

ผลของผงชูรสต่อการแบ่งตัวของเซลล์และโครโมโซม*

สุจินต์ อังถาวร**

อุไร อภิชิตเรืองเดช**

Pregnant Swiss albino mice were injected with monosodium glutamate on the 9th day of gestation. The dose used was 500 mg/kg. body weight. Treated mothers were killed and fetuses recovered 2 days and 4 days after injection. Estimates of mitotic irregularities were obtained from Feulgen-stained paraffin sections of the fetuses. The incidence of mitotic irregularities in the treated groups was slightly higher than that of the corresponding controls. As a result of chromosomal rearrangements followed by mitotic aberrations, karyotypically abnormal cells were formed in the embryos, however they did not differ greatly from those of the control groups. The significance of such a small increase in the abnormal mitoses and chromosomes may be difficult to ascertain. Thus, the present studies do not indicate the primary role of mitotic aberrations in monosodium glutamate-induced teratogenesis. This suggests the direct action of this agent and also indicates the possible role of placental barrier in the prevention of the embryo from this teratogen.

ในปัจจุบัน เชื่อว่าสาเหตุของความพิการแต่กำเนิดมี 2 สาเหตุด้วยกัน คือ สาเหตุจากความผิดปกติของยีน และ โครโมโซม กับสาเหตุจากสภาพแวดล้อม ซึ่งมีผลต่อเด็กในขณะที่ยังอยู่ในครรภ์ของมารดา ความพิการแต่กำเนิดหลายประเภทมีความผิดปกติของโครโมโซมร่วมไปด้วยเสมอ Carr 1965,⁽¹⁾ Szulman

1965,⁽¹⁸⁾ Kerr และ Nabil Rashad 1966⁽⁷⁾ พบว่าประมาณ 20% ของเด็กที่แท้งจะมีความผิดปกติของโครโมโซม และจากการศึกษาโครโมโซมในเด็กพิการซึ่งเกิดจากการที่มารดาได้รับยา หรือ สารเคมีบางอย่าง เช่น thalidomide ก็ปรากฏว่ามี karyotypes ที่ผิดปกติเช่นเดียวกัน⁽⁵⁾

* ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ

** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผงชูรส (monosodium glutamate) เป็นสารเคมีซึ่งชักนำให้เกิดความพิการแต่กำเนิดได้⁽¹²⁾ วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ จึงมุ่งที่จะศึกษาผลของผงชูรสซึ่งมีต่อการแบ่งตัวของเซลล์แลโครโมโซมในลูกหนู ซึ่งแม่ได้รับผงชูรสในขณะตั้งครรภ์

วัสดุและวิธีการ

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้ได้แก่หนูขาวพันธุ์สวิส (Swiss mice) ซึ่งมีอายุ 8-12 สัปดาห์ การผสมหนูได้ทำทุกเช้าโดยการนำหนูตัวผู้ 1 ตัว ใส่ในกรงเดียวกับหนูตัวเมีย 4 ตัว ในตอนเย็นวันเดียวกัน หนูตัวเมียทุกตัวจะถูกตรวจดู vaginal plug เพื่อดูว่าถูกผสมหรือไม่ หนูตัวเมียที่มี vaginal plug จะถูกแยกออกจัดว่าเป็นตัวเมียที่ถูกผสม และจะเริ่มนับเป็นวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์⁽⁶⁾

เมื่อตั้งครรภ์ได้ถึงวันที่ 9 หนูตัวเมียเหล่านี้จะถูกฉีดด้วยผงชูรส (monosodium glutamate) เข้าช่องท้อง ด้วยขนาด 500 มก./กก./วัน ส่วนกลุ่มเปรียบเทียบจะถูกฉีดด้วยน้ำกลั่นซึ่งมีปริมาตรเท่ากัน

