



บทที่ 1

### สืบสวนเอกสาร

เมวินฟอส (mevinphos) และเมทิลพาราไทออน (methyl parathion) เป็นสารเคมีในกลุ่ม organophosphate ที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการกำจัดศัตรูพืช นอกจากนั้นพบว่ามีการใช้สารเคมีกลุ่มนี้ในอุตสาหกรรม เกี่ยวกับกระบวนการผลิตของเหลวไฮโดรลิก เป็นต้น (Windholz et al., 1983) ประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม จำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะสารเคมีในกลุ่ม organophosphate ซึ่งพบว่ามีผู้นำเข้าจากต่างประเทศในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นทุก ๆ ปี จะเห็นได้จาก พ.ศ. 2533 มีปริมาณการนำเข้า 5,390 ตัน หรือประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ของสารเคมีที่ใช้ปราบศัตรูพืชทั้งหมด (กรมวิชาการเกษตร, 2533) จากตัวเลขเหล่านี้จะ เห็นได้ว่า มีการใช้สารเคมีในกลุ่มนี้ในปริมาณที่สูงมาก ทำให้คนไทยเรามีโอกาสสัมผัสกับ organophosphate มากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งจากการที่เราสัมผัสโดยตรงหรือจากการตกค้าง ในสิ่งแวดล้อม การศึกษาเกี่ยวกับผลของ organophosphate เหล่านี้ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายจะทำให้เราทราบถึงฤทธิ์ทางชีวภาพตลอดจนประโยชน์และโทษ ของสารเคมี เหล่านี้และนอกจากนั้นสามารถที่จะเลือกใช้สารเคมีได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย

#### โครงสร้างและสมบัติของเมวินฟอส

chemical name	2-methoxy carbonyl-1-methylvinyl dimethylphosphate
cas no	7786-34-7
systemic name	phosdrin



state at 25 °C	white
melting point	35-36 °C
solubility	alcohol, ketone

ที่มา : Iruing et al., 1981 ; Richard and Gsry., 1994

#### การสะสมของเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออนในสิ่งแวดล้อม

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีความจำเป็นที่จะเพิ่มผลผลิตทางด้านเกษตรให้แก่เกษตรกร ดังนั้นสารเคมีที่ใช้ปราบศัตรูพืชจึงมีบทบาทสำคัญโดยเฉพาะสารเคมีในกลุ่ม organophosphate มีความสามารถในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ดีจึงพบว่ามีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ทำให้สารเคมีเหล่านี้มีโอกาสตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ในปริมาณสูง ไม่ว่าจะเป็นใน พืช ผัก หรือผลไม้ ที่มนุษย์รับประทานประจำวัน ก็มีสารเคมีเหล่านี้ตกค้างอยู่ (Ferreira and Fernandes., 1980) นอกจากนั้นยังพบในห่วงโซ่อาหาร (food chain) โดยที่สารเคมีเหล่านี้กระจายเข้าสู่สิ่งแวดล้อม สะสมในดิน ลงสู่แหล่งน้ำ สะสมในสิ่งมีชีวิตในน้ำ ในสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่กินผลผลิตซึ่งมีสารพิษเหล่านี้ตกค้างอยู่ ก็จะเกิดการสะสมไว้ในร่างกายด้วย ซึ่งก็พบในมนุษย์เราเช่นเดียวกัน Cheng et al., 1994 ได้ศึกษาสารเคมีในกลุ่ม organophosphate ที่ตกค้างในพืช ผัก และผลไม้ พบว่ามีปริมาณ 0.05-0.1 ppm และมีปริมาณค่อนข้างสูงใน แอปเปิ้ล ผักกาดหอม แดงกวา และ องุ่น โดยมีปริมาณ 0.5 ppm ในสัตว์เลี้ยงที่เป็นอาหารของมนุษย์นั้น พบว่ามีการตกค้างของ organophosphate เช่นเดียวกันกับ ผัก ผลไม้ ไม่ว่าจะเป็นสิ่งมีชีวิตในน้ำ กุ้ง ปลา แม้กระทั่งในน้ำนมวัว ซึ่งได้รับรายงานจาก Lino and Silveira., 1992 ได้นำน้ำตัวอย่างนม 21 ตัวอย่างในตลาด และ 4 ตัวอย่างจากนมวัว มาตรวจสอบสารตกค้างพบว่ามีสารเคมีกลุ่มใน organophosphate เช่นเมวินฟอส, เมทิลพาราไธออน นอกจากนั้นในดินและน้ำดื่มก็มี organophosphate ตกค้างอยู่เช่นเดียวกัน (Prathaki et al., 1994) ส่วนการตกค้างของ organophosphate ในมนุษย์นั้น สังเกตได้จาก

การลดลงของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของ เมวินฟอสและเมทิลพาราไอซอน มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ทำให้เอ็นไซม์นี้มีปริมาณลดลงทั้งในพลาสมา และ เม็ดเลือดแดง ( Verberk acetylcholinesterase ในเกษตรกรในรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกาในช่วง 9 เดือนแรกของปี 1985 จำนวน 542 รายพบว่า 26 ราย หรือ 4.8 เปอร์เซ็นต์มีระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ลดลงทั้งในพลาสมาและเม็ดเลือดแดง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Coxe et al., 1986 ซึ่งพบว่าระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในเกษตรกร 31 คน ที่เก็บผักกาดหอมในสวนที่ใช้เมวินฟอสในการปราบศัตรูพืช มีการลดลงของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในพลาสมา 15.6 เปอร์เซ็นต์ และในเม็ดเลือดแดง 5.6 เปอร์เซ็นต์

#### ความเป็นพิษของเมวินฟอสและเมทิลพาราไอซอน

ความเป็นพิษของเมวินฟอส พบว่า ทำให้หนูตายภายใน 50 (acute oral LD<sub>50</sub>) ในระดับความเข้มข้น เท่ากับ 3-4.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนเมทิลพาราไอซอนมีค่า LD<sub>50</sub> ที่ความเข้มข้นในหนูตาย 14 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม (Gaines., 1960 และ ESCAP., 1991)

#### ผลของเมวินฟอสและเมทิลพาราไอซอนต่อเมตาบอลิซึม

เมวินฟอสและเมทิลพาราไอซอนหลังจากเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสมบัติที่เซลล์ตับ จากการรายงานของ Reddy and Rao., 1990 พบว่าเมทิลพาราไอซอนยังไปเพิ่มขนาดการ gluconeogenesis ลดการสะสมไขมัน และ โทเลสเคออล ในกิ้ง Hepenaeus monoceros และพบว่าเพิ่มการสังเคราะห์

urea, glutamine, ammonia นอกจากนั้นจากการรายงานของ Tripathi and Shukla., 1990 พบว่า sublethal dose (ความเข้มข้นที่ทำให้สิ่งมีชีวิตเกือบเสียชีวิต) ของเมทิลนาราไรโซอนสามารถลด activity ของเอนไซม์ในตับและกล้ามเนื้อของปลาพวก catfish (Clarias batrachus) เอนไซม์ดังกล่าวเช่น cytoplasmic malate dehydrogenase, mitochondria malate dehydrogenase, lactate dehydrogenase จะลดลงประมาณ 30-49 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาระดับ ultrastructure ไม่พบ glycogen granules แต่มี smooth endoplasmic reticulum จำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Prasada et al., 1985 พบว่าปลาน้ำจืด (Tilapia mossambicus) ที่ได้รับ sublethal dose ของเมทิลนาราไรโซอน มีการลดลงของเอนไซม์ succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase, cytochrome C oxidase นอกจากนั้น ยังมีการใช้ออกซิเจนลดลงด้วย ในเนื้อเยื่อของอวัยวะอื่นๆ เช่น กล้ามเนื้อ, เหงือก, ตับ และ สมองพบว่ามีการ turnover ของ ATP ลดลงและปริมาณ glucose ในเนื้อเยื่อก็ลดระดับลงเช่นเดียวกัน (Rao and Rao., 1987) แต่จะเพิ่มส่วนประกอบของ soluble protein และเพิ่ม activity ของเอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase เพิ่มการใช้พลังงานโดยมี amino transferase สูง ในเนื้อเยื่อของ เหงือก, ตับ, สมอง (Prasada and Ramana., 1984(a)) นอกจากนั้น ในไตก็ยังพบว่าเมวินฟอส มีความสามารถยับยั้งการทำงานของ  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase ด้วย (Brown and Sharma., 1976) แต่อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Jabbar et al ปรก โดยให้เมทิลนาราไรโซอน สัปดาห์ละครั้ง เข้าทางเส้นเลือดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าภายใน 24 ชั่วโมง และภายใน 1 เดือน เมทิลนาราไรโซอนไปมีผลเพิ่ม specific activity ของเอนไซม์ในตับเช่น acid phosphatase, alkaline phosphatase และ glutamate pyruvate transaminase แต่พบเมื่อระยะเวลา 1 เดือน

### ผลของเมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอนต่อโครโมโซม

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าทั้งเมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอน กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซม จากรายงานของ Tripathy et al., 1987 พบว่าเมทิลพาราไอธอน มีผลทำให้เซลล์ร่างกายและเซลล์สืบพันธุ์ของแมลงหวี่เพศผู้เกิดการกลายพันธุ์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Rupa et al., 1991 ที่ได้นำเม็ดเลือดขาวจากผู้ชาย 61 คน ที่ได้รับทั้งเมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอนจากการปราบศัตรูพืชในไร่ฝ้าย พบมีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม เช่น โครโมโซมเกิดการแตกหัก และอัตราการแบ่งเซลล์ก็จะลดลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Griffin and Hill., 1978; Singh et al., 1984; Rupa et al., 1989, 1990; Mathew et al., 1990; Sunilkumar et al., 1993; Vijayaraghavan and Nagarajan., 1994

### ผลของเมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอนต่อระบบประสาท

เมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอน มีพิษต่อสัตว์และคนไม่ว่าจะได้รับจากการสัมผัส การกินหรือการหายใจ เมื่อเข้าสู่ร่างกาย พบว่าจะไปมีผลต่อระบบประสาทโดยมีผลยับยั้งเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ซึ่งจะทำให้ไม่สามารถทำลาย acetylcholine ได้ ทำให้การส่งกระแสความรู้สึกของระบบประสาท ดำเนินติดต่อกันโดยไม่มีที่หยุด เกิดอาการกล้ามเนื้อชักกระตุกและตายในที่สุด นอกจากนี้พบว่าสารทั้งสองชนิดทำให้ระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ลดลงดังรายงานของ Schoor and Brausch., 1980 ที่ได้ศึกษาผลของเมทิลพาราไอธอนต่อระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเช่น ในกิ้ง (*Penacus duorarum*) โดยวัดใช้ความเข้มข้นของเมทิลพาราไอธอน 1.3 ไมโครกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ที่ใช้เลี้ยงกิ้ง หลังจากทดลองในเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในบริเวณ nerve cord ลดลง ในสัตว์ชนิดอื่น ๆ เมื่อได้รับเมวินฟอสและเมทิลพาราไอธอน ก็พบการลดลงของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase เช่นเดียวกันดังการรายงานของ Palmer., 1978 พบว่าเมทิลพาราไอธอนสามารถลดระดับเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในลูกวัว

แรกเกิดและวัยอายุ 2-3 ปี ในคนเราก็เช่นเดียวกันจากการรายงานของ Verberk., 1977 ที่ศึกษาระดับของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase หลังจากให้เมวินฟอสท์ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ในผู้ชาย อายุ 20-30 ปี น้ำหนัก 65-85 กิโลกรัม จำนวน 8 คน พบว่าเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในพลาสมา ลดลง 13 เปอร์เซ็นต์ และในเม็ดเลือดแดงลดลง 19 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (Ames et al., 1989) นอกจากนี้ยังพบว่าเมวินฟอสท์ มีความสามารถลดการเคลื่อนที่ของ motor fiber (Verberk and Salle., 1977) การทำงานของ ganglions neurons เสียไป ซึ่งมีผลต่อเนื่องถึง photo receptor (Carricaburu et al., 1981) ยับยั้ง GABAergic ของระบบประสาทส่วนกลาง ตลอดจนมีการยับยั้งการทำงานของ neurotransmitter (Mahaboob and Nayeemunisa., 1993) มี ganglioside, glycogen ลดลงใน brain และ spinal cord (Khan et al., 1988) เป็นต้น

#### ผลของเมวินฟอสท์และเมทิลพาราไทธอนต่อการสืบพันธุ์

การศึกษาผลของเมวินฟอสท์และเมทิลพาราไทธอนต่อการสืบพันธุ์นั้นได้รับรายงานจาก Haider and Upahyaya., 1985 ได้ศึกษาผลของ chronic sublethal dose ของเมวินฟอสท์ ต่อการเจริญเติบโตของไข่มุกปลา Mystus vittatus โดยการเลี้ยงในน้ำที่ความเข้มข้นของเมวินฟอสท์ 0.12 ppb(v/v) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมวินฟอสท์ไปทำให้ gonado somatic index ลดลงและยับยั้งขบวนการ vitellogenesis ของไข่มุก ซึ่ง Haider and Upahyaya., 1986 ได้ศึกษาเพิ่มเติมมีการทดลองใน in vitro โดยการนำไข่มุกของ Mystus vittatus มาเลี้ยงร่วมกับเมวินฟอสท์ซึ่งมีความเข้มข้น 0.1, 0.01, 0.001 ppb ร่วมกับฮอร์โมนลูทีไนซิง (LH) ในปริมาณ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับการทดลองที่ผ่านมา คือเมวินฟอสท์ยับยั้ง LH ที่เข้ากระตุ้นให้เกิด germinal vesicle breakdown นอกจากนี้ผลของเมทิลพาราไทธอนต่อตัวอ่อนของไข่มุกพบว่าไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง activity ของ  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{++}$  และ ATPase



