

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ตับ เป็นอวัยวะที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์เนื่องจาก ตับมีหน้าที่การทำงานที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการควบคุมการสังเคราะห์ และสะสมสารอาหารต่าง ๆ การควบคุมภาวะสมดุลของขบวนการแข็งตัวของเลือดตลอดจนการเปลี่ยนแปลงและจัดสารแปลกปลอมทั้งจากภายในและภายนอกร่างกาย ซึ่งนับว่าเป็นคุณสมบัติที่มีความสามารถเหนือกว่าเนื้อเยื่ออื่นมาก ดังนั้น ในภาวะใดก็ตามที่ทำให้ตับเสียหายมีภาวะบกพร่องหน้าที่ อาจส่งผลกระทบต่อขบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายทั้งระบบ อันจะทำให้สูญเสียความปกติสุขในการดำรงชีวิตของบุคคลผู้นั้นไปได้

มีปัจจัยมากมายที่ส่งผลกระทบทำให้ตับเสียหาย ไม่ว่าจะเป็น เชื้อโรค เช่น ไวรัส หรือ หนองพยาธิ เป็นต้น นอกจากเชื้อโรคต่าง ๆ แล้ว สารเคมี ก็นับว่า เป็นปัจจัยที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อตับ (Dossing และ Skinhoj, 1985; Whitby, 1986; MacFarland, 1986) เนื่องจาก ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายอันดับแรกที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงสารแปลกปลอมเหล่านี้ (Timbrell, 1986; Hodgson และ Guthrie, 1987; Plaa, 1992) และมนุษย์เกือบทุกคนมีโอกาที่จะได้สัมผัสกับสารเคมีซึ่งมีอยู่มากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มคนงานที่ทำงานอยู่ในโรงงานอุตสาหกรรม จะมีโอกาสเสี่ยงสูงต่อการได้รับสารเคมีในระดับที่ทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพ หรือต่อชีวิตได้ แม้ว่าจะมีคนงานเพียงบางส่วนที่มีโอกาสได้รับสารเคมีในขนาดสูงเป็นบางช่วงเวลาเท่านั้น แต่ก็มีคนงานจำนวนมากมีโอกาที่จะได้รับสารเคมีหลายชนิดร่วมกันในขนาดต่ำอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ซึ่งจะส่งผลทำให้มีภาวะตับเสียหายเกิดขึ้นได้ ถ้าความเสียหายของเนื้อเยื่อตับอยู่ในระดับรุนแรงน้อยถึงปานกลาง เซลล์ตับก็อาจฟื้นกลับสู่สภาพปกติได้ แต่ถ้าความเสียหายถึงขั้นรุนแรงมาก เซลล์ตับถูกทำลายจำนวนมาก เกิดภาวะการทำงานล้มเหลวจะมีผลทำให้ระบบอื่น ๆ ของร่างกายเกิดภาวะล้มเหลวตามไปด้วย ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้ นอกจากนี้ภาวะการทำลายเนื้อเยื่อตับแบบเรื้อรัง อาจมีผลตามมา ทำให้เกิดการปรับตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในตับ ชักนำให้เกิดขบวนการสร้างเยื่อพังผืด (fibrotic process)

ซึ่งนำไปสู่ภาวะตับแข็ง (cirrhosis) และสุดท้าย การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับแบบเรื้อรัง อาจนำไปสู่การเป็นมะเร็งตับอีกด้วย (Cullen และ Ruebner, 1991; Plaa, 1992)

สารตัวทำลายอินทรีย์ เป็นสารเคมีกลุ่มหนึ่งที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะ ในกลุ่มที่เข้ากับฮาโลคาร์บอน หรือฮาโลเจนอื่น ๆ (halogenated hydrocarbon organic solvents) เนื่องจาก สารเหล่านี้มีความสามารถในการทำลายได้สูง และมีความคงตัวที่ดี (Commission of the European Communities, 1986) ในอดีต เคยนิยมใช้ carbon tetrachloride และ chloroform กันมาก แต่ต่อมาพบว่า สารทั้งสองชนิดนี้ ทำให้เกิดพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง ไต และโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ทำให้เกิดพิษต่อตับค่อนข้างสูงมาก เมื่อเทียบกับสารในกลุ่มเดียวกัน (Plaa *et al.*, 1958; Klaassen และ Plaa, 1966, 1969; Lundberg *et al.*, 1986; Berger และ Sozeri, 1987)

