บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

4.1 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์เป็นเวลา 30 วันติดต่อกัน มีน้ำหนักตัวต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ เข้าใจว่าบอแรกซ์มีผลทำให้หนูกินอาหารได้น้อยลง และยังทำให้หนูมีอาการคล้ายขาด riboflavine (Role et al, 1972)ซึ่งมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของหนูต่ำกว่าปกติ การทำ partial hepatectomy จะทำให้น้ำหนักตัวหนูลดลงมากในวันแรก เนื่องจากการทำ partial hepatectomy ทำให้หนูบาดเจ็บ และยังทำให้น้ำหนักตับลดลงไปจากเดิมอีกประมาณ 3 ใน 4 (Higgin and Anderson, 1931) ซึ่งมีผลทำให้หนูกินอาหารและน้ำได้น้อยกว่าปกติ จากนั้นจึงค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนเป็นปกติในวันที่7 ส่วนการเพิ่มของน้ำหนักตับภายหลังการทำ partial hepatectomy ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียว มีการเพิ่มอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่ทำ partial hepatectomy control แสดงว่าบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียวมีผลต่อการงอกชดเชยของตับน้อย แต่ในกลุ่มหนูที่ได้รับทั้งบอแรกซ์ และเอทธานอลรวมกับการทำ partial hepatectomy มีการเพิ่มของน้ำหนักตับช้ากว่ากลุ่มอื่นๆ แสดงว่าบอแรกซ์และเอทธานอลอาจมีผลเสริมกันในการกดการงอกชดเชยของตับ

จากผลการศึกษาการเพิ่มของน้ำหนักตับภายหลังการทำ partial heaptectomy พบว่าการได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียว มีผลน้อย ต่อการเพิ่มของน้ำหนักตับ แต่การได้รับทั้งบอแรกซ์และเอธานอลมีผลทำให้ การเพิ่มของน้ำหนักตับเป็นไปได้ช้ากว่า การเพิ่มของน้ำหนักตับแสดงว่ามีการงอกชดเชยของตับ ซึ่งต้องอาศัยการแบ่งตัวของเซลตับ เมื่อพิจารณาจากค่า mitotic index ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงอัตราการงอกชดเชยของตับ พบว่าการได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียวมีผลกดการแบ่งตัวของเซลตับให้ช้าออกไปในวันที่ 1 และ 2 แต่การได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอล มีผลอย่างมากต่อการกดการแบ่งตัวของเซลตับ โดยพบว่าในวันแรกเกือบไม่มีการแบ่งเซลเกิดขึ้นเลย แต่หลังจากนั้นจึงจะมีการแบ่งเซลเพิ่มขึ้นมากในวันที่ 2 และ 3 และลดลงเกือบเท่า ก่อนทำ partial hepatectomy ในวันที่ 7 ผลการศึกษานี้จึงสอดคล้องกับ การศึกษาการเพิ่มของน้ำหนักตับภายหลังการทำ partial hepatectomy แสดงว่าบอแรกซ์และเอทธานอลต่างก็มีผลกดการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซล เนื่องจากบอแรกซ์

มีผลกดการทำงานของเอ็นไซม์ที่ต้องการ NAD^+ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และเอทธานอลก็มีผลกดการสังเคราะห์โปรตีนโดยการทำให้ amino acid metabolism ในเซลตับผิดปกติไป (Jcejeebhoy et al, 1971) และทำให้ metabolism บางอย่างในเซลตับ เปลี่ยนไป (Lieber, 1975a) การได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอลจึงมีผลร่วมกัน ในการกดการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลได้มากกว่า การได้รับ บอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียว

จากผลการศึกษาทาง histology พบว่าในหนูกลุ่มที่ทำ partial hepatectomy control มี vacuole เกิดขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากการทำ partial hepatectomy ทำให้การทำงานปกติของเซลตับลดลง แต่จะเปลี่ยนไปสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลเพิ่มขึ้น ทำให้สมดุลย์ของ lipid metabolism เสียไป ในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy พบว่ามี vacuole ขนาดเล็กเกิดขึ้นทั่วไปใน cytoplasm ของเซลตับในวันที่ 1 หลังการทำ partial hepatectomy vacuole เหล่านี้มีจำนวนมากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้นในวันที่ 2 และ 3 และจะลดลงในวันที่ 4 แต่ยังพบเล็กน้อยในวันที่ 7 หลังการทำ partial hepatectomy เมื่อพิจารณาจากสีของเนื้อตับซึ่งมีสีซีดค่อนข้างเหลืองต่างจากสีเนื้อตับปกติซึ่งมีสีแดงเข้มร่วมกับ ลักษณะของ vacuole ซึ่งมีลักษณะกลม ขอบชัดภายใน vacuole มีลักษณะใส ในบางเซลพบว่า vacuole ดัน nucleus ไปอยู่ริมเซล แสดงว่า vacuole ที่เกิดขึ้นเป็น fat vacuole การที่มีการสะสมของไขมันใน cytoplasm ของเซลตับในหนูกลุ่มนี้เกิดจาก การเผาผลาญเอทธานอลในร่างกายทำให้ได้ NADH และ H^+ เกิดขึ้น NADH มีผลไปกระตุ้นการสร้างไขมัน H^+ มีผลไปกดการสลายไขมัน ในขณะเดียวกันเอทธานอลก็มีผลไปกดการสร้างโปรตีนซึ่งเป็นตัวพาไขมันออกจากเซลในรูปของ lipoprotein จึงทำให้มีการคั่งของ ไขมันใน cytoplasm ของเซลตับแล้วเกิดการสะสมขึ้น

พบว่าการเกิด vacuole จะมีการเปลี่ยนแปลงในบริเวณ perilobular และ midzonal zone ของตับก่อนและมากกว่าบริเวณ centrolobular zone เนื่องจากการไหลของกระแสโลหิตจาก portal vein ที่เข้าสู่ตับมีทิศทางผ่านจาก perilobular zone ผ่าน midzonal zone เข้าสู่ centrolobular zone ทำให้สารที่ถูกดูดซึมจากทางเดิน

อาหารเข้าสู่ perilobular zone ก่อนแล้วจึงเข้าสู่ midzonal zone และcentrolobular zone ตามลำดับ ทำให้ cytologic behavior และ physiologic behavior ของเซลตับบริเวณ perilobular zone และ midzonal zone ต่างจากบริเวณcentrolobular zone เอทธานอลมีผลเช่นเดียวกับสารอื่นๆ ที่ถูกดูดซึมจากทางเดินอาหาร คือจะถูกส่งผ่านจาก perilobular zone เข้าสู่ centrolobular zone. ซึ่งทำให้เอทธานอลถูกเผาผลาญเป็น acetaldehyde ในส่วน perilobular zone ก่อน centrolobular zone จึงทำให้พบการเกิด vacuole ในบริเวณ perilobular zone และ midzonal zone ก่อนและมากกว่าบริเวณ centrolobular zone ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ร่วมกับการทำ partial hepatectomy มี vacuole เกิดขึ้นน้อยมากเนื่องจากไม่มีการกระตุ้นให้เกิดการสะสมของไขมัน ในหนูกลุ่มที่ได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอล มี vacuole เกิดขึ้นน้อยกว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy แต่กลับพบว่าเซลตับถูกทำลายมากกว่าโดยพบเซลตับที่มีการเปลี่ยนแปลง ในทางเสื่อมหลายระยะเช่นพบ pyknotic nuclei, karyorhaxis, karyolysis แสดงว่าบอแรกซ์มีผลทำให้เอทธานอลถูกเผาผลาญเป็น acetaldehyde ได้น้อยและช้าลง จึงทำให้เกิด NADH และ H^+ ได้ช้าและน้อยลง นอกจากนี้บอแรกซ์ยังอาจยับยั้งการสร้าง acetyl CoA ซึ่งในปฏิกิริยาต้องการ NAD^+ เป็น co-factor และ acetyl Co A จะถูกนำไปสร้างเป็นไขมันในเวลาต่อไป ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดไขมันสะสมใน cytoplasm ของเซลตับน้อยลงแต่ผลโดยตรงของเอธานอลต่อเซลตับจะมากขึ้นกว่าในสภาพที่ไม่มีบอแรกซ์ร่วมด้วยจึงมีผลทำให้เซลตับถูกทำลายได้มากกว่า