(Basha and Nayeemunisa., 1993) โดยมีผลต่อการพัฒนาการของ embryo ไก่ (Misawa et al., 1981; Varnagy., 1981) ซึ่งสอดคล้องกับผลงานของ Varnagy and Deli., 1985 ซึ่งได้รายงานว่าเมทิลพาราไธออนสามารถลดน้ำหนักของร่างกายและพบความผิดปกติในการพัฒนาการของตัวอ่อน จึงพบการตายของตัวอ่อน นอกจากนี้ Kumar and Devi., 1992 ยังพบว่าเมทิลพาราไธออน มีความสามารถขัดขวางการเจริญเติบโตของตัวอ่อน โดยมีผลลด ความยาวและน้ำหนักตัว, ความยาวกระดูกขา ในสิ่งมีชีวิตอื่นก็เช่นเดียวกัน จากการรายงานของ Gupta et al., 1984 ได้ศึกษาในหนูแรทที่ท้องได้รับ เมทิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ตั้งแต่วันที่ 6-15 หรือ 19 ของการตั้งท้อง พบการลดลงของ โปรตีน และกรดอะมิโนในสมองส่วนต่าง ๆ หลายบริเวณ, เนื้อเยื่อของรก โดยพบมากในวันที่ 19 ของการตั้งท้อง นอกจากนี้ยังพบว่า เมทิลพาราไธออนมีผลต่อสัตว์เพศผู้ซึ่งมีผลต่อตัวสุจิ จากการรายงานจาก Mathew et al., 1992 ได้ศึกษาผลของเมทิลพาราไธออนต่อการเปลี่ยนแปลงของตัวสุจิของหนู mice โดยใช้ความเข้มข้นของเมทิลพาราไธออนเท่ากับ 75, 37.5, 18.75, 9.37 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม โดยการให้ครั้งเดียวหลังจากนั้นจะดูความผิดปกติของตัวสุจิ ในสัปดาห์ที่ 1 และ 5 พบว่าตัวสุจิ มีความผิดปกติ ทุกขนาดที่ให้ และจะพบมากขึ้นเมื่อขนาดที่ให้มากขึ้น ในคนเราก็เช่นเดียวกันโดยได้รับรายงานจาก Draper and Street 1989 ได้ศึกษาคนปวสที่เป็นผู้หญิง 35 คน ที่ทำงานในส่วนกระหล่ำดอกที่มีการใช้เมวินฟอส ในการปราบศัตรูพืช ในกลุ่มผู้หญิงท้องพบว่าเมื่อคลอดลูกออกมาจะเกิดอาการอ่อนแอและพบว่ามีการเสียชีวิตส่วนมากเมื่ออายุ 14 วัน

เนื่องจากเอ็นไซม์ acetylcholinesterase เป็นเอ็นไซม์ที่พบในระบบประสาทส่วนกลาง และระบบประสาทส่วนกลางมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการทำงานของไฮโปทาลามัส ในการหลั่งฮอร์โมนไปควบคุมการสร้างและหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง ส่วนหน้าหลายชนิดรวมทั้งที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ ไฮโปทาลามัสจะสร้างและหลั่ง gonadotropinreleasing hormone (GnRH) ไปควบคุมการสร้างและหลั่ง



luteinizing hormone (LH) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า โดยที่ LH มี target cell อยู่ที่ Leydig cells จะไปกระตุ้น Leydig cell โดยผ่านกลไกทาง CAMP ให้สร้างและหลั่งเทสโทสเตอโรน โดยที่เทสโทสเตอโรนนั้นมีหน้าที่ควบคุมกระบวนการสร้างตัวอสุจิ (Simonovic et al., 1974; Kalra and Kalra., 1983; French et al., 1990; Frayne and Nicholson., 1995)

จากการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งไม่มีรายงานว่าเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเทสโทสเตอโรนแต่อย่างใด แต่จะพบว่ามีคุณสมบัติยับยั้งเอ็นไซม์ acetylcholinesterase (Verberk., 1977 ; Ames et al., 1989) และทำให้ตัวอสุจิมีความผิดปกติ (Mathew et al., 1992) ดังนั้นในการศึกษารังนี้จึงสนใจที่จะศึกษาว่าผลต่อเนื่องของเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออน ที่มีผลต่อระบบประสาท จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเทสโทสเตอโรนหรือไม่ และพยายามหาเหตุผลว่าความผิดปกติของตัวอสุจินั้นจะเกิดจากการลดลงของเทสโทสเตอโรนหรือไม่ และถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณเทสโทสเตอโรน จะมีกลไกผ่าน LH หรือ CAMP บ้างหรือไม่ หรือว่ามีผลทำลาย Leydig cell โดยตรง ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออน ดังนี้

1. ผลต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรน ทั้งใน in vivo และ in vitro
2. ผลต่อกลไกการทำงานของ LH และ CAMP ในการกระตุ้นการหลั่งเทสโทสเตอโรนจาก Leydig cell
3. ผลต่อเนื้อเยื่อของ testis โดยเฉพาะที่ Leydig cell