

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะ พัฒนามาจากวิธีการศึกษาของ Ruchirawat M. และคณะ⁽⁵⁾ พบว่า ความเข้มข้นของต่ำสุด (Lower Limit of Quantitation ; LOQ) ที่วิธีนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ 1-hydroxypyrene ได้อย่างถูกต้องคือ 0.025 ng/ml และมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation ; %CV) เท่ากับ 3.46 % จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์นี้สามารถวิเคราะห์ได้ในปัสสาวะตัวอย่าง มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในกลุ่มตัวอย่าง และค่า % CV ของระดับต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้นั้น มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน 20 %⁽⁷⁶⁾ วิธีนี้จึงมีความไวเพียงพอสำหรับงานวิจัยนี้ ในการหาความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะ

การหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy) ความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ซึ่งแสดงได้จากการเทียบค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้กับค่าความเข้มข้นจริง พบว่า ความถูกต้องของการวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง และต่ำ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100.40 ± 3.07 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ ± 15 % ของค่าจริง⁽⁷⁶⁾ แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ ส่วนประสิทธิภาพของวิธีที่ใช้สกัด 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง แสดงในรูปของ % Recovery มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 81.40 ± 1.79 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 60 – 100 %⁽⁷⁷⁾ แสดงว่า การสกัดสารโดยวิธีนี้มีประสิทธิภาพเพียงพอ

การหาความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (Precision) ความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง แสดงด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation ; %CV) ของการวิเคราะห์ พบว่า ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง ในวันเดียวกันและวิเคราะห์ต่างวันกัน มีค่า %CV เฉลี่ย เท่ากับ 5.08 % และ 5.19 % ตามลำดับ ทั้งนี้ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ต่างวันกัน ต้องมีค่าไม่เกิน 15%⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾ จะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์โดยวิธีนี้มีความเที่ยงตรงและเชื่อถือได้

การหาความจำเพาะของวิธีการวิเคราะห์ (Specificity) ความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ซึ่งแสดงโดยภาพโครมาโตแกรม พบว่า peak ของ 1-hydroxypyrene และ anthracene ซึ่งเป็น internal standard แยกจากกัน และไม่ถูกรบกวนด้วย peak อื่นใดในปัสสาวะตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับภาพโครมาโตแกรมจากปัสสาวะตัวอย่างที่ไม่มีสารเหล่านี้ (blank urine)

การหาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (Linearity) ความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง ในช่วงความเข้มข้น 0.05 – 3.2 ng/ml พบว่าค่า coefficient of determination (R^2) ของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 0.9999 และช่วงค่าที่วัดได้เข้าใกล้ 1 และครอบคลุมความเข้มข้นที่ตรวจพบได้ในปัสสาวะของกลุ่มตัวอย่าง

จากการศึกษาของ Jongeneelan F.J. (2001) เกี่ยวกับค่าความคงตัวของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง พบว่า 1-hydroxypyrene มีความคงตัวดีในปัสสาวะตัวอย่าง โดยเก็บได้นานอย่างน้อย 1 ปี เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -18°C ⁽²⁾

สรุปได้ว่า การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะตัวอย่าง โดยใช้วิธีดังกล่าวเป็นที่ยอมรับและเชื่อถือได้

การหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy) ความเข้มข้นของ creatinine ในปัสสาวะ ซึ่งแสดงได้จากการเทียบค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้กับค่าความเข้มข้นจริง พบว่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง และต่ำ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $100.88 \pm 1.08\%$ ซึ่งอยู่ภายในเกณฑ์ $\pm 15\%$ ของค่าจริง ⁽⁷⁶⁾ แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ ส่วนการหาค่าความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (precision) ความเข้มข้นของ creatinine ในปัสสาวะตัวอย่างในวันเดียวกัน และวิเคราะห์ต่างวันกัน มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation ; %CV) เฉลี่ยเท่ากับ 3.15 % และ 3.12 % ตามลำดับ ทั้งนี้ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ต่างวันกัน ต้องมีค่าไม่เกิน 15% ⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾ จะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์โดยวิธีนี้มีความเที่ยงตรงและเชื่อถือได้

การหาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ creatinine ในปัสสาวะตัวอย่าง ในช่วงความเข้มข้น 0 – 80 mg/dl พบว่าค่า coefficient of determination (R^2) ของ creatinine ในปัสสาวะตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 0.9993 และช่วงค่าที่วัดได้เข้าใกล้ 1 และครอบคลุมความเข้มข้นที่ตรวจพบได้ในปัสสาวะของกลุ่มตัวอย่าง

การศึกษาการได้รับสาร PAHs เข้าไปในร่างกายมนุษย์ สามารถใช้ตัวชี้วัดได้หลายอย่าง ^(6,56) ดังกล่าวในบทนำ แต่วิธีการเหล่านั้น พบว่า มีความยุ่งยากและไม่สะดวกในการนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ การศึกษานี้จึงเลือกใช้ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะเป็นตัวชี้วัดการได้รับสาร PAHs เนื่องจากพบว่า 1-hydroxypyrene เป็นเมแทบอลิท์ที่สำคัญของ pyrene ซึ่งเป็นสารประกอบ PAHs ที่พบได้ทั่วไป โดยผสมอยู่กับสาร PAHs ชนิดอื่นๆ (PAH-mixtures) และเป็นสารประกอบที่อยู่ในควันจากท่อไอเสียรถยนต์ ควันบุหรี่ ควันจากการเผาไหม้สารอินทรีย์ต่างๆ ^(4,10) การศึกษานี้จึงได้ทำการพัฒนาวิธีการสกัด 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะ ให้เป็นวิธีที่มีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ มีความจำเพาะเจาะจงสูง และเหมาะสมในการนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์

การตรวจวัดการได้รับสาร PAHs ที่มีแหล่งกำเนิดจากควันท่อไอเสียรถยนต์ในกลุ่มคนไทย พบว่า มีการศึกษาของ Ruchirawat M. และคณะ⁽⁵⁾ โดยทำการศึกษาระดับ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะของตำรวจจราจร เปรียบเทียบกับตำรวจที่ทำงานในสำนักงาน พบว่า ระดับ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะของตำรวจจราจร มีค่าสูงกว่าตำรวจที่ทำงานในสำนักงาน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.044$) จากการศึกษาของเขาวรัตน์และคณะ⁽⁷⁸⁾ ในการใช้อัตราส่วนของ พาราแซนธิน / แคลเฟอีน เป็นดัชนีวัดการทำงานของเอนไซม์ cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) ในกลุ่มคนที่มีโอกาสได้รับควันจากท่อไอเสียรถยนต์ พบว่า ค่าอัตราส่วนดังกล่าวในกลุ่มตัวอย่าง มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีโอกาสสัมผัสกับควันท่อไอเสียรถยนต์น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่า การทำงานของ CYP1A2 ในกลุ่มตัวอย่างมีการถูกเหนี่ยวนำ (induced) โดยคาดว่าจะเกิดจากสารประกอบที่อยู่ในควันท่อไอเสียรถยนต์ ซึ่งเป็นไปได้ว่าเป็น สาร PAHs เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนดังกล่าว การศึกษานี้จึงทำการตรวจวัดระดับของ 1-hydroxypyrene / mol creatinine ในปัสสาวะของกลุ่มประชากรเดิม คือ พนักงานเก็บค่าโดยสาร รถประจำทางไม่ปรับอากาศ ขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพฯ เป็นกลุ่มตัวอย่างเปรียบเทียบกับ ระดับ 1-hydroxypyrene / mol creatinine ในปัสสาวะของกลุ่มควบคุมที่มีโอกาสสัมผัสกับควันท่อไอเสียรถยนต์น้อยกว่า