ดังนั้น ในปัจจุบันจึงเปลี่ยนมาใช้สารตัวทำลายอินทรีย์ตัวอื่นซึ่งมีพิษต่ำกว่าทดแทน เช่น 1,1,1 - trichloroethane (TRI), trichloroethylene (TCY) และ tetrachloroethylene เป็นต้น สารเหล่านี้ได้รับความนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยมีใช้ในหลายรูปแบบ เช่น ใช้เป็นส่วนประกอบของขบวนการชักแห้ง สเปรย์ต่าง ๆ หรือนำมาใช้ในขบวนการทำความสะอาดคราบไขมันในโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น (Mercier, 1979; Commission of the European Communities, 1986) อย่างไรก็ตาม ได้มีรายงานการศึกษาในสัตว์ทดลองต่อมา พบว่า เมื่อหนูขาวได้รับ TRI โดยทางการหายใจ ในขนาด 1500 ppm เป็นเวลาต่อเนื่อง 6 เดือนขึ้นไป ทำให้พบ accentuation ของ normal hepatic lobular pattern โดยที่เซลล์ตับบริเวณรอบ central vein มีการเปลี่ยนแปลงการติดสีย้อม ในขณะที่เซลล์ตับบริเวณ portal มีขนาดเล็กลง (Quast *et al.*, 1988) ในขณะที่หนูได้รับ TCY โดยทางปากและทางการฉีด จะพบความเปลี่ยนแปลง โดยน้ำหนักตับเพิ่มขึ้น เกิด fatty liver, swollen hepatocyte และร่องรอยของ central lobular necrosis (Buben and O' Flaherty, 1985; Okino *et al.*, 1991) ซึ่งได้แนะนำว่าผลที่เกิดขึ้น อาจเกิดเนื่องจากสารเมแทบอลิต์ของ TCY

การศึกษาในมนุษย์ มีรายงานถึง คนงานที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรม และได้สัมผัสสุดมสารตัวทำลายหลายชนิด ในกรณีของสารตัวทำลายหลายชนิดนั้นมีรายงานพบความเปลี่ยนแปลงกับประสาทสัมผัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งประสาทส่วนปลายเกี่ยวกับการรับรู้สีกและความผิดปกติของคลื่นสมอง และ visual evoked responses เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Elofsson *et al.*, 1980) ในส่วนของตับพบว่า คนงานทาสีมีเอนไซม์ Transaminase สูง

ร่วมกับภาวะ reactive hepatitis และ fatty liver (Sotaniemi *et al.*, 1982) รายงานคนไข้ที่ได้รับ TRI และ TCY ชั่วซาก พบว่าเกิดภาวะตับแข็ง cirrhosis (Thiele *et al.*, 1982) ในรายงานคนไข้ที่อาการรุนแรงน้อยกว่า พบว่า มีภาวะ hepatitis ที่ได้รับการยืนยันว่า ไม่ได้เกิดจากไวรัส ซึ่งพบว่ามี centrilobular necrosis และทุกรายมี fatty change (Hodgson *et al.*, 1989) นอกจากนี้คนงานจำนวนมาก พบว่ามีความผิดปกติที่ไม่แสดงอาการปรากฏ (subclinical) โดยที่จะพบความผิดปกติของเมแทบอลิซึมของไขมันเป็นสำคัญ และผลดังกล่าวจะกลับคืนปกติเมื่อหยุดการได้รับสาร (Nagaya *et al.*, 1993) ความผิดปกติในคนงานนี้ บางครั้งเกิดขึ้นกับคนงานที่ได้รับในขนาดที่ใกล้เคียงกับระดับที่กำหนดว่าปลอดภัย (threshold limit values) จึงเป็นไปได้ที่มีปัจจัยอื่นร่วมทำให้เกิดพิษเสริมกับสารตัวทำลายจากรายงานข้างต้น (รายละเอียดเพิ่มเติมในบทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง) ทำให้ตระหนักว่าสารเคมีที่เข้าใจว่าปลอดภัยนั้น ยังต้องทำการศึกษาต่อไปอีกว่า จะมีผลหรือพิษต่อร่างกายอย่างไรและจะมีวิธีการตรวจกรองให้ทราบการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ระยะแรกเริ่มได้โดยวิธีการใด

การตรวจการทำงานของตับในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่จะใช้วิธีวัดระดับเอนไซม์ตับที่เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด เช่น เอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) และ aspartate aminotransferase (AST) ซึ่งจะบ่งบอกถึง ภาวะการรั่วของเซลล์เมมเบรนของเซลล์ตับ ในภาวะนี้เซลล์ตับจะถูกทำลาย (necrosis) หรือมีอาการตับอักเสบ (hepatitis) เกิดขึ้น โดยพบว่า ทั้ง เอนไซม์ ALT และ AST จะมีความไวสูง ในการวัดภาวะความผิดปกติของตับในระยะเฉียบพลัน ส่วนระดับเอนไซม์ alkaline phosphatase (ALP), gamma - glutamyl transpeptidase (GGT) และ total bilirubin (TBIL) จะมีความไวต่ำกว่า แต่ระดับมักเปลี่ยนแปลงหลังจากภาวะเฉียบพลันนั้น หรือในภาวะเรื้อรัง เช่น ภาวะ cholestasis หรือ พิษสุราเรื้อรัง (Reichling และ Kaplan, 1988; Cornelius, 1991; Hurtuk และ Krefetz, 1992) นอกจากนี้ อาจตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ควบคู่กันไปด้วย ซึ่งวิธีตรวจการทำงานของตับดังกล่าว ส่วนใหญ่ จะบ่งบอกภาวะผิดปกติเมื่อเซลล์ตับถูกทำลาย หรือ ตับมีความผิดปกติเกิดขึ้นอย่างเด่นชัดแล้ว และในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการวิเคราะห์หน้าที่ตับทางเลือดชนิดใดที่มีความสมบูรณ์แบบที่สุด (Editorial, 1982)

Lundberg และ Hakansson (1985) ได้ทำการตรวจวัดระดับเอนไซม์ตับ ได้แก่ ALT, AST, GGT และ ornithine carbamyl transferase ในคนงานที่ทำงานในโรงงานหาสี พบว่า ระดับเอนไซม์ตับที่วัดได้ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และแม้ว่าในกลุ่มคนงานที่สัมผัส

สารเคมีสูงกว่าค่า TLV (Threshold limit values) ถึง 5 เท่า ก็ตรวจพบว่า ระดับเอนไซม์ตับยังคงอยู่ในช่วงค่าปกติ ซึ่ง Fischbein (1983) ได้ให้ความคิดเห็นว่า วิธีการตรวจหน้าที่ตับในปัจจุบัน ยังมีความไวน้อยในการที่จะวิเคราะห์ภาวะโรคตับในระยะเริ่มแรก ถึงแม้ว่าระดับเอนไซม์ที่วัดได้จะอยู่ในช่วงปกติ ผู้ป่วยก็อาจจะมีภาวะบกพร่องของหน้าที่ตับโดยที่ยังไม่แสดงอาการของโรคก็เป็นได้ ต่อมาได้มีผู้ทำการศึกษาวิจัยหลายท่านได้รายงานไว้ว่า เมื่อตับเริ่มมีภาวะผิดปกติ จะตรวจพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของระดับกรดน้ำดีในกระแสเลือด โดยจะสามารถตรวจพบการเพิ่มขึ้นของระดับกรดน้ำดี ก่อนที่จะตรวจพบเอนไซม์ตับตัวอื่นที่เคยใช้เป็นตัวชี้วัดเดิม ซึ่งมีรายงานทั้งในการศึกษาในมนุษย์ และในสัตว์ทดลอง (Edling และ Tagesson, 1984; Johnson et al., 1985; Franco et al., 1986) การศึกษา in vitro โดย Kukongviriyapan และคณะ (1990) พบว่า สารตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ 1,1,1-trichloroethane หรือ tetrachloroethylene ในขนาดที่ไม่ทำลายเซลล์ตับ จะมีผลไปรบกวนการขนส่งสารหลายชนิดเข้าสู่เซลล์ตับ รวมถึงกรดน้ำดี taurocholate นอกจากการศึกษา in vitro แล้ว Wang และ Stacey (1990) ได้ทำการศึกษา in vivo ในหนูขาว ก็พบว่า trichloroethylene ซึ่งเป็นสารตัวทำละลายในกลุ่มเดียวกัน หรือ α -naphthylisothiocyanate ในขนาดที่ไม่ทำลายเซลล์ตับ ก็จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับกรดน้ำดีในกระแสเลือด ในขณะที่สารขนาดสูงเท่า นั้นทำให้ระดับเอนไซม์ ALT เพิ่มขึ้น และเมื่อไม่นานมานี้ Bai และคณะ (1992) ได้รายงานถึงการวัดระดับกรดน้ำดีในเลือดว่า มีความไวสูงในการบ่งชี้ถึง ภาวะตับเสียหายจากการได้รับ carbon tetrachloride หรือ chloroform

