

บทที่ 1

บทนำ



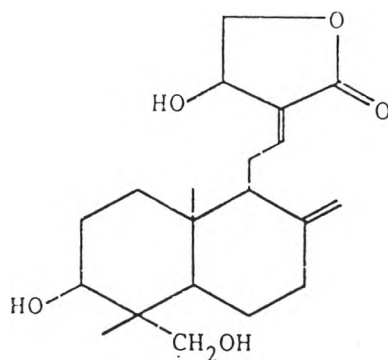
แอนโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide)

ในปี ค.ศ. 1896 Boorma ได้ค้นพบสารออกฤทธิ์ที่สำคัญจาก ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.) Wall ex Nees) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae มีลักษณะเป็นผลึก ไม่มีสี เรียกว่า Andrographide ต่อมาในปี ค.ศ. 1911 Gorter ได้ทำการแยกสารประกอบนี้ให้บริสุทธิ์มากขึ้น แล้วพบว่า สารดังกล่าวเป็น สารประกอบประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตน (diterpenoid lactone) จึงเปลี่ยนชื่อเป็น แอนโดรกราโฟไลด์ (Cava et al., 1962) สารประกอบนี้พบมากในส่วนของฟ้าทะลายโจร โดยจะมีปริมาณสูงสุดในระยะออกดอก คือ ช่วงเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน อาจพบปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์ได้ 4-6% (Nantikan Mahaverawat, 1990)

คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

แอนโดรกราโฟไลด์ เป็น unsaturated trihydroxy lactone โดยมีสูตรโครงสร้างเป็น $C_{20}H_{30}O_5$ ดังแสดงในรูปภาพที่ 1. เมื่อนำมาทดสอบกับ Legal reagent, Kedde's reagents และ 50% KOH-methanol จะได้ผลบวก ละลายได้ดีในเมธานอล เอทานอลและกรดอะซิติก ละลายได้เล็กน้อยในเบนซีน คลอโรฟอร์ม และอะซิโตน ไม่ละลายในอีเธอร์และน้ำ (สัมพันธ วงศ์เสรีพัฒนา, 2528; Cava et al., 1962)

แอนโดรกราโฟไลด์ที่สกัดด้วยเมธานอลจากต้นฟ้าทะลายโจร จะมีลักษณะเป็นผลึก รูปสี่เหลี่ยม ไม่มีสี มีรสขมเล็กน้อย มีจุดหลอมเหลว (melting point) เท่ากับ $230-239\text{ }^{\circ}\text{C}$ ค่าการหมุนของแสง ($[\alpha]_D^{25}$) เท่ากับ -112.7° ($C=0.53$, CH_3OH) การดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตในเมธานอลมีความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) เท่ากับ 223.2 ($\epsilon 13000$) IR spectrum ในโพเรตสเซียมโบรไมด์ (KBr) คือ 3398 (hydroxyl), 1727, 1673 (α,β -unsaturated- γ -lactone), 905 (exocyclic-methylene) cm^{-1} (Matsuda et al., 1994)



รูปภาพที่ 1. แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของแอนโดรกราไฟไลด์
(ชัยโย ชัยชาญทิพยพร และคณะ, 2531)

เภสัชจลนศาสตร์

จากการศึกษาทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ของแอนโดรกราไฟไลด์ โดยใช้เครื่องแยกสารระบบโครโมโตกราฟ ชนิดแรงดันสูง (HPLC) ทำการศึกษาทั้ง *in situ* และ *in vivo* พบว่า เมื่อให้แอนโดรกราไฟไลด์ขนาด 16 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปากในหนูขาว จะมีอัตราการดูดซึมของสาร เท่ากับ 0.0078 นาที⁻¹ ให้ ความเข้มข้นเท่ากับ 1.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 2.04 ชั่วโมง มีค่าครึ่งชีวิตของสาร (half-life) เท่ากับ 1.34 ชั่วโมง (ธีรฐ ปิ่นทอง และคณะ, 2534)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

จากการศึกษาทางคลินิก พบว่า แอนโดรกราไฟไลด์สามารถฆ่าเชื้อบิดได้ดีกว่า คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) และ ฟลูราโซลิโดน (flurazolidone) โดยไม่มีผลข้างเคียงหรืออาการพิษใดๆ (ชัยโย ชัยชาญทิพยพร, วชิรา แดนตะวัน และสุนทร วิทยาธรไพศาล, 2522) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านอาการท้องร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Escherichia coli* ได้ในสัตว์ทดลอง โดยมีผลในการยับยั้งการหลั่งของเหลวในลำไส้ ซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด (Gupta, Taneja et al., 1983) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ การศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราไฟไลด์ในการต้านอาการท้องร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Escherichia coli* หลายๆสายพันธุ์ โดยทำการศึกษา *in vivo* กับลำไส้เล็กส่วน ileal ของกระต่ายและหนูตะเภา พบว่า ฤทธิ์ในการต้านอาการท้องร่วงของแอนโดรกราไฟไลด์คล้ายคลึงกับโลเพอรัมไมด์ (loperamide) และมีฤทธิ์เด่นชัดต่อ *Escherichia coli* ในสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในทารกแรกเกิด (Gupta, Chodhry and Yadava, 1990)

จากการศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการบีบตัวของลำไส้กระต่าย หนูขาว และหนูตะเภาที่แยกออกจากกายของสัตว์ทดลอง พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์มีผลลดการบีบตัวของลำไส้ที่เกิดขึ้นเอง หรือที่กระตุ้นด้วยอะซีติลโคลีน ฮีสตามีน แบเรียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ ใน potassium-depolarizing solution รวมทั้งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (ประสาน ธรรมอุปกรณ, อุมา กิตติยานี และศิริมา พรวัดณา, 2532) นอกจากนี้แอนโดรกราโฟไลด์ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารที่แยกออกจากกายของหนูขาวและหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วยอะซีติลโคลีน และแคลเซียมคลอไรด์ ใน potassium-depolarizing solution เช่นกัน (วนิดา แสงอลังการ และคณะ, 2533) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำของสายสะดือมนุษย์ พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 3×10^{-4} โมลาร์ มีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำของสายสะดือมนุษย์ ที่กระตุ้นด้วยซีโรโทนิน (serotonin) และฮีสตามีน อาจเป็นไปได้ว่า แอนโดรกราโฟไลด์ออกฤทธิ์ยับยั้งหรือไปรบกวนการเคลื่อนที่ของแคลเซียมออกจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์และไม่จำเพาะเจาะจงต่อ receptor (วิดารัตน์ สุขกมลรัตน์, 2539)

เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ในหนูขาว 1 ครั้ง ทางปาก พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ในการกระตุ้นให้มีการย่อยอาหารผ่านลำไส้ และมีการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ disaccharidase ในลำไส้เล็ก (Chodhury and Poddar, 1985) แต่แอนโดรกราโฟไลด์ไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวปกติและหนูขาวที่เป็นเบาหวาน (Moniruddin and Talukdar, 1977)

นอกจากนี้ ยังได้มีการศึกษาถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจของแอนโดรกราโฟไลด์ คือ การป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากสารเคมีหรือยาต่างๆ พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์สามารถลดการเกิด hepatic microsomal lipid peroxidation ที่เกิดจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) โดยมีฤทธิ์แรงน้อยกว่าสารสกัดด้วยน้ำของฟ้าทะลายโจร เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ก่อนให้คาร์บอนเตตระคลอไรด์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทางช่องท้อง สามารถป้องกันการเกิดพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ ซึ่งเชื่อว่าแอนโดรกราโฟไลด์น่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ในระบบ microsomal mixed function oxidase ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงคาร์บอนเตตระคลอไรด์ให้เป็นอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์ตับ คือ trichoromethyl เมื่ออนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อย ก็จะไปลดกระบวนการ lipid peroxidation ของเซลล์ตับได้ แต่เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ในขนาดเดียวกันทุกวัน เป็นเวลา 15 วัน พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ไม่สามารถป้องกันการเกิดพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ได้ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า แทนที่แอนโดรกราโฟไลด์จะมีฤทธิ์ยับยั้งกลับมีฤทธิ์ในการชักนำเอนไซม์ในระบบ microsomal mixed function oxidase จึงทำให้ฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์สูญหายไป (Chodhury and Poddar, 1984)

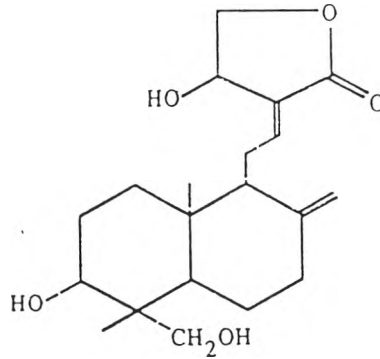
ยังมีการศึกษาที่สนับสนุนฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการเป็นตัวชักนำ (inducer) หรือ ตัวยับยั้ง (inhibitor) เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาในตับ (hepatic microsomal drug metabolizing enzymes) โดยพบว่า แอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ aniline hydroxylase ได้ ในการศึกษา *in vitro* (Chodhury, Haque and Poddar, 1987)

แอนโดรกราโฟไลด์ยังมีฤทธิ์ในการป้องกันพิษต่อตับจากสารเคมีหรือยาต่างๆอีกมากมาย เช่น เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง เป็นเวลา 3 วัน ก่อนให้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ โดยใช้พาราไมเตอร์ทางชีวเคมีและผลการตรวจทางพยาธิวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ในการป้องกันพิษต่อตับในหนูขาวและหนูถีบจักร พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ในการป้องกันพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา (Handa and Sharma, 1990a) และเมื่อทำการศึกษาคณสมบัติในการป้องกันพิษที่เกิดจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ โดยการให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง เป็นเวลา 3 วัน หลังการให้คาร์บอนเตตระคลอไรด์และเทอร์ท-บิวทิลไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (tert-butylhydroperoxide) 8 ชั่วโมง พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์สามารถยับยั้ง hepatic malondialdehyde formation และ reduced glutathione depletion ตลอดจน enzymatic leakage ได้ โดยแอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์แรงน้อยกว่า andrographiside และ neoandrographolide เมื่อเปรียบเทียบกับ silymarin ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า สูตรโครงสร้างของ andrographiside และ neoandrographolide นั้น ประกอบด้วย glucoside group จึงทำให้มีฤทธิ์แรงกว่าแอนโดรกราโฟไลด์ (Kapil et al., 1993) ดังแสดงในรูปภาพที่ 2.

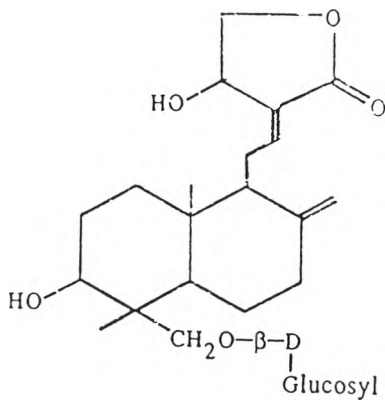
แอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ในการป้องกันพิษต่อตับจากกาแลคโตซามีนและอะเซตามิโนเฟน พบว่า เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง ในหนูขาว หรือ 800 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก ก่อนให้กาแลคโตซามีนเป็นเวลานาน 3 วัน วันละ 1 ครั้ง แอนโดรกราโฟไลด์สามารถป้องกันพิษที่เกิดขึ้นได้ถึง 87.5% ในขณะที่ เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง ที่เวลา 1, 4 และ 7 ชั่วโมง หลังได้รับอะเซตามิโนเฟน ก็สามารถป้องกันพิษจากอะเซตามิโนเฟนได้ 65.7% โดยใช้พาราไมเตอร์ทางชีวเคมีและการตรวจทางพยาธิวิทยา เป็นตัวบ่งชี้ในการป้องกันพิษต่อตับจากสารพิษได้เช่นเดียวกัน (Handa and Sharma, 1990b) และเมื่อทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟนในหนูขาวและหนูตะเภา พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 1.5-12 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก เป็นเวลา 7 วัน ก่อนให้อะเซตามิโนเฟน มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการผลิตน้ำดี (choleric effect) ได้ตั้งแต่ 4.8-73% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดที่ให้ จากการเพิ่มการไหลของน้ำดี (bile flow) การสร้างเกลือน้ำดี (bile salt) และกรดน้ำดี (bile acid) โดยมีฤทธิ์แรงกว่า silymarin (Shukla et al., 1992)

ยังมีการศึกษาที่ยืนยันถึง ฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการป้องกันพิษที่เกิดจากอะเซตามิโนเฟน โดยเมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 0.75-12 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก เป็นเวลา 7 วัน ก่อนให้อะเซตามิโนเฟน เช่นเดียวกัน พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ตับที่มีชีวิต

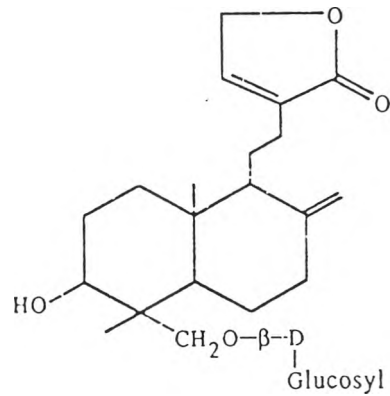
(viable hepatocytes) และมีปริมาณการใช้ออกซิเจนของเซลล์ตับเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดที่ใช้ (Visen et al., 1993)



ANDROGRAPHOLIDE



ANDROGRAPHISIDE



NEOANDROGRAPHOLIDE

รูปภาพที่ 2. แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจร

นอกจากนี้ แอนโดรกราไฟไลด์ยังมีฤทธิ์ในการป้องกันพิษต่อตับจากเอธานอลได้ด้วยเช่นกัน เมื่อให้แอนโดรกราไฟไลด์ในขนาด 100-200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง ในหนูขาว ก่อนให้เอธานอล 48 ชั่วโมง และยังพบว่า แอนโดรกราไฟไลด์สามารถกระตุ้นให้มีการไหลเวียนของเลือดที่มายังตับมากกว่าปกติ มีการคั่งของเม็ดเลือดแดงใน central vein ของตับ จึงอาจเป็นไปได้ว่า แอนโดรกราไฟไลด์ทำให้มีการขับออกของเอธานอลอย่างรวดเร็ว จากฤทธิ์ในการกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดที่มายังตับ หรือ ทำให้เซลล์ตับมีความพร้อมในการแบ่งตัวเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายได้เร็วกว่าปกติได้ (วันดี อุดมอักษร, 2536; Pornpen et al., 1994)

จากการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ ฤทธิ์ของแอนโดรกราไฟไลด์ต่อการทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายด้วยพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน โดยเมื่อให้แอนโดรกราไฟไลด์ขนาด 50-100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก ก่อนให้อะเซตามิโนเฟนขนาด 1200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า แอนโดรกราไฟไลด์มีผลในการป้องกันการเกิดพิษต่อเซลล์ตับได้ โดยการกระตุ้นให้มีการทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายด้วยพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟนให้เกิดเร็วมากขึ้น และยังพบว่า ที่ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นั้น แอนโดรกราไฟไลด์ก่อให้เกิดการทำลายของเซลล์ตับเป็นระยะๆ โดยมีรอบของการเกิดพิษและการหายของเซลล์ตับทุกๆ 48 ชั่วโมง หลังได้รับแอนโดรกราไฟไลด์ (อุชูจิตรา เกียรติวีระสกุล, 2538)

นอกจากนี้แอนโดรกราไฟไลด์ยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในหนูถีบจักรได้ โดยการให้แอนโดรกราไฟไลด์ขนาด 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง ที่เวลา 7 และ 3 วัน ก่อนกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันด้วยเม็ดเลือดแดงของแกะ พบว่า แอนโดรกราไฟไลด์มีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของหนูถีบจักรทั้งแบบ antigen specific และ nonspecific immune response ซึ่งแอนโดรกราไฟไลด์มีฤทธิ์แรงน้อยกว่าสารสกัดด้วยเอธานอล (Puri et al., 1993)

การศึกษาทางด้านพิษวิทยา

ในทางพิษวิทยา การให้แอนโดรกราไฟไลด์ขนาด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม 1 ครั้ง ทางปาก ในหนูถีบจักร พบว่า ไม่ทำให้หนูถีบจักรตาย ส่วนหนูขาวที่ได้รับแอนโดรกราไฟไลด์วันละ 1 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลานาน 7 วัน ก็ไม่พบความผิดปกติใดๆเกิดขึ้น (มหาวิทยาลัยมหิดล, คณะเภสัชศาสตร์, ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร, 2530) และจากการทดลองให้แอนโดรกราไฟไลด์ในรูปของยาแขวนตะกอนขนาด 3 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก ในหนูถีบจักร ไม่ปรากฏอาการผิดปกติเกี่ยวกับการกินอาหาร การเคลื่อนไหว และพฤติกรรมต่างๆภายในระยะเวลา 3 วันหลังได้รับแอนโดรกราไฟไลด์ ตลอดจนไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในแต่อย่างใด และไม่มีหนูถีบจักรตายระหว่างการทดลองด้วยเช่นกัน (เพชรรัตน์ พงศ์จรรยากุล, 2530)

ในการทดลองเพื่อศึกษาพิษที่เกิดจากแอนโดรกราโฟไลด์ พบว่า สามารถให้แอนโดรกราโฟไลด์ได้มากถึง 18 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยผลของแอนโดรกราโฟไลด์ทำให้อัตราการเคลื่อนไหวของสัตว์ทดลองช้าลงเล็กน้อย ลักษณะภายนอกของอวัยวะต่างๆเป็นปกติ และไม่มีหนูตายระหว่างการทดลองเช่นกัน (ศิริมาพรสุวัฒน์กุล, 2532)

จากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังในหนูถีบจักร โดยการให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 200-400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก วันเว้นวัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ผลไม่พบความผิดปกติใดๆ ส่วนการทดลองพิษกึ่งเรื้อรังในหนูขาวนั้น การให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 50, 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันเว้นวัน เป็นเวลานาน 14 สัปดาห์ ก็ไม่พบความผิดปกติใดๆเช่นเดียวกัน และเมื่อทำการทดลองในสุนัข พบว่า สามารถให้แอนโดรกราโฟไลด์ได้ถึง 10-15 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน (100-150 มิลลิกรัม ในผู้ใหญ่) โดยไม่เกิดอาการพิษแต่อย่างใด ส่วนการทดลองในกระต่าย การให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 3-6 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน ฉีดเข้าหลอดเลือดที่หูกระต่าย ก็ไม่พบอาการผิดปกติใดๆ จากการสังเกตอาการนาน 3-24 ชั่วโมง (เสาวภา ลิ้มปัทมาธิกุล, 2533)

จะเห็นได้ว่าจากการศึกษาที่ผ่านมา ยังไม่เคยพบรายงานการทำให้เกิดอาการพิษจากแอนโดรกราโฟไลด์เลย นอกจากการให้สารสกัดต่างๆจากฟ้าทะลายโจรในขนาดสูงมากๆเท่านั้น โดยจะทำให้สัตว์ทดลองมีร่างกายอ่อนแอ เคลื่อนไหวช้าลง อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น จนถึงมีอาการชักและตายได้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1. (Kintanar and Mercado-Sison, 1979)

ตารางที่ 1. แสดงผลของสารสกัดต่างๆจากฟ้าทะลายโจรที่ให้แก่หนูถีบจักรทางช่องท้อง

ชนิดของสารสกัดจาก ฟ้าทะลายโจร	ขนาดของสารสกัด (mg/kg)	ผลที่เกิดขึ้น
1. สารสกัดด้วยน้ำ	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ (weakness) อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น การเคลื่อนไหวช้าลง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อ และ reflex ลดลง โดยอาการเหล่านี้หายไปภายใน 24 ชั่วโมง
	1,000	มีอาการต่างๆคล้ายกับการได้รับสารสกัดด้วยน้ำขนาด 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่มีสัตว์ทดลองตายภายหลังได้รับสารสกัด 24 ชั่วโมง
2. สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ (weakness) การเคลื่อนไหวช้าลงและความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง โดยอาการเหล่านี้หายไปภายใน 24 ชั่วโมง
	1,000	ภายหลังการฉีดสารสกัดประมาณ 5 ชั่วโมง สัตว์ทดลองมีอาการสั่น (tremor) หางแข็ง (strub tail) ชัก (convulsion) และตายในที่สุด
3. สารสกัดด้วยอีเธอร์	300	การเคลื่อนไหวช้าลง การระมัดระวังตัวของสัตว์ทดลองลดลง และความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง โดยอาการเหล่านี้หายไปภายใน 1 ชั่วโมง
	1,000	มีอาการต่างๆคล้ายกับการได้รับสารสกัดด้วยอีเธอร์ขนาด 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่มีสัตว์ทดลองตายภายหลังการได้รับสารสกัด 45 นาที
4. สารสกัดด้วยซาโปนิน	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ (weakness) และมีการเคลื่อนไหวช้าลง โดยอาการเหล่านี้หายไปภายในเวลา 3 ชั่วโมง
	1,000	ภายหลังการฉีดสารสกัด 8 นาที สัตว์ทดลองมีอาการชัก (convulsion) หางแข็ง (strub tail) สั่น (tremor) และตายในที่สุด

ตับ (Liver)

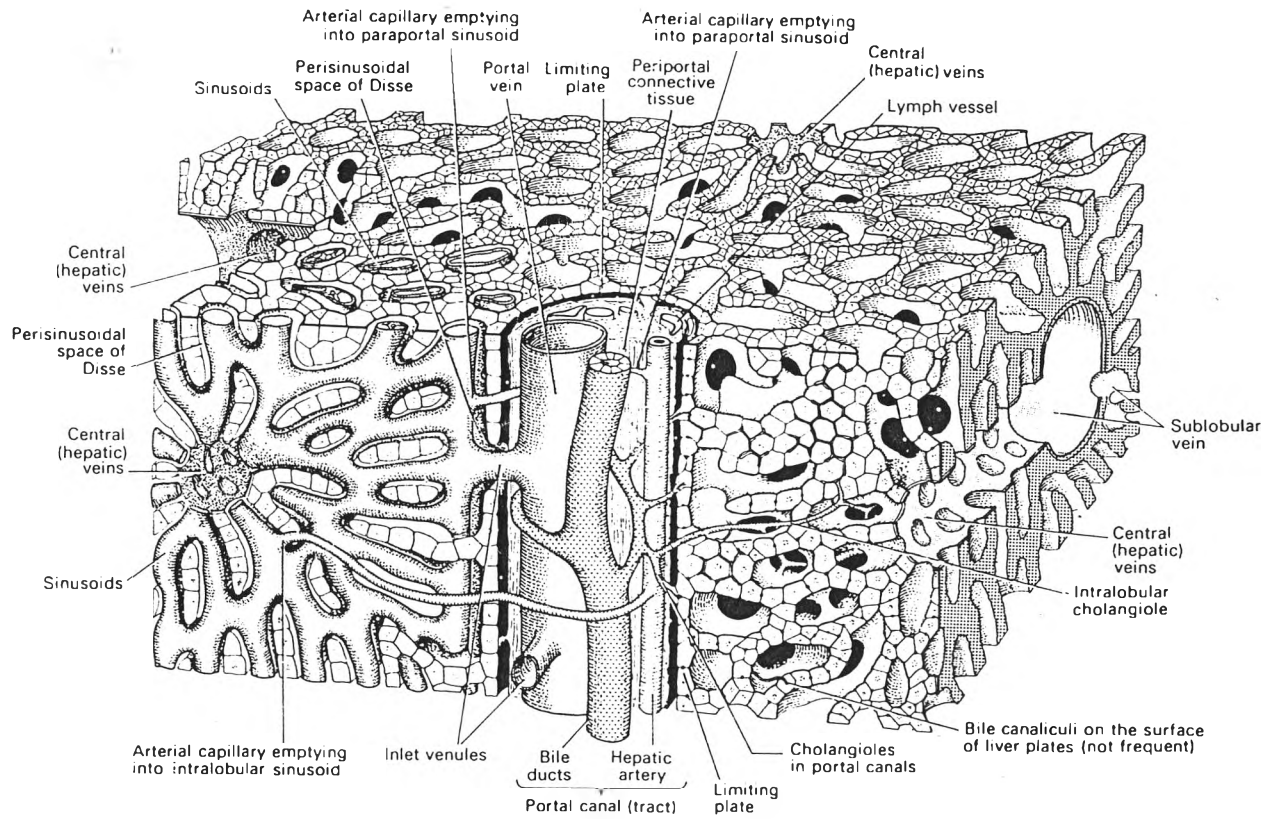
ตับเป็นอวัยวะที่สำคัญและมีขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกาย มีน้ำหนักประมาณ 2-5% ของน้ำหนักตัว ในวัยเจริญพันธุ์ (5% ของน้ำหนักตัว ในทารกแรกเกิด) มีบทบาทหน้าที่สำคัญและจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์โดยสังเขป (Klaassen, 1996) ดังนี้

1. ควบคุมสมดุลของสารอาหารในร่างกาย (nutrient homeostasis) เช่น การสร้างกลูโคส (gluconeogenesis) จากกรดไขมัน กรดอะมิโนและแลคเตท เก็บไขมันไว้ในรูปไตรกลีเซอไรด์ และช่วยเก็บสะสมสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตไว้ในรูปของไกลโคเจน เป็นต้น
2. สังเคราะห์สารอาหารจำพวกโปรตีน (protein synthesis) ที่จำเป็นในร่างกาย เช่น clotting factors, albumin, transport proteins เป็นต้น ตลอดจนมีหน้าที่ในการย่อยสลายสารอาหารประเภทโปรตีน
3. เปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลและทำลายสารพิษที่เกิดจากสารแปลกปลอมต่างๆ ทั้งจากภายในและภายนอกร่างกาย (biotransformation and detoxication) เช่น bilirubin, ammonia, xenobiotics เป็นต้น
4. สร้างและหลั่งน้ำดีเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร เพื่อช่วยย่อยอาหารประเภทไขมันและช่วยดูดซึมวิตามินบางชนิด (formation of bile and biliary excretion)

ตับเป็นอวัยวะที่มีเลือดมาเลี้ยงประมาณ 1.5 ลิตรต่อนาที หรือ $\frac{1}{4}$ ของปริมาณเลือดที่ออกจากหัวใจ ในหนึ่งหน่วยนาที (cardiac output) โดย 75% ของเลือดที่มาเลี้ยงตับทั้งหมด มาจาก portal vein และอีก 25% ของเลือดที่เหลือ มาจาก hepatic artery ซึ่งเลือดที่มาเลี้ยงตับนี้มีหน้าที่นำสารอาหารและออกซิเจนมายังตับ จากนั้นเลือดทั้งหมดที่ไหลเข้าสู่ตับ จะไหลกลับออกจากตับทาง portal venule เข้าสู่ sinusoid ซึ่งเป็นหลอดเลือดที่มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน และมีขนาดใหญ่กว่าหลอดเลือดฝอยธรรมดา แล้วเลือดจึงไหลกลับไปยัง terminal hepatic vein (central vein) โดยเลือดที่ออกจาก hepatic vein นี้ จะไหลกลับเข้าสู่หัวใจห้องบนขวาทาง inferior vena cava ดังแสดงในรูปภาพที่ 3.