จากการพบว่าตับหนูตัวหนึ่งที่ได้รับบอแรกซ์ติดต่อกัน 30 วันแล้วเกิดเป็นมะเร็งชนิด sarcoma อาจเกิดขึ้นจากสาเหตุอื่นซึ่งยังไม่ทราบรายละเอียดแน่ชัดหรืออาจเนื่องจากบอแรกซ์มีส่วนช่วยกระตุ้นก็เป็นได้เพราะว่าพบในหนูเพียงตัวเดียว

ผลการทดสอบหน้าที่ของตับหนูจากการวัดระดับ SGOT และ SGPT ในซีรั่มของหนูพบว่าในหนูกลุ่มที่ทำ partial hepatectomy control มีการเพิ่มของระดับ SGOT และ SGPT ในซีรั่มได้ แสดงว่าการทำ partial hepatectomy เพียงอย่างเดียว สามารถทำให้เซลตับได้รับอันตรายได้ผลเหมือนกับการศึกษาทาง histology เมื่อหนูได้รับ

บอแรกซ์หรือเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy จะทำให้ระดับ SGOT สูงขึ้น แต่ระดับ SGPT ไม่เปลี่ยนแปลงมาก แสดงว่า บอแรกซ์หรือเอทธานอลต่างก็มีผลทำให้เซลตับได้รับอันตรายมากขึ้น และเมื่อได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy จะมีผลทำให้ระดับ SGOT ในซีรั่มสูงกว่าในหนูกลุ่ม partial hepatectomy control ประมาณ 3 เท่า ส่วนระดับ SGPT ในซีรั่มก็มีการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกัน แสดงว่าบอแรกซ์และเอทธานอลมีผลร่วมกันในการทำให้เซลตับได้รับอันตรายมากขึ้น

จากผลการวัดระดับ indirect bilirubin ในซีรั่มของหนู พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอลมีระดับ indirect bilirubinในซีรั่มสูงกว่าหนู กลุ่มอื่นๆ ในวันที่ 2 และ 3 หลังการทำ partial hepatectomyแสดงว่ามีการคั่งของ indirect bilirubin ในซีรั่ม เนื่องจากเซลตับทำหน้าที่ conjugate indirect bilirubin ให้เป็น direct bilirubinได้ช้าลง ผลนี้จึงช่วยสนับสนุนการศึกษาที่แล้วมา ซึ่งพบว่าเซลตับในหนูกลุ่มนี้ถูกทำลายมาก

จากผลการวัดระดับ direct bilirubin ในซีรั่มของหนู พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับทั้งบอแรกซ์และเอทธานอลมีระดับ direct bilirubin ในซีรั่มสูงกว่าหนูกลุ่มอื่นๆ ในวันที่ 2 และ 3 หลังการทำ partial hepatectomy แสดงว่ามีการอุดกั้นการไหลของ bile ซึ่งเซลตับ conjugateแล้ว การที่พบเช่นนี้เข้าใจว่าในหนูกลุ่มนี้ถึงแม้เซลตับจะถูกทำลายไปบางส่วน แต่เซลตับในส่วนที่เหลือก็ยังสามารถconjugate indirect bilirubin ให้เป็น bile ได้ แต่อาจจะมีการอุดกั้นการไหลของ bile โดยเซลตับซึ่งตาย หรือเซลตับซึ่งบวม ทำให้ direct bilirubin ถูกดูดซึมกลับเข้าสู่กระแสโลหิต จึงได้ผลเช่นนี้

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าบอแรกซ์มีผลร่วมกับเอทธานอลในการทำให้เซลตับถูกทำลายได้มากกว่า การได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียว ภายหลังการทำ partial hepatectomy ปรากฏการณ์เช่นนี้อาจอธิบายได้จากรายงานซึ่งเคยมีผู้ศึกษาพบว่าบอแรกซ์มีผลกดการทำงานของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenaseดังนั้นการเผาผลาญเอทธานอลจึงเกิดได้ช้าลง ทำให้มีการคั่งของเอทธานอลในเลือด และเนื่องจากเอทธานอลสามารถมีผลโดยตรงต่อ membrane system ต่างๆ เช่น cell membrane

mitochondria และendoplasmic reticulum ซึ่งโครงสร้างของ membrane มีสารไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญและเอทธานอลเป็นตัวทำลายที่ดีของไขมัน (French 1968 และ Iseri et al, 1966) หรืออาจเนื่องมาจากมีการคั่งของ acetaldehyde ในเลือดร่วมด้วยเนื่องจากบอแรกซ์อาจจะมีผลกดการทำงานของเอ็นไซม์ acetaldehyde dehydrogenase ซึ่งต้องการNAD^+ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเผาผลาญ acetaldehyde ไปเป็น acetate และ acetaldehyde เป็นสารที่มีพิษต่อเซลมาก จึงทำให้เซลตับมีโอกาสได้รับอันตรายมากขึ้น ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการตรวจผลทาง histology ที่ได้ผลว่าบอแรกซ์และเอทธานอลมีผลร่วมกันในการทำให้เซลตับของหนูถูกทำลายมากภายหลัง การทำ partial hepatectomy

จากผลการศึกษา specific activity ของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase พบว่าในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ในวันที่ 15 ของการทดลองมีค่าสูงสุด และจะลดลงเล็กน้อยในวันที่ 30 ของการทดลอง ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลอง ของ Hollstedt et al,(1977) ซึ่งพบว่า specific activity ของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenaseในตับหนูตัวผู้จะเปลี่ยนไปตามอายุได้ โดยพบว่าในหนูขนาด 25 กรัม จะมีระดับต่ำ ในหนูขนาด 150 กรัมจะเพิ่มสูงขึ้น แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์พบว่า specific activity ของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase จะสูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อถึงวันที่ 15 ของการทดลอง และจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อถึงวันที่ 30 ของการทดลอง แสดงว่าอาจเกิดมีการปรับตัวของเอ็นไซม์ให้ไวต่อปฏิกิริยามากขึ้นหรือจำนวนเอ็นไซม์เองอาจจะสูงมากขึ้นเพื่อเป็นการชดเชยกับการที่บอแรกซ์สามารถจับกับNAD^+ ทำให้ขาด NAD^+สำหรับเร่งการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้

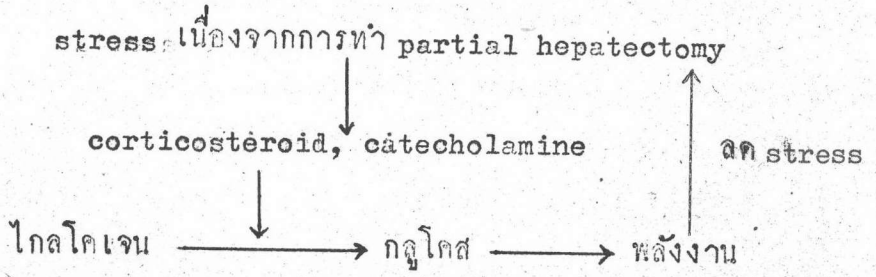
จากผลการศึกษาระดับเอทธานอลในเลือดพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ก่อนแล้วได้รับเอทธานอลโดยไม่มีการทำ partial hepatectomy ร่วมด้วยจะมีระดับเอทธานอลในเลือดต่ำกว่าและมีการลดลงของระดับเอทธานอลในเลือดช้ากว่าในกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ก่อนได้รับเอทธานอล ส่วนในหนูกลุ่มที่ทำ partial hepatectomy ร่วมด้วยพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ก่อนแล้วจึงได้รับเอทธานอลจะมีระดับเอทธานอลในเลือดต่ำกว่า และมีการลดลงของระดับเอทธานอลในเลือดช้ากว่าในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ก่อนเช่นเดียวกัน ผลนี้

อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ อาทิ บอแรกซ์ อาจมีผลทำให้เอทธานอลถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ช้ากว่าในสภาพปกติ หรือมีผลเร่งการสลายเอทธานอลไปเป็น acetaldehyde แต่เหตุผลแรกมีความเป็นไปได้มากกว่า เพราะจากผลการศึกษา glucose tolerance test พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์มีการดูดซึมกลูโคสจากทางเดินอาหารช้ากว่าในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์จึงมีเหตุผลทำให้เชื่อว่าการดูดซึมสารอื่นๆจากทางเดินอาหารก็คงช้าลงเช่นกัน ส่วนสาเหตุที่ระดับเอทธานอลในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ลดลงช้ากว่าหนูที่ไม่ได้รับ บอแรกซ์ เพราะว่าบอแรกซ์มีผลกดการทำงานของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase โดยการแย่งจับกับ NAD^+ ถึงแม้จะมีการปรับตัวให้ specific activity ของเอ็นไซม์ชนิดนี้สูงขึ้นก็ตาม แต่ NAD^+ ในร่างกายมีจำกัดและส่วนใหญ่ถูกบอแรกซ์จับไว้ จึงทำให้เซลตับไม่สามารถเผาผลาญเอทธานอลได้รวดเร็วเหมือนในสภาพปกติ และมีผลทำให้ระดับเอทธานอลในเลือดหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ลดลงช้ากว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ เมื่อมีการทำ partial hepatectomy ร่วมด้วยจะยิ่งทำให้ระดับเอทธานอลในเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ ลดลงช้ากว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ เนื่องจากเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase ส่วนใหญ่อยู่ในตับ (Lieber, 1976) และการทำ partial hepatectomy ทำให้เนื้อตับลดลงไปประมาณ 3 ใน 4 จากของเดิม (Higgin and Anderson, 1931) จึงทำให้ปริมาณเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase ทั้งหมดในตับหนูที่ทำ partial hepatectomy ลดลงมาก

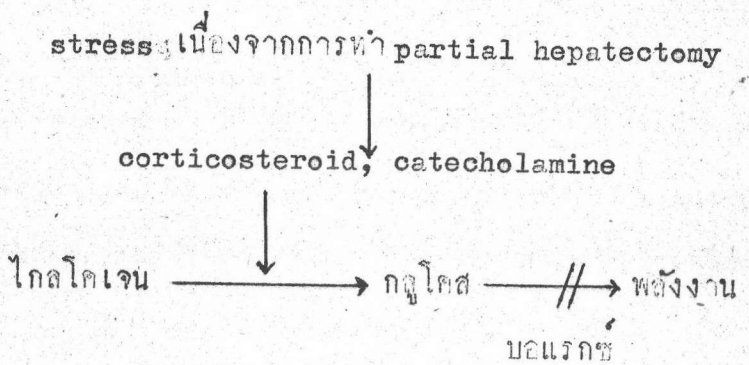
จากผลการศึกษาระดับกลูโคสในเลือดในการทำ glucose tolerance test พบว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์มีการลดลงของระดับกลูโคสในเลือดช้ากว่า ในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ เข้าใจว่าบอแรกซ์อาจจะมีผลรบกวน glycolysis เมื่อพิจารณา จากผลการศึกษาระดับกลูโคสในชีรั่ม พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์มีระดับกลูโคสในเลือดก่อนทำ partial hepatectomy ต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ประมาณ 25% ทำให้เข้าใจว่าอาจจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของหนู ซึ่งในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ ทำให้ metabolism โดยทั่วไปของร่างกายต่ำกว่าปกติ แต่ภายหลังการทำ partial hepatectomy ระดับกลูโคสในชีรั่มของหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์กลับสูงขึ้นในขณะที่ในกลุ่ม control มีระดับต่ำลง การที่เกิดเช่นนี้เข้าใจว่า การทำ partial hepatectomy ทำให้เกิดภาวะ stress ซึ่งจะมีผลกระตุ้น ให้

เกิดการหลั่ง hormone พวก corticosteroid และ catecholamine hormone ทั้งสองกลุ่มนี้จะไปมีผลกระตุ้นการสลายไกลโคเจนให้เป็นกลูโคส ขณะเดียวกันกลูโคสจะถูกใช้ไปเพื่อให้ได้พลังงานสำหรับการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ที่จำเป็นสำหรับ การงอกขยายของตับ เนื่องจากบอแรกซ์สามารถจับกับ NAD^+ ซึ่ง NAD^+ เป็น co-enzyme ของเอ็นไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการสลายกลูโคส ทำให้มีผลกระทบการใช้กลูโคส ในขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับ NAD^+ เช่นในการเปลี่ยน glyceraldehyde-3-phosphate ให้เป็น 1,3-diphosphoglyceric acid ซึ่งจะมีผลทำให้กลูโคสถูกสลายได้ช้าลง จึงพบว่าระดับกลูโคสในซีรั่มของหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์สูงขึ้นในวันที่ 1 หลังการทำ partial hepatectomy ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นอธิบายได้ด้วยแผนภาพต่อไปนี้คือ

