บทที่ 1

บทนำ

ในชีวิตประจำวันนั้นมนุษย์และสัตว์มีโอกาสสัมผัสกับสารพิษตลอดเวลา อาจเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นในธรรมชาติหรือจากการกระทำของมนุษย์ โดยได้รับจากการดูดซึมทางผิวหนัง ผ่านทางเดินหายใจ หรือจากการรับประทานเข้าไป ถ้าสารพิษเหล่านี้เป็นสารกลุ่มที่ละลายน้ำได้ดี คือเป็นสารที่แสดงขั้วประจุไฟฟ้าสูงจะมีการดูดซึมกลับน้อยและจะถูกขับออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็ว ในทางตรงกันข้ามสารที่มีการแสดงขั้วประจุไฟฟ้าต่ำซึ่งละลายน้ำได้น้อยและละลายได้ดีในไขมันจะมีการดูดซึมกลับมากและการขับออกจากร่างกายเกิดขึ้นได้ยาก ดังนั้นในร่างกายสัตว์จึงต้องมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารพิษเหล่านี้ ให้เป็นสารที่แสดงขั้วประจุไฟฟ้าสูงเพื่อเร่งการขับสารนั้นออกจากร่างกายและลดการดูดซึมย้อนกลับ กระบวนการเปลี่ยนแปลงสารพิษที่เกิดขึ้นในร่างกายสิ่งมีชีวิตนั้นเรียก biotransformation ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่อาศัยเอ็นไซม์เป็นตัวช่วยในการเกิดปฏิกิริยา

การเปลี่ยนแปลงสารพิษนั้นส่วนใหญ่เกิดขึ้นในตับเพราะตับเป็นอวัยวะแรกที่ได้รับสารต่างๆ โดยการดูดซึมจากทางเดินอาหารก่อนที่สารเหล่านี้จะกระจายไปสู่เนื้อเยื่ออื่นๆ ตับจึงทำการเปลี่ยนแปลงสารก่อนที่จะขับออกจากร่างกาย หรือเข้าสู่ระบบการไหลเวียนของเลือด ในการเปลี่ยนแปลงสารของตับ สารที่เกิดขึ้นใหม่อาจจะมีพิษน้อยลงซึ่งเป็นการลดความเป็นพิษหรือทำลาย (detoxication) ของสารพิษ แต่ในบางครั้งสารที่เกิดขึ้นใหม่อาจจะมีความเป็นพิษมากกว่าเดิมซึ่งเป็นการเพิ่มพิษ หรือทำให้เกิดความเป็นพิษ (toxication) การที่จะเกิดพิษมากขึ้นหรือน้อยลงนั้นขึ้นอยู่กับว่าสารนั้นอยู่ในส่วนใดของร่างกายและมีปริมาณของไซโตโครมพี 450 แต่ละชนิดมากน้อยเพียงใด นอกจากตับแล้วยังมีอวัยวะอื่นๆ ที่ทำการเปลี่ยนแปลงสารพิษได้เช่นกันแต่เกิดขึ้นในปริมาณแตกต่างกัน เช่น ปอด ไต ลำไส้ ทำการเปลี่ยนแปลงสารได้ปริมาณปานกลาง ส่วนใน อัณฑะ รก ผิวหนัง และต่อมหมวกไต ทำการเปลี่ยนแปลงสารได้ปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ชนิดและปริมาณของสารพิษก็ยังเป็นส่วนที่สำคัญที่จะทำให้เกิดการกระตุ้นหรือทำลายความเป็นพิษของสารพิษขึ้นในร่างกาย

การเปลี่ยนแปลงสารพิษ

การเปลี่ยนแปลงสารพิษด้วยเอ็นไซม์ในสิ่งมีชีวิตประกอบด้วยเอ็นไซม์หลายระบบเพื่อให้เหมาะสมกับชนิดของสารเคมีจำนวนมากมายทั้งที่เป็นอาหาร ยา หรือสารพิษ ที่เข้าสู่ร่างกาย เอ็นไซม์เหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ คือ เอ็นไซม์ในวัฏภาคที่ 1 (Phase I) และเอ็นไซม์ในวัฏภาคที่ 2 (Phase II)

ลักษณะสำคัญของเอ็นไซม์ในวัฏภาคที่ 1 ลักษณะทั่วไปการทำงานของเอ็นไซม์ในวัฏภาคนี้ คือ การเติมหรือการปรับเปลี่ยนส่วนสำคัญของโครงสร้างของสารเคมี ส่วนมากเป็นการเติมกลุ่มไฮดรอกซิล เอ็นไซม์ที่รับผิดชอบงานลักษณะนี้มี 2 ระบบ ที่เรียกว่า ระบบมิกซ์ฟังก์ชันออกซิเดส (mixed function oxidase = MFO) หรือโพลีสับเสตรทโมโนออกซีจีเนส (polysubstrate monooxygenase) ซึ่งมีไซโตโครมพี 450 เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ มีวงจรการทำงานดังรูปที่ 1

อีกระบบที่ทำหน้าที่คล้ายกันแต่ต่างกันที่สับเสตรท คือ มิกซ์ฟังก์ชันเอมีนออกซิเดส (mixed function amine - oxidase) หรือฟลาวินโมโนออกซีจีเนส (flavin monooxygenase) เป็นกลุ่มเอ็นไซม์ที่มีสารประกอบฟลาวินเป็นโคเอ็นไซม์

นอกจากเอ็นไซม์ทั้งสองระบบดังกล่าวแล้ว ยังมีเอ็นไซม์ในระบบที่ทำหน้าที่ ไฮโดไลส์ และระบบออกซิเดชัน - รีดักชันอีกด้วย ที่ทำหน้าที่ในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของพิษในวัฏภาคที่ 1

ลักษณะของเอ็นไซม์วัฏภาคที่ 2 ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังยุคสารพิษ ซึ่งเป็นการทำให้สารนั้นละลายน้ำได้ดีขึ้น (แก้ว กังสดาลอำไพ, 2537)

ระบบไซโตโครมพี 450

ในระบบนี้เป็นการทำงานร่วมกันของเอ็นไซม์ 2 ชนิดคือ เอ็นเอดีพีเอช ไซโตโครมพี 450 รีดักเตสและเอ็นไซม์ที่มีฮีมเป็นองค์ประกอบ คือ ไซโตโครมพี 450

ไซโตโครมพี 450 เป็น superfamily เอ็นไซม์ซึ่งสามารถแยกได้เป็นหลายๆ isoform ในแต่ละ isoform จะมีความแตกต่างกันในด้านการเปลี่ยนแปลงสารพิษ การถูกเหนี่ยวนำหรือการถูกยับยั้งเอ็นไซม์จากยาหรือสารพิษต่างๆ ไซโตโครมพี 450 พบได้ทุกอวัยวะของสิ่งมีชีวิตในปริมาณที่แตกต่างกันไป ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแบ่งไซโตโครมพี 450 ได้เป็น 2 ชนิดตามตำแหน่งภายในเซลล์ คือไมโครโซมัลไซโตโครมพี 450 จะจับอยู่กับผนังเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมชนิดเรียบ(SER) ซึ่งแยกออกจากเซลล์ดับได้ด้วยวิธีการปั่นแยกส่วน (differential centrifugation) หลังจากแยกองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ที่หนักกว่า เช่น ไมโตคอนเดรีย ผนังเซลล์ ฯลฯ

ออกไปก่อนหน้านี้ เอ็นไซม์ในส่วนนี้จึงถูกเรียกว่า ไมโครโซมัลเอ็นไซม์ และเอ็นไซม์อีกชนิดหนึ่งอยู่บนผนังด้านในของไมโตคอนเดรีย จึงเรียกไซโตโครมพี 450 นี้ว่าไมโตคอนเดรียไซโตโครมพี 450 ไมโครโซมัลไซโตโครมพี 450 แตกต่างจากไมโตคอนเดรียไซโตโครมพี 450 คือไมโครโซมัลไซโตโครมพี 450 รับอิเลคตรอนจากฟลาโวโปรตีนรีดักเตส ในขณะที่ไมโตคอนเดรียไซโตโครมพี 450 รับอิเลคตรอนจาก non heme iron protein (adrenodoxin)

ในการศึกษาเกี่ยวกับไซโตโครมพี 450 นี้พบว่าในบางครั้งในการฉีดสารเคมีบางชนิดเข้าสัตว์ทดลองทำให้สามารถแยกไซโตโครมที่มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 448 นาโนเมตร แทน 450 นาโนเมตร จึงทำให้มีการเรียกว่าไซโตโครมพี 448 ไซโตโครมพี 448 และไซโตโครมพี 450 มีคุณสมบัติแตกต่างกันหลายอย่างเช่น ความเฉพาะเจาะจงต่อสับเสตรท การกระจายในอวัยวะต่างๆ และเพศ ความเฉพาะต่อสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์โดยที่ไซโตโครมพี 448 มีความเฉพาะเจาะจงต่อสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ในกลุ่ม PAH (polycyclic aromatic hydrocarbon) และไซโตโครมพี 450 มีความเฉพาะเจาะจงต่อสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ในกลุ่ม PB (phenobarbital) (Ioannides and Parke,1990)

ไซโตโครมพี 450 มีบทบาทสำคัญในการเมตาบอลิสมสารภายในร่างกาย (endogenous compounds) เช่น fatty acid, prostaglandins, steriods และ cholesterol จึงเป็นที่สนใจทำการศึกษาของทางด้านชีวเคมี สรีรวิทยา ระบบต่อมไร้ท่อ และด้านโภชนาการ และที่สำคัญไซโตโครมพี 450 มีบทบาทในการเมตาบอลิสมสารจากภายนอกร่างกาย (xenobiotics) เช่น ยา ยาฆ่าแมลง สารก่อมะเร็ง จึงเป็นที่สนใจของการศึกษาในทางพิษวิทยาและเภสัชวิยา (Guengerich, 1988)

ไซโตโครมพี 450 เมื่อถูกทำลาย carbon monoxide complex ของไซโตโครมพี 450 จะมีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 420 แทน 450 นาโนเมตร หรือที่เรียกว่าไซโตโครมพี 420 ซึ่งเป็น inactive form ของไซโตโครมพี 450 (Debethizy and Hayes,1994)

ในปัจจุบันมีการค้นพบไซโตโครมพี 450 ถึง 20 แฟมิลี พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 10 แฟมิลี พบในปลา 2 แฟมิลี พบในหอย 1 แฟมิลี พบในพืช 1 แฟมิลี และอีก 6 แฟมิลีพบในแบคทีเรีย ไซโตโครมพี 450 ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะหน้าที่ คือ กลุ่มที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เสตรียรอยด์และน้ำดี ส่วนอีกกลุ่มทำหน้าที่เกี่ยวกับการเมตาบอลิสมสารเคมีและสิ่งแปลกปลอมดังแสดงในตารางที่ 1

ไซโตโครมพี 450 ที่มีหน้าที่ในการสังเคราะห์เสตรียรอยด์และเมตาบอลิสมคลอเลสเตอรอล นั้นประกอบด้วย แฟมิลี 7, 17, 19, 21 และ 29 ซึ่งมีเพียงรูปแบบเดียวในแฟมิลี 11 เท่านั้นที่ประกอบด้วย 2 สับแฟมิลี คือ CYP 11A และ CYP 11B ซึ่งเอ็นไซม์นี้จะมีอยู่เฉพาะในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีความเฉพาะเจาะจงกับสับเสตรทค่อนข้างสูง (ศรีสมบัติ นวนพรัตน์โสกุล, 2540)

การกระจายของไซโตโครมพี 450

ไซโตโครมพี 450 พบได้ใน แบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ พืช แมลง ปลา และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบได้เกือบทุกส่วนของร่างกาย มีมากที่สุดในตับและพบได้ในต่อมหมวกไต ไต ปอด ม้าม ต่อมพิทูอิทารี อัณฑะ รังไข่ รก ลำไส้ ผิวหนัง สมอง และ ระบบหลอดเลือด ในปริมาณที่แตกต่างกัน ภายในเซลล์จะพบไซโตโครมพี 450 ได้ในไมโตคอนเดรีย เยื่อหุ้มนิวเคลียล และที่สำคัญในเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมซนิดเรียบโดยที่ไซโตโครมพี 450 ฝังตัวอยู่ใน เอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัม ดังรูปที่ 2 (Miura and Nagai,1988)

คุณสมบัติทั่วไปของไซโตโครมบี 5

ไซโตโครมบี 5 เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยฮีมฝังตัวอยู่ในเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัม โดยมีส่วนที่ละลายน้ำหรือส่วนที่เกิดการ catalyte ยื่นเข้าไปในไซโตพลาสซึม ส่วนที่ไม่ละลายน้ำฝังอยู่ในเมมเบรนดังรูปที่ 2 ไซโตโครมบี 5 แยกได้จาก หนูขาว กระต่าย ลูกวัว และ หมู พบได้ใน ตับ ไต ดับอ่อน อะดรีนัลเมดุลลา ต่อมน้ำนม รังไข่ และ เยื่อบุลำไส้เล็ก

