

ผลของการสัมผัสโทลูอินความเข้มข้นต่ำต่อการเรียนรู้และความจำ ในหนูทดลอง

พิชัย กันทะชัย^{1*}, ศิริญา หล้าเต๋น¹, นรากร สารีเหล็ก², กัลยา มั่นล้วน³, วิทยา พยัคฆ์จันทร์¹, กนิษฐ ศรีปานแก้ว⁴

¹วิทยาลัยวิทยาการวิจัยและวิทยาการปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา

²พยาบาลวิชาชีพชำนาญการ โรงพยาบาลชัยภูมิอุดรธานี

³คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

⁴คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยรัตนบัณฑิต วิทยาเขตปทุมธานี

Effect of exposure to Low-Level Toluene on Learning and Memory in Mice

Pichai Kantachai^{1*}, Sirinya Laten¹, Narakorn Sareelae², Kanlaya Munluan³, Wittaya Byagghantara¹, Kanit Sripankaew⁴

¹College of Research Methodology and Cognitive Science, Burapha University, Thailand

²Registered nurse, Professional Level. Thunyarak Udonthani Hospital.

³Faculty of Nursing Western University, Burirum Campus.

⁴Faculty of Nursing Rattana Bundit University, Prathumthani Campus.

Received: 12 December 2019

Accepted: 3 August 2020

หลักการและวัตถุประสงค์: เน้นศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบต่อการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ เพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอินที่สัมผัสแล้วส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาท

วิธีการศึกษา: หนูไม่ซี ได้รับสารโทลูอินขนาดแตกต่างกันเป็นเวลา 5 วันต่อสัปดาห์ ต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ พฤติกรรมและระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในบริเวณที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ก่อนและหลังการได้รับสารโทลูอิน ถูกทดสอบด้วยแบบทดสอบมอริส วอเตอร์เมซเทส ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Paired sample t-test, One-way ANOVA และ Repeated - Measures ANOVA

ผลการศึกษา: หนูทดลองที่สัมผัสโทลูอินความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ส่วนในล้านส่วน (ppm) มีการเรียนรู้แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$ ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำของหนูกลุ่มควบคุม หลังการทดลอง เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$ ส่วนหนูกลุ่มทดลอง 3 กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยระยะเวลาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม พบว่า ค่าเฉลี่ยระยะเวลาของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังสัมผัสโทลูอิน มีแนวโน้มที่แตกต่างกัน ($p < 0.01$)

สรุป: การสัมผัสโทลูอินความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลาต่อเนื่องมีผลต่อการเรียนรู้และความจำในหนูทดลอง ต้องมีการศึกษาให้แน่ชัดในมนุษย์เพื่อให้เห็นถึงผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ที่ต้อง

Background and Objective: Focusing on the study of the effects of exposure to toluene on brain functions related to learning and memory. To analyze the level of exposure toluene that affect neurological behavior.

Methods: Experimental mice were exposed to different levels of toluene 5 days per week for 4 weeks continuously. The behavior and duration of the swimming mice in the zone that used to have an underwater platform were testing prior and after exposure to toluene by the Morris Water Maze Test. The statistical differences were analyzed by the Paired sample t-test, One-way ANOVA, and Repeated- Measures ANOVA

Result: Experimental mice that exposed to toluene concentration of 50, 100 and 150 ppm had a statistically significant difference in learning compared with control mice at the level of $p < 0.01$. The mean swimming duration of the post-control mice was statistically significant at the level of $p < 0.01$. Three groups of experimental mice showed no significant difference in the meantime. When analyzing the differences between the groups, it was found that

*Corresponding author : Pichai Kantachai, College of Research Methodology and Cognitive Science, Burapha University, Thailand. E-mail: pichai.kantachai@basf.com

ปฏิบัติงาน และนำมาสู่การกำหนดมาตรการป้องกันที่เหมาะสมต่อไป

คำสำคัญ: การสัมผัสโทลูอีน; การเรียนรู้และความจำ; มอริส วอเตอร์ เมส เทส

ศรีนครินทร์เวชสาร 2563; 35(5): 603-608. • Srinagarind Med J 2020; 35(5): 603-608.

