

การประเมินความเป็นพิษของยาบำรุงเลือด ต่อเซลล์ลิมโฟไซต์ของมนุษย์

Evaluation of Toxicity of Thai Emmenagogue Drugs on Human Lymphocytes

Key word : Toxicity, Thai Emmenagogue Drugs, Human Lymphocytes

สมภพ บุญทิม*

* วทม. (กายวิภาคศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

Sompop Boontim*

* MSc. (Anatomy) Chiang Mai University, Thailand

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Abstract

The purpose of this research is to evaluate the toxicity potential of Thai emmenagogue drugs by metaphase chromosome analysis of human peripheral blood lymphocytes. Ten healthy female blood samples of age between 20-35 years old were used. Six popular brands of Thai emmenagogue drugs were tested with human peripheral blood lymphocytes and mitomycin C was used a positive control. The result showed that 1 out of 6 brands when the concentration reached to 20 times caused culture toxicity manifesting as chromosome contraction. In addition, at high drug concentration (2, 4, 10 and 20 times), the declining in mitotic indices were demonstrated with a dose response relationship. Statistically significant differences between test and control cultures at 0.05 level showed that no drug could induce chromosome aberration. Thus, it can conclude that when testing with human peripheral blood lymphocytes, the emmenagogue drugs have no clastogenic property.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความเป็นพิษของยาบำรุงเลือดกับเซลล์ลิมโฟไซต์ของมนุษย์โดยวิเคราะห์ผลจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับโครโมโซมในระยะเมตาเฟส การวิจัยครั้งนี้ใช้เลือดจากสตรีที่มีสุขภาพดี ซึ่งมีอายุระหว่าง

20-35 ปี มาทดสอบกับยาบำรุงเลือดที่สตรีนิยมบริโภค จำนวน 6 ชนิด ในการทดลองครั้งนี้ใช้ mitomycin C เป็นตัวควบคุม (positive control) ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของยา เท่ากับ 20 เท่า นั้นมียาบำรุงเลือด จำนวน 1 จาก 6 ชนิด แสดงความเป็นพิษต่อโครโมโซมโดยทำให้โครโมโซมเกิดการหดตัวสั้นลง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ยาทุกชนิดที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2, 4, 10 และ 20 เท่า นั้นทำให้ค่า mitotic indices ของโครโมโซมลดลงโดยมีความสัมพันธ์แบบ dose response relationship อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่าทางสถิติพบว่ายาบำรุงเลือดนั้น ไม่สามารถทำให้โครโมโซมผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงสรุปว่ายาบำรุงเลือดไม่ทำให้โครโมโซมของเซลล์ลิ้มฟิชซ์ของมนุษย์เกิดการแตกหักจึงไม่มีคุณสมบัติเป็น clastogen

คำนำ

ยาบำรุงเลือด (emmenagogue) เป็นยาไทยแผนโบราณที่สตรีนิยมบริโภคกันมานานโดยมีความเชื่อสืบต่อกันมาว่า เป็นยาบำรุงน้ำนม ทำให้เจริญอาหาร ทำให้มดลูกเข้าอู่ไม่ต้องอยู่ไฟ ขับน้ำคาวปลา บำรุงเลือด แก้ปัญหาประจำเดือนมาไม่ปกติ ส่วนใหญ่แล้วยาบำรุงเลือดมักเป็นยาของเหล่าซึ่งมีปริมาณของแอลกอฮอล์ผสมอยู่ด้วย ยาบำรุงเลือดนั้นมีมากมายหลายตำรับเนื่องจากมีส่วนประกอบซึ่งเป็นสมุนไพรที่แตกต่างกัน เช่น ว่านชั๊กมดลูก คำฝอย ชะเอม ใพล ลูกเร่ว เป็นต้น สมุนไพรแต่ละชนิดนั้นต่างก็มีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ได้แก่ ว่านชั๊กมดลูกใช้รักษาอาการประจำเดือนมาไม่ปกติและช่วยย่อยอาหาร คำฝอยใช้บำรุงโลหิต ชะเอมใช้เป็นยาระบาย ใพลมีคุณสมบัติในการแก้ท้องผูก ท้องเฟ้อและมีมดลูกส่วนลูกเร่วนั้นใช้ขับน้ำนม