ในงานวิจัยนี้ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่มีอายุระหว่าง 20-47 ปี เนื่องจากผู้ที่อยู่ในวัยผู้ใหญ่มีระบบการทำงานของตับและไตที่สมบูรณ์กว่าวัยเด็กและวัยชรา คัดเลือกเพศหญิงทั้งหมด เพราะเพศชายมักสูบบุหรี่และดื่มสุรา ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของตับและไต มีการศึกษาของ Hu L. และคณะ⁽¹⁰⁾ พบว่า ผู้ที่สูบบุหรี่จะมีระดับ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะ สูงกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ และระดับ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะจะแปรผันตามปริมาณบุหรี่ที่สูบต่อวัน ส่วนในคนที่มีการทำงานของไตผิดปกติ มีรายงานพบว่า อัตราการกำจัด 1-hydroxypyrene จะผิดปกติไปด้วย⁽⁷³⁾ นอกจากนี้ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง จะคัดเลือกกลุ่มคนที่ไม่ได้รับประทานอาหารประเภท ปิ้งย่าง ทอด ร่มควัน เป็นประจำทุกวันหรือค่อนข้างบ่อย แต่เนื่องจากในปัจจุบัน PAHs พบปนเปื้อนทั่วไปในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ รวมทั้งในอาหาร ดังนั้นในกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มจึงอาจได้รับสาร PAHs จากสิ่งแวดล้อมเหล่านั้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้⁽¹⁾ ในงานวิจัยนี้ กลุ่มควบคุมเป็นชาวบ้าน ตำบลช่องแค อำเภอนครศรี จังหวัดนครสวรรค์ ประกอบอาชีพที่ไม่เกี่ยวข้องกับการได้รับควันพิษจากแหล่งต่างๆ เช่น ทำนา ทำสวน และแม่บ้าน โดยเป็นกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงน้อยจากการได้รับควันจากท่อไอเสียรถยนต์ เป็นเวลา 1 ปีขึ้นไป ส่วนกลุ่มทดลองเป็นพนักงานหญิงเก็บค่าโดยสารรถประจำทางไม่ปรับอากาศ ขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพฯ ซึ่งได้รับควันจากท่อไอเสียรถยนต์ เป็นเวลา 1 ปีขึ้นไป ทำงานผ่านเส้นทางที่มีการจราจรหนาแน่นได้แก่ บริเวณเขตบางกะปิ เขตคลองเตย เขตบางเขน เขตลำโพง เป็นต้น และคัดเลือกพนักงานที่ไม่ได้ใช้อุปกรณ์ป้องกันควันพิษ

เช่น ผ้าปิดจมูก หน้ากากอนามัย ในรายงานการศึกษาส่วนใหญ่จะทำการเก็บปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเสร็จสิ้นการทำงานในแต่ละวัน^(2,38) เพื่อให้สาร PAHs ที่กลุ่มอาสาสมัครได้รับมาในวันนั้น ไม่ถูกขับออกจากร่างกายมากเกินไป ทั้งนี้เนื่องจากค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของ pyrene ที่ขจัดออกมาในรูปของ 1-hydroxypyrene มีค่าเฉลี่ยประมาณ 18 ชั่วโมง⁽³²⁾ และมีค่าระหว่าง 6-35 ชั่วโมง⁽³³⁾ ในงานวิจัยนี้จึงทำการเก็บปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่างภายใน 1 ชั่วโมง หลังจากอาสาสมัครเสร็จสิ้นการทำงาน จากนั้นนำปัสสาวะไปตรวจวัดระดับ 1-hydroxypyrene และ creatinine และรายงานผลในหน่วยของ 1-hydroxypyrene / mol creatinine สาเหตุที่ต้องเทียบกับ creatinine เนื่องจากการบริโภคน้ำของแต่ละคนไม่เท่ากัน ทำให้ความเข้มข้นหรือเจือจางของน้ำในปัสสาวะไม่เหมือนกัน