ไซโตโครมบี 5 มีบทบาทในปฏิกิริยาการสังเคราะห์และการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ มากมาย ซึ่งรวมถึงปฏิกิริยาในระบบไซโตโครมพี 450 การสลายไขมัน การสังเคราะห์ plasmalogen และการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ไซโตโครมบี 5 ในรูปของสารละลาย (soluble form) จะมีบทบาทในการรีดักชันของเมทฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (erythrocyte) และการสังเคราะห์ N- glyconeurominic acid (Guzov et al.,1996) สำหรับในระบบไซโตโครมพี 450 ไซโตโครมบี 5 มีหน้าที่ในการนำอิเลคตรอนตัวที่ 2 ไปรีดิวซ์ไซโตโครมพี 450 และในบางครั้งไซโตโครมบี 5 อาจมีผลลดการเมตาบอลิสมในระบบไซโตโครมพี 450 ได้โดยการแย่งรับอิเลคตรอนจาก เอ็นเอดีพี เอช ไซโตโครมซีรีดักเตส (Waskell,Vigne and Vergeres,1991) จากการศึกษาของ Lu และคณะ(1974) ถึงบทบาทของไซโตโครมบี 5 ในการเมตาบอลิสม benphetamine และ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3,4- benzpyrene ในไมโครโซมของตับหนูขาวในระบบที่ประกอบด้วย ไซโตโครมพี 450, เอ็นเอดีพีเอช, ไซโตโครมซีรีดักเตส และ ไขมัน การเมตาบอลิสมของ benphetamine และ 3, 4-benzpyrene เกิดขึ้นได้ดีโดยที่ไม่มีไซโตโครมบี 5 และเมื่อเติมไซโตโครมบี 5 ลงในระบบในอัตราส่วนของไซโตโครมพี 450 และไซโตโครมบี 5 เท่ากับที่พบในไมโครโซม พบว่ามีการยับยั้งปฏิกิริยา benphetamine N- demethylation การยับยั้งเนื่องมาจากเกิดการแย่งกันระหว่างไซโตโครมพี 450 และไซโตโครมบี 5 ในการรับอิเลคตรอนจาก เอ็นเอดีพีเอช ไซโตโครมซีรีดักเตส แต่เมื่อใส่ เอ็นเอดีเอช และไซโตโครมบี 5 รีดักเตสลงในระบบดังกล่าว พบว่าปฏิกิริยา benphetamine N - demethylation กลับคืนสู่ปกติ เนื่องจากเอ็นเอดีเอชและไซโตโครมบี 5 รีดักเตส ป้องกันการยับยั้งปฏิกิริยา benphetamine N- demethylation โดยไซโตโครมบี 5 และยังพบว่าอัตราการเมตาบอลิสมของ benphetamine เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา NADH-hydroxylation โดยผ่านทางไซโตโครมบี 5 และไซโตโครมบี 5 รีดักเตส

คุณสมบัติทั่วไปของไซโตโครมซีรีดักเตส

เอ็นเอดีพีเอชไซโตโครมซีรีดักเตสหรือเอ็นเอดีพีเอชไซโตโครมพี 450 รีดักเตสเป็นฟลาโวโปรตีนซึ่งใน 1 โมเลกุลประกอบด้วย ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ (FMN) และฟลาวินอะดรีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (FAD) อย่างละ 1 โมเลกุล โดยมีส่วนที่ไม่แสดงประจุไฟฟ้าฝังตัวอยู่ในเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัม และส่วนที่แสดงขั้วประจุไฟฟ้าหรือตำแหน่งการเกิด catalyte จะอยู่ในส่วนของไซโตพลาสซึม ไซโตโครมซีรีดักเตสนี้พบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แมลง จุลชีพ และพืชชั้นสูง(พรเพ็ญ เปรมโยธิน,2529 ; Ponnamperuma,1996) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบได้ใน ปอด ตับ ไต และ ม้าม โดยมีหน้าที่และโครงสร้างเหมือนกันแต่พบในปริมาณที่แตกต่างกันคือ ในไต พบ 1 ใน 5 ส่วนของในตับ (Fan and Master,1974 ; Buege and Aust,1975) ไซโตโครมซีรีดักเตสในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบเพียงแบบเดียว แต่ในพืชชั้นสูง เช่น Jerusalem artichok tuber พบไซโตโครมซีรีดักเตส 3 แบบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 80,000, 82,000 และ 84,000 (Benveniste et al.,1991)

เอ็นเอดีพีเอชไซโตโครมซีรีดักเตสแตกต่างจากรีดักเตสอื่นๆ คือ มี FMN แทนโปรตีนที่ไม่มีฮีมเป็นตัวส่งอิเลคตรอน รีดักเตสในไมโตคอนเดรียและใน *Pseudomonas putida* ไม่ทำปฏิกิริยากับไซโตโครมซี แต่จะทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ไม่มีฮีมซึ่งทำหน้าที่ส่งอิเลคตรอนให้ไซโตโครมพี 450 (Iyanagi,1974)

เอ็นเอดีพีเอชไซโตโครมซีรีดักเตสทำหน้าที่ในการส่งอิเลคตรอน โดย FAD จะเป็นส่วนที่รับอิเลคตรอนจากเอ็นเอดีพีเอชซึ่งสามารถรับได้ถึง 2 อิเลคตรอน และ FMN จะเป็นส่วนที่ส่งอิเลคตรอน 1 อิเลคตรอนให้ไซโตโครมพี 450 ขบวนการส่งอิเลคตรอนเกิดจากการหมุนกลับไปมาระหว่างภาวะ hydroquinone และ semiquinone ของ FMN สามารถส่งอิเลคตรอนได้ 1 อิเลคตรอนใน 1 รอบ สำหรับในแบคทีเรีย ฟลาโวไซโตโครมพี 450 BM-4 จะมี FMN อยู่ในส่วนของฮีมจึงเกิดการส่งอิเลคตรอนแก่ฮีมได้อย่างรวดเร็วและเกิดขึ้นแบบง่ายๆ โดย FMN จะมีการหมุนกลับไปมาระหว่างภาวะ oxidize และภาวะ semiquinone แล้วมีการส่งอิเลคตรอนให้แก่ฮีม (Sevrioukova and Peterson,1995) นอกจากนี้ไซโตโครมซีรีดักเตสยังมีบทบาทในการ สังเคราะห์ไธรอยด์ฮอร์โมนโดยมีส่วนทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งมีส่วนร่วมในการทำงานของ thyroid peroxidase ในปฏิกิริยา oxidation ของ iodide (Yamamoto and Degroot,1974)

ไซโตโครมซีรีดักเตสถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยฟีโนบาร์บิทอลจากการให้ฟีโนบาร์บิทอลแก่หนูขาว พบว่าสัตว์ทดลองมีสมรรถนะของไซโตโครมซีรีดักเตสเพิ่มขึ้น (Widnell,1975)

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ในระบบไซโตโครมพี 450

1. สารเคมีและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ

สารเคมีและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ รวมทั้งยารักษาโรค แอลกอฮอล์เป็นสาเหตุทำให้สมรรถนะในการเปลี่ยนแปลงสารของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 เปลี่ยนแปลงไป สารบางชนิดมีผลทำให้สมรรถนะในการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโครมพี 450 เพิ่มขึ้น เรียกสารเหล่านั้นว่า สารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ ระยะเวลา ปริมาณของสมรรถนะของเอ็นไซม์ที่เพิ่มขึ้นจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารเหนี่ยวนำ รวมทั้งชนิด สายพันธุ์ เพศ สภาวะของสัตว์ และระยะในการสัมผัสสารเหนี่ยวนำ

ลักษณะของสารเหนี่ยวนำแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำเหมือน PB และกลุ่มที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำเหมือน PAH แต่ในปัจจุบันนี้พบว่าสารเหนี่ยวนำมีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีนของไซโตโครมพี 450 แต่ละแบบจึงสามารถแบ่งสารเหนี่ยวนำได้ตามแฟมิลีและสับแฟมิลีของไซโตโครมพี 450 ดังตารางที่ 2 แม้ว่าสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ทั้ง 2 กลุ่มนี้จะมีผลเพิ่มสมรรถนะของเอ็นไซม์เช่นเดียวกัน แต่ลักษณะการเหนี่ยวนำของสารทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3

กระบวนการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์เกิดขึ้นจากสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ในกลุ่ม PAH จะจับกับ Ah recepter ซึ่งอยู่ในไซโตพลาสซึมภายในเซลล์ แล้วเคลื่อนย้ายเข้าสู่นิวเคลียสกระตุ้นให้มีการ

transcription gene ที่แสดงลักษณะของไซโตโครมพี448 มีผลทำให้ระดับ mRNA และการสังเคราะห์โปรตีนของไซโตโครมพี 448 เพิ่มขึ้น แต่สำหรับสารเหนี่ยวนำในกลุ่ม PB ยังไม่ทราบถึง recepter ที่แน่ชัด แต่การเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 โดยสารเหนี่ยวนำกลุ่ม PB ก็มีลักษณะเช่นเดียวกับการเหนี่ยวนำไซโตโครมพี 448 คือมีการ transcription gene และเพิ่ม mRNA (Anderson and Forlin,1992;Goksoyr and Forlin,1992)

นอกจากสารเคมีและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ จะมีผลในการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์แล้ว สารเคมีบางชนิดยังมีผลลดความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 จึงเรียกสารเหล่านี้ว่า สารยับยั้งเอ็นไซม์ การยับยั้งเอ็นไซม์นั้นอาจเกิดจากการยับยั้งที่เอ็นไซม์โดยตรงเช่น คาร์บอนมอนอกไซด์จะจับกับ Fe^{3+} ของไซโตโครมพี 450 ทำให้ Fe^{3+} จับกับออกซิเจนไม่ได้จึงเกิดการยับยั้งสมรรถนะในการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโครมพี 450 สำหรับ 3- amino-1,2,3 triazole ทำการยับยั้งเอ็นไซม์โดยการยับยั้งการสังเคราะห์พอร์ไฟรินของไซโตโครมพี 450 และโคบอนท์คลอไรด์ลดระดับไซโตโครมพี 450 โดยยับยั้งการสร้างฮีมและเพิ่มการทำงานของเอ็นไซม์ฮีมออกซีจีเนสในการเปลี่ยนฮีโมโปรตีนเป็นบิลิเวอร์ดิน นอกจากนี้ยังมีสาเหตุอื่นที่มีผลในการยับยั้งเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 เช่น การยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอน มีการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อและหน้าที่ของอวัยวะเช่นการเกิด hepatic necrosis

ไซโตโครมพี 450 แต่ละชนิดจะมีความไวต่อตัวยับยั้งแตกต่างกันไปเช่น 7,8 benzoflavone จะมีความเฉพาะเจาะจงสูงในการยับยั้งไซโตโครมพี 448ในขณะที่ SKF 525-A และ methylrapone จะมีความเฉพาะเจาะจงในการยับยั้งไซโตโครมพี 450 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์กลุ่ม PB และในปัจจุบันสารตัวยับยั้งเอ็นไซม์มีความเฉพาะเจาะจงต่อไซโตโครมพี 450 แต่ละแบบดังแสดงในตารางที่ 4 (Sipes and Gandolfi,1986)

ชนิดของการยับยั้งเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450

ก. การยับยั้งแบบไม่ถาวร(Reversible inhibition)

เกิดจากการได้รับสารหรือยามากกว่า 1 ชนิด โดยที่สารหรือยานั้นมีความเฉพาะเจาะจงต่อเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 แบบเดียวกันทำให้เกิดการแย่งจับบริเวณ active site ของไซโตโครมพี 450 สารที่มีความสามารถในการจับกับไซโตโครมพี 450 น้อยกว่า ก็จะถูกยับยั้งการเปลี่ยนแปลง หลังจากสารที่เป็นตัวยับยั้งถูกขับออกจากร่างกายแล้วไซโตโครมพี 450 ก็สามารถทำหน้าที่ได้เหมือนเดิม

ข. Metabolite intermediate complexation

เกิดจากสารเคมีหรือยาที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ถูกเปลี่ยนแปลงโดยไซโตโครมพี 450 กลายเป็นเมตาบอไลท์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ แล้วเกิดการจับระหว่างเมตาบอไลท์ที่ได้กับไซโตโครมพี 450 ในสภาวะที่เสถียรมีผลทำให้เกิดการยับยั้งเอ็นไซม์ในการเปลี่ยนแปลงตัวเองและสารอื่น แต่เมื่อมีการเคลื่อนย้ายเมตาบอไลท์ออกไซโตโครมพี 450 ก็สามารถทำหน้าที่ได้เหมือนเดิม การยับยั้งชนิดนี้จะมีระยะเวลายาวนานกว่าการยับยั้งแบบไม่ถาวร สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์แบบนี้ได้แก่ benzodioxoles, hydrazines

ค. Autocatalylic inactivation

สารเคมีหรือยาจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยไซโตโครมพี 450 ได้เป็น radical intermediates และเกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์กับไนโตรเจนในฮีมของไซโตโครมพี 450 เมื่อมีการทำลายฮีมของเอ็นไซม์หรือเปลี่ยนแปลงโปรตีนของเอ็นไซม์มีผลทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ ซึ่งเป็นการยับยั้งแบบถาวรหรือแบบฆ่าตัวตาย (suicide inhibitor) การทำงานของเอ็นไซม์จะมีขึ้นมาใหม่ก็ต่อเมื่อมีการสร้างเอ็นไซม์ขึ้นมาใหม่ สารที่มีผลในการยับยั้งเอ็นไซม์โดยวิธีนี้ได้แก่ 1-aminobenzotriazole,parathion และ marathion (Murray and Reidy,1990)

2. อาหาร

อาหารก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโครมพี 450 พบว่าในหนู hamster ที่ขาดอาหารโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงสารพิษของไซโตโครมพี 450 ลดลงเป็นเหตุให้เพิ่มความเป็นพิษของสารพิษที่ตัวมันเอง (parent compound) เป็นตัวกระตุ้นการเกิดพิษ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารไขมันโดยเฉพาะไขมันไม่อิ่มตัวยังมีผลต่อระดับไซโตโครมพี 450 โดยที่ในหนูขาวที่ได้รับอาหารที่มีไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะมีระดับไซโตโครมพี 450 ลดลง เนื่องจากเกิดการ peroxidation ของไขมันไม่อิ่มตัวเกิดการทำลายของไมโครโซมัลเมมเบรน และเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 เป็นเอ็นไซม์ที่ฝังตัวอยู่กับเมมเบรนจึงเกิดการถูกทำลายด้วย การขาดแร่ธาตุและสารอาหารบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกเนเซียม สังกะสี วิตามิน ก็มีผลทำให้ระดับไซโตโครมพี 450 ลดลง