ในหนูกลุ่ม partial hepatectomy control



ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ร่วมกับการทำ partial hepatectomy



ในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลร่วมด้วย พบว่าระดับกลูโคสในซีรั่มต่ำลง แต่ไม่มากเท่ากลุ่ม control แสดงว่าในการเผาผลาญเอทธานอลถึงแม้จะไม่มากนักและพลังงานที่ได้ก็ใช้ประโยชน์ได้น้อย แต่ก็อาจมีผลช่วยลดการใช้กลูโคสลงได้บ้าง เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงในปริมาณไกลโคเจนในเซลตับร่วมด้วย โดยอาศัยการย้อมเนื้อตับด้วยสี PAS พบว่าในหนูกลุ่ม control มีการลดลงของปริมาณ PAS positive materials ในเซลตับน้อย และมีการกลับคืนสู่สภาพปกติได้เร็ว ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ พบว่ามีการลดลงของปริมาณ PAS positive materials ในเซลตับมากกว่ากลุ่ม control เล็กน้อย และมีการกลับคืนสู่สภาพปกติได้ค่อนข้างเร็ว ในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลและทั้งบอแรกซ์ ร่วมกับเอทธานอลมีการลดลงของปริมาณ PAS positive materials ในเซลตับมาก และมีการกลับคืนสู่สภาพปกติได้ช้า แสดงว่าในหนูสองกลุ่มหลังร่างกายขาดพลังงานมากจึงมีการกระตุ้นให้เกิดการสลายไกลโคเจนออกจากเซลตับมาก โดยที่บอแรกซ์ไม่มีผลรบกวน ต่อการสลายไกลโคเจนไปเป็นกลูโคส

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอัณฑะพบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ติดต่อกัน 30 วันมีน้ำหนักอัณฑะต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์ จากการดูผลทาง histology พบว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์มี spermatogenesis เป็นปกติคือพบว่ามีเซลชั้น spermatogonia, spermatozyte, spermatid และ spermatozoa แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ก็พบแต่ชั้น speratogonia แสดงว่าบอแรกซ์มีผลกด spermatogenesis โดยอาจจะมีผลกด replication ของ chromosome ของเซลที่จะให้กำเนิด spermatozoa และการที่บอแรกซ์มีผลทำให้หนูมีอาการคล้ายการขาด riboflavin จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของร่างกายรวมทั้งระบบสืบพันธุ์ลดลงด้วย จึงมีผลทำให้หนูเป็นหมัน ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาพิษของบอแรกซ์ต่ออัณฑะหนูที่เคยมีการศึกษากันมาบ้างแล้ว (Krasovskii et al, 1976 และ Weir and Fisher, 1971) แต่การทดลองครั้งนี้ใช้เวลาน้อยกว่าในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบนี้ขึ้น

จากผลการศึกษาในระยะแรกๆ พบว่าการได้รับบอแรกซ์และเอทธานอล ความเข้มข้นสูงๆ ร่วมกับการทำ partial hepatectomy จะทำให้มีเลือดออกในทางเดินอาหาร จึงได้ศึกษาถึงการแข็งตัวของเลือด เพราะองค์ประกอบหลายอย่างที่จำเป็นสำหรับ