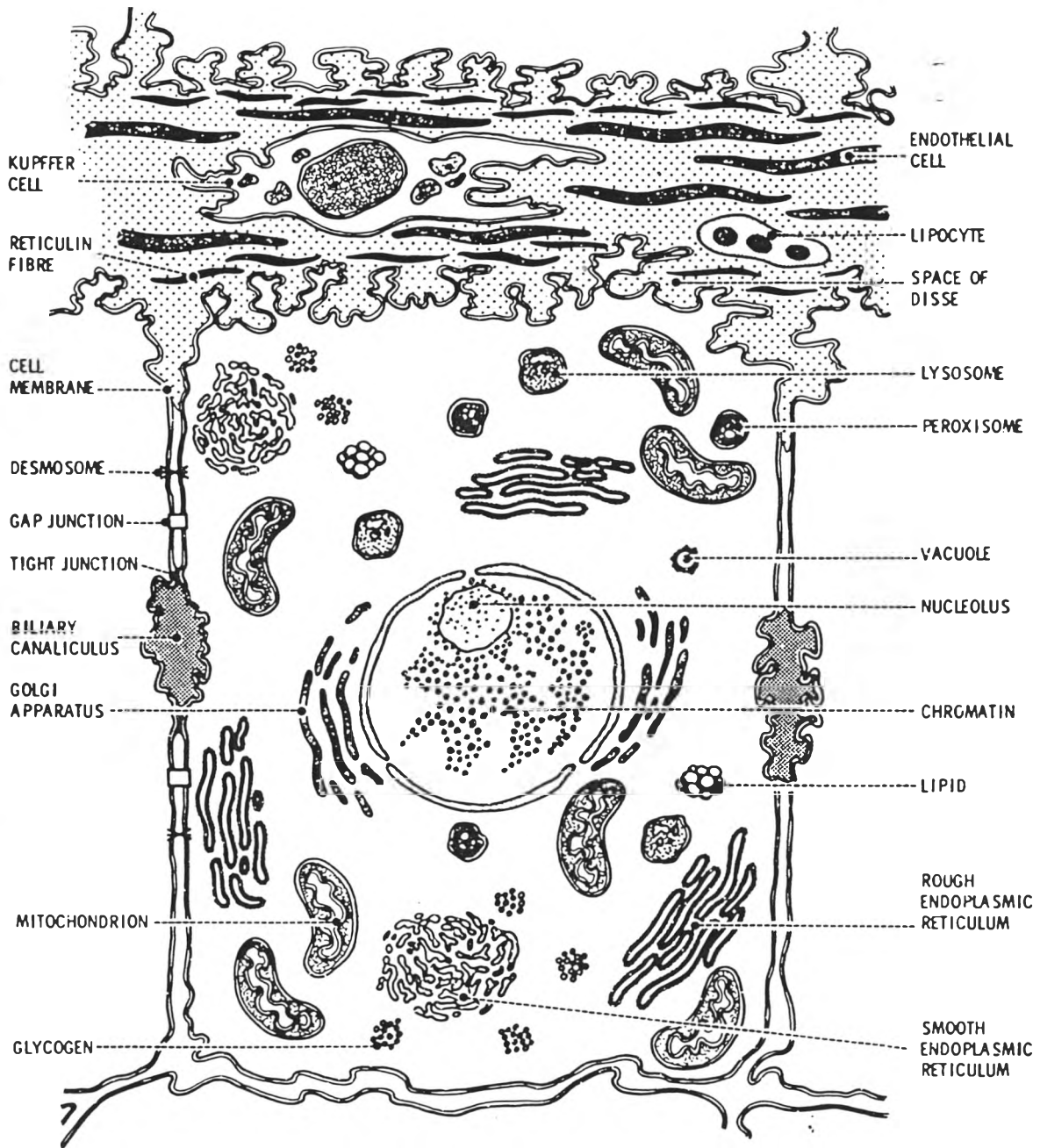
ตับประกอบด้วยเซลล์ตับ (parenchymal cell หรือ hepatocyte) เป็นจำนวนมาก โดยมีประมาณ 70% ของเซลล์ทั้งหมด มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ไมโครเมตร มีองค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์จำนวนมากที่จำเป็นในการทำงานระดับเซลล์ของตับ เช่น nucleus, endoplasmic reticulum (พบประมาณ 15% ของปริมาตรทั้งหมดของเซลล์), mitochondria (พบมากกว่า 1,000 หน่วย), lysosome, peroxisome, Golgi complex, cytoskeleton เป็นต้น (Arias et al., 1994) ดังแสดงในรูปภาพที่ 4.

นอกจากนี้ตับยังประกอบด้วยเซลล์อื่นๆ เช่น endothelial cell, Kupffer cell, Ito cell (fat-storing cell) เป็นต้น ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ใน sinusoid โดยเซลล์เหล่านี้มีหน้าที่ต่างๆมากมาย ได้แก่ ควบคุมปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในตับ การเผาผลาญสารอาหารประเภทไขมัน นอกจากนี้ยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาตอบสนองต่อการบาดเจ็บ และกระบวนการอักเสบภายในตับ เป็นต้น



รูปภาพที่ 3. แสดงโครงสร้างตับของคนปกติ

(Sherlock and Dooley, 1993)



รูปภาพที่ 4. แสดงส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์ตับ

(Sherlock and Dooley, 1993)

หน่วยที่เล็กที่สุดของโครงสร้างตับ คือ lobule ที่มีขนาดแตกต่างกันออกไป แยกจากกันได้โดย interlobular connective tissue มีลักษณะเป็น hexagonal โดยบริเวณปลายสุดของ lobule จะมีแขนงหลอดเลือด portal triads ซึ่งประกอบด้วย portal vein, hepatic arteriole และ bile duct กระจายอยู่ทั่วไปในโครงสร้างของตับ โดยแบ่ง lobule ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. classical lobule เป็น lobule ที่อยู่รอบๆ central vein ประกอบด้วยเซลล์ตับที่เรียงตัวเป็นแถวต่อเนื่องกัน และตั้งฉากกับ central vein ถูกกันและเชื่อมกันด้วย sinusoid และแต่ละ sinusoid จะเปิดเข้าสู่ central vein
2. portal lobule หรือ liver acinus เป็นกลุ่มของเซลล์ตับที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน เรียงตัวอยู่รอบๆ portal vein

จากลักษณะโครงสร้างของเซลล์ตับที่มีหลอดเลือดฝอยกระจายอยู่ทั่วไป เพื่อนำสารอาหารที่จำเป็นและออกซิเจนมายังเซลล์ตับนี้ ทำให้เซลล์ตับอาจได้รับสารพิษหรือสารเคมีที่มาพร้อมกับเลือด เกิดการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ตับขึ้นได้ ดังนั้นเซลล์ตับที่มีการสัมผัสกับสารพิษหรือสารเคมีนั้นๆ ก็จะเกิดพยาธิสภาพขึ้นแตกต่างกันไป สัมพันธ์กับชนิดของสาร ระยะเวลาการสัมผัสกับสาร กลไกการบาดเจ็บ และลักษณะของหลอดเลือดภายในโครงสร้างของตับ จึงได้มีการแบ่งบริเวณของเซลล์ตับออกเป็น 3 บริเวณ (zone) โดยอาศัยระยะห่างระหว่างหลอดเลือดภายในโครงสร้างของตับเป็นหลัก (Amdur, Doull and Klaassen, 1991) ดังนี้

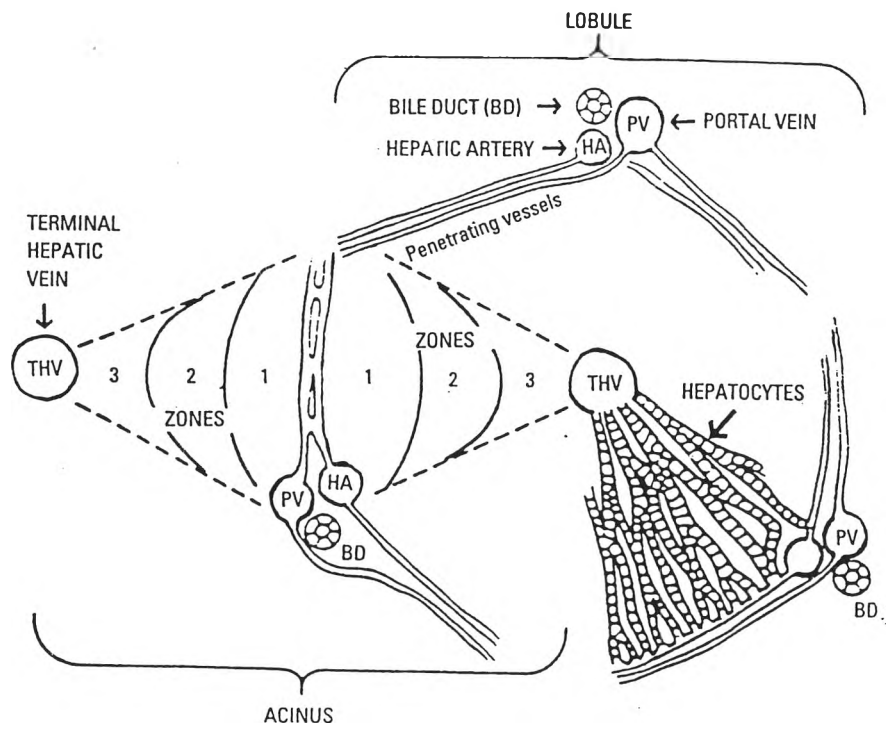
1. เซลล์ตับที่อยู่ในโซนที่ 1 หรือ periportal zone หมายถึง เซลล์ตับที่อยู่รอบๆ portal vein เป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ทางเข้าของหลอดเลือดที่มาจาก lobule จึงมีสารอาหารสูงและมีความเข้มข้นของออกซิเจนในเลือดประมาณ 9-13% (Klaassen, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่า เซลล์ตับบริเวณนี้มี mitochondria อยู่มากมาย ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการ gluconeogenesis, ammonia detoxication และยังเป็นบริเวณที่มี glutathione ปริมาณสูงอีกด้วย (Jungermann and Katz, 1989)

ดังนั้นเซลล์ตับที่อยู่บริเวณนี้ จึงเป็นเซลล์กลุ่มแรกที่ได้รับเลือดและสารอาหาร เมื่อเกิดการบาดเจ็บต่อตับขึ้น เซลล์ตับกลุ่มนี้จึงเป็นกลุ่มแรกที่เกิดการแบ่งตัวเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย (liver regeneration) และเป็นเซลล์กลุ่มสุดท้ายที่จะเกิดการตายของเซลล์ตับ (liver necrosis)

2. เซลล์ตับที่อยู่ในโซนที่ 2 หรือ midzone หมายถึง เซลล์ตับที่อยู่บริเวณถัดไป โดยอยู่ระหว่าง periportal zone และ centrilobular zone

3. เซลล์ตับที่อยู่ในโซนที่ 3 หรือ centrilobular zone (periacinal zone) หมายถึงเซลล์ที่อยู่รอบๆ terminal hepatic vein (central vein) เซลล์ตับบริเวณนี้จะมีเอนไซม์ที่สำคัญ คือ cytochrome P-450 โดยเฉพาะ CYP-2E1 isoform มากกว่าโซนอื่นๆ (Tsutsumi et al., 1989) เนื่องจากเซลล์ตับกลุ่มนี้อยู่ใกล้หลอดเลือดที่ออกจากตับ ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มี hepatic arteriole มาเลี้ยงเลย บริเวณนี้มีความเข้มข้นของออกซิเจนเพียง 4-5% เท่านั้น

ดังนั้นเซลล์ตับที่อยู่บริเวณโซนที่ 2 และ โซนที่ 3 จึงได้รับเลือดที่มีสารอาหารและออกซิเจนต่ำ เซลล์ตับบริเวณนี้จึงมีความต้านทานต่อการบาดเจ็บที่อาจเกิดขึ้นจากสารพิษหรือสารเคมีต่างๆ ได้น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ตับที่อยู่ในโซนที่ 1 ดังแสดงในรูปภาพที่ 5.



รูปภาพที่ 5. แสดงหลอดเลือดภายในตับและการแบ่งโซนของ liver acinus (Klaassen, 1996)

กลไกที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ตับ (Mechanisms of Hepatocellular Injury and Death)

การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นต่อตับ (hepatic injury) จากสารเคมีที่มีพิษต่อตับ หรือ ยาที่ใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ล้วนเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อตับและการตายของเซลล์ตับได้ทั้งสิ้น ถึงแม้ว่าที่ชั้นนั้นจะมีขนาดที่เหมาะสมในการรักษาโรคก็ตาม พบว่า ประมาณ 2-5% ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล เกิดภาวะดีซ่านจากการใช้ยาในสหรัฐอเมริกา (Dossing and Sonne, 1993) โดยพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเมื่อมีการบาดเจ็บของเซลล์ตับนั้น ขึ้นอยู่กับ ระยะเวลาในการสัมผัสกับสารเคมี (duration of exposure) และ ชนิดของสารเคมีที่ก่อพิษต่อตับ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเสริมที่ทำให้เกิดการตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเซลล์ตับแตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล เช่น อายุ เพศ เชื้อชาติ เป็นต้น

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นต่อตับนั้น มักไม่ได้มีสาเหตุเดียวในการทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเซลล์ตับ และ พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นมีได้จำเพาะต่อเซลล์ตับเท่านั้น แต่ยังมีผลต่อเซลล์ข้างเคียงภายในตับ เช่น Kupffer cell, endothelial cell, pit cell เป็นต้น รวมทั้งท่อทางเดินน้ำดี (bile duct) ด้วยเช่นกัน ดังนั้นพยาธิสภาพของการบาดเจ็บต่อตับจึงแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ คือ

1. การบาดเจ็บที่มีความรุนแรงเล็กน้อย โดยมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับ แบบ reversible change
2. การบาดเจ็บที่มีความรุนแรงมาก เซลล์ไม่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงกลับสู่สภาพเดิมได้ (irreversible change) พบลักษณะของ massive swelling ของ mitochondria และการแตกหักของผนังเซลล์ organelle ต่างๆภายในเซลล์ (Popper and Schaffer, 1982) เซลล์สูญเสียความสามารถในการซ่อมแซม นำไปสู่การตายของเซลล์ (cell death) ขึ้น
3. การบาดเจ็บทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ เพื่อรักษาสวมดุลของเซลล์กับของเหลวภายนอกเซลล์หลังเกิดการตายของเซลล์ขึ้น (pre-necrotic change)
4. การตายของเซลล์ (cell necrosis) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ ตลอดจนเกิดกระบวนการอักเสบ (inflammatory response) ขึ้น (Thomas and Jones, 1986)

เซลล์ตับมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารอาหาร และผลิตพลังงาน เพื่อนำไปใช้ในการดำรงชีวิตของเซลล์ ตลอดจนรักษาสวมดุลของกระบวนการชีวเคมีต่างๆภายในเซลล์ไว้ ดังนั้นเมื่อเกิดอันตรายต่อตับจากสารพิษทั้งจากภายในและภายนอกร่างกาย เซลล์ตับจะสูญเสียหน้าที่การทำงาน นำไปสู่การบาดเจ็บและการตายของเซลล์ตับได้ โดยกลไกที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ตับ อาจมีได้ดังนี้

1. การจับกับ cellular macromolecules (Formation of Electrophiles)

สารเคมีหรือสารก่อพิษต่อตับหลายชนิดทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับได้ โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาด้วย hepatic mixed-function oxidase system เกิดเป็น reactive metabolites ขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่เป็น electrophiles ที่มีความไวสามารถจับกับโมเลกุลต่างๆภายในเซลล์ตับได้เป็นอย่างดี เช่น โปรตีน ไขมัน และ nucleic acids เป็นต้น เป็นผลให้สูญเสียหน้าที่การทำงานของเซลล์ไป โดยเฉพาะเมื่อ electrophile จับกับ thiol group ของโปรตีน เกิดการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ และการขนส่งสารผ่านผนังเซลล์ ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับขึ้น

นอกจากนี้ การจับกันระหว่าง electrophile กับ deoxy nucleic acid (DNA) ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับ หรือ เกิดเนื้องอกของเซลล์ตับ (hepatocarcinogenesis) ขึ้นได้ (Grover, 1979) เมื่อ electrophile จับกับ specific microsomal proteins ทำให้เกิดการสร้าง autoantibodies ต่อเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยานั้นๆ (Gut, Christen and Huwyler, 1993) ก่อให้เกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์ตับได้

กลไกที่สำคัญในการป้องกันพิษที่เกิดจากการจับกันระหว่าง electrophile กับ cellular macromolecule คือ reduced glutathione (GSH) เนื่องจาก GSH มี nucleophilic center (thiol group) เป็นองค์ประกอบ GSH จึงจับกับ electrophile เกิดเป็น GSH-S-conjugate ถูกขับถ่ายออกจากร่างกายต่อไป ดังนั้น เมื่อมีปัจจัยที่ทำให้ GSH ในตับลดลง ก็จะเป็นผลให้เกิดการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ตับได้เช่นกัน พบว่า สารเคมีบางตัว เช่น buthionine, sulfoximine มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์ GSH ได้ ขณะเดียวกัน การอดอาหาร 1 หรือ 2 วัน ทำให้ปริมาณของ GSH ในตับลดลงได้ถึง 30-50% (Beck, Ricks and Duncan, 1958)

ยาที่ก่อให้เกิดพิษต่อตับโดยการจับแบบ covalent binding กับ cellular macromolecule เช่น อะเซตามิโนเฟน ซึ่งถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับโดย glucuronic acid หรือ sulfate ได้ inactive metabolite ถูกขับออกทางปัสสาวะในภาวะปกติ ส่วนที่เหลือของยาบางส่วนจะถูกเปลี่ยนแปลงโดย cytochrome P-450 เกิด reactive metabolite (*N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine หรือ NAPQI) ที่มีฤทธิ์เป็น electrophile ซึ่งจะ conjugate กับ glutathione ถูกขับออกทางปัสสาวะ แต่ในกรณีที่ได้รับยาเกินขนาด glutathione ที่มีอยู่ไม่เพียงพอกับ reactive metabolite จึงทำให้ NAPQI ไปจับกับ cellular macromolecule เกิดการตายของเซลล์ตับขึ้น (Jollow et al., 1973)

2. การเกิดอนุมูลอิสระ (Formation of Free Radicals)

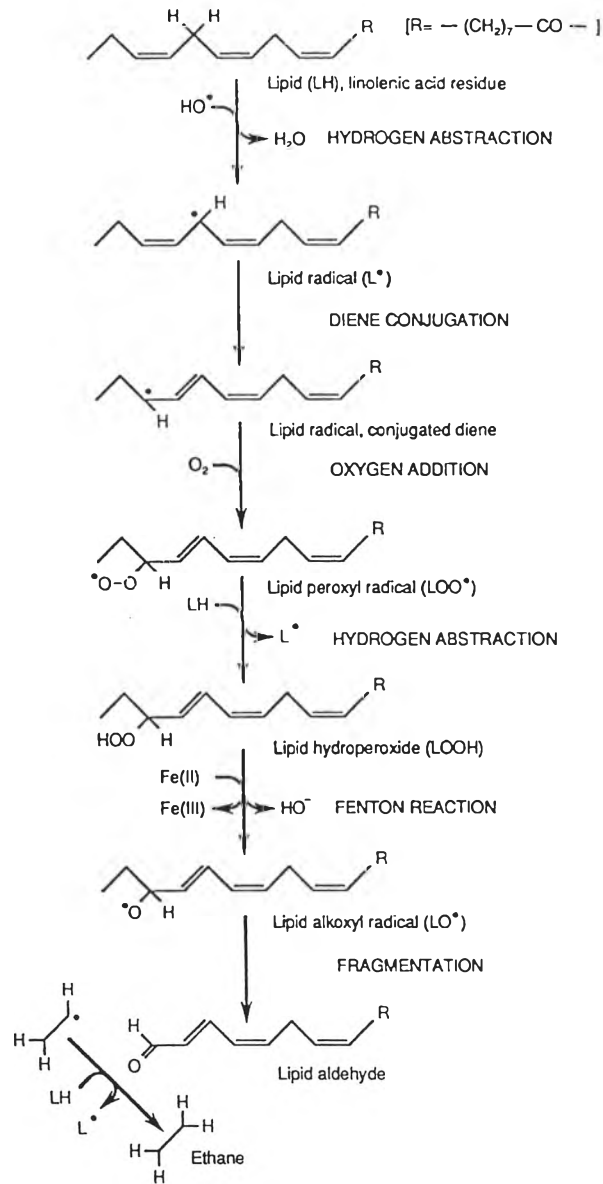
การเปลี่ยนแปลงยาหรือสารเคมีที่ก่อพิษต่อตับโดย hepatic mixed-function oxidase system ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (โมเลกุลหรืออะตอมที่มี unpaired electron) ได้ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นอาจไปจับกับ DNA bases ยับยั้งการจำลองแบบทางพันธุกรรม (DNA replication) เกิดความผิดปกติของเซลล์ขึ้นได้ (Breimer, 1990)

พบว่า สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับ (liver cell necrosis) จากอนุมูลอิสระนั้น เกิดจากอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของ organelle membrane (plasma membrane, endoplasmic reticulum) ซึ่งประกอบด้วย unsaturated fatty acid เป็นส่วนใหญ่ โดยกระบวนการ lipid peroxidation (Recknagel et al., 1989) ดังแสดงในรูปภาพที่ 6.

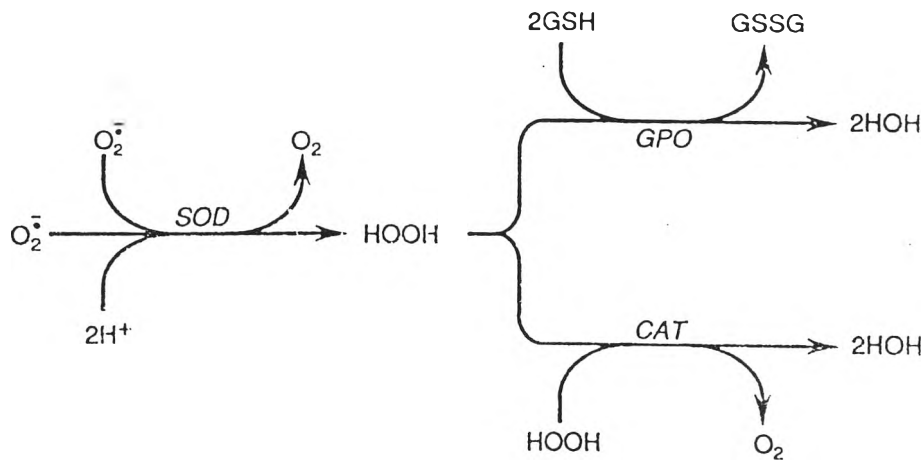
lipid peroxidation ที่เกิดขึ้น ทำให้ผนังเซลล์สูญเสียหน้าที่ไป คุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงยาของ เอนไซม์ลดลง โดยเฉพาะเอนไซม์ glucose-6-phosphatase (G6P) การสังเคราะห์โปรตีนลดลง ตลอดจนสูญเสียความสามารถในการสร้างและหลั่ง low density lipoprotein (LDL) ของตับ (Amdur et al., 1991)

ปัจจุบันเชื่อว่า lipid peroxidation นั้นไม่ใช่สาเหตุการตายของเซลล์ตับ แต่เป็นผลที่เกิดขึ้นในระยะท้ายๆของการเกิดพิษต่อตับ พบว่า lipid peroxide และ peroxy radical ที่เกิดขึ้นจาก lipid peroxidation นั้น ถูกทำลายโดย glutathione peroxidase และ vitamin E hydroxyalkenals และถูกขับถ่ายอย่างรวดเร็วโดย conjugate กับ reduced glutathione (GSH) นอกจากนี้ glutathione peroxidase, superoxide dismutase และ catalase ยังสามารถทำลาย superoxide anion ให้กลายเป็นโมเลกุลที่หมดพิษได้เช่นกัน (พรเพ็ญ เปรมโยธิน, พรพิมล กิจสนาโยธิน และชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, 2538) ดังแสดงในรูปภาพที่ 7.

ได้มีการศึกษาพบว่า การเพิ่มขึ้นของ lipid peroxidation มีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษต่อตับจาก อะเซตามิโนเฟน อาจเกิดจากอะเซตามิโนเฟนทำให้เกิดการทำลายของ hepatic adenine nucleotide และ กระตุ้นการทำงานของ xanthine dehydrogenase ให้เปลี่ยนเป็น oxidised form เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิด superoxide anion ขึ้น แต่ lipid peroxidation ที่เกิดขึ้นนั้น ไม่ใช่กลไกหลักที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับ จากพิษของอะเซตามิโนเฟน (Younes et al., 1988)



รูปภาพที่ 6. แสดงกลไกการเกิด lipid peroxidation จาก hydroxyl radical (HO•)
 (Klaassen, 1996)



รูปภาพที่ 7. แสดงกลไกการทำลายพิษของ superoxide anion radical (Klaassen, 1996)

CAT = catalase

GPO = glutathione peroxidase

SOD = superoxide dismutase

GSH = reduced glutathione

GSSG = glutathione disulfide

3. เกิดความบกพร่องของกระบวนการสังเคราะห์พลังงาน (Impaired ATP Synthesis)

เนื่องจาก mitochondria มีบทบาทสำคัญเป็นแหล่งสังเคราะห์พลังงานให้กับเซลล์ ขณะเดียวกัน เซลล์ตับก็เป็นเซลล์ที่มีความต้องการพลังงาน เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆอยู่ตลอดเวลา เมื่อเกิดความบกพร่องของการสังเคราะห์พลังงานจากสาเหตุใดก็ตาม ก็อาจทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์ตับได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม นอกจากนี้การบาดเจ็บต่อตับที่เกิดขึ้น และกระบวนการในการกำจัดสารพิษของเซลล์ตับ จะมีผลเพิ่มความต้องการพลังงานเพื่อนำมาใช้มากขึ้น เมื่อการสังเคราะห์พลังงานของ mitochondria ไม่เพียงพอกับความต้องการของเซลล์ ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับ (liver cell necrosis) ได้ โดยเฉพาะในสภาวะที่เซลล์ขาดออกซิเจน (hypoxia) เนื่องจากออกซิเจนมีความสำคัญต่อกระบวนการ oxidative phosphorylation ของ mitochondria (Zakim and Boyer, 1996)

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่มีภาวะขาดออกซิเจนอย่างเรื้อรัง (chronic hypoxia) พบว่า มีผลไปเพิ่มกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาของอะเซตามิโนเฟนด้วย cytochrome P-450 มากขึ้น เกิดการใช้ glutathione ในการ conjugate กับ reactive metabolite ของอะเซตามิโนเฟน (NAPQI) แต่เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์ glutathione จำเป็นต้องใช้พลังงาน ทำให้ปริมาณของ glutathione ที่มีอยู่มีไม่เพียงพอ NAPQI จึงจับกับ cellular macromolecule แบบ covalent binding ทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับมากขึ้น (Shan et al., 1992) ดังแสดงในรูปภาพที่ 8.

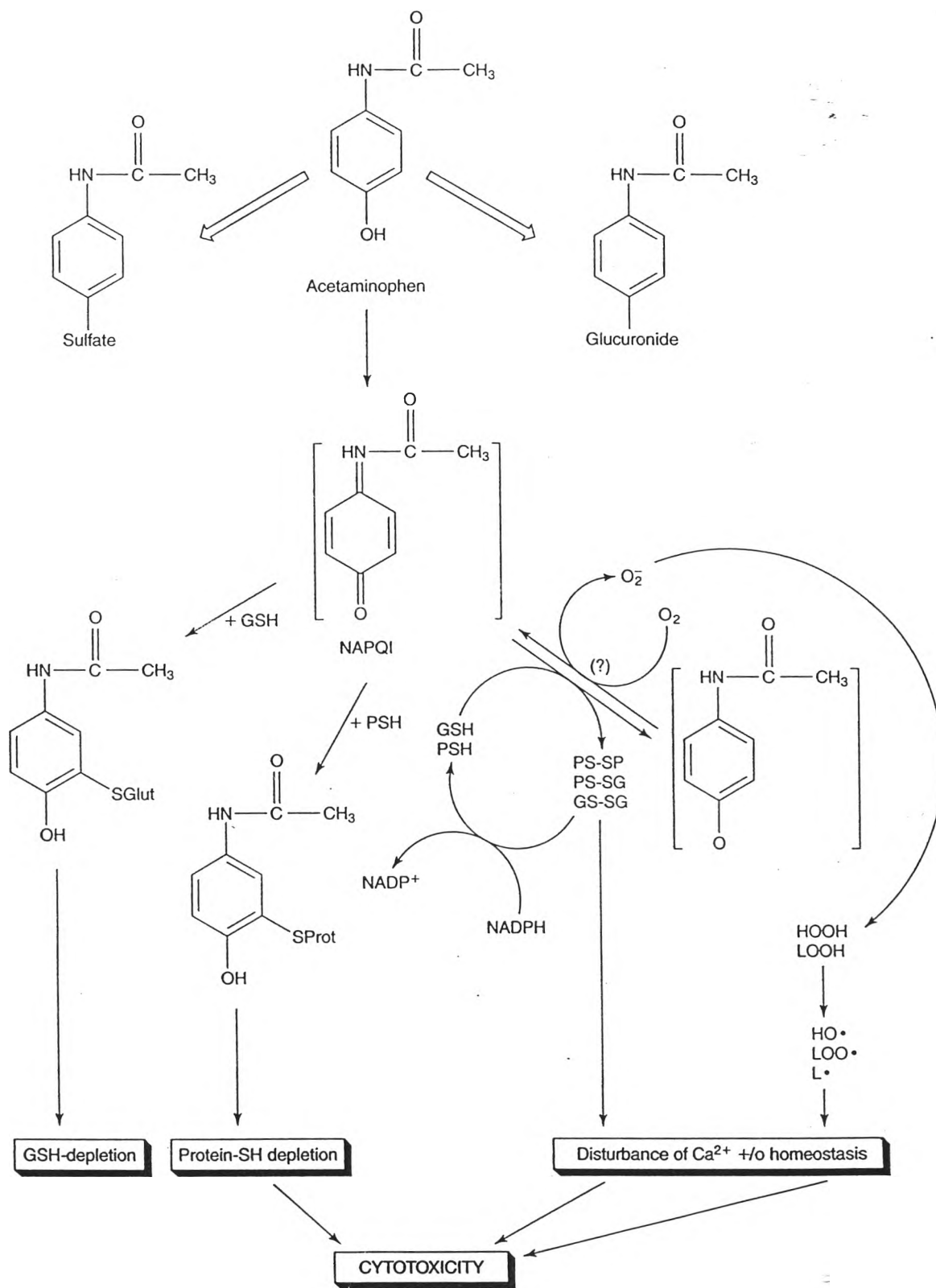
4. เกิดความบกพร่องของการควบคุมระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (Altered Intracellular Ca^{2+} Homeostasis)

ปกติปริมาณของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์มีประมาณ 0.2 ไมโครโมลต่อลิตร ขณะที่ภายนอกเซลล์มีประมาณ 1.3 มิลลิโมลต่อลิตร ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างปริมาณแคลเซียมอิสระภายในและภายนอกเซลล์เกิดขึ้น แต่ถูกควบคุมให้อยู่ในภาวะสมดุลได้ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์บนผนัง plasma membrane, endoplasmic reticulum และ mitochondria

เมื่อมีสารพิษหรือปัจจัยที่มีผลทำให้ภาวะสมดุลของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์สูญเสียไป ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น เกิดการรบกวนกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆของเซลล์ นำไปสู่การเกิด liver cell necrosis ได้

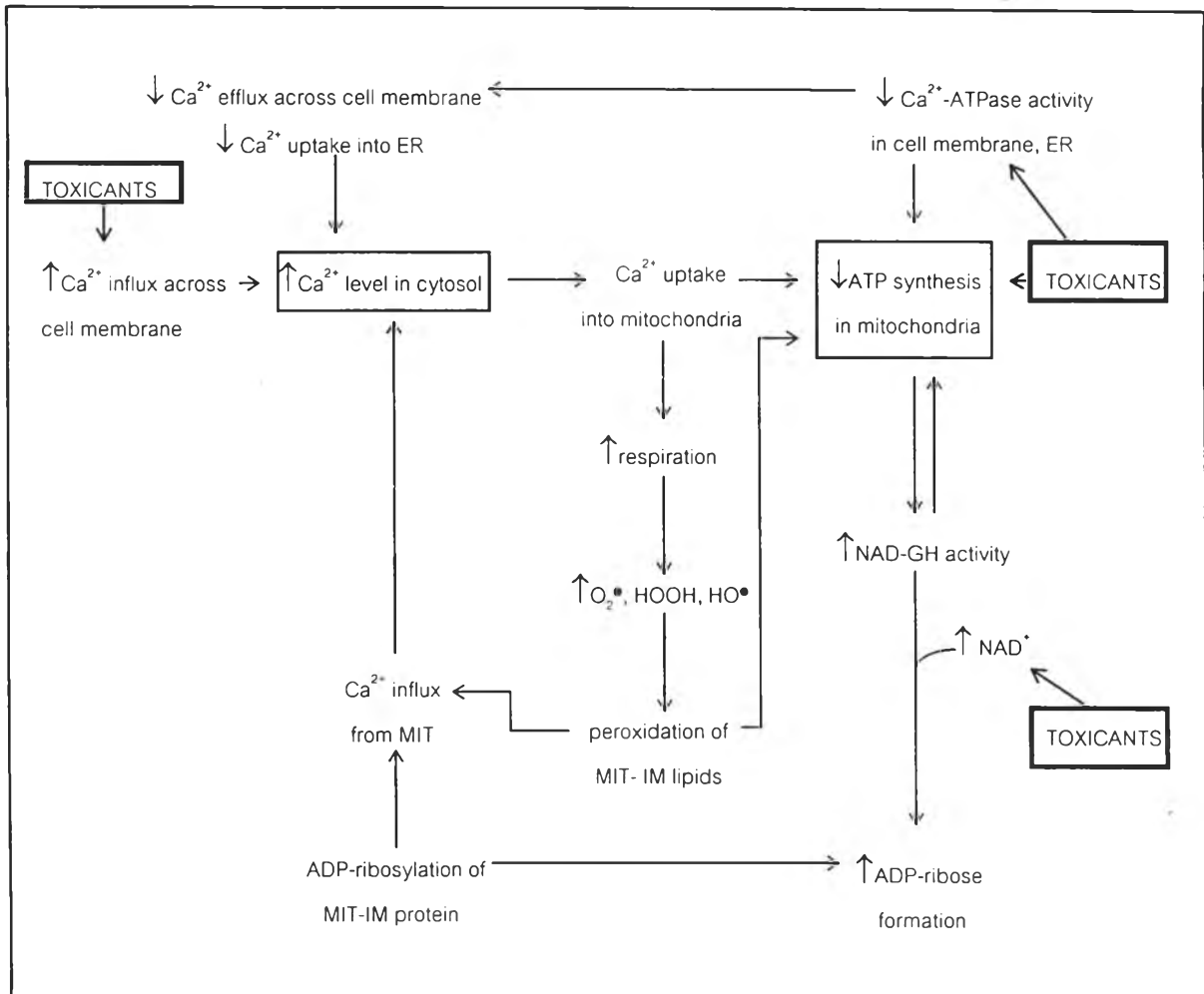
พบว่า ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้เกิด vicious cycle ดังแสดงในรูปภาพที่ 9. มีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์พลังงานใน mitochondria โดยทำให้การสังเคราะห์พลังงานลดลง และพลังงานสำรองที่มีอยู่ถูกนำไปใช้มากขึ้นโดย Ca^{2+} -ATPase เพื่อนำแคลเซียมอิสระออกนอกเซลล์ และนำไปเก็บไว้ใน endoplasmic reticulum นอกจากนี้ แคลเซียมอิสระที่เพิ่มมากขึ้นนี้ ยังไปกระตุ้นการทำงานของ mitochondrial dehydrogenase ทำให้เกิด oxidative injury ต่อผนังชั้นในของ mitochondria อีกด้วย

นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ มีผลไปทำลายโปรตีน (actin-binding protein) ที่ยึดผนังเซลล์ไว้ เกิดการแยกออกของ actin filaments จาก α -actinin ทำให้ผนังเซลล์ยื่นออกกลายเป็น bleb นำไปสู่การเกิด liver cell necrosis จากการแตกออกของ bleb (Nicotera, Bellomo and Orrenius, 1992) พบว่า ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้ ยังไปกระตุ้น hydrolytic enzyme ต่างๆ เช่น protease, phospholipase และ nuclease เป็นต้น ให้ทำงานมากขึ้น เกิดการทำลายโปรตีน phospholipid และ nucleic acid ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ขึ้น เซลล์มีการสูญเสียรูปร่างและหน้าที่การทำงาน จึงเกิดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ตับตามมาในที่สุด (Saido, Sorimashi and Suzuki, 1994)



รูปภาพที่ 8. แสดงการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน

(Zakim and Boyer, 1996)



รูปภาพที่ 9. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความบกพร่องของการควบคุมระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์

และกระบวนการสังเคราะห์พลังงาน (Klaassen, 1996)

ER = endoplasmic reticulum

IM = inner membrane

MIT = mitochondria

NAD-GH = NAD-glycohydrolase

NAD^+ = oxidized nicotinamide adenine dinucleotide

พบว่า reactive metabolite ของอะเซตามิโนเฟน (NAPQI) นั้น ทำให้เกิดการหักของ DNA (DNA fragmentation) จากการทำงานของเอนไซม์ Ca^{2+} -dependent endonuclease จึงเชื่อว่า การเกิดพิษของอะเซตามิโนเฟน อาจเกิดจาก NAPQI ทำให้การควบคุมระดับของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เสียไป (Shen et al., 1991)

5. Immune Mechanisms

จากการศึกษาในเซลล์ตับอิสระของหนูขาว พบว่า การบาดเจ็บของตับมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้น polymorphonuclear leukocyte (PMNs) โดย superoxide dismutase และ catalase มีฤทธิ์ป้องกันการบาดเจ็บของเซลล์ตับที่เกิดขึ้นได้ ดังนั้น PMNs อาจทำให้เกิด reactive oxygen species ก็ได้ (Dalm, Schulze and Roth, 1991) และยังพบว่า กลไกการบาดเจ็บของตับ อาจเกิดจาก phagocytic cell อื่นๆได้ เช่น macrophage, Kupffer cell เป็นต้น และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง PMNs และเซลล์ตับ โดยการกระตุ้นด้วยสารเคมี ทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์ตับขึ้น พบว่า มีการรั่วไหลของเอนไซม์ภายใน cytoplasm ออกมานอกเซลล์ เชื่อว่า PMNs อาจกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์ protease ออกมาก็ได้ (Harbrecht et al., 1993; Ganey et al., 1994)

การศึกษายืนยันว่า phagocytic cell อาจทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อตับได้ คือ การศึกษาที่พบว่า hepatic macrophage หรือ Kupffer cell ที่แยกออกจากตับหนูขาวที่ได้รับ endotoxin ทำให้เกิด oxygen radical มากกว่าตับของหนูขาวปกติ (Arthur, Kowolski-Sauders and Wright, 1988) นอกจากนี้ endotoxin ยังกระตุ้นให้เกิด tumor necrosis factor- α (TNF- α) และ leukotriene ซึ่งสัมพันธ์กับการบาดเจ็บของเซลล์ตับ (Tiegs and Wendel, 1988; Tiegs, Walter and Wendel, 1989) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาฤทธิ์ของ vitamin A ในการกระตุ้น Kupffer cell ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ตับเพิ่มมากขึ้น เมื่อให้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ในขนาดต่างๆ (EISisi, Eaenest and Sipes, 1993)

จะเห็นได้ว่า กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพิษต่อตับมีมากมาย ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่อตับที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีหรือสารพิษ โดยการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ตับอาจเกิดจากหลายกลไกร่วมกันก็ได้ และการเกิดพิษต่อตับนั้นจะทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายหรือไม่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆที่ได้กล่าวไปแล้ว

การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย
(Liver cell regeneration)

การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นต่อตับนั้น ไม่ว่าจะเกิดจากการได้รับสารเคมีที่มีพิษต่อตับหรือการผ่าตัดก็ตาม ล้วนเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อและการตายของเซลล์ตับได้ทั้งสิ้น อย่างไรก็ตาม โมเลกุลหรือเซลล์ที่ถูกทำลายนั้น จะได้รับการซ่อมแซมด้วยวิธีการต่างๆกันไปขึ้นอยู่กับพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น โดยอาศัยการทำงานของ เอนไซม์และชีวโมเลกุลภายในร่างกาย ทำให้โมเลกุลหรือเซลล์เหล่านั้นมีสภาพกลับสู่ปกติและสามารถทำหน้าที่ได้ตามเดิม การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นลดลงจนกระทั่งหายไป แต่ถ้าการบาดเจ็บนั้นมีพยาธิสภาพมาก ประกอบกับมี ปัจจัยส่งเสริม จนกระทั่งกระบวนการซ่อมแซมไม่อาจกระทำได้อย่างทันท่วงที ก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ ตับขึ้นได้ในที่สุด

กระบวนการซ่อมแซมที่เกิดขึ้นภายหลังการบาดเจ็บต่อตับ อาจแบ่งได้เป็น 3 ระดับ (Klaassen, 1996)
ดังนี้

1. Molecular Repair

เป็นการซ่อมแซมการบาดเจ็บจากสารพิษที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลต่างๆของเซลล์ตับ โดยโมเลกุลเป้าหมายของสารพิษต่าง ๆ นั้น ได้แก่ thiol group ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีน มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการทำงานของโปรตีนต่างๆภายในเซลล์ เช่น enzyme, cytoskeletal protein, receptor เป็นต้น เมื่อเกิดการทำลายโปรตีนเหล่านี้ขึ้น ทำให้โครงสร้างและหน้าที่การทำงานของโปรตีนนั้นๆเปลี่ยนแปลงไป ร่างกายสามารถทำลายพิษที่เกิดกับโปรตีนเหล่านี้ได้ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ตับ ทำให้เกิดปฏิกิริยา reduction ขึ้น เช่น methemoglobin ถูกทำลายด้วยเอนไซม์ methemoglobin reductase (NADH-dependent cytochrome b₅ reductase) เป็นต้น

peroxidized lipid ที่เกิดขึ้นจากยาหรือสารพิษ จะถูกทำลายด้วยเอนไซม์ glutathione peroxidase และ reductase ดังได้กล่าวไปแล้ว

ส่วนการทำลายพันธะ covalent binding ของ DNA กับ electrophile หรือ free radical นั้น มี 3 วิธีด้วยกันดังนี้ คือ *direct repair* เป็นการทำลาย base ของ DNA ที่เกิดพันธะ ด้วยเอนไซม์ DNA-photolyase ซึ่งต้องอาศัยแสงอุลตราไวโอเล็ต วิธีการนี้ใช้ได้กับเซลล์ที่มีการสัมผัสกับแสงเท่านั้น *excision repair* ยังแบ่งออกเป็น 1) *base excision* เป็นการซ่อมแซม lesion ขนาดเล็ก ที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง DNA โดยการตัด base ของ DNA ที่ถูกทำลาย ซึ่งอาศัยการทำงานของ DNA-glycosylase ทำลาย glycosidic bond ของ DNA 2) *nucleotide excision* เป็นการซ่อมแซม lesion ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น อาศัยการทำงานของเอนไซม์ ATP-dependent nuclease เพื่อตัด nucleotide ของ DNA ที่ถูกทำลาย ; จากนั้น

ทั้ง base และ nucleotide excision จะอาศัยเอนไซม์ DNA-polymerase และ ligase ในการต่อ base หรือ nucleotide ใหม่เข้าไปแทนที่ base หรือ nucleotide ที่ถูกตัดออกไป ดังแสดงในรูปภาพที่ 10. ส่วน *recombinational (postreplication) repair* เป็นการซ่อมแซม lesion ที่มีขนาดใหญ่มากขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง DNA การซ่อมแซมเกิดขึ้นก่อนมีการจำลองแบบทางพันธุกรรม สามารถซ่อมแซม DNA ที่ถูกทำลาย double-strand หรือ interstrand cross-linked ได้ (Lewin, 1997)

2. Cellular Repair

เป็นการซ่อมแซมเซลล์ที่ถูกทำลายหรือเซลล์ที่ตายแล้ว โดยทั่วไปเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีการเจริญแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นไปแทนที่เซลล์ที่ถูกทำลาย ยกเว้นในเซลล์ประสาทที่เจริญเต็มที่แล้ว จะไม่มีความสามารถในการแบ่งตัว พบว่า เซลล์ประสาทส่วนปลายที่ถูกทำลาย axon นั้น เกิดการซ่อมแซมเซลล์ประสาทที่ถูกทำลายได้ โดยอาศัย macrophage และ Schwann cell (Hall, 1989) เมื่อเกิดการตายของเซลล์ประสาทส่วนปลาย macrophage จะเข้าจับกินเซลล์ที่ตายแล้ว (debris) โดยวิธี phagocytosis นอกจากนี้ยังไปกระตุ้น cytokine ที่มีฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของ Schwann cell และทำให้เกิดซ่อมแซมของเซลล์ประสาทขึ้น

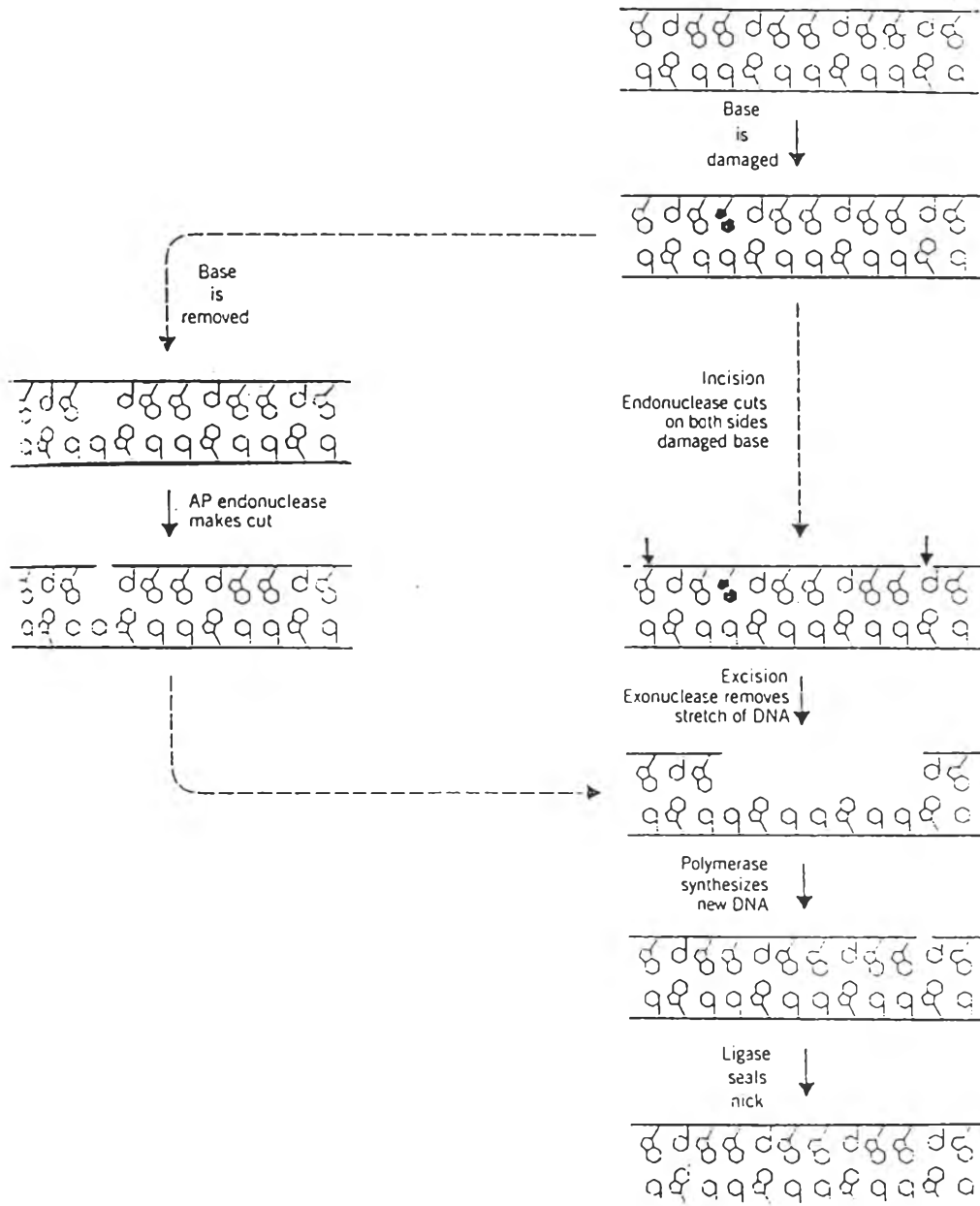
3. Tissue Repair

เป็นการซ่อมแซมโดยการกำจัดเซลล์ที่ถูกทำลายออกไปด้วยวิธีต่างๆ โดยกลไกของการตายของเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ apoptosis (programmed cell death) และ cell necrosis ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งทางด้านรูปร่างลักษณะ (morphology) และกลไกการเกิด (mechanism) โดยเชื่อว่า

apoptosis เป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของเซลล์ เพื่อรักษารูปร่างของเนื้อเยื่อและจำนวนเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่ เชื่อว่า การเกิด apoptosis นี้เป็นกลไกของร่างกายในการป้องกันการเกิดเนื้องอกหรือเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของ apoptosis ที่เกิดขึ้น (Corcoran et al., 1994) มีดังนี้

1. มีการสูญเสียการสัมผัสกันระหว่างเซลล์ที่อยู่ติดกัน ร่วมกับการเกิด chromatin condensation
2. เกิด DNA fragmentation ลักษณะการหักคล้ายขั้นบันได (ladder) โดยการทำงานของเอนไซม์ endonuclease
3. เกิด bleb ขึ้นทั่วไปบนผนังเซลล์ เนื่องจากการสูญเสียโครงสร้างของเซลล์ นอกจากนี้ เอนไซม์ transglutaminase ทำให้เซลล์เกิดลักษณะเป็น apoptotic bodies (membrane-bound pieces) ขึ้น
4. apoptotic cell จะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้าง transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ โดย TGF- β_1 จะจับกับ membrane receptor ทำให้เกิดการตายของเซลล์ขึ้น (Bursch, Oberhammer and Schutte-Hermann, 1992)
5. สุดท้าย apoptotic cell ที่เกิดขึ้น จะถูกจับกินโดยกระบวนการ phagocytosis

pathway for any damage



base repair

excision repair

รูปภาพที่ 10. แสดง excision repair ภายหลัง tissue injury

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

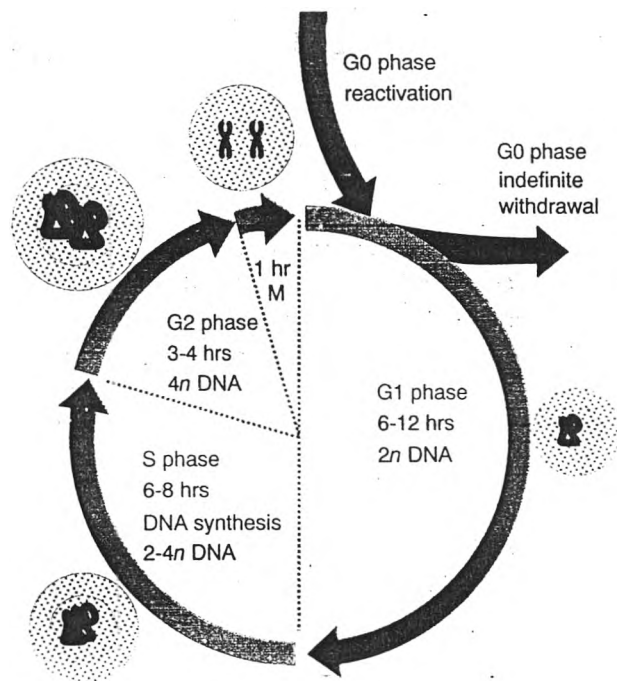
นอกจากนี้ยังเชื่อว่า growth factor, glucocorticoid, γ -irradiation, protein kinase A และ cytotoxic T lymphocytes สามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดกระบวนการ apoptosis ได้ (Nakata and Golstein, 1995) ยีนส์ที่ทำหน้าที่ควบคุมการเกิด apoptosis นั้น คือ *c-myc* gene ทำหน้าที่กระตุ้นให้เซลล์ที่อยู่ใน G_0 phase มีการเตรียมพร้อมเพื่อการแบ่งตัวเข้าสู่ G_1 phase จากนั้น *p53* gene (tumor-suppressor gene) จะทำหน้าที่ในการยับยั้งเซลล์ไม่ให้เกิดการสังเคราะห์ DNA ขึ้น (S phase) เพื่อให้เซลล์ได้เกิดการซ่อมแซม DNA ที่ถูกทำลาย อย่างไรก็ตาม เมื่อเซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมได้อีกต่อไป ก็จะเกิด apoptosis ในที่สุด เชื่อว่า เกิดจากการกระตุ้นของ *bax* gene ซึ่งกลไกในการทำงานของยีนส์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (Oltvai et al., 1993) ดังแสดงในรูปภาพที่ 11.

cell necrosis เกิดจากการซ่อมแซมโดยกระบวนการ apoptosis ไม่สามารถลดการทำลายที่เกิดกับเซลล์ได้ ทำให้พยาธิสภาพของเซลล์รุนแรงขึ้น เกิดการบวมของเซลล์และ organelle ต่างๆภายในเซลล์ เซลล์เสียสภาพสมดุลงจากการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ และความบกพร่องของการสังเคราะห์พลังงานของเซลล์ มีการรั่วไหลของเอนไซม์ผ่านผนังเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการทำลายของผนังของเซลล์ (membrane lysis) ขึ้น กระตุ้น inflammatory cell เกิดกระบวนการอักเสบและการตายของเซลล์ขึ้นในที่สุด

อย่างไรก็ตาม เมื่อเกิดบาดเจ็บต่อดับขึ้นไม่ว่าจะเป็นสาเหตุใดก็ตาม เซลล์ดับสามารถสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายได้ โดยอาศัยการแบ่งตัวของเซลล์ดับปกติที่อยู่ข้างเคียง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่างๆ และรูปร่างลักษณะของเซลล์เพื่อเตรียมพร้อมในการแบ่งตัวของเซลล์ เข้าสู่วัฏจักรเซลล์ (cell cycle) ต่อไป

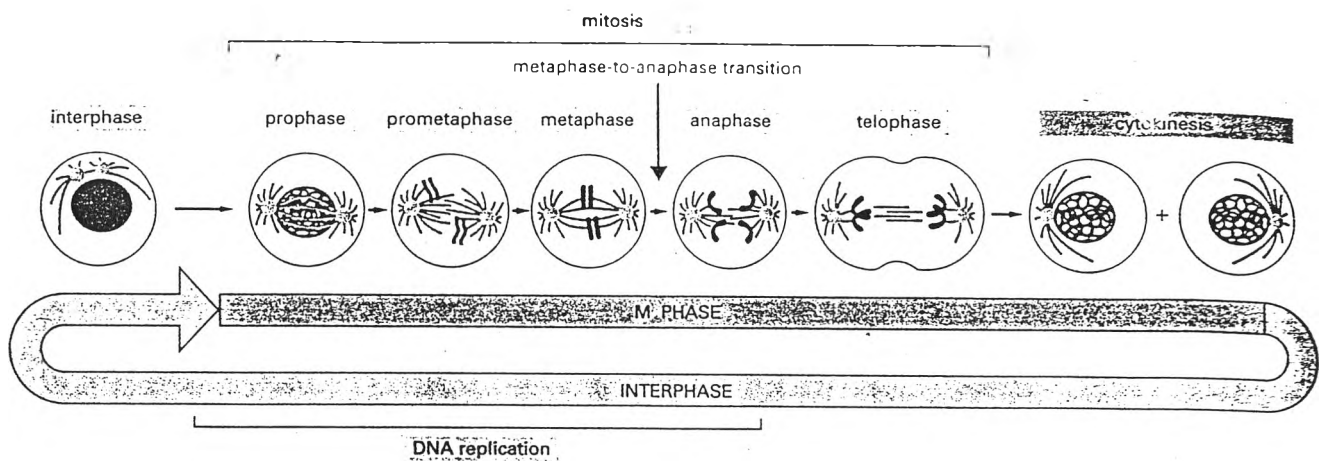
วัฏจักรเซลล์ แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ อินเตอร์เฟส (interphase) และ ไมโทซิส (mitosis หรือ M phase) โดย ระยะอินเตอร์เฟส นั้นเป็นระยะที่เซลล์มีการเตรียมพร้อมในการแบ่งตัว เพื่อเพิ่มขนาดของเซลล์ผ่านกระบวนการจำลองแบบ (replication) ถ่ายทอดข้อมูล (transcription) และการกำหนดตำแหน่งทางพันธุกรรม (translation) ของโปรตีนต่างๆ ตลอดจนการสังเคราะห์ DNA ให้พร้อม โดยยังสามารถแบ่งระยะอินเตอร์เฟสนี้ เป็นระยะย่อยได้ ดังนี้ คือ G_1 phase (เป็นระยะที่เกิดการสังเคราะห์ ribonucleic acids และ โปรตีนต่างๆ เพื่อเพิ่มขนาดของเซลล์ให้พร้อมในการแบ่งตัว) ระยะนี้เป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุด ประมาณ 6-12 ชั่วโมง จากนั้นเซลล์จึงเข้าสู่ระยะ S phase (เป็นระยะที่เซลล์เกิดการสังเคราะห์ DNA ขึ้น) ใช้เวลาประมาณ 6-8 ชั่วโมง G_2 phase ใช้เวลาเพียง 3-4 ชั่วโมง เป็นระยะที่เซลล์มีโครโมโซมเท่ากับ 2 ชุด (4n)

อย่างไรก็ตาม ในระยะ G_1 phase นั้น เซลล์จะมีการตอบสนองต่อสิ่งเร้าต่างๆ ทั้งจากภายในและภายนอกเซลล์ ที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมพร้อมในการแบ่งตัวของเซลล์ เช่น ภาวะทุพโภชนาการ ทำให้การเพิ่มขนาดของเซลล์ไม่เพียงพอต่อการแบ่งตัว เซลล์อาจหยุดการเจริญแบ่งตัวในระยะต่อไป เซลล์กลับเข้าไปอยู่ในระยะพัก หรือ G_0 phase ซึ่งอาจใช้เวลาเป็นวัน หรือเป็นปีก็ได้ ดังแสดงในรูปภาพที่ 12.



รูปภาพที่ 12. แสดงวัฏจักรเซลล์ (Lewin, 1997)

ส่วนระยะไมโทซิส (M phase) ของวัฏจักรเซลล์ เป็นระยะที่เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ แบ่งย่อยออกเป็นระยะต่างๆ เริ่มจาก ระยะโปรเฟส (*prophase*) ที่เซลล์เกิดการหดตัวของโครมาติน (chromatin) จนเห็นเป็นแท่งชัดเจนขึ้น เรียก โครโมโซม (chromosome) และเกิดการจัดเรียงตัวของ microtubule เป็น mitotic spindle ในระยะท้ายๆ จึงเกิดการละลายของเยื่อหุ้มนิวเคลียสของเซลล์ ระยะเมตาเฟส (*metaphase*) มีการจัดเรียงตัวของโครโมโซมบริเวณกึ่งกลางของ mitotic spindle จากนั้นโครโมโซมแยกออกจากกันไปอยู่ขั้วตรงข้ามของ mitotic spindle เข้าสู่ ระยะแอนาเฟส (*anaphase*) เมื่อโครโมโซมแยกออกจากกันมากขึ้น (มีจำนวนเท่ากับโครโมโซมของเซลล์ต้นแบบ) และแยกไปอยู่ขั้วตรงข้ามของเซลล์ เป็น ระยะทีโลเฟส (*telophase*) ต่อมาเยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสจะปรากฏให้เห็นชัดเจนขึ้น เป็นอันว่า การแบ่งนิวเคลียสของเซลล์สิ้นสุดลง เซลล์จะเข้าสู่กระบวนการแบ่ง cytoplasm (cytokinesis) โดย cytoplasm เกิดการคอดเข้าไปในบริเวณกลางเซลล์ จนเซลล์แยกออกจากกันเป็น 2 เซลล์ จึงสิ้นสุด กระบวนการไมโทซิส (Lewin, 1997) ดังแสดงในรูปภาพที่ 13.



รูปภาพที่ 13. แสดงการแบ่งตัวของเซลล์ในระยะไมโทซิส

ลักษณะทั่วไปของการแบ่งตัวในเซลล์ตับ

(General Characteristics of Liver Regeneration)

ภายหลังเกิดการตายของเนื้อเยื่อตับขึ้นทั้งโดยการผ่าตัด หรือการได้รับสารเคมีที่ก่อพิษต่อดับ เซลล์ตับจะมีการเพิ่มขนาดและแบ่งตัวของเซลล์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จากการศึกษาโดยการตัดตับของหนูขาวออก 2/3 ของน้ำหนักตับทั้งหมด (partial hepatectomy) พบว่า กลีบตับที่เหลืออยู่จะมีการแบ่งตัวและเพิ่มขนาดของเซลล์จนกระทั่งใกล้เคียงกับน้ำหนักตับปกติ ภายใน 48 ชั่วโมง น้ำหนักตับเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของน้ำหนักตับที่เหลืออยู่ และภายใน 7-10 วัน จึงมีน้ำหนักใกล้เคียงปกติ (Kaplowitz, 1992)

มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของการตัดตับต่อการสังเคราะห์ DNA พบว่า ภายหลังการตัดตับที่น้อยกว่า 40% ของน้ำหนักตับทั้งหมด ทำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA ขึ้นเพียงเล็กน้อย อาจเป็นไปได้ว่า ขนาดของตับที่ถูกตัดออกไป ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ตับได้ (Bucher and Swaffield, 1962)

จากการศึกษาในหนูขาวที่อายุต่างกัน พบว่า หนูขาววัยเจริญพันธุ์มีการสังเคราะห์ DNA น้อยกว่า ตัวอ่อนอายุ 17 วัน โดย thymidine kinase ที่เป็นพารามิเตอร์ในการสังเคราะห์ DNA นั้น มีปริมาณคิดเป็นเพียง 1% ของตัวอ่อนอายุ 17 วัน เท่านั้น (Klemperer and Haynes, 1968) ได้มีการศึกษาผลการแบ่งตัวของเซลล์ตับภายหลังการตัดตับ ไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ DNA ภายใน 12 ชั่วโมงหลังการตัดตับ โดยพบปริมาณสูงสุดที่เวลา 22-24 ชั่วโมง หลังการตัดตับ และจากการศึกษาในหนูขาววัยเจริญพันธุ์ พบมีปริมาณของ DNA สูงสุดเมื่อเวลา 36 ชั่วโมงหลังการตัดตับ (McGowan, Atryzek and Fausto, 1979)

จึงเชื่อว่า การสังเคราะห์ของ DNA ที่เพิ่มสูงมากขึ้นนี้ ขึ้นอยู่กับ อายุของหนูขาว ชนิดของสัตว์ทดลอง ภาวะโภชนาการ และ ขนาดของตับที่ถูกตัดหรือบริเวณของเซลล์ตับที่ถูกทำลาย

การศึกษาการแบ่งตัวของเซลล์ตับส่วนใหญ่ จึงมุ่งเน้น การศึกษาความสัมพันธ์ของการสังเคราะห์ DNA ที่เพิ่มมากขึ้น โดยใช้เอนไซม์ thymidine kinase เป็นพารามิเตอร์ในการบ่งชี้ liver regeneration ที่เกิดขึ้น เมื่อเกิดการแบ่งตัวของเซลล์มากขึ้นในเซลล์ต่างๆที่มีการเจริญอย่างรวดเร็ว เช่น regenerating liver (Bollum and Potter, 1959) tumor cells (Hashimoto et al., 1969) เป็นต้น พบมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์สัมพันธ์กับการสังเคราะห์ DNA ตรงกันข้าม เมื่อการสังเคราะห์ DNA ลดลง ปริมาณของเอนไซม์ก็ลดลง เป็นไปในทิศทางเดียวกัน

ในระยะแรกของการ liver regeneration พบว่า การทำหน้าที่ต่างๆของตับจะลดลง โดยหลังการตัดตับ 24 ชั่วโมง เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ bilirubin, bile pigment และ cholesterol (Rush, 1954) พบว่า เซลล์ตับ (hepatocyte, parenchymal cell) มีการแบ่งตัวของเซลล์เร็วกว่าเซลล์ชนิดอื่นในตับ (nonparenchymal cell) และมักเกิดการแบ่งตัวเกิดขึ้นมากบริเวณ periportal zone ของตับ (Burt, 1993)

ขณะเดียวกัน ก็จะมีมีการสร้างพังผืดขึ้นในบริเวณที่มีการทำลายของเซลล์ตับเกิดขึ้นอย่างช้าๆ พบว่า ภายหลังจากตัดตับ 4 ชั่วโมง ตับมีการสังเคราะห์ของเหลวภายนอกเซลล์ขึ้น (extracellular matrix) โดยมีปริมาณ mRNA ของ fibronectin, vitronectin, laminin B₁ และ collagen type I, III เพิ่มขึ้น จนกระทั่งกลับสู่ปกติเมื่อเวลาผ่านไป 24-48 ชั่วโมง ซึ่งเชื่อว่า เกิดจาก transforming growth factor - β เพื่อรักษารูปร่างของเซลล์ตับปกติ และโครงสร้างของหลอดเลือดใหม่ (Jakowlew et al., 1991) จากนั้นประมาณ 6 วัน หลังการตัดตับ จึงมี sinusoids เกิดขึ้นระหว่างเซลล์ตับ เป็นการยืนยันว่า ระยะแรกของการ liver regeneration การทำงานต่างๆของตับจะลดลง แต่ตับจะทำหน้าที่ในการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์เพื่อทดแทนเซลล์ที่ถูกทำลายหรือสูญเสียไป

กลไกการแบ่งตัวของเซลล์ตับ

(General Mechanisms of Liver Regeneration)

การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายนั้น มิได้ถูกควบคุมจากเพียงกลไกเดียวเท่านั้น เชื่อว่า กลไกการแบ่งตัวของเซลล์ตับอาจถูกควบคุมจากสัญญาณ ทั้งจากภายในและภายนอกตับ (intra- and extrahepatic signals) การตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเซลล์ตับภายหลังการตัดตับหรือการได้รับสารเคมีที่มีพิษต่อตับ จึงอาจแบ่งได้เป็น 2 ระยะ (Arias et al., 1994)

1. The Immediate-Early or Primary Gene Response

ระยะแรกของ liver regeneration ภายหลังการตัดตับ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของยีนส์ที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรมของเซลล์ตับเกิดขึ้น ซึ่งได้แก่ *c-fos*, *c-jun* และ *c-myc* genes โดยมีระดับเพิ่มขึ้นภายใน 2 ชั่วโมงแรก และลดลงจนกระทั่งกลับสู่ปกติที่เวลา 4 ชั่วโมงหลังการตัดตับทั้งในหนูขาวและหนูถีบจักร โดยระดับของ mRNA ของ *c-fos*, *c-jun* และ *c-myc* genes นั้นเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 0.5, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ (Morello et al., 1990) การเพิ่มขึ้นของยีนส์เหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวกับ liver regeneration เช่น transcriptional factors, growth factors, binding proteins, membrane proteins และเอนไซม์ เป็นต้น ทำให้เกิดกระบวนการเคลื่อนย้ายอออนของเซลล์ตับผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ การเคลื่อนย้ายกรดอะมิโน และเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีขึ้น ในการเตรียมพร้อมเพื่อการสังเคราะห์ DNA ของเซลล์ตับต่อไป

จากการศึกษาผลของภาวะโภชนาการต่อการแบ่งตัวของเซลล์ตับ และการเพิ่มขึ้นของ *c-fos*, *c-jun* และ *c-myc* genes พบว่า ในหนูขาวที่ขาดสารอาหารประเภทโปรตีน จะกระตุ้นกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ตับขึ้น เช่นเดียวกับการให้ 20% กลูโคส ในหนูขาว ที่มีการเพิ่มขึ้นของ *c-jun* และ *c-myc* genes และเมื่อทำการศึกษาต่อไปโดยการให้หนูขาวได้รับกรดอะมิโน ทำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA ขึ้นสูงสุดที่เวลา 15-17 ชั่วโมงหลังได้รับกรดอะมิโน (Fausto, 1991)

นอกจากนี้ ยังเชื่อว่า epidermal growth factor (EGF) สามารถกระตุ้น liver regeneration ขึ้นภายใน 1-3 ชั่วโมง หลังการตัดตับ โดย EGF ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของโซเดียมอออนภายในเซลล์ให้ออกมานอกเซลล์มากขึ้น ผ่านทาง Na^+H^+ antiport system หรือ Na^+K^+ -ATPase ในระยะ G_0 หรือ early G_1 phase ของวัฏจักรเซลล์ ทำให้เกิดการคั่งของโซเดียมอออน เกิดภาวะความเป็นกรดภายในเซลล์มากขึ้น ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าบริเวณผนังเซลล์ (depolarization) อย่างช้าๆ และ EGF ยังกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนเพิ่มมากขึ้น ผ่านทาง Na^+ -dependent amino acid transport (Arais, Popper et al., 1982)

2. Delayed or Secondary Gene Response

เมื่อเกิดการตอบสนองของตับต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระยะแรกของ liver regeneration โดยการควบคุมของยีนส์ต่างๆแล้ว เกิดการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนต่างๆที่จำเป็นในขบวนการสังเคราะห์ DNA ขึ้นแล้ว พบว่า ในระยะหลังของการเกิด liver regeneration ภายหลังจากการตัดตับ มียีนส์ที่เกี่ยวข้อง คือ *p53* และ *c-ras* genes ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการจำลองแบบทางพันธุกรรมของเซลล์ ในระยะ middle G_1 phase โดยมีการเพิ่มขึ้นของ mRNA ของ *p53* gene ประมาณ 5 เท่าจากระดับปกติที่เวลา 8-16 ชั่วโมง หลังการตัดตับ เช่นเดียวกับ *c-ras* genes ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ DNA ของเซลล์ตับ ที่เวลาเดียวกัน (Goyette et al., 1983)

นอกจากนี้ การแบ่งตัวของเซลล์ตับภายหลังการผ่าตัดหรือการได้รับสารพิษนั้น ยังเป็นการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของสารบางชนิดจากเซลล์ตับได้เช่นกัน เช่น transforming growth factor - α (TGF- α) ออกมา โดยมีปริมาณสูงขึ้นที่เวลา 8 ชั่วโมง และปริมาณสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง จนกระทั่งลดลงสู่ปกติที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการตัดตับ และจากการศึกษาต่อมา ยังพบว่า TGF- α ยังกระตุ้นให้ nonparenchymal cells เกิดการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น (Fausto, 1991)

nonparenchymal cells เอง ก็สามารถหลั่ง hepatocyte growth factors (HGF) พบว่า ภายหลังจากการตัดตับ 12-18 ชั่วโมง นั้น มีการหลั่งของ HGF เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะ (morphologic changes) ของเซลล์ตับให้มีขนาดเพิ่มมากขึ้น โดย HGF จะไปจับกับตำแหน่งที่จำเพาะของผนังเซลล์ กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนให้มีขนาดใหญ่ขึ้น (Arias, Popper, et al., 1982)

ส่วนเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ตับ ในระยะ G_1 phase ของวัฏจักรเซลล์นั้น ได้แก่ protein kinases และ phosphatases ที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนต่างๆของเซลล์ ซึ่งทำงานร่วมกับโปรตีน cyclins พบว่า ปริมาณของ mRNA ของ cyclin C, D, E ถูกสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้นหลังการตัดตับ 12 ชั่วโมง ในขณะที่ cyclin A และ B₁ mRNA นั้นเพิ่มมากขึ้นที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการตัดตับ นอกจากนี้ยังพบว่า cyclin ที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ตับ คือ cyclin E ซึ่งจะจับกับเอนไซม์ protein kinase เกิดเป็น cyclin E-kinase complex ขึ้น ซึ่งเป็นเป้าหมายของ TGF - β ในการยับยั้งการจำลองแบบทางพันธุกรรมของเซลล์ (Koff et al., 1993)

จากการศึกษาเกี่ยวกับการแบ่งตัวของเซลล์ตับทั้งในเซลล์ตับปกติและเซลล์ตับที่มีการเจริญอย่างรวดเร็ว เช่น embryonic liver, เซลล์ตับภายหลังการผ่าตัดตับ หรือเนื้องอกของตับ (hepatoma) เป็นต้น พบว่า ปริมาณของเอนไซม์ thymidine kinase เพิ่มสูงขึ้นในเซลล์ตับที่มีการเจริญอย่างรวดเร็ว โดยปริมาณของเอนไซม์ thymidine kinase ของเซลล์ตับปกติมีน้อยมากเมื่อเทียบกับเซลล์ตับหลังการผ่าตัด คิดเป็นเพียง 1/10 เท่านั้น (Hashimoto et al., 1969) และจากการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์

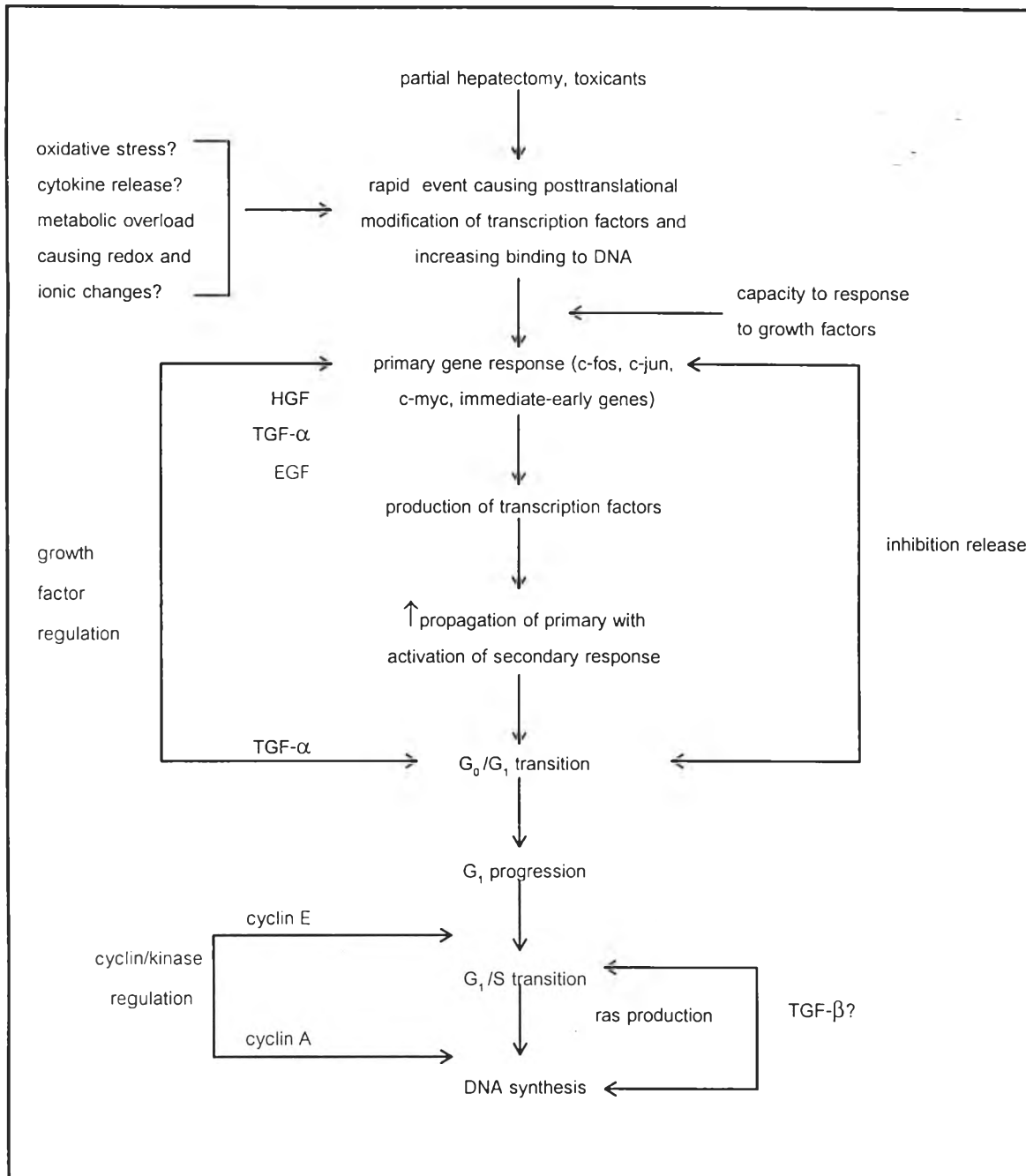
thymidine kinase และวัฏจักรเซลล์ พบว่า ระดับของเอนไซม์ thymidine kinase เพิ่มขึ้นในระยะ S phase เป็น 10 เท่าของระยะ G₁ phase นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ต่างๆ อีกมากมายที่บ่งชี้ถึงการแบ่งตัวของเซลล์ เช่น thymidylate synthase, ribonucleotide diphosphate reductase เป็นต้น แต่พบว่า เอนไซม์ thymidine kinase นั้น มีปริมาณ stable เป็นระยะเวลานานในขณะที่มีการแบ่งตัวของเซลล์ โดยมีความครึ่งชีวิต (half-life) ของเอนไซม์ thymidine kinase ประมาณ 40 ชั่วโมง (Sherley and Kelly, 1987) การศึกษาเกี่ยวกับ liver regeneration จากการผ่าตัดตับและสารพิษต่างๆ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ thymidine kinase เป็นสำคัญ

จะเห็นได้ว่า ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์นั้นมีมากมาย และปัจจัยเหล่านี้ยังทำหน้าที่เกี่ยวเนื่องและสัมพันธ์กันไป โดยมีปัจจัยที่เป็นตัวควบคุมกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ เพื่อรักษาสสมดุลของการแบ่งตัวของเซลล์ให้เหมาะสม ปัจจัยเหล่านั้น ได้แก่ TGF- β ซึ่งถูกหลั่งออกมาจาก Kupffer cell, Ito cell และ platelet ในบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ โดยยังไม่ทราบกลไกแน่ชัด แต่เชื่อว่า isoform ที่สำคัญ คือ TGF- β 1 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ โดยพบมีปริมาณสูงขึ้นที่เวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณเพิ่มสูงสุดที่เวลา 72 ชั่วโมง และยังคงสูงอยู่จนกระทั่ง 96 ชั่วโมง หลังการตัดตับ จึงเริ่มลดลงสู่ปกติ (Michalopoulos, 1990) นอกจากนี้ TGF- β , ยังไปยับยั้งการทำงานของ TGF- α , EGF และ HGF ด้วย ดังนั้น อาจเป็นไปได้ว่า TGF- β , นั้น มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสังเคราะห์ DNA ในระยะ late G₁ phase ก็ได้

นอกจากนี้ ยังพบว่ามี cytokines บางชนิด เช่น interleukin -1 (IL-1), interleukin -6 (IL-6) และ tumor necrosis factor ซึ่งถูกหลั่งออกมาจาก Kupffer cell เมื่อเกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์ตับขึ้น อาจมีฤทธิ์ในการกระตุ้นหรือยับยั้งการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรม (transcriptional activity) ของเซลล์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ DNA ในระยะต่อมา ได้เช่นกัน

นอกเหนือจากปัจจัยดังกล่าวแล้ว พบว่า norepinephrine (NE), insulin, glucagon, vasopressin และ prostaglandin E₂ เป็นปัจจัยที่มีผลไปกระตุ้นฤทธิ์ของ EGF หรือ HGF ได้โดยทางอ้อม ทำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA ขึ้นใน liver regeneration หรืออาจไปยับยั้งการทำงานของ TGF- β 1 ก็ได้ เชื่อว่า NE มีฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ผ่านทาง α_1 -adrenergic receptor เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเซลล์ตับขึ้น โดยทำให้เกิด membrane hyperpolarization และ glycogenolysis (Michalopoulos, 1990)

ส่วน insulin และ glucagon นั้น พบว่ามีความสัมพันธ์กับการแบ่งตัวของเซลล์ตับภายหลังการตัดตับ โดย insulin อาจไปกระตุ้นเอนไซม์ plasma membrane protease เกิดการรั่วไหลของของเหลวจากนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ จึงเสริมฤทธิ์ของ EGF ในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ด้วยกลไกต่างๆ ดังได้กล่าวไปแล้ว ดังแสดงในรูปภาพที่ 14.



รูปภาพที่ 14. แสดงกลไกและปัจจัยที่เกิดขึ้นเมื่อเกิด liver regeneration

จะเห็นได้ว่า ดับเป็นอวัยวะที่มีบทบาทสำคัญและจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ เมื่อเกิดการบาดเจ็บต่อดับ และเป็นสาเหตุให้หน้าที่การทำงานของดับสูญเสียไป เกิดพยาธิสภาพต่างๆต่อดับที่อาจก่อให้เกิดอาการแทรกซ้อนต่างๆขึ้น รวมทั้งอวัยวะอื่นๆที่เกี่ยวข้อง อาจมีการสูญเสียหน้าที่ตามมาได้เช่นกัน ดังนั้น การศึกษาถึงกลไกการเกิดพยาธิสภาพของดับที่เกิดจากการใช้ยาหรือสารเคมีต่างๆ ให้เกิดความเข้าใจอย่างแท้จริง จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกัน และรักษาอาการที่เกิดขึ้นจากการสูญเสียหน้าที่ของดับ และสามารถนำไปพัฒนาแนวทางการศึกษาในอนาคตต่อไป

สำหรับแอนโดรกราไฟไลต์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่สกัดได้จาก ฟ้าทะเลลายใจ นั้น มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญมากมาย โดยเฉพาะฤทธิ์ในการป้องกันสารพิษหรือยาต่างๆที่มีผลต่อดับ จากการศึกษาที่ผ่านมา ไม่เพียงแต่แอนโดรกราไฟไลต์จะมีฤทธิ์ในการป้องกันพิษต่อดับจากเอธานอล เท่านั้น แต่ยังกระตุ้นให้มีการไหลเวียนของเลือดที่มายังดับเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ (วันดี อุดมอักษร, 2532) ต่อมา พบว่า แอนโดรกราไฟไลต์มีฤทธิ์ในการป้องกันพิษต่อเซลล์ดับได้ โดยการกระตุ้นให้มีการทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายด้วยพิษต่อดับ จากอะเซตามิโนเฟนให้เกิดเร็วมากขึ้น และยังทำให้เกิดการทำลายเซลล์ดับของหนูขาวได้ด้วย ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับขนาดที่ใช้ นอกจากนี้ ยังพบว่า แอนโดรกราไฟไลต์ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นั้น ก่อให้เกิดการทำลายของเซลล์ดับเป็นระยะๆ โดยมีรอบของการเกิดพิษต่อดับและการหายของเซลล์ดับประมาณ 48 ชั่วโมง หลังได้รับแอนโดรกราไฟไลต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราไฟไลต์ที่ขนาด 5, 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกัน ก็ให้ผลที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เวลาเดียวกัน (อุชจิตรา เกียรติวิระสกุล, 2538)

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้น ฤทธิ์ของแอนโดรกราไฟไลต์ต่อการแบ่งตัวของเซลล์ดับ เพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย ภายหลังการใช้อะเซตามิโนเฟนเป็นสารก่อพิษต่อดับ โดยวัตถุประสงค์ในการวิจัยครั้งนี้คือ

1. เพื่อศึกษาขนาดของอะเซตามิโนเฟนที่ให้ทางปากในหนูขาว แล้วก่อให้เกิดการทำลายของเซลล์ดับ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราไฟไลต์ต่อการทดแทนเซลล์เก่าของดับในหนูขาว ภายหลังการทำลายเซลล์ดับจากอะเซตามิโนเฟน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย คือ

1. ทำให้ทราบถึงผลของแอนโดรกราไฟไลต์ต่อการทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย ภายหลังการก่อพิษต่อดับจากอะเซตามิโนเฟน
2. เพื่อนำผลจากการวิจัยครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้ในการนำแอนโดรกราไฟไลต์ไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัยยิ่งขึ้น และเป็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมของสารนี้ต่อไป

โดยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งชี้ การเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน ได้แก่ ระดับเอนไซม์ transaminases ในซีรัม คือ serum oxaloacetic transaminase (SGOT) และ serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) ซึ่งโดยปกติเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ จะอยู่ภายใน cytoplasm และ mitochondrial matrix ของเซลล์ ไม่สามารถซึมผ่านออกมานอกเซลล์ได้ เมื่อเซลล์ตับได้รับบาดเจ็บจากสารพิษ เกิดการทำลายผนังเซลล์ขึ้นจากกลไกต่างๆ ทำให้เอนไซม์เกิดการรั่วไหลออกนอกเซลล์ตับ เข้าสู่กระแสเลือดได้

ส่วนพารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งชี้ การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย นั้น คือ เอนไซม์ thymidine kinase ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ phosphorylation ของ thymidine ให้เปลี่ยนเป็น deoxythymidine phosphates เพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์ DNA โดยปริมาณ thymidine kinase เพิ่มขึ้นในระยะ late G₁ phase จนถึงระยะ S phase และลดลงสู่ระดับปกติในระยะ M phase

นอกจากนี้ Transmission electron microscope ใช้เป็นการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในรายละเอียดขององค์ประกอบต่างๆในเซลล์ตับที่เกิดขึ้น จากการก่อพิษด้วยอะเซตามิโนเฟน และผลที่เกิดขึ้นจากฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการรักษาอาการพิษที่เกิดขึ้น เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนผลการศึกษาเกี่ยวกับ liver regeneration