เช่นเดียวกันจากการศึกษาของ Birt, Hruza และ Baker (1983) แสดงให้เห็นว่าหนู hamster ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูงมีระดับไมโครโซมัลโปรตีน ระดับไซโตโครมพี 450 รวมทั้งสมรรถนะของเอ็นไซม์ Aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) และ Aniline hydroxylase (ANH) เพิ่มสูงขึ้นด้วย

3. เพศ

ความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียทำให้การตอบสนองต่อสารพิษที่ได้รับแตกต่างกันไป ทั้งในด้านความเป็นพิษและในด้านเภสัชวิทยา เช่นในหนูขาว เพศเมียที่ได้รับ hexobarbital จะมีระยะเวลาในการนอนหลับยาวนานกว่าในเพศผู้ โดยให้ในขนาดและวิธีเดียวกัน และเช่นเดียวกับสารกำจัดศัตรูพืช parathion ความเป็นพิษในหนูเพศเมียจะสูงกว่าในเพศผู้ 2 เท่าที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากความสามารถในการเปลี่ยนแปลง parathion ในตับหนูเพศเมียน้อยกว่าในหนูเพศผู้ ทำให้ parathion อยู่ในร่างกายหนูเพศเมียยาวนานกว่าจึงทำให้เกิดพิษสูงกว่า ความแตกต่างระหว่างเพศต่อการเปลี่ยนแปลงสารนอกจากจะเกิดขึ้นที่ตับแล้วอวัยวะอื่นๆ ก็มีความแตกต่างเช่นกัน ในหนูถีบจักรที่ได้รับ chloroform ไตทำการเปลี่ยนแปลงเป็น phosgene ซึ่งเป็นพิษพบว่าในหนูถีบจักรเพศผู้จะเกิดพิษต่อไตสูงกว่าในเพศเมีย

ในสัตว์เพศผู้และเพศเมียมีความแตกต่างกันในด้านฮอร์โมนจึงเป็นเหตุให้ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 แตกต่างกันไป จากการให้ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในหนูเพศเมียทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี450 เพิ่มมากขึ้น และในขณะที่ตัดอัณฑะของหนูเพศผู้ออกความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโครมพี 450 ลดลง ซึ่งนอกจากปริมาณไซโตโครมพี 450 ที่วัดจากสมรรถนะของไซโตโครมที่มีการเปลี่ยนแปลงแล้วยังพบว่ามีความแตกต่างกันในรูปแบบของไซโตโครมพี 450 ที่มีการเปลี่ยนแปลงโดยที่รูปแบบของไซโตโครมพี 450 ที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ มีความเฉพาะเจาะจงต่อการเปลี่ยนแปลงสารแตกต่างกันไปด้วย (Sipes and Gandolfi,1986) ผลจากการศึกษาที่ไม่นานนี้ของ Hiratsuka และคณะ (1996) แสดงให้เห็นเช่นกันว่าฮอร์โมนเพศมีผลต่อเมตาบอลิสมอื่นๆ อีกคือวัดสมรรถนะเอ็นไซม์ lauric acid hydroxylase ในไตของหนูถีบจักรเพศผู้สูงกว่าหนูเพศเมียและเมื่อตัดอัณฑะหนูเพศผู้ออกสมรรถนะของเอ็นไซม์ลดลง การให้เทสโทสเตอโรนช่วยทำให้สมรรถนะของเอ็นไซม์กลับคืนมาเหมือนเดิม นอกจากนี้ในหนูเพศเมียการตัดรังไข่และการให้เอสตราไดออลไม่มีผลต่อสมรรถนะของเอ็นไซม์นี้ การเมตาบอลิสมที่แตกต่างกันในเพศเมียและเพศผู้นั้นยังมีผลต่ออุบัติการ

การเกิดโรค เช่น มะเร็ง โดยที่จากการศึกษาถึงการเกิดมะเร็งของสารก่อมะเร็งในหนูถีบจักร พบว่าหนูเพศเมียจะถูกกระตุ้นให้เกิดมะเร็งได้สูงกว่าหนูเพศผู้ (Degawa et al.,1985)

นอกจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศผู้จะมีระดับเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 สูงกว่าเพศเมีย แล้วยังพบว่าสัตว์เลือดเย็นเช่น ปลาก็เช่นกัน โดยพบว่า rainbow trout เพศผู้มีสมรรถนะของเอ็นไซม์ในตับเช่น aminopyrine demethylase, benzo(a)pyrene hydroxylase และ para-nitroanisole-o-demethylase สูงกว่าในเพศเมีย (Stegeman and Chevion,1980) ในวัยเจริญพันธุ์ปลา rainbow trout เพศผู้จะมีสมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 เพิ่มขึ้นตามระดับฮอร์โมนแอนโดรเจนที่เพิ่มขึ้นในพลาสมา แต่ในเพศเมียสมรรถนะของไซโตโครมพี 450 ลดลงเมื่อเอสตราไดออลในพลาสมาเพิ่มขึ้น (Forlin and Haux,1990) ดังแสดงในตารางที่ 5 จะเห็นได้จากอัตราส่วนของเพศผู้/ เพศเมีย สมรรถนะของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสารภายในร่างกายเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย

4. อายุ

ในสัตว์แรกเกิดความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารพิษมีน้อยจึงมีความไวในการเกิดพิษมากกว่าในระยะโตเต็มวัย ในหนูขาว ระยะแรกเกิดมีสมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 เล็กน้อยและมีการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วจนสมบูรณ์ที่สุดเมื่ออายุ 30 วัน และจะลดลงเรื่อยๆ ตามอายุที่เพิ่มขึ้นจนกระทั่งเมื่ออายุ 600 วัน สมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 ลดลงเหลือ 60 เปอร์เซ็นต์ของในช่วงที่มีสมรรถนะเอ็นไซม์สูงสุด จากการเปรียบเทียบไมโครโซมในหนูที่มีอายุ 1 วัน และ 3 วัน พบว่าหนูอายุ 3 วันมีปริมาณของเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมมากกว่าในหนูที่มีอายุ 1 วัน และในหนูที่สูงอายุมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโตรมพี 450 ลดลง (Sipes and Gandolfi,1986) สำหรับในหนูตะเภาที่มีอายุ 25 วัน พบว่าในตับและต่อมอะดรีนัลมีสมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมซีรีดักเตสใกล้เคียงกันจนเมื่อเข้าสู่ช่วงโตเต็มวัย สมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมซีรีดักเตสในตับจะลดลงอย่างช้าๆ ในขณะที่ในต่อมอะดรีนัลกลับเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าหนูตะเภาที่เป็นตัวอ่อนมีสมรรถนะเอ็นไซม์ ethylmorphine demethylase ในต่อมอะดรีนัลสูงกว่าในตับ และเมื่ออายุมากขึ้นสมรรถนะของเอ็นไซม์นี้ในต่อมอะดรีนัลก็ยังเพิ่มสูงขึ้น แต่ในตับลดลงโดยที่สมรรถนะของการเปลี่ยนแปลงสารพิษของต่อมอะดรีนัลของหนูตะเภา เพศผู้จะเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่ออายุ 100 วันส่วนในเพศเมียเมื่อมีอายุ 50 วัน สำหรับในตับแล้วพบว่าสมรรถนะของเอ็นไซม์ ethylmorphine demethylase, benzo(a)pyrene hydroxylase จะมีการ

พัฒนาอย่างรวดเร็วในระยะแรกเกิดจนถึงอายุ 3 วัน ซึ่งจะคงที่จนกระทั่งอายุถึง 75 วันหลังจากนั้นสมรรถนะของเอ็นไซม์เหล่านี้จะลดลง (Pitrolo, Rumbaugh and Colby,1979)

จากการศึกษาของ Sotaniemi และคณะ (1997) โดยการตรวจหาระดับไซโตโครมพี 450 ในตับคนไข้ พบว่าในช่วงอายุ 20 ถึง 29 ปีจะมีปริมาณไซโตโครมพี 450 ประมาณ 7.2±2.6 นาโนโมลต่อกรัมโปรตีน และเพิ่มขึ้นจนถึงอายุ 40 ปีโดยที่ในช่วงอายุ 41 ถึง 49 ปี ปริมาณไซโตโครม พี 450 จะลดลงประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ และจะมีปริมาณคงที่จนถึงอายุ 69 ปี และจะลดลงอีกครั้งประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์เมื่ออายุมากกว่า 70 ปี

5. อุณหภูมิ

ในธรรมชาติสัตว์เลือดเย็นจะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของร่างกายไปตามอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงหรือการปรับตัวในระดับโมเลกุลนี้อาจไปมีผลต่อระดับและสมรรถนะของเอ็นไซม์ในการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ ดังนั้นจึงสามารถใช้การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในการคาดการณ์ถึงสมรรถนะของเอ็นไซม์ได้ (Andersson and Forlin,1992) จากการศึกษาใน rainbow trout โดยวัดสมรรถนะเอ็นไซม์ในปฏิกิริยา benzo(a)pyrene hydroxylation และ EROD (ethoxyresorufin - O- deethylase) พบว่า rainbow trout ที่เลี้ยงในที่อุณหภูมิต่ำกว่าจะมีอัตราการเกิดปฏิกริยาสูงกว่าในที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากในที่อุณหภูมิต่ำความสามารถในการจับ (affinity) ของสับเสตรทกับเอ็นไซม์จะเพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารได้ดีขึ้น (Andersson and oivusaari,1986)

ในการสำรวจของ Sleiderink และคณะ (1995) ในปลา dab (*Limanda limanda*) เพศผู้ โดยการเก็บตัวอย่างจากตอนใต้ของ North Sea ซึ่งแต่ละแห่งจะมีอุณหภูมิแตกต่างกันพบว่าในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำระดับ CYP1A จะสูงกว่าในที่มีอุณหภูมิสูงและจากการให้ปลา dab อยู่ในที่อุณหภูมิ 8,12 และ16 องศาเซลเซียสนาน 4 สัปดาห์ พบว่าระดับโปรตีน CYP1A ไม่มีความแตกต่างกันแต่สมรรถนะของเอ็นไซม์ในที่เกี่ยวข้องกับ CYP 1A1 หรือ EROD ในที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสสูงกว่าในปลา dab ที่อยู่ในอุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียสถึง 3 เท่า

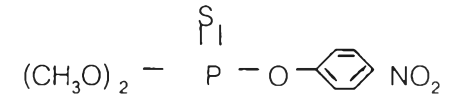
6. สายพันธุ์

การเปลี่ยนแปลงสารเคมีและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ของระบบไซโตโครมพี 450 จะมีความแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีทั้งความแตกต่างในด้านความเฉพาะเจาะจงต่อสับเสตรทและปริมาณความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารแต่ละชนิด ความแตกต่างนี้เป็นผลมาจากในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในชนิดและรูปแบบของเอ็นไซม์ ตลอดจนสมรรถนะหรือระดับของเอ็นไซม์ (Sipes and Gandolfi,1986) จากการศึกษาที่ไม่นานมานี้ของ Dubois และคณะ (1996) ได้เปรียบเทียบถึงความแตกต่างของสมรรถนะของเอ็นไซม์ EROD และ ECOD (ethoxycoumarin - O - deethylase) ในการเปลี่ยนแปลงสารระหว่าง คน หนูขาว และนกคุ่ม ที่เกิดจากการถูกเหนี่ยวนำด้วย 3,3',4,4',- tetrachlorobiphenyl (TCB) และ Aroclor 1254 พบว่าในสิ่งมีชีวิตทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกันในการถูกเหนี่ยวนำเอ็นไซม์โดยที่ Aroclor 1254 มีผลทำให้สมรรถนะของเอ็นไซม์ ECOD ในหนูขาวเพิ่มขึ้นถึง 55 เท่า ในขณะที่ในคนและในนกคุ่มมีสมรรถนะของเอ็นไซม์เพิ่มขึ้น เพียง 2-3 เท่า ส่วนสมรรถนะของเอ็นไซม์ EROD ในหนูขาวเพิ่มขึ้น 55 เท่า ในคนเพิ่มขึ้น 5 เท่าและในนกไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับ TCB ที่ขนาด 50 ไมโครลิตร มีการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ EROD และ ECOD ในนกคุ่มและหนูขาวแต่ไม่มีการเหนี่ยวนำเกิดขึ้นในคน และจากการตรวจทางด้านอิมมูโนวิทยาจะเห็นได้ว่าในสิ่งมีชีวิตทั้ง 3 ชนิดนี้ มีความแตกต่างกันในด้านรูปแบบของเอ็นไซม์ นอกจากนี้ในสัตว์ทดลองชนิดเดียวกันยังมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์อีกด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Widnell (1975) โดยให้ฟีโนบาร์บิทอล ใน Sprague Dawley rats และ Fisher rats ซึ่งเป็นสัตว์ชนิดเดียวกันแต่สายพันธุ์ต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างกันในการถูกเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ เอ็นเอดีพีเอช ไซโตโครมซีรีดักเตส และไซโตโครมพี 450 ด้วย

เมททิลพาราไธออน (methylparathion)

ชื่อทางเคมี O,O - dimethyl O- 4-nitrophenyl ester หรือ O,O - dimethyl - O - p nitrophenyl phosphorothioate
ตาม IUPAC systematic name : O,O - dimethyl O - 4 - nitrophenyl phosphorothioate

ชื่อทางการค้า paratox,paridol,folidol ect.