ดังนั้น เมื่อเราทราบว่า ตัวชี้วัดเดิมสามารถวิเคราะห์หน้าที่ของตับในขั้นที่เสียหายในระยะเริ่มแรกได้ค่อนข้างน้อย และไม่ค่อยจำเพาะเจาะจง ซึ่งอาจจะทำให้สายเกินไปในการแก้ไข หรือป้องกันภาวะตับบกพร่องหน้าที่ โดยเฉพาะเกิดจากการได้รับสารเคมี จึงเป็นที่น่าสนใจว่าการวัดระดับกรดน้ำดีที่เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดใหม่ ถึงภาวะบกพร่องหน้าที่ของตับในระยะเริ่มแรกจากการได้รับสารเคมีได้หรือไม่ โดยการศึกษาครั้งนี้ ทำการทดลองในหนูขาว และ เลือกใช้สารตัวทำละลายอินทรีย์ในกลุ่มที่เข้ากันได้กับธาตุคลอรีน ได้แก่ 1,1,1-trichloroethane และ trichloroethylene เป็นตัวแทนของสารเคมี การศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยมีความประสงค์ต้องการพิสูจน์ว่า การเพิ่มขึ้นของระดับกรดน้ำดี เมื่อได้รับสารตัวทำละลายอินทรีย์จะเป็นเครื่องชี้ถึงการทำงานผิดปกติของตับหรือไม่ โดยหน้าที่ของตับที่ทำการศึกษาในที่นี้ คือการลำเลียงสารภายในตับ และการขับถ่ายสารทางน้ำดี เนื่องจาก นอกจากตับจะมีหน้าที่สำคัญในการลำเลียงกรดน้ำดีแล้ว ตับยังทำหน้าที่ในการลำเลียงสารอื่นอีกจำนวนมาก

(Klaassen และ Watkins, 1984) ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการวิเคราะห์หน้าที่การลำเลียงสาร โดยใช้สารตัวแทน (model substrate) คือ sulfobromophthalein (BSP) และ indocyanine green (ICG) เนื่องจาก สารทั้งสองมีคุณสมบัติจำเพาะในการถูกขนส่งขับถ่าย โดยตับเกือบทั้งหมด (Plaa และ Hewitt, 1989; Cornelius, 1991) โดยทั่วไปแล้ว ในปัจจุบัน การวัดค่า BSP หรือ ICG clearance จะนำมาเป็นเครื่องชี้วัดถึงภาวะผิดปกติของหน้าที่ตับ ทั้งในสัตว์ทดลอง และในมนุษย์ (Gottlieb *et al.*, 1984; Plaa และ Hewitt, 1989; Cornelius, 1991; Kraft *et al.*, 1991) เช่น การใช้ BSP ในการบ่งชี้ ภาวะ hepatobiliary disorders, ภาวะผิดปกติของโรคตับ จากความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น Gilbert's syndrome (Gentile *et al.*, 1990) เป็นต้น ส่วน ค่า ICG clearance ส่วนใหญ่นำมาใช้ในการบ่งชี้ภาวะบกพร่องหน้าที่ของตับเช่น การวัด hepatic blood flow และ จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่า เมื่อสัตว์ทดลองได้รับ สารตัวทำลายอินทรีย์ ได้แก่ carbon tetrachloride จะทำให้ค่า BSP หรือ ICG clearance ลดลง (Priestly และ plaa, 1970; Shibata และ Odani, 1991) ในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากจะทำการวัดค่า clearance ของสารทั้งสองแล้ว เรายังทำการศึกษาในรายละเอียดถึงค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ ค่าคงที่ของการลำเลียงสารในแต่ละขั้นตอนโดยตับอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ต้องการศึกษาเปรียบเทียบว่า การวัดระดับกรดน้ำดีปฐมภูมิในพลาสมา จะมีความไวเหนือกว่าตัวชี้วัดเดิม (ALT, AST, ALP, GGT และ TBIL) ที่นิยมใช้ในปฏิบัติการทั่วไปหรือไม่ ในสัตว์ทดลองที่มีภาวะตับบกพร่องหน้าที่จากการได้รับสารตัวทำลายอินทรีย์
2. ต้องการศึกษาว่า ในขนาดที่สารตัวทำลายอินทรีย์เปลี่ยนแปลงระดับกรดน้ำดีในพลาสมา จะมีผลต่อการขนส่งขับถ่ายสารหรือไม่ โดยใช้ sulfobromophthalein (BSP) และ indocyanine green (ICG) เป็นสารตัวแทนในการศึกษาครั้งนี้
3. ต้องการศึกษาว่า สารตัวทำลายอินทรีย์ในขนาดที่ไม่ทำลายเซลล์ตับ จะมีผลต่อการไหลของน้ำดี ตลอดจนการขับถ่าย BSP และ ICG ทางน้ำดีหรือไม่