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมปิโตรเคมีของประเทศไทยมีกำลังการผลิตเกือบ 30 ล้านตัน ซึ่งถือว่ามีขนาดใหญ่เป็นอันดับ 2 ของอาเซียน และเป็นอันดับ 16 ของโลก¹ โดยอุตสาหกรรมปิโตรเคมีที่สำคัญ ได้แก่ การผลิตสารตัวทำละลายเพื่อใช้เป็นส่วนตั้งต้นและวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ซึ่งสารตัวทำละลายทั้งหมดที่มีใช้งานในอุตสาหกรรม มีมากกว่า 20 ชนิด ตัวอย่างเช่น เบนซีน (benzene) โทลูอีน (toluene) สไตรีน (styrene) ไซลีน (xylene) และไตรคลอโรเอธิลีน (trichloroethylene) โดยเฉพาะสารตัวทำละลายโทลูอีนซึ่งเป็นหนึ่งในสารเคมีที่มีการผลิตและใช้กันมาก² และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามภาวะเศรษฐกิจที่เติบโต โทลูอีนเป็นสารตัวทำละลายที่ดีซึ่งสามารถละลายในสารอื่น ๆ ได้ดีมาก โดยโทลูอีนเข้าสู่ร่างกายได้ทางการหายใจ ทางผิวหนัง การกินหรือกลืน และการสัมผัสถูกตา เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะมีผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะผลกระทบต่อระบบประสาท และส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และการทำงานแบบชั่วคราวของสมอง เช่น ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ หรือหมดสติ อีกทั้งยังสามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพที่เป็นแบบถาวร หากมีการสัมผัสซ้ำ ๆ หรือสัมผัสในปริมาณความเข้มข้นที่สูง ๆ เช่น ส่งผลทำให้สูญเสียการควบคุมของร่างกาย ร่างกายทำงานผิดปกติ สูญเสียการได้ยิน และส่งผลต่อการมองเห็น โดยการสัมผัสโทลูอีนในความเข้มข้นสูงในขณะที่ตั้งครรภ์ จะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ อีกทั้งยังมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน ส่งผลต่อการทำงานของไต ตับ และส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์อีกด้วย³

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า การสัมผัสโทลูอีนส่งผลทำให้การสร้างเซลล์ประสาทขึ้นมาใหม่ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ลดน้อยลง และส่งผลทำให้เซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสตายเพิ่มขึ้น⁴ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท^{5,6} พบการสูญเสียการได้ยิน และโครงสร้างสมองมีการเปลี่ยนแปลง³ นอกจากนี้ยังพบว่า การสัมผัสโทลูอีนมีผลทำให้การเรียนรู้และความจำด้านทิศทางและสถานที่ (spatial learning and memory) ของหนูทดลองแย่ลง⁷⁻⁹

ที่ผ่านมาการศึกษาในระดับสัตว์ทดลองเกี่ยวกับผล

the mean duration of the control and experimental group mice after exposure to toluene had a tendency of difference ($p < 0.01$).

Conclusion: Continuous exposure to low concentrations of toluene affects learning and memory in experimental mice. It showed be studied clearly in humans. In order to see the health effects of those who need to work and will lead to the determination of appropriate preventive measures

Keywords: Toluene Exposure; Learning and Memory; Morris Water Maze Test

กระทบต่อสุขภาพจากการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นที่มากกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ซึ่งจากการสังเคราะห์ของผู้วิจัยพบว่า ผลการศึกษาจะมีความชัดเจนและสอดคล้องกัน โดยการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นดังกล่าวหรือมากกว่า จะส่งผลทำให้เกิดความบกพร่องของร่างกายในด้านต่าง ๆ ส่วนการสัมผัสในความเข้มข้นที่มากกว่า 75 ส่วนในล้านส่วนนั้นก็พบว่าส่วนใหญ่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเช่นกัน อย่างไรก็ตามการศึกษาผลกระทบจากการสัมผัสโทลูอีนในปริมาณความเข้มข้นต่ำ ยังมีความขัดแย้งและยังคงไม่ชัดเจน โดยเฉพาะการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งยังไม่ปรากฏว่ามีผลกระทบต่อสุขภาพในหลาย ๆ รายงาน การศึกษาที่ผ่านมา โดยเฉพาะการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 12-48 ส่วนในล้านส่วนนั้น พบบางส่วนที่มีความสัมพันธ์กับความบกพร่อง หรือส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ที่สัมผัส³ จากข้อมูลข้างต้นเห็นได้ว่า แนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของการใช้สารโทลูอีนในอุตสาหกรรม ส่งผลทำให้ผู้ใช้แรงงานต้องเผชิญกับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากการได้สัมผัสโทลูอีน โดยไม่ได้เล็งเห็นว่าการสัมผัสโทลูอีนในปริมาณความเข้มข้นต่ำ ๆ ก็อาจจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้

จากผลกระทบของปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาหา ระดับความเข้มข้นของการสัมผัสสารโทลูอีนในความเข้มข้นต่ำ โดยสัมผัสอย่างต่อเนื่องแล้วส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับความจำของหนูทดลองอย่างไร และผลการวิจัยที่ได้รับอาจนำไปใช้ศึกษาต่อยอดในมนุษย์โดยอ้างอิงระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่หนูทดลองสัมผัสในระยะแรกแล้วส่งผลต่อการเรียนรู้และความจำ

วิธีการศึกษา

เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (experimental research) โดยใช้แบบแผนการทดลองแบบ Pretest Posttest Control Group Design¹⁰ เพื่อศึกษาผลของการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลาต่อเนื่องต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำด้านทิศทางและสถานที่ (spatial learning and memory) ของหนูทดลอง (เลขที่จริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง วิทยาลัยวิทยาการวิจัย

และวิทยาการปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา 076/2561) โดยให้หนูทดลองสัมผัสโทลูอีนตามระดับความเข้มข้นที่กำหนดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมงต่อวัน (9.00 น. ถึง 15.00 น.) 5 วันต่อสัปดาห์ ต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ (ดัดแปลงแนวทางการทดลองจาก Beasley, Evansky, Gilbert, & Bushnell, 2010¹¹)

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ใช้หนูทดลอง คือ หนูเม้าส์สายพันธุ์ ICR เพศผู้ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล มีน้ำหนักเฉลี่ย 25-40 กรัม อายุประมาณ 8 สัปดาห์ จำนวน 20 ตัว เลี้ยงในห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองวิทยาการปัญญาระบบประสาท (Animal Cognition Neuroscience Laboratory; ACoN) วิทยาลัยวิทยาการวิจัยและวิทยาการปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา หนูทดลองทุกตัวจะต้องได้พักและปรับตัวให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมใหม่เป็นเวลา 8 วัน ก่อนดำเนินการทดสอบพฤติกรรม หนูทดลองถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (ไม่สัมผัสโทลูอีน) กลุ่มทดลองที่ 1 สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน กลุ่มทดลองที่ 2 สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน และ กลุ่มทดลองที่ 3 สัมผัสโทลูอีน ความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน

การเตรียมสารโทลูอีน

ผู้วิจัยจะใช้โทลูอีนบริสุทธิ์ ความเข้มข้นร้อยละ 99 ขนาดบรรจุ 450 ซีซี โดยใส่โทลูอีนเข้าไปในกล่องทดลองที่มีปริมาตรเท่ากับ 70.5 ลิตร ใช้ไมโครปิเปตดูดโทลูอีน แล้วฉีดเข้าไปในกล่องทดลอง (ดัดแปลงแนวทางการทดลองจาก Chattraporn)¹³ คำนวณปริมาณของโทลูอีน โดยอ้างอิงจากมวลโมเลกุล เท่ากับ 92.13¹² ความเข้มข้นของก๊าซ หรือไอระเหย ที่อุณหภูมิปกติ 25 องศาเซลเซียส กำหนดให้สาร 1 โมล มีปริมาตรเป็น 24.45 ลิตร อัตราเร็วที่โทลูอีนในสภาพของเหลวเปลี่ยนไปเป็นไอ ที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน คือ $1.0 \pm 0.2 \times 10^{-5}$ กรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อวินาที และความหนาแน่น เท่ากับ 0.867 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยมีการกำหนดความเข้มข้นของโทลูอีนในบรรยากาศ ดังนี้ ความเข้มข้นที่ 50, 100 และ 150 ส่วนในล้านส่วน จะใช้โทลูอีน 13.25, 25.58 และ 39.83 มิลลิกรัมต่อกล่องทดลองขนาด 70.5 ลิตร ตามลำดับ โดยใช้ไมโครปิเปต ดูดโทลูอีน 15.29 ไมโครลิตร แล้วฉีดเข้าไปในกล่องทดลองและอุปกรณ์มอริส วอเตอร์ เมส เทส (The Morris Water Maze Test) ประกอบด้วย 1) อ่างทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 122 เซนติเมตร 2) แท่นใต้น้ำ (platform) เสาทำจากท่อพีวีซี ส่วนของแท่นสำหรับยื่นทำจากแผ่นไม้ที่ไม่ลื่น 3) น้ำมีอุณหภูมิ อยู่ระหว่าง 29-30 องศาเซลเซียส 4) ผงแป้งที่ไม่เป็นพิษ (nontoxic Powder) สีขาว ใช้เพื่อโรยบนผิวน้ำ เพื่อปิดแท่นใต้น้ำระหว่างการทดลอง 5) สัญลักษณ์ (visual cue) ที่ขอบอ่างแตกต่างกัน 3 จุด โดยจะยกเว้นจุดที่มีแท่นใต้น้ำ ซึ่งจะไม่มีการติดสัญลักษณ์ใด ๆ 6) กล้องวิดีโอทัศน์ เพื่อบันทึกพฤติกรรมและการสำรวจของหนูทดลอง โดยติดตั้งไว้ด้านบนของกล่องทดลอง และใช้บันทึกตลอดการทดลอง

ระยะเตรียมการทดสอบ

1. การเตรียมหนูทดลอง หนูทดลองถูกนำมาพักในห้องทดลอง เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 30 นาที เพื่อให้เกิดความคุ้นเคย และลดความเครียด
2. เพื่อเป็นการสร้างความคุ้นเคยและลดความเครียดให้กับหนูทดลอง หนูทดลองทุกตัวจะถูกนำไปวางให้อยู่บนแท่นใต้น้ำ 30 วินาที ในครั้งแรกก่อนการฝึกฝนในแต่ละวัน

ระยะฝึกฝน

1. ทำการฝึกการเรียนรู้และความจำด้านทิศทางและสถานที่ โดยการว่ายน้ำหาแท่นใต้น้ำด้วยอุปกรณ์มอริส วอเตอร์ เมส เทส เป็นระยะเวลา 5 วัน โดยทำการฝึกฝน 4 ครั้งก่อนการสัมผัสโทลูอีน และฝึกฝนอีกครั้งหลังการสัมผัสโทลูอีนแล้ว โดยทำการฝึกฝน 4 ครั้ง เป็นระยะเวลา 5 วัน เช่นกันกับก่อนการสัมผัส (20 การฝึกฝน/5 วัน/หนูทดลอง 1 ตัว)
2. ปลอ่ยหนูทดลองในอ่างทรงกลม ตามสัญลักษณ์ใดก็ได้ 1 จุด (ยกเว้น จุดที่มีแท่นใต้น้ำอยู่) โดยค่อย ๆ ปลอ่ยหนูลงไป ในอ่าง
3. ปลอ่ยให้หนูทดลองว่ายน้ำหาแท่นใต้น้ำในเวลา 60 วินาที เมื่อหนูทดลองหาแท่นใต้น้ำเจอ จะปลอ่ยให้อยู่บนแท่นเป็นเวลาไม่เกิน 10 วินาที
4. หากหนูทดลองตัวใด ไม่สามารถหาแท่นใต้น้ำเจอภายในระยะเวลา 60 วินาที ผู้วิจัยจะจับหนูทดลอง วางบนแท่นใต้น้ำเป็นเวลา 10 วินาที และบันทึกเวลาในการหาแท่นใต้น้ำเท่ากับ 60 วินาที
5. บันทึกระยะเวลาที่หนูว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำ (retention time) ไม่เกิน 1 นาที โดยบันทึกเวลาที่เริ่มต้น เวลาสิ้นสุด เวลาที่ใช้ตำแหน่งเริ่มต้นและตำแหน่งสุดท้าย และค่าเวลาที่หนูทดลองหาแท่นใต้น้ำตั้งแต่ปลอ่ยหนูทดลองจนกระทั่งหนูทดลองค้นหาแท่นใต้น้ำเจอ เป็นค่าเวลาที่หาแท่นใต้น้ำเจอ (escape latency)
6. ทำการทดลองแบบเดิมซ้ำ 4 ครั้งต่อ 1 ตัว ในหนึ่งวัน โดยทดลองเป็นกลุ่ม ๆ ทำจนครบทุกกลุ่ม โดยหลังจากทดลองครบแล้ว จึงนำเวลาที่ทั้ง 4 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ย เพื่อใช้เป็นเวลาเฉลี่ยของค่าเวลาที่หาแท่นใต้น้ำเจอ ของหนูทดลองตัวนั้น ๆ