สูตรโครงสร้าง 

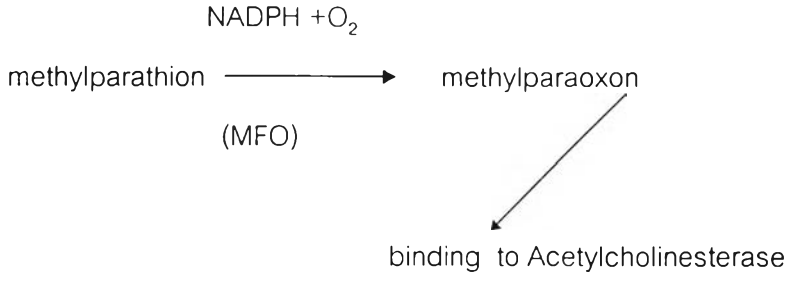
สูตรโมเลกุล $C_8H_{10}O_5NSP$

เมททิลพาราไธออนเป็นสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่มีการนำมาใช้ในทางการเกษตรกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด และใช้แทนสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่มีการตกค้างในสภาพแวดล้อมยาวนาน แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายเข้าสู่สิ่งแวดล้อมคือการฉีดพ่นและการฟุ้งกระจายของผงฝุ่น หลังจากมีการใช้เมททิลพาราไธออนกับพืชปลูกทำให้เกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อมทั้งในลักษณะที่เป็นไอระเหยและผงฝุ่น

เมททิลพาราไธออนสามารถสลายตัวได้โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินและพืช โดยทำให้เกิดการแตกตัวเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำ(hydrolysis) ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณภูมิ สภาวะที่เหมาะสมในการแตกตัวทำปฏิกิริยากับน้ำของเมททิลพาราไธออนคือ pH เท่ากับ 7 ในน้ำที่มี pH เท่ากับ 8 เมทิลพาราไธออนใช้เวลานานถึง 7 เดือนจึงสามารถสลายตัวได้หมด ในดินที่มี pH เท่ากับ 3.8-4.2 เมททิลพาราไธออนสามารถคงสภาพอยู่ได้นานถึง 5 เดือน นอกจากนี้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ยังทำการสลายเมททิลพาราไธออนได้โดยการทำปฏิกิริยารีดักชันของ p- nitro group ซึ่งในดินที่ถูกเผาการสลายตัวของเมททิลพาราไธออนโดยแบคทีเรียจะถูกทำลายโดยสิ้นเชิง โดยที่พบว่าการสลายตัวของเมททิลพาราไธออนเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้องและไม่มีแสงสว่าง

จากการศึกษาความเข้มข้นในสิ่งแวดล้อมพบว่าหลังจากการฉีดพ่นในอัตรา2.69 กก./ เฮคตาร์ (10,000 ตารางเมตร)ในอากาศในเวลา 24 ชั่วโมง , 1 วัน, 5 วัน และ 10 วัน ปริมาณความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนลดลงเหลือเท่ากับ 0.05, 0.12, 0.024 และ 0.0015 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตรตามลำดับ (ฝ่ายจัดการสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพ สิ่งแวดล้อม สำนักงานสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ,2528)

โดยลำพังแล้วเมททิลพาราไธออนไม่มีฤทธิ์(active) ต้องอาศัยระบบเอ็นไซม์ mixed function oxidase: MFO ทำการออกซิไดซ์ช่วยลดซัลเฟอร์ที่มีอยู่ในเมททิลพาราไธออน ระบบเอ็นไซม์ดังกล่าวอยู่ในไมโครโซมและต้องอาศัย เอ็นเอดีพีเอช และออกซิเจนในการทำงานดังนี้



เมททิลพาราไธออนถูกเปลี่ยนเป็นเมททิลพาราออกซอนซึ่งเป็น active metabolite ออกฤทธิ์จับกับเอ็นไซม์โฆลีนเอสเทอเรสยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่ไฮโดรไลส์ acetylcholine ทำให้เกิดการสะสมของ acetylcholine ที่บริเวณ cholinoceptive site ทำให้มีการกระตุ้นการทำงานของ cholinergic fiber อย่างต่อเนื่อง

การเมตาบอลิสมของเมททิลพาราไธออน

การเมตาบอลิสมของเมททิลพาราไธออนหรือสารปราบศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีด้วยกันหลายขบวนการทั้งที่กระตุ้นการเกิดพิษและลดความเป็นพิษดังรูปที่ 3

จากรูปที่ 3 แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาที่ 1 เป็นการเมตาบอลิสมเมททิลพาราไธออนที่เกิดการสูญสลายของซัลเฟอร์ 1 อะตอม โดยอาศัยเอ็นไซม์ในระบบมิกซ์ฟังก์ออกซิเดสมี NADPH และ O_2 เป็น cofactor ได้เมตาบอไลท์เป็นเมททิลพาราออกซอน ซึ่งมีพิษยับยั้งเอ็นไซม์โฆลีนเอสเทอเรส

ปฏิกิริยาที่ 2 เป็นการเมตาบอลิสมเมททิลพาราไธออนได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีพิษคือ diethylphosphorothioic acid และ P- nitrophenol ในปฏิกิริยานี้ต้องการ NADPH และ O_2 เป็น cofactor และอาศัยเอ็นไซม์ในระบบมิกซ์ฟังก์ชันออกซิเดส

ปฏิกิริยาที่ 3 เป็นการเปลี่ยนแปลงเมททิลพาราออกซอนโดยอาศัยเอ็นไซม์เอสเทอเรส ได้ผลิตภัณฑ์เป็น dimethylphosphate และ P- nitrophenol ซึ่งเป็นการลดความเป็นพิษของเมททิลพาราออกซอน

ปฏิกิริยาที่ 4 เป็นขบวนการลดความเป็นพิษของเมททิลพาราไธออนเช่นกันโดยผ่านทาง GSH (glutathion) แต่ในหนูถีบจักร พบว่าไม่สามารถลดความเป็นพิษของพาราไธออนโดยทางขบวนการนี้ได้

ปฏิกิริยาที่ 5 เป็นขบวนการที่เกิดการรวมกันของเมททิลพาราออกซอนกับ GSH ได้ผลิตภัณฑ์ที่ละลายน้ำและถูกขับออกจากร่างกายได้ง่ายขึ้น (Poore and Neal,1972 ; Benke et al, 1974)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

<u>อาการพิษเฉียบพลัน</u>

1. ฤทธิ์มัสคารินิค คือ ผลจากการกระตุ้น muscarinic cholinergic recepter เป็นการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเธติก มีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวของระบบทางเดินอาหาร มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งในท้อง และท้องเดิน น้ำลายออกมาก เหงื่อออก สำหรับระบบทางเดินหายใจมีอาการแน่นหน้าอก มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจทำให้เต้นช้าลง ความดันโลหิตต่ำ รูม่านตาหด

2. ฤทธิ์นิโคตินิคผลจากการกระตุ้น nicotinic cholinergic recepter เป็นการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเธติกและกล้ามเนื้อลายทำให้มีฤทธิ์ตรงข้ามกับการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเธติกซึ่งอาการแสดงของผู้ที่ได้รับพิษจะมีอาการหัวใจเต้นเร็ว รูม่านตาขยาย ความดันโลหิตสูง มีอาการกระตุกของกล้ามเนื้อบริเวณเปลือกตาใบหน้าและคอ กล้ามเนื้ออ่อนแรง โดยระยะแรกจะแสดงอาการเด่นทางซิมพาเธติก แต่ต่อมาจะแสดงอาการเด่นทางพาราซิมพาเธติก ผลจากการกระตุ้นกล้ามเนื้อลายที่ moter end plate ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรงในที่สุดและเกิดอัมพาตโดยเฉพาะกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ

3. ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางมีผลจากการกระตุ้นระบบ central M- cholinergic ทำให้มีอาการวิงเวียน ความคิดฟุ้งซ่านการเคลื่อนไหวเปะปะ พูดไม่ชัด การหายใจผิดปกติ ไม่มีการโต้ตอบต่อสิ่งกระตุ้น มีการกระตุกของกล้ามเนื้อ การชักเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง มีอาการโคม่า และหมดสติได้

อาการพิษระยะยาว

เกิดขึ้นหลังจากช่วงระยะเวลาหนึ่ง (delayed neurotoxic effects) จะเริ่มเกิดขึ้นที่ปลายประสาทของขาอ่อน ต่อมาจะมีอาการเดินโซเซ เสียความรู้สึกและกล้ามเนื้ออ่อนเพลีย ต่อมาจะเพิ่มความรุนแรงขึ้น อ่อนเพลียเพิ่มขึ้นและเริ่มเป็นตามแขน ลักษณะทางพยาธิวิทยา พบว่าเกิดการทำลายเซลล์ของแอคซอนตามด้วยการทำลายไมอิลิน ซึ่งเข้าใจว่าการทำลายเซลล์ดังกล่าวเกิดขึ้นเนื่องจากการรบกวนขบวนการเมตาบอลิสมของเซลล์ประสาทในไขสันหลัง การขาดการสังเคราะห์สารบางชนิดจึงทำให้เส้นประสาทแอคซอนที่มีความยาวมากและอยู่ไกลเป็นอันตรายก่อน ขบวนการนี้เรียกว่า Dying Back หลังจากเกิดพิษนี้แล้วประมาณ 2-3 วันถึง 2 สัปดาห์อาการจะดีขึ้นอย่างช้าๆ อาการพิษดังกล่าวอาจไม่หายไปหมด

ผลกระทบของเมททิลพาราไธออนต่อสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม

เมททิลพาราไธออนมีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์โฆลีนเอสเทอเรสของสิ่งมีชีวิต จากการศึกษาของ Benke และคณะ (1974) พบว่าใน sunfish (*Lepomis gibbosus*) ที่ได้รับเมททิลพาราไธออนโดยการฉีดผ่านทางหน้าท้องปริมาณ 2500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการตายของปลา แต่เอ็นไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อถูกยับยั้ง 62 เปอร์เซ็นต์ และในสมองถูกยับยั้ง 85 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้เมททิลพาราไธออนยังมีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ จากการศึกษาของ Ceron, Panizoและ Montes (1995) ในกระต่ายที่ได้รับเมททิลพาราไธออน พบว่ามีระดับเอ็นไซม์ alkaline phosphatase (ALP) เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอธิบายได้ว่าเกิดการทำลายเซลล์ตับและท่อน้ำดีจึงมีการซึมผ่านของเอ็นไซม์ ALP เข้ามาในระบบไหลเวียนเลือด และมีการศึกษาในทาก (*Bellamya dissmilis Muller*)โดยJonnalagadda และ Rao (1996) พบว่าทากที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนมีการทำลายของเซลล์ตับ มีการฉีกขาดและเกิดช่องว่างภายในเซลล์ตับบริเวณ inter- lobular มีการหลุดลอกของเยื่อบุ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและกล้ามเนื้อบริเวณเท้าถูกทำลาย

สำหรับในปลามีการศึกษาในปลาหมอเทศ (*Tiapia mossambica*) โดย Rao,Sahip และ Rao (1985) พบว่าปลาจะมีอัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรกหลังจากสัมผัสกับเมททิลพาราไธออนและต่อมาอัตราการใช้ออกซิเจนจะลดลง เนื่องจากปลาหายใจทางเหงือกทำให้ได้รับเมททิลพาราไธออนจากสิ่งแวดล้อมและเกิดการสะสมบริเวณเหงือกเป็น coagulation film มีผลทำให้การดูดซึมออกซิเจนจากสิ่งแวดล้อมได้น้อยลง และการขับถ่ายคาร์บอนไดออกไซด์จากกระแสเลือดเป็นไปได้ลำบาก จึงทำให้เกิดพิษต่อเนื้อเยื่อต่างๆ ภายในร่างกาย เนื้อเยื่อของระบบ

ประสาทจะต้านทานต่อการขาดออกซิเจนได้ในระยะสั้นๆ ฉะนั้นการตายของปลาอาจเกิดจากการหายใจล้มเหลวเนื่องจากสมองหรือกล้ามเนื้อควบคุมการหายใจขาดออกซิเจน และนอกจากนี้ยังพบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้สมรรถนะของเอ็นไซม์ในลูกโซ่การหายใจลดลง เช่น เอ็นไซม์ succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase และ cytochrome c oxidase ทำให้เกิด oxidative metabolism น้อยลง มีผลทำให้เกิดการสร้าง ATP ลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Reddy , Bhagyalakshmi และ Ramamurthi (1985) พบว่าปูที่ได้รับเมททิลพาราไธออนมีระดับเอ็นไซม์ succinate dehydrogenase และ lactate dehydrogenase ลดลงทั้งในกล้ามเนื้อและในตับ ส่วนระดับเอ็นไซม์ lactate เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้นกว่าในตับ ซึ่งแสดงว่ามีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนมากขึ้น และยังพบว่าระดับเอ็นไซม์ phosphorylase " a" เพิ่มมากขึ้นในขณะที่ phosphorylase " b" ลดลง นอกจากนี้ยังมีระดับเอ็นไซม์ aldolase เพิ่มมากขึ้นด้วยซึ่งแสดงว่ามีการสลายกลัยโคเจนมาใช้มากขึ้น ผลการทดลองเป็นเช่นเดียวกับการศึกษาของ Reddy และ Rao (1991) ซึ่งทำการศึกษาในกุ้ง (*Metapenaeus monoceros*) ที่พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลต่อการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรต เขาพบว่าหลังจากที่กุ้งสัมผัสเมททิลพาราไธออนแล้วปริมาณกลัยโคเจนในตับและในกล้ามเนื้อลดน้อยลง และมีอาการ hyperglycemia แสดงถึงมีการสลายกลัยโคเจนมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการเพิ่มสมรรถนะของเอ็นไซม์ glycogen phosphorylase ที่ถูกควบคุมโดยระบบ neuroendocrine ของ sinus gland complex ในกุ้งที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนจะเกิดการสะสมของ acetylcholine ที่ sypnaptic junction ซึ่งจะทำให้มีการกระตุ้นการหลั่งสารบริเวณ sinus gland และเกิดการกระตุ้นเอ็นไซม์ phosphorylase ทำให้เกิดผลในการสลายกลัยโคเจน นอกจากนี้ยังพบว่าเมททิลพาราไธออนเป็นตัวยับยั้งเอ็นไซม์ที่มีserine เป็นองค์ประกอบ โดยเหตุที่เอ็นไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กลัยโคเจนก็มี serine เป็นองค์ประกอบดังนั้นการที่เมททิลพาราไธออนมีผลทำให้สมรรถนะในการสังเคราะห์กลัยโคเจนลดลงอาจเป็นผลจากการยับยั้งเอ็นไซม์ดังกล่าว

