เกิด DNA damage Pool-Zobel และคณะ (1993) ได้ใช้วิธี HPRT mutation, micronucleus test และ sister chromatid exchanges ทดสอบ lindane ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ทดสอบทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง ไม่พบว่าทำให้เกิดพิษต่อยีน แต่เมื่อนำเซลล์ที่เป็น target organ ของ lindane ได้แก่ gastric และ nasal mucosa มาทดสอบด้วยวิธี comet assay พบว่า lindane เป็นสารที่มีพิษต่อยีน Villaria และคณะ (1998) ศึกษา deltamethrin ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ ซึ่งใช้กันมากในการทำเกษตรกรรมในประเทศไทย ยังเป็นที่ถกเถียงกันว่ามีอันตรายต่อยีนและเป็น carcinogen หรือไม่ Villaria ยังได้ทำการทดสอบด้วยวิธี comet assay, sister chromatid exchanges และ micronucleus ในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ โดยใช้ S9 mix ซึ่งเป็น external bioactive ผลปรากฏว่า deltamethrin เป็น genotoxin เมื่อทดสอบด้วย comet assay ที่ใส่ S9 mix แต่ไม่มีผลต่อจำนวน micronucleus และ sister chromatid exchanges ทั้งที่ใส่และไม่ใส่ S9 mix

Blasiak และคณะ(1999) ได้ใช้ isolated human lymphocyte มาทดสอบกับ malathion และอนุพันธ์ ของ malathion ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของ commercial preparation of parathion พบว่า malathion ไม่ทำให้ดีเอ็นเอถูกทำลาย แต่ malaoxon และ isomalathion ทำให้มีการขาดของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า malathion ที่ใช้เป็น commercial product ที่มี malaoxon และ isomalathion เป็นองค์ประกอบ ทำให้เกิด DNA damage ได้ในหลอดทดลอง

สำหรับสารกำจัดแมลง แลนเนท-แอล ทามารอน 600 เอสแอล และ ฟุราดาน 3%จี ซึ่งใช้มากในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานการทดสอบความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม จึงน่าจะได้มีการทดสอบ เพื่อนำผลการทดสอบไปใช้ในการประเมินความเสี่ยง การป้องกันอันตราย ตลอดจนเฝ้าระวัง หรือการแนะนำการใช้สารเหล่านี้แก่เกษตรกรต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้กันมากทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ แลนเนท แอล ทามารอน 600 เอสแอล และ ฟุราดาน 3% จี โดยวิธี single cell gel electrophoresis (comet assay) และ chromosome aberration assay
2. เพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบ ระหว่าง single cell gel electrophoresis assay (comet assay) กับ chromosome aberration assay