การเก็บข้อมูล

ผู้วิจัยทำการ 1) บันทึกระยะเวลาที่หนูว่ายน้ำจนกระทั่งสามารถยืนบนแท่นใต้น้ำได้ไม่เกิน 60 วินาที โดยบันทึกเวลาที่เริ่มต้น เวลาสิ้นสุด เวลาที่ใช้ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้าย เพื่อใช้เปรียบเทียบระยะเวลาในการว่ายน้ำหาแท่นใต้น้ำของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ทั้งก่อนและหลังสัมผัสโทลูอีน โดยการฝึกฝนนี้จะใช้เวลา 5 วันต่อเนื่อง ในแต่ละวันห่างกันไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง 2) บันทึกระยะเวลาที่หนูว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ไม่เกิน 60 วินาที โดยบันทึกเวลาที่เริ่มต้น เวลาสิ้นสุด เวลาที่ใช้ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้าย เพื่อใช้เปรียบเทียบระยะเวลาในการว่ายน้ำในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ทั้งก่อนและหลังสัมผัสโทลูอีน การทดลองนี้ทำหลังจากการฝึกฝนครั้งสุดท้ายไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง 3) คำนวณความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระยะเวลา

ที่หนูว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ก่อนและหลังการรับสัมผัสโพลีอินของหนูแต่ละกลุ่ม หรือเรียกว่าพัฒนาการเรียนรู้ (learning progress)

ในการเก็บข้อมูลก่อนและหลังการสัมผัสสารโพลีอิน จะดำเนินการเก็บข้อมูลเหมือนกัน ซึ่งเป็นการทดสอบความแตกต่างของตัวแปรที่จะศึกษา

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลจากการทดสอบมอริส วอเตอร์ เมส เทส โดยใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้สถิติวิเคราะห์ความแตกต่าง ได้แก่ Paired sample t-test, One-way ANOVA และ Repeated - Measures ANOVA

ผลการศึกษา

ผลการเปรียบเทียบพัฒนาการเรียนรู้ ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโพลีอินความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ส่วนในล้านส่วน จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของพัฒนาการเรียนรู้ด้วยสถิติ One-Way ANOVA และเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธีการของ LSD พบว่า หนูกลุ่มควบคุมมีพัฒนาการเรียนรู้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังสัมผัสโพลีอิน (ไม่ได้สัมผัสโพลีอิน) เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ส่วนหนูกลุ่มทดลองที่ 1 หนูกลุ่มทดลองที่ 2 และหนูกลุ่มทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่หลังสัมผัสโพลีอิน น้อยกว่าก่อนสัมผัสโพลีอิน โดยเมื่อเปรียบเทียบพัฒนาการเรียนรู้ ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$ (รูปที่ 1)