ผลของเมททิลพาราไธออนต่อการเมตาบอลิสมของไขมัน จากการศึกษาของ Reddy และ Rao (1989) ในกุ้ง พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้ระดับไขมันสะสมและกลีเซอรอลลดลง มีกรดไขมันอิสระและคอเลสเตอรอลเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับระดับเอ็นไซม์ไลเปสที่เพิ่มขึ้นแสดงว่ามีการสลายไขมันมาใช้มากขึ้น นอกจากนี้เมททิลพาราไธออนยังมีผลต่อการเมตาบอลิสมของโปรตีน จากการศึกษาของ Raddy และ Rao (1986) พบว่าเมททิลพาราไธออนทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงและมีกรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้น

Heath และ คณะ (1993) ทำการศึกษาในปลากระพง (*Striped bass*) พบว่าเมททิล

พาราไธออนมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา ในปลากระพงที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนที่ระดับความเข้มข้นต่ำมีน้ำหนักของตัวอ่อนและระดับ RND /DNA ลดลง ซึ่งแสดงว่ามีการสังเคราะห์โปรตีนใหม่ลดลง และยังพบว่าประสิทธิภาพในการว่ายน้ำของปลากระพงลดลงด้วย จากการศึกษาของ Casalderrey,Ferrando และ Moliner (1995) พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลต่อการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของ *Daphnia magna* โดยที่เมททิลพาราไธออนทำให้ระยะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ช้ากว่าปกติและจำนวนตัวอ่อนที่เกิดขึ้นมาในแต่ละครอกลดน้อยลง การเจริญเติบโตช้าและมีอายุสั้นลง เช่นเดียวกับการศึกษาในปู (*Oziotel phusa Senex Senex*) พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลยับยั้งการลอกคราบของปู (Reddy,Bhagylakshmi and Ramamurth,,1985) จากการศึกษาในนกคุ่ม พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้น้ำหนักตัว น้ำหนักตับ น้ำหนักหัวใจและพลาสมาโปรตีนลดลง นอกจากนี้ในการวางไข่แต่ละครั้ง จำนวนไข่ และความหนาของเปลือกไข่ลดลง (Solecki et al,1996)

จากการศึกษาภายนอกร่างกายของปลาดุกพันธุ์ผสมถึงผลของเมททิลพาราไธออนต่อระดับไซโตโครมพี 450 นั้น พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้ระดับไซโตโครมพี 450 และไซโตโครมบี 5 ลดลง แต่ไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตโครมพี 420 (ประภัสสร ตันติพงศ์วิวัฒ์ ,2538) และจากการศึกษาของฐิติลาวัณย์ กลิ่นคล้ายกัน (2539) ภายในร่างกายปลาดุกพันธุ์ผสม พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลลดระดับไซโตโครมพี 450 พร้อมกับมีระดับไซโตโครมพี 420 เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของไซโตโครมบี 5 นอกจากนี้ Neskovic,Vitorovic และ Plesnicu (1973) ยังพบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลยับยั้ง เอ็นเอดีพีเอช ไซโตโครมซีรีดักเตส และ เอ็นเอดีเอช ไซโตโครมซีรีดักเตส ด้วย

โซเดียมไนไตรท์

โซเดียมไนไตรท์เป็นผลึก rhombic สีเหลืองอ่อนหรือไม่มีสี ความหนาแน่น 2.17 มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 271 องศาเซลเซียส มีการนำมาใช้ในกิจการต่างๆ ดังนี้

1. เป็นตัวเร่งให้คอนกรีตแข็งแรง
2. ใช้ถนอมอาหารสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์
3. เป็นตัวออกซิแดนซ์สำหรับอุตสาหกรรมไอโอดีน
4. ทำให้เหล็กแข็งตัวในการผลิตส่วนของเครื่องจักร
5. ป้องกันการกัดกร่อนของโลหะ
6. เป็นส่วนผสมของสารเคลือบผิวโลหะ

7. ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ

8. ใช้ในอุตสาหกรรมการทอผ้า

9. ใช้ในอุตสาหกรรมยาง

10. ผสมในน้ำยาแช่เครื่องมือทางการแพทย์เพื่อป้องกันสนิม

ในสภาวะแวดล้อมไนไตรท์จะถูกออกซิไดซ์เป็นไนเตรทได้ง่าย ดังนั้นจึงพบไนไตรท์ในปริมาณที่ต่ำ สำหรับไนเตรทมีการนำมาใช้ในทางการเกษตรและในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมการทอผ้า อุตสาหกรรมยารักษาโรค ใช้ในการถนอมอาหาร

แหล่งที่พบไนไตรท์และไนเตรท

1. แหล่งธรรมชาติ

ไนเตรทในดิน น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินเกิดขึ้นเนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น โปรตีนจากสัตว์ พืช และของเสียจากสัตว์โดยจุลินทรีย์ แอมโมเนียมอิออนจะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์และไนเตรท ซึ่งเป็นผลของวัฏจักรไนโตรเจน

2. แหล่งที่เกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของมนุษย์

2.1 ปุ๋ย

ปุ๋ยสังเคราะห์เป็นแหล่งใหญ่ของไนเตรทในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากพืชไม่สามารถใช้ไนโตรเจนในดินได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงมีบางส่วนสะสมในดินและไหลลงสู่แหล่งน้ำ

2.2 ของเสียจากสัตว์

การทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์ก่อให้เกิดสารประเภทไนโตรเจน ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทได้

2.3 ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

ปริมาณไนโตรเจนจากของเสียในโรงงานอุตสาหกรรมจะแตกต่างกันตามชนิดของอุตสาหกรรม ออกไซด์ของไนโตรเจนที่ปล่อยเข้าสู่บรรยากาศจากแหล่งเผาไหม้ที่ใช้อุณหภูมิสูงจะหมุนเวียนกลับมาสู่พื้นโลกในรูปของไนเตรท

2.4 การใช้สารไนไตรท์และไนเตรทเป็นสารปรุงแต่งอาหาร

ทั้งไนไตรท์และไนเตรทมีการนำมาใช้กันมากในการผลิตเนื้อสัตว์ เพื่อการรักษาคุณภาพอาหาร ซึ่งไนไตรท์สามารถป้องกันแบคทีเรียประเภท *Clostridium botulinus* นอกจากนั้นยังทำให้เกิดสีและรสชาติเฉพาะของอาหาร

ความเป็นไปในสิ่งแวดล้อมของสารไนโตรเจน

สารไนโตรเจนมีการแลกเปลี่ยนระหว่างบรรยากาศและพื้นดินอย่างต่อเนื่อง การแลกเปลี่ยนดังกล่าวเรียกว่า วัฏจักรไนโตรเจน ไนโตรเจนในบรรยากาศถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบ เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท และไนไตรท์ โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในพืชและดิน โดยขบวนการ biological oxidation (nitrification) มี 2 ขั้นตอนดังนี้

$$2\,NH_4^+ + 2OH^- + 3O_2 \rightleftharpoons 2NO_2^- + 2H^- + 4H_2O \quad (1)$$

$$2NO_2^- + O_2 \rightleftharpoons 2NO_3^- \quad (2)$$

ปฏิกิริยาทั้งสองนี้อาศัยจุลินทรีย์ต่างกันกล่าวคือ ในปฏิกิริยาที่ 1 ใช้จุลินทรีย์ nitrosomonas และในปฏิกิริยาที่ 2 ใช้จุลินทรีย์ nitrobacter พืชสามารถใช้ไนเตรทในดินบางส่วนดังนั้นบางส่วนจะรั่วไหลลงสู่น้ำใต้ดินและแม่น้ำ ในขณะที่บางส่วนเกิด denitrification ซึ่งเป็นขบวนการทางชีวเคมีที่สลายไนเตรทเป็นไนโตรเจนและไนตรัสออกไซด์แล้วเข้าสู่บรรยากาศ ดิน และน้ำ ไนเตรทบางส่วนที่ถูกดูดซึมโดยพืชจะถูกใช้ในการสังเคราะห์ชีวโมเลกุลโดยเฉพาะโปรตีน และในที่สุดของเสียจากพืชและสัตว์ก็จะเปลี่ยนไนโตรเจนไปยังดิน ซึ่งบางส่วนจะมีการหมุนเวียนกลับไปสู่บรรยากาศตามวัฏจักรไนโตรเจน (รัชนี และ สมดุลย์,2537)

นอกจากนั้นยังมีการสร้างไนไตรท์และไนเตรทขึ้นภายในร่างกายมนุษย์และสัตว์ ในหนู hamters ที่ได้รับเชื้อพยาธิในตับ (*Opisthorchis viverini*) จะมีระดับเอ็นไซม์ NO synthase ในตับเพิ่มสูงขึ้น มีการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ (NO) เพิ่มมากขึ้นและถูกออกซิไดซ์เป็น NO_2, N_2O_3 และ N_2O_4 ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอมีนในร่างกายเกิดเป็นไนโตรซามีน และจากการเพิ่มของไนตริกออกไซด์นี้เองทำให้พบว่าในกระแสเลือดมีระดับไนเตรทเพิ่มมากขึ้นด้วย ไนเตรทจะถูกหลั่ง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มาทางน้ำลายและทางน้ำย่อยในกระเพาะอาหารแล้วถูกรีดิวซ์ไปเป็นไนไตรท์โดยแบคทีเรียในกระเพาะอาหารและในปาก (Ohsima et al,1994) พบว่าในหนูขาวที่ได้รับเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ lipopolysaccharide มีการสร้างไนตริกออกไซด์เพิ่มขึ้น ระดับไนไตรท์และไนเตรท ในกระแสเลือด ในน้ำย่อยในกระเพาะอาหารรวมทั้งในปัสสาวะเพิ่มมากขึ้น (Wu et al,1993) จากการที่เคยมีการศึกษาในคนที่เป็นพยาธิใบไม้ในตับ พบว่ามีขบวนการไนโตรเซชันเกิดขึ้นภายในร่างกายและมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งในท่อน้ำดี (Srivatanakul et al, 1991) นอกจากนี้ยังพบว่าในหนูถีบจักรที่ได้รับเชื้อ dengue virus ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิด cytotoxic factor ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสร้างไนไตรท์ขึ้นในม้ามหนู (Misra,Mukerjee and Chaturvedi,1996)

นอกจากนี้ยังพบว่าไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในบรรยากาศที่เกิดขึ้นจากขบวนการ combustion ที่อุณหภูมิสูงๆ เป็นสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็ง โดยพบว่ากระต่ายที่ได้รับไนโตรเจนไดออกไซด์มีระดับไนเตรทและไนไตรท์ในเลือดและในปัสสาวะสูง นอกจากนี้ในหนูขาวที่ได้รับไนโตรเจนไดออกไซด์ผ่านทางระบบทางเดินหายใจก็มีระดับไนเตรทในปัสสาวะสูงขึ้นเช่นกัน ไนโตรเจนไดออกไซด์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบของเนื้อเยื่อที่เป็นตัวออกซิไดซ์ เช่น โปรตีน ไขมัน เอมีน เพื่อที่จะเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ได้ (Saul and Archer,1983) การสร้างไนเตรทและไนไตรท์ภายในร่างกายเกิดจากการออกซิไดซ์ไนตริกออกไซด์ดังนี้

$$NO_3^- \rightleftharpoons NO_2^- \rightleftharpoons N_2O_4 \rightleftharpoons NO$$

การดูดซึมและการขับถ่าย

การดูดซึมและการขับถ่ายไนเตรทและไนไตรท์มีความแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ ส่วนใหญ่แล้วพบว่าไนเตรทจะถูกดูดซึมจากลำไส้เล็กส่วนต้นได้อย่างรวดเร็ว มีการดูดซึมในกระเพาะอาหารเกิดขึ้นได้น้อยและกระจายสู่ทั่วร่างกาย (body fluid) ได้อย่างรวดเร็ว ในคนพบว่ามีการขับถ่ายไนเตรทออกทางปัสสาวะประมาณ 65 - 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไนเตรทที่ได้รับเข้าไป และประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ที่ถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะมีในรูปของแอมโมเนียและยูเรีย การขับถ่ายไนเตรทออกทางน้ำลาย 25 เปอร์เซ็นต์ของไนเตรทที่ได้รับเข้าไป แต่ก็ขึ้นอยู่กับความแตกต่างตามสภาวะของแต่ละคน ในหนูขาวไม่พบการขับถ่ายของไนเตรททางน้ำลายแต่พบ

ว่ามีการขับถ่ายทางปัสสาวะและอุจจาระในรูปของยูเรียและแอมโมเนียประมาณ 11 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไนเตรทที่ได้รับ ส่วนในสุนัขมีการขับถ่ายไนเตรททางน้ำลายและน้ำดี

