สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 5
วิจารณ์และสรุป

เมสทาโนโลน (mestanolone) เป็นสารสเตอรอยด์สังเคราะห์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นฮอร์โมนเพศผู้ (androgenic effect) ที่มีประสิทธิภาพ แม้ว่าวัตถุประสงค์ที่ถูกนำมาใช้ในตอนแรกจะเป็นไปสำหรับเพื่อการรักษาผู้ป่วยเพศชายที่มีความบกพร่องของระดับฮอร์โมนเพศชาย แต่เนื่องจากคุณสมบัติในด้าน anabolic effect ที่สามารถสร้างกล้ามเนื้อได้สูง จึงทำให้เมสทาโนโลนได้รับความนิยมในการเสริมสร้างกล้ามเนื้อ เช่น ใช้กับนักกีฬา และม้าแข่ง (Bi and Massé, 1992; Yamada *et al.,* 2008) นอกจากนั้นยังถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตปลานิลเพื่อเหนี่ยวนำให้ลูกปลานิลไม่มีความสมบูรณ์พันธุ์ของเพศเมีย เกษตรกรจึงสามารถเลี้ยงปลานิลเพศเดียว คือเป็นปลาเพศผู้ทั้งหมด ทำให้สะดวกต่อการจัดการ ได้อัตราการแลกเนื้อที่สูง ทำให้คุ้มต้นทุนในการผลิต มีรายงานของ Soto ในปี 1992 ได้กล่าวถึงการศึกษาการนำเมสทาโนโลนมาใช้ในการเหนี่ยวนำเพศในปลานิลของโดยใช้เมสทาโนโลนขนาด 5, 10 และ 20 mg/kg อาหาร ผลคือได้เพศผู้เท่ากับ 99.5, 97.0 และ 99.0 % ตามลำดับ

จากการศึกษาคุณลักษณะของตัวอย่างวัตถุดิบเมสทาโนโลน โดยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การศึกษาลักษณะทางภายภาพภายนอก การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีอินฟาเรดสเปกโทรสโกปี การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำด้วยวิธี Karl Fischer Titration การวิเคราะห์หาจุดหลอมเหลวด้วยวิธี Differential scanning calorimetry และการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทุกกระบวนการได้ทำการศึกษาโดยอ้างอิงตามวิธีการของ The United States Pharmacopiea (2009) นั้นพบว่าตัวอย่างวัตถุดิบเมสทาโนโลนมีทั้งคุณลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเช่นเดียวกันกับสารมาตรฐานเมสทาโนโลน (100.00 % on dried basis) จึงเป็นการยืนยันคุณภาพว่าตัวอย่างวัตถุดิบเมสทาโนโลนมีมาตรฐานก่อนนำมาใช้งานจริง

แม้การนำฮอร์โมนมาใช้ในการเหนี่ยวนำให้ปลานิลเจริญพันธุ์เป็นเพศผู้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและคุ้มทุนในการผลิต แต่มีรายงานปัญหาทางสุขภาพในคนซึ่งเป็นผลข้างเคียงจากการได้รับฮอร์โมนเพศผู้ในขนาดที่สูงมีผลกดการหลั่งโกนาโดรโทรฟิน (gonadotropin) จากต่อมใต้สมอง (pituitary gland) ทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับไปยับยั้ง (negative feedback) การทำงานของต่อมผลิตฮอร์โมนเพศผู้ (androgenic gland) ส่งผลให้ความเข้มข้นของการผลิตสเปิร์มลดลงและมีขนาดของอัณฑะเล็กลงประมาณ 30 %ในเพศชาย (Rolf and Nieschlag, 1998) สำหรับในรายที่ได้รับฮอร์โมนติดต่อกันเป็นระยะเวลานานพบภาวะการเกิดลูกวิรูป ความเป็นพิษต่อตับ โดยมีระดับของเอนไซม์ตับเพิ่มสูงขึ้น มีการคั่งของถุงน้ำดี (cholestasis) (Rolf and Nieschlag, 1998) และอาจพบการเกิดมะเร็ง (Waltner-Toews and McEwen, 1994; Abdelhamid *et al.*, 2009)

การตรวจเมสทาโนโลนมีหลายวิธีการ เช่น Radioimmunoassay (RIA) มีการศึกษาโดยนำวิธีนี้มาใช้ในการตรวจวัดระดับฮอร์โมนในเลือดของคน (Wang *et al.*, 1998) ในปัจจุบันวิธีการตรวจเมสทาโนโลนด้วยเทคนิคทาง chromatography นั้นเป็นที่นิยมแพร่หลายมากกว่า เนื่องจากมีความแม่นยำ (sensitivity) และ