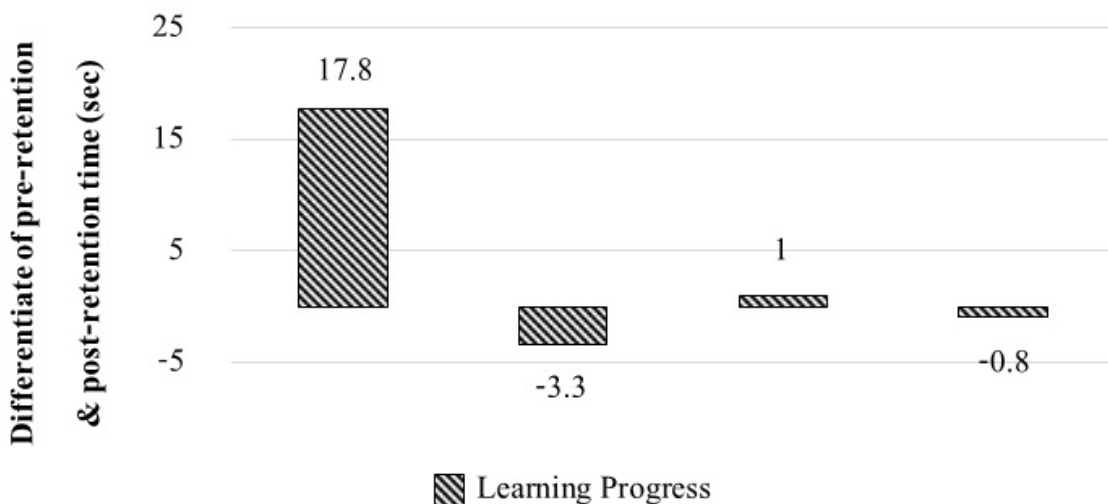
ผลการเปรียบเทียบระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ ก่อนและหลังสัมผัสโพลีอิน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโพลีอินความเข้มข้น 50,

100 และ 150 ส่วนในล้านส่วน จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของความแตกต่างของระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ด้วยสถิติ Paired sample t-test และ One-way ANOVA พบว่า ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ของหนูกลุ่มควบคุม หลังสัมผัสโพลีอิน ใช้ระยะเวลาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$ ส่วนหนูกลุ่มทดลองที่ 1 หนูกลุ่มทดลองที่ 2 และหนูกลุ่มทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 2) โดยเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแต่ละกลุ่ม พบว่า ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำอยู่ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังสัมผัสโพลีอิน มีแนวโน้มที่แตกต่างกัน ($p < 0.01$) (รูปที่ 3)

วิจารณ์

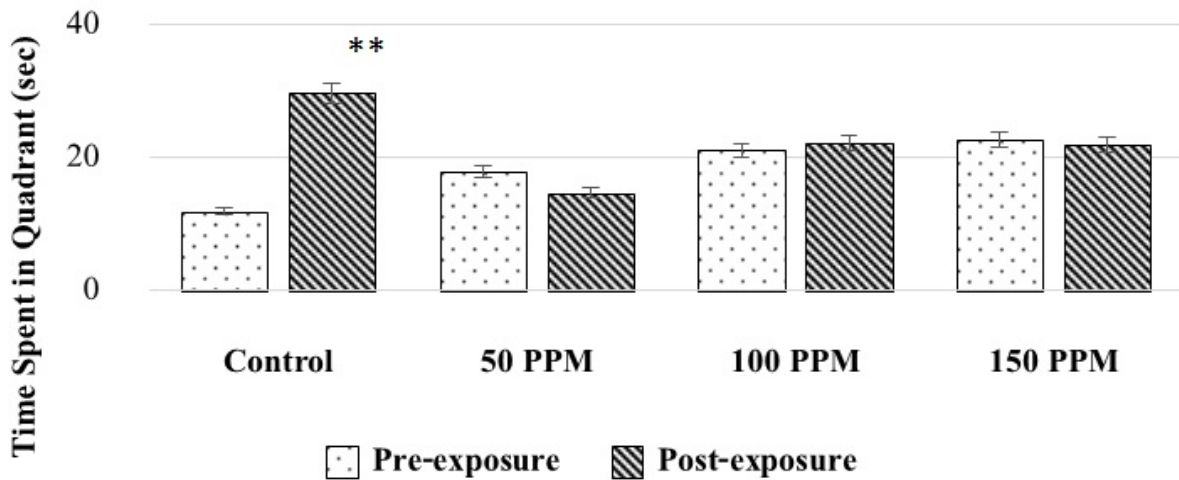
จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า การรับสัมผัสโพลีอินส่งผลทำให้การสร้างเซลล์ประสาทขึ้นมาใหม่ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสลดน้อยลง และส่งผลทำให้เซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสตายเพิ่มขึ้น² นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท³ พบการสูญเสียการได้ยินและโครงสร้างสมองมีการเปลี่ยนแปลง⁴ พบการเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาทที่ส่งผลต่อพฤติกรรมและความสามารถของสัตว์ทดลอง จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการสัมผัสโพลีอิน ความเข้มข้น 50 100 และ 150 ส่วนในล้านส่วน ไม่ได้ส่งผลทำให้หนูทดลองเกิดความบกพร่องเกี่ยวกับการเรียนรู้และความจำด้านทิศทางและสถานที่ ที่ทดสอบด้วยอุปกรณ์มอริส วอเตอร์ เมส เทส แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการสัมผัสโพลีอินความเข้มข้นต่ำ เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง มีผลทำให้พัฒนาการเรียนรู้ของหนูทดลองน้อยกว่าปกติ โดยถึงแม้ว่าความเข้มข้นและระยะเวลาของการสัมผัสโพลีอินในการวิจัยใน

