บทที่ 6

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารตะกั่วในขนาด 10 mgPb จะมีลักษณะอาการต่าง ๆ ที่แสดงให้เห็นภายนอก เช่น มีอาการอ่อนเพลีย ข้อมือข้อเท้าอ่อน จมูกแดงและมีน้ำเยิ้มหรือมีเลือดแห้งกรังติดอยู่ที่ปลายจมูก ลิ้นเป็นฝ้าขาว ขนหลุดง่าย และอุจจาระจะมีสีดำ ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้เป็นลักษณะที่พบในคนและสัตว์ที่มีอาการพิษตะกั่วโดยทั่วไป (Casaretts, L.J. and Doull, J., 1975) การที่เป็นเช่นนี้เพราะตะกั่วไปทำลายเซลล์ประสาททำให้เกิดอาการอ่อนเพลีย ข้อมือข้อเท้าอ่อนไม่มีแรง นอกจากนี้ตะกั่วยังมีผลในการเพิ่มเพอมีอะบิลิตี้ของผนังเส้นเลือดฝอย จึงมีผลทำให้น้ำและสารต่าง ๆ ซึมออกจากผนังเส้นเลือดและเข้าสู่เซลล์ได้มาก ทำให้เกิดการบวม แดง และมีน้ำหรือเลือดไหลออกซึบ ๆ ที่ปลายจมูก (ไพโรจน์ อุ่นสมบัติ และบุกตา ตฤษณานนท์, 2508) Casarettes, L.J and Doull, J. (1975) ได้รายงานว่าการที่ลิ้นมีลักษณะเป็นฝ้าขุ่นขาวคล้ายน้ำนมติดอยู่บนลิ้นนั้นเป็นผลเนื่องจาก $PbCl_2$ ซึ่งทำให้รู้สึกคลื่นเหียนหรืออาเจียรได้ และการที่ขนหลุดง่ายเวลาจับก็เนื่องจากขนหรือเส้นผมก็เป็นอีกทางหนึ่งที่กำจัดตะกั่วออกจากร่างกายนอกเหนือจากการกำจัดออกทางอุจจาระหรือปัสสาวะ มีผู้วิเคราะห์ระดับตะกั่วในเส้นผมของคน พบว่าจะเพิ่มขึ้นจากคนที่อยู่ในย่านชนบทไปยังคนในเมืองหลวง (Chattopadhyay, *et al.*, 1977) ตะกั่วถูกกำจัดออกจากร่างกายทางอุจจาระในรูปของ PbS ทำให้อุจจาระมีสีดำ (Casarettes, L.J. and Doull J., 1975)

จากการทดลองอัตราการเติบโตของหนู พบว่าตะกั่วมีผลในการลดอัตราการเติบโตของหนูอย่างเห็นได้ชัด จะเห็นได้จากเปอร์เซนต์การเพิ่มน้ำหนักตัวของหนูต่อสัปดาห์ในกลุ่มที่ป้อน 2 mgPb และ 10 mgPb ต่อสัปดาห์จะต่ำกว่าในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่าตะกั่วมีผลทำให้หนูเบื่ออาหาร เนื่องจากตะกั่วทำให้รู้สึกคลื่นเหียนอาเจียรดังกล่าวและมีอาการเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เช่น มีอาการปวดท้องแบบ "โคลิกกี้" [illegible] ทำให้มีอาการอ่อนเพลียและง่วงนอน จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การ