จำเพาะสูง (specificity) ดังรายงานการตรวจหาและวัดระดับฮอร์โมนชนิดนี้ด้วยวิธี Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS)ในการศึกษาหาฮอร์โมนจากเนื้อเยื่อต่อมลูกหมากในคน (Higashi *et al.,* 2005) นอกจากนั้นยังมีการนำเทคนิค Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) มาใช้ในการตรวจ anabolic hormone ในปัสสาวะของคน (Bi and Massé, 1992) ในปัสสาวะของม้าแข่ง (Yamada *et al.,* 2007; Yamada *et al.,* 2008) และในปัสสาวะของเกรย์ฮาวนด์ (Biddle *et al.*, 2009) เป็นต้น

สำหรับการในศึกษานี้ใช้วิธี liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS) ในการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเมสทาโนโลนในตัวอย่างลูกปลานิลและเนื้อปลานิล โดยมีการตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (system suitability test) พบว่า ค่าสมมาตรของพีค (tailing factor) มีค่าน้อยกว่า 2 ความสามารถในการแยกสารแต่ละชนิดออกจากกัน (resolution) มีค่ามากกว่า 2 และความเที่ยงตรงในการฉีดแต่ละครั้ง (precision) มีค่า % CV น้อยกว่า 15 สำหรับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เมสทาโนโลนตกค้างในเนื้อเยื่อปลานิลในหัวข้อ ความถูกต้อง (accuracy) ความเที่ยงตรง (precision) ความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงความเข้มข้น (range) ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า วิธีวิเคราะห์ที่ใช้มีความถูกต้องในช่วงความเข้มข้นของเมสทาโนโลนประมาณ 0.5-10 ng/g มี % recovery อยู่ในช่วง 82.30-112.44 % และมีค่า % CV น้อยกว่า 15 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ เนื่องจากอยู่ในช่วงของ 60.0-120.0 % และ % CV มีค่าไม่เกิน 30 โดยค่าความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับค่าตอบสนองเป็นเส้นตรงที่มีค่า r^2 มากกว่า 0.99 วิธีวิเคราะห์มีค่า limit of quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.5 ng/g แสดงว่า วิธีวิเคราะห์สารตกค้างเมสทาโนโลนในเนื้อปลานิลที่พัฒนาขึ้น มีความถูกต้อง แม่นยำ มีความเหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนเมสทาโนโลนที่ตกค้างในตัวอย่างปลานิล

จากผลการตรวจสอบเนื้อเยื่อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนเมสทาโนโลนขนาด 80 mg/ kg อาหาร กินติดต่อกันเป็นเวลา 23 วันใช้ปริมาณเมสทาโนโลนเป็นตัวชี้วัดปริมาณสารตกค้าง ด้วยวิธีวิเคราะห์ LC-MS ที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง ซึ่งสามารถตรวจสอบปริมาณของเมสทาโนโลนที่น้อยที่สุดได้อย่างถูกต้อง คือ 0.5 ppb ผลการวิเคราะห์แสดงว่า ปริมาณของสารตกค้างฮอร์โมนในเนื้อเยื่อปลานิลมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนเมสทาโนโลนที่ปลานิลกินจากอาหารโดยเมื่อหยุดการให้อาหารผสมฮอร์โมนประมาณ 5 วัน พบสารตกค้างของฮอร์โมนเมสทาโนโลนต่ำกว่าปริมาณของเมสทาโนโลนที่น้อยที่สุดที่วิธีจะสามารถตรวจสอบได้ สำหรับปลานิลในขนาดที่จำหน่ายเพื่อการบริโภคในท้องตลาดจะมีระยะเวลาการหยุดฮอร์โมนที่ยาวนานกว่า ประมาณ (6-8 เดือน) ดังนั้นผู้บริโภคจึงแทบไม่มีโอกาสที่จะได้รับฮอร์โมนตกค้างในเนื้อปลานิล จึงอาจอนุมานว่าเนื้อปลานิลจากกระบวนการเพาะเลี้ยงในช่วง 23 วันแรกด้วยอาหารผสมฮอร์โมนเมสทาโนโลนในขนาด 80 mg/kg อาหาร และเลี้ยงในระยะขุนอีกจนถึงขนาดที่ขายอยู่ในท้องตลาด ไม่มีการตกค้างของฮอร์โมนในระดับที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมสทาโนโลนต้นแบบ (parent form) เท่านั้น ซึ่งไม่สามารถเชื่อมโยงไปถึงเมตาบอไลท์ของเมสทาโนโลน นอกจากนี้ยังปรากฏการใช้ฮอร์โมนเพศผู้ชนิดอื่นๆในการเหนี่ยวนำเพศผู้ในลูกปลานิลเพื่อการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่น เช่น ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน หรือ เมทิล

เทสโทสเทอโรน ซึ่งมีขนาดของการใช้เช่นเดียวกับรายงานการศึกษานี้ จึงควรมีการศึกษาการตกค้างของฮอร์โมนดังกล่าวในเนื้อปลานิลด้วยเช่นกัน