ยาบำรุงเลือดเป็นยาร้อนเพราะบางตำรับมีส่วนประกอบของสมุนไพรที่ช่วยให้มดลูกมีการบีบตัวอย่างแรง ได้แก่ เจตมูลเพลิง ดังนั้นจึงพบว่ามีการนำยานี้มาใช้ในการทำแท้งในสตรีที่มีอายุครรภ์น้อย ๆ วิธีนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในกลุ่มของสตรีชนบทและกลุ่มสตรีผู้ใช้แรงงาน อย่างไรก็ตามจนถึงปัจจุบันมีข้อมูลในการทดสอบความเป็นพิษของยาชนิดนี้น้อยมาก ส่วนใหญ่มักทดสอบความเป็นพิษของสมุนไพรแต่ละตัว เช่น การนำสารสกัดของอบเชยลังกา มาทดสอบกับ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ H17 (rec+) และ M15 (rec-) พบว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อดีเอ็นเอ (Ungsurungsie และคณะ, 1982,1984) โสมตั้งฤชุนั้นก็มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์อย่างอ่อนต่อดีเอ็นเอของ

แบคทีเรียเช่นเดียวกัน (Lee และคณะ, 1984) สารสกัดจากกานพลูและเปลือกอบเชยได้ทำให้ *Salmonella typhimurium* ก่อกลายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยวิธี Ames' test สารประกอบพวก compound D, compound D acetate และ compound D palmitate ซึ่งเป็นสารสกัด จากใพลที่ความเข้มข้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นทำให้โครโมโซมของเซลล์ลิ้มฟิชซ์ผิดปกติ (สมภพ, 1990) ส่วนความเป็นพิษของยาบำรุงเลือดในสตรีนั้น มีรายงานว่าสตรีที่คลอดลูกออกมาแล้วทารกตายเนื่องจากมีความผิดปกติเกิดขึ้นนั้น ผู้เป็นแม่ก็มีประวัติบริโภคยาบำรุงเลือดเป็นประจำ (แก้ว, 2534; Chaiyakum และคณะ, 1983) มีการศึกษาถึงศักยภาพในการก่อกลายพันธุ์ของยาบำรุงเลือด จำนวน 8 ชนิด โดยทดสอบกับแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ด้วยวิธี Ames' test พบว่ายาบำรุงเลือดทั้ง 8 ชนิด นั้นไม่ทำให้ *Salmonella typhimurium* เกิดการกลายพันธุ์แต่อย่างใด

ในด้านพิษวิทยานั้น การทดสอบความเป็นพิษต้องผ่านการทดสอบหลายขั้นตอนเพื่อยืนยันให้แน่ชัดว่าเป็นพิษต่อมนุษย์หรือไม่ การใช้เซลล์ลิ้มฟิชซ์ของมนุษย์นั้นเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ตรวจสอบความเป็นพิษในเชิงพันธุกรรม เพราะเป็นการทดลองกับเซลล์ของมนุษย์โดยตรง ซึ่งนอกจากทำได้ง่าย ประหยัดเวลา ให้ผลรวดเร็ว ไม่ใช้สัตว์ทดลอง และเป็นที่ยอมรับขององค์การควบคุมสารพิษระหว่างประเทศ เช่น WHO, UNEP แล้ว ยังเหมาะสมกับสถานการณ์ของชาติในปัจจุบันเพราะประหยัดค่าใช้จ่ายและใช้อุปกรณ์ที่ไม่ซับซ้อน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างของยาบำรุงเลือด

นำตัวอย่างยาบำรุงเลือดซึ่งสตรีนิยมบริโภคในท้องตลาด จำนวน 6 ชนิด มาทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยใช้เครื่องกลั่นเพื่อระเหยเอาแอลกอฮอล์และน้ำออกจนมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจากเดิม เท่ากับ 20 เท่า หลังจากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้มีความเข้มข้น 10, 4 และ 2 เท่า ตามลำดับ

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์สเต็มไฟซัยท์

เจาะเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิง ซึ่งมีอายุระหว่าง 20-35 ปี มีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคเรื้อรังและไม่เป็นโรคทางพันธุกรรม จำนวน 10 คน นำมาเพาะเลี้ยงโดยวิธีวีวัดน์ และยั้งพันธ์, 2525 ในอาหารเลี้ยงเซลล์โดยมีส่วนประกอบของอาหารดังนี้ RPMI 1640 (GIBCO) 80 มิลลิลิตร, Fetal calf serum 20% และ

1 กรัมต่อมิลลิลิตร phytohaemagglutinin (PHA) 0.05 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์สเต็มไฟซัยท์แบ่งตัวเมื่อครบ 48 ชั่วโมง ใช้ไมโครไปเปิดดูดูยาบำรุงเลือดแต่ละความเข้มข้นจากข้อ 1 ปริมาตร เท่ากับ 30 ไมโครลิตร หยดลงไปบนหลอดทดลองแต่ละหลอด ปิดฝาเขย่าให้ทั่ว และนำมาเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 37°C จนครบ 72 ชั่วโมง

3. การเตรียมโครโมโซม

ก่อนที่จะครบ 72 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลาย 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Colcemid 100 ไมโครลิตร ลงไปและเขย่าให้ทั่ว นำไปเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเพื่อแยกเซลล์สเต็มไฟซัยท์โดยใช้ความเร็ว เท่ากับ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำเซลล์ที่ได้มาล้างด้วย phosphate buffer saline จำนวน 2 ครั้ง และนำมาผสมกับสารละลาย hypotonic

ชนิดของยาบำรุงเลือดที่ใช้ทดสอบ

รหัสชื่อยา	ส่วนประกอบ	สรรพคุณ
M	ว่านชักมดลูก ว่านมหาเมฆ ว่านนางคำ เจตมูลเพลิง และตัวยาอื่นๆ	ใช้หลังการคลอดบุตร ขับน้ำคาวปลา แทนการอยู่ไฟ เป็นยาระบายอ่อน
J	เทียนทั้งห้า ชะเอม ไซล บอระเพ็ด คำฝอย ดอกสารภี และตัวยาอื่นๆ	เป็นยารักษาโรคประจำเดือนมาไม่ปกติ ใช้แทนการอยู่ไฟ ขับน้ำคาวปลาหลังการคลอดบุตร ฟอกโลหิต ประสะน้ำมัน เจริญอาหาร
P	โกฐเชียง โกฐหัวบัว ดานเซียม กิงออบเซย บักคี่ และตัวยาอื่นๆ	บำรุงโลหิต ประจำเดือนมาไม่ปกติ ท้องขึ้นเพื่อ และวิงเวียนอ่อนเพลีย
Bu	โสมเกาหลี หัวโกฐเชียง โกฐหัวบัว คำฝอย ออบเซยญวน และตัวยาสำคัญอื่นๆ อีกหลายชนิด	บรรเทาอาการประจำเดือนไม่ปกติ บำรุงโลหิต ขับน้ำคาวปลา ใช้แทนการอยู่ไฟ ช่วยเจริญอาหาร
B	ขวนเกียง แป๊ะเจี๊ยะ หัวแห้วหมู เล่งจือจี้ คำฝอย ตังกุย ฯลฯ	บำรุงเลือด บำรุงร่างกาย เจริญอาหาร แก้ประจำเดือนไม่ปกติและเป็นยาแทนการอยู่ไฟ ขับน้ำคาวปลา ช่วยฟอกโลหิต
S	เปลือกส้ม โกฐเชียง ชะเอม ลูกเร่ว คำฝอย น้ำผึ้ง	บำรุงน้ำนม เจริญอาหาร ช่วยให้มดลูกแห้ง ขับน้ำคาวปลา ระดูมาปกติ บำรุงโลหิต

solution ทำการปั่นเพื่อแยกเซลล์อีกครั้งและนำมาเติม carnoy fixative หลังจากนั้นหยดเซลล์ลงบนแผ่นสไลด์ และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C จนแผ่นสไลด์แห้งสนิท นำสไลด์มาข้อมด้วยสี Giemsa 10% เพื่อนำวิเคราะห์หาความผิดปกติของโครโมโซม

4. การตรวจวิเคราะห์โครโมโซม

นำสไลด์จากข้อ 3 มาตรวจเพื่อหาความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้กำลังขยายเท่ากับ 1000 เท่า ทำการศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมจากเซลล์ในระยะเมตาเฟส จำนวน 100 เซลล์ต่อตัวอย่างเลือดในแต่ละชุดการทดลอง การทดลองครั้งนี้ วิเคราะห์ผลทั้งความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (structural aberration) และความผิดปกติเชิงจำนวน (numerical aberration) โดยยึดหลักการวิเคราะห์ของ International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN, 1978; Hsu, 1982; Buckton และ Evans, 1982) เปรียบเทียบผลการทดลองโดยใช้สถิติ Student's t-test

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลองพบว่า ความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้น มีทั้งในรูปของ gap, break และ fragment อย่างไรก็ตามพบความผิดปกติแบบ gap

มากที่สุด (ตารางที่ 1; รูปที่ 1 และรูปที่ 2) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้เป็นแบบ chromatid aberration ซึ่งความผิดปกติชนิดนี้เกิดจากโครโมโซมถูกทำลายในช่วงท้ายๆ ของระยะเอส (late S phase) หรือในระยะ จี 2 (G_2 phase) ของวัฏจักรเซลล์ (Hsu, 1982) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นมักเกิดในกลุ่มของโครโมโซมในกลุ่มที่เฉพาะเจาะจง คือ กลุ่ม B ซึ่งพบได้ทั้งส่วนที่เป็น short arms และ long arms และพบได้ในตำแหน่งที่ใกล้และไกลจาก centromere เมื่อใช้ยาบำรุงเลือดที่มีความเข้มข้นสูงๆ เช่น เมื่อใช้ยา P ที่มีความเข้มข้น 20 เท่า นั้นแสดงความเป็นพิษต่อโครโมโซมโดยทำให้โครโมโซมเกิดการหดตัวสั้นลง (รูปที่ 3) อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบผลทางสถิติพบว่า ยาบำรุงโลหิต ทั้ง 6 ชนิด ไม่สามารถทำให้โครโมโซมเกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการนำยาบำรุงเลือดมาทดสอบความเป็นพิษกับแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ด้วยวิธี Ames' test พบว่าไม่ทำให้แบคทีเรียดังกล่าวเกิดการก่อกลายพันธุ์ เช่นเดียวกัน (แก้ว กังสดาลอำไพ และวรรณิ โรจนโพธิ์, 2531) ส่วนความผิดปกติในเชิงจำนวน เช่น aneuploidy และ polyploidy นั้นสามารถพบได้เช่นเดียวกัน แต่ไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 1. ผลของยาบำรุงเลือดที่ทำให้เกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมในลิมโฟซัยต์ของมนุษย์

Emmenagogue drug concentration	Cells aberration (%)	Frequencies of chromosomal aberration per cell								
		Chromosome-type aberration				Chromatid-type aberration				
		IG	AF	D	R	g	b	d	f	t
Negative control (H ₂ O)	1.8	0.7	0.2	-	-	0.5	0.2	-	0.2	-
Drug M 20 X	3.0	-	-	-	-	2.0	1.0	-	-	-
Drug M 10 X	4.2	2.6	0.3	-	-	1.3	-	-	-	-
Drug M 4 X	3.8	2.0	-	-	-	1.6	-	-	0.2	-
Drug M 2 X	2.8	0.8	-	-	-	1.0	0.2	-	0.8	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	21.1	1.6	4.0	-	-	4.6	4.0	-	0.3	6.6
Negative control (H ₂ O)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Drug J 20 X	0.2	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
Drug J 10 X	1.0	0.4	-	-	-	0.6	-	-	-	-
Drug J 4 X	2.6	0.6	-	-	-	2.0	-	-	-	-
Drug J 2 X	0.8	0.4	-	-	-	0.4	-	-	-	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	13.1	1.3	2.0	-	-	3.3	-	0.6	0.6	5.3
Negative control (H ₂ O)	2.2	-	0.2	-	-	1.6	0.4	-	-	-
Drug P 20 X	3.0	0.5	0.5	-	-	1.5	0.5	-	-	-
Drug P 10 X	3.7	-	0.5	-	-	2.2	0.5	-	0.5	-
Drug P 4 X	2.5	0.6	0.3	-	-	1.3	0.3	-	-	-
Drug P 2 X	1.2	0.2	-	-	-	1.0	-	-	-	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	19.8	2.0	4.0	-	-	6.0	0.6	-	0.6	6.6
Negative control (H ₂ O)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Drug Bu 20 X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Drug Bu 10 X	1.1	0.2	-	-	-	0.9	-	-	-	-
Drug Bu 4 X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Drug Bu 2 X	0.8	0.2	-	-	-	0.4	-	0.2	-	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	13.1	1.3	2.0	-	-	3.3	-	0.6	0.6	5.3
Negative control (H ₂ O)	2.4	0.2	0.2	-	-	1.6	0.4	-	-	-
Drug B 20 X	3.0	0.4	0.2	-	-	1.8	0.4	0.2	-	-
Drug B 10 X	2.8	0.4	-	-	-	1.8	0.4	0.2	-	-
Drug B 4 X	2.6	0.8	0.4	-	-	1.0	0.2	-	0.2	-
Drug B 2 X	2.0	0.4	0.2	-	-	1.4	-	-	-	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	19.8	2.0	4.0	-	-	6.0	0.6	-	0.6	6.6

Emmenagogue drug concentration	Cells aberration (%)	Frequencies of chromosomal aberration per cell								
		Chromosome-type aberration				Chromatid-type aberration				
		IG	AF	D	R	g	b	d	f	t
Negative control (H ₂ O)	1.8	0.7	0.2	-	-	0.5	0.2	-	0.2	-
Drug S 20 X	4.0	0.5	-	-	-	3.5	-	-	-	-
Drug S 10 X	2.1	0.5	0.2	-	-	1.2	-	-	0.2	-
Drug S 4 X	3.0	0.2	0.4	-	-	2.2	-	0.2	-	-
Drug S 2 X	1.6	0.2	-	-	-	1.2	-	-	0.2	-
Mitomycin C 0.8 µg/ml	21.1	1.6	4.0	-	-	4.6	4.0	-	0.3	6.6

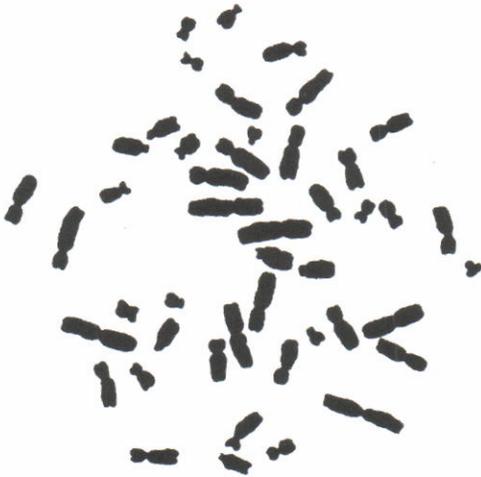
IG : Isolocus gap, AF : Acentric fragment, D : Dicentric, R : Ring, g : chromatid gap, b : chromatid break, d : chromatid deletion, f : chromatid fragment, t : chromatid interchange



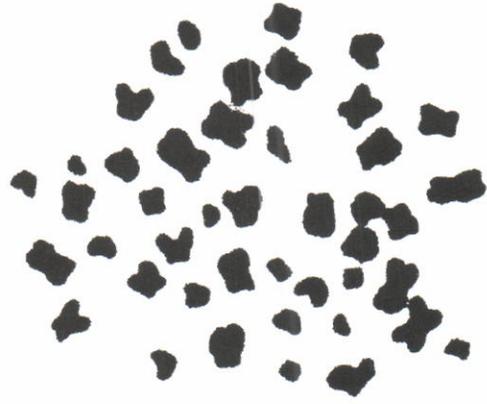
รูปที่ 1 ลักษณะของ chromatid gap



รูปที่ 2 ลักษณะของ chromatid break



ก



ข

รูปที่ 3 ลักษณะของโครโมโซม ก : โครโมโซมปกติ ข : โครโมโซมที่หดตัว

สรุป

ผลการทดลองชี้ว่า ยาบำรุงเลือดทั้ง 6 ชนิด ที่นำมาศึกษานั้นไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมของมนุษย์ อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองในหลอดทดลองและใช้เวลาทดลองค่อนข้างสั้น ถ้าหากต้องการข้อมูลมายืนยันอย่างชัดเจนนั้นควรมีการศึกษาโครโมโซมของผู้ที่ใช้ยาเหล่านี้โดยตรงและเปรียบเทียบการใช้ยาในระยะเวลาที่แตกต่างกัน การบริโภคน้ำมันงาบำรุงเลือดเป็นประจำในปริมาณมาก ๆ นั้นอาจจะเป็นพิษต่อผู้บริโภคได้ เพราะนอกจากมีสมุนไพรมากแล้วยังมีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบอีกด้วย แม้ว่าแอลกอฮอล์ไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็งแต่ก็เป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดมะเร็งหรือทิวเมอร์โปรโมเตอร์ ดังนั้นเพื่อให้ผู้บริโภคแน่ใจในความปลอดภัยมากขึ้นควรบริโภคร่วมกับอาหารชนิดอื่น เช่นอาหารที่มีสารต่อต้านการเกิดสารพิษ (antioxidants) ได้แก่ ผักและผลไม้ เป็นต้น ซึ่งจะทำให้ผู้บริโภคนั้นมีความปลอดภัยมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

แก้ว กังสดาลอำไพ. 2534. พิษจากยาบำรุงเลือด. หมอชาวบ้าน. 13 (152) : 44-45.
แก้ว กังสดาลอำไพ และ วรณี ไรจน์โพธิ์. การประเมินความเป็นพิษของยาบำรุงโลหิตสตรีด้วยการทดสอบทางพิษวิทยาระยะสั้น. รายงานจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป 2531. คณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.
วิวัฒน์ หวังปรีดาเสกกุล และ อิงพันธ์ อนุศรี. 2525. เทคนิคของ Cytogenetic ทางการแพทย์. เชียงใหม่เวชสาร. 21 (5) : 447-456.
สมภพ บุญทิม ผลทางไซโตเจเนติกของสารดีจากไพล (*Zingiber cassamunar* Roxb.) ต่อโครโมโซมของมนุษย์ที่เตรียมจากลิมโฟซัยท์ที่เพาะเลี้ยง วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (แพทยศาสตร์) สาขากายวิภาคศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2533.

- Buckton, K.E., and H.J. Evans. 1982. **Human peripheral blood lymphocytes cultures an in vitro assay for the cytogenetic effects of environmental mutagens.** In T.C. Hsu (ed.), Cytogenetic assay of environmental mutagens Totowa : Allanheld, Osmeum & Co, pp. 183-202.
- Chaiyakum , A, *et.al.* 1983. **The relationship of emmenagogue drugs and / or hormonal pregnancy test to birth defects.** Chula. Med. J. 27 (5) : 321-334.
- Hsu, T.C. 1982. Introduction. In T.C. Hsu (ed:), **Cytogenetic assays of environmental mutagens.** Totowa : Allanheld, Osmun & Co, pp. 1-9.
- ISCN. 1978. **An International System for Human Cytogenetic Nomenclature of Cytogenet.** Cell. Genet. 21 : 309-404.
- Lee, J.H., Kim, J.J. and S.S. Ham. **Mutagenicity and DNA breaking action of *Panax ginseng* extracts on double strand DNA and bacterial system.** In Fifth Asian Symposium on Medicinal Plants and Spices program and Abstract. August 20-24 1984. Organizing Committee of the 5th Asian Symposium on Medical plants and Spices. Seoul Republic of Korea 1984 pp.52.
- Ungsurungsie, M., Paovolo, C. and A. Noonai. 1984. **Mutagenicity of extract from *Ceylon cinamon* in the rec assay.** Fd. Chem. Toxic. 20:109-114.
- Ungsurungsie, M., Suthienkut, O. and C. Paovalo. 1982. **Mutagenicity screening of popular Thai spice.** Fd. Chem. Toxic. 20: 527-530.