เพิ่มน้ำหนักตัวหนูต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ให้ตะกั่ว (ไพโรจน์ อุ่นสมบัติ และ มุกดา ตฤษณานนท์, 2508) แต่หลังจากหยุดให้ตะกั่วและให้ $CaNa_2EDTA$ หรือ Na_3NTA อย่างใดอย่างหนึ่งต่อไป ลักษณะและอาการต่าง ๆ ที่เคยปรากฏให้เห็นจะค่อย ๆ หายไปจนเกือบปกติ แต่ $CaNa_2EDTA$ มีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคพิษตะกั่วได้ดีและเร็วกว่า Na_3NTA และมีเปอร์เซนต์การเพิ่มน้ำหนักตัวหนูต่อสัปดาห์ได้ดีกว่าอีกด้วยอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก $CaNa_2EDTA$ และ Na_3NTA เป็นสารคีเลทซึ่งไม่ถูกเมตาโบไลซ์ในร่างกายของหนู แต่จะรวมตัวกับตะกั่วและกำจัดออกจากร่างกายอย่างรวดเร็วและในปริมาณสูง ทำให้ปริมาณตะกั่วในร่างกายลดลง อาการดังกล่าวจึงค่อย ๆ หายไปในที่สุด (Foreman *et al.*, 1953; Chisolm, 1968 ; Michael and Wakim, 1971 ; Hammond , 1973 ; Chu *et al.*, 1977) นอกจากนี้ Castellino and Aloj (1965) ยังรายงานว่าตะกั่วในร่างกายสามารถแทนที่ Ca จากคีเลท เกิดเป็น PbEDTA ขึ้น ซึ่งถูกขับถ่ายออกมากับปัสสาวะอย่างมีประสิทธิภาพ โดยปกติแล้วตะกั่วถูกกำจัดออกจากร่างกายทั้งในปัสสาวะและในอุจจาระโดยผ่านทางท่อน้ำดี ซึ่งการกำจัดตะกั่วทั้งในปัสสาวะและอุจจาระมีค่าเท่ากันในการลดปริมาณตะกั่วในร่างกาย (Casaretts and Doull, 1975) EDTA จะเพิ่มการกำจัดตะกั่วในปัสสาวะได้ถึง 20-50 เท่า แต่จะไม่เพิ่มการกำจัดตะกั่วในอุจจาระ (Chisolm, 1968)

จากผลการศึกษาปริมาณการสะสมสารตะกั่วในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของหนูระหว่างช่วงเวลาที่ได้รับสารตะกั่ว พบว่าตะกั่วสะสมอยู่ได้ในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และอัตราการกำจัดตะกั่วออกจากอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายจะแตกต่างกัน จากการตรวจสอบหาปริมาณตะกั่วที่สะสมในเนื้อเยื่อของหนูต่อสัปดาห์ทั้งในกลุ่มที่ป้อน 2 mgPb และ 10 mgPb ต่อน้ำหนักหนู 100 กรัม พบว่าตะกั่วถูกดูดซึมผ่านทางเดินอาหาร และมีการสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น และพบว่าตะกั่วมีแนวโน้มที่จะสะสมในกระดูกมากกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ คือมีปริมาณการสะสมตะกั่วต่อสัปดาห์ถึง 10.58 ug/g-wet wt. และ 1.59 ug/g-wet wt. ในกลุ่มที่ป้อน 10 mgPb และ 2 mgPb ต่อน้ำหนักหนู 100 กรัมตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของหลายคนที่รายงานว่าตะกั่วสะสมในกระดูกมากกว่า 90% ของที่มีอยู่ในร่างกาย ปริมาณการสะสมตะกั่วในกระดูกจะมากกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ (Hammond, 1971 ; Waldron and Stofen, 1974 Casarett and Doull, 1975) ดูเหมือนกับว่าตะกั่วเป็นผู้มองหากระดูก โดยเฉพาะอย่าง

ยิ่งตำแหน่งที่มีการสร้างกระดูก ที่เป็นเช่นนี้ Fleish et al., (1965) Waldron and Stofen (1974) ได้ชี้ให้เห็นว่าเป็นเพราะกระดูกประกอบด้วยแคลเซี่ยมและฟอสเฟต ซึ่งตะกั่วที่อยู่ในภาพไอออนนิคหรือที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะเป็นตัวชักนำให้เกิดผลึกแคลเซี่ยมฟอสเฟตได้อย่างมีประสิทธิภาพ และกลไกนี้เองที่เป็นตัวสำคัญในการดักจับตะกั่วที่ผิวของผลึก เป็นไปได้ว่าตะกั่วถูกสะสมครั้งแรกที่กระดูกทราเบคิวลี (trabeculae) แล้วจึงย้ายไปยังกระดูกชั้นนอก (cortical bone) (McLean et al., 1954) จะเห็นว่าตะกั่วมีปฏิกริยาโดยตรงต่อแคลเซี่ยมและฟอสเฟต และสามารถแทนที่แคลเซี่ยมได้ Aub et al.(1926) ได้แสดงให้เห็นว่ากระดูกสะสมตะกั่วในสัดส่วนใกล้เคียงกับการสูญเสียแคลเซี่ยม ผลที่ตามมาคือปริมาณแคลเซี่ยมและฟอสเฟตในเลือดสูงขึ้น แต่เหตุผลว่าทำไมตะกั่วจึงมีการแลกเปลี่ยนกับแคลเซี่ยมในกระดูกนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่าทั้งตะกั่วและแคลเซี่ยมมีส่วนร่วมในเมตาบอลิสมโดยทั่วไป