1.3 ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย

1. การศึกษาครั้งนี้ ไม่สามารถทำการทดลองในมนุษย์ได้ จึงทำการศึกษาในสัตว์ทดลองแทน ซึ่งจะทำให้การเปรียบเทียบกับมนุษย์โดยตรงไม่ได้

2. รูปแบบที่ให้สารเคมีแก่สัตว์ทดลอง มีความแตกต่างจากสภาพความเป็นจริงที่มนุษย์มีโอกาสเสี่ยงสูงในการได้รับ เนื่องจาก ห้องทดลองที่ทำการศึกษา ไม่มีอุปกรณ์ที่เอื้ออำนวยต่อการที่จะให้สารเคมีแบบสูดดม (inhalation chamber) แก่สัตว์ทดลอง ตลอดจนมีข้อจำกัดในเรื่องระยะเวลาในการทำการศึกษา

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1. การวัดระดับกรดน้ำดีปรัมมูมิในพลาสมา จะสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดที่จำเพาะ และมีความไวในการวัดภาวะบกพร่องหน้าที่ของตับ จากการได้รับสารเคมีตัวทำลายอินทรีย์ในระยะเริ่มแรกได้ดีกว่าตัวชี้วัดเดิมคือ การวัดระดับเอนไซม์ ALT, AST, ALP, GGT และระดับ TBIL

2. สารเคมีตัวทำลายอินทรีย์อาจจะมีผลไปรบกวนหน้าที่ในการขนส่งขับถ่ายสารโดยตับ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาทดลองในสัตว์ทดลอง และคาดว่า ความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นพื้นฐานของการนำมาสู่การศึกษาเปรียบเทียบในมนุษย์ โดยคาดว่า จะได้รับประโยชน์ดังนี้

1. สามารถใช้ระดับกรดน้ำดี เป็นตัวชี้วัดที่มีความจำเพาะ ต่อภาวะบกพร่องหน้าที่ตับที่เกิดจากการชักนำโดยสารเคมีตัวทำลายอินทรีย์

2. สามารถใช้ระดับกรดน้ำดี เป็นตัวชี้วัดภาวะบกพร่องหน้าที่ตับที่มีความไวสูง

3. ทำให้ทราบถึง ผลของสารตัวทำลายอินทรีย์ที่มีต่อกระบวนการลำเลียงสารบางชนิดในตับ

4. ทำให้ทราบขนาดของสารตัวทำลายอินทรีย์ในกลุ่มที่เข้ากับธาตุคลอรีนทั้ง 2 ชนิด ที่ทำให้เริ่มมีความผิดปกติของหน้าที่ตับเกิดขึ้น

5. เป็นพื้นฐานของการศึกษาในเรื่องที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารที่ต้องลำเลียงเข้าสู่ตับเพื่อเปลี่ยนแปลงหรือขับถ่าย เนื่องจาก การได้รับสารตัวทำลายอาจมีผลต่อขบวนการดังกล่าวได้