Learning Progress of Control & Experimental Group



** $p < .01$ กลุ่มควบคุม(Control) มีความแตกต่างกับกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม (50 ppm, 100 ppm และ 150 ppm)
รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของพัฒนาการเรียนรู้ (learning progress)

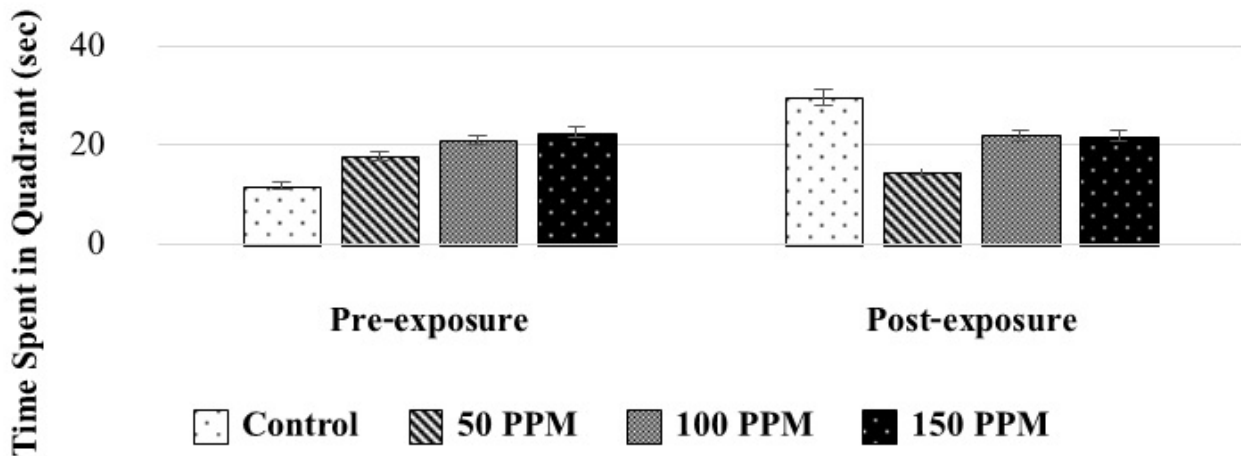
Pre-Post Retention Time



** p<0.01

รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของความแตกต่างของระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ก่อนและหลังการสัมผัสโทลูอีน

Pre-Post Retention Time



** p<0.01

รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของความแตกต่างของระยะเวลาที่หนูทดลองว่ายน้ำอยู่ในโซนที่เคยมีแท่นใต้น้ำ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ก่อนและหลังการสัมผัสโทลูอีน

ครั้งนี้อาจจะยังไม่สูงพอที่จะส่งผลทำลายระบบประสาทและสมองในส่วนใดส่วนหนึ่ง แต่ผลจากการวิจัยในครั้งนี้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเรียนรู้ของหนูกลุ่มปกติ จะเพิ่มมากขึ้น และมีพัฒนาการมากขึ้น เมื่อได้รับการฝึกฝนที่มากขึ้นซึ่งแตกต่างกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนที่พบว่า การเรียนรู้และพัฒนาการมีความบกพร่อง และลดลง ถึงแม้ว่าจะได้รับการฝึกฝนมากขึ้นก็ตาม สอดคล้องกับการศึกษาของ Vokina ที่ออกแบบการทดลองให้หนูทดลองสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 4 ชั่วโมงต่อวัน 5 วันต่อสัปดาห์ รวม 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการทดสอบการเรียนรู้และความจำเกี่ยวกับทิศทางและสถานที่ ด้วยอุปกรณ์มอริส วอเตอร์ เมส