จากการทดลองจะเห็นว่าปริมาณตะกั่วที่สะสมในเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มจะลดลงในไต ตับ กล้ามเนื้อลาย และสมองตามลำดับ โดยตะกั่วจะแพร่กระจายจากพลาสม่าเข้าไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์แล้วจึงเข้าสู่เซลล์ของเนื้อเยื่อต่าง ๆ Castellino and Aloj (1969) รายงานว่าตะกั่วจะปรากฏในเซลล์ของตับและไตภายใน 1 ชั่วโมง ของการฉีดสารตะกั่วเข้าไปในร่างกายและจะเกาะติดแน่นกับไมโตคอนเดรีย นอกจากนี้ Waldron and Stofen (1974) ยังรายงานว่าการกระจายของตะกั่วในเนื้อไตชั้นคอร์เท็กซ์ จะเท่ากับในเนื้อไตชั้นเมดัลล่า การที่พบว่าปริมาณการสะสมตะกั่วในสมองและกล้ามเนื้อมีค่าต่ำ สอดคล้องกับที่ Waldron and Stofen (1974) ได้รายงานไว้

ปริมาณตะกั่วที่สะสมในเลือดในกลุ่มที่ป่วย 10 mgPb/100g เมื่อครบสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยสูงถึง 137.43 µg/100ml. Mortensen and Kellogg (1944) ได้ชี้ให้เห็นว่าตะกั่วที่สะสมในเลือดจะอยู่ในสภาพสมดุลย์จลน์ระหว่างพลาสม่าและเซลล์เม็ดเลือดแดง ดังนั้นตะกั่วจะถูกปล่อยจากเม็ดเลือดแดงขณะที่ความเข้มข้นในพลาสม่าลดลง และเขายังชี้ให้เห็นว่าอัตราการรับตะกั่วโดยเม็ดเลือดจากพลาสม่าขึ้นกับอุณหภูมิ Clarkson and Kench (1958) รายงานว่าตะกั่วที่สะสมในเลือดจะเกาะอยู่กับผนังของเซลล์เม็ดเลือดแดงหรือกับพลาสม่าโปรตีน และจำนวนน้อยมากที่อยู่ในรูปไอออนอิสระ ส่วนใหญ่มากกว่า 95% ของตะกั่วที่อยู่ในกระแสโลหิตจะเกาะอยู่กับ

ผนังของเซลล์เม็ดเลือดแดง ความเร็วในการรับตะกั่วของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเร็วมาก เพียงช่วงเวลาสั้น ๆ หลังจากมีการดูดซึมตะกั่ว พบว่ามีตะกั่วจับอยู่กับเม็ดเลือดแดงในปริมาณสูง ซึ่งขึ้นกับโดสที่ให้ (Hursch and Mercer, 1970) การวัดหาปริมาณตะกั่วในเลือดเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้วินิจฉัยโรคพิษตะกั่วในคน แต่อย่างไรก็ดีระดับตะกั่วในเลือดไม่ได้สัมพันธ์ใกล้ชิดกับอาการพิษตะกั่ว เพราะอาการพิษตะกั่วอาจจะปรากฏในบางคนที่มีระดับตะกั่วในเลือดต่ำกว่าค่า thershold แต่ในบางคนอาจไม่แสดงอาการ แม้ว่าระดับตะกั่วในเลือดจะสูงกว่าค่า threshold ก็ได้ (Urbanowicz, 1971; Walker, 1975). Scharding and Oehme (1973) รายงานว่าหนูสามารถทนต่อการได้รับตะกั่วมากถึง 60 mgPb/วัน ในช่วงเวลา 1 ปี ซึ่งปริมาณนี้จะสมมูลย์พอดีกับ 8 gPb ในคน