สำหรับไนไตรท์แล้วการดูดซึมจะมีความแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ พบว่าไนไตรท์ถูกดูดซึมบริเวณลำไส้เล็กในหนูถีบจักรได้ดีกว่าในหนูขาว (Walker,1996) จากการศึกษาในปลา crayfish (*Astacus astacus*) ที่ได้รับไนไตรท์ พบว่าไนไตรท์ส่วนหนึ่งถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนเตรท และอีกส่วนหนึ่งถูกขับออกจากร่างกายโดยผ่านทางเหงือกและทางปัสสาวะ (Jensen,1996)

ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของไนไตรท์และไนเตรท

ในธรรมชาติไนไตรท์มีอยู่ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม ไนไตรท์เป็นสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอมโมเนียเป็นไนเตรท โดยปกติความเข้มข้นในน้ำธรรมชาตินอ้ยกว่า 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตรแต่ในบางโอกาสความเข้มข้นของไนไตรท์อาจจะสูงขึ้นและมีผลทำให้เกิดพิษแก่สัตว์น้ำได้ เพราะว่าในการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียไปเป็นไนเตรทในสิ่งแวดล้อมนั้นเกิดจากแบคทีเรีย 2 ชนิด และถ้ามีปัจจัยบางอย่างที่มีผลต่อแบคทีเรียนี้ก็อาจนำไปสู่การสะสมของไนไตรท์ในสิ่งแวดล้อมได้ เช่น แบคทีเรีย *Nitrobacter spp.* ซึ่งทำการเปลี่ยนไนไตรท์ไปเป็นไนเตรทจะมีความไวต่อ unionized ammonia มากกว่า *Nitrosomonas spp.* ซึ่งช่วยเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์ ฉะนั้นในภาวะที่เป็นกรดมีปริมาณแอมโมเนียอิออนมากขึ้นมีผลทำให้การทำงานของ *Nitrobacter spp.* ลดลง ทำให้การเปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนเตรทลดลงจึงเกิดการสะสมของไนไตรท์ในสภาวะแวดล้อมเพิ่มขึ้น การพบไนไตรท์ปริมาณสูงในธรรมชาตินั้นเป็นสิ่งเตือนถึงความผิดปกติของธรรมชาติ โดยทั่วๆ ไปแล้วไนไตรท์จะสะสมอยู่ในส่วนที่ลึกของแหล่งน้ำมากกว่าบริเวณผิวน้ำ และอาจจะพบได้ที่บริเวณผิวน้ำเมื่อมีการไหลหรือเกิดการหมุนเวียนของน้ำ (Lewis and Morris, 1986)

pH มีผลต่อความเป็นพิษของไนไตรท์ จากการศึกษาของ Huey,Beitinge และ Wooten (1984) ที่ได้ทำการศึกษาในปลาดุก (*Channel catfish*) โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปรับ pH ของน้ำที่ปลาดุกสัมผัสกับไนไตรท์ขนาด 0.76 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง พบว่าในน้ำที่เป็นด่าง (pH 9.1) แสดงความเป็นพิษของไนไตรท์ที่วัดจากการเกิดเมทฮีโมโกบินสูงในเลือดน้อยกว่าในน้ำที่เป็นกรด (pH 5.3)

จากการศึกษาของ Crawford และ Allen (1977) ในปลาน้ำเค็ม *Chinook salmon* พบว่าความเป็นพิษของไนไตรท์ขึ้นอยู่กับความเค็มของน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ และพบว่าความเข้มข้นของ

ไนไตรท์ที่ทำให้ปลาทะเลตายสูงกว่าในปลาน้ำจืด 50 ถึง 100 เท่า ทั้งนี้เกิดจากคลอไรด์ในน้ำเค็มแย่งกับไนไตรท์ในการเข้าสู่ตัวปลา โดยที่อัตราส่วนของคลอไรด์ 16 อิออนต่อไนไตรท์ 1 อิออน และจากการศึกษาในปลาดุก *Channel catfish* โดยให้สัมผัสกับไนไตรท์ขนาด 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง พบว่าทำให้เกิดเมทธิลโมโกลบินในเลือดสูง 20.7, 59.8 และ 77.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อให้โซเดียมคลอไรด์ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับไนไตรท์ในขนาดเท่าเดิม พบว่าไม่มีเมทฮีโมโกลบินเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามการให้ปลาดุกสัมผัสกับโซเดียมคลอไรด์ก่อนที่จะสัมผัสกับไนไตรท์ โซเดียมไม่สามารถยับยั้งการเกิดเมทฮีโมโกลบินได้ แสดงว่าโซเดียมคลอไรลดความเป็นพิษของไนไตรท์ได้โดยการแย่งกับไนไตรท์ในการผ่านเข้าสู่ตัวปลาทางเหงือก (Tomasso et al,1980) ผลที่ได้จากการศึกษาในกุ้ง *Macrobrachium recentergii* ก็เป็นเช่นเดียวกันกับในปลา ที่พบว่าคลอไรด์มีผลทำให้อัตราการตายจากการสัมผัสไนไตรท์ของกุ้งลดลง (Chen and Lee,1997) นับว่าคลอไรด์เป็นอิออนที่สำคัญในการลดความเป็นพิษของไนไตรท์ นอกจากนี้ยังมีอิออนอื่นๆ อีกที่มีผลลดความเป็นพิษของไนไตรท์ เช่น โบรไมด์ จากการศึกษาของ Eddy, Kunzlik และ Bath (1983) พบว่าโบรไมด์ขนาด 80 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเกิดพิษจากไนไตรท์ขนาด 32 มิลลิกรัมต่อลิตรในปลา salmon ได้ ไบคาร์บอเนตก็เป็นอีกอิออนหนึ่งที่มีความสำคัญที่ใช้ลดความเป็นพิษจากไนไตรท์ได้ โดยที่พบในปริมาณสูงในน้ำจืด Bath และ Eddy (1980) พบว่าไนไตรท์ขนาด 9.8 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลา rainbow trout ตาย 90 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อมีไบคาร์บอเนตขนาด 152 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถลดอัตราการตายของ rainbow trout ได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีอิออนอื่นๆ อีกเช่น แมกเนเซียมซัลเฟต โปตัสเซียมซัลเฟต ที่มีผลลดความเป็นพิษของไนไตรท์ได้เช่นกัน

ออกซิเจนและอุณหภูมิก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความเป็นพิษของไนไตรท์ Borser และคณะ (1983) พบว่าปริมาณออกซิเจน 15 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่เพียงพอสำหรับปลาดุก (*Channel catfish*) ในสิ่งแวดล้อมที่มีไนไตรท์อยู่ด้วย ในขณะที่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีไนไตรท์ปลาดุกสามารถอยู่ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำกว่านี้ โดยเหตุที่พบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้ความต้องการออกซิเจนของเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นในที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ความเป็นพิษของไนไตรท์เพิ่มขึ้น โดยพบว่าความเข้มข้นของไนไตรท์ที่ทำให้ปลาตายครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ลดลง เช่นเดียวกับที่มีการศึกษาในปลา flatfish *(paralichthys orbignyanus)* พบว่าในฤดูหนาวไนไตรท์ขนาด 60 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลาตายหมด แต่ในฤดูร้อนไนไตรท์ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้นที่ทำให้ปลาตายหมดจากการสัมผัสไนไตรท์นาน 96 ชั่วโมง (Biachini et al,1996) และ

ในปลาดุกที่สัมผัสไนไตรท์ขนาด 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าเกิดเมทฮีโมโกลบิน 1.88, 2.18 และ 3.42 เปอร์เซ็นต์ในที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 30 องศาเซลเซียสตามลำดับ แสดงว่าการเกิดพิษของไนไตรท์เป็นไปตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Huey et al,1984) ดังนั้นในสิ่งแวดล้อมที่มีปริมาณออกซิเจนสูง อุณหภูมิต่ำ และมีการเมตาบอลิสมน้อยจะทำให้เกิดความเป็นพิษของไนไตรท์น้อยลง

ขนาดของปลาก็เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดพิษของไนไตรท์ จากการศึกษาของ Smith และ Williams (1974) ในปลา rainbow trout พบว่าปลาตัวเล็กมีความไวต่อไนไตรท์น้อยกว่าปลาตัวใหญ่เช่นเดียวกับการศึกษาของ Russo,Smith และ Thurston (1974) พบว่าปลา rainbow trout ตัวอ่อนมีความไวต่อความเป็นพิษของไนไตรท์น้อยกว่าปลาตัวใหญ่ ซึ่งผลการศึกษาที่ตามมาของ Russo และ Thurston (1977) ก็สนับสนุนว่าปลา rainbow trout ที่ตัวใหญ่กว่าจะมีความไวต่อความเป็นพิษของไนไตรท์มากกว่าปลาตัวเล็ก

นอกจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นแล้ว ชนิด สายพันธุ์ อายุ และ ระยะเวลาที่สัมผัสกับไนไตรท์ก็มีผลต่อการเกิดพิษของไนไตรท์แตกต่างกันไป นอกจากปลาดุกจะมีความไวต่อไนไตรท์แล้ว ปลา salmonids, ปลากะพง (logperch) และ ปลา *Brook stickleback* ก็ไวต่อไนไตรท์ แต่ปลาจำพวก cyprinids, catostomids และปลา *Black bullhead* มีความไวต่อการเกิดพิษของไนไตรท์น้อย (Lewis,JR. and Morris,1986) ในคนก็เช่นกันเด็กทารกที่มีอายุต่ำกว่า 60 วัน จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดพิษของไนไตรท์สูงกว่าในเด็กทารกที่มีอายุมากกว่า นอกจากนี้สัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีกระเพาะอาหาร 2 กระเพาะจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดพิษของไนไตรท์สูงกว่าสัตว์ที่มีกระเพาะเดียว (Kaneene,1993)

ผลกระทบของไนไตรท์และไนเตรทต่อสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม

สัตว์น้ำได้รับอิออนต่างๆ โดยผ่านทางอาหารและผ่านทางคลอไรด์เซลล์ที่เหงือก จากการที่ Eddy,Kunzlik และ Bath (1983) พบว่าปลาน้ำจืดมีความเข้มข้นของไนไตรท์ในเลือดสูงกว่าในสิ่งแวดล้อมถึง 10 เท่าแสดงว่ามีการปั๊มไนไตรท์เข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางคลอไรด์เซลล์ บางส่วนของไนไตรท์ในน้ำจะรวมกับไฮโดรเจนอิออนเป็นกรดไนตรัส (HNO_2) ซึ่งไม่มีขั้ว (non polar) ไม่สามารถเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำโดยผ่านทางคลอไรด์เซลล์แต่กรดไนตรัสที่เป็น non polar จะละลายได้ดีในไขมัน จึงเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำได้โดยการซึมผ่านทาง epithelial cell

(Hunn and Allen,1974) แล้วมีการเปลี่ยนกรดไนตรัสไปเป็นไนไตรท์ และเข้าสู่พลาสมา หลังจากนั้นมีการแพร่เข้าสู่เม็ดเลือดไปออกซิไดซ์เหล็กในฮีมทำให้เกิดเมทฮีโมโกลบิน ทำให้ความสามารถของเม็ดเลือดแดงในการจับออกซิเจนในกระแสเลือดลดลง ซึ่งสังเกตได้จากเลือดและเหงือกปลาจะมีสีน้ำตาล พบว่าปลาที่มีปริมาณการเกิดเมทฮีโมโกลบินในเลือดสูงถึง 70-80 เปอร์เซ็นต์ จะแสดงอาการออกมาเช่น ซึม และถ้าปลาที่มีเมทฮีโมโกลบินในเลือดสูงมีอาการตกใจ เคลื่อนไหวมาก อาจทำให้ปลาตายเนื่องจากการขาดออกซิเจนได้ (Lewis et al,1986)

นอกจากนี้ไนไตรท์ยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสัตว์ Wedemeyer และ Yassutake (1978) ทำการศึกษาใน *Stead head* อายุ 6 เดือน พบว่าไนไตรท์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Stead head* จากการทดลองทำนองเดียวกันของ Bowse และคณะ (1983) พบว่าความเข้มข้นของไนไตรท์เพียง 1 ใน 5 ส่วนของความเข้มข้นที่ทำให้ปลาดุกตายครึ่งหนึ่งภายหลังสัมผัสนาน 96 ชั่วโมง (LC_{50} ,96 h) มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของปลาดุก ผลแบบเดียวกันนี้สามารถพิสูจน์ได้ด้วยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเช่น จากการศึกษาในหนูขาวที่ให้สัมผัสไนไตรท์ตั้งแต่ระยะตั้งครรภ์และระยะให้นมลูก พบว่าอัตราการตายของหนูแรกเกิดมีเพิ่มขึ้น นอกจากนี้หนูที่เกิดมายังมีน้ำหนักตัวน้อยและมีพัฒนาการที่ช้ากว่าปกติ (Vorhees et al,1984)

Til, Kupe และ Falke (1997) ทำการศึกษาในหนูขาวโดยให้โซเดียมไนไตรท์และโปรตัสเซียมไนไตรท์ พบว่าโซเดียมไนไตรท์ขนาด 2,432 มิลลิกรัมต่อลิตรและโปตัสเซียมขนาด 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้หนูกินอาหารน้อยลง น้ำหนักตัวลดลง แต่ไตมีน้ำหนักมากขึ้น ในหนูเพศผู้มีระดับฮอร์โมนอัลโดสเตอโรน คอร์ติโคเสตรียโรน ในพลาสมาลดลง และในหนูเพศเมียมีระดับฮอร์โมนคอร์ติโคเสตรียโรนในพลาสมาลดลงเช่นกัน และยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของต่อมอะดรีนัลโดยที่บริเวณ adrenal zonaglomerulosa มีขนาดโตขึ้น