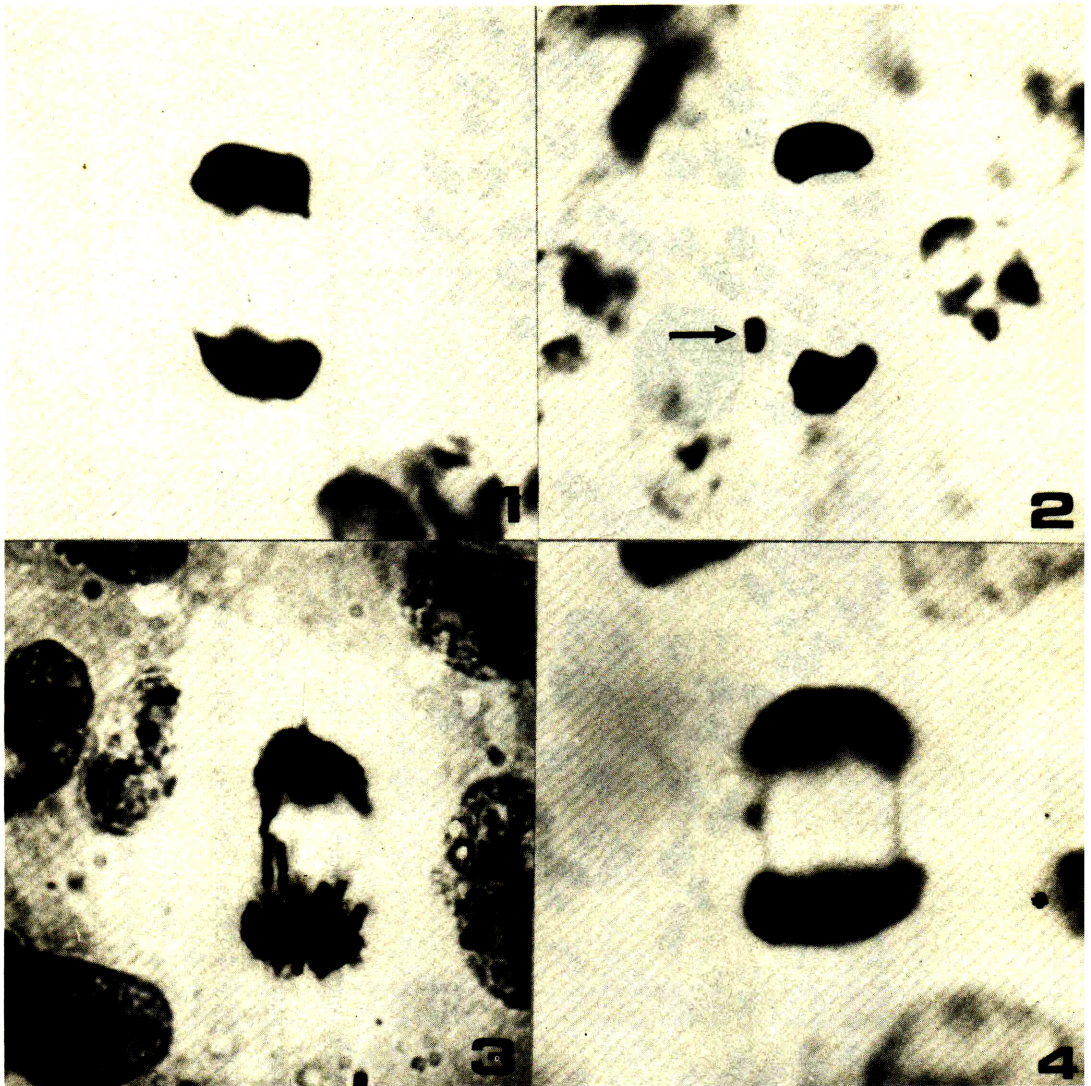
แม่หนูที่ถูกฉีดด้วยผงชูรส และน้ำกลั่นนี้ จะถูกนำมาผ่าตัดเพื่อเอาลูกหนูมาศึกษาหลังจากฉีดแล้ว 2 วัน และ 4 วัน ทั้งนี้เพื่อจะศึกษาผลในระยะเวลาที่แตกต่างกันด้วย

แม่หนูกลุ่มหนึ่งจะถูกผ่าตัด และลูกหนูที่ได้จะถูกตรวจเพื่อดูจำนวนและลักษณะภายนอกทั่ว ๆ ไป หลังจากนั้นจะถูก fix ด้วย Carnoy's fixative นาน 1 ชั่วโมง และเก็บไว้ในแอลกอฮอล์ 70 % ลูกหนูกลุ่มนี้จะถูกนำไปตัดเป็นชิ้นเนื้อบาง ๆ ขนาด 6μ โดยใช้ Paraffin technique แล้วย้อมด้วยวิธีของ Feulgen⁽²⁾ เพื่อศึกษาผลของผงชูรสต่อการแบ่งตัวของเซลล์

แม่หนูอีกกลุ่มหนึ่งจะถูกฉีดด้วย colchicine เข้าช่องท้องด้วยขนาด 15 ไมโครกรัม/น้ำหนักเป็นกรัม ก่อนการผ่าตัด 1 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อจะหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ต่าง ๆ ไว้ในระยะ metaphase เนื้อเยื่อของลูกหนูกลุ่มนี้จะถูกนำไปแผ่บนสไลด์โดยวิธีของ Ford และ Hamerton⁽⁸⁾ หรือที่เรียกว่า squash method เพื่อนำไปศึกษาผลของผงชูรสที่มีต่อโครโมโซม

ผลของการวิจัย

การศึกษาผลของผงชูรสซึ่งมีต่อการแบ่งตัวของเซลล์ ได้ศึกษาจากลูกหนูกลุ่มซึ่งถูกตัดเป็นชิ้นเนื้อบางตามวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อธรรมดา และย้อมด้วยวิธีของ Feulgen ซึ่งพิเศษเฉพาะ deoxyribonucleic acid ทั้งนี้จะมีเฉพาะโครโมโซมเท่านั้นที่เห็นได้ชัดเจน

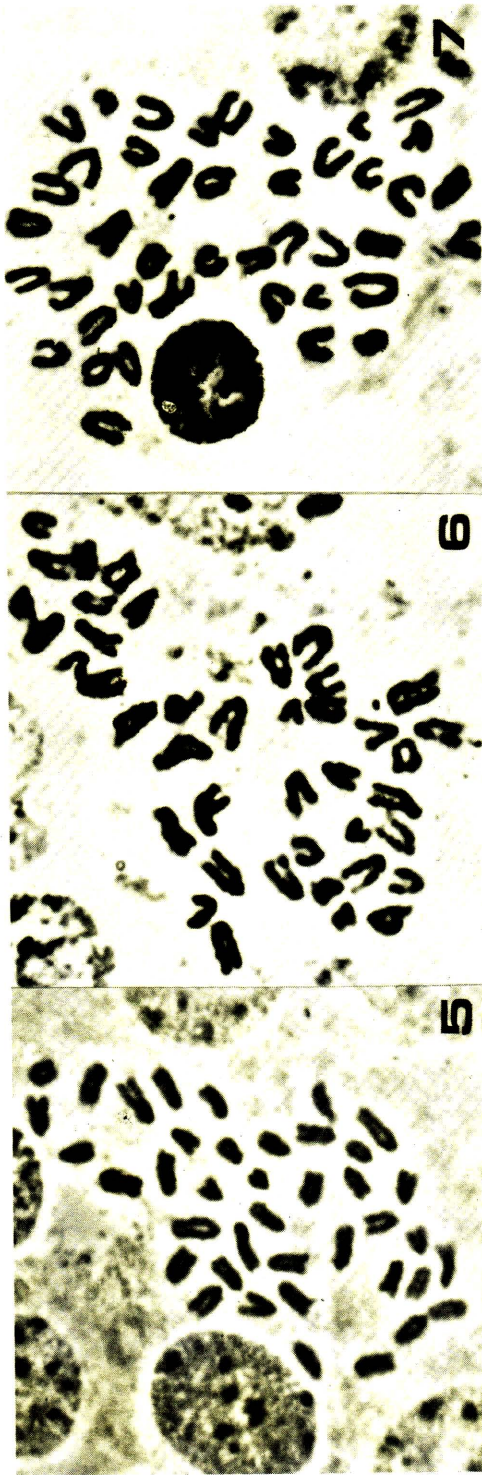


รูปที่ 1 Telophase ปกติ (x 2000)

รูปที่ 2 Telophase ที่มี Chromosome fragment ตรงลูกศรชี้ (x 2000)

รูปที่ 3 Telophase ที่มี chromosome bridges (x 1800)

รูปที่ 4 Telophase ที่มี chromosome bridges (x 2400)



รูปที่ 5 โครโมโซม ใน metaphase plate ที่ปกติพบว่ามี acrocentric chromosomes = 40(x 1250)

รูปที่ 6 Metaphase plate ซึ่งมียจำนวน โครโมโซม = 41(x 2500)

รูปที่ 7 Metaphase plate ซึ่งมียจำนวน โครโมโซม = 43(x 2500)

เหมาะสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการแบ่งตัวของเซลล์ การศึกษาจะศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase-contrast และศึกษาเซลล์ที่แบ่งตัวอยู่ในระยะ anaphase กับ telophase การแบ่งของโครโมโซมที่ผิดปกติ จะมีลักษณะ

เป็น chromosome bridges และ chromosome fragments ลักษณะของ anaphase-telophase ที่ปกติและผิดปกติ แสดงให้เห็นในภาพ 1-4 และผลของการนับเซลล์ที่แบ่งตัวแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1