ในการทดลองครั้งนี้การที่พบปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อบางอย่างของหนูในกลุ่มเปรียบเทียบอาจจะมีสาเหตุมาจากอาหารและน้ำดื่มที่หนูได้รับประจำวันมีตะกั่วเจือปนอยู่บ้างไม่มากก็น้อย นอกจากนี้อาจจะได้รับตะกั่วจากการหายใจอีกด้วยก็ได้ อย่างไรก็ดีแม้ว่าจะมีการดูดซึมตะกั่วจากอาหาร น้ำดื่ม และอากาศที่หนูได้รับเข้าไป พบว่าจะไม่มีการสะสมตะกั่วในตับและสมอง ส่วนการสะสมตะกั่วในเลือด ไต กล้ามเนื้อลาย และกระดูกค่อนข้างคงที่ในแต่ละสัปดาห์ของการทดลอง ผลการทดลองครั้งนี้เกือบจะสอดคล้องกับการทดลองของ Chisolm (1971) ซึ่งได้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่เป็นเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มจะค่อนข้างคงที่ตลอดเวลา แต่ปริมาณตะกั่วในกระดูกซึ่งเป็นเนื้อแข็งจะเพิ่มขึ้นตามอายุ ดังนั้นการที่พบว่ากระดูกมีปริมาณตะกั่วสะสมค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง อาจเนื่องมาจากการทดลองนี้ใช้หนูที่โตเต็มที่เพียงช่วงอายุหนึ่งเท่านั้น และใช้เวลาน้อยกว่าช่วงที่จะทำให้เกิดการสะสมตะกั่วในกระดูกเพิ่มขึ้นตามอายุ

หลังจากสิ้นสุดการได้รับตะกั่ว ตะกั่วจะถูกกำจัดออกจากเนื้อเยื่อต่างๆ อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับการฉีดด้วยสารคีเลทพบว่า $CaNa_2EDTA$ มีประสิทธิภาพในการกำจัดตะกั่วออกจากร่างกายได้ดีกว่า Na_3NTA ทั้งนี้เนื่องจาก $CaNa_2EDTA$ ผ่านเข้าไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ อย่างรวดเร็ว (Foreman et al., 1953; Castellino and Aloj, 1965) นอกจากนี้ Teisinger (1971) ยังชี้ให้เห็นว่าการกำจัดตะกั่วจะเริ่มต้นอย่างรวดเร็ว โดยเริ่มจากกระดูกทราเบคิวลาร์ (trabecular skeletal structure) ซึ่งเป็นที่ที่มีการโมบิไลซ์ (mobilized) โดย $CaNa_2EDTA$ โดยตะกั่วในกระดูกสามารถแทนที่แคลเซียมใน $CaNa_2EDTA$

เนื่องจากตะกั่วในกระดูกอยู่ในสภาพที่แยกออกจากกันได้ง่าย ได้ PbEDTA ซึ่งถูกขับถ่ายออกมากับปัสสาวะอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ในกรณีที่ตะกั่วสะสมในกระดูกมานานแล้ว พบว่าตะกั่วจะอยู่ในสภาพที่จับกับกระดูกค่อนข้างแน่น กรณีนี้ตะกั่วจะออกจากกระดูกและกลับเข้าไปในเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มก่อนแล้วจึงมีการกำจัดออกจากร่างกายอย่างช้า ๆ ซึ่งอาจกินเวลาหลาย ๆ ปี ขึ้นกับช่วงเวลาและปริมาณการได้รับตะกั่วมากน้อยเพียงไร (Teisinger, 1971) แต่เหตุผลของขบวนการนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