Chen และ Cheng (1995) ทำการศึกษาในกุ้ง *(Penaeus japonicus)* พบว่าไนไตรท์มีผลรบกวนกระบวนการการเมตาบอลิสมของโปรตีนและระบบหายใจ โดยมีระดับโปรตีน และ oxyhemocyanin ลดลง และจากการศึกษาในกุ้งเช่นกันหลังจากได้สัมผัสกับไนไตรท์ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 72 ชั่วโมง ซึ่งมีผลทำให้กุ้งตาย 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีผลทำให้ความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิลดลง (Alcaraz, Carrara and Vaneus,1997) เช่นเดียวกับในปลาดุก *(Ictalurus punctalus)* ที่สัมผัสกับไนไตรท์มีความทนต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นลดลง (Watenpaugh, Beitinge and Huey,1985)

จากการศึกษาของ Wedemyer และ Yasutake (1987) ใน Rainbow trout ที่ให้สัมผัสกับไนไตรท์ในขนาดความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตายนาน 3 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อของเหงือกมี

การเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ต่อมไธมัสและเม็ดเลือดไม่มีการถูกทำลาย แต่พบว่าที่ตับมีการเปลี่ยนแปลงของไมโตคอนเดรียและการสะสมไกลโคเจนในตับลดลง ที่ไตมีการเปลี่ยนแปลงของท่อไตส่วนต้นโดยมีจุดใสๆ (hyaline droped) เกิดขึ้น (Arillo et al,1984) สำหรับในจอตา (retina) เกิดการตายของเนื้อเยื่อจอตาซึ่งอาจเกิดจากการขาดออกซิเจน ส่วนในสมองพบว่ามีการเพิ่มอัตราการไหลเวียนของเลือดซึ่งอาจเกิดจากการชดเชยที่มีการขาดออกซิเจน (Gatumu,1994)

จากการศึกษาของ Margioccoc และคณะ (1983) ใน Rainbow trout ที่พบว่ามีการสะสมไนไตรท์ตามอวัยวะที่สำคัญ เช่น ในตับ สมอง ซึ่งจะทำให้กระบวนการเมตาบอลิสมสารภายในร่างกายต่างๆ ผิดปกติไปได้ เนื่องจากไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับกลุ่มไนไตรโซ (NH_2) และ ไธออล (Thiol, SH) ได้เป็นอย่างดีซึ่งอาจจะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์หลายๆ ชนิดและก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ การทดลองใน Rainbow trout ที่สัมผัสไนไตรท์ขนาด 450 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 72 ชั่วโมง พบว่าการทำงานของเอ็นไซม์ protease ลดลง และมีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มของ lysosome จากการทำปฏิกิริยาของไนไตรท์กับกลุ่มไธออลหรือกรดอะมิโนที่โปรตีนของเยื่อหุ้ม lysosome ทำให้ lysosome มีความไวต่อ osmotic chock และถูกทำลายได้ง่าย (Mensi et al,1982)

เป็นที่สนใจกันอย่างมากถึงผลของไนไตรท์ต่อการเกิดมะเร็ง เนื่องจากไนไตรท์สามารถทำปฏิกริยากับเอมีนในร่างกายทำให้เกิดเป็นไนโตซามีนโดยเฉพาะไดเมทธิลไนโตรซามีน (DMN) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญ Inui และคณะ (1979) ทำการศึกษาในหนู hamters ที่ตั้งครรภ์และให้กินโซเดียมไนไตรท์เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับไนไตรท์และกลุ่มที่ได้รับไดเมทธิลไนโตรซามีน พบว่าโซเดียมไนไตรท์เป็นอันตรายต่อตัวอ่อนในครรภ์คือมีการสร้างไมโครนิวเคลียสมากกว่าในกลุ่มควบคุมถึง 3 เท่า ซึ่งมีผลเท่ากับกลุ่มที่ได้รับไดเมทธิลไนโตรซามีน การทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่าไนไตรท์มีผลต่อการเกิดมะเร็งและมีการกลายพันธุ์ของตัวอ่อน

จากการศึกษาของ Pauson (1987) พบว่าไนไตรท์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของยาซัลฟาไดอะซีนโดยทำปฏิกิริยากับยาซัลฟาไดอะซีนในกระเพาะอาหารเปลี่ยนเป็นเมตาบอไลท์ desaminosulfadiazine โดยให้ลูกวัวกินยาซัลฟาไดอะซีนร่วมกับไนไตรท์พบสารเมตาบอไลท์ desaminosulfadiazine ในเลือดจำนวนมาก แต่ในลูกวัวที่กินยาซัลฟาไดอะซีนร่วมกับไนเตรทไม่พบ desaminosulfadiazine เนื่องจากในช่องปากลูกวัวไม่มีเอ็นไซม์ไนเตรทรีดักเตสที่ทำการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ และจากการให้หนู quinea pig กินซัลฟาไดอะซีนก็ตรวจพบสาร

desaminosulfadiazine ในเลือดจำนวนมากเช่นกันแต่ไม่พบ desaminosulfadiazine ในหนูที่ฉีดซัลฟาไดอะซีนเข้ากล้าม

ผลของไนไตรท์ต่อระดับไซโตโครมพี 450 จากการศึกษาของ Shoun,Suyama และ Yasui (1989) โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *(Fusarium oxysporum)* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไนไตรท์หรือไนเตรทเป็นส่วนประกอบนั้นพบว่ามีระดับไซโตโครมพี 450 เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะ soluble cytochrome P450 ซึ่งแสดงว่าไนไตรท์มีผลในการเหนี่ยวนำ soluble cytochrome P450 เช่นเดียวกับ Choun, Suyama และ Kim (1991) ทำการศึกษาผลของไนไตรท์ในการเหนี่ยวนำไซโตโครมพี 450 เช่นกันโดยทำในเชื้อรา และพบว่าแหล่งไนโตรเจนอื่นๆ เช่น กรดอะมิโน และแอมโมเนียมไม่มีการเหนี่ยวนำไซโตโครมพี 450 ยกเว้นไนไตรท์และไนเตรทเท่านั้นที่มีการเหนี่ยวนำไซโตโครมพี 450 ในเชื้อรา แสดงว่ามีความแตกต่างกันในการเมตาบอลิสมของไนโตรเจนอื่นๆ กับไนไตรท์และไนเตรท แต่สำหรับการศึกษาของ Vlaskina และคณะ (1996) ในหนูขาว พบว่าหนูขาวที่ได้รับอาหารที่ขาดธาตุเหล็กและได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียวหรือได้รับโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับ N- diethylamine พบว่ามีระดับ N - nitrosodiethylamine ในกระเพาะอาหารสูง ฮีโมโกลบินลดลง เมทฮีโมโกลบินเพิ่มสูงขึ้น และมีระดับไซโตโครมพี 450 ลดลง พบว่าไนไตรท์มีผลต่อการยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation ในตับซึ่งจากการศึกษาของ Shertzer และ Duthu (1979) ในกระต่ายยังพบว่าปฏิกิริยา aminopyrine demethylation ถูกยับยั้งได้ด้วยไนไตรท์ จากการศึกษาในหนูถีบจักรที่ได้รับการฉีดโซเดียมไนไตรท์เข้าทางหน้าท้อง พบว่าไนไตรท์ยับยั้งไซโตโครมพี 450 ด้วยเช่นกัน (Kudriavtsev, Dmitrieva and Kuropteva, 1996)

แนวเหตุผลและสมติฐานในการศึกษา

เนื่องจากในปัจจุบันมีความเจริญทางด้านเทคโนโลยี มีการพัฒนาอุตสาหกรรมการเกษตรมากขึ้น ทำให้มีการนำสารเคมีมาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร สารเคมีเหล่านี้ได้แก่ ปุ๋ย และสารกำจัดศัตรูพืช สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้กันมากเป็นสารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมททิลพาราไธออน จัดว่าเป็นสารเคมีตัวหนึ่งที่มีการนำเข้าสูงสุด (ไพฑูรย์ พิศุทธ์ , บุญส่ง หุดังคบดี และ นิยม รัตนพงษ์ , 2537)

เมททิลพาราไธออนเป็นสารกำจัดแมลงที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง และจากการฉีดพ่นทำให้เกิดการฟุ้งกระจายในสิ่งแวดล้อมหรือไหลลงสู่แหล่งน้ำ ถึงแม้ว่าจะไม่มีผลตกค้างเป็นระยะเวลานานอย่างเช่นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ถูกห้ามใช้ไปแล้วก็ตาม อย่างไรก็ตาม

ยังคงพบว่าระยะเวลาที่เมททิลพาราไธออนสลายตัวจากสภาพแวดล้อมยังคงใช้เวลานานเป็นเดือน โดยพบว่าเมททิลพาราไธออนสามารถคงสภาพอยู่ในที่ตะกอนดินในน้ำได้นานเป็นเวลาถึง 2 เดือน หรือมากกว่า เมททิลพาราไธออนสามารถคงสภาพอยู่ได้นานถึง 5 เดือนในสภาพดินที่เป็นกรด pH 3.8 - 4.2 (ฝ่ายจัดการสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ , 2528) นอกจากนั้นเมททิลพาราไธออนยังจัดว่ามีความเป็นพิษค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆ นอกจากการใช้สารเคมีกำจัดแมลงแล้วยังมีการใช้สารเคมีไนเตรทซึ่งเป็นปุ๋ยมาใช้ในทางการเกษตรร่วมด้วย พบว่ามีการตกค้างของไนเตรทในพืชผักค่อนข้างสูงคือสูงกว่า 3,000 ส่วนในล้านส่วน (จงจิตร กฤษณะประกรกิจ , 2531) และมีการปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำ เคยมีรายงานว่าน้ำที่ไหลผ่านพื้นที่ที่ใช้ปุ๋ย มีปริมาณไนเตรทสูงกว่าในบริเวณที่ไม่มีการใช้ปุ๋ย (Sylvester , 1961) ในธรรมชาติไนเตรทจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรท์ได้โดยแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีการนำไนเตรทและไนไตรท์มาใช้ในอุตสาหกรรมและใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารเพื่อรักษาคุณภาพของอาหารโดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ในประเทศไทยกฎหมายอนุญาตให้ใช้ไนเตรทและไนไตรท์ในการถนอมอาหารได้ไม่เกิน 500 และ 200 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีการใช้ไนเตรทและไนไตรท์มากเกินกำหนดในอาหารบางชนิด เช่นเคยพบว่าเนื้อเค็มมีไนเตรทสูงถึง 3,460 และ ไนไตรท์ 288 ส่วนในล้านส่วน(จงจิตร กฤษณะประกรกิจ , 2531)

ทั้งเมททิลพาราไธออนและไนไตรท์สามารถกระจายสู่แหล่งน้ำหรือตกค้างในดิน ในพืชผักและในสิ่งมีชีวิตต่างๆ รวมทั้งสัตว์น้ำ และสามารถถ่ายทอดสู่มนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคขั้นสุดท้ายได้ นอกจากนี้มนุษย์ยังอาจได้รับสารเหล่านี้ได้โดยตรงจากการสัมผัสทางผิวหนัง ทางเดินหายใจ หรืออาจได้รับจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารนี้ในขบวนการผลิตอาหาร เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว เมททิลพาราไธออนจะถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายสิ่งมีชีวิตโดยเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 (Dubois and Kinoshita , 1968) และไนไตรท์สามารถรวมกับเอมีนในร่างกายได้สารประกอบไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (จงจิตร , 2531) ก็ถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายสิ่งมีชีวิตโดยเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 ด้วยเช่นกัน (Kokkinakis et. al , 1985) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าโซเดียมไนไตรท์มีผลยับยั้งปฏิกิริยา demethylation ของ aminopyrine ในไมโครโซมที่เตรียมขึ้นจากตับกระต่าย (Shertzer and Duthu ,1979) โดยเหตุที่ N- demethylation เป็นปฏิกิริยาที่อาศัยการทำงานของระบบ monooxygenase ผลการยับยั้งจึงอาจเกี่ยวข้องกับการทำงานของไซโตครมพี 450 นอกจากนั้นยังพบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้ระดับไซโตโครมพี 450 จากภายนอกร่างกาย