เทส ซึ่งไม่พบว่า การรับสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นในระดับนี้ ส่งผลทำให้เกิดความบกพร่องเกี่ยวกับการเรียนรู้และความจำด้านทิศทางและสถานที่ เช่นกัน⁷

สรุป

การรับสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง มีผลต่อการเรียนรู้และความจำในหนูทดลอง ต้องมีการศึกษาให้แน่ชัดในมนุษย์เพื่อให้เห็นถึงผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ที่ต้องปฏิบัติงาน และนำมาสู่การกำหนดมาตรการป้องกันที่เหมาะสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้สำเร็จด้วยดี ขอขอบคุณวิทยาลัยพยาบาลการวิจัยและวิทยาการปัญญาที่อนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการสำหรับทดลองหนู คณาจารย์ รุ่นพี่ เพื่อน ๆ และครอบครัวที่ให้การปรึกษาและให้กำลังใจตลอดการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. รชฎ เลียงจันทร์. อุตสาหกรรมปิโตรเคมี แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี 2560-62. [Cited August 14, 2019]. Available from: https://www.krungsri.com/bank/getmedia/2abd4c15-e021-4bc8-9306-c89b5a2c6330/IO_Motorcycle_2017_TH.aspx
2. Nayeli Paez-Martinez , Zoraida Flores-Serrano, Leonardo Ortiz-Lopez, Gerardo Ramirez-Rodriguez.. Environmental enrichment increases doublecortin-associated new neurons and decreases neuronal death without modifying anxiety-like behavior in mice chronically exposed to toluene. *Behav Brain Res* 2013; 256: 432-40.
3. Hoge J, Kesner RP. Role of CA3 and CA1 subregions of the dorsal hippocampus on temporal processing of objects. *Neurobiol Learn Mem* 2007; 88(2): 225-31.
4. von Euler M, Pham TM, Hillefors M, Bjelke B, Henriksson B, von Euler G. Inhalation of low concentrations of toluene induces persistent effects on a learning retention task, beam-walk performance, and cerebrocortical size in the rat. *Exp Neurol* 2000;163(1): 1-8.
5. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 2006;1(2):848-58.
6. Callan SP, Hannigan JH, Bowen SE. Prenatal toluene exposure impairs performance in the Morris Water Maze in adolescent rats. *Neuroscience* 2017; 342: 180-7.
7. Vokina VA. Subacute exposure to toluene changes the spatial memory in rats. *GISAP. Medical Science, Pharmacology* 2013; 1: 14-5.
8. Edmonds WA, Kennedy TD. An applied guide to research designs: Quantitative, qualitative, and mixed methods. Sage Publications; 2016 Apr 20. [Cited December 7, 2019]. Available from: <https://dx.doi.org/10.4135/9781071802779>
9. Beasley TE, Evansky PA, Gilbert ME, Bushnell PJ. Behavioral effects of subchronic inhalation of toluene in adult rats. *Neurotoxicol Teratol* 2010 ; 32: 611-9.
10. Alfaro-Rodríguez A, Bueno-Nava A, González-Piña R, Arch-Tirado E, Vargas-Sánchez J, Ávila-Luna A. Chronic exposure to toluene changes the sleep-wake pattern and brain monoamine content in rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2011; 71(2): 183-92.
11. Boman A, Maibach HI. Influence of evaporation and solvent mixtures on the absorption of toluene and n-butanol in human skin in vitro. *Ann Occup Hyg* 2000; 44: 125-35.
12. Kaewkaen P. Effect of Carica papaya L. extract protect against oxidative stress in rat model of focal cerebral ischemia. *Burapha Science Journal*. 2019; 24(1): 92-106.
13. Chattraporn S, Pratchaya K. Behavioral Effect of carica papaya Linn. fruit juice in animal model of mild cognitive impairment mice. in *Burapha University International Conference 2015. "Moving Forward to Prosperous and Sustainable Community"*; July 10-12, 2015 Bangsaen Heritage Hotel Chonburi (423-429). Thailand. Burapha University. 2015.
14. ATSDR A. Agency for toxic substances and disease registry. Case Studies in environmental medicine. [Cited December 7, 2019]. <http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/csem.html>.