นอกจาก $CaNa_2EDTA$ มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณตะกั่วในไตของหนูแล้ว Goyer *et al.*, (1978) ยังรายงานว่าไม่พบอินคลูชั่นบอดีส์ (inclusion bodies) ที่เซลล์ของหลอดไตซึ่งเป็นลักษณะที่พบในหนูที่ได้รับตะกั่ว ส่วนการลดปริมาณตะกั่วในเลือดหลังจากฉีดด้วยสารคีเลทจะเห็นว่าไม่คงที่ ที่เป็นเช่นนี้เพราะเลือดเป็นตัวกลางในการขนส่งตะกั่วจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออกสู่ภายนอก จึงมีโอกาสที่จะลดลงหรือเพิ่มขึ้นบ้างเล็กน้อยขึ้นอยู่กับความสามารถในการปล่อยตะกั่วออกจากเนื้อเยื่อของหนูแต่ละตัวและอายุของหนู

Na_3NTA มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณตะกั่วในเลือดและเนื้อเยื่อของหนูได้ดีเกือบเท่ากับ $CaNa_2EDTA$ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Mahaffey and Goyer (1972) ที่แสดงให้เห็นว่า Na-NTA ลดปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อของหนู เพราะว่า Pb-NTA คีเลทถูกกำจัดออกจากเนื้อเยื่ออย่างรวดเร็ว และยังพบว่า Na-NTA จะไม่เพิ่มพยาธิสภาพของพิษตะกั่ว นอกจากนี้ Nolen *et al.* (1972)ยังแสดงให้เห็นว่า การให้ Na_3NTA แก่หนูที่ได้รับโลหะหนักเช่นปรอท และแคดเมี่ยมในปริมาณสูง ๆ จะไม่เพิ่มความเป็นพิษหรือความผิดปกติในหนู แต่ยังช่วยป้องกันความเป็นพิษของปรอทและแคดเมี่ยมในปริมาณสูง ๆ ได้ และจากการศึกษาเมตาบอลิสมของ NTA โดย Michael and Wakim (1971) ได้ชี้ให้เห็นว่า NTA จะไปจับและสะสมที่กระดูก และจะหายไปอย่างรวดเร็วหลังจากหยุดให้ NTA

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสะสมและการกำจัดสารตะกั่วออกจากเนื้อเยื่อบางอย่างของหนูซึ่งให้แคลเซี่ยมไดโซเดี่ยม เอดิเตท ($CaNa_2EDTA$) และไตรโซเดี่ยมไนไตรโลไตรอะซิเตท (Na_3NTA) สรุปได้ว่า ตะกั่วสะสมในกระดูกมากกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น และลดลงในไต ตับ กล้ามเนื้อและสมอง

ตามลำดับ ระดับตะกั่วในเลือดมีค่าสูงถึง 137.43 ug/100 ml ในกลุ่มที่ป้อน 10 mgPb/100g เมื่อครบ 8 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณตะกั่วที่สะสมในเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ กับสัปดาห์ที่ทำการทดลอง ทั้ง $CaNa_2EDTA$ และ Na_3NTA มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณตะกั่วในเลือดและเนื้อเยื่อ พบว่าความแตกต่างในการลดปริมาณตะกั่วระหว่าง $CaNa_2EDTA$ และ Na_3NTA ขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อและระยะเวลาที่ได้รับสารนั้น ๆ และยังพบว่าตะกั่วมีผลในการลดอัตราการเติบโตของหนู เปอร์เซนต์การเพิ่มน้ำหนักตัวต่อสัปดาห์จะต่ำกว่าในกลุ่มเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) แต่หลังจากฉีดน้ำเกลือ $CaNa_2EDTA$ และ Na_3NTA เข้าช่องท้อง พบว่า $CaNa_2EDTA$ มีผลในการเพิ่มอัตราการเติบโตของหนูได้ดีกว่า Na_3NTA และน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ปริมาณตะกั่วในกล้ามเนื้อและสมองในกลุ่มที่ป้อน 10mgPb/100g ลดลงเกือบเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 16 หลังจากฉีดด้วย $CaNa_2EDTA$ และ Na_3NTA แต่ปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของหนูกลุ่มที่ได้รับ 2 mgPb ลดลงเกือบเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 16 ของการทดลองโดยไม่ได้รับการฉีดด้วย $CaNa_2EDTA$ หรือ Na_3NTA แต่อย่างหนึ่งอย่างใด