ความผิดปกติในการแบ่งตัวของเซลล์ของลูกหนู ซึ่งแม่ได้รับผงชูรส ในวันที่ 9 ของการตั้งครรภ์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การให้สารเคมี	กลุ่มหนูหลังจากได้รับผงชูรส	จำนวนเอมบริโอ	จำนวนเซลล์แบ่งตัวที่ศึกษา	ความผิดปกติ (%)
ผงชูรส	2 วัน	14	4880	4.2
	4 วัน	12	2742	3.4
น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม)	2 วัน	6	1826	2.6
	4 วัน	6	1460	1.8

การศึกษาผลของผงชูรสต่อโครโมโซมได้จากสไลด์ซึ่งเตรียมโดย squash method และย้อมสีด้วย orcein การศึกษาจะดูทั้งความผิดปกติในจำนวนของโครโมโซมทั้งหมด และความผิดปกติในโครงสร้างของโครโมโซมแต่ละตัว

จำนวนโครโมโซมในหนูขาว ปกติจะมี 40 ตัว และมีลักษณะเป็น acrocentric

chromosomes การนับดูความผิดปกติในจำนวนมากกว่า 40 ตัวเท่านั้นเพราะในกลุ่มโครโมโซมที่มีจำนวนขาดหายไปนั้น อาจจะถูกเกิดจากการเตรียมสไลด์ได้ ผลจึงไม่แน่นอน ความผิดปกติในโครงสร้างนั้น จะดูลักษณะของ deletion, ring chromosome, fragments โครโมโซมที่ปกติ และผิดปกติแสดงไว้ในภาพ 5-7 และผลละเอียดแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2

ผลของผงชูรสต่อโครโมโซม ในลูกหนู ซึ่งแม่ได้รับผงชูรสในวันที่ 9 ของการตั้งครรภ์เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้น้ำกลั่นในวันที่ 9 ของการตั้งครรภ์

วันหลังจากฉีดผงชูรส	จำนวนลูกหนู	จำนวน metaphase-plate	Chromosome complements						Karyotypes %
			Chromosome number			Chromosome structure			
			40	41	43	meta-centric	Short	Long	
2	15	230	227	2	1	2	2	—	3.0
4	15	265	263	2	—	—	3	2	2.6
กลุ่มที่ฉีดด้วยน้ำกลั่นหลังฉีด 2 วัน	10	360	358	—	—	—	—	—	0.5

วิจารณ์

การศึกษาเรื่องผลของผงชูรส เริ่มต้นจากการศึกษาผู้ป่วยซึ่งมีอาการหลังจากรับประทานอาหารซึ่งมีผงชูรส ผู้ป่วยจะมีอาการแน่นร้อนวูบวาบบริเวณใบหน้า ชาบริเวณแขนหน้าอก หลังและ ขา ตลอดจนมีอาการคลื่นไส้ในบางราย กลุ่มอาการซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารซึ่งมีผงชูรสนี้ เรียกว่า Chinese restaurant syndrome (4)

การศึกษาในสัตว์พบว่า ถ้าฉีดผงชูรสเข้าช่องท้องหนูขาวพันธุ์สวิส ในวันที่ 9 ของ

การตั้งครรภ์ จะชักนำให้ลูกหนูเกิดความพิการแต่กำเนิดได้ อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบแน่ชัดว่าผงชูรสมีกลไกอย่างไรที่ทำให้เกิดผลดังกล่าวได้

กลไกในการออกฤทธิ์ของ teratogens ต่าง ๆ ซึ่งทำให้เกิดความพิการแต่กำเนิด มีอยู่ 3 ประการด้วยกัน คือ

1. ออกฤทธิ์โดยตรงต่อตัวอ่อนในขณะที่มีการเจริญ (10)
2. ออกฤทธิ์ที่แม่ และมีผลทำให้ตัวอ่อนขาดสิ่งที่จำเป็นแก่การเจริญ

เช่นชาวคีโตامين หรือฮอร์โมน เป็น
ต้น (11)

3. ออกฤทธิ์ที่รก โดยรบกวนต่อระบบ
ไหลเวียน และอาหารที่ไปเลี้ยงตัว
อ่อน (11)

ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่า
การแบ่งตัวของเซลล์ในลูกหนู ซึ่งแม่ได้รับ
ผงชูรสมีการเปลี่ยนแปลงหรือผิดปกติน้อยเมื่อ
เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และผลนี้ก็มี ความ
สัมพันธ์กับความผิดปกติของ โครโมโซม ซึ่งมี
น้อยเช่นเดียวกัน การศึกษานี้จึงบ่งชี้ไปในแง่
ที่ว่า กลไกในการออกฤทธิ์ของผงชูรสในการ
ทำให้เกิดความพิการแต่กำเนิดนั้น มิได้มีต่อ
การแบ่งเซลล์และโครโมโซม และไม่มีผลต่อ
การเจริญ แต่ น่าจะเป็นการออกฤทธิ์โดยตรง
กับเนื้อเยื่อของตัวอ่อนที่กำลังมีการเจริญทำให้
มีพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อนั้น ๆ หรืออาจจะมีผล
โดยตรงต่อระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งควบคุม
ร่างกายโดยทั่ว ๆ ไป สำหรับกลไกที่ผงชูรส
ทำให้ระบบประสาทส่วนกลางมีพยาธิสภาพนั้น
ได้จากการศึกษาของ Lowe⁽⁸⁾ และ Olney⁽⁹⁾

ซึ่งฉีดผงชูรสเข้าใต้ผิวหนังลูกหนูหลังคลอด
แล้วพบว่า ลูกหนูเหล่านั้นมีพยาธิสภาพที่
สมองส่วน hypothalamus

เพื่อที่จะศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ของ
ผงชูรสให้แน่นอนยิ่งขึ้น น่าที่จะได้มีการวิจัย
โดยใช้วิธี autoradiography เช่นเกี่ยวกับการ
ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ trypan blue⁽¹⁴⁾

สรุป

การศึกษาผลของผงชูรสต่อการแบ่งตัว
ของเซลล์ โครโมโซมในหนูขาวพันธุ์สวิส
จากการฉีดผงชูรสเข้าช่องท้องหนูขาวในวันที่
9 ของการตั้งครรภ์ และศึกษาในลูกหนูซึ่งได้
จากการผ่าตัดแม่ 2 และ 4 วัน หลังฉีดผงชูรส
พบว่าอัตราความผิดปกติในการแบ่งตัวของ
เซลล์ในลูกหนูเพิ่มมาจากกลุ่มควบคุม ไม่มาก
นัก การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม
ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ดังนั้นความพิการแต่กำเนิด
ซึ่งถูกชักนำโดยผงชูรส อาจจะมีกลไกใน
การชักนำโดยทางอื่น เช่น อาจจะเป็นผลโดยตรง
ของผงชูรสที่ทำให้มีพยาธิสภาพ เป็นต้น

อ้างอิง

1. Carr DH. Chromosome studies in spontaneous abortions. *Obstet Gynec.* 1965 Sept; 26 (3): 308-326
2. Feulgen R, Rossenbeck H, Mikroskopisch chemischer nachweis einer nucleinsäure vom typus der thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive färbung vom zellkernen in mikroskopischen präparaten. *Phys Chem* 1924;135 : 206
3. Ford CE, Hamerton JL. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Tech.* 1956; 31 : 247
4. Himms-Hagen J. Chinese restaurant syndrome. *Nature (London)* 1970 Oct 3; 228 : 97
5. Jensen MK. Chromosome aberrations in human cells induced by thalidomide in vitro : preliminary report. *Acta Med Scand* 1965 June; 177 (6) : 783-784
6. Kalter H. How should times during pregnancy be called in teratology. *Teratology* 1968 April; 1 (2): 231
7. Kerr M, Rashad MN. Chromosome studies on spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynec* 1966 Feb 1; 94 : 322-339
8. Lowe CU, Zavon MR, Olney JW. Monosodium glutamate : specific brain lesion questioned. *Science* 1970 Feb 13; 167 : 1016
9. Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969 May 9; 164 : 719
10. Robson JM, Sullivan FM. Mechanism of lethal action of 5-hydroxytryptamine on the foetus. *J Endocr* 1963 Jan; 25 (1) : 553-554
11. Robson JM, Poulson E, Sullivan FM. Pharmacological principles of teratogenesis. In : A symposium on embryopathic activity of drugs. J & A London: Churchill, 1965. 21-35
12. Suchin Ungthavorn, Phairuch chaiyakul, Sangthong Chiamsawatphan Pintumus Nivatavong, Kusuma Thongsomchitt. Effects of monosodium glutamate on developing mouse fetuses. *Chulalongkorn Med J* 1971 Oct; 16 (4): 265-269
13. Szulman AE. Chromosome aberrations in spontaneous human abortions. *N Engl J Med* 1965 April 22; 272 : 811-818
14. สุจินต์ อังถาวร, การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ Trypan blue. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2520 ตุลาคม; 21 (4) : 267-273