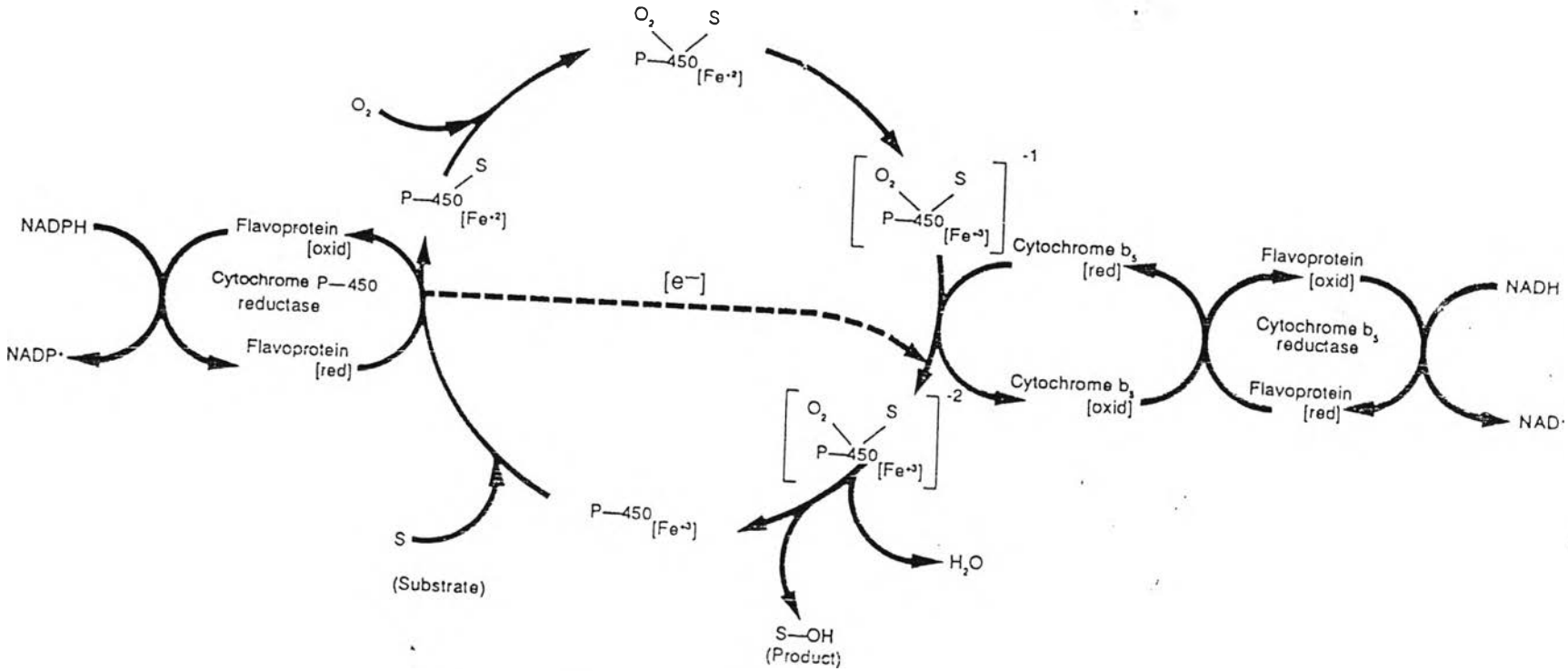
(ประภัสสร, 2538) และภายในร่างกายปลาดุกพันธุ์ผสมลดลง (ฐิติลาวัณย์, 2540) จากผลการศึกษาดังกล่าวพอคาดการณ์ได้บ้างว่าทั้งเมททิลพาราไธออนและไนไตรท์น่าจะมีผลทำให้สมรรถนะในการเปลี่ยนแปลงสารของไซโตโครมพี 450 เปลี่ยนแปลงไป และการเปลี่ยนแปลงสมรรถนะของไซโตโครมพี 450 ก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารทั้งสองชนิดนี้ภายในร่างกายด้วยเช่นกัน โดยเหตุที่ยังไม่มีการศึกษามาก่อนถึงผลร่วมกันของเมททิลพาราไธออนและไนไตรท์ ฉะนั้นจึงมีความสำคัญที่จะต้องทำการศึกษาถึงผลร่วมกันของสารทั้งสองนี้ที่มีผลต่อสมรรถนะของเอ็นไซม์ไซโตโครมพี450 ในการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเกษตรกรที่มีโอกาสสัมผัสกับสารเหล่านี้อยู่เป็นประจำ นอกจากนี้สมรรถนะของไซโตโครมพี 450 ที่เปลี่ยนแปลงไปในปลาดุกยังอาจนำมาใช้เป็นดัชนีวัดสภาวะแวดล้อมที่เป็นพิษของแหล่งน้ำธรรมชาติอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของเมททิลพาราไธออน ผลของโซเดียมไนไตรท์ และผลของเมททิลพาราไธออนร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ ต่อระดับไซโตโครมพี 450, ไซโตโครมพี 420, ไซโตโครมบี 5 และสมรรถนะของไซโตโครมซีรีดักเตสในปลาดุกพันธุ์ผสม

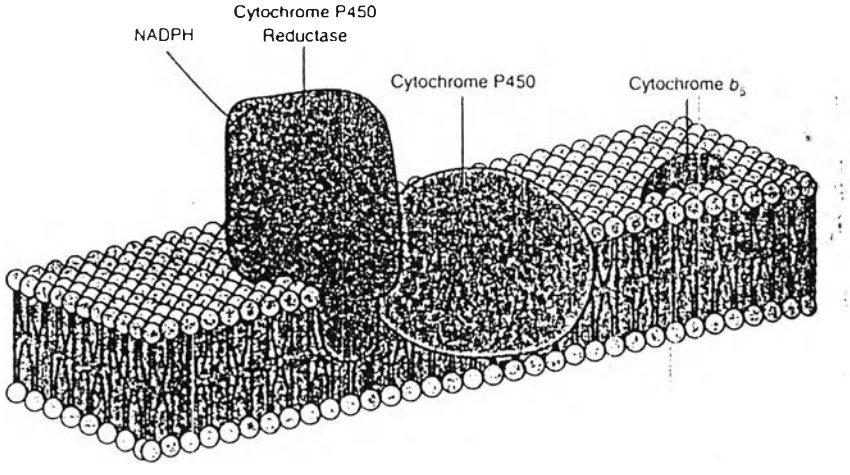
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบถึงผลของเมททิลพาราไธออนและไนไตรท์ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตโครมพี 450, ไซโตโครมพี420, ไซโตโครมบี5 และสมรรถนะของไซโตโครมซีรีดักเตสในร่างกายปลาดุกพันธุ์ผสม
2. เป็นแนวทางพิสูจน์ว่าสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมดังกล่าวอาจมีผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิสมของยาและสารเคมีในสิ่งมีชีวิต เช่น คนและสัตว์
3. สามารถใช้เป็นแนวทางในการทดสอบการปนเปื้อนของสารพิษที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมโดยอาศัยระดับไซโตโครมพี 450, ไซโตโครมพี420, ไซโตโครมบี5 และสมรรถนะของไซโตโครมซีรีดักเตสที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นดัชนีบ่งชี้ความเป็นพิษ

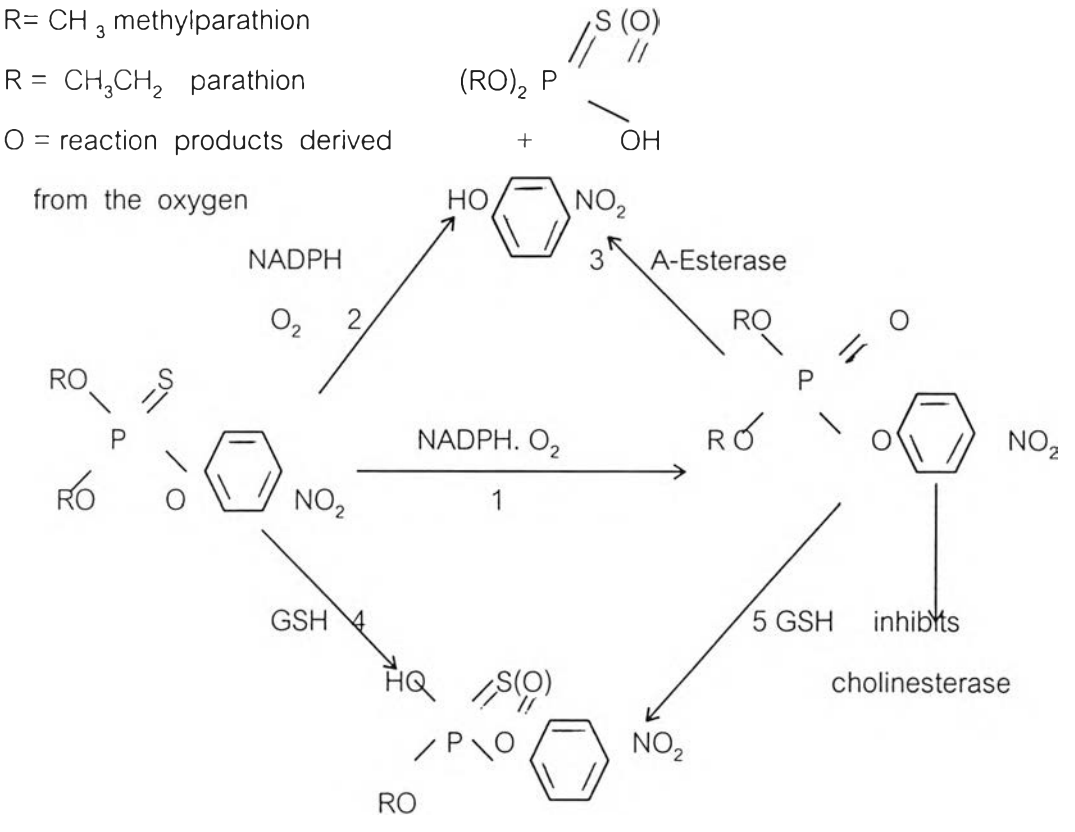


รูปที่ 1 แสดงวงจรการทำงานของไซโตโครมพี 450

(Bethizy and Hayes,1994)



รูปที่ 2 แสดงไซโตโครมพี 450 และไซโตโครมบี 5 ในไมโตคอนเดรีย



รูปที่ 3 แสดงการเมตาบอลิสมของสารปราบศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ตารางที่ 1 แสดงเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ไซโตโครมพี 450	จำนวนสับแฟมิลี	จำนวน isoform	ปฏิกิริยา
CYP 1	1	2	xenobiotic metabolism
CYP 2	8	57	xenobiotic and steroid metabolism
CYP 3	2	10	xenobiotic and steroid metabolism
CYP 4	2	10	fatty acid and ω-1 hydroxylation
CYP 7	1	1	cholesterol 7 α-hydroxylase
CYP 11	2	3	steroid 11β- hydroxylase
CYP 17	1	1	steroid 11α-hydroxylase
CYP 19	1	1	aromatase
CYP 21	1	1	steroid21-hydroxylase
CYP 29	1	1	cholesterol 27 hydroxylase

ตารางที่ 2 แสดงสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450

ไซโตโครมพี 450	สารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์	references
IA1	BNF,3-MC,ACLR,TCDD	(a)
	dioxins,dibenzofurans,methylated xanthines	(b)
IA2	isosafrole,3-MC,BNF,TCDD,ACLR	(a)
	dioxins,dibenzofurans,methylated xanthines	(b)
IIA1	BNF, PB	(a)
IIA2	non inducible	(a)
IIB1	PB,ACLR	(a)
IIB2	PB	(a)
IIB4	PB	(a)
IIC5	PB	(a)
IIC6	PB	(a)
IIC12	non inducible	(a)
IID	non inducible	(a)
IIE1	ethanol,etheer,acetone,dimethyl sulfoxide,pyrazole,4-methylpyrazole	(a)
IIIA1	TCA,pregnenolone,16α-carbonitrile	(c)
IIIA2	PB	(a)
IIIA4	PB,TAO,dexamethasone	(a)
IIIA6	rifampicin	(a)
IVA1	clofibrate ,hypolipidermic agent	(a),(b)
VIA1	PB	(b)

BNF,β-naphthoflavone;3-MC,3-methylcholanthrene;ACLR,aroclor 1254;TCDD,2,3,7,8,-tetrachlorodibenzo-p-dioxin;PB,phenobarbital;TAO,triacetyloleandomycin.

(a),(Murray and Reidy,1990);(b),(Juchau,1990);(c),Wu and Cederbaum,1993

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะการเหนี่ยวนำของสารเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ (Sipes and Gandolfi,1986)

ลักษณะ	กลุ่ม PB	กลุ่ม PAH
ระยะเวลาหลังการสัมผัสถึงเกิดการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ (onset)	8-12 ชั่วโมง	3-6 ชั่วโมง
- เวลาที่เกิดการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์สูงสุด	3-5 วัน	24-48 ชั่วโมง
- ระยะเวลาของการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ (duration)	5-7 วัน	5-12 วัน
- ขนาดของตับ	ขนาดใหญ่ขึ้น	ขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย
- การสังเคราะห์โปรตีน	เพิ่มมากขึ้น	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย
- การสังเคราะห์ phospholipid	เพิ่มมากขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
- การไหลเวียนของเลือดบริเวณตับ	เพิ่มมากขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
- การไหลเวียนของน้ำดี	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
- ระดับเอ็นไซม์ต่างๆ		
ไซโตโครมพี 450	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
ไซโตโครมพี 448	ไม่เปลี่ยนแปลง	เพิ่มขึ้น
ไซโตโครมซีรีดักเตส	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
- ความเฉพาะเจาะจงต่อสับเสตรท		
N- demethylation	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
Aliphatic hydroxylation	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
Polycyclic hydrocarbon hydroxylation	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย	เพิ่มขึ้น
Reduction dehalogenation	เพิ่มขึ้น	ไม่เปลี่ยนแปลง
glucuronidation	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย
glutathion conjugation	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย
Epoxide hydrolase	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย

I18932113

ตารางที่ 4 แสดงสารที่เป็นตัวยับยั้งเอ็นไซม์ไซโตโครมพี 450 (Murray and Reidy,1990)

ไซโตโครมพี 450	สารยับยั้งเอ็นไซม์
IA1	α-Naphthoflavone,ellipticine,9-ydroxyellipticine, 2-Bromo-4-nitro-acetophenone
IA2	α-naphthoflavone,9-hydroxyellipticine
IIB1	Secobarbital,orphenadrine,diphenhydramine, α-α-dichlorotoluene
IIB4	1-(N-Benzylamino)-and1-benzotriazole
IIC5/IIC6	17β-vinyl-and 17β-ethynylandrost-4-ene-3-one
IID	Ajamalicine
IIE1	Diallyl sulfide
IIIA1	Triacetyloleandomycin and er6thromycin
IIIA4	17α-Ethynylestradiol
IVA	terminal acetylenic faffy acids
XIA	(20S)-20-(2-trimethylsilylethyl)-pregn-5-en-3β, 20-diol(22R)-22- Aminocholesterol
XVIIIA1	17β-(cyclopropylamino)-androst-5-ene-3β-ol
XIXA1	4-Acetoxy-,4-hydroxyandrost-4-ene-3, 17-dione and 1,4,6-androstatriene-3,17dione

ตารางที่ 5 แสดงความแตกต่างระหว่างเพศในการเปลี่ยนแปลงสาร

analysis	ratio of male/female
cytochrome P450	1.4
NADPH-cytochrome P450 reductase	1.3
Benzphetamine N- demethylation	5.6
Aniline hydroxylation	5.5