ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การทดสอบทางชีวภาพด้วยเซลล์เพื่อการติดตามตรวจสอบการออกฤทธิ์ของสารเอสโตรเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติและตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้อุปโภคบริโภค

ผู้เขียน นางสาว ละมาย จันทะขาว

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีระ วงศ์คำ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตชล ผลารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

เอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำและผลิตภัณฑ์ที่ใช้อุปโภคบริโภคบางชนิด เป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่งผลต่อเซลล์เป้าหมายในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งออกฤทธิ์โดยตรงต่อตัวรับเอสโตรเจน (ER) และส่งสื่อสัญญาณที่จำเพาะให้เซลล์เพิ่มจำนวนได้ ประสิทธิภาพของการตรวจสอบและวิเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ ขึ้นอยู่กับเทคนิคประเมินการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อพัฒนากระบวนการใช้เซลล์มะเร็งบางชนิดในการตรวจสอบการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่มีตัวรับเอสโตรเจน ER เป็นโมเดลในการตรวจสอบสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ด้วยสภาวะมาตรฐานโดยไม่มีฮอร์โมน แล้วจึงนำตัวอย่างสารมาตรฐาน ได้แก่ 17β-estradiol, aldrin และ endrin ตัวอย่างน้ำทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์ ได้แก่ ฟาร์มสุกร ฟาร์มวัว ฟาร์มกบ และน้ำเสียบ่อบำบัดโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงใหม่ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้อุปโภคบริโภคบางชนิด ได้แก่ สมุนไพรบำรุงกำลัง สารสกัดกวาวเครือขาว น้ำใบบัวบก น้ำมะพร้าวอ่อน มาเจือจางลำดับส่วน ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการเติม fetal bovine serum 10% ที่มีการดูดซับฮอร์โมนด้วย dextran-charcoal strip แล้วนำมาทดสอบกับเซลล์ MCF-7 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ประเมินการยับยั้งหรือการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยใช้เทคนิค Sulforhodamine B Assay ใน multiwell-plate พบว่าตัวอย่างทุกชนิด ยกเว้นน้ำใบบัวบก สามารถออกฤทธิ์ได้คล้ายเอสโตรเจนโดยมีการออกฤทธิ์เป็นสองด้านในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร้อยละการแบ่งเซลล์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน ได้แก่ *ERα Akt PI3K TFRC* และ *SULT1E1* ที่ทำหน้าที่ในวิถีเอสโตรเจนเป็นการประเมินกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุล พบว่าการแสดงออกของยีนในเซลล์ MCF-7 เมื่อได้รับสารตัวอย่าง ยกเว้นน้ำใบบัวบก มีการออกฤทธิ์โดยผ่าน *ERα* ส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน ส่วนตัวอย่างน้ำเสียบ่อบำบัดโรงพยาบาล มีการออกฤทธิ์ผ่านวิถี *TFRC* ส่งผลให้เซลล์เพิ่มจำนวน ในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นกระบวนการที่มีศักยภาพสูงที่สามารถใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้

คำสำคัญ: cytobioassay, estrogen, MCF-7, aldrin, endrin, *SULT1E1*, *Akt*, *PI3K*, *TFRC*, *ERα*, biphasic activity

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Cytobioassay for Estrogenic Activity Monitoring in Natural Water Resources and Consumable Product Samples
Author	Miss Lamay Junthakhao
Degree	Master of Science (Environmental Science)
Thesis Advisory Committee	Assistant Professor Dr. Weerah Wongkham Advisor Assistant Professor Dr. Chitchol Phalaraksh Co-advisor

ABSTRACT

Estrogen and estrogenic substances contaminating water resources and some consumable products are bioactive compounds effecting target cells in human and wild life. They directly trigger the estrogen receptors (ER) and transmit specific signals resulting in cell proliferation. Detection and analytic efficiency of these compounds depend on the techniques used to evaluate the actual bio-activities of the cells. The aim of this research was to develop the process using some cancer cells to detect the activities of estrogen and estrogenic substances. The breast cancer cell line, MCF-7 having ER was chosen as detector model for polluted estrogenic substances. The cells were cultured in the medium with standard culture conditions but without hormone. Samples of standard substances including 17β-estradiol aldrin and endrin; effluents from pig , cow and frog farms; effluents from some hospital water treatment plants in Chiang Mai; some consumable products including analeptic herb, body shape improvement herb (white kwao krua), tiger herbal and young coconut juice were tested. They were serially diluted with culture medium containing 10% FBS (dextran-chacoal strip treated) was added. These samples were then tested with MCF-7 for 72 hours. The cells were assessed for inhibition or proliferation using standard Sulforhodamine B Assay in multiwell plate. It was found that most of the samples, excepted tiger herbal, exhibited some estrogenic-like effect with biphasic activity at suitable concentrations. Cytotoxicity was apparently presented when the concentration increased. Consequently, the

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

percentage of cell proliferation decreased when compared to the control. Determination of the related gene expression including *ERa, Akt, P13K, TFCR* and *SULTIEI* in the estrogen pathway were evaluated for the molecular mechanism of action. MCF-7 cells exposed to the samples from farms and consumable products was activated through *ERa* resulting in cell proliferation except the tiger herbal. The samples from hospitals drived the cells through *TFRC* resulting also in cell proliferation. This research showed high potential of the process which could be used in the laboratory to assess the activities of estrogen and estrogenic substances.

Keywords: cytobioassay, estrogen, MCF-7, aldrin, endrin, *SULT1E1*, *Akt*, *PI3K*, *TFRC*, *ERα*, biphasic activity

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved