การวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่มีผลต่อการเรียนรู้และความจำระยะยาวของหนูทดลองและพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง

The Analysis of Toluene Concentrations Affecting Learning and Long-Term Memory of Mice and Workers Who Long-Term Exposed to Low-Level of Toluene

พิชัย กันทะชัย[1*] ปรัชญา แก้วแก่น[2] ยุทธนา จันทะขิน[2]
Pichai Kantachai[1*], Prachaya Kaewkaen[1], Yoottana Janthakhin[1]
[1]College of Research Methodology and Cognitive Science, Burapha University, Thailand
[2]Cognitive Science and Innovation Research Unit (CSIRU), College of Research Methodology and Cognitive Science, Burapha University, Thailand

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบทางด้านการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำจากการสัมผัสโทลูอีนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่รับสัมผัสแล้วส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทและสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับความจำในสัตว์ทดลองเพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่รับสัมผัสแล้วส่งผลต่อการเกิดภาวะความจำบกพร่องและการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับความจำในมนุษย์และเพื่อศึกษาสหสัมพันธ์พหุคูณระหว่างผลการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทยกับสารชีวเคมีในร่างกายของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะการศึกษาในสัตว์ทดลอง ใช้หนูเมาส์จำนวน 20 ตัว และระยะการศึกษาในพนักงานที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมรถยนต์ จำนวน 60 คน วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Independent sample *t*-test, Paired-sample *t*-test, One-way ANOVA และ Multiple correlation analysis

ผลการวิจัย พบว่าหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน (t=3.29, p=.03) และหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน (t=3.81, p=.02) มีค่าเฉลี่ยดัชนีการจดจำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 หลังรับสัมผัสโทลูอีน นอกจากนั้นยังพบว่า หนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสัมผัสโทลูอีนมีระดับของสารโดปามีน (Dopamine) ในสมองต่ำกว่าหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน (MD=-45.35, p<.05) ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน (MD=-35.28, p<.05) และความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน (MD=-34.77, p<.05) แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับของสารเซโรโทนิน (Serotonin) ในสมองหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองทุกกลุ่ม (F=.932, p=.450) ส่วนระดับของสารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอลในเลือด (t=.27, p=.79) และเอช ดี แอล โคเลสเตอรอลในเลือด (t=-1.37, p=.18) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน และค่าความสมบูรณ์ของเลือด ได้แก่ ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (t=-1.11, p=.27) ระดับฮีโมโกลบิน (t=.87, p=.39) ระดับฮีมาโทคริต (t=1.02, p=.31) ระดับ

เกล็ดเลือด (*t*=-81, *p*=.42) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน พบว่า ไม่มีความแตกต่าง นอกจากนั้นยังพบว่าผลการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย ระหว่างกลุ่มพนักงานที่ทำงานที่เกี่ยวข้องกับการพ่นสีรถยนต์ที่มีการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นประมาณ 50 ส่วนในล้านส่วนเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า ไม่แตกต่างกัน (*t*=-.53, *p*=.60) อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นในการศึกษาในตัวอย่างเปิด โดยเฉพาะผู้ที่มีโอกาสรับสัมผัสโทลูอีนแต่ไม่ได้มีการป้องกันตนเองโดยการสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลเพื่อให้เห็นถึงผลกระทบต่อสุขภาพเนื่องจากการรับสัมผัสโทลูอีนในความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง

คำสำคัญ: ภาวะความจำบกพร่อง, การสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นต่ำ, การเรียนรู้และความจำ, สารสื่อประสาท

**Corresponding author. E-mail: Kantachai.pichai@gmail.com*

ABSTRACT

This study focused on the impact of brain function related to learning and memory from toluene exposure and the objectives were to analyze the level of exposed toluene concentrations that affected neurological behavior and neurotransmitters which related to animal memory, to analyze the toluene concentrations levels that affected human memory and changes in biochemistry andto study multiple correlations between human memory that assessed by the Thai Mental State Examination and biochemical substances in employees who were exposed to toluene. The study was divided into 2 phases including animal phase that was studied in 20 experimental mice and human phase in 60 employees who are working in the automotive industry. Independent sample *t*-test, paired-sample *t*-test, one-way ANOVA and Multiple correlation analysis were employed to analyze the data.

The results demonstrated that experimental mice that were exposed to toluene concentration of 50 PPM (*t*=3.29, *p*=.03) and experimental mice that exposed to toluene concentration of 100 PPM (*t*=3.81, *p*=.02) had the significant decrease inrecognition index after exposed to toluene. Control group of mice that not exposed to toluene have dopamine level in brain less than experimental mice that were exposed to toluene concentration of 50 PPM (*MD*=-45.35, *p*<.05), concentration of100 PPM (*MD*=-35.28, *p*<.05) and concentration of 150 PPM (*MD*=-34.77, *p*<.05). However, there was no difference in serotonin level in brainbetween the experimental and control groups (*F*=.932, *p*=.450). The level of biochemical substances in the body, such as blood cholesterol (*t*=.27, *p*=.79) and HDL-Cholesterol in the blood (*t*=-1.37, *p*=.18) between employees who were exposed toluene with concentration of 50 PPM, versus employees who were not exposed to toluene were not different. Moreover, blood integrity values such as white blood cell levels

(*t*=-1.11, *p*=.27), hemoglobin levels (*t*=.87, *p*=.39), hematocrit levels (*t*=1.02, *p*=.31), platelet levels (*t*=-81, *p*=.42) between employees who were exposed to toluene with concentrations of 50 PPM, versus employees who were not exposed to toluene were also not different. Among the employees working in the car spraying industry who are exposed the toluene with concentration of 50 PPM and the control group, there is no significant different of Thai Mental State Examination (*t*= -.53, *p*=.60). Further study is needed to investigate the effectof toluene exposure in theopen-field where employee is not wearing the personal protective equipment to indicate the clearly health effects caused by exposing to long-term low-level of toluene.

Keywords: memory impairment, long-term low-level of toluene exposure, learning and memory, neurotransmitter

ความนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมปิโตรเคมีของประเทศไทยมีกำลังการผลิตเกือบ 30 ล้านตัน ซึ่งถือว่ามีขนาดใหญ่เป็นอันดับ 2 ของอาเซียน และเป็นอันดับ 16 ของโลก (รชฏ เลียงจันทร์, 2560) โดยอุตสาหกรรมปิโตรเคมีที่สำคัญได้แก่ การผลิตสารตัวทำละลายเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นและวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ซึ่งสารตัวทำละลายทั้งหมดที่มีใช้งานในอุตสาหกรรม มีมากกว่า 20 ชนิด ตัวอย่างเช่น เบนซีน (Benzene) โทลูอีน (Toluene) สไตรีน (Styrene) ไซลีน (Xylene) และไตรคลอโรเอธีลีน (Trichloroethylene) โดยเฉพาะสารตัวทำละลายโทลูอีนซึ่งเป็นหนึ่งในสารเคมีที่มีการผลิตและใช้กันมาก และมีแน้วโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามสภาวะเศรษฐกิจที่เติบโต โทลูอีนเป็นสารตัวทำละลายที่ดี ซึ่งสามารถละลายในสารอื่น ๆ ได้ดีมาก โดยโทลูอีนสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทางการหายใจ ทางผิวหนัง การกินหรือกลืน และการสัมผัสถูกตา โดยเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะมีผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะผลต่อระบบประสาท และส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และการทำงานแบบชั่วคราวของสมอง เช่น ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ หรือหมดสติ อีกทั้งยังสามารถก่อให้เกิดผลต่อสุขภาพที่เป็นแบบถาวร หากมีการสัมผัสซ้ำ ๆ หรือสัมผัสในปริมาณความเข้มข้นที่สูง ๆ เช่น ส่งผลทำให้สูญเสียการควบคุมของร่างกาย ร่างกายทำงานผิดปกติ สูญเสียการได้ยิน และส่งผลต่อการมองเห็น นอกจากนั้นยังพบว่า การสัมผัสโทลูอีนในความเข้มข้นสูงในขณะที่ตั้งครรภ์จะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ อีกทั้งยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ส่งผลต่อการทำงานของไต ตับ และส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์อีกด้วย (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017, p. 3)

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า การรับสัมผัสโทลูอีนส่งผลทำให้การสร้างเซลล์ประสาทขึ้นมาใหม่ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส (Hippocampus) ลดน้อยลง และส่งผลทำให้เซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสตายเพิ่มขึ้น (Paez-Martinez, Flores-Serrano, Ortiz-Lopez, & Ramirez-Rodriguez, 2013) นอกจากนั้นยังพบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท (Hoge & Kesner, 2007; Euler et al., 2000) พบการสูญเสียการได้ยินและโครงสร้างสมองมีการเปลี่ยนแปลง (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017, pp. 255-257) พบการเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาทที่ส่งผลต่อพฤติกรรมและความสามารถของสัตว์ทดลอง (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017, p. 18; Berenguera, Soulageb, Perrinb, Pequignotb, &

Abraini, 2003; Soulage, Perrin, Berenguer, & Pequignot, 2004) อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อความจำของมนุษย์และนำไปสู่การเกิดภาวะสมองเสื่อมได้อีกด้วย (Kandel et al., 2013) ที่ผ่านมา มีการศึกษาในระดับสัตว์ทดลองเกี่ยวกับผลกระทบต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสโทลูอีน ในความเข้มข้นที่มากกว่า 75 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งส่วนใหญ่นั้นพบว่า ผลการศึกษาจะมีความชัดเจนและสอดคล้องกัน โดยการรับสัมผัสโทลูอีนในความเข้มข้นดังกล่าวหรือมากกว่านั้นขึ้นไป จะส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติหรือบกพร่องของร่างกายในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะการรับสัมผัสในความเข้มข้นที่มากกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน พบว่า ส่วนใหญ่มีผลกระทบต่อสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตาม หากจะกล่าวถึงการศึกษาผลกระทบจากการรับสัมผัสโทลูอีนในปริมาณความเข้มข้นต่ำแล้วนั้น พบว่า ผลการศึกษายังมีความขัดแย้งและไม่ชัดเจน ซึ่งยังไม่ปรากฏว่ามีผลกระทบต่อสุขภาพในหลาย ๆ การศึกษาที่ผ่านมา โดยเฉพาะการรับสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 12-48 ส่วนในล้านส่วนนั้น พบเพียงบางส่วนที่การสัมผัสโทลูอีนในความเข้มข้นระดับนี้มีความสัมพันธ์กับความบกพร่องหรือส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ที่รับสัมผัส (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017, pp. 101-102)

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของการใช้สารโทลูอีนในอุตสาหกรรมส่งผลทำให้ผู้ใช้แรงงานต้องเผชิญกับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากการได้สัมผัสโทลูอีน โดยอาจจะไม่ได้เล็งเห็นว่าการสัมผัสโทลูอีนในปริมาณความเข้มข้นต่ำก็อาจจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาหาระดับความเข้มข้นของการสัมผัสสารโทลูอีนในความเข้มข้นต่ำว่าหากมีการรับสัมผัสอย่างต่อเนื่องแล้วจะส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับความจำของหนูทดลองอย่างไร และดำเนินการศึกษาต่อยอดในมนุษย์โดยอ้างอิงระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่หนูทดลองรับสัมผัสในระยะแรกแล้วส่งผลต่อการเรียนรู้และความจำ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่รับสัมผัสที่ส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทและสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลอง

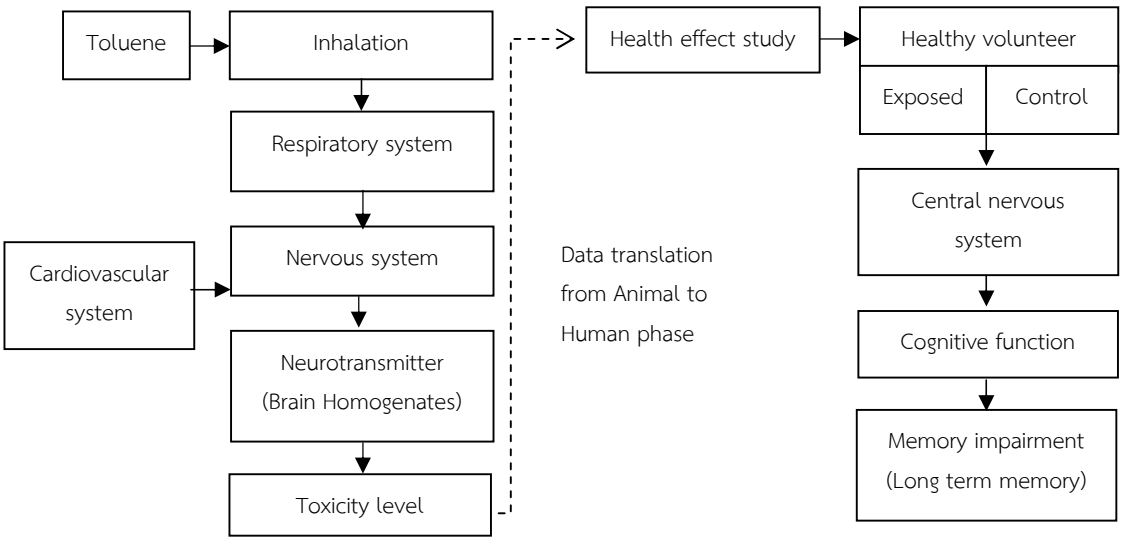
2. เพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่รับสัมผัสที่ส่งผลต่อการเกิดภาวะความจำบกพร่องและการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำในมนุษย์

3. เพื่อศึกษาสหสัมพันธ์พหุคูณระหว่าง 1) ผลการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย (Thai mental state examination) กับ 2) สารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือด เอช ดี แอล โคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือด 3) ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) ได้แก่ ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) ระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin)ระดับฮีมาโทคริต (Hematocrit) และระดับเกล็ดเลือด (Platelet count) และ 4) ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนในปัสสาวะของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีน

กรอบแนวคิดการวิจัย

ในกระบวนการเกิดพิษในสัตว์ทดลอง เริ่มต้นเมื่อโทลูอีนเข้าไปในร่างกายโดยการหายใจ จากนั้นโทลูอีนจะถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินหายใจเข้าสู่ระบบหัวใจและหลอดเลือด และจะเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมายหลักของกระบวนการเกิดพิษของโทลูอีน โดยกลไกการเกิดพิษของโทลูอีนต่อสมองนั้น โทลูอีนจะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและการทำหน้าที่ของสมอง อีกทั้งยังส่งผลต่อสารสื่อประสาทในสมอง ได้แก่ โดปามีน (Dopamine) และเซโรโทนิน (Serotonin) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ โดยระดับความ

เป็นพิษของสารโทลูอีนนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นที่รับสัมผัสและปริมาณการสะสมของโทลูอีนในร่างกาย เมื่อได้ผลจากการวิจัยในระยะสัตว์ทดลองแล้ว จะทำให้ทราบระดับความเข้มข้นของสารโทลูอีนในระดับหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในสมองสัตว์ทดลอง ซึ่งจะนำไปสู่การศึกษาผลกระทบต่อสุขภาพในระยะของการศึกษาในมนุษย์ โดยทำการศึกษาในพื้นที่การทำงานที่มีโทลูอีนในบรรยากาศจริง ตามสภาพแวดล้อมจริง ตามกรอบแนวคิดการวิจัย ภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาในสัตว์ทดลอง

1.1 แบบแผนการวิจัย

การวิจัยในระยะนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) โดยใช้แผนการทดลอง Pretest Posttest control group design (Edmonds & Kennedy, 2017, p.77)

1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ใช้หนูทดลองคือ หนูเมาส์ (Imprinting Control Region: ICR Mouse) จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล มีน้ำหนักเฉลี่ย 25-40 กรัม อายุประมาณ 8 สัปดาห์ จำนวน 20 ตัว โดยเลี้ยงในกรง จำนวน 4 กรง กรงละ 5 ตัว ในห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองวิทยาการปัญญาระบบประสาท (Animal Cognition Neuroscience Laboratory; ACoN) ของวิทยาลัยวิทยาการวิจัยและวิทยาการปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 22±2 องศาเซลเซียส และมีระบบระบายอากาศ หนูทดลองจะถูกเลี้ยงไว้ภายใต้ช่วงสว่างต่อช่วงมืด (Light-dark cycle) โดยมีการควบคุมการปิดเปิดแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยหนูทดลองทุกตัวจะต้องได้พักและปรับตัวให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมใหม่เป็นเวลา 8 วัน ก่อนดำเนินการทดสอบพฤติกรรมหนูทดลองถูกแบ่ง

ออกเป็นกลุ่มควบคุม (ไม่สัมผัสโทลูอีน) กับกลุ่มทดลองที่ 1 สัมผัสโทลูอีน 50ส่วนในล้านส่วน กลุ่มทดลองที่ 2 สัมผัสโทลูอีน 100 ส่วนในล้านส่วน และกลุ่มทดลองที่ 3 สัมผัสโทลูอีน 150 ส่วนในล้านส่วน

1.3 เครื่องมือในการวิจัย

การศึกษาในระยะสัตว์ทดลองใช้ 1)การทดสอบพฤติกรรมทางระบบประสาทเกี่ยวกับการเรียนรู้และความจำด้านการจดจำวัตถุโดยใช้การทดสอบโนเวล ออบเจค เรคคอกนิชั่น (Novel object recognition test) (ดัดแปลงจาก Leger et al., 2013; ฉัตราภรณ์ สวัสดิยภานนท์, 2558; ปรัชญา แก้วแก่น, 2562) และ 2) ชุดตรวจสำเร็จรูปอีไลซาสำหรับตรวจหาปริมาณโดปามีน (Dopamine ELISA kit) และชุดตรวจสำเร็จรูปอีไลซาสำหรับตรวจหาปริมาณเซโรโทนิน (Serotonin ELISA Kit) (Ketsuwan, Leelarungrayub, & Banchonglikitkul, 2017)

1.4 การเก็บข้อมูล

ผู้วิจัยทำการ 1) บันทึกระยะเวลาที่หนูทำการสำรวจวัตถุเก่าและวัตถุชิ้นใหม่ภายในระยะเวลา5นาที ในช่วงของการทดลอง โดยเริ่มจับเวลาเมื่อหนูเข้าใกล้วัตถุในระยะ 2 เซนติเมตร เพื่อนำมาคำนวณค่าดัชนีความจำ (Recognition index) และ 2) วิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารสื่อประสาทซึ่งประกอบด้วย สารโดปามีน (Dopamine) และสารเซโรโทนิน (Serotonin) ในสมองหนูทดลอง หลังจากการสัมผัสโทลูอีนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างหนูทดลองแต่ละกลุ่มกับกลุ่มควบคุม

2. การศึกษาในมนุษย์

2.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างในมนุษย์ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้เป็นกลุ่มพนักงานที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการใช้โทลูอีน โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพนักงานที่มีการรับสัมผัสกับโทลูอีนใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตราย จำนวน 30 คน และกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสและไม่มีประวัติการทำงานที่เกี่ยวข้องกับโทลูอีน จำนวน 30 คน โดยตัวอย่างในมนุษย์จะถูกเลือกจากการสุ่มอย่างง่าย (Simple random sampling)

2.2 เครื่องมือในการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้การศึกษานี้ ได้แก่ 1) อุปกรณ์ตรวจวัดความเข้มข้นของโทลูอีนในบรรยากาศ ใช้ในการเก็บตัวอย่างอากาศซึ่งดำเนินการโดยนักสุขศาสตร์อุตสาหกรรม โดยใช้ชุดเก็บตัวอย่างชนิดติดตัวบุคคล รุ่น 3M 3500 Organic vapor monitor 2) แบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย (Thai mental state examination) และการตรวจทางห้องปฏิบัติการทางด้านชีวเคมี ประกอบด้วย การตรวจหาโทลูอีนในปัสสาวะ ตรวจหาสารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดเอช ดี แอล โคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือดและค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) ได้แก่ ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) ระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ระดับฮีมาโทคริต (Hematocrit) และระดับเกล็ดเลือด (Platelet count) โดยกลุ่มศึกษาจะได้รับคำแนะนำให้งดอาหารและน้ำดื่มก่อนการเจาะเลือด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ดัดแปลงจากการศึกษาของ สิรินทร ฉันศิริกาญจน และคณะ, 2559)

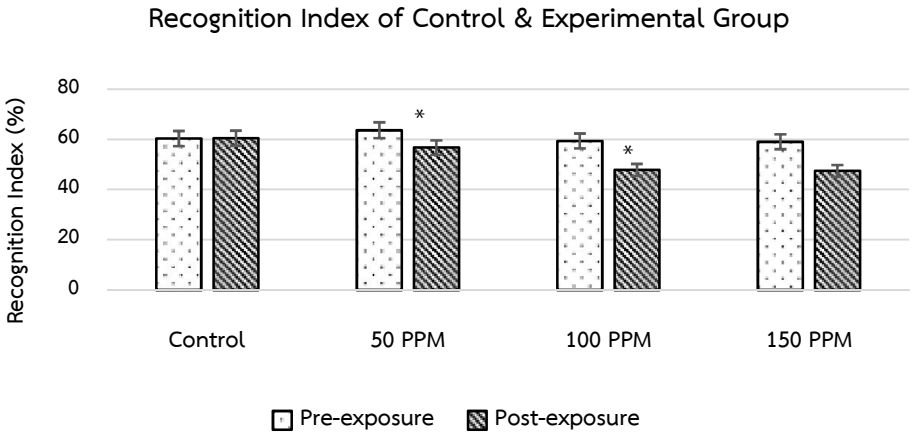
3. วิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานโดยใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้สถิติวิเคราะห์ความแตกต่าง ได้แก่ Independent sample *t*-test, Paired-sample *t*-test, Repeated measures ANOVA และ One-way ANOVA ใช้สถิติวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ได้แก่ Multiple correlation

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทและสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำในหนูทดลอง

1.1 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อพฤติกรรมทางระบบประสาทที่เกี่ยวกับความจำด้านการจดจำวัตถุในหนูทดลองโดยเปรียบเทียบก่อนกับหลังการสัมผัสโทลูอีนพบว่า หนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน (t=3.29, p=.03) และหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน (t=3.81, p=.02) มีค่าเฉลี่ยดัชนีการจดจำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 หลังสัมผัสโทลูอีนเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ ส่วนหนูกลุ่มควบคุม (t=-.05, p=.96) และหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน (t=2.39, p=.08) มีค่าเฉลี่ยดัชนีการจดจำหลังการสัมผัสโทลูอีนไม่แตกต่างกับก่อนสัมผัสโทลูอีนดังแสดงในภาพที่ 2

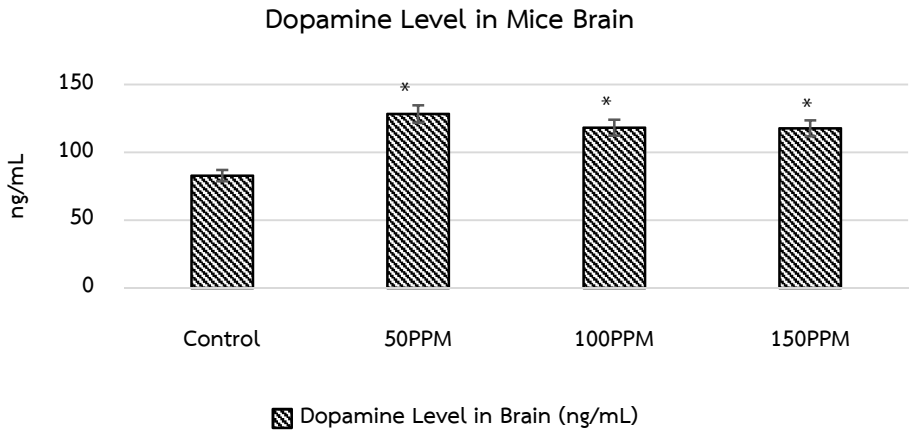


*p<.05

ภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของดัชนีการจดจำก่อนกับหลังการสัมผัสโทลูอีน

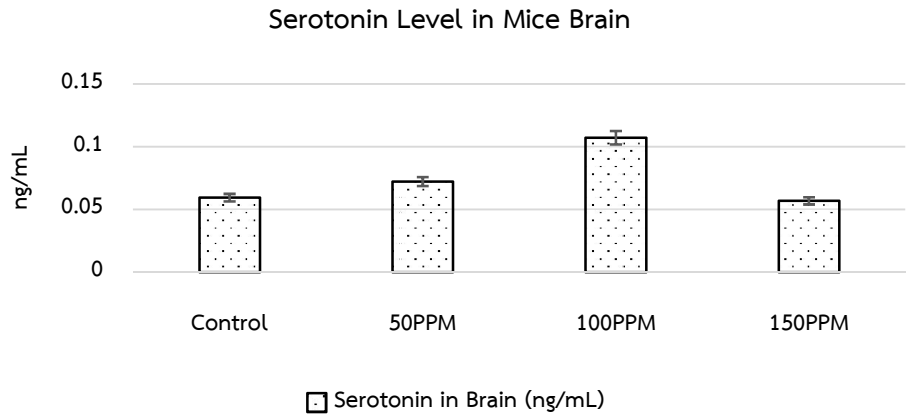
1.2 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับความจำ ได้แก่ สารโดปามีน (Dopamine) และสารเซโรโทนิน (Serotonin) ในสมองหนูทดลองพบว่า ระดับของสารโดปามีน (Dopamine)ในสมองหนูกลุ่มควบคุมกับหนูกลุ่มทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (F=4.93, p<.05) และเมื่อพิจารณาเป็นรายคู่ พบว่าระดับสารโดปามีน (Dopamine) ในสมองหนูกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน (MD=-45.35, p<.05) แตกต่างกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 100ส่วนในล้านส่วน (MD=-35.28, p<.05) แตกต่างกับหนูกลุ่มทดลองที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน (MD=-34.77, p<.05) ดังแสดงในภาพที่ 3 ส่วนระดับของสารเซโรโทนิน (Serotonin)

ในสมองหนู พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองทุกกลุ่ม (F=.932, p=.450) ดังแสดงในภาพที่ 4



*p<.05

ภาพที่ 3 ผลการเปรียบเทียบระดับสารโดปามีน (Dopamine) ในสมองหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มทดลอง



ภาพที่ 4 ผลการเปรียบเทียบระดับสารเซโรโทนิน (Serotonin) ในสมองหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มทดลอง

2. ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อความจำของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน

2.1 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อสารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดเอช ดี แอล โคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือด และค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีนพบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีรายละเอียด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของสารชีวเคมีในร่างกายและค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน

ตัวแปร	พนักงานที่สัมผัสโทลูอีน			พนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน			*t*	*p*
	n	*M*	*SD*	*n*	*M*	*SD*		
Cholesterol (mg/dL)	30	222.70	41.42	30	219.93	39.02	.27	.79
HDL-Cholesterol (mg/dL)	30	50.53	9.23	30	54.27	11.79	-1.37	.18
White Blood Cell (Cells/uL)	30	7671.00	1630.13	30	8123.33	1536.65	-1.11	.27
Hemoglobin (gm%)	30	14.73	1.12	30	14.50	.92	.87	.39
Hematocrit (%)	30	43.23	3.47	30	42.40	2.82	1.02	.31
Platelet (Cells/uL)	30	278900.00	58647.60	30	291133.33	57732.88	-.81	.42

หมายเหตุ: ทดสอบที่ระดับนัยสำคัญ .05

จากตารางที่1แสดงให้เห็นว่า ระดับของสารชีวเคมีในร่างกายและค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete blood count) ได้แก่ โคเลสเตอรอล(Cholesterol) ในเลือด (t=.27, p=.79) เอช ดี แอล โคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือด (t=-1.37, p=.18) ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) (t=-1.11, p=.27) ระดับฮีโมโกลบิน(Hemoglobin) (t=.87, p=.39) ระดับฮีมาโทคริต (Hematocrit) (t=1.02, p=.31) ระดับเกล็ดเลือด (Platelet count) (t=-81, p=.42) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน

2.2 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนที่ส่งผลต่อความจำเบื้องต้นที่ประเมินด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทยของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน และพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการประเมินความจำเบื้องต้นระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน

MMSE	พนักงานที่สัมผัสโทลูอีน			พนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน			*t*	*p*
	n	*M*	*SD*	*n*	*M*	*SD*		
Total scores	30	28.53	.97	30	28.67	.99	-.53	.60

จากตารางที่ 2แสดงให้เห็นว่า พนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน มีค่าเฉลี่ยคะแนนจากการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย เท่ากับ 28.53 คะแนน ซึ่งน้อยกว่าเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนเฉลี่ยของพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีนที่เท่ากับ 28.67 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการประเมินความจำเบื้องต้นระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน (t=-.53, p=.60)

2.3 ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์พหุคูณระหว่าง 1) ผลการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย กับ 2) สารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือด เอช ดี แอล และโคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือด 3) ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) ได้แก่ ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) ระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ระดับฮีมาโทคริต (Hematocrit) และระดับเกล็ดเลือด (Platelet count) และ 4) ระดับความเข้มข้นของโทลูอีนในปัสสาวะของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน พบว่า มีความสัมพันธ์กันระหว่างคะแนนความจำเบื้องต้นกับระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 โดยมีระดับความสัมพันธ์เท่ากับ .43 โดยมีรายละเอียด ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์พหุคูณระหว่างผลการประเมินความจำเบื้องต้นกับสารชีวเคมีในร่างกาย ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด และระดับความเข้มข้นของโทลูอีนในปัสสาวะของพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน

	MMSE	Cholesterol	HDL-Cholesterol	WBC	Hemoglobin	Hematocrit	Platelet	Toluenein urine
MMSE Score	1.00							
Cholesterol	.09	1.00						
HDL-Cholesterol	.04	.28	1.00					
WBC	-.01	-.17	-.16	1.00				
Hemoglobin	.43*	.39*	.08	.17	1.00			
Hematocrit	.34	.41*	-.03	.18	.94**	1.00		
Platelet	.24	.13	.14	.27	0.2	.25	1.00	
Toluene inurine	-.05	-.12	.09	.18	.08	.04	.10	1.00

*p<.05, **p<.01

สรุปผลการวิจัย

ระยะการศึกษาในสัตว์ทดลอง การสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 และ 100ส่วนในล้านส่วนมีผลทำให้ดัชนีการจดจำน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยหลังการสัมผัสโทลูอีนเป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ พบว่า หนูกลุ่มควบคุมมีดัชนีการจดจำมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lopez-Rubalcava et al. (2014), Montes, Solis-Guillen, Garcia-Jacome, and Paez-Martinez (2017), Chan et al. (2015) และ Chan, Chung, Stoker, Markou, and Chen (2012)

ระยะการศึกษาในสัตว์ทดลอง การสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ส่วนในล้านส่วนมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารโดปามีน (Dopamine) ในสมองของหนูทดลอง จากการศึกษา พบว่า หนูกลุ่มควบคุมมีปริมาณความเข้มข้นของสารโดปามีน (Dopamine) ในสมอง น้อยกว่าหนูทดลองที่สัมผัสโทลูอีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Callan, Apawa, Mathews, and Bowen (2017) และ Woodward andBeckley (2014) และ Berenguer et al. (2003) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่พบว่า ระดับของสารเซโรโทนิน (Serotonin) ในสมองหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองนั้นแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Berengueret al. (2003)

ระยะการศึกษาในมนุษย์ การสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน ไม่ส่งผลทำให้ผลการประเมินความจำเบื้องต้นด้วยแบบทดสอบสมรรถภาพสมองเบื้องต้นฉบับภาษาไทย ระหว่างกลุ่มพนักงานที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการพ่นสีรถยนต์ที่มีการสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นประมาณ 50 ส่วนในล้านส่วนและกลุ่มควบคุม แตกต่างกัน (t=-.53, p=.60) อีกทั้งเมื่อพิจารณาตามเกณฑ์การแปลผลสมรรถภาพสมองเบื้องต้นตามสถาบันเวชศาสตร์ผู้สูงอายุ (กระทรวงสาธารณสุข, 2555) ปรากฏว่า ไม่พบว่ามีพนักงานคนใดที่อยู่ในเกณฑ์ผิดปกติ โดยเหตุผลสำคัญที่เป็นปัจจัยที่ทำให้พนักงานที่สัมผัสโทลูอีนไม่ได้รับผลกระทบทางสุขภาพ อาจจะเกี่ยวข้องกับมาตรการป้องกันอันตรายของโรงงานและตัวพนักงานเอง จากการวิจัยในครั้งนี้ พบว่า พนักงานทุกคนสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลโดยเฉพาะหน้ากากป้องกันสารเคมี โดยพนักงานมากกว่าร้อยละ 90.00 สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายเป็นประจำและตลอดระยะเวลาการทำงาน หน้ากากป้องกันสารเคมีที่ใช้เป็นรุ่นที่สามารถป้องกันไอของโทลูอีนและสารตัวทำละลายอื่น ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chang, Chen, Cheng, Shih, and Mao (2007)

ระดับของสารชีวเคมีในร่างกาย ได้แก่ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือด (t=.27, p=.79) และเอช ดี แอล โคเลสเตอรอล (HDL-Cholesterol) ในเลือด (t=-1.37, p=.18) และค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete blood count) ได้แก่ ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) (t=-1.11, p=.27) ระดับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) (t=.87, p=.39) ระดับฮีมาโทคริต (Hematocrit) (t=1.02, p=.31) ระดับเกล็ดเลือด (Platelet count) (t=-81, p=.42) ระหว่างพนักงานที่สัมผัสโทลูอีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนกับพนักงานที่ไม่สัมผัสโทลูอีน ไม่มีความแตกต่างกันสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chang et al. (2007) และ Kandel et al. (2013) และ Rasoul et al. (2019) และ Kamal and Malik (2012)

ข้อเสนอแนะในการนำไปใช้

1. การรับสัมผัสโทลูอีนโดยตรงและเป็นระยะเวลานาน ๆ ต่อเนื่องส่งผลกระทบต่อสุขภาพ จำเป็นอย่างยิ่งจะต้องมีการป้องกันและควบคุม โดยเฉพาะการบริหารจัดการที่แหล่งกำเนิดเพื่อลดระดับความเข้มข้นที่จะปนเปื้อนสู่บรรยากาศการทำงาน รวมไปถึงการป้องกันโดยการบริหารจัดการไม่ให้พนักงานรับสัมผัสโดยตรง ซึ่งอาจจะเป็นการปรับสถานที่ทำงานให้มีการระบายอากาศที่เพียงพอ เป็นต้น

2. เสนอแนะให้สถานประกอบการนายจ้าง และผู้ปฏิบัติงานจัดให้มีกิจกรรมอบรม ส่งเสริม และสร้างความตระหนักเพื่อให้ทุกส่วนเล็งเห็นถึงความสำคัญในการสร้างเสริมความปลอดภัยให้กับตนเอง

3. เสนอแนะให้พิจารณากำหนดมาตรการหรือกฎหมายเพื่อเป็นกรอบแนวทางให้ทุกสถานประกอบการจัดดำเนินการป้องกันอันตรายให้กับพนักงานที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับโทลูอีน ถึงแม้จะเป็นความเข้มข้นที่ต่ำก็ตาม

ข้อเสนอแนะในการวิจัยต่อไป

เนื่องด้วยการวิจัยในระยะของการศึกษาในมนุษย์ ผู้วิจัยเลือกตัวอย่างซึ่งเป็นพนักงานที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนยานยนต์ ซึ่งเป็นสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานทางด้านการบริหารจัดการด้านความปลอดภัย อาชีวอนามัย และสภาพแวดล้อมในการทำงานอยู่แล้ว ดังนั้นถึงแม้ว่าในระยะของหนูทดลองจะพบว่า ณ ความเข้มข้นของการรับสัมผัสโทลูอีนเท่ากับ 50 ส่วนในล้านส่วน จะมีผลต่อการเรียนรู้และความจำของหนูทดลอง แต่กลับไม่พบว่ามีผลในระยะของการศึกษาในมนุษย์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเสนอให้ดำเนินการศึกษาในตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสโทลูอีน ความเข้มข้นต่ำ แต่ไม่ได้มีการป้องกันอันตรายส่วนบุคคล คาดว่าจะพบความสัมพันธ์หรือผลกระทบระหว่างการรับสัมผัสโทลูอีนความเข้มข้นต่ำกับความบกพร่องทางด้านความจำอย่างชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

รชฏ เลียงจันทร์. (2560). อุตสาหกรรมปิโตรเคมี แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี 2560-62. *วิจัยกรุงศรี, 1*(1), 1-13.

ฉัตราภรณ์ สวัสดิยภานนท์. (2558). *การเปรียบเทียบผลของน้ำมะละกอสุกที่มีต่อการปกป้องระบบประสาทของแบบจำลองการเกิดโรคสมองเสื่อมระยะแรกในสัตว์ทดลอง.*วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาการวิจัยและสถิติทางวิทยาการปัญญา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ปรัชญา แก้วแก่น .(2562). ผลของสารสกัดมะละกอต่อการต้านอนุมูลอิสระในแบบจำลองภาวะสมองขาดเลือดเฉพาะที่ในหนูทดลอง .*วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 24*(1), 92-106.

สิรินทร ฉันศิริกาญจน, จิรพร เหล่าธรรมทัศน์, จักรกฤษณ์ สุขยิ่ง, ดาวชมพู นาคะวิโร, อรพิชญา ไกรฤทธิ์, วิลาวัณย์ ประสารอธิคม, สมพร โชติวิทยธารากรและเพียงพร เจริญวัฒน์. (2558). สมรรถนะสมองของผู้ใหญ่และผู้สูงอายุไทย: ปัจจัยเสี่ยงต่อภาวะสมองเสื่อม. *วารสารพิษวิทยาไทย, 30*(1), 41-59.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2017). *Toxicological profile for Toluene*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Berenguera, P., Soulageb, C., Perrinb, D., Pequignotb, J., & Abraini, J. H. (2003). Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats. Pharmacology, *Biochemistry and Behavior, 74*(4), 997-1003.

Callan, S. P., Apawu, A. K., Mathews, T. A., & Bowen, S. E. (2017). Toluene's effects on activity and extracellular dopamine in the mouse are altered by GABAA antagonism. *Neuroscience Letters, 647*, 67-71.

Chan, M. H., Chung, S. S., Stoker, A. K., Markou, A., & Chen, H. H. (2012). Sarcosine attenuates toluene-induced motor incoordination, memory impairment, and hypothermia but not brain stimulation reward enhancement in mice. *Toxicol Appl Pharmacol, 265*(2),158-165.

Chan, M. H., Tsai, Y. L., Lee, M. Y., Stoker, A. K., Markou, A., & Chen, H. H. (2015). The group II metabotropic glutamate receptor agonist LY379268 reduces toluene-induced enhancement of brain-stimulation reward and behavioral disturbances. *Psychopharmacology (Berl), 232*(17), 3259-3268.

Chang, F. K., Chen, M. L., Cheng, S. F., Shih, T. S., & Mao, I. F. (2007). Evaluation of dermal absorption and protective effectiveness of respirators for xylene in spray painters. *Int Arch Occup Environ Health, 81*(2), 145-50.

Edmonds, W. A., & Kennedy, T. D. (2017). *An Applied Guide to Research Designs: Quantitative, Qualitative, and Mixed Methods*. California: SAGE Publications.

Euler, M., Pham, T. M., Hillefors, M., Bjelke, B., Henriksson, B., & Euler, G. (2000). Inhalation of low concentrations of toluene induces persistent effects on a learning retention task, beam-walk performance, and cerebrocortical size in the rat. *Experimental Neurology, 1*(163), 1-8.

Hoge, J., & Kesner, R. P. (2007). Role of CA3 and CA1 subregions of the dorsal hippocampus on temporal processing of objects. *Neurobiology Learn Memory, 88*(2), 225-231.

Kamal, A., & Malik, R. N. (2012). Hematological evidence of occupational exposure to chemicals and other factors among auto-repair workers in Rawalpindi, Pakistan. *Osong Public Health Res Perspect, 3*(4), 229-238.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum S. E., Hudspeth, A. J., & Mack, S. (2013). *Prefrontal cortex, hippocampus, and the biology of explicit memory storage.* McGraw-Hill: United States.

Ketsuwan, N., Leelarungrayub, J., &Banchonglikitkul, C. (2017). Effects of Thai medicinal plant, Vernonia cinerea Less. extract on catecholamine, oxidative stress and chromosome aberration in nicotine-treated rats. *Journal of Associated Medical Sciences, 50*(2), 262-272.

Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., & Freret, T. (2013). Object recognition test in mice. *Nature Protocal, 8*(12), 2531-2537.

Lopez-Rubalcava, C., Chavez-Alvarez, K., Huerta-Rivas, A. G., Paez-Martınez, N., Bowen, S. E., & Cruz, S. L. (2014). Long-term behavioral consequences of prenatal binge toluene exposure in adolescent rats. *Journal of Drug and Alcohol Research, 3*, 1-9.

Montes, S., Solis-Guillen, R. C., Garcia-Jacome, D., & Paez-Martinez, N. (2017). Environmental enrichment reverses memory impairment induced by toluene in mice. *Neurotoxicology and Teratology, 61*(1), 7-16.

Paez-Martinez, N., Flores-Serrano, Z., Ortiz-Lopez, L., & Ramirez-Rodriguez, G. (2013). Environmental enrichment increases doublecortin-associated new neurons and decreases neuronal death without modifying anxiety-like behavior in mice chronically exposed to toluene. *Behavioural Brain Research, 256*(1), 432-440.

Rasoul, G. M. A., Salem, E. A., Allam, H. K., Shehata, Y. A., Abu-Salem, M. E., & Zagloul, A. F. E. (2019). Neurobehavioral and hematological health disorders among fuel supply station workers. *Menoufia Medical Journal, 30*, 1103-1109.

Soulage, C., Perrin, D., Berenguer, P., & Pequignot, J. M. (2004). Sub-chronic exposure to toluene at 40 ppm alters the monoamine biosynthesis rate in discrete brain areas. *Toxicology, 196*(1-2), 21-30.

Woodward, J. J., & Beckley, J. (2014). Effects of the abused inhalant toluene on the mesolimbic dopamine system. *J Drug Alcohol Res, 3*, 1-15.