การแข็งตัวของเลือดถูกสังเคราะห์ขึ้นในตับ เมื่อตับส่วนใหญ่ถูกทำลายไปองค์ประกอบเหล่านี้จึงควรจะน้อยลงแล้วมีผลทำให้เวลาการแข็งตัวของเลือดยาวนานออกไป และถ้ามีเลือดออกในตัวหนูจะทำให้หนูมีโอกาสเสียเลือดมาก ผลการศึกษาพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ มีเวลาการแข็งตัวสั้นกว่าในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับบอแรกซ์แสดงว่าบอแรกซ์อาจมีผลต่อ การทำงานขององค์ประกอบต่างๆ ที่ทำให้เลือดแข็งตัว โดยมีผลเร่งการแข็งตัวของเลือดให้เร็วขึ้นเมื่อพิจารณาถึงการทำ partial hepatectomy พบว่า จะทำให้เวลาการแข็งตัว ของเลือดลดลงเล็กน้อย ทั้งในกลุ่มที่ได้รับหรือไม่ได้รับบอแรกซ์มาก่อน เชื่อว่าอาจเกิดจากการปรับตัวของหนูในสภาพที่มีการบาดเจ็บมากจากการทำ partial hepatectomy เพื่อไม่ให้เสียเลือดมากเกินไป ในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy จะทำให้เวลาการแข็งตัวของเลือดสั้นลง แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์และเอทธานอล ร่วมกับการทำ partial hepatectomy จะมีเวลาการแข็งตัวของเลือดสั้นลงมากแสดงว่าบอแรกซ์มีผลร่วมกับเอทธานอลต่อการทำงานขององค์ประกอบต่างๆ ที่ทำให้เลือดแข็งตัว ซึ่งอาจมีผลต่อองค์ประกอบอันใดอันหนึ่งเพียงอย่างเดียวหรือหลายๆ องค์ประกอบก็เป็นได้ การที่เวลาการแข็งตัวของเลือดสั้นลงมากอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อหนูได้ง่าย เนื่องจากเลือดมีการแข็งตัวเร็ว ซึ่งอาจทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดในเส้นเลือดขนาดเล็ก และทำให้เส้นเลือดเหล่านั้นอุดตันได้ง่าย และถ้าเกิดเหตุการณ์เช่นนี้ขึ้นในเส้นเลือดของอวัยวะที่สำคัญบางอย่างเช่น สมอง หรือกล้ามเนื้อหัวใจ ก็อาจทำให้เป็นอันตรายร้ายแรงต่อหนูได้ ดังนั้นการที่พบว่ามีเลือดออกในทางเดินอาหารจึงน่าจะเกิดจากสาเหตุอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด เช่นอาจจะเกิดจากผลโดยตรงของเอทธานอลเพราะหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์มีอาการขาด riboflavin ซึ่งมีผลทำให้คุณสมบัติของ mucus membrane เปลี่ยนไปดังนั้นความทนทานต่อเอทธานอลจึงน้อยลงกว่าในสภาพปกติ กลไก ที่ละเอียดของปรากฏการณ์ นี้จึงเป็นสิ่งที่ควรจะได้ศึกษาเพิ่มเติมในโอกาสต่อไปเพื่อจะได้ตอบปัญหานี้ได้อย่างกระจ่าง ชัดยิ่งขึ้น

ผลการศึกษาการสะสมของโบรอนในอวัยวะต่างๆ พบว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ติดต่อกัน 30 วัน จะมีการสะสมของโบรอนในอวัยวะเหล่านี้จากมากไปหาน้อยคือ ไต ตับ อัณฑะ และสมอง แสดงว่าโบรอนจากการได้รับบอแรกซ์สามารถผ่านกระแสโลหิต

เข้าไปสะสมในอวัยวะต่างๆ ได้หลายชนิด แล้วทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นในอวัยวะเหล่านั้น ในวันที่ 31 ของการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์และเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy มีระดับโบรอนในซีรั่มและตับลดต่ำลงกว่าในวันที่ 30 ของการทดลอง แต่ลดลงน้อยกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ร่วมกับการทำ partial hepatectomy แต่ในอวัยวะอื่นๆ แม้จะลดลงจากวันที่ 30 แต่ก็ไม่แตกต่างกันระหว่างหนู 2 กลุ่มนี้ แสดงว่าผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์และเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy ที่มากกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ร่วมกับการทำ partial hepatectomy อาจเนื่องมาจากการที่มีโบรอนค้างอยู่ในซีรั่มและตับมากกว่าเป็นสาเหตุหนึ่งด้วยก็อาจเป็นได้ ส่วนการที่ มีระดับโบรอนสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่ได้รับเอทธานอลร่วมด้วยอาจเนื่องมาจากตับของหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลและบอแรกซ์ร่วมกับการทำ partial hepatectomy มีอัตราการงอกซ่อมเซยช้ากว่าหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์ร่วมกับการทำpartial hepatectomy จึงทำให้มีความเข้มข้นของโบรอนต่อปริมาณเนื้อตับที่เท่ากันมากกว่าหนูกลุ่มหลังหรืออาจเนื่อง มาจากตับหนูกลุ่มแรกทำงานตามปกติได้น้อยกว่าเซลตับหนูกลุ่มหลัง จึงอาจทำให้การกำจัดโบรอนที่สะสมอยู่ในตับทำได้ช้ากว่าปกติ ซึ่งจะมีผลสะท้อนทำให้ระดับโบรอนในซีรั่มของหนู ในกลุ่มแรกยังคงสูงกว่าในหนูกลุ่มหลังด้วย

4.2 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองเกี่ยวกับผลของบอแรกซ์และเอทธานอลต่อการงอกชดเชยของตับหนูขาวภายหลังการตัดตับออกบางส่วนสรุปได้ว่า การได้รับบอแรกซ์แม้จะทำให้ specific activity ของเอ็นไซม์ alcohol dehydrogenase เพิ่มขึ้นแต่ในสัตว์ทดลองจริงๆ จะไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากเพราะ NAD^+ ซึ่งเป็นตัวเร่งการทำงานของเอ็นไซม์นี้ ถูกบอแรกซ์จับไว้ ทำให้ขาด NAD^+ สำหรับการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ ในหนูกลุ่มที่ได้รับบอแรกซ์และเอทธานอลร่วมกับการทำ partial hepatectomy จึงมีการเผาผลาญเอทธานอล ไปเป็น acetaldehyde ได้ช้ากว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับเอทธานอลอย่างเดียวร่วมกับการทำ partial hepatectomy และอาจทำให้การเผาผลาญ acetaldehyde ต่อไปเป็น acetate ช้าลงด้วย เนื่องจาก NAD^+ ก็เป็นตัวเร่งการทำงานของเอ็นไซม์ acetaldehyde dehydrogenase ผลที่เกิดขึ้นจึงทำให้มีการคั่งของเอทธานอลและอาจมีการคั่งของ acetaldehyde ร่วมด้วยอยู่ในกระแสโลหิต ทำให้เซลตับของหนูได้รับบอแรกซ์และเอทธานอลร่วมกับ การทำ partial hepatectomy ได้รับอันตรายมากกว่าการได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียวร่วมกับการทำ partial hepatectomy เมื่อพิจารณาจากระดับ SGOT, SGPT, direct bilirubin และ indirect bilirubin ที่เพิ่มขึ้นมาก รวมทั้งการแบ่งเซลที่เกิดขึ้นเกือบไม่ได้เลยในวันแรกหลังการทำ partial hepatectomy แสดงว่าพิษของเอทธานอลโดยตรงต่อ เซลตับมีมากกว่าในภาวะปกติ และยังอาจมีพิษของ acetaldehyde ร่วมอยู่ด้วย ซึ่งจะทำให้มีผลกดขบวนการสังเคราะห์สารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซล และทำให้เซลตับได้รับอันตรายมากกว่าการได้รับบอแรกซ์หรือเอทธานอลเพียงอย่างเดียว ร่วมกับการทำ partial hepatectomy

เนื่องจากบอแรกซ์เป็นสารที่พบเจือปนอยู่ในอาหารประเภทกับแกล้มหลายชนิด การดื่มเอทธานอลร่วมกับการได้รับบอแรกซ์จากอาหารในภาวะที่ตับอยู่ในสภาพที่ถูกกระตุ้นให้มีการงอกชดเชยจึงอาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้มากกว่าปกติ ผลการทดลองครั้งนี้ จึงสามารถนำไปใช้เป็นสิ่งกระตุ้นเตือนให้คนไทยสนใจถึงพิษของบอแรกซ์ที่เจือปนในอาหาร และเครื่องดื่มที่มีเอทธานอลผสมมากขึ้น