จากการศึกษาพบว่า ทั้งระดับ 1-hydroxypyrene และ creatinine ในปัสสาวะ ในกลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.000$ และ $P = 0.040$ ตามลำดับ) และค่า 1-hydroxypyrene / mol creatinine ในกลุ่มทดลองจะมีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.002$) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในส่วนของระดับ 1-hydroxypyrene ส่วนระดับ creatinine มีค่าต่างกันไม่มากนัก ซึ่งน่าจะเป็นไปได้จากความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจากการบริโภคน้ำที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มตัวอย่าง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อคำนวณค่าระดับ 1-hydroxypyrene / mol creatinine ก็มีค่าแตกต่างกันอย่างชัดเจน การศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างค่อนข้างมาก เป็นไปตามการคำนวณขนาดตัวอย่างทางสถิติ⁽⁵⁾ จึงน่าจะเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรได้ ผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า พนักงานเก็บค่าโดยสารรถประจำทางไม่ปรับอากาศ ขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพ ได้รับสาร PAHs มากกว่ากลุ่มคนที่อาศัยอยู่ต่างจังหวัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น กลุ่มดังกล่าวจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง เพราะสาร PAHs มีสมบัติทำให้เกิดมะเร็ง เพราะเนื่องจากสาร PAHs มีคุณสมบัติทำให้เกิดมะเร็ง ภายหลังจากเปลี่ยนแปลงด้วยเอนไซม์ CYP 1A1 ได้เป็นสารประกอบ arene oxide หรือ epoxide จากนั้นจะถูกเอนไซม์ epoxide hydrolase เปลี่ยนไปเป็นสารประกอบ dihydrodiol จากนั้น dihydrodiol จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ CYP 3A4 ได้เป็นสารประกอบ diol-epoxide ซึ่งเป็นเมแทบอลิท์ที่ก่อให้เกิดมะเร็ง^(12,26-28) และสาร PAHs เองยังมีคุณสมบัติเหนี่ยวนำการทำงานของเอนไซม์ใน family CYP 1A ทั้ง CYP 1A1 และ CYP 1A2⁽¹⁾ ที่จะเมแทบอลิท์ตัวเองให้ได้สารก่อมะเร็งมากขึ้นดังรายงานการศึกษาของเยวอร์ตันและคณะ⁽⁷⁸⁾ พบว่า ในกลุ่มคนที่ได้รับควันจากท่อไอเสียรถยนต์ จะมีค่าอัตราส่วนของพาราแซนธิน/แคฟเฟอีนในซีรัมสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่มีโอกาสได้รับควันท่อไอเสียรถยนต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.043$) และได้สรุปว่า เอนไซม์ CYP 1A2 น่าจะถูกเหนี่ยวนำจากสาร PAHs และรายงานนี้ได้พิสูจน์ว่า กลุ่มประชากรดังกล่าวได้รับสาร PAHs ในปริมาณมากจริง

สรุปผลการทดลอง

1. วิธีการในการตรวจวัดระดับ 1-hydroxypyrene ในปัสสาวะ เป็นวิธีการที่มีความเหมาะสม มีความสะดวก เชื่อถือได้ สามารถนำไปใช้ตรวจวัดกลุ่มคนที่ได้รับสาร PAHs จากแหล่งอื่นๆ ต่อไป
2. สามารถใช้ค่า 1-hydroxypyrene / mol creatinine เป็นตัวชี้วัดการได้รับสาร PAHs จากควันท่อไอเสียรถยนต์
3. กลุ่มประชากรที่ประกอบอาชีพพนักงานเก็บค่าโดยสารรถประจำทางไม่ปรับอากาศขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพฯ ได้รับสาร PAHs จากควันท่อไอเสียรถยนต์มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นกลุ่มคนที่อาศัยอยู่ต่างจังหวัด

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการทำวิจัยเพิ่มเติมจากนี้ในการหาระดับ 1-hydroxypyrene / mol creatinine ที่บ่งชี้ว่าจะก่อให้เกิดมะเร็ง โดยการทำวิจัยหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด DNA adduct กับระดับของ 1-hydroxypyrene / mol creatinine ในปัสสาวะของกลุ่มคนที่ได้รับสาร PAHs

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย