

รายงานฉบับสมบูรณ์

การประเมินผลกระทบต่อสุขภาพจากการบริโภคสุราที่มี
สารพิษตกค้าง และปนเปื้อนใน Wistar Rat

(Health impact assessment from consumption of alcoholic beverage
as distributed toxic substances in Wistar rat)

ข้อตกลงเลขที่

51-ข-009

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร. สิริลักษณ์ ชัยจำรัส ดร. วิสาข์ สุพรรณไพบูลย์ ดร. ณัฐธิดา สกุลศักดิ์

ผศ.ดร. ธารทิพย์ บุญส่ง และปรางทิพย์ แก้วประสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์และคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

วรรณิ อังคศิริสรรพ สมพงศ์ เชิดอยู่ กมลพร รุ่งโรจน์จินดา

และวรรณิ ชัยเสนะบัณฑิต

สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล

วันเริ่มต้นโครงการ 1 พฤษภาคม 2551

วันสิ้นสุดโครงการ 30 เมษายน 2552

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.) สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.) และศูนย์วิจัยปัญหาสุรา (ศวส.) ปีงบประมาณ 2551 ร่วมด้วยคณะวิทยาศาสตร์ และคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร งบประมาณ รายได้ปี 2551 รวมทั้งสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้วิจัยขอขอบคุณที่ให้การ สนับสนุน จนโครงการสำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

ธ.ค. 2552

บทสรุปผู้บริหาร

การบริโภคสุรากล่อมผลเสียต่อสุขภาพ สาเหตุมาจากพิษของสารเอทิลแอลกอฮอล์เอง และสารเมทาบอลิท์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตสุรา ได้แก่ อะซีทัลดีไฮด์ ฟอรั่มัลดีไฮด์ และเมทานอล เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนสารพิษ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดผลร้ายต่อสุขภาพมากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อทดสอบผลกระทบต่อสุขภาพแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic) ระยะเวลา 90 วัน และแบบเรื้อรัง (Chronic) ระยะเวลา 180 วัน จากการได้รับแอลกอฮอล์ (gavage) ในหนูวัยรุ่นเพศผู้ Wistar อายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 162 ตัว แบ่งเป็น 9 กลุ่ม เรียงกลุ่มตามปริมาณสารพิษที่ได้รับจากมากไปหาน้อย (ทุกวัน, 4 วันต่อสัปดาห์ และ 1 วันต่อสัปดาห์) โดยให้หนูได้รับแอลกอฮอล์ที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol) ซึ่งมีส่วนผสมของสารพิษ และการให้สุราจริงที่ตรวจพบว่ามี Acetaldehyde สูงสุด 2 ยี่ห้อ เมื่อสิ้นสุดวันที่ 90 และ 180 ทำให้หนูตายด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ก่อนเก็บซึ่มเพื่อตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก และเก็บอวัยวะภายในเพื่อตรวจวิเคราะห์ความผิดปกติ พบความแตกต่างของน้ำหนักตับสัมพัทธ์ที่เพิ่มขึ้นทั้งกลุ่มการทดลองแบบกึ่งเรื้อรัง และแบบเรื้อรัง เป็นเครื่องบ่งชี้ว่าแอลกอฮอล์ส่งผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อตับเนื่องมาจากการสังเคราะห์และการสะสมไขมันในตับ ผลจากการตรวจทางเคมีคลินิกพบปริมาณเอนไซม์ AST, ALT และ ALP มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในหนูทุกกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์แบบกึ่งเรื้อรัง บ่งบอกถึงการถูกทำลายของตับจากสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในแอลกอฮอล์ แต่แสดงผลไม่แตกต่างในกลุ่มการทดลองแบบเรื้อรัง นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของกลูโคสของหนูกลุ่มที่ได้รับสุราจริง 2 ยี่ห้อ มีค่าสูงสุด ทั้งในกลุ่มการทดลองแบบกึ่งเรื้อรัง และแบบเรื้อรัง ซึ่งคาดว่ามีความโน้มของการเกิดโรคเบาหวาน ในกลุ่มการทดลองแบบเรื้อรังจะพบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มน้อย ถ้าเปรียบเทียบกลุ่มที่ได้รับสารพิษเหมือนกัน ได้แก่ ethanol+acetaldehyde+methanol+formaldehyde แต่ปริมาณความถี่ที่ได้รับต่างกันคือ กลุ่ม 1, 6 และ 7 (เรียงจากมากไปน้อย) จะไม่พบความแตกต่างของค่าเคมีคลินิก ส่วนกลุ่ม 2 และ 3 ที่ได้รับสาร ethanol+acetadehyde มีความเข้มข้นของ acetaldehyde สูงสุด และปานกลางตามลำดับ พบความแตกต่างของ glucose มีระดับสูงกว่ามากแต่ยังน้อยกว่ากลุ่ม 8 (positive control; ethanol) ถ้าเปรียบเทียบความแตกต่างกับกลุ่มอื่นเป็นคู่ พบว่ามีความแตกต่างของค่าเคมีคลินิกหลายค่า เช่น glucose, crea, chol, trig, tpr, alb ส่วนกลุ่ม 1 และ 2 ที่ได้รับปริมาณ acetaldehyde สูงสุด พบว่ามีค่า ua สูงกว่ากลุ่ม 9 (negative control; water) สามารถบ่งชี้ถึงภาวะของไตผิดปกติ โดยกลุ่มที่ 1 พบค่า crea สูงร่วมด้วยแสดงถึงแนวโน้มของภาวะไตล้มเหลว แต่ยังไม่พบอาการทางตับที่ชัดเจน อาจเป็นเพราะอยู่ในภาวะของ recovery ของตับ ทำให้ค่าเอนไซม์ไม่แตกต่างรวมทั้งค่า total bilirubin

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมในตับพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสุราจริงที่มี acetaldehyde สูงสุด และกลุ่มที่ได้รับ 35% ethanol (v/v) แบบเรื้อรัง มีอัตราส่วนของน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับน้ำกลั่น นอกจากนี้ยังพบว่าหนูที่ได้รับสุราจริงทั้งสองยี่ห้อ (แม่โขง และ Black label) มีปริมาณคอเลสเตอรอลในตับสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) และ

ชนิดของไขมันที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดไขมันที่ได้จากชิ้นส่วนตับหนูโดยเทคนิค TLC พบว่ามีไขมันชนิด ไตรกลีเซอไรด์, กรดไขมันโอเลอิก และ คอเลสเตอรอล เป็นต้น

ผลการวิเคราะห์พยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับการก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง พบว่าทุกกลุ่มของเซลล์ตับที่ได้แอลกอฮอล์มีลักษณะบวม ซึ่งแสดงถึงการได้รับบาดเจ็บ และเกิดการอักเสบของเซลล์ตับ ในกลุ่มที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษทุกวัน จะมีปริมาณเซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บมากกว่ากลุ่มที่ได้รับความถี่ที่น้อยกว่า ส่วนของการก่อพิษแบบเรื้อรัง พบว่ามีการสะสมของโครงสร้างถุงน้ำกระจายทั่วไปทั้งในและนอกเซลล์ตับ ซึ่งแสดงถึงการอักเสบที่ลุกลามไปทั่วทั้งตับ อีกทั้งในกลุ่มที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษทุกวัน และได้รับสุราจริงทั้งสองชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์มีลักษณะที่บ่งบอกถึงการสูญเสียสภาพการทำงาน หรือตายของเซลล์ตับอีกด้วย

ส่วนการตรวจสอบปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหนูทดลอง ได้แก่ ความเข้มข้นของสเปิร์ม และความสามารถในการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม พบว่าปริมาณสเปิร์มลดลงจากกลุ่มควบคุม ในทุกกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ทั้งแบบกึ่งเรื้อรัง และแบบเรื้อรัง นอกจากนี้ความสามารถในการเคลื่อนที่ของสเปิร์มช้าลง เนื่องจากมีจำนวนร้อยละของสเปิร์มที่ผิดปกติสูงกว่ากลุ่มควบคุม

คำสำคัญ: เครื่องดื่มแอลกอฮอล์, อะซีทัลดีไฮด์, การก่อพิษแบบกึ่งเรื้อรัง, การก่อพิษแบบเรื้อรัง, การวิเคราะห์เซลล์สืบพันธุ์

Executive summary

Alcohol consumption causes health effects result from ethyl alcohol itself and also its metabolite, acetaldehyde. Including, the production of alcoholic beverages contaminated with toxic substance such as acetaldehyde, formaldehyde and methanol should be concerned about their combined effects. This study was aimed to assess the sub-chronic and chronic health effects of alcohol intake at early age in male Wistar rats (5 weeks of age). The amount of 162 rats were divided into 9 groups and were gavaged with the artificial alcohol mixed with toxic substances sequentially in different feeding patterns, heavy drinker (daily), heavier drinker (4 times a week) and light drinker (once a week), and treated with 2 commercial alcoholic beverages having highest acetaldehyde concentration. The survival decreased of $12.5\pm 16.5\%$ after the experiment was terminated at day 90 and 180 to investigate chemical clinic. Results showed that increased significantly ($p\leq 0.05$) levels of AST, ALT and ALP, swelled hepatocytes, and higher lipid accumulation in liver were found in all alcohol feeding groups compared to control group indicating the effects to liver tissue. Glucose in serum were detected the highest level in the treated group with 2 commercial alcoholic beverages evaluating to trend diabetes in further. Significant decreases in fertility parameters, less sperm concentration ($24.7\pm 16.6\%$) and higher percentage of abnormally-motile sperm were found in all alcohol treatment groups ($p\leq 0.01$).

The chronic health effects of alcohol intake after the experiment was terminated at day 180 to investigate chemical clinic. Results showed that increased significantly ($p < 0.05$) levels of GLU, CREA ALB and relative liver weight, and liver section were found higher lipid accumulation in liver. In addition, semen analysis on sperm concentration was reduced significantly ($p < 0.01$) and the motility that shown abnormal forward movement in a certain amount of semen.

Key words; *alcoholic beverages, acetaldehyde, sub-chronic, chronic, semen analysis*

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทสรุปผู้บริหาร	ii
Executive summary	iv
สารบัญ	v
สารบัญตาราง	vi
สารบัญรูป	viii
1. บทนำ	1-4
1.1 ความสำคัญ ที่มา และปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	4
1.3 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)	4
2. อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	11-16
2.1 หนูทดลอง (Wistar rate)	11
2.2 การศึกษาระยะที่ 1	
2.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก	12
2.2.2 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อเยื่อตับ	12
2.3 การศึกษาระยะที่ 2	
2.3.1 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม	14
2.3.2 วิเคราะห์พยาธิสภาพของตับ (Liver)	15
2.3.3 วิเคราะห์พยาธิสภาพของเซลล์สืบพันธุ์ (Semen analysis) และโครงสร้างของอวัยวะสร้างสเปิร์ม (Sperm) คือ อัณฑะ (Testis)	16
3. ผลการทดลอง	17-59
3.1 ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic)	17
3.2 ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (Chronic)	22
3.3 สถิติการเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Sub-chronic	31
3.4 สถิติการเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Chronic	46
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	60-62
5. สรุปผลการทดลอง	63
6. เอกสารอ้างอิง	64-68
7. ภาคผนวก	69-84

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	รูปแบบการทดลองและชนิดตัวอย่างทดสอบในแต่ละกลุ่มการทดลอง เรียงกลุ่มตามปริมาณสารพิษที่ได้รับจากมากไปหาน้อย	11
2.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ sub-chronic	31
3.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic	33
4.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 3,5, 8, 9 ของ Sub-chronic	34
5.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	35
6.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	36
7.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	37
8.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	38
9.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALT ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	39
10.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	40
11.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Sub-chronic	41
12.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Sub-chronic	42
13.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic	43
14.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	44

15.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	45
16.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic	46
17.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic	47
18.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic	49
19.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์ม ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic	50
20.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic	51
21.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic	52
22.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic	53
23.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	54
24.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	55
25.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	56
26.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	56
27.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	57
28.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ TG ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	57
29.	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคอเลสเตอรอลในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic	58
30.	ชนิดของสารที่ถูกตรวจพบทางเคมีคลินิกที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง	63

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. เมตทาบอสิสมของแอลกอฮอล์ในตับ	2
2. แผนผังขั้นตอนการย้อมสี Acridine orange ก่อนนำไปส่งด้วยกล้องฟลูออเรสเซน	15
3. จำนวนร้อยละการรอดชีวิต (Survival) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	17
4. น้ำหนักตับสัมพัทธ์ (สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	18
5. ปริมาณเอนไซม์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	18
6. ระดับกลูโคสในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	19
7. จำนวนความเข้มข้นของเซลล์สีบพันธุ์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	20
8. ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์สีบพันธุ์ของหนูทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษ ที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	20
9. Ballooning hepatocyte (black arrow) ที่พบในตับของสัตว์ทดลอง กลุ่ม 1-8 ที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	21
10. เปรียบเทียบปริมาณ ballooning hepatocyte(black arrow) ในตับของสัตว์ทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง	22
11. จำนวนร้อยละการรอดชีวิต (Survival) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (Chronic)	22
12. น้ำหนักตับสัมพัทธ์ (สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	23
13. ปริมาณเอนไซม์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	23
14. ระดับกลูโคสในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	24
15. ปริมาณ albumin ในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุรา ร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	24
16. แสดงกราฟเปรียบเทียบน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (กราฟแท่ง)	25

17.	แสดงปริมาณคอเลสเตอรอล ($\mu\text{g/ml}$) จากชิ้นส่วนตับหนูทดลอง	26
18.	แสดงตัวอย่างผลการจำแนกชนิดของไขมันกลุ่ม Neutral lipids (A) และ Polar lipids (B) ด้วยเทคนิค TLC	27
19.	จำนวนความเข้มข้นของเซลล์สีบัพันธ์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	27
20.	ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์สีบัพันธ์ของหนูทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษ ที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	28
21.	แสดงกลุ่ม Counsilman's bodies และ White blood cells ที่อยู่บริเวณ Perivascular area ในตับของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	29
22.	แสดงโครงสร้าง vacuolation ที่พบแทรกอยู่ทั่วไปใน connective tissue ของเนื้อเยื่อตับ ซึ่งพบในตับของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษ ที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง และยังพบเซลล์ balloon hepacyte เช่นเดียวกับกลุ่มกึ่งเรื้อรังอีกด้วย	29
23.	ไขมันในเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสุราจริง A (กลุ่ม 4) และ B (กลุ่ม 5)	30
24.	ไขมันในเนื้อเยื่อตับของหนูทดลอง A (กลุ่ม 8 positive control) และ B (กลุ่ม 9 negative control)	30
25.	ปริมาณ cholesterol จากเซลล์ตับของหนูทดลองที่ได้รับสุราจริงที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง	30
26.	สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatininie ในกลุ่มการทดลอง 1, 2, 3, 4, 5 ของ Sub-chronic	32
27.	สถิติการเปรียบเทียบค่า Blodd glucose ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Sub-chronic	33
28.	สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic	34
29.	สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	35
30.	สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	36
31.	สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic	37
32.	สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatinine ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9	38

ของ Sub-chronic		
33. สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9		39
ของ Sub-chronic		
34. สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALT ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9		40
ของ Sub-chronic		
35. สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9		41
ของ Sub-chronic		
36. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9		42
ของ Sub-chronic		
37. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9		43
ของ Sub-chronic		
38. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 4, 8, 9		44
ของ Sub-chronic		
39. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9		45
ของ Sub-chronic		
40. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9		46
ของ Sub-chronic		
41. สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9		47
ของ Chronic		
42. สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic		48
43. สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatinine ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic		49
44. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic		50
45. สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9		51
ของ Chronic		
46. สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Chronic		53
47. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Chronic		54
48. สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9		55
ของ Chronic		
49. สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic		55
50. สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic		57
51. สถิติการเปรียบเทียบ TG ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic		58
52. สถิติการเปรียบเทียบคอเลสเตอรอลในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic		59

1. บทนำ

1.1. ความสำคัญ ที่มา และปัญหา

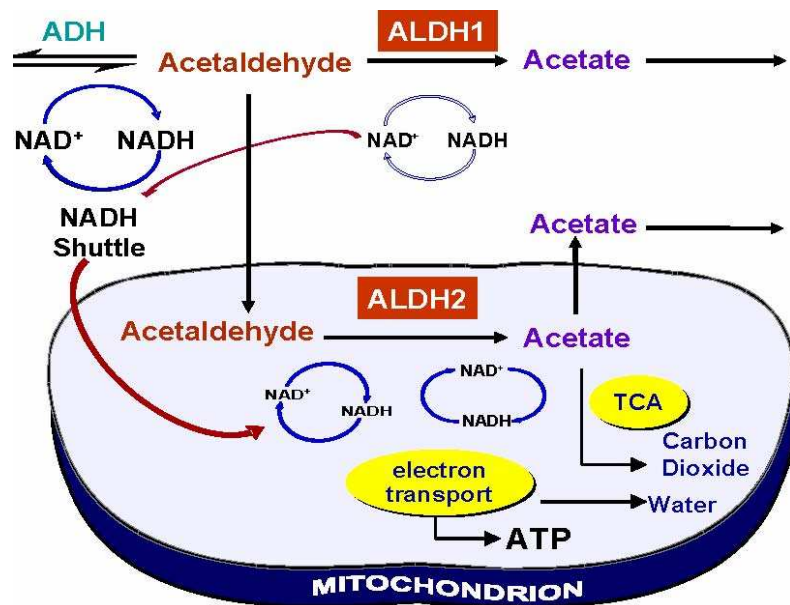
สุราเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมจากประชาชนไทยเป็นอย่างมาก โดยมีการบริโภคอย่างแพร่หลาย ทั้งสุราแช่และสุรากลั่น ในอดีตผลิตภัณฑ์สุราชนิดต่างๆ ผลิตโดยโรงงานขนาดใหญ่ที่มีมาตรฐานการผลิตและมีการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุราอย่างเข้มงวด สืบเนื่องจากประกาศของกระทรวงการคลังเรื่องวิธีการบริหารงานสุรา พ.ศ. 2543 และเพิ่มเติมฉบับที่ 2, 3 และ 4 ซึ่งเปิดโอกาสให้กลุ่มเกษตรกร สหกรณ์การเกษตร และนิติบุคคลต่างๆ สามารถขออนุญาตจดทะเบียนผลิตสุราแช่ เช่น ไวน์ผลไม้ สาโท อุ กะแช่ น้ำตาลเมา และสุรากลั่นประเภทสุราขาวได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้รวมเรียกว่า สุราชุมชน ทำให้มีผู้ประกอบการรายย่อยผลิตสุราออกจำหน่ายเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาตามมาในเรื่องการควบคุมคุณภาพการผลิต เนื่องจากผู้ผลิตระดับชุมชนส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจในด้านสุขลักษณะของกระบวนการผลิตที่ถูกต้อง สุราที่ผลิตอาจไม่ได้คุณภาพตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 2089 – 2544) ที่กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงการคลังดังกล่าว ซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคทั้งในระยะสั้น และระยะยาว เพราะนอกจากการปนเปื้อนของสารพิษที่ติดมากับวัตถุดิบแล้ว ยังมีสารพิษที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักและการกลั่นสุราที่ไม่สมบูรณ์ด้วย ตัวอย่างเช่น เอทิล-แอลกอฮอล์ (ethyl-alcohol), เมทิลแอลกอฮอล์ (methyl-alcohol), ฟูเซลออยล์ (fusel oil), เฟอฟูรัล (ferfural), อัลดีไฮด์ (aldehyde), เอสเทอร์ (ester) กลุ่มของสารโลหะหนัก ได้แก่ ดีบุก ตะกั่ว เหล็ก และสารหนู กลุ่มของสารเจือปน ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก ซึ่งสารเหล่านี้หากมีปะปนในสุราเกินปริมาณที่กำหนด อาจทำให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายได้ เช่น มีผลต่อระบบประสาท ระบบหายใจ หรือเป็นสารก่อมะเร็ง เป็นต้น นอกจากนี้ในส่วนของผลิตภัณฑ์หลักก็ถือเป็นสารพิษเช่นกัน ยิ่งดื่มในปริมาณมากจะก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงตามมาทั้งต่อตนเองและผู้คนรอบข้าง

การดื่มสุราทำให้เกิดปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขโดยตรง และส่งผลต่อสังคมทั่วไป ปัญหาจากการดื่มสุราอาจเกิดขึ้นได้หลังจากการดื่มเพียงครั้งเดียว ดื่มหลายครั้ง หรือในผู้ที่เสพติดสุราเรื้อรังก็ได้ ปัญหาเหล่านี้ไม่ได้มีผลเฉพาะกับตัวผู้ดื่มเท่านั้น แต่ยังมีผลกระทบต่อผู้อื่นอีกด้วย เช่น ครอบครัว เพื่อนฝูง หรือบุคคลใกล้ชิด ผลกระทบเหล่านี้รวมไปถึงอุบัติเหตุต่าง ๆ เช่น อุบัติเหตุทางการจราจรบนท้องถนน อุบัติเหตุในการทำงาน ปัญหาความรุนแรงในครอบครัว ปัญหาการเงินและปัญหาในการทำงาน เช่น ทำให้ขาดงาน มาทำงานสาย หรือทำงานผิดพลาด ไม่มีประสิทธิภาพนอกจากนั้นการดื่มสุรายังมีผลต่อสุขภาพของผู้ดื่มโดยตรงด้วย เช่น ทำให้เป็นโรคตับและโรคทางเดินอาหาร โรคเกี่ยวกับระบบประสาทและสมอง และเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งที่อวัยวะต่าง ๆ เป็นต้น (สาวิตรี อัมฉางค์กรชัย และสุวรรณา อรุณพงศ์ไพศาล, 2543)

โดยเฉพาะกลุ่มผู้บริโภคสุราที่ผลิตขึ้นอย่างผิดกฎหมายหรือที่เรียกทั่วไปว่า “เหล้าเถื่อน” เพราะนอกจากจะได้รับอันตรายจากพิษของสุราโดยตรงแล้ว ผู้ดื่มยังอาจได้รับวัตถุที่มีพิษอื่น ๆ ที่ปลอมปนอยู่ในสุราเถื่อนนั้น ซึ่งถือว่าเป็นอันตรายอย่างยิ่ง สารพิษต่าง ๆ ที่มักนิยมนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตสุราได้แก่ สารเคมีที่ใช้กำจัด

วิซพีช (ยาฆ่าหญ้า) สารเคมีที่ใช้กำจัดแมลง (ยาฆ่าแมลง) และผงซักฟอก เป็นต้น สารพิษปนเปื้อนเหล่านี้ก่อให้เกิดอาการต่าง ๆ ที่เป็นพิษตามมา เช่น ทำให้เกิดอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน อวัยวะภายในร่างกาย ได้แก่ ปอดและไตจะถูกทำลาย ทำให้หายใจไม่ออกและเสียชีวิตในที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าการบริโภคแอลกอฮอล์ที่ผิดประเภท คือ เมทิลแอลกอฮอล์ อาจจะทำให้ผู้บริโภคตาบอดและเสียชีวิตได้ นอกจากนี้การดื่มสุรานาน ๆ จะทำให้เป็นโรคพิษสุราเรื้อรังและกลายเป็นโรคจิตผิดปกติในที่สุด สำหรับพฤติกรรมกรรมการเสพติดแอลกอฮอล์นั้น อาจจะเนื่องมาจากกรรมพันธุ์ บุคลิกภาพส่วนบุคคล การพัฒนาการที่ไม่เหมาะสม การเรียนรู้ที่ผิด ๆ และการได้รับแรงเสริมจากภาวะการเรียนรู้นั้น หรือการเอาแบบอย่างจากคนในชุมชน วัฒนธรรม และประเพณีในท้องถิ่นบางแห่งมีการส่งเสริมให้ดื่มสุราหรือแอลกอฮอล์ (สุวณีย์ เกียวกิ่งแก้ว, 2545)

ปัจจุบันการเสพติดสุราเป็นปัญหาที่ทวีความรุนแรงขึ้นอย่างมาก ซึ่งอาจเนื่องมาจากสุราเป็นสิ่งที่ถูกใช้มาเป็นเวลานานจากความเชื่อในกลุ่มนักดื่มบางกลุ่มว่าเป็นยารักษาโรค ยาอายุวัฒนะ ทำให้อารมณ์แจ่มใส ฮึกเหิม ใจกล้า และยังลดความเครียดที่เกิดจากปัญหาในชีวิตประจำวัน นอกจากนี้สุรายังถูกใช้เป็นเครื่องดื่มสำหรับงานเลี้ยงในสังคมทั่วไป และในเทศกาลต่าง ๆ (พันธุ์นภา กิตติรัตน์ไพบูลย์, 2547) จากการที่สุราเป็นสิ่งที่ไม่แพง ราคาถูก มาตรการควบคุมยังไม่เข้มงวดและมีประสิทธิภาพเพียงพอ ทำให้ผู้ที่เคยมีพฤติกรรมเสพยาบ้าหันมาเสพยาสุราเป็นตัวทดแทน (กรมสุขภาพจิต, 2547) จึงพบสถิติคนไทยมีอัตราการเสพยาสุราเป็นอันดับที่ 5 ของโลก เป็นอันดับหนึ่งของทวีปเอเชีย โดยพบว่า คนไทยนิยมบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากถึง 15.3 ล้านคน ในจำนวนนี้เป็นผู้ชาย 13 ล้านคน ที่เหลือเป็นผู้หญิง ซึ่งทุก ๆ ปี จะมีผู้บริโภครายใหม่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ถึงปีละประมาณ 2 แสนคน (กรุงเทพธุรกิจ, 2546)



รูปที่ 1 เมตาบอลิซึมของแอลกอฮอล์ในตับ

นอกจากนี้พฤติกรรมการเสพติดสุรายังส่งผลเสียต่อผู้เสพติดสุราเมื่อหยุดดื่ม หรือลดปริมาณการดื่มลง ทำให้มีอาการไม่สุขสบายอย่างรุนแรงจากภาวะการขาดสุรา (alcohol withdrawal syndrome) ซึ่งลักษณะของการเกิดอาการดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการลดลงของปริมาณสุราในร่างกาย (มาโนช หล่อตระกูล, 2541)

ในกระบวนการหมัก และกระบวนการกลั่นก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญ หากกระบวนการดำเนินไปไม่สมบูรณ์ จะทำให้เกิดสาร acetaldehyde, methyl alcohol หรือ fusel oil ปนเปื้อนอยู่มาก สารเหล่านี้จะมีฤทธิ์กดประสาท หากดื่มในปริมาณมากจะเป็นอันตรายต่อร่างกาย

การศึกษาพยาธิสภาพของโครงสร้างตับในผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่เป็นโรคตับเรื้อรัง (Chronic Liver Disease) จะพบ Collagenous scar เกิดขึ้นเป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อของตับ (Liver Parenchyma) ซึ่งเรียกว่า Liver Fibrosis (Bataller R and Brenner DA 2005) โดยหากมีการสะสมของ Liver fibrosis จะมีผลทำให้ระบบท่อต่างๆ ภายในตับ เช่น Portal Arterial และ Biliary systems เกิดการอุดตัน ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งของภาวะ Portal Hypertension และตับแข็ง (Liver Cirrhosis), (Schuppon D and Afdhal NH 2008)

นอกจากนี้การวินิจฉัยพยาธิสภาพของเซลล์ตับ (Hepatocyte) และโครงสร้างของตับ (Liver biopsy) ถือเป็นอีกวิธีที่ใช้ในการวินิจฉัยพยาธิสภาพของตับได้เป็นอย่างดี เนื่องจากสามารถมองเห็นความผิดปกติของเซลล์ตั้งแต่ผู้ป่วยยังไม่มีอาการแสดง (asymptomatic patient) เช่น ใน asymptomatic patient บางราย ที่ตรวจพบ abnormal liver function test เมื่อทำ Liver biopsy ก็อาจจะพบว่ามีไขมันสะสมอยู่ใน Hepatocyte อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งเรียกว่า Fatty liver ถ้าหากเป็นระยะรุนแรง (Severe fatty liver) จะพบว่าไขมันดังกล่าวจะมีการกระจายแทรกอยู่ใน Parenchyma liver เป็นจำนวนมากอีกด้วย (Review by an international group 1981)

ภาวะ Alcoholic Hepatitis ถือเป็นโรคที่เกี่ยวกับตับ (Liver disease) อีกโรคอันหนึ่งที่พบบ่อยในผู้ที่ดื่ม Alcohol (alcohol consumption) นอกจากการวินิจฉัยโดยการตรวจร่างกาย (Physical examination) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory test) แล้ว พบว่าการตรวจทาง Liver biopsy ก็มีความจำเป็นและเป็นประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยโรคดังกล่าว โดยส่วนใหญ่มักพบว่า Hepatocyte มีการอักเสบ (inflammation) บวม (swelling) ซึ่งในภาวะที่โรคมีความรุนแรง ก็อาจพบมีการตายของเซลล์ (necrosis), (Maddrey WC 1988)

ดังนั้นพฤติกรรมการบริโภคสุราที่มีความถี่ในการบริโภคแตกต่างกัน จากการดื่มสุราที่จัดทำให้มีการปนเปื้อนของสารพิษที่ตรวจพบได้สูงสุด ร่วมกับสุราจริงที่ตรวจพบสารประเภท aldehyde โดยเฉพาะ acetaldehyde ซึ่งถูกตรวจพบในสุราที่วางจำหน่ายส่วนใหญ่มีค่าเกินมาตรฐาน 160 mg/L ผลการทดสอบในหนูทดลองสามารถคาดการณ์ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นในประชากรที่ดื่มสุราได้ เป็นการตระหนักถึงพิษภัยของการดื่มสุรา และเพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีป้องกันนักดื่มหน้าใหม่ต่อไป

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1) เพื่อทราบการถูกทำลายของตับจากการวัดระดับเอนไซม์ AST, ALT และ ALP ในซีรัมของหนูที่ได้รับสุราร่วมกับสารพิษปนเปื้อนแบบกึ่งเรื้อรัง และแบบเรื้อรัง
- 2) เพื่อทราบแนวโน้มของการเกิดโรคจากการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ในซีรัมของหนูที่ได้รับสุราร่วมกับสารพิษปนเปื้อนแบบกึ่งเรื้อรัง และแบบเรื้อรัง
- 3) เพื่อทราบผลการเกิดพิษต่อสารพันธุกรรม (genotoxicity) จากการตรวจพบความถี่ของ micronucleus ในเซลล์เม็ดเลือดแดง
- 4) เพื่อทราบความผิดปกติของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์
- 5) เพื่อทราบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ

1.3. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)

ในกระบวนการหมักจะพบสารในกลุ่ม acetaldehyde, ethyl acetate และ amyl alcohols เป็นหลัก ซึ่งอะซีตัลดีไฮด์เกิดจากการออกซิเดชันของเอทานอลในระหว่างการกลั่น และการบ่มและจะพบอัลดีไฮด์อีกกลุ่มหนึ่งคือ อะโรมาติกอัลดีไฮด์ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการกลั่นและเก็บบ่มบรันดีในถังไม้โอ๊ค และจะมีผลต่อกลิ่นรสบรันดี โดยจะให้กลิ่นของ เหล้าองุ่น และกลิ่น “Nutty” (Apostolopoulou, 2005)

แอลกอฮอล์ที่ผลิตจากธัญพืช หรือผลไม้บางครั้งจะพบสารพิษประเภทยาฆ่าแมลง หรือสารพิษในกลุ่ม aflatoxin B1 และโลหะหนักสังกะสีปนเปื้อนอยู่ (Nikander, 1991) นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกยังตรวจพบสารที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพปนเปื้อนอยู่ในสุรากลั่น เช่น fusel alcohol และเป็น carcinogens ถ้าหากดื่มเป็นประจำทุกวัน

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ที่ไม่สมบูรณ์ จะทำให้มีปริมาณ acetaldehyde สูง ซึ่งถ้าอยู่ในรูป formaldehyde สารตัวนี้จะไปกดประสาทผู้ดื่ม นอกจากนี้ acetaldehyde เป็นสารส่วนใหญ่ของกระบวนการสันดาปเอทานอลซึ่งเป็นสารพิษ จากการสังเกตพฤติกรรมของหนูทดลองที่เปลี่ยนไปเมื่อได้รับสารนี้ พบว่าปริมาณระดับความเข้มข้นของ noradrenaline และ serotonin จะสูงขึ้นหลังจากมีการให้สาร acetaldehyde ที่แตกต่างกัน (Javier Franco-Perez, et.al., 2006) และในกระบวนการกลั่นหากดำเนินไปไม่สมบูรณ์ จะทำให้ปริมาณ fusel oil ปนเปื้อนอยู่ในสุรากลั่น ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้ดื่มเช่นกัน

ในกระบวนการกลั่นวัสดุทำหมักกลั่นมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบต่างๆในเครื่องต้มแอลกอฮอล์เช่น ไวน์ ดังนั้นการกลั่นไวน์ ผลไม้ที่ผลิตได้ ควรจะมีการทดสอบผลของวัสดุที่ใช้ทำหมักกลั่นต่อองค์ประกอบของบรันดีที่กลั่น เพราะไวน์ผลไม้แต่ละชนิดมีสารประกอบที่เป็นองค์ประกอบในไวน์ที่ต่างกัน ในการกลั่นเครื่องต้มแอลกอฮอล์นั้นเมื่อมีการกลั่นโดยใช้วัสดุทำหมักกลั่นที่เป็นเหล็กกล้าไร้สนิมหรือแก้วจะให้ผลของการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่าเครื่องต้มแอลกอฮอล์ที่กลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำจากทองแดง การศึกษาผลของการผลิต Cachacas ซึ่งเป็นเครื่องต้มแอลกอฮอล์ที่ได้รับความนิยมในประเทศบราซิลโดยเปรียบเทียบทาง

ประสาทสัมผัสของ Cachacas จากการกลั่นโดยใช้หม้อกลั่นทองแดงและหม้อกลั่นเหล็กกล้าไร้สนิม ผลที่ได้ผู้ทดสอบชิมให้ความชอบใน Cachacas ที่กลั่นโดยใช้หม้อกลั่นทองแดงมากกว่า Cachacas ที่กลั่นโดยหม้อกลั่นเหล็กกล้าไร้สนิม (Bettin, et.al., 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของทองแดง เหล็กกล้าไร้สนิม และแก้วที่นำมาใช้เป็นวัสดุทำหม้อกลั่นต่อคุณภาพของบรันดีที่ผลิตจากไวน์มะขาม สรุปว่าการใช้หม้อกลั่นทองแดง เหล็กกล้าไร้สนิม และแก้วเพื่อนำมาทำการกลั่นไวน์มะขามจะต้องประกอบด้วยสารที่อยู่ในบรันดีแตกต่างกัน โดยบรันดีที่กลั่นจากหม้อทองแดง มีองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ดีได้แก่ ปริมาณของ อะซีตัลดีไฮด์ เอทิลอะซิเตท และ ฟูเซลล์ออย สูงกว่าการกลั่นโดยใช้สแตนเลส สตีล และแก้ว (ชาญณรงค์, 2543)

เนื่องจากมีผู้นิยมดื่มแอลกอฮอล์เป็นจำนวนมาก แต่สุราจัดเป็นเครื่องดื่มที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย และยังมีโอกาสได้รับอันตรายเพิ่มจากสารปนเปื้อนในสุราได้อีก ได้แก่ เมทานอล (methanol) อะเซตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) แอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohols) ฟูเซลออยล์ (fusel oil) เป็นต้น โดยที่สารเหล่านี้จะเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตสุราเช่น การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ เมทานอล อะเซตัลดีไฮด์ และ เอทิลอะซิเตท ซึ่งปนเปื้อนในสุราเช่น เพื่อใช้เป็นแนวทางปรับปรุงและควบคุมขั้นตอนต่างๆในการผลิตให้ถูกต้อง เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพมาตรฐานต่อผู้บริโภค (ยุพา ศรีนาถ, 2531)

เมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เกิดจากการหมักแอลกอฮอล์แต่เป็นผลมาจาก การไฮโดรไลซิสของ Methylate pectin ที่พบในผลไม้ โดยเอนไซม์ Pectin methylesterase (PE) (Hernandez-Gomez, et.al., 2003) เมทานอลในบรันดีจะพบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป ตามชนิดและปริมาณเพคตินในผลไม้แต่ละชนิด โดยทั่วไปจะพบ 0.1188 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก(Amerine, et.al., 1980) ปัจจุบันยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าเมทานอลมีบทบาททางประสาทสัมผัสอย่างไรแต่เมื่อมีปริมาณมากจะเป็นอันตรายกับร่างกายโดยเมทานอลจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดเป็นสารฟอร์มัลดีไฮด์และกรดฟอร์มิกที่เป็นอันตราย ทั้งนี้เมทานอลจะมีผลต่อระบบประสาทโดยตรงจึงต้องมีการควบคุมให้มีปริมาณเหมาะสมในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

ไฮเออร์แอลกอฮอล์หรือฟูเซลออย (fusel oil) เป็นแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 อะตอม ปริมาณไฮเออร์แอลกอฮอล์ที่พบในบรันดีปกติแล้วจะพบไม่เกิน 0.3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ไฮเออร์แอลกอฮอล์ประกอบไปด้วย ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ แอททอพเอมิแอลกอฮอล์ 1-โพรพานอล 2-โพรพานอล และอื่นๆ โดยไฮเออร์แอลกอฮอล์จะมีผลต่อกลิ่นรสของไวน์และบรันดี โดยทั่วไปปริมาณของไอโซเอมิลแอลกอฮอล์จะมีมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของไฮเออร์แอลกอฮอล์ทั้งหมด (Zoecklein, et.al., 1995) โดยปัจจัยที่มีผลในการส่งเสริมการเกิดไฮเออร์แอลกอฮอล์ อันได้แก่ สภาวะในการหมัก ชนิดของวัตถุดิบ ระดับออกซิเจน และเทคนิค และวิธีที่ใช้ในการกลั่น โดยแอลกอฮอล์ในส่วนนี้จะพบปริมาณสูงในส่วนแรกของการกลั่นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Silva and Malcata, 1998) เมื่อพบในปริมาณมากจะมีความเป็นพิษต่อร่างกาย

แอลกอฮอล์เป็นสารที่มีพิษ ส่วนใหญ่ส่งผลถึงหลายๆ ระบบ หรือหลายๆ อวัยวะที่อยู่ในร่างกาย และมีความเชื่อมโยงสัมพันธ์กับความผิดปกติที่เกิดขึ้นมากกว่า 60 แบบ เช่น โรคจิตหลอน / ประสาทหลอน (Alcoholic hallucinosis) โรคนอนไม่หลับ (Insomnia) โรคประสาทเสื่อมจากสุรา (Alcohol polyneuropathy) โรคบุคลิกภาพแปรปรวนแบบหวาดระแวงเพราะพิษสุรา (Alcoholic paranoid) โรคตับอักเสบ (Fatty liver

Hepatitis) โรคตับแข็งจากสุรา (Alcohol liver cirrhosis) มะเร็งตับ (Liver cancer) โรคกระเพาะอาหารอักเสบหรือโรคกระเพาะอักเสบจากสุรา(Alcohol gastritis) โรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน (Pancreatitis / Acute) โรคติดสุรา (Alcohol -dependence syndrome) โรคใช้สุราเกินขนาด (Alcohol abuse) อาการเอทานอลเป็นพิษ(Ethanol and Methanol toxicity) เป็นต้น ทั้งที่ได้รับแอลกอฮอล์แบบระยะสั้น และระยะยาว (Rehm, 2004) หลายๆ เชื้อโนโซทำให้มีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นร่วมกับปริมาณการบริโภคแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น

สุราส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกายทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) ซึ่งจะเกิดการเสียการควบคุมระบบกล้ามเนื้อ (muscular incoordination) (Sullivan, 1995) ระยะเวลาการตัดสินใจช้าลง สมรรถภาพการมองเห็นลดลง ขาดความยับยั้งชั่งใจ มีความกล้ามากขึ้น ชับรดด้วยความประมาท มึนงง (stuporous) ตรวจพบระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ การหายใจและการเต้นของหัวใจถูกกด (Johnson, 1995) ประสาทสัมผัสต่าง ๆ จะเสียไป ไม่รู้สึกตัว (unconsciousness) การหายใจช้าลง และอาจเสียชีวิตได้ (ปริทรรศ ศิลปกิจ และคณะ, 2542) และแบบเรื้อรัง ผู้ที่ดื่มสุราติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดการเป็นพิษต่ออวัยวะทุกส่วนของร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ดังนี้ เช่น

ผลต่อสมอง แอลกอฮอล์มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ประสาท (membranes of neuron) โดยไปเพิ่มความไม่มั่นคงต่อผนังเซลล์ จะทำให้คุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่ตัวรับสื่อประสาท สัมพันธ์กับช่องทางไหลเข้าออกของประจุไฟฟ้าบนผนังเซลล์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานเพิ่มขึ้นของ นิโคตินิก อะซิติลโคลีน (nicotinic acetylcholine) ซีโรโทนิน (serotonin), ตัวรับกาบ้าชนิดเอ (GABA type A receptors) และยับยั้งการทำงานของ กลูตาเมท รีเซปเตอร์ (glutamate receptors) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของประจุแคลเซียม (voltage-gated calcium channels) และตัวรับโปรตีนที่มาจับกับผนังเซลล์อื่น ๆ (membrane-bound function proteins) เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมในระยะสั้น ๆ และถ้าดื่มแอลกอฮอล์ไปนาน ๆ จะมีผลทำให้ผนังเซลล์เริ่มกรอบ และแข็ง ผลต่อการนอนหลับ พบว่า มีผลทำให้วงจรการนอนหลับเสียกล่าวคือ แอลกอฮอล์ลดวงจรการนอนระยะ REM (rapid eye movement) sleep และระยะหลับลึก (NREM stage 4) ทำให้วงจรการนอนขนาดเป็นช่วง ๆ (increased sleep fragmentation) เป็นผลทำให้หลับไม่สนิทหลับ ๆ ตื่น ๆ จนถึงนอนไม่หลับทั้งคืน

ผลต่อดับเนื่องจากตับเป็นแหล่งสังเคราะห์ที่สำคัญของแอลกอฮอล์ดังนั้น ตับจึงเป็นอวัยวะที่รับพิษของแอลกอฮอล์มากกว่าอวัยวะอื่น (Naegle and D'Avanzo, 2001) พิษของแอลกอฮอล์จะทำให้เกิดการสะสมไขมันและโปรตีนในตับนำไปสู่โรคตับเหลือง (fatty liver) ตับอักเสบเนื่องจากพิษของสุรา (alcoholic hepatitis) และตับแข็ง (cirrhosis)

การบริโภคแอลกอฮอล์มีผลกระทบต่ออวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ ระบบประสาท ตับอ่อน ไต หัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายที่สำคัญในการเผาผลาญแอลกอฮอล์ (Bunout 1999; Thurman et al., 1999) ซึ่งเป็นสารพิษที่ร่างกายไม่ต้องการ หากร่างกายได้รับแอลกอฮอล์ในปริมาณสูงแบบเฉียบพลัน (acute) หรือแบบเรื้อรัง (chronic) ก็จะทำให้เซลล์ตับถูกทำลาย ซึ่งพยาธิสภาพ

เริ่มแรกที่มีักพบในผู้ป่วยที่บริโภคแอลกอฮอล์ก็คือ การสะสมของไขมันในตับจนเกิดภาวะตับคั่งไขมัน (fatty liver หรือ steatosis) (Zhou et al., 2003) และเมื่อเซลล์ตับตายลงระดับหนึ่ง จะสามารถพัฒนาให้เกิดโรคร้ายแรงต่างๆ ต่อไปได้ เช่น ตับอักเสบ (hepatitis) การเกิดพังผืด (fibrosis) โรคตับแข็ง (liver cirrhosis) หรือแม้แต่วิทยาโรคมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) เป็นต้น การสูญเสียเซลล์ตับทุกเซลล์เป็นการสูญเสียที่ถาวรและไม่มีการสร้างขึ้นทดแทน ดังนั้นหากผู้ป่วยบริโภคแอลกอฮอล์เป็นเวลานานติดต่อกันแบบเรื้อรังก็อาจจะทำให้เซลล์ตับถูกทำลายมากขึ้น และโอกาสที่ผู้ป่วยจะเสียชีวิตก็ยิ่งมากขึ้น

ผลต่อระบบทางเดินอาหารแอลกอฮอล์จะทำให้มีการหลั่งฮอร์โมนแกสตริน (hormone gastrin) เพิ่มขึ้น ทำให้มีความเป็นกรดมากขึ้น เป็นสาเหตุของการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) โรคหลอดอาหารอักเสบ (esophagitis) กระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis) หลอดเลือดดำโป่งพองบริเวณหลอดอาหารส่วนปลาย (esophageal varices) โรคมะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer) โรคขาดวิตามินอย่างรุนแรง (serious vitamin deficiency) เช่น การขาดวิตามินบี 1 บี 12 โฟลิก ในอานีน (B1, B12, Folic acid, Niacin) โรคตับอ่อนอักเสบ (pancreatitis) เป็นต้น (ไพรัตน์ พฤษชาติคุณากร, 2542)

ผลต่อหัวใจและระบบการไหลเวียนโลหิต เกิดภาวะของโรคกล้ามเนื้อหัวใจ (alcohol heart failure) โดยจะทำให้กล้ามเนื้อหัวใจวมโต การเต้นของหัวใจผิดปกติอาจทำให้เกิดภาวะหัวใจวาย (congestive heart failure) เนื่องจากแอลกอฮอล์จะทำให้การสังเคราะห์ไขมันพวกไตรกลีเซอไรด์สูง และจะยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้สมรรถภาพการทำงานลดลง ความดันโลหิตสูง

ผลต่อต่อมไร้ท่อทำให้ฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นในเพศชาย ฮอร์โมนเทสโต-สเตอโรนจะต่ำลง แต่ฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้นทำให้อัณฑะฝ่อ (testicular atrophy) มีเต้านม (gynecomastia) ในเพศหญิงการทำงานของรังไข่จะล้มเหลว (ovarian failure) ผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง การขาดวิตามินบี 1 หรือ ไทอามีน (thiamin) ทำให้มีอาการสับสน (mental confusion) เดินเซ (truncal ataxia) มีอาการสมองฝ่อเพราะเหล้า (alcoholic dementia) มีอาการของสมองเสื่อม (dementia) คือสติปัญญาเสื่อมเกิดจากสมองบางส่วนถูกทำลายเพราะเหล้า หรือจากการขาดวิตามินบี 1 มีอาการทรงตัวไม่ได้ (ataxia) ตาแกว่ง (nystagmus) การพูดพิการ (speech impaired) โรคเหน็บชา (polyneuropathy) มีอาการชาที่ปลายประสาท

ผลต่อไตแอลกอฮอล์จะลดการผลิตฮอร์โมนแอนตี้ไดยูเรติก (antidiuretic hormone) ของต่อมพิทูอิทารี (pituitary) จะทำให้ร่างกายสูญเสียโซเดียมออกมามาก ร่างกายจะดูดน้ำเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดที่ละมาก ๆ อาจทำให้เกิดภาวะน้ำเป็นพิษได้ (ศูนย์บำบัดรักษา ยาเสพติดขอนแก่น, 2546)

ผลต่อทารกในครรภ์จะทำให้ทารกเจริญเติบโตช้า รูปร่างผิดปกติและพิการ (Naegle and D'Avanzo, 2001) ผลต่อสุขภาพจิตผลของแอลกอฮอล์สามารถก่อให้เกิดอาการทางจิตได้ เช่น อาการหูแว่ว ประสาทหลอน เป็นโรคจิตจากสุรา

ในผู้ที่ดื่มสุราร่างกายจะขาดวิตามินบีเนื่องจากร่างกายดูดซึมได้น้อยลง จึงมีการศึกษาในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ เกี่ยวกับผลของแอลกอฮอล์และการได้รับวิตามินบี 5 ด้วยนั้น พบว่าการได้รับกรดนิโคตินิก

ร่วมกับแอลกอฮอล์จะช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และระดับเอนไซม์แอสปาเทสในหนูเมื่อเทียบกับหนูที่ได้รับแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว (Kolovou, 2005)

การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองร่วมกับเอทานอลในหนูทดลองซึ่งใช้หนูแรท ทั้งการได้รับเอทานอลแบบรุนแรงและเรื้อรัง พบว่าผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการดูดซึมของเอทานอล และทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอลเพิ่มขึ้นซึ่งอาจมาจากสาร isoflavones ในนมถั่วเหลืองเป็นปัจจัยกระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมให้ทำงานดีขึ้น รวมทั้งการทำหน้าที่ต่อต้านการดูดซึมของเอทานอลอีกด้วย (Kano, 2002)

รายงานเกี่ยวกับโมเดลหนูแบบใหม่ซึ่งใช้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศเมีย โดยได้รับแอลกอฮอล์ปริมาณ 5 g/kg ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแอลกอฮอล์สามารถชักนำให้มีการสะสมไขมันมากขึ้น เช่น ไขมันอุดตันในเส้นเลือด รวมทั้งทำให้เกิดการอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อตับเพิ่มมากขึ้น (Enomoto, 1999)

จากการทดสอบในหนูพบว่า acetaldehyde ทำให้เกิดการสร้างเซลล์มะเร็ง และทำให้โครโมโซมในเซลล์ผิดปกติ เกิด sister chromatid exchanges และพบว่า acetaldehyde ทำให้เกิดปฏิกิริยาในลักษณะการรวมตัวกันของ DNA เป็น N(2)-ethyl-2'-deoxyguanosine ซึ่งพบปริมาณมากขึ้นในเซลล์ตับของหนูที่ให้กินแอลกอฮอล์ และในเม็ดเลือดขาวของคนที่ได้ดื่มแอลกอฮอล์แบบอันตราย (alcohol abusers) (Qiu, 2005) และมีการรายงานของศูนย์ IARC กล่าวว่า acetaldehyde ส่งผลทำให้มีความผิดปกติในการตั้งท้องของสัตว์และยังเป็นสารทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์อีกด้วย (IARC, 1984)

แอลกอฮอล์เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนใหญ่อ้างอิงเกี่ยวกับการเพิ่มเอนไซม์ในตับ และยังเกี่ยวเนื่องระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้รับกับแอลกอฮอล์ที่ชักนำให้เกิดโรคตับ การศึกษาของชาวอิตาลีพบว่าแอลกอฮอล์น่าจะเป็นสาเหตุของการป่วยเป็นโรคตับถึง 23% และพบว่าการวิเคราะห์แยกแยะเอนไซม์ตับจากผลของน้ำหนักร่างกายหรือการบริโภคแอลกอฮอล์มีความแตกต่างกัน (Duk-Hee, 2001)

เซลล์ตับทำหน้าที่หลายประการ เช่น เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารอาหาร สร้างวิตามิน สร้างและหลั่งน้ำดี กำจัดสารพิษที่ได้รับจากภายนอกหรือสร้างจากร่างกายเอง สารหลายชนิดที่สร้างจากตับจะถูกขับออกทางท่อน้ำดี การทดสอบตับโดยการตรวจวัดเอนไซม์ที่บ่งชี้ว่ามีการทำลายหรือซ่อมแซมเซลล์ตับการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์จะขึ้นกับชนิด ความรุนแรง ระยะเวลาของสิ่งกระตุ้น การเปลี่ยนแปลงค่าเอนไซม์อาจไม่บ่งบอกถึงการกลับมาทำงานตามปกติของตับในช่วงเวลาที่ตรวจก็ได้

เอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) หรือ SGPT การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ตับจะเกิดการหลังเอนไซม์ ระดับการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์สะท้อนถึงปริมาณของเซลล์ตับที่เสียหาย พบว่าค่าครึ่งชีวิตของ ALT มีค่าเป็นชั่วโมง แต่ในทางคลินิกค่าครึ่งชีวิตจะยาวนานจากปัจจัยอื่นๆ

นอกจาก ALT ยังมีเอนไซม์อีกชนิดคือ Aspartate aminotransferase (AST) หรือ SGOT ซึ่งพบในเซลล์ตับและในเซลล์กล้ามเนื้อด้วย เนื่องจากการอักเสบของกล้ามเนื้อพบได้น้อยในสุนัขและแมวและการวัด creatine kinase activity จะบ่งบอกภาวะกล้ามเนื้อได้ดีกว่า ดังนั้น AST จึงใช้ทดสอบตับได้ด้วย โดย AST มี 2

รูปแบบ คือละลายได้ใน cytosol (Soluble form) หรือจับกับ organelles ภายในเซลล์ (Bound form) ดังนั้นการเปลี่ยนความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ตับจะมีการหลั่ง AST รูป soluble form ออกมา แต่ถ้าตับถูกทำลายรุนแรงขึ้น จึงจะหลั่ง bound form

ในกรณีที่ตับถูกทำลายอย่างเฉียบพลันจะมีการเพิ่มขึ้นของ enzyme ALT และ AST โดยพบว่า AST จะกลับเข้าสู่ปกติเร็วกว่า ตับมีการผลิตเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) เมื่อได้รับความเสียหาย บาดเจ็บ หรือเป็นโรคเกี่ยวกับตับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคตับแข็ง และโรคตับอักเสบซึ่งมีสาเหตุมาจาก แอลกอฮอล์ ยา หรือไวรัส การวัดปริมาณเอนไซม์ ALT โดยการเจาะเลือดซึ่งเห็นผลภายใน 24 ชั่วโมง จะใช้ ร่วมกับการวัดปริมาณเอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) อัตราส่วนของ AST ต่อ ALT บ่งบอกถึง การที่ตับได้รับความเสียหายจากปริมาณของแอลกอฮอล์ (Sydney, 2006)

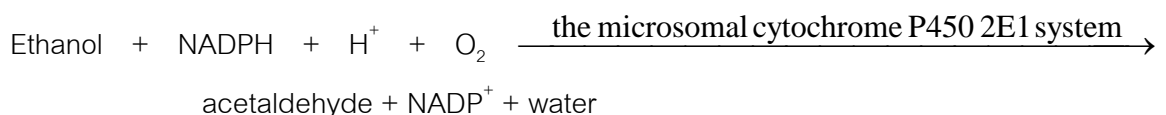
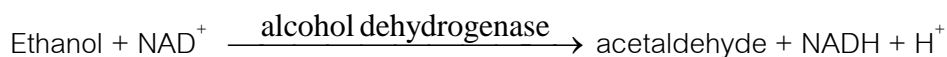
Davydova และคณะ (2005) ทำการทดลองป้อนแอลกอฮอล์ในหนูทดลอง C57BI/6 ปริมาณ 30 และ 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ น้ำหนักตัวนาน 2 อาทิตย์ สามารถตรวจสอบความผิดปกติของแอนติบอดีในร่างกายได้ และการให้ ปริมาณแอลกอฮอล์ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ น้ำหนักตัว นาน 2 ถึง 4 อาทิตย์ ทำให้เกิดการทำลายตับหนู C57BI/6N จากการ ตรวจวัดเอนไซม์ ALT ในน้ำเลือดพบว่าสูงขึ้น (Barbara, et al., 2004)

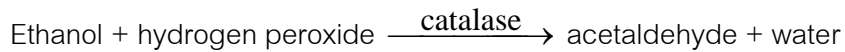
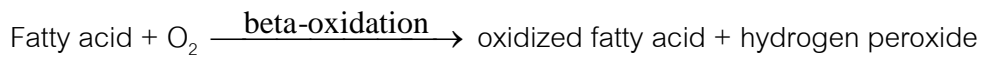
ความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภค Alcohol และระบบสืบพันธุ์เพศชาย (Male reproductive system) ยังคง เป็นปัญหาที่น่าสนใจของนักดื่มจำนวนมาก จากการศึกษาของ Gavalier and Van Thiel 1987 พบว่าเมื่อคน และหนูทดลองได้รับ Alcohol ติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้เกิดการทำลายของเซลล์สืบพันธุ์ (Germ cell) บริเวณ Seminiferous tubule ที่เป็นแหล่งสร้าง sperm ใน Testis นอกจากนี้ยังพบอีกว่า Acetaldehyde ที่ เกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมของ Alcohol (the initial product of alcohol metabolism) ทำให้เกิดพิษต่อ Leydig cell (คือเซลล์ที่อยู่ใน testis ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนเพศชาย ได้แก่ testosterone) มากกว่า Alcohol (Van Thiel et al. 1983; Santucci et al. 1983)

จากการศึกษาของ Fazakas และคณะ (2005) ที่ศึกษาผลต่อระบบประสาทของการได้รับแอลกอฮอล์ 5% v/v ร่วมกับโลหะหนัก 2 ชนิดคือ ปปรอทและตะกั่ว โดยใช้เวลาในการศึกษา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับโลหะหนักมีผลทำให้เกิดพิษต่อระบบประสาททั้ง central และ/หรือ peripheral neurotoxic มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pecze และคณะ (2005) ที่แสดงให้เห็นถึง ผลกระทบของการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับตะกั่ว ที่ส่งผลต่อระบบประสาททั้งแบบเฉียบพลัน และกึ่งเรื้อรัง เช่นกัน

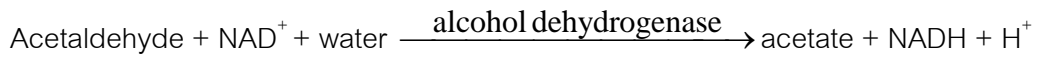
ปฏิกิริยาของแอลกอฮอล์

1) Alcohol Oxidation

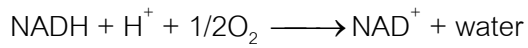




2) Acetaldehyde Oxidation



3) NADH oxidation (in the mitochondria)



ความเป็นพิษของ methanol เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น formaldehyde และกรดฟอมิกในที่สุด ซึ่งกรดอินทรีย์ชนิดนี้จะเป็นพิษต่อเซลล์



2. วิธีการทดลอง

2.1. หนูทดลอง (Wistar rat)

การทดสอบผลกระทบต่อสุขภาพจากการบริโภคสุรา โดยทำการทดลองในหนูวัยรุ่นเพศผู้ (Wistar rat) อายุ 5 สัปดาห์ (น้ำหนัก 121-160 กรัม) จำนวน 162 ตัว แบ่งเป็น 8 ตัวต่อกลุ่ม สำหรับการศึกษาระยะเวลานาน 12 สัปดาห์ เพื่อดูผลกระทบต่อสุขภาพของการก่อกพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic) และ 10 ตัวต่อกลุ่ม สำหรับการศึกษาระยะเวลานาน 24 สัปดาห์ เพื่อดูผลกระทบต่อสุขภาพของการก่อกพิษแบบเรื้อรัง (Chronic) ซึ่งในการทดลองนี้มีกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมทั้งหมด 9 กลุ่ม ทำการป้อนสารทดสอบด้วยเข็มป้อนสาร (gavage) ให้หนู 1 ครั้งทุกวัน (Gupta and Gill, 2000) ตามรูปแบบการทดลองในตารางที่ 1 โดยให้ความเข้มข้นของเอทานอล 2.5 g/Kg BW/day (Pecze et al., 2005) ปริมาตรที่ให้ 10 ml/Kg BW/day (Olfert et al., 1993)

ตารางที่ 1 รูปแบบการทดลองและชนิดตัวอย่างทดสอบในแต่ละกลุ่มการทดลอง เรียงกลุ่มตามปริมาณสารพิษที่ได้รับจากมากไปหาน้อย

กลุ่มการทดลอง	ชนิดของตัวอย่างทดสอบ	ปริมาณที่ได้รับ
1. สารประกอบสุราที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol)	35% Ethanol + 400 mg/l Methanol + 700 mg/l Acetaldehyde + 25 mg/l Formaldehyde	ทุกวัน
2. กลุ่ม Acetaldehyde สูงสุด	35% Ethanol+700 mg/l Acetaldehyde	ทุกวัน
3. กลุ่ม Acetaldehyde ปานกลาง	35% Ethanol+350 mg/l Acetaldehyde	ทุกวัน
4. สุราจริงที่พบ Acetaldehyde สูงสุด	ตัวอย่างสุราจริง ยี่ห้อ A	ทุกวัน
5. สุราจริงที่พบ Acetaldehyde ปานกลาง	ตัวอย่างสุราจริง ยี่ห้อ B	ทุกวัน
6. สารประกอบสุราที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol)	35% Ethanol + 400 mg/l Methanol + 700 mg/l Acetaldehyde + 25 mg/l Formaldehyde	4 วันต่อสัปดาห์ และน้ำกลั่น 3 วัน
7. สารประกอบสุราที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol)	35% Ethanol + 400 mg/l Methanol + 700 mg/l Acetaldehyde + 25 mg/l Formaldehyde	1 วันต่อสัปดาห์ และน้ำกลั่น 6 วัน
8. กลุ่ม positive control	35% Ethanol (v/v)	ทุกวัน
9. กลุ่ม negative control	น้ำกลั่น	ทุกวัน

เลี้ยงหนูในกรงพื้นต้น 2 ตัว/กรง ในห้องเลี้ยงที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $70 \pm 10\%$ ควบคุมช่วงสว่าง/มืด เป็น 12/12 ชั่วโมง ให้อาหาร 082 จากบริษัทเพอร์เฟคคอมพาเนียน และน้ำกรองผสมคลอรีน 10-12 ppm ตลอดเวลา

หลังจากการทดลองครบ 12 สัปดาห์ และ 24 สัปดาห์ อดอาหารหนูข้ามคืนก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือดและอวัยวะจากหนู โดยทำให้หนูตายอย่างสงบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

การคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomization Design, CRD) การวิเคราะห์ทางสถิติใช้วิธีอิงพารามิเตอร์ (Parametric method) โดยวิธี One Way ANOVA และ LSD (Least Significant Difference) และวิธีไม่อิงพารามิเตอร์ (Nonparametric methods) โดยวิธี Kruskal-Wallis test และ Mann-Whitney U test ด้วยโปรแกรมสถิติ SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99% สถานที่ดำเนินงานวิจัย ภายใต้ความร่วมมือ และการดูแล ณ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา

2.2. การศึกษาระยะที่ 1

2.2.1. การวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก

นำเลือดมาปั่นแยกซีรัมเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ค่าเคมีคลินิก 12 ค่า ได้แก่ กลูโคส, เอนไซม์ตับ (AST, ALT, ALP), creatinine, cholesterol, uric acid, blood urea nitrogen (BUN), total protein, albumin, triglyceride, และ total bilirubin ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Hitachi 902

2.2.2. การตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อเยื่อตับ

ขั้นแรกทำการสกัดไขมันจากตับ

ทำโดยนำชิ้นส่วนตับที่แช่แข็งไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส หนักประมาณ 800 mg บดใน liquid nitrogen จนละเอียด จากนั้นเติมสารละลาย hexane:isopropanol (3:2 v/v) ปริมาตร 2 ml นำสารสกัดไขมันที่ได้ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml นำไปปั่นเหวี่ยงที่ $10,000 \times g$ นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดสารละลายชั้นบนใส่ในหลอดใหม่ และทำการสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลาย hexane:isopropanol (3:2 v/v) ปริมาตร 1 ml นำสารสกัดไขมันที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ $10,000 \times g$ นาน 5 นาที ดูดสารละลายชั้นบนที่ได้ร่วมกับสารที่สกัดได้ครั้งแรก ใส่ใน test tube ขนาด 5 ml ที่มีฝาปิด จากนั้นเติมสารละลาย 15% Na_2SO_4 ในปริมาตร 1 ml ผสมสารละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ $10,000 \times g$ นาน 5 นาที นำสารละลายส่วนบน (organic top layer) ใส่ใน vial หรือ บีกเกอร์ เพื่อทำการระเหย hexane และ isopropanol โดยการเป่าของลมในตู้ดูดควัน จากนั้นละลายตะกอนไขมันกลับด้วย chloroform ปริมาณน้อยๆ เพื่อให้ได้สารสกัดไขมันเข้มข้น แบ่งสารสกัดไขมันที่ละลายกลับได้ ออกเป็น 2 ส่วน ในปริมาตรเท่าๆ กัน ใส่ใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เก็บหนึ่งหลอดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อทำ TLC ส่วนอีกหลอดนำมาระเหย Chloroform จนหมด แล้วละลายกลับตะกอนไขมันด้วย Absolute ethanol เพื่อตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอล โดยการทำการกราฟมาตรฐาน เตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐานความเข้มข้น $62.5 \mu\text{g/ml}$ จากนั้นดูดสารละลายที่

ได้ลงในหลอดทดลองปริมาตร 80, 160, 320, 480, 640, 800 ไมโครลิตรตามลำดับ และปรับปริมาตรของทุกหลอดให้ได้ปริมาตรรวม 1000 μl ด้วย Absolute ethanol จะได้ปริมาณคอเลสเทอรอลมาตรฐานในแต่ละหลอดเป็น 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ จากนั้นในแต่ละหลอดจะเติมสารละลาย Acid-ferric chloride ให้ได้ปริมาตรรวมเท่ากับ 2000 μl สารละลายที่ใช้เป็น blank ให้เติม Absolute ethanol ปริมาตร 500 μl แทนสารตัวอย่างและสารละลายคอเลสเทอรอลมาตรฐาน จากนั้นเติมสารละลาย Acid-ferric chloride ปริมาตร 1500 μl ให้ได้ปริมาตรรวม 2000 μl หลังจากนั้นบ่มสารละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลผลิตที่ได้จากสารตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 550 nm และวัดปริมาณคอเลสเทอรอลโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ขั้นที่สองการจำแนกชนิดไขมันด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

เทคนิค TLC เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกสารแต่ละชนิด เช่น ไขมัน ออกจากสารผสม โดยที่การแยกจะเกิดเนื่องจากไขมันแต่ละชนิดถูกดูดซับไว้บน stationary phase ในอัตราที่ไม่เท่ากัน โดยสารที่ไขมันที่ละลายได้ดีใน mobile phase และถูกดูดซับน้อยบน stationary phase จะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่า เทคนิค TLC เป็นเทคนิคที่สะดวกรวดเร็ว ให้ผลดี โดยนิยมใช้มากกรณีที่มีสารน้อย และ ใช้ได้ดีกับสารระเหยยาก นอกจากนี้ยังเป็นแบบ Solid - Liquid adsorption โดยมี stationary phase เป็นตัวดูดซับ จำพวก SiO_2 หรือ Al_2O_3 ฉาบบนกระจก หรือ อะลูมิเนียม (chromatoplate) ส่วน mobile phase เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดเดียว หรือ หลายชนิดผสมก็ได้ โดยที่นิยมมากเช่น hexane, acetone, methanol, ethanol เป็นต้นนำสารสกัดไขมันที่สกัดได้มาจำแนกชนิดของไขมันที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค TLC ในขั้นตอนแรกจะเป็นการเตรียม chromatoplate หรือ TLC plate โดยนำแผ่นกระจกเคลือบด้วย silica gel จากนั้นวาง Chromatoplate ลงบนพื้นสะอาด แล้วปล่อยให้แห้ง ในอากาศ หรือ อบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเก็บไว้ในเดซิเคเตอร์ (desiccator) จนกว่าจะทำการทดลอง ขั้นตอนต่อไปเป็น

การเตรียม mobile phase การแยกไขมันแต่ละชนิดจะเลือกใช้ mobile phase ที่แตกต่างกัน โดยไขมันกลุ่ม neutral lipids ได้แก่ triolein oleic acid และ linoleic acid จะใช้ chloroform:acetone (96:4) เป็น mobile phase ส่วนการแยกไขมันกลุ่ม polar lipids เช่น cholesterol และ phosphatidylcoline ใช้ chloroform:acetone:methanol:acetic acid:water (100:40:20:20:10) เป็น mobile phase เมื่อเริ่มทำ TLC ต้องเตรียมถัง (chromatographic tank) โดยเติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็น mobile phase ลงไปให้สูงจากก้นถังประมาณ 1 เซนติเมตร ตัดกระดาษกรองใส่ในถังเพื่อให้ภาชนะอิมมิดัวไปด้วยไอสารละลายเร็วขึ้น จากนั้นทำการจุด (spot) สารไขมันมาตรฐานที่เป็นไขมันกลุ่ม neutral lipids ได้แก่ Triolein, Oleic acid และ Linoleic acid และไขมันมาตรฐานกลุ่ม polar lipids ได้แก่ Cholesterol และ phosphatidyl choline และสารตัวอย่างไขมันโดยใช้หลอดรูเล็ก (capillary tube) จุ่มลงในสารสกัดไขมันที่ต้องการแยก และแตะลงบนตำแหน่งที่ทำเครื่องหมายไว้โดยการใช้นิ้วชี้กดเบาๆลงบน chromatoplate การจุดสารตัวอย่างอาจจุดซ้ำตำแหน่งเดิม 2-3 ครั้งเพื่อให้ได้ปริมาณไขมันตัวอย่างที่มากพอ (ควบคุมปริมาณ 5 μl) จากนั้นปล่อยให้หยดของสารแห้งที่อุณหภูมิห้อง ต้องระวังอย่าให้จุดสารใหญ่เกินไป (เส้นผ่านศูนย์กลางไม่ควรเกิน 0.2 มิลลิเมตร) เพราะจะทำให้

เกิดการซ้อนทับกับจุดที่อยู่ใกล้เคียงเมื่อเคลื่อนที่สูงขึ้น จากนั้นวาง chromatoplate ลงไปในถัง (ระวังอย่าให้ระดับ mobile phase อยู่สูงกว่าจุดตัวอย่าง) รอจนกระทั่ง mobile phase เคลื่อนที่ถึงระดับ solvent front ที่กำหนด (ระยะทางประมาณสามในสี่ของ chromatoplate) จึงนำ chromatoplate ออก

วางทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นตรวจดูไขมันที่แยกได้โดยนำ chromatoplate มาใส่ในถังมีฝาปิดที่มีเกล็ดไอโอดีนอยู่ โดยไอโอดีนจะทำ ปฏิกิริยากับจุดสารอินทรีย์ทั้ง unsaturated carbonyls และสาร aromatic เป็นจุดสีน้ำตาลเข้ม ใช้ดินสอวงรอบจุดสารที่แยกออก แล้วคำนวณหาอัตราเร็วในการเคลื่อนที่หรือค่า Rf (rate of flow)

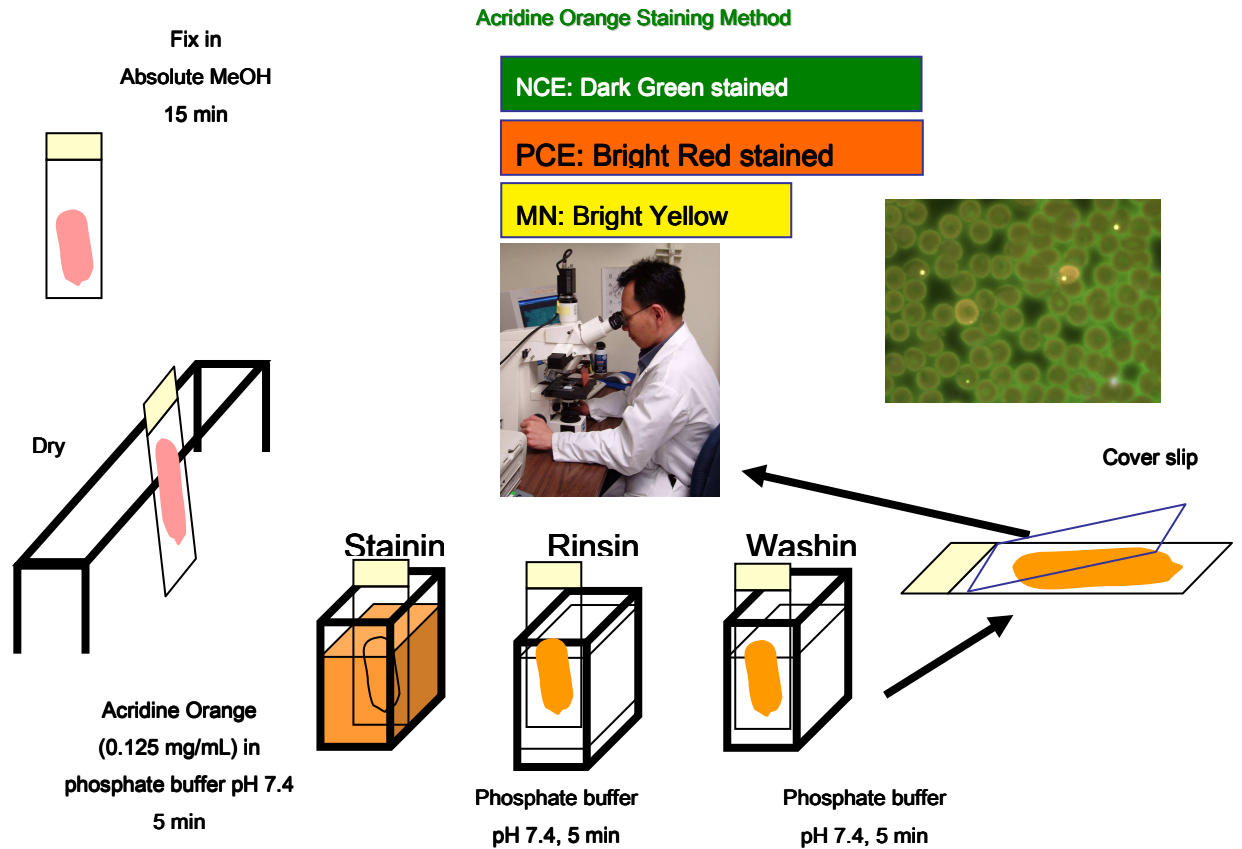
โดย $Rf = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$

และค่า Rf ของสารภายใต้สภาวะเดียวกัน ได้แก่ ตัวดูดซับ ตัวทำละลาย อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น เป็นค่าเฉพาะของสาร ซึ่งสามารถนำมาวินิจฉัยสารได้

2.3. การศึกษาระยะที่ 2

2.3.1. การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง (Determination of genetic toxicity using erythrocyte micronucleus assay)

- 1) นำหยดเลือดไปสเมียร์บนแผ่นสไลด์
- 2) นำไปแช่ในเมทานอลบริสุทธิ์ 100% เวลา 15 นาที ก่อนนำขึ้นมาตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง เพื่อให้เลือดติดแน่นบนแผ่นสไลด์ สามารถเก็บไว้ได้นานในกล่องเก็บสไลด์
- 3) นำแผ่นสไลด์ดังกล่าวไปย้อมสี Acridine Orange (0.125 mg/mL) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เวลา 5 นาที จึงล้างออกด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เวลา 5 นาที ล้าง 2 ครั้ง
- 4) ปิดด้วย cover slip ก่อนนำไปส่องภายใต้กล้อง fluorescence microscopy (FITC filter combination, excitation wavelength 495 nm, emission wavelength 520 nm) ใช้กำลังขยาย 1000 ถึง 1250 เท่า สังเกตการเกิดพิษต่อสารพันธุกรรม (genotoxicity) และนับจำนวน micronucleus ในเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งจะปรากฏจุดสีเหลืองสว่างภายในเซลล์



รูปที่ 2 ขั้นตอนการย้อมเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย Acridine orange และการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนซ์

2.3.2. วิเคราะห์พยาธิสภาพของตับ

ศึกษาทางด้านจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับเพื่อเปรียบเทียบโครงสร้างเซลล์ ที่ได้รับผลกระทบแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic) และแบบเรื้อรัง (chronic) ด้วยวิธี Hematoxylin & Eosin staining (Histopathology) เพื่อศึกษาลักษณะ และโครงสร้างของเซลล์ตับ โดยมีขั้นตอนการทำ ดังนี้

- 1) ตัดเนื้อเยื่อตับสัตว์ทดลองแช่ในสารรักษาสภาพเนื้อเยื่อ 4% paraformaldehyde/0.1 M phosphate buffer
- 2) เข้าสู่กระบวนการฝังชิ้นเนื้อด้วย paraffin; dehydration ใน graded series ethanol, clearing ใน xylene, infiltration ใน paraplast และ embedding ใน paraplast
- 3) ตัดชิ้นเนื้อเป็นแผ่นบางขนาดความหนาประมาณ 3-5 μm ด้วย microtome วางบนสไลด์
- 4) กำจัด paraplast ออกจากแผ่นชิ้นเนื้อตัดบางด้วย xylene และ re-dehydration ด้วย 100%, 90%, 80% และ 70% ethanol ตามลำดับ

- 5) ย้อมด้วย Hematoxylin & Eosin (H&E)
- 6) นำสไลด์มาทำ dehydration และ mounting
- 7) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ธรรมดา รวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูล

2.3.3. วิเคราะห์พยาธิสภาพของเซลล์สืบพันธุ์ (Semen analysis) และโครงสร้างของอวัยวะสร้าง สเปิร์ม (Sperm) คือ อัณฑะ (Testis)

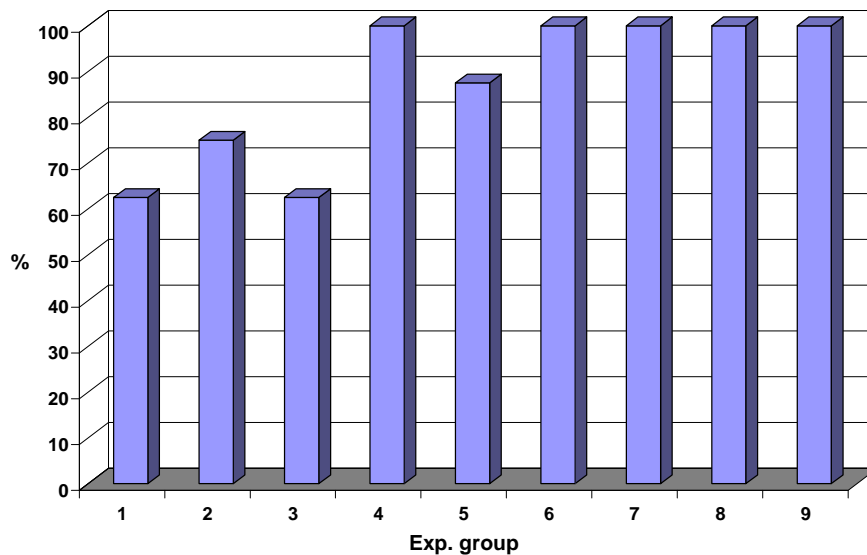
- 1) ตัดแยกอัณฑะ ดึงเอาส่วนที่เป็น Testis ออก ตรงบริเวณปลายด้านล่างของ Testis จะมี
ส่วนของ Epididymis ติดอยู่ มีลักษณะเป็นเส้นขดไปมา สีขาว ขนาดเล็ก ทำการ
ตรวจสอบความสามารถของเซลล์สืบพันธุ์ (สเปิร์ม) โดยรีดน้ำเชื้อออกจากท่อนำอสุจิ ดูด
น้ำเชื้อปริมาตร 10 μ l ใส่ในสไลด์ไมโครสโคป สำหรับนับจำนวนสเปิร์ม (a Makler
sperm-count chamber) จำนวนสเปิร์มที่นับได้จะถูกคูณด้วย 10^6 /ml เจือจางน้ำเชื้อด้วย
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS, 1X) ประมาณ 10-20 μ l นำไปปั่นในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C
นาน 5-10 นาที ก่อนนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Microscopic
observation) กำลังขยาย 200 เท่า นับเฉพาะสเปิร์มที่เต็มวัยพร้อมจะสืบพันธุ์ได้ ส่วน
การสังเกตความเร็วและคุณภาพในการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม (Motility) ใช้กำลังขยาย 400
เท่า คำนวณร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มจากการให้เกรด 4 ระดับคือ A (สเปิร์ม
เคลื่อนที่ไปข้างหน้าเป็นเส้นตรง), B (สเปิร์มเคลื่อนที่ไปข้างหน้าเป็นเส้นโค้ง), C (สเปิร์ม
ไม่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าแต่มีการเคลื่อนไหวของหางหรือหัว) และ D (สเปิร์มไม่มีการ
เคลื่อนไหว)
- 2) วิเคราะห์พยาธิสภาพระดับจุลกายวิภาคของเซลล์และโครงสร้างของ Testis จากการย้อม
สี Fluorescent

3. ผลการทดลอง

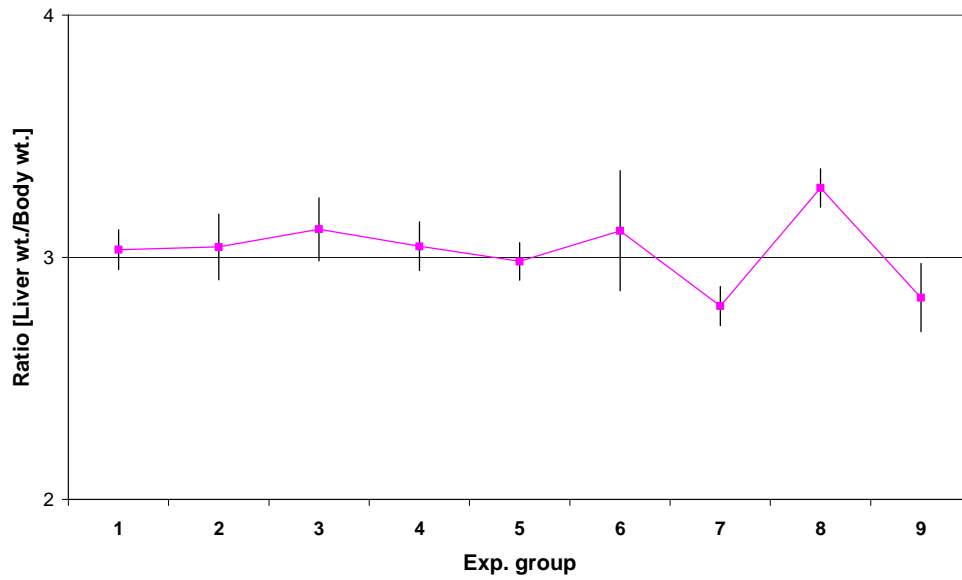
3.1. ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic)

3.1.1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก

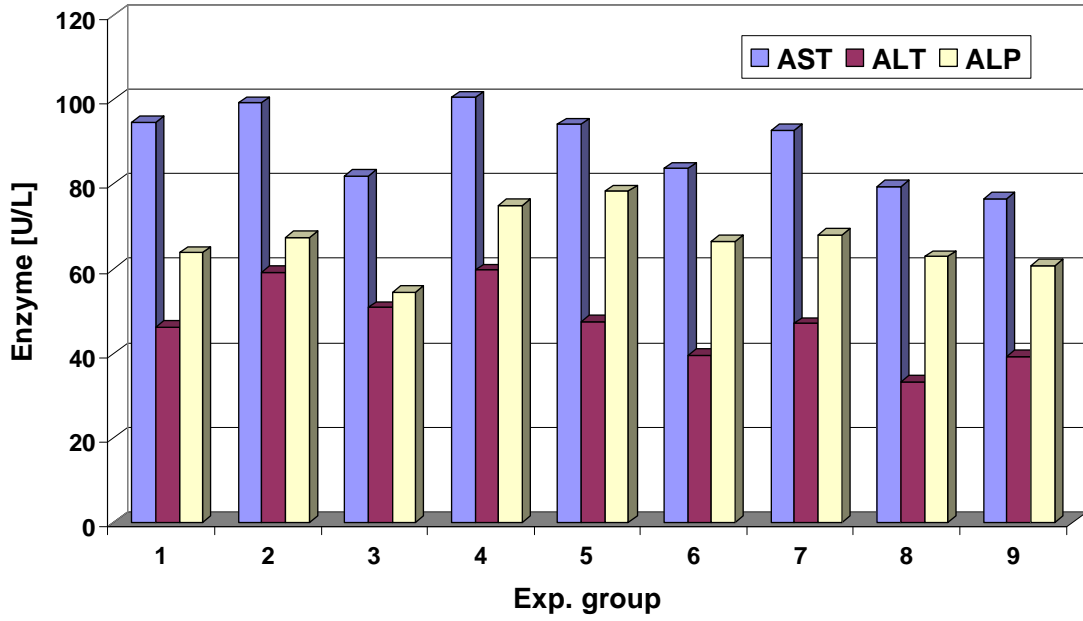
ผลการทดสอบหลังจากป้อนสารร่วมกับสารพิษในหนูทดลอง เป็นระยะเวลา 90 วัน พบการรอดชีวิตลดลง $12.5 \pm 16.5\%$ (รูปที่ 3) สัดส่วนน้ำหนักตัวต่อน้ำหนักตัวหนูสูงสุด หรือน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ของหนูในกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์อย่างเดียวยุติวัน (กลุ่มที่ 8) จะมีขนาดตัวใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมแบบ negative และกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบ 1 วัน/สัปดาห์ (รูปที่ 4) และผลจากการตรวจวิเคราะห์ค่าเคมีคลินิก พบค่าสารเคมีที่มีความแตกต่างในแต่ละกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (รูปที่ 5) ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) และ alkaline phosphatase (ALP) นอกจากนี้ยังพบปริมาณกลูโคสในหนูกลุ่มทดลองกลุ่ม 4 และ 5 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 6) รวมทั้งปริมาณ Creatinine และ Uric acid ก็สูงขึ้นด้วย แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณ Triglyceride, Cholesterol, Blood urea nitrogen, Total bilirubin, Globulin, Albumin และ Total protein ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



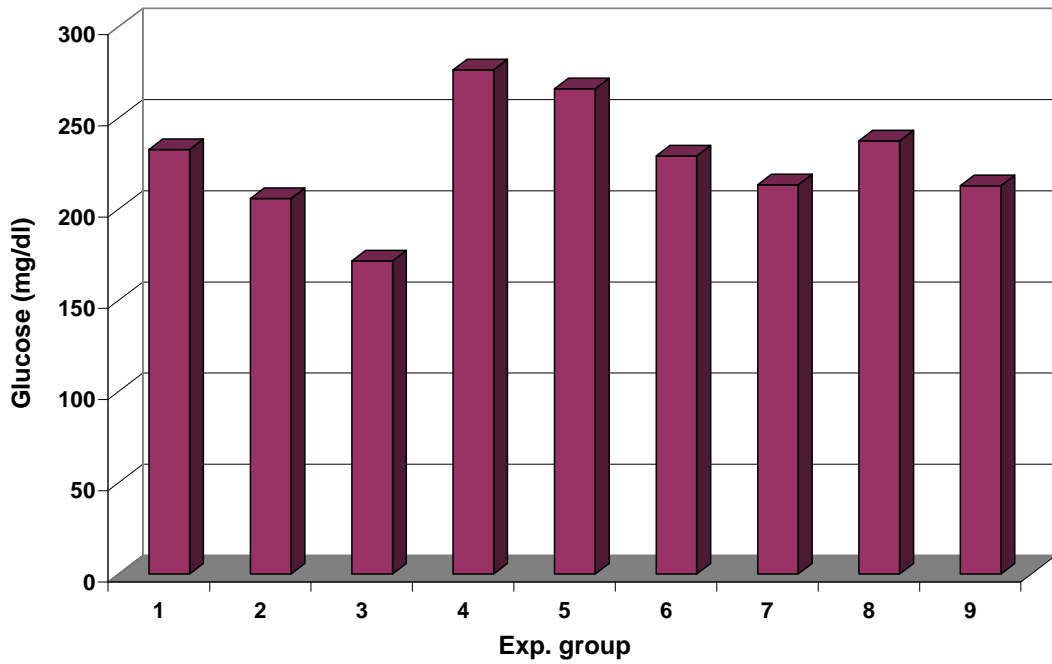
รูปที่ 3 จำนวนร้อยละการรอดชีวิต (Survival) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง



รูปที่ 4 น้ำหนักตับสัมพันธ์ (สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง



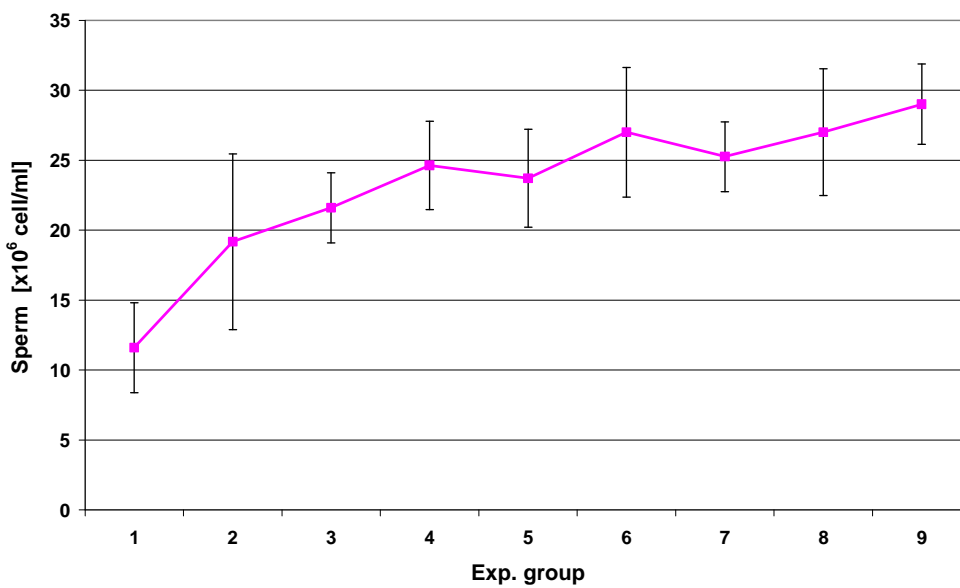
รูปที่ 5 ปริมาณเอนไซม์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราพร้อมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง



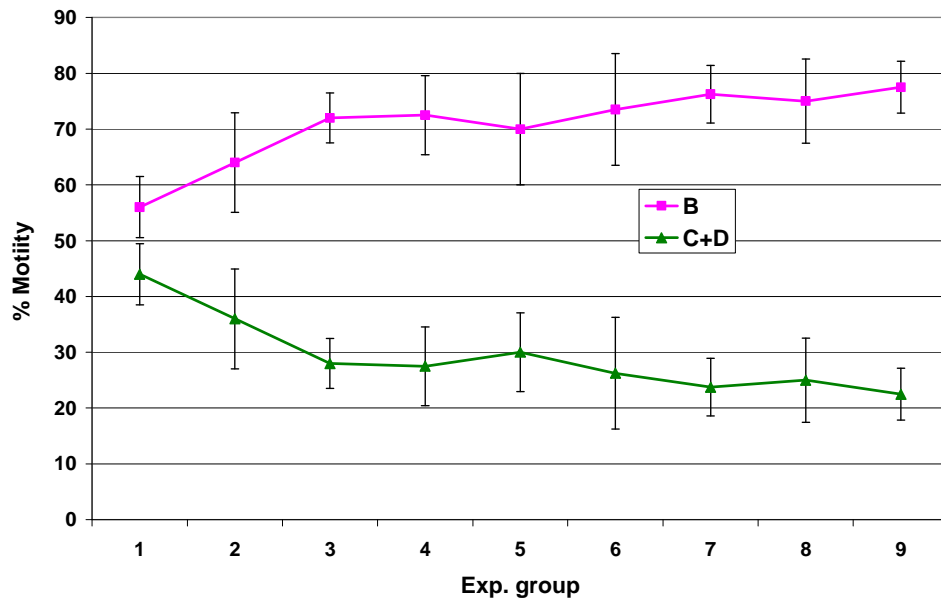
รูปที่ 6 ระดับกลูโคสในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราพร้อมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง

3.1.2. ผลการประเมินความสามารถของสเปิร์ม

ผลจากการตรวจนับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ในหนูกุ่มทดลอง ที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษ และสุราจริง จะมีจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ลดลง $24.7 \pm 16.6\%$ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (รูปที่ 7) ส่วนคุณภาพของเซลล์สืบพันธุ์โดยสังเกตจากการเคลื่อนที่ พบว่ามีจำนวนร้อยละของเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในแนวเส้นโค้ง (เกรด B) ของหนูกุ่มทดลองจะน้อยกว่าของกลุ่มควบคุม ในทางตรงกันข้ามร้อยละของเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า แต่อาจมีการเคลื่อนไหวเฉพาะส่วนหัวหรือหาง (เกรด C+D) ของหนูกุ่มทดลองจะมีปริมาณสูงกว่าของกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (รูปที่ 8)



รูปที่ 7 จำนวนความเข้มข้นของเซลล์สืบพันธุ์ของหนูกุ่มทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง



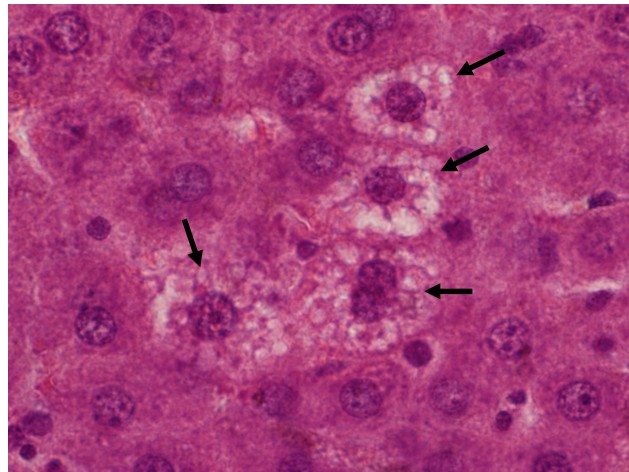
รูปที่ 8 ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์สืบพันธุ์ของหนูทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษ ที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (B = เซลล์สืบพันธุ์ที่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในแนวเส้นโค้ง, C+D = หัวหรือหางเซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนไหว แต่ไม่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า)

3.1.3. ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง (Determination of genetic toxicity using erythrocyte micronucleus assay)

จากการทดลองในเบื้องต้น ซึ่งได้ทำการศึกษาในกลุ่มที่สำคัญที่คาดว่าจะมีผลแตกต่างกันก่อน โดยทำการวิเคราะห์ในกลุ่มที่ 1 (ethanol + acetaldehyde + formaldehyde + methanol), กลุ่มที่ 8 (positive control; ethanol) และกลุ่มที่ 9 (negative control; water) พบจำนวนไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง 2/1000 cell, 3/1000 cell และ 0/1000 cell ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกลุ่มอื่นๆ อยู่ระหว่างการทดลอง

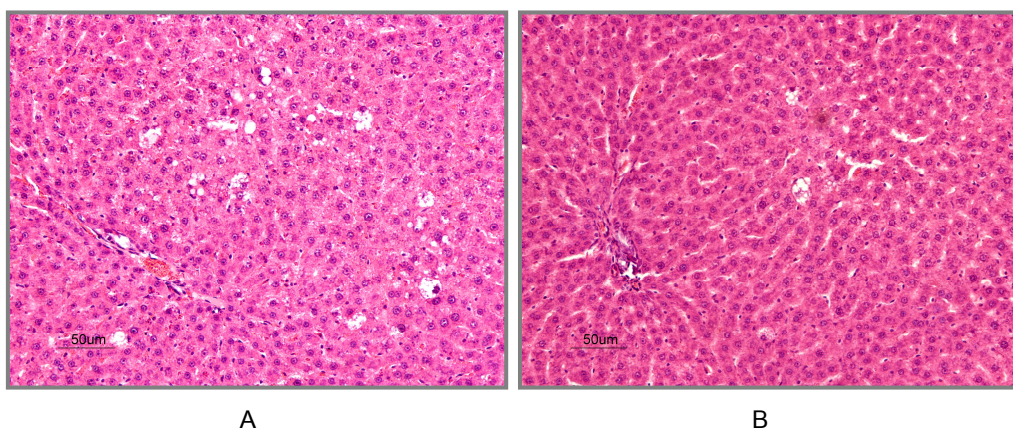
3.1.4. ผลการวิเคราะห์พยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับ

จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) พบว่าในตับของสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 1-8 (ยกเว้นกลุ่มที่ 9 หรือกลุ่มควบคุม) มีเซลล์ตับ (hepatocyte) ที่บวมใหญ่กว่าปกติ (swelling) และมีถุงใส (vacuolation) อยู่ภายในเนื้อเยื่อโดยรอบนิวเคลียสอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งลักษณะความผิดปกติของเซลล์ตับดังกล่าวนี้เรียกว่า ballooning hepatocyte (ดังรูปที่ 9)



รูปที่ 9 Ballooning hepatocyte (black arrow) ที่พบในตับของสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 1 – 8 ที่ได้รับสารประกอบสูตรร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง

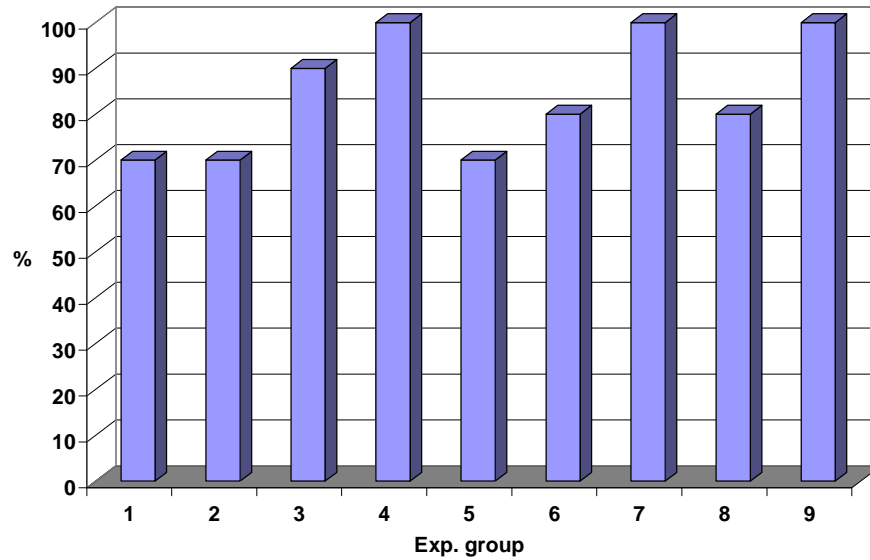
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ ballooning hepatocyte ตามความถี่ของการได้รับสารประกอบสูตรร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง คือ กลุ่มที่ 1 (7 วันต่อสัปดาห์), กลุ่มที่ 6 (4 วันต่อสัปดาห์), กลุ่มที่ 7 (1 วันต่อสัปดาห์) พบว่า กลุ่มที่ 1 มีปริมาณ ballooning hepatocyte มากที่สุด (ดังรูปที่ 10A), กลุ่มที่ 6 มีปริมาณ ballooning hepatocyte ปานกลาง และกลุ่มที่ 7 มีปริมาณ ballooning hepatocyte น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 10B)



รูปที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณ ballooning hepatocyte (black arrow) ในตับของสัตว์ทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสูตรร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง ระหว่างกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับ 7 วันต่อสัปดาห์ (รูป A) และกลุ่มที่ 7 ที่ได้รับ 1 วันต่อสัปดาห์ (รูป B) โดยพบว่ามียปริมาณ ballooning hepatocyte เป็นจำนวนมากในตับของสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 1 และพบปริมาณน้อยในกลุ่ม 7

3.2. ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (Chronic)

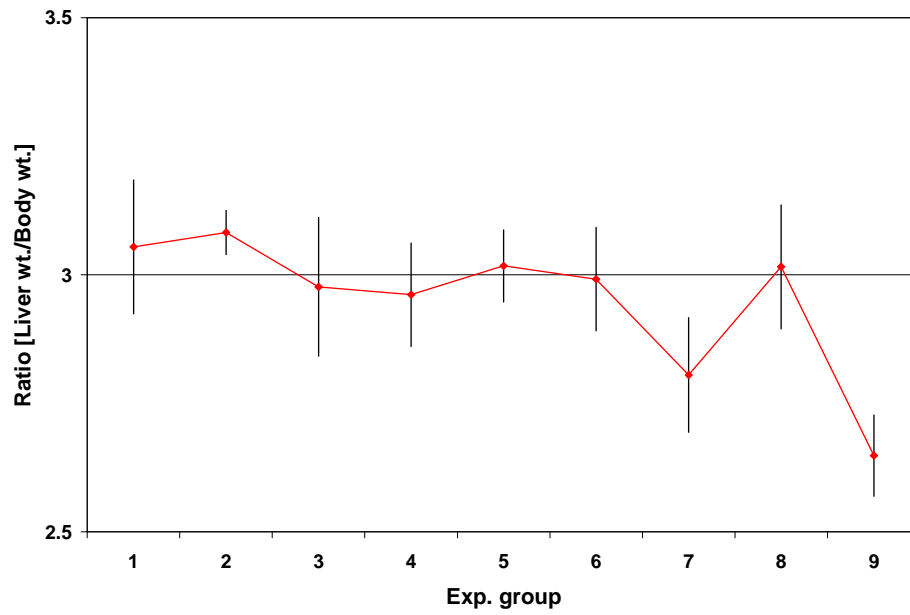
ในหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์พบอัตราการรอดชีวิตลดลง 0-30% (รูปที่ 11)



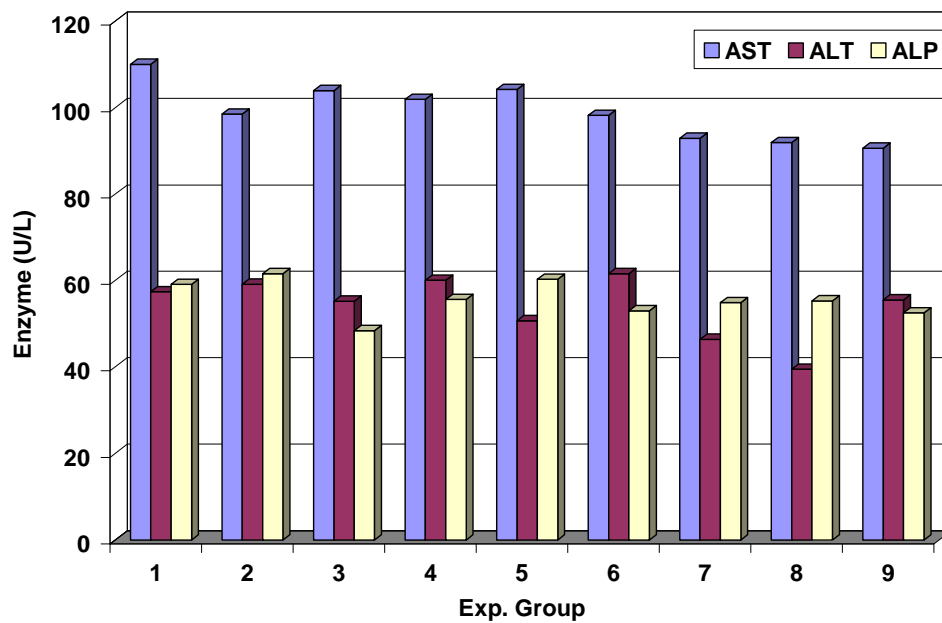
รูปที่ 11 จำนวนร้อยละการรอดชีวิต (Survival) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราพร้อมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (Chronic)

3.2.1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก

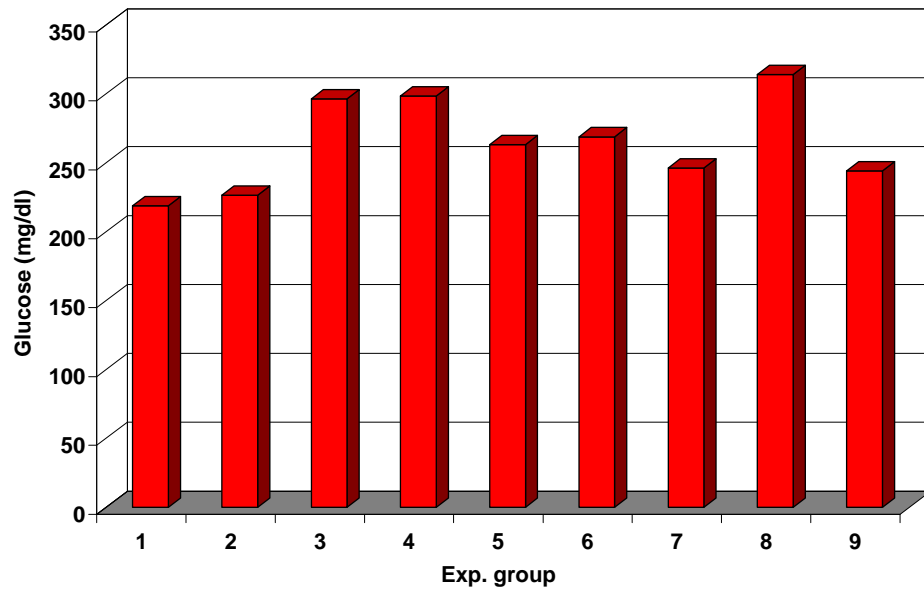
สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวหนูสูงสุด หรือน้ำหนักตับสัมพัทธ์ของหนูในกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์ จะมีขนาดตัวใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมแบบ negative และกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบ 1 วัน/สัปดาห์ (รูปที่ 12)



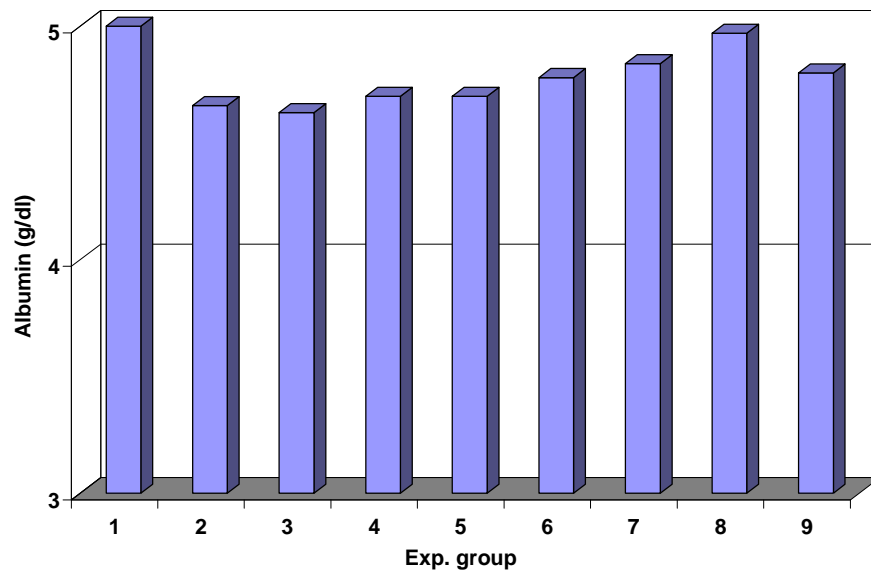
รูปที่ 12 น้ำหนักตับสัมพันธ์ (สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว) ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง



รูปที่ 13 ปริมาณเอนไซม์ของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง



รูปที่ 14 ระดับกลูโคสในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง

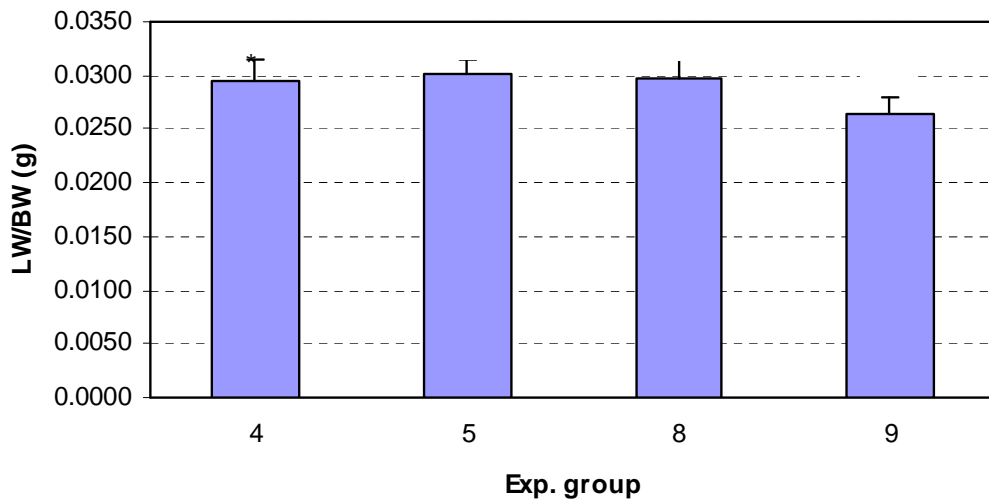


รูปที่ 15 ปริมาณ albumin ในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง

3.2.2. การตรวจวัดปริมาณคอเลสเทอรอลในเนื้อเยื่อตับ

น้ำหนักตัว (BW) น้ำหนักตับ (LW) และสัดส่วนของน้ำหนักตัวต่อน้ำหนักตับของหนู (LW/BW)

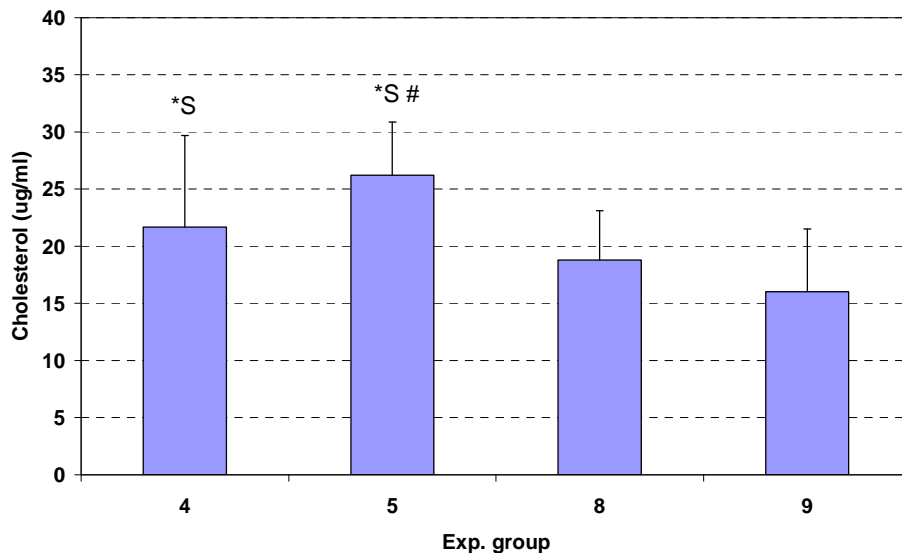
น้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำหนักตับเฉลี่ยของหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ น้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (One Way ANOVA, $P < 0.05$) โดยหนูกลุ่ม 4, 5 และ 8 มีค่าน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวมากกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นแทนอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยหนูกลุ่ม 9 (9) มีค่า 0.0265 กรัม, กลุ่ม 4 (4) มีค่า 0.0296 กรัม, กลุ่ม 5 (5) มีค่า 0.0301 กรัม และกลุ่ม 8 (8) มีค่า 0.0296 กรัม แต่น้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม 4, 5 และ 8 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 16)



รูปที่ 16 แสดงกราฟเปรียบเทียบน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว
* เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นแทน (G9)

ผลการตรวจหาปริมาณคอเลสเทอรอล

ปริมาณคอเลสเทอรอลเฉลี่ยสะสมในตับหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (One Way ANOVA, $P < 0.05$) โดยตับของหนูที่ได้รับสุราจริงที่มีสารพิษ acetaldehyde ปนเปื้อน ทั้งสองยี่ห้อ (4 และ 5) มีปริมาณคอเลสเทอรอลสะสมในตับมากกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น และ 35% ethanol (v/v) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) และปริมาณคอเลสเทอรอลในตับของหนูที่ได้รับสุราจริงยี่ห้อ A (5) มีมากกว่าหนูที่ได้รับสุราจริงยี่ห้อ B (4) ($P < 0.01$) อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 17)

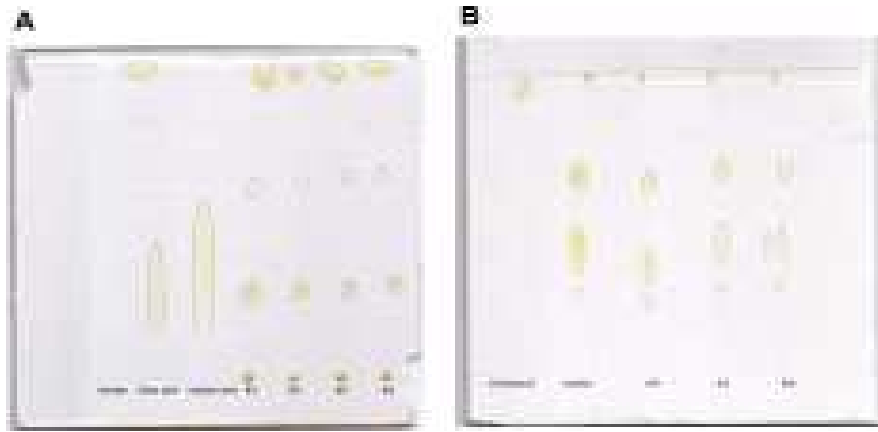


รูปที่ 17 แสดงปริมาณคอเลสเตอรอล ($\mu\text{g/ml}$) จากชิ้นส่วนตับหนูทดลอง

*เปรียบเทียบกับ G9; \$ เปรียบเทียบกับ G8; #เปรียบเทียบกับ G4

ผลการทำ TLC

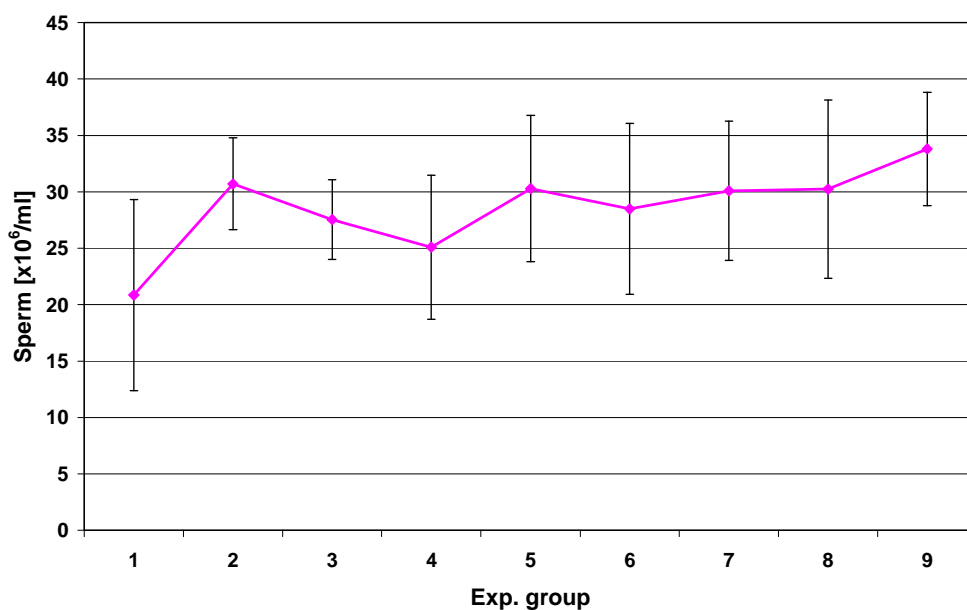
จากผลการจำแนกชนิดของไขมันจากชิ้นส่วนตับของหนูทดลองด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับไขมันมาตรฐานกลุ่ม Neutral lipids (รูป 18A) และ Polar lipids (รูป 18B) พบว่าไขมันตัวอย่างประกอบด้วยไขมันชนิด Triglyceride, Oleic acid และ Cholesterol เป็นองค์ประกอบหลัก และจากการตรวจวัดค่าของความเข้มของ spot ไขมันไตรกลีเซอไรด์ในหน่วยของ intensity/mm² โดยใช้ โปรแกรม Quantity One version 4.6.3 (Bio-Rad laboratories) พบว่า ปริมาณไขมันไตรกลีเซอไรด์เฉลี่ยที่ได้จากตัวอย่างชิ้นส่วนตับหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (One Way ANOVA, $P < 0.05$) โดยพบว่า ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของกลุ่ม 4 มากกว่ากลุ่ม 9 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$), ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของกลุ่ม 5 น้อยกว่ากลุ่ม 9 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$), ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของกลุ่ม 4 มากกว่ากลุ่ม 8 อย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.046$), ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ของกลุ่ม 9, 8 และกลุ่ม 5 น้อยกว่ากลุ่ม 4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่ กลุ่ม 4, 8, และ 9 มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์มากกว่ากลุ่ม 5 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) (รูปที่ 18)



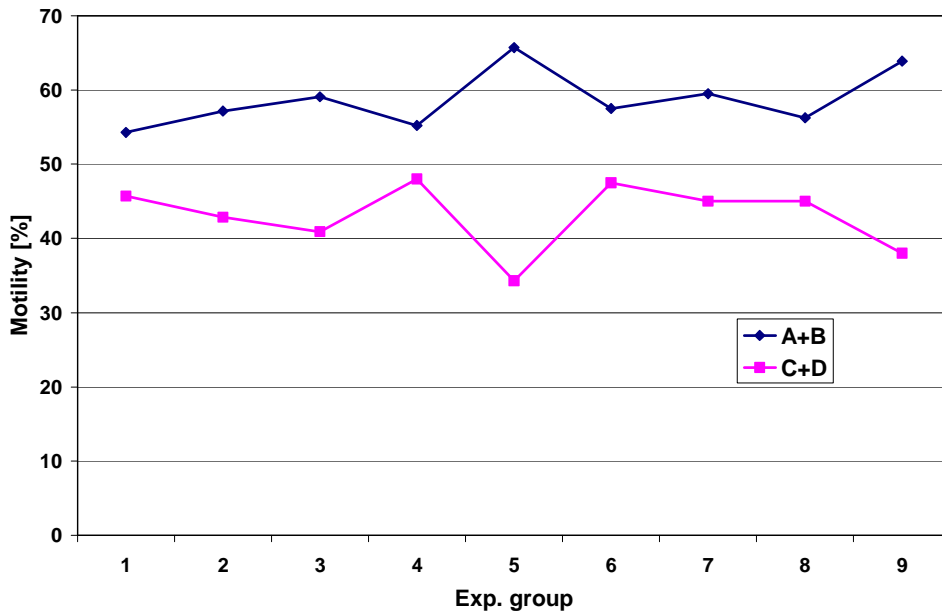
รูปที่ 18 แสดงตัวอย่างผลการจำแนกชนิดของไขมันกลุ่ม Neutral lipids (A) และ Polar lipids (B) เปรียบเทียบกับไขมันมาตรฐาน triolein, oleic acid, linoleic acid, cholesterol และ lecithin ด้วยเทคนิค TLC ของหนูทดลองกลุ่ม 8

3.2.3. ผลการประเมินความสามารถของสเปิร์ม

ผลจากการตรวจนับจำนวนเซลล์สเปิร์มในหนูกลุ่มทดลอง ที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษ และสุราจริง จะมีจำนวนเซลล์สเปิร์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (รูปที่ 19) ส่วนคุณภาพของเซลล์สเปิร์มโดยสังเกตจากการเคลื่อนที่ พบว่ามีจำนวนร้อยละของเซลล์สเปิร์มที่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในแนวเส้นตรงและเส้นโค้ง (เกรด A+B) ของหนูกลุ่มทดลองจะน้อยกว่าของกลุ่มควบคุม ในทางตรงกันข้ามร้อยละของเซลล์สเปิร์มที่ไม่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า แต่อาจมีการเคลื่อนไหวเฉพาะส่วนหัวหรือหาง (เกรด C+D) ของหนูในกลุ่มทดลองจะมีปริมาณสูงกว่าของกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (รูปที่ 20)



รูปที่ 19 จำนวนความเข้มข้นของเซลล์สเปิร์มของหนูทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง



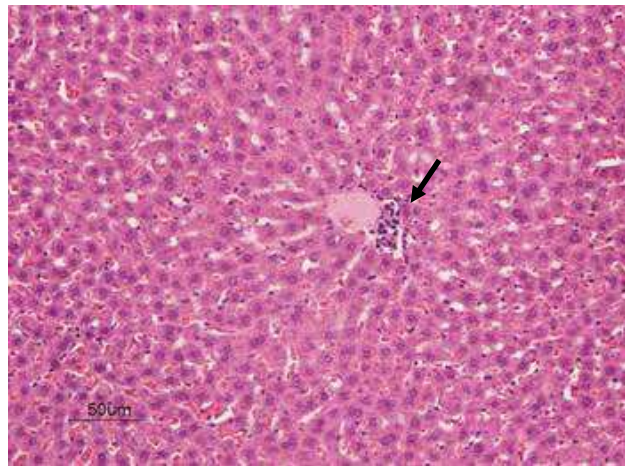
รูปที่ 20 ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์สืบพันธุ์ของหนูทดลอง ที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับ สารพิษ ที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (A = เซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในแนวเส้นตรง, B = เซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในแนวเส้นโค้ง, C+D = หัวหรือหางเซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนไหว แต่ไม่มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า)

3.2.4. ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม โดยวิธีไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง (Determination of genetic toxicity using erythrocyte micronucleus assay)

จากการทดลองในเบื้องต้นในหนูที่ได้ทำการศึกษแบบกึ่งเรื้อรังในบางกลุ่มแล้ว การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมนั้น จะทำการการศึกษาในกลุ่มที่สำคัญที่คาดว่าจะมีผลแตกต่างกันก่อน เช่นเดียวกัน เพื่อประเมินผลว่าจะศึกษาในกลุ่มอื่นด้วยหรือไม่ ซึ่งผลการศึกษาจะดำเนินการศึกษาในระยะต่อไป

3.2.5. ผลการวิเคราะห์พยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับ

จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) พบว่าในตับของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง กลุ่มที่ 1, 2, 3 และได้รับสุรารวม 2 ยี่ห้อ (กลุ่มที่ 4 และ 5) มีเซลล์ที่มีลักษณะเหี่ยวเล็กลง (shrinking) นิวเคลียสมีขนาดเล็กติดสีเข้ม และ cytoplasm ติดสีชมพูเข้ม โครงสร้างที่มีลักษณะดังกล่าวนี้เรียกว่า Councilman's body ซึ่งเชื่อว่าเป็นเซลล์ที่สูญเสียหน้าที่ โดยจะพบรวมกลุ่มกับเซลล์เม็ดเลือดขาว (white blood cell) และพบอยู่ข้างๆ หลอดเลือด (Perivascular area) (ดังรูปที่ 21)



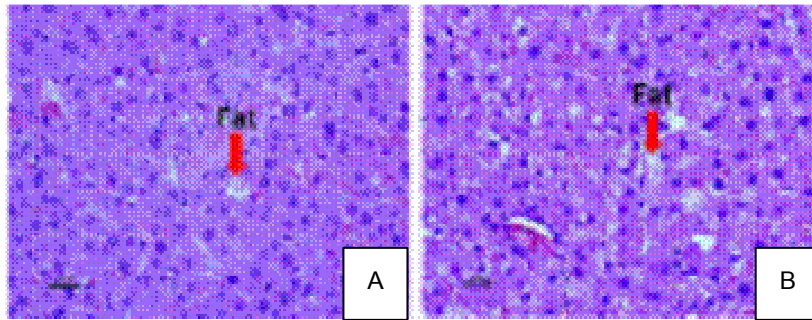
รูปที่ 21 แสดงกลุ่ม Councilman's bodies และ White blood cells (black arrow) ที่อยู่บริเวณ Perivascular area ในตับของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง กลุ่มที่ 1, 2, 3 และได้รับสุราจริง 2 ยี่ห้อ (กลุ่มที่ 4 และ 5)

นอกจากนี้ยังพบโครงสร้างที่มีคล้ายถุงใส (vacuolation) อยู่ภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ที่ล้อมรอบเซลล์ตับ ในตับของสัตว์ทดลองทุกกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์ นานเป็นเวลา 6 เดือน (กลุ่มที่ 1-8) (ดังรูปที่ 22)

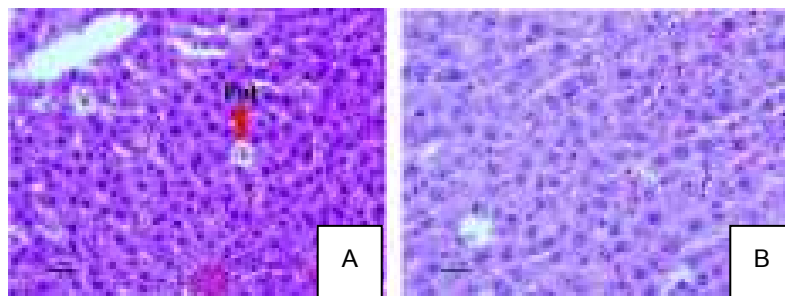


รูปที่ 22 แสดงโครงสร้าง vacuolation (black arrow) ที่พบแทรกอยู่ทั่วไปใน connective tissue ของเนื้อเยื่อตับ ซึ่งพบในตับของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารประกอบสุราร่วมกับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง กลุ่มที่ 1 -8 แต่ไม่พบในกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 9) และยังพบเซลล์ balloon hepatocyte (white arrow) เช่นเดียวกับกลุ่มกึ่งเรื้อรังอีกด้วย

จากการย้อมเซลล์เนื้อเยื่อตับ พบไขมันสะสมในเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองที่ได้รับสุราจริง 2 ยี่ห้อคือ กลุ่มที่ 4 และ 5 (รูปที่ 23) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 8 (positive control) และกลุ่มที่ 9 (negative control) (รูปที่ 24) (กลุ่มอื่นๆ อยู่ระหว่างดำเนินการทดลอง)



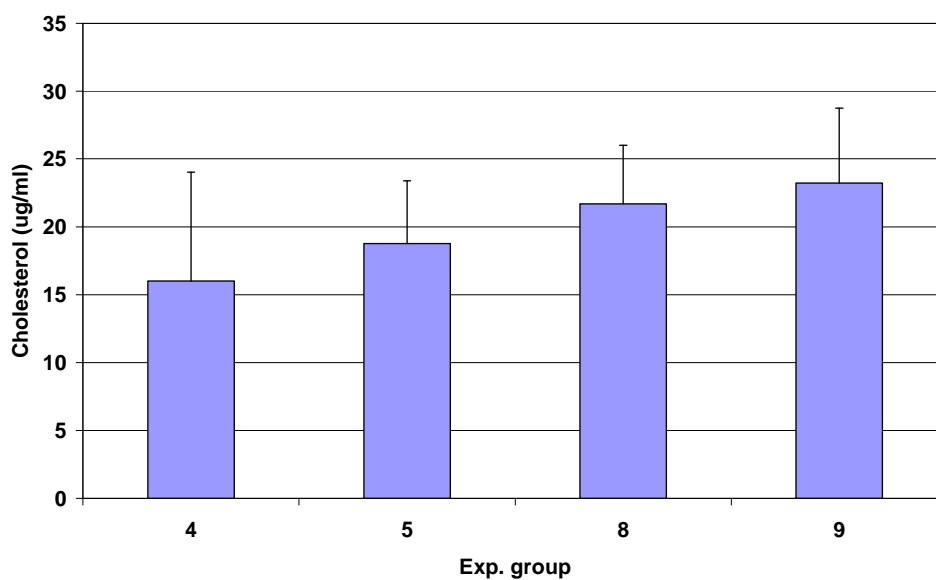
รูปที่ 23 ไขมันในเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสุราจริง A (กลุ่ม 4) และ B (กลุ่ม 5)



รูปที่ 24 ไขมันในเนื้อเยื่อตับของหนูทดลอง A (กลุ่ม 8 positive control) และ B (กลุ่ม 9 negative control)

3.2.6. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมในตับ

จากการทดลองในหนูที่ได้รับสุราจริง 2 ยี่ห้อ (กลุ่ม 4 และ 5) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่ม 8 และ 9) พบปริมาณคอเลสเตอรอล ในเซลล์ตับของหนูทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 25)



รูปที่ 25 ปริมาณ cholesterol จากเซลล์ตับของหนูทดลองที่ได้รับสุราจริงที่ก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง

3.3. สถิติการเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Sub-chronic (ภาคผนวก ค)

3.3.1. เปรียบเทียบความถี่: กลุ่มที่ได้รับ Artificial alcohol ทุกวัน (กลุ่ม 1), 4 วันต่อสัปดาห์ (กลุ่ม 6) และ 1 วันต่อสัปดาห์ (กลุ่ม 7)

จากการวิเคราะห์ SPSS: Blood glucose ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ Blood glucose

จากการวิเคราะห์ SPSS: BUN ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ BUN

จากการวิเคราะห์ SPSS: GLOB ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ GLOB

จากการวิเคราะห์ SPSS: Creatinine มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ทุกวันแบบกึ่งเรื้อรังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับ Creatinine แสดงว่าผลต่อการทำงานของไต (ตารางที่ 2 รูปที่ 26)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ sub-chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: CREA

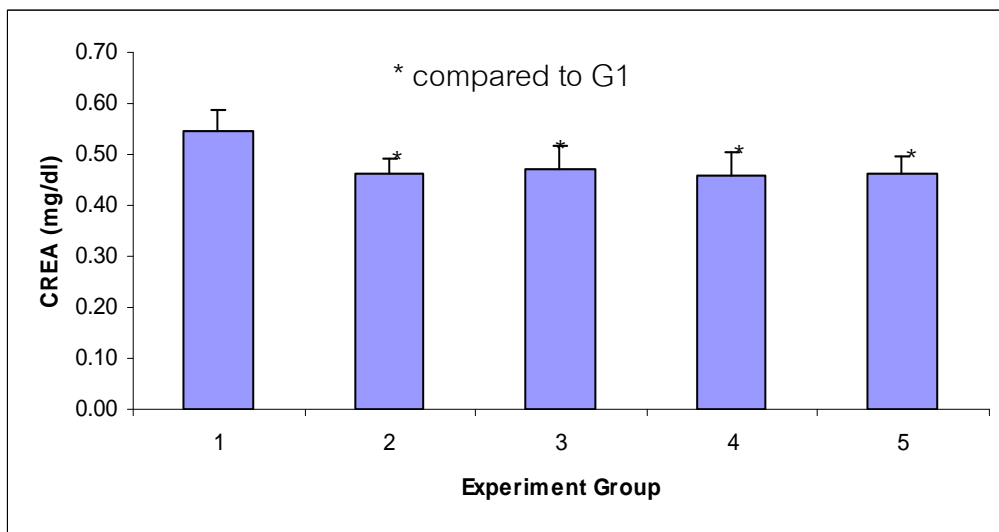
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G1	G6	.0846*	.02237	.001	.0387	.1305
	G7	.0731*	.02237	.003	.0272	.1191
	G8	.0893*	.02314	.001	.0419	.1368
	G9	.0831*	.02237	.001	.0372	.1291
G6	G1	-.0846*	.02237	.001	-.1305	-.0387
	G7	-.0114	.02043	.580	-.0533	.0305
	G8	.0048	.02126	.824	-.0389	.0484
	G9	-.0014	.02043	.945	-.0433	.0405
G7	G1	-.0731*	.02237	.003	-.1191	-.0272
	G6	.0114	.02043	.580	-.0305	.0533
	G8	.0162	.02126	.453	-.0274	.0598
	G9	.0100	.02043	.628	-.0319	.0519
G8	G1	-.0893*	.02314	.001	-.1368	-.0419
	G6	-.0048	.02126	.824	-.0484	.0389
	G7	-.0162	.02126	.453	-.0598	.0274
	G9	-.0062	.02126	.773	-.0498	.0374
G9	G1	-.0831*	.02237	.001	-.1291	-.0372
	G6	.0014	.02043	.945	-.0405	.0433
	G7	-.0100	.02043	.628	-.0519	.0319
	G8	.0062	.02126	.773	-.0374	.0498

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Descriptives

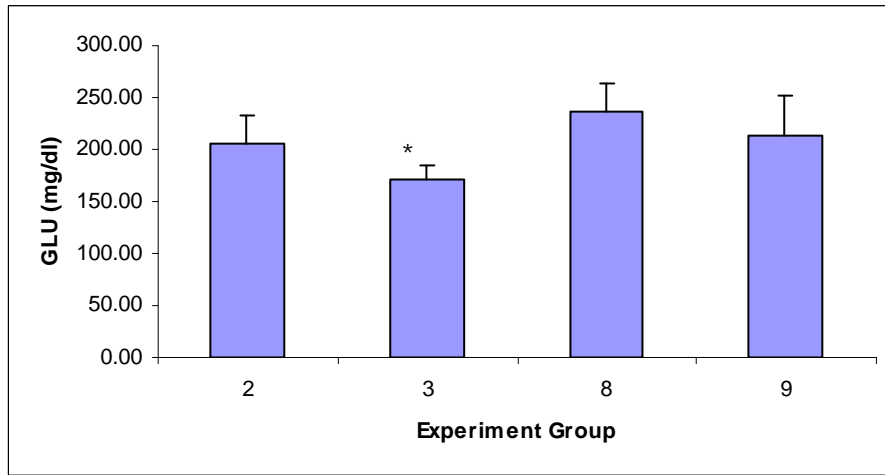
CREA								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
G1	5	.5460	.04159	.01860	.4944	.5976	.50	.61
G6	7	.4614	.02968	.01122	.4340	.4889	.44	.52
G7	7	.4729	.04231	.01599	.4337	.5120	.42	.52
G8	6	.4567	.04590	.01874	.4085	.5048	.40	.53
G9	7	.4629	.03147	.01190	.4338	.4920	.40	.50
Total	32	.4766	.04715	.00834	.4596	.4936	.40	.61



รูปที่ 26 สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatinine ในกลุ่มการทดลอง 1, 2, 3, 4, 5 ของ Sub-chronic

3.3.2. เปรียบเทียบความถี่ : กลุ่มที่ได้รับ Artificial alcohol + Acetaldehyde ทุกวัน (กลุ่ม 2, 3) เปรียบเทียบกับ G8 และ G9

จากการวิเคราะห์ SPSS: GLU ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G2, 3, 8, 9 โดย G3 มีระดับ GLU ต่ำสุด แสดงว่าการได้รับแบบกึ่งเรื้อรัง Artificial alcohol (35% ethanol) + Acetaldehyde ระดับปานกลางมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับ GLU น้อยกว่าการได้รับ 35% ethanol ที่มี Acetaldehyde สูงกว่า หรือได้รับเฉพาะ 35% ethanol หรือน้ำกลั่นอย่างเดียว (รูปที่ 27)



รูปที่ 27 สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Sub-chronic

3.3.3. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 4, 8, 9

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic

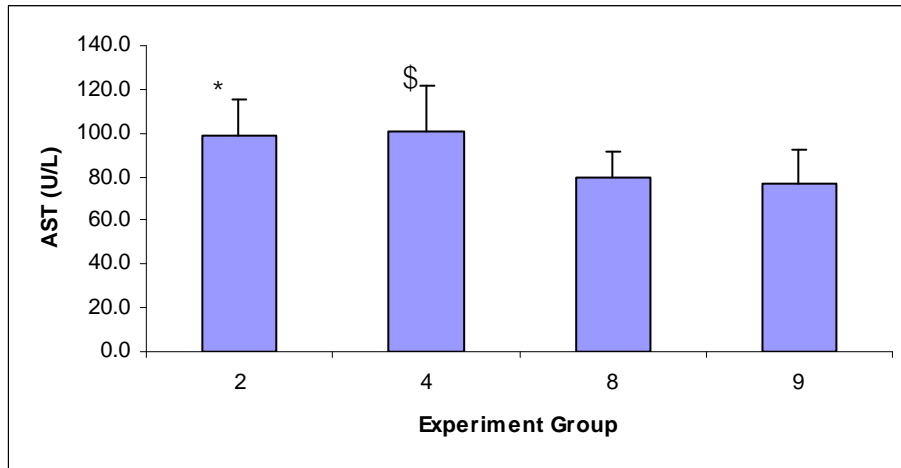
Multiple Comparisons

Dependent Variable: AST

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G4	-1.1583	9.19203	.901	-20.1735	17.8568
	G8	19.7833	9.82669	.056	-.5447	40.1114
	G9	22.6952*	9.46924	.025	3.1066	42.2839
G4	G2	1.1583	9.19203	.901	-17.8568	20.1735
	G8	20.9417*	9.19203	.032	1.9265	39.9568
	G9	23.8536*	8.80886	.013	5.6311	42.0761
G8	G2	-19.7833	9.82669	.056	-40.1114	.5447
	G4	-20.9417*	9.19203	.032	-39.9568	-1.9265
	G9	2.9119	9.46924	.761	-16.6767	22.5005
G9	G2	-22.6952*	9.46924	.025	-42.2839	-3.1066
	G4	-23.8536*	8.80886	.013	-42.0761	-5.6311
	G8	-2.9119	9.46924	.761	-22.5005	16.6767

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G9
 \$ compared to G8 and G9

รูปที่ 28 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic

3.3.4. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 3, 5, 8, 9

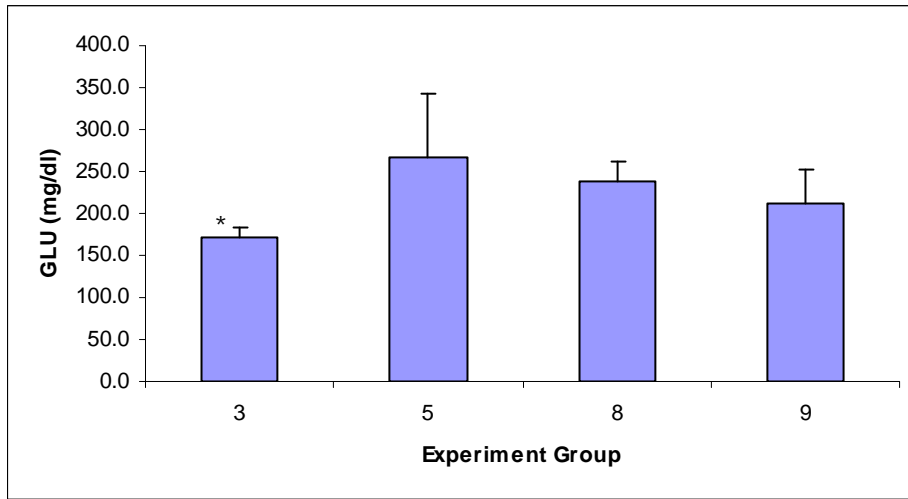
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 3,5, 8, 9 ของ Sub-chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GLU
 LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G3	G5	-94.5250*	30.47950	.006	-158.1041	-30.9459
	G8	-65.8583*	31.38953	.049	-131.3357	-.3809
	G9	-41.2393	30.47950	.191	-104.8184	22.3398
G5	G3	94.5250*	30.47950	.006	30.9459	158.1041
	G8	28.6667	27.05437	.302	-27.7678	85.1011
	G9	53.2857	25.99300	.054	-.9347	107.5062
G8	G3	65.8583*	31.38953	.049	.3809	131.3357
	G5	-28.6667	27.05437	.302	-85.1011	27.7678
	G9	24.6190	27.05437	.374	-31.8154	81.0535
G9	G3	41.2393	30.47950	.191	-22.3398	104.8184
	G5	-53.2857	25.99300	.054	-107.5062	.9347
	G8	-24.6190	27.05437	.374	-81.0535	31.8154

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G5 and G8

รูปที่ 29 สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

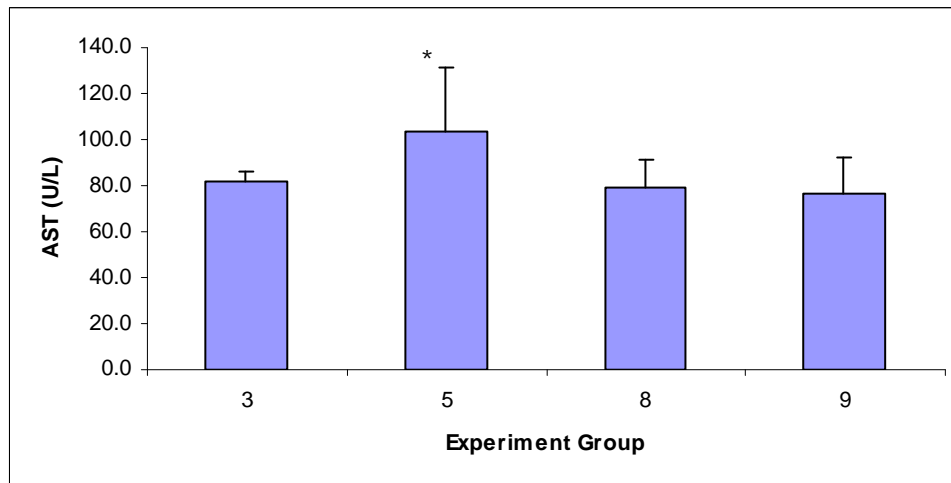
Multiple Comparisons

Dependent Variable: AST

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G3	G5	-21.8357	11.49518	.072	-45.8142	2.1428
	G8	2.5667	11.83839	.831	-22.1278	27.2611
	G9	5.4786	11.49518	.639	-18.4999	29.4571
G5	G3	21.8357	11.49518	.072	-2.1428	45.8142
	G8	24.4024*	10.20341	.027	3.1184	45.6863
	G9	27.3143*	9.80312	.011	6.8653	47.7632
G8	G3	-2.5667	11.83839	.831	-27.2611	22.1278
	G5	-24.4024*	10.20341	.027	-45.6863	-3.1184
	G9	2.9119	10.20341	.778	-18.3720	24.1958
G9	G3	-5.4786	11.49518	.639	-29.4571	18.4999
	G5	-27.3143*	9.80312	.011	-47.7632	-6.8653
	G8	-2.9119	10.20341	.778	-24.1958	18.3720

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 30 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

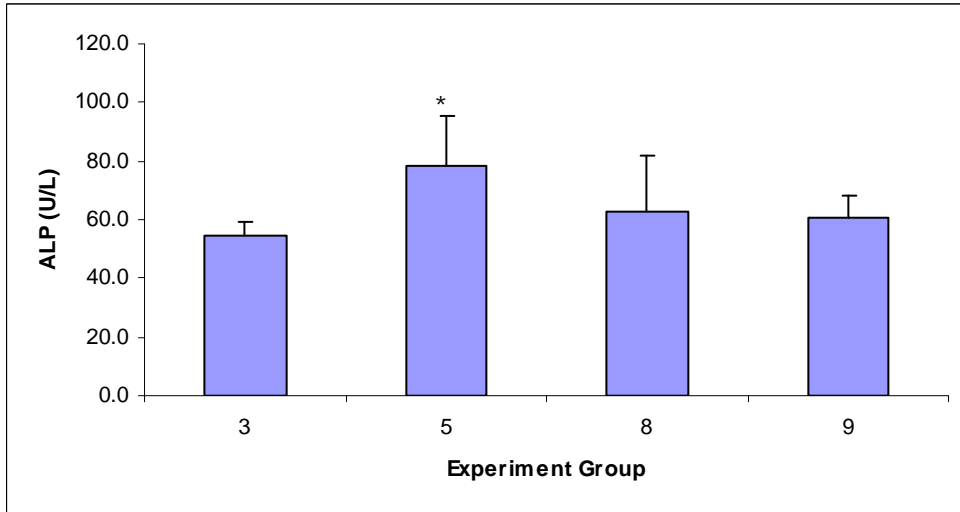
Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G3	G5	-24.0714*	8.71928	.012	-42.2595	-5.8833
	G8	-8.3333	8.97961	.364	-27.0645	10.3978
	G9	-6.3571	8.71928	.474	-24.5452	11.8310
G5	G3	24.0714*	8.71928	.012	5.8833	42.2595
	G8	15.7381	7.73945	.055	-.4061	31.8823
	G9	17.7143*	7.43583	.027	2.2034	33.2251
G8	G3	8.3333	8.97961	.364	-10.3978	27.0645
	G5	-15.7381	7.73945	.055	-31.8823	.4061
	G9	1.9762	7.73945	.801	-14.1680	18.1204
G9	G3	6.3571	8.71928	.474	-11.8310	24.5452
	G5	-17.7143*	7.43583	.027	-33.2251	-2.2034
	G8	-1.9762	7.73945	.801	-18.1204	14.1680

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G8 and G9

รูปที่ 31 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

3.3.5. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 4, 5, 8, 9

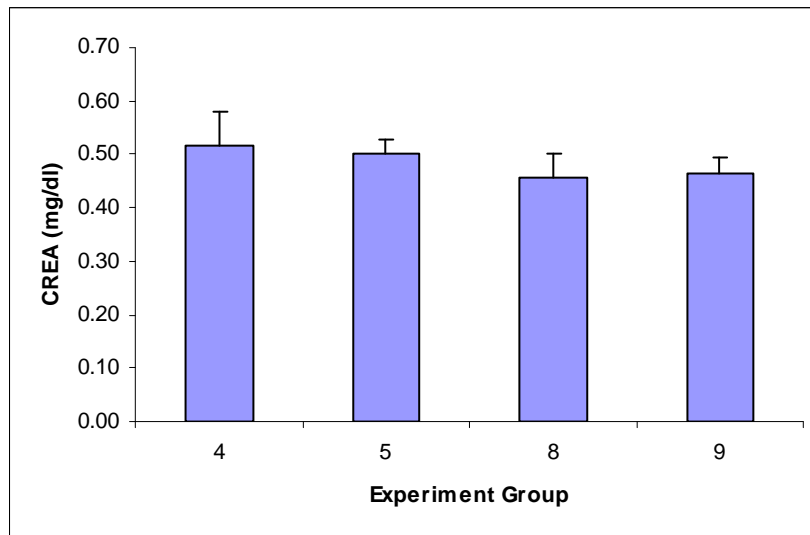
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: CREA
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	.0175	.02358	.465	-.0312	.0662
	G8	.0608*	.02461	.021	.0100	.1116
	G9	.0546*	.02358	.029	.0060	.1033
G5	G4	-.0175	.02358	.465	-.0662	.0312
	G8	.0433	.02535	.100	-.0090	.0957
	G9	.0371	.02436	.140	-.0131	.0874
G8	G4	-.0608*	.02461	.021	-.1116	-.0100
	G5	-.0433	.02535	.100	-.0957	.0090
	G9	-.0062	.02535	.809	-.0585	.0461
G9	G4	-.0546*	.02358	.029	-.1033	-.0060
	G5	-.0371	.02436	.140	-.0874	.0131
	G8	.0062	.02535	.809	-.0461	.0585

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 32 สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatinine ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ AST ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

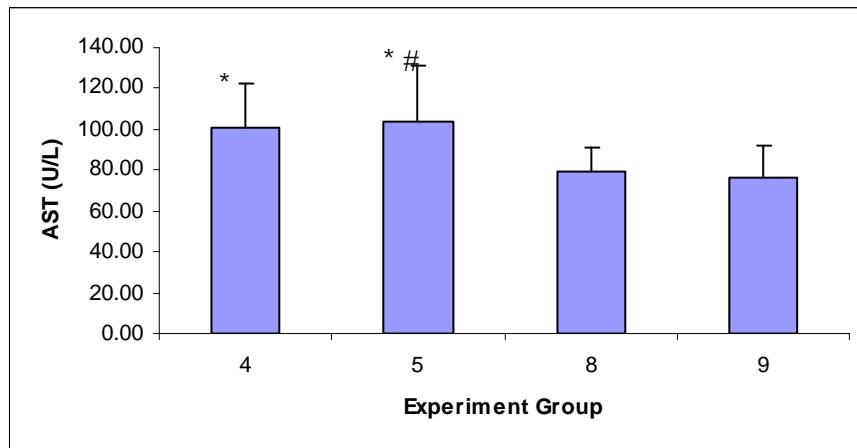
Multiple Comparisons

Dependent Variable: AST

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	-3.4607	10.51662	.745	-25.1660	18.2445
	G8	20.9417	10.97408	.068	-1.7077	43.5911
	G9	23.8536*	10.51662	.033	2.1483	45.5588
G5	G4	3.4607	10.51662	.745	-18.2445	25.1660
	G8	24.4024*	11.30503	.041	1.0699	47.7348
	G9	27.3143*	10.86152	.019	4.8972	49.7314
G8	G4	-20.9417	10.97408	.068	-43.5911	1.7077
	G5	-24.4024*	11.30503	.041	-47.7348	-1.0699
	G9	2.9119	11.30503	.799	-20.4205	26.2443
G9	G4	-23.8536*	10.51662	.033	-45.5588	-2.1483
	G5	-27.3143*	10.86152	.019	-49.7314	-4.8972
	G8	-2.9119	11.30503	.799	-26.2443	20.4205

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G8 and G9
compared to G8

รูปที่ 33 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ AST ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

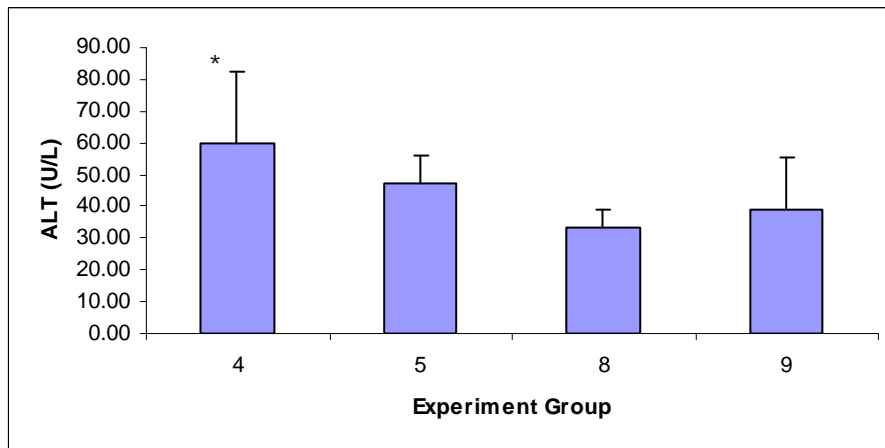
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALT ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALT
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	12.3000	8.09124	.142	-4.3995	28.9995
	G8	26.4333*	8.44320	.005	9.0074	43.8592
	G9	20.4571*	8.09124	.018	3.7576	37.1566
G5	G4	-12.3000	8.09124	.142	-28.9995	4.3995
	G8	14.1333	8.69782	.117	-3.8181	32.0848
	G9	8.1571	8.35660	.339	-9.0900	25.4043
G8	G4	-26.4333*	8.44320	.005	-43.8592	-9.0074
	G5	-14.1333	8.69782	.117	-32.0848	3.8181
	G9	-5.9762	8.69782	.499	-23.9276	11.9752
G9	G4	-20.4571*	8.09124	.018	-37.1566	-3.7576
	G5	-8.1571	8.35660	.339	-25.4043	9.0900
	G8	5.9762	8.69782	.499	-11.9752	23.9276

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G8 and G9

รูปที่ 34 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALT ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

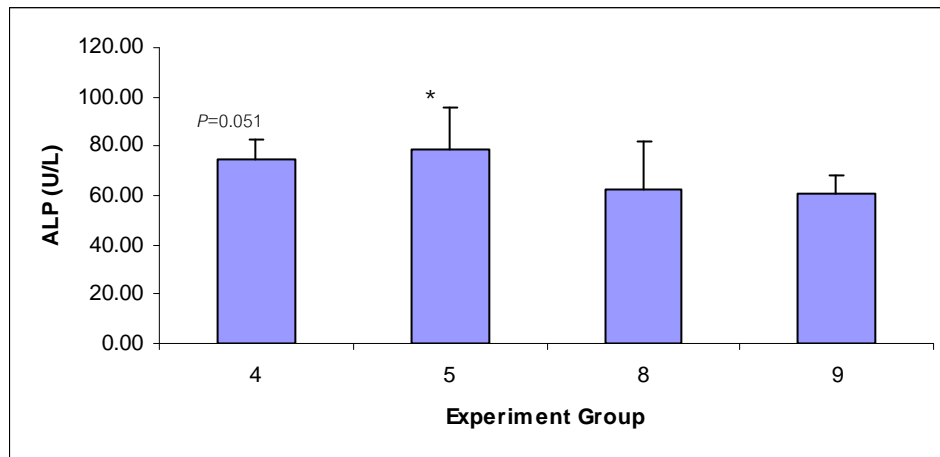
Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	-3.5714	6.89802	.609	-17.8082	10.6654
	G8	12.1667	7.19807	.104	-2.6894	27.0228
	G9	14.1429	6.89802	.051	-.0940	28.3797
G5	G4	3.5714	6.89802	.609	-10.6654	17.8082
	G8	15.7381*	7.41515	.044	.4340	31.0422
	G9	17.7143*	7.12424	.020	3.0106	32.4180
G8	G4	-12.1667	7.19807	.104	-27.0228	2.6894
	G5	-15.7381*	7.41515	.044	-31.0422	-.4340
	G9	1.9762	7.41515	.792	-13.3279	17.2803
G9	G4	-14.1429	6.89802	.051	-28.3797	.0940
	G5	-17.7143*	7.12424	.020	-32.4180	-3.0106
	G8	-1.9762	7.41515	.792	-17.2803	13.3279

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G8 and G9

รูปที่ 35 สถิติการเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

3.3.6. ข้อมูลเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สเปิร์ม (sperm)

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Sub-chronic

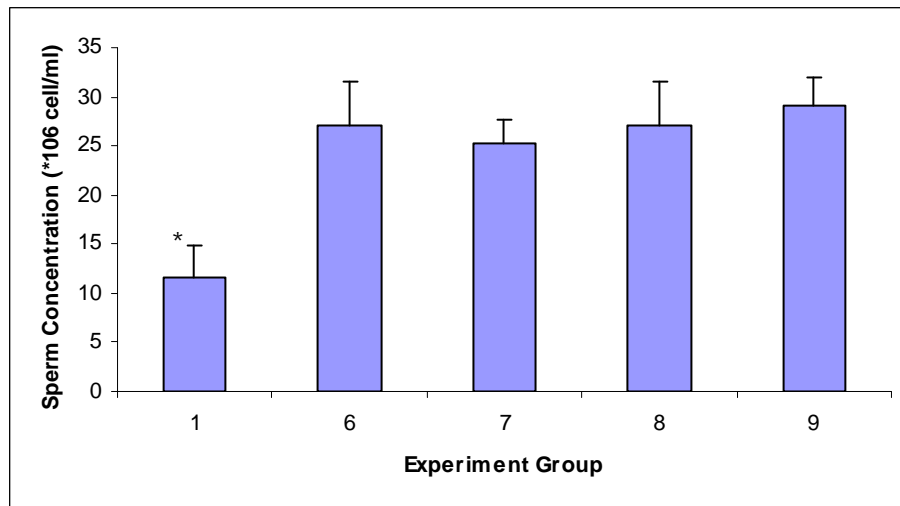
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G1	G6	-15.4000*	2.10600	.000	-19.6898	-11.1102
	G7	-13.6500*	2.10600	.000	-17.9398	-9.3602
	G8	-15.4000*	2.10600	.000	-19.6898	-11.1102
	G9	-17.4000*	2.10600	.000	-21.6898	-13.1102
G6	G1	15.4000*	2.10600	.000	11.1102	19.6898
	G7	1.7500	1.84708	.351	-2.0124	5.5124
	G8	.0000	1.84708	1.000	-3.7624	3.7624
	G9	-2.0000	1.84708	.287	-5.7624	1.7624
G7	G1	13.6500*	2.10600	.000	9.3602	17.9398
	G6	-1.7500	1.84708	.351	-5.5124	2.0124
	G8	-1.7500	1.84708	.351	-5.5124	2.0124
	G9	-3.7500	1.84708	.051	-7.5124	.0124
G8	G1	15.4000*	2.10600	.000	11.1102	19.6898
	G6	.0000	1.84708	1.000	-3.7624	3.7624
	G7	1.7500	1.84708	.351	-2.0124	5.5124
	G9	-2.0000	1.84708	.287	-5.7624	1.7624
G9	G1	17.4000*	2.10600	.000	13.1102	21.6898
	G6	2.0000	1.84708	.287	-1.7624	5.7624
	G7	3.7500	1.84708	.051	-.0124	7.5124
	G8	2.0000	1.84708	.287	-1.7624	5.7624

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G6, G7, G8, G9

รูปที่ 36 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Sub-chronic

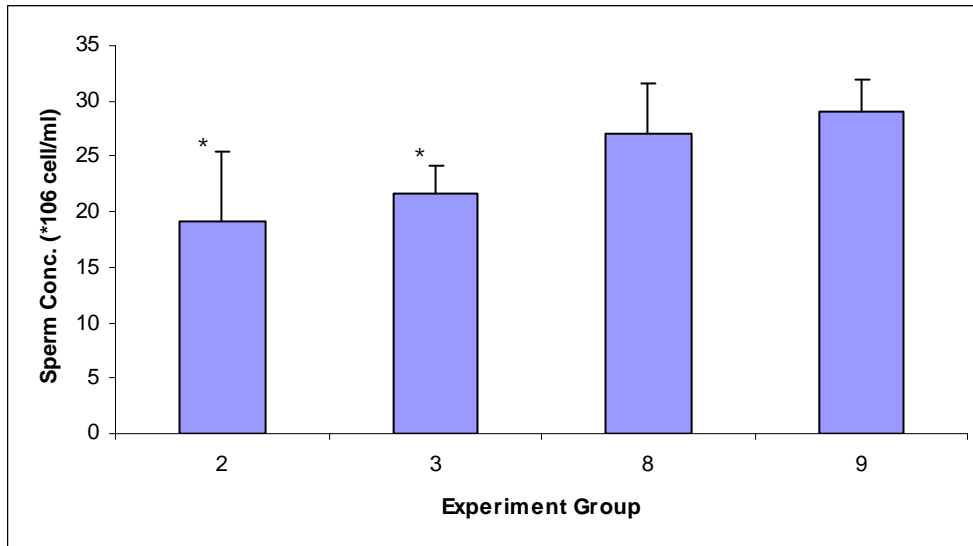
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G3	-2.4333	2.59999	.359	-7.8118	2.9452
	G8	-7.8333*	2.31889	.003	-12.6303	-3.0364
	G9	-9.8333*	2.31889	.000	-14.6303	-5.0364
G3	G2	2.4333	2.59999	.359	-2.9452	7.8118
	G8	-5.4000*	2.44781	.038	-10.4637	-.3363
	G9	-7.4000*	2.44781	.006	-12.4637	-2.3363
G8	G2	7.8333*	2.31889	.003	3.0364	12.6303
	G3	5.4000*	2.44781	.038	.3363	10.4637
	G9	-2.0000	2.14687	.361	-6.4411	2.4411
G9	G2	9.8333*	2.31889	.000	5.0364	14.6303
	G3	7.4000*	2.44781	.006	2.3363	12.4637
	G8	2.0000	2.14687	.361	-2.4411	6.4411

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G8, G9

รูปที่ 37 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic

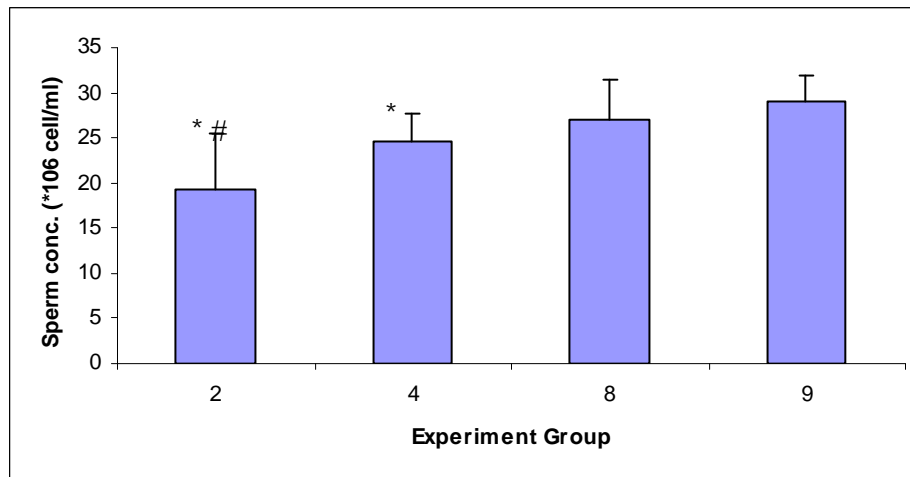
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G4	-5.4583*	2.29302	.025	-10.1717	-.7450
	G8	-7.8333*	2.29302	.002	-12.5467	-3.1200
	G9	-9.8333*	2.29302	.000	-14.5467	-5.1200
G4	G2	5.4583*	2.29302	.025	.7450	10.1717
	G8	-2.3750	2.12293	.273	-6.7387	1.9887
	G9	-4.3750*	2.12293	.049	-8.7387	-.0113
G8	G2	7.8333*	2.29302	.002	3.1200	12.5467
	G4	2.3750	2.12293	.273	-1.9887	6.7387
	G9	-2.0000	2.12293	.355	-6.3637	2.3637
G9	G2	9.8333*	2.29302	.000	5.1200	14.5467
	G4	4.3750*	2.12293	.049	.0113	8.7387
	G8	2.0000	2.12293	.355	-2.3637	6.3637

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* compared to G4, G8, G9

compared to G4

รูปที่ 38 สถิติการเปรียบเทียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 4, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

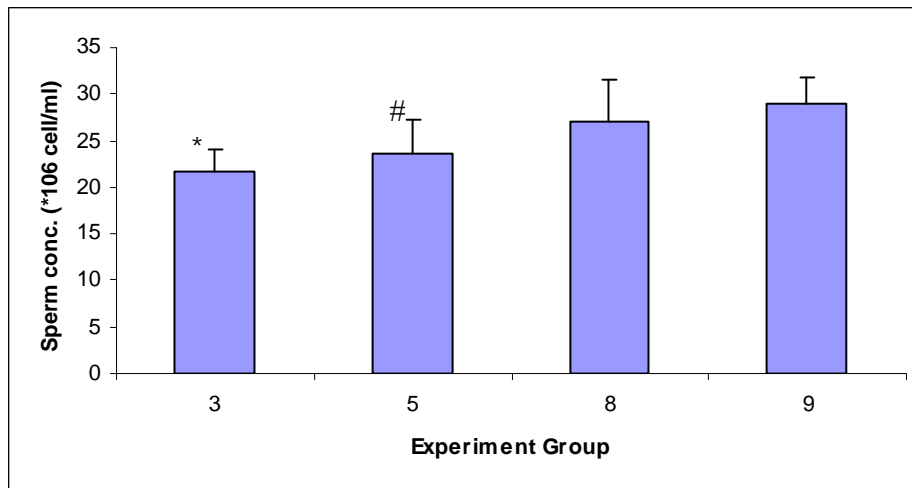
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G3	G5	-2.1143	2.07236	.318	-6.3914	2.1629
	G8	-5.4000*	2.01767	.013	-9.5643	-1.2357
	G9	-7.4000*	2.01767	.001	-11.5643	-3.2357
G5	G3	2.1143	2.07236	.318	-2.1629	6.3914
	G8	-3.2857	1.83173	.085	-7.0662	.4948
	G9	-5.2857*	1.83173	.008	-9.0662	-1.5052
G8	G3	5.4000*	2.01767	.013	1.2357	9.5643
	G5	3.2857	1.83173	.085	-.4948	7.0662
	G9	-2.0000	1.76962	.270	-5.6523	1.6523
G9	G3	7.4000*	2.01767	.001	3.2357	11.5643
	G5	5.2857*	1.83173	.008	1.5052	9.0662
	G8	2.0000	1.76962	.270	-1.6523	5.6523

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G8 and G9

#compared to G9

รูปที่ 39 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 3, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

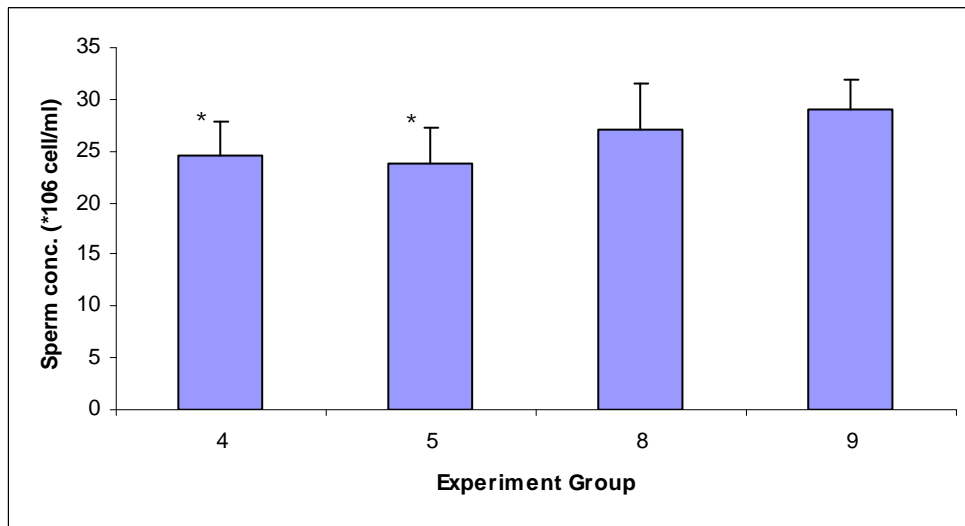
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	.9107	1.85085	.627	-2.8869	4.7083
	G8	-2.3750	1.78809	.195	-6.0439	1.2939
	G9	-4.3750*	1.78809	.021	-8.0439	-.7061
G5	G4	-.9107	1.85085	.627	-4.7083	2.8869
	G8	-3.2857	1.85085	.087	-7.0833	.5119
	G9	-5.2857*	1.85085	.008	-9.0833	-1.4881
G8	G4	2.3750	1.78809	.195	-1.2939	6.0439
	G5	3.2857	1.85085	.087	-.5119	7.0833
	G9	-2.0000	1.78809	.273	-5.6689	1.6689
G9	G4	4.3750*	1.78809	.021	.7061	8.0439
	G5	5.2857*	1.85085	.008	1.4881	9.0833
	G8	2.0000	1.78809	.273	-1.6689	5.6689

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G9

รูปที่ 40 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Sub-chronic

3.4. สถิติการเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Chronic (ภาคผนวก ง)

3.4.1. ข้อมูล chronic เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9

ผลของระดับ Glu ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.067$)

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

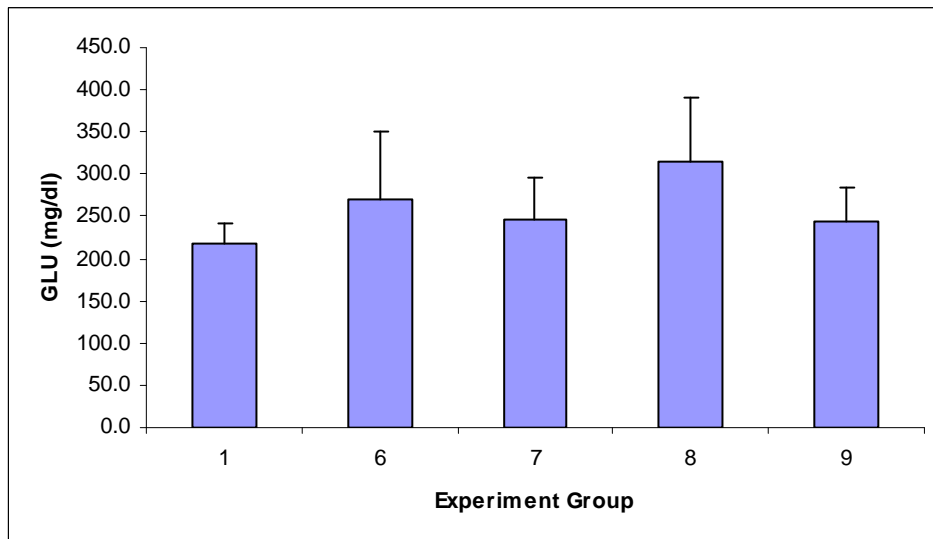
Test of Homogeneity of Variances

GLU

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.188	4	37	.007

Ranks

	EXP	N	Mean Rank
GLU	G1	7	10.00
	G6	8	17.25
	G7	10	15.70
	G8	7	23.29
	Total	32	



รูปที่ 41 สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

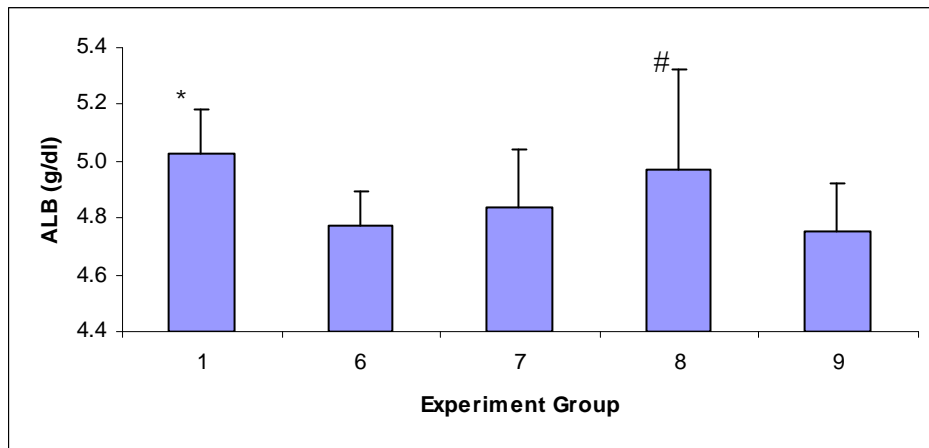
Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALB

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G1	G6	.2536*	.10805	.024	.0346	.4725
	G7	.1886	.10288	.075	-.0199	.3970
	G8	.0571	.11159	.612	-.1690	.2832
	G9	.2786*	.10288	.010	.0701	.4870
G6	G1	-.2536*	.10805	.024	-.4725	-.0346
	G7	-.0650	.09903	.516	-.2656	.1356
	G8	-.1964	.10805	.077	-.4154	.0225
	G9	.0250	.09903	.802	-.1756	.2256
G7	G1	-.1886	.10288	.075	-.3970	.0199
	G6	.0650	.09903	.516	-.1356	.2656
	G8	-.1314	.10288	.209	-.3399	.0770
	G9	.0900	.09336	.341	-.0992	.2792
G8	G1	-.0571	.11159	.612	-.2832	.1690
	G6	.1964	.10805	.077	-.0225	.4154
	G7	.1314	.10288	.209	-.0770	.3399
	G9	.2214*	.10288	.038	.0130	.4299
G9	G1	-.2786*	.10288	.010	-.4870	-.0701
	G6	-.0250	.09903	.802	-.2256	.1756
	G7	-.0900	.09336	.341	-.2792	.0992
	G8	-.2214*	.10288	.038	-.4299	-.0130

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G6 and G9

#compared to G9

รูปที่ 42 สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

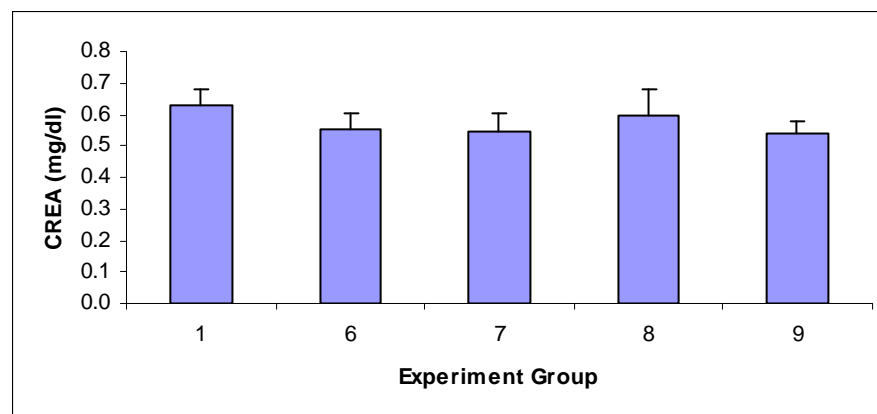
Multiple Comparisons

Dependent Variable: CREA

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G1	G6	.0732*	.02961	.018	.0132	.1332
	G7	.0817*	.02820	.006	.0246	.1388
	G8	.0300	.03059	.333	-.0320	.0920
	G9	.0887*	.02820	.003	.0316	.1458
G6	G1	-.0732*	.02961	.018	-.1332	-.0132
	G7	.0085	.02714	.756	-.0465	.0635
	G8	-.0432	.02961	.153	-.1032	.0168
	G9	.0155	.02714	.571	-.0395	.0705
G7	G1	-.0817*	.02820	.006	-.1388	-.0246
	G6	-.0085	.02714	.756	-.0635	.0465
	G8	-.0517	.02820	.075	-.1088	.0054
	G9	.0070	.02559	.786	-.0448	.0588
G8	G1	-.0300	.03059	.333	-.0920	.0320
	G6	.0432	.02961	.153	-.0168	.1032
	G7	.0517	.02820	.075	-.0054	.1088
	G9	.0587*	.02820	.044	.0016	.1158
G9	G1	-.0887*	.02820	.003	-.1458	-.0316
	G6	-.0155	.02714	.571	-.0705	.0395
	G7	-.0070	.02559	.786	-.0588	.0448
	G8	-.0587*	.02820	.044	-.1158	-.0016

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G6, G7, G9

#compared to G9

รูปที่ 43 สถิติการเปรียบเทียบค่า Creatinine ในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์ม ในกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

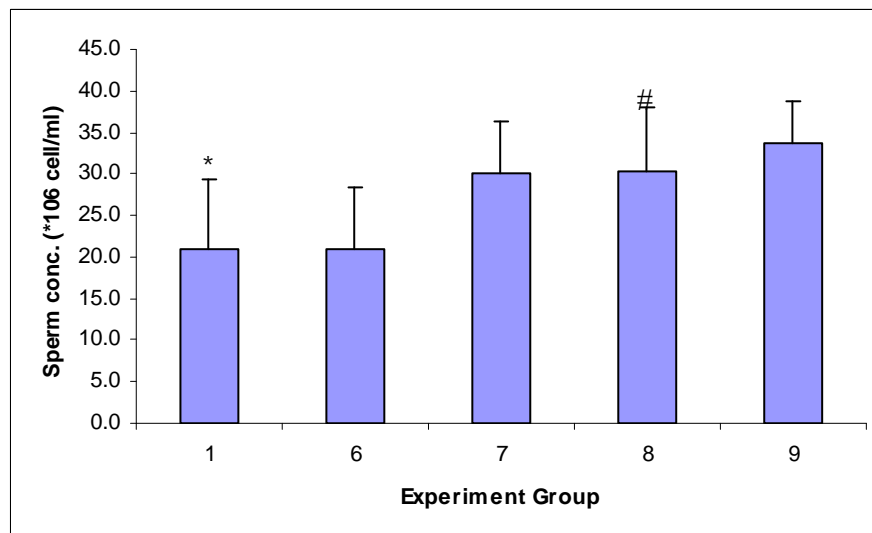
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G1	G6	-.0179	3.59916	.996	-7.3040	7.2683
	G7	-9.2429*	3.42708	.010	-16.1806	-2.3051
	G8	-9.3929*	3.59916	.013	-16.6790	-2.1067
	G9	-12.9429*	3.42708	.001	-19.8806	-6.0051
G6	G1	.0179	3.59916	.996	-7.2683	7.3040
	G7	-9.2250*	3.29868	.008	-15.9028	-2.5472
	G8	-9.3750*	3.47712	.010	-16.4141	-2.3359
	G9	-12.9250*	3.29868	.000	-19.6028	-6.2472
G7	G1	9.2429*	3.42708	.010	2.3051	16.1806
	G6	9.2250*	3.29868	.008	2.5472	15.9028
	G8	-.1500	3.29868	.964	-6.8278	6.5278
	G9	-3.7000	3.11003	.242	-9.9959	2.5959
G8	G1	9.3929*	3.59916	.013	2.1067	16.6790
	G6	9.3750*	3.47712	.010	2.3359	16.4141
	G7	.1500	3.29868	.964	-6.5278	6.8278
	G9	-3.5500	3.29868	.289	-10.2278	3.1278
G9	G1	12.9429*	3.42708	.001	6.0051	19.8806
	G6	12.9250*	3.29868	.000	6.2472	19.6028
	G7	3.7000	3.11003	.242	-2.5959	9.9959
	G8	3.5500	3.29868	.289	-3.1278	10.2278

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G7, G8, G9

รูปที่ 44 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 1, 6, 7, 8, 9 ของ Chronic

3.4.2. ข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 3, 8, 9

ตารางที่ 20 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

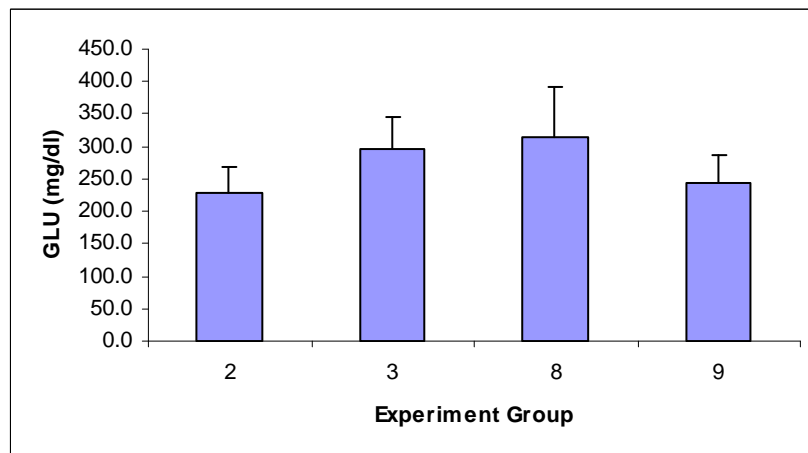
Multiple Comparisons

Dependent Variable: GLU

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G3	-69.9071*	27.01437	.015	-125.2436	-14.5707
	G8	-87.4286*	27.90032	.004	-144.5798	-30.2774
	G9	-17.6271	25.72282	.499	-70.3180	35.0637
G3	G2	69.9071*	27.01437	.015	14.5707	125.2436
	G8	-17.5214	27.01437	.522	-72.8579	37.8150
	G9	52.2800*	24.75908	.044	1.5633	102.9967
G8	G2	87.4286*	27.90032	.004	30.2774	144.5798
	G3	17.5214	27.01437	.522	-37.8150	72.8579
	G9	69.8014*	25.72282	.011	17.1106	122.4922
G9	G2	17.6271	25.72282	.499	-35.0637	70.3180
	G3	-52.2800*	24.75908	.044	-102.9967	-1.5633
	G8	-69.8014*	25.72282	.011	-122.4922	-17.1106

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 45 สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALB

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G3	.0321	.13164	.809	-.2375	.3018
	G8	-.3143*	.13596	.028	-.5928	-.0358
	G9	-.0929	.12535	.465	-.3496	.1639
G3	G2	-.0321	.13164	.809	-.3018	.2375
	G8	-.3464*	.13164	.014	-.6161	-.0768
	G9	-.1250	.12065	.309	-.3721	.1221
G8	G2	.3143*	.13596	.028	.0358	.5928
	G3	.3464*	.13164	.014	.0768	.6161
	G9	.2214	.12535	.088	-.0353	.4782
G9	G2	.0929	.12535	.465	-.1639	.3496
	G3	.1250	.12065	.309	-.1221	.3721
	G8	-.2214	.12535	.088	-.4782	.0353

*. The mean difference is significant at the .05 level.

ANOVA

ALB

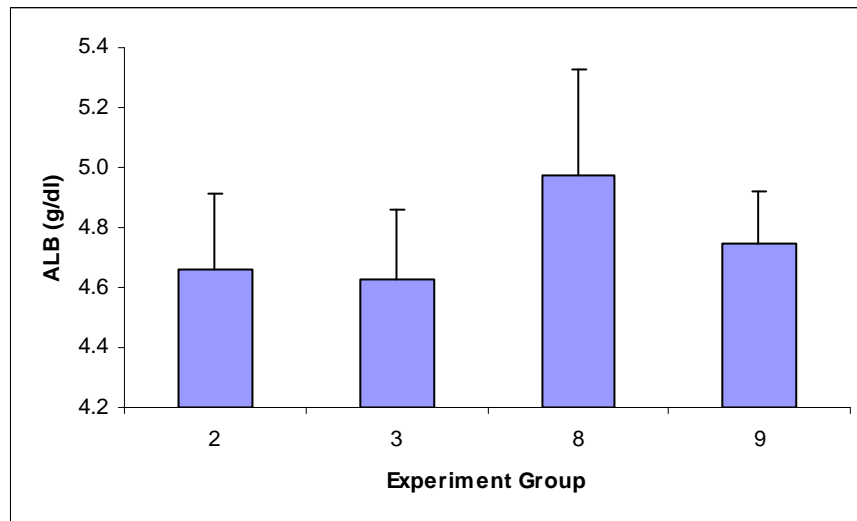
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.528	3	.176	2.722	.063
Within Groups	1.811	28	.065		
Total	2.340	31			

Test of Homogeneity of Variances

ALB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.736	3	28	.539

ข้อสังเกต: ANOVA ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.063$) แต่ Homogeneity of Variance มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 46 สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 22 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

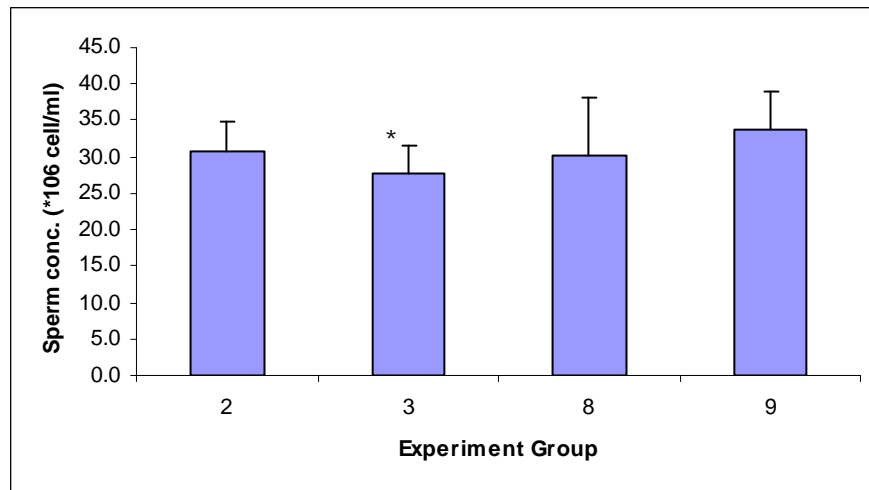
Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G2	G3	3.0476	2.73643	.274	-2.5409	8.6362
	G8	.4643	2.81026	.870	-5.2750	6.2036
	G9	-3.0857	2.67591	.258	-8.5506	2.3792
G3	G2	-3.0476	2.73643	.274	-8.6362	2.5409
	G8	-2.5833	2.63848	.335	-7.9718	2.8052
	G9	-6.1333*	2.49489	.020	-11.2286	-1.0381
G8	G2	-.4643	2.81026	.870	-6.2036	5.2750
	G3	2.5833	2.63848	.335	-2.8052	7.9718
	G9	-3.5500	2.57565	.178	-8.8102	1.7102
G9	G2	3.0857	2.67591	.258	-2.3792	8.5506
	G3	6.1333*	2.49489	.020	1.0381	11.2286
	G8	3.5500	2.57565	.178	-1.7102	8.8102

*. The mean difference is significant at the .05 level.



*compared to G9

รูปที่ 47 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 2, 3, 8, 9 ของ Chronic

3.4.3. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 4, 8, 9

ไม่มีค่าใดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.4. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 3, 5, 8, 9

ไม่มีค่าใดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.5. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 4, 5, 8, 9

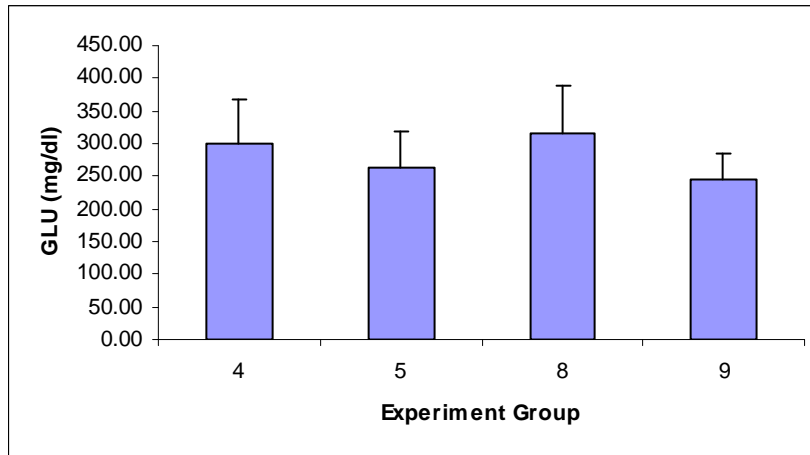
ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Blood glucose ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GLU
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	35.4057	30.11921	.249	-26.1059	96.9174
	G8	-15.3514	30.11921	.614	-76.8631	46.1602
	G9	54.4500	27.33274	.056	-1.3709	110.2709
G5	G4	-35.4057	30.11921	.249	-96.9174	26.1059
	G8	-50.7571	32.66887	.131	-117.4759	15.9616
	G9	19.0443	30.11921	.532	-42.4674	80.5559
G8	G4	15.3514	30.11921	.614	-46.1602	76.8631
	G5	50.7571	32.66887	.131	-15.9616	117.4759
	G9	69.8014*	30.11921	.027	8.2898	131.3131
G9	G4	-54.4500	27.33274	.056	-110.2709	1.3709
	G5	-19.0443	30.11921	.532	-80.5559	42.4674
	G8	-69.8014*	30.11921	.027	-131.3131	-8.2898

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 48 สถิติการเปรียบเทียบค่า Blood glucose ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

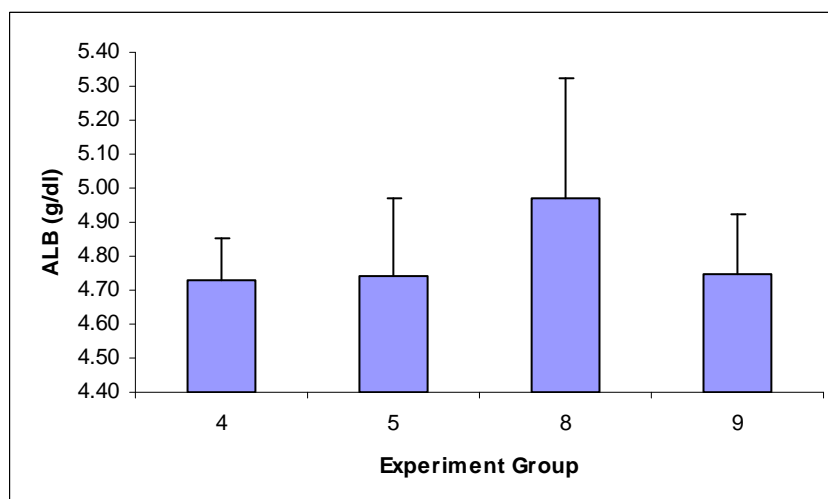
ตารางที่ 24 การวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของ ALB ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALB
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	-.0129	.10936	.907	-.2362	.2105
	G8	-.2414*	.10936	.035	-.4648	-.0181
	G9	-.0200	.09924	.842	-.2227	.1827
G5	G4	.0129	.10936	.907	-.2105	.2362
	G8	-.2286	.11862	.064	-.4708	.0137
	G9	-.0071	.10936	.948	-.2305	.2162
G8	G4	.2414*	.10936	.035	.0181	.4648
	G5	.2286	.11862	.064	-.0137	.4708
	G9	.2214	.10936	.052	-.0019	.4448
G9	G4	.0200	.09924	.842	-.1827	.2227
	G5	.0071	.10936	.948	-.2162	.2305
	G8	-.2214	.10936	.052	-.4448	.0019

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 49 สถิติการเปรียบเทียบค่า ALB ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 25 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ Creatinine ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: CREA
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	.0099	.02884	.735	-.0490	.0688
	G8	-.0187	.02884	.521	-.0776	.0402
	G9	.0400	.02617	.137	-.0134	.0934
G5	G4	-.0099	.02884	.735	-.0688	.0490
	G8	-.0286	.03128	.368	-.0925	.0353
	G9	.0301	.02884	.304	-.0288	.0890
G8	G4	.0187	.02884	.521	-.0402	.0776
	G5	.0286	.03128	.368	-.0353	.0925
	G9	.0587	.02884	.051	-.0002	.1176
G9	G4	-.0400	.02617	.137	-.0934	.0134
	G5	-.0301	.02884	.304	-.0890	.0288
	G8	-.0587	.02884	.051	-.1176	.0002

ตารางที่ 26 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอนไซม์ ALP ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	-4.6857	3.96880	.247	-12.7911	3.4197
	G8	.3143	3.96880	.937	-7.7911	8.4197
	G9	3.1000	3.60163	.396	-4.2555	10.4555
G5	G4	4.6857	3.96880	.247	-3.4197	12.7911
	G8	5.0000	4.30477	.255	-3.7915	13.7915
	G9	7.7857	3.96880	.059	-.3197	15.8911
G8	G4	-.3143	3.96880	.937	-8.4197	7.7911
	G5	-5.0000	4.30477	.255	-13.7915	3.7915
	G9	2.7857	3.96880	.488	-5.3197	10.8911
G9	G4	-3.1000	3.60163	.396	-10.4555	4.2555
	G5	-7.7857	3.96880	.059	-15.8911	.3197
	G8	-2.7857	3.96880	.488	-10.8911	5.3197

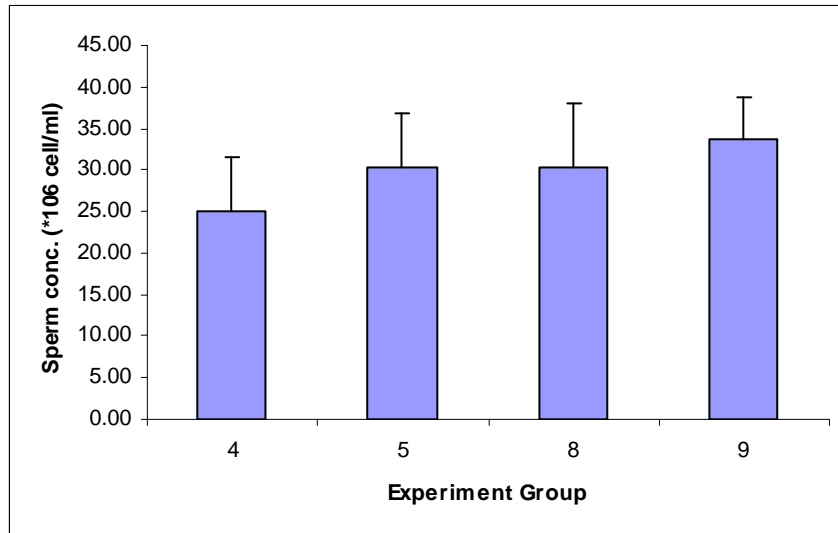
ตารางที่ 27 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนสเปิร์มในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SPRM
LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G4	G5	-4.4000	3.03770	.158	-10.5954	1.7954
	G8	-6.0429	3.15594	.065	-12.4794	.3937
	G9	-8.7000*	2.86397	.005	-14.5411	-2.8589
G5	G4	4.4000	3.03770	.158	-1.7954	10.5954
	G8	-1.6429	3.31440	.624	-8.4026	5.1169
	G9	-4.3000	3.03770	.167	-10.4954	1.8954
G8	G4	6.0429	3.15594	.065	-.3937	12.4794
	G5	1.6429	3.31440	.624	-5.1169	8.4026
	G9	-2.6571	3.15594	.406	-9.0937	3.7794
G9	G4	8.7000*	2.86397	.005	2.8589	14.5411
	G5	4.3000	3.03770	.167	-1.8954	10.4954
	G8	2.6571	3.15594	.406	-3.7794	9.0937

*. The mean difference is significant at the .05 level.



รูปที่ 50 สถิติการเปรียบเทียบจำนวนสเปิร์มในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 28 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ TG ในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

Test of Homogeneity of Variances

TG

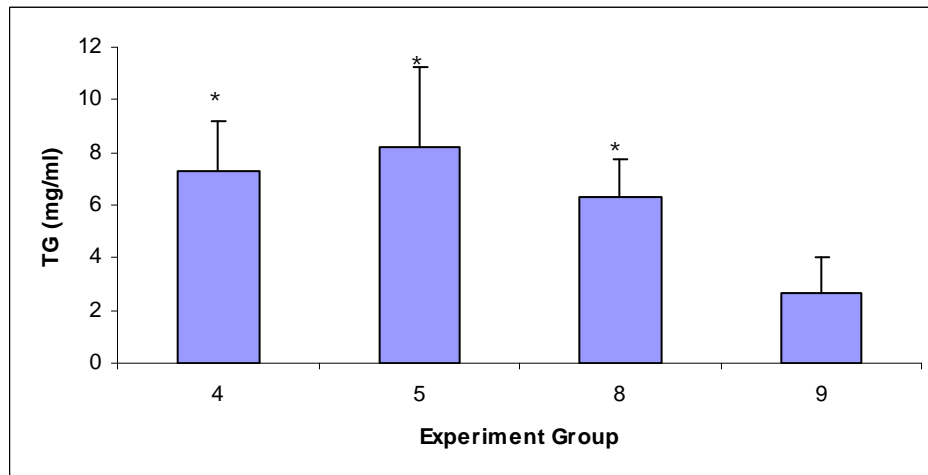
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.642	3	23	.011

Test Statistics^{a,b}

	TG
Chi-Square	16.855
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: EXP



*compared to G9

รูปที่ 51 สถิติการเปรียบเทียบ TG ในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

ตารางที่ 29 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคอเลสเตอรอลในกลุ่ม 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

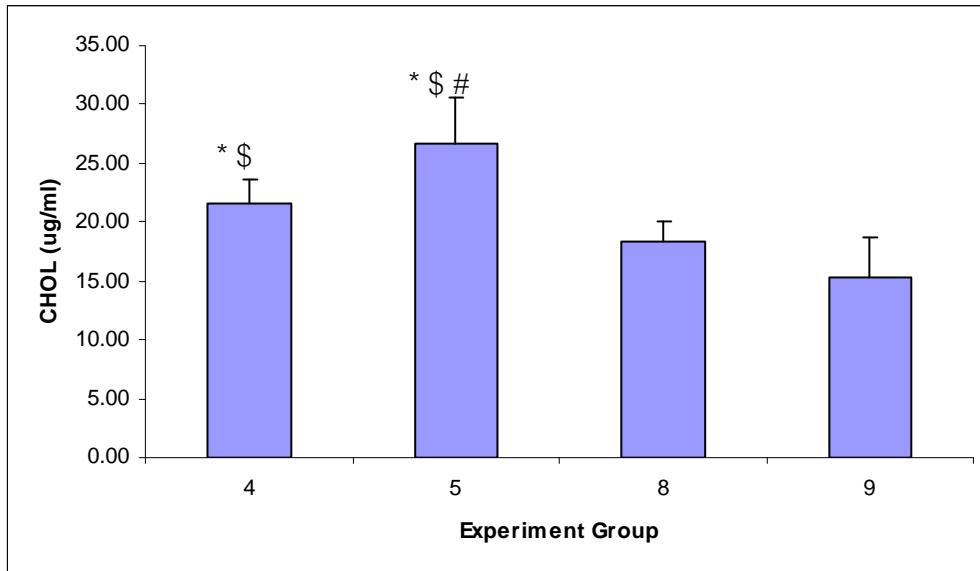
Multiple Comparisons

Dependent Variable: CHOLEST

LSD

(I) EXP	(J) EXP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
G9	G4	-6.1546*	1.66251	.001	-9.6024	-2.7067
	G5	-11.3517*	1.66251	.000	-14.7996	-7.9039
	G8	-2.9460	1.66251	.090	-6.3938	.5018
G4	G9	6.1546*	1.66251	.001	2.7067	9.6024
	G5	-5.1971*	1.51766	.002	-8.3446	-2.0497
	G8	3.2086*	1.51766	.046	.0611	6.3560
G5	G9	11.3517*	1.66251	.000	7.9039	14.7996
	G4	5.1971*	1.51766	.002	2.0497	8.3446
	G8	8.4057*	1.51766	.000	5.2583	11.5531
G8	G9	2.9460	1.66251	.090	-.5018	6.3938
	G4	-3.2086*	1.51766	.046	-6.3560	-.0611
	G5	-8.4057*	1.51766	.000	-11.5531	-5.2583

*. The mean difference is significant at the .05 level.



* เปรียบเทียบกับกลุ่ม G9
#เปรียบเทียบกับกลุ่ม G4
\$ เปรียบเทียบกับกลุ่ม G8

รูปที่ 52 สถิติการเปรียบเทียบปริมาณคอเลสเตอรอลในกลุ่มการทดลอง 4, 5, 8, 9 ของ Chronic

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1. ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic)

การรอดชีวิตของหนูในกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ลดลงค่อนข้างมาก อาจมีสาเหตุจากเทคนิคของการป้อนสาร ประกอบกับชนิดของตัวอย่างทดสอบที่มีสารพิษในกลุ่มของสารระเหยง่ายผสมอยู่ เพราะเมื่อทำการผ่านสูตรแล้ว พบฟองอากาศอยู่จำนวนมาก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุการตายในเบื้องต้น อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อในขั้นต่อไป

การใช้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศเมีย โดยได้รับแอลกอฮอล์ปริมาณ 5 g/kg BW ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแอลกอฮอล์สามารถชักนำให้มีการสะสมไขมันมากขึ้น เช่น ไขมันอุดตันในเส้นเลือดรวมทั้งทำให้เกิดการอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อตับเพิ่มมากขึ้น (Enomoto et al., 1999) ซึ่งจะสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าแอลกอฮอล์ชักนำให้เกิดการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับมากขึ้น ทำให้กลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์อย่างเดียวยุติวัน (กลุ่มที่ 8) มีสัดส่วนของน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เซลล์ตับซึ่งทำหน้าที่กำจัดสารพิษที่ได้รับจากภายนอกหรือสร้างจากร่างกายเอง การทดสอบการทำงานของตับสามารถทำได้โดยการตรวจวัดปริมาณเอนไซม์ ได้แก่ AST, ALT และ ALP ซึ่งสามารถบ่งชี้ว่ามีการทำลายหรือซ่อมแซมเซลล์ตับ การศึกษาของชาวอิตาลีพบว่าแอลกอฮอล์น่าจะเป็นสาเหตุของการป่วยเป็นโรคตับถึง 23% และพบว่าการวิเคราะห์จำแนกเอนไซม์ตับ จากผลของน้ำหนักตัวหรือการบริโภคแอลกอฮอล์มีความแตกต่างกัน (Duk-Hee et al., 2001) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของระดับ ALT ใช้ในการวินิจฉัย hepatic necrosis และระดับของเอนไซม์ AST จะสูงขึ้นโดยเร็วหลังจากเกิดเนื้อตาย เนื่องจากตับถูกทำลายทำให้เอนไซม์ออกจากเซลล์ที่ถูกทำลายเข้าสู่กระแสเลือด (Kramer and Hoffmann, 1997) และอัตราส่วนของ AST ต่อ ALT บ่งบอกถึงการที่ตับได้รับความเสียหายจากปริมาณของแอลกอฮอล์ (Sydney, 2006) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณเอนไซม์ AST, ALT และ ALP ในหนูทดลองที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษและสุราจริงมีระดับสูงกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการตรวจวัดระดับสารเคมีในเลือดพบว่า กลูโคสมีปริมาณสูงขึ้นมีแนวโน้มของการเป็นโรคเบาหวานและเริ่มก่อให้เกิดความผิดปกติของไตเมื่อตรวจพบปริมาณ Creatinine และ Uric acid ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วย แต่ยังไม่ชัดเจน เนื่องจากต้องใช้ค่า BUN มาประกอบการวินิจฉัย ซึ่งค่านี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติสำหรับการก่อให้เกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง

จากการนับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มทดลอง ตลอดจนความสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ที่สังเกตจากการเคลื่อนไหวที่ช้าลงด้วย แสดงให้เห็นความไม่สมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ที่สูงขึ้นทำให้การเคลื่อนที่ช้าลง โอกาสประสบความสำเร็จในการสืบพันธุ์ก็น้อยลงด้วย อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

จากการศึกษาโครงสร้างในระดับจุลกายวิภาคศาสตร์ของตับ พบว่าทุกกลุ่มของเซลล์ตับที่ได้แอลกอฮอล์มีลักษณะบวม ซึ่งแสดงถึงการได้รับบาดเจ็บ และเกิดการอักเสบของเซลล์ตับ หากเปรียบเทียบปริมาณของเซลล์

ที่ได้รับบาดเจ็บ ระหว่างกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์ในความถี่ที่แตกต่างกัน พบว่าในกลุ่มที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษทุกวัน จะมีปริมาณเซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษในความถี่ที่น้อยกว่า

4.2. ผลกระทบต่อสุขภาพก่อให้เกิดพิษแบบเรื้อรัง (Chronic)

ในกลุ่มการทดลองแบบเรื้อรังจะพบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มน้อย ถ้าเปรียบเทียบกลุ่มที่ได้รับสารพิษเหมือนกัน ได้แก่ ethanol+acetaldehyde+methanol+formaldehyde แต่ปริมาณความถี่ที่ได้รับต่างกันคือ กลุ่ม 1, 6 และ 7 (เรียงจากมากไปน้อย) จะไม่พบความแตกต่างของค่าเคมีคลินิก ส่วนกลุ่ม 2 และ 3 ที่ได้รับสาร ethanol+acetaldehyde มีความเข้มข้นของ acetaldehyde สูงสุด และปานกลางตามลำดับ พบความแตกต่างของ glucose มีระดับสูงกว่ามากแต่ยังน้อยกว่ากลุ่ม 8 (positive control; ethanol) ถ้าเปรียบเทียบความแตกต่างกับกลุ่มอื่นเป็นคู่ พบว่ามีความแตกต่างของค่าเคมีคลินิกหลายค่า เช่น glucose, crea, chol, trig, tpr, alb ส่วนกลุ่ม 1 และ 2 ที่ได้รับปริมาณ acetaldehyde สูงสุด พบว่ามีค่า ua สูงกว่ากลุ่ม 9 (negative control; water) สามารถบ่งชี้ถึงภาวะของไตผิดปกติ โดยกลุ่มที่ 1 พบค่า crea สูงร่วมด้วยแสดงถึงแนวโน้มของภาวะไตล้มเหลว แต่ยังไม่พบอาการทางตับที่ชัดเจน อาจเป็นเพราะอยู่ในภาวะของ recovery ของตับ ทำให้ค่าเอนไซม์ไม่แตกต่างรวมทั้งค่า total bilirubin

จากการทดลองพบว่าหนูที่ได้รับสุราจริงที่มีอะซิทัลดีไฮด์สูงสุด และได้รับ 35% (v/v) เอทิลแอลกอฮอล์แบบเรื้อรัง มีอัตราส่วนของน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับน้ำกลั่น นอกจากนี้ยังพบว่าหนูที่ได้รับสุราจริงทั้งสองยี่ห้อที่มีปริมาณคอเลสเตอรอลในตับสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และจากการศึกษาชนิดของไขมันที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดไขมันที่ได้จากชิ้นส่วนตับหนูโดยเทคนิค TLC พบว่ามีไขมันชนิด ไตรกลีเซอไรด์, กรดไขมันโอเลอิก และ คอเลสเตอรอล โดยเปรียบเทียบกับไขมันมาตรฐาน อย่างไรก็ตามยังมี spot ไขมันตัวอย่าง เป็นองค์ประกอบในไขมันตัวอย่างที่ไม่สามารถระบุชนิดของไขมันได้ (รูปที่ 18) ดังนั้นหากเพิ่มชนิดของไขมันมาตรฐานจะทำให้ทราบชนิดของไขมันอื่นๆ มากขึ้น กล่าวโดยสรุปจะเห็นว่า การได้รับแอลกอฮอล์จากสุราที่มีสารพิษอะซิทัลดีไฮด์ปนเปื้อนในปริมาณสูงแบบเรื้อรัง จะส่งผลให้เกิดการสะสมของไขมันที่ตับซึ่งเป็นอาการแสดงออกเริ่มแรกของการเกิดพยาธิสภาพที่ตับ ซึ่งหากร่างกายยังคงได้รับแอลกอฮอล์ปริมาณสูง และ/หรือมีสารพิษปนเปื้อนแบบเรื้อรังก็อาจทำให้เกิดการพัฒนาของโรคไปสู่ภาวะตับอักเสบ ตับแข็ง หรือแม้แต่มะเร็งตับได้ (Diehl 2001)

การศึกษาผลกระทบต่อเนื่องพบว่า แอลกอฮอล์ชักนำให้เกิดการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับมากขึ้น ทำให้กลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์ทุกกลุ่ม มีสัดส่วนของน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการนับจำนวนเซลล์สีบัพนัฏที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มทดลอง ตลอดจนความสมบูรณ์ของเซลล์สีบัพนัฏที่สังเกตจากการเคลื่อนไหวที่ช้าลงด้วย แสดงให้เห็นความไม่สมบูรณ์ของเซลล์สีบัพนัฏที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) ทำให้การเคลื่อนที่ช้าลง โอกาสประสบความสำเร็จในการสีบัพนัฏก็น้อยลงด้วย

นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์สืบพันธุ์มีความสมบูรณ์มากขึ้นเมื่อเทียบกับการศึกษาแบบกึ่งเรื้อรัง เนื่องจากพบเกรด A ของเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการเคลื่อนที่ดีที่สุดที่สุด แต่ไม่พบในการศึกษาแบบกึ่งเรื้อรัง

ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม โดยวิธีไมโครนิวเลียสในเม็ดเลือดแดง ในกลุ่มที่หนูที่ได้รับอัลทอกฮอส์และสารพิษร่วมในกลุ่มที่คาดว่าจะได้รับผลกระทบรุนแรงที่สุด (กลุ่มที่ 1) กลุ่มที่ได้รับอัลทอกฮอส์เพียงอย่างเดียวทุกวัน (กลุ่มที่ 8) และกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 9) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งแสดงถึงอัลทอกฮอส์และสารพิษอื่นที่ปนเปื้อนหลัก อาจไม่ส่งผลต่อสารพันธุกรรมอย่างเด่นชัด ทั้งนี้อาจอธิบายได้จากทั้งอัลทอกฮอส์ อะเซทาลดีไฮด์และเมทานอล ไม่ได้เป็นสารที่ระบุว่าเป็นสารก่อการก่อมะเร็ง (carcinogen) ยกเว้นฟอร์มัลดีไฮด์เท่านั้นที่เป็นสารที่ถูกระบุว่าอาจเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ โดยเป็นสารที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม 2B จาก IARC (IARC, 2009) และผลการศึกษาแสดงถึงความผิดปกติของโครงสร้างในระดับจุลกายวิภาคศาสตร์ของตับ โดยพบว่าทุกกลุ่มของเซลล์ตับที่ได้แอลกอฮอล์แบบเรื้อรัง มีการสะสมของโครงสร้างถุงน้ำกระจายทั่วไปทั้งในและนอกเซลล์ตับ ซึ่งแสดงถึงการอักเสบที่ลุกลามไปทั่วทั้งตับ อีกทั้งในกลุ่มที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษทุกวัน และได้รับสุราจริงทั้งสองชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์มีลักษณะที่บ่งบอกถึงการสูญเสียสภาพการทำงาน หรือตายของเซลล์ตับอีกด้วย

5. สรุปผลการทดลอง

5.1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก

ตารางที่ 30 ชนิดของสารที่ถูกตรวจพบทางเคมีคลินิกที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่มทดลองที่	ปริมาณสารพิษที่ได้รับ	Sub-chronic		Chronic	
		($p \leq 0.05$)	($p \leq 0.01$)	($p \leq 0.05$)	($p \leq 0.01$)
1-9	ปริมาณและชนิดของสารพิษที่ได้รับต่างกัน	AST, ALT, ALP, GLU, CREA, UA	CREA	GLU, ALB, CREA	ALB
1, 2, 3, 4, 5, 8, 9	ปริมาณสารพิษที่ได้รับเท่ากัน	AST, ALT, ALP, GLU, CREA, UA	-	GLU, ALB	GLU, ALB
1, 6, 7, 8, 9	ปริมาณสารพิษที่ได้รับต่างกัน	CREA	CREA	GLU, ALB, CREA	-
2, 4, 8, 9	ได้รับ Acetaldehyde สูงสุด	AST, ALT	-	GLU	-
3, 5, 8, 9	ได้รับ Acetaldehyde สูงปานกลาง	AST, ALT, ALP, GLU	AST, ALT, ALP	-	-

5.2. ความสามารถของเซลล์สเปิร์ม (semen analysis)

ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สเปิร์ม (สเปิร์ม) ลดลง และความสามารถในการเคลื่อนที่ของสเปิร์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

5.3. โครงสร้างในระดับจุลกายวิภาคศาสตร์ของตับ (Microscopic observation)

เซลล์ตับที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษจะมีลักษณะของการสูญเสียหน้าที่การทำงาน ซึ่งจะแสดงลักษณะของการตายในที่สุดหากได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษเป็นเวลานานถึง 6 เดือน

เมื่อเซลล์ตับที่ได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษในความถี่ที่มาก จะมีลักษณะที่บ่งบอกถึงการมีพยาธิสภาพมากขึ้น

หากร่างกายได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษเป็นเวลานานติดต่อกันถึง 6 เดือน พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในตับจะลุกลามออกเป็นบริเวณกว้างมากขึ้น จนในที่สุดอาจพบได้ทั่วทั้งตับ

เอกสารอ้างอิง

- กรมสุขภาพจิต. (2547). รายงานประจำปีกรมสุขภาพจิต. กรุงเทพฯ. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- ชาญณรงค์ ชมนาวัง. (2543). ผลของวัตถุดิบ วัสดุที่ใช้ทำหม้อกลั่น และการบ่มแบบเร่ง ที่มีต่อคุณภาพของฟรุทบรันดีที่ผลิตจากมะขาม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- บัณฑิต ศรีไพศาล. (2551) ปัญหาสุขภาพจิตกับการใช้สุรา : แนวโน้มกับการป้องกัน. นำเสนอการประชุมวิชาการประจำปี ของสมาคมพยาบาลจิตเวชแห่งประเทศไทย. สิงหาคม.
- ปริทรรศ ศิลปกิจ และคณะ. (2542). รายงานการวิจัยความชุกและภาวะสุขภาพจิตของคนไทยที่ติดสุรา. เชียงใหม่. โรงพยาบาลสวนปรุง.
- พันธุ์ณา กิตติรัตน์ไพบูลย์. (2547). การดื่มอย่างฉลาด รายงานการนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการแห่งชาติครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. สยามมาเก็ตติ้ง.
- ไพรัตน์ พฤษชาติคุณากร. (2542). ตำราจิตเวชศาสตร์. (พิมพ์ครั้งที่ 1). เชียงใหม่. โรงพิมพ์แสงศิลป์.
- ยุพา ศรีนาค. (2531). การตรวจหาปริมาณสารที่อาจเป็นอันตรายในสุราเถื่อนและสุราทั่วไป. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สาวิตรี อชันางค์กรชัย และสุวรรณ อรุณพงศ์ไพศาล. (2543). รายงานการทบทวนองค์ความรู้เรื่องมาตรการในการป้องกันและแก้ไขปัญหาจากแอลกอฮอล์. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. (มปป).
- สุนีย์ เกียวกิ่งแก้ว. (2544). แนวคิดพื้นฐานทางการพยาบาลจิตเวช (พิมพ์ครั้งที่ 3). พิษณุโลก มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ศูนย์บำบัดรักษายาเสพติดขอนแก่น กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2546). แนวทางการดูแลผู้ป่วยที่ติดสุรา. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- Amerine, M.A., Berg, H.W., Kunkee, R.E., Ough, C.S. and Singletons, A.D. (1980). Technology of wine making. The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A.
- Apostolopoulou, A.A., Flouros, I.A., Demertzis, G.P. and Akrida-Demertzi, K. (2005) Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional Greek distillates. Food Control. 16, 157-164.
- Barbara Jaruge, Feng Hong, Won-Ho Kim, Rui Sun, Saijun Fan, Bin Gao, (2004) Chronic alcohol consumption accelerates liver injury in t cell mediated hepatitis: alcohol dysregulation of hepatic NF-xB and STAT signaling pathways. J Physiol Gastrointest Liver Physiol (in press).
- Battler R and Brenner D A (2005) Liver Fibrosis. J. Clin. Invest. 115 (2), 209-218

- Bettin, S. M., Cervoni, J. L., Lima Neto, B. S. and Franco, D. W. (2002). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon in sugar cane spirit by HPLC. II Brazilian Meeting on the chemistry of food and beverage. Araraquara-SP, 1-3.
- Bunout, D, "Nutritional and metabolic effects of alcoholism. Their relationship with alcoholic liver disease", Nutrition.,chapter 7-8, pp. 583–589, 1999.
- Daugulis, A.J., Brown, N.M., Cluett, W.R. and Dunlop, D.B. (1981) Production of ethanol by adsorbed yeast cells. *Biotechnol. Lett.* 3, 651-656.
- Diehl, A. M, "Nonalcoholic fatty liver disease: implications for alcoholic liver disease pathogenesis", *Alcohol. Clin. Exp.Res.*, Vol. 25, pp. 8S-14S, 2001.
- Duk-Hee Lee, Myung-Hwa Ha and David C Christiani. (2001) Body weight, alcohol consumption and liver enzyme activity—a 4-year follow-up study. *Epidemiology*.
- Enomoto, N., Yamashina, S., and Kono, H. (1999) Development of a new, simple model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of Kupffer cells. *Hepatology* 29(6):1680-1689.
- Fazakas Z, Lengyel Z and Nagymajtenyi L. (2005) Combined effects of subchronic exposure to lead,mercury and alcohol on the spontaneous and evoked cortical activity in rats. *Arh Hig RadaToksikol. Sep*; 56(3):249-56
- Gavaler J S and Van Thiel D H (1987) Reproductive consequences of alcohol abuse: Males and females compared and contrasted. *Mutation Research.* 186, 269-277
- Gupta, V., Gill, K.D., (2000) Influence of ethanol on lead distribution and biochemical changes in rats Exposed to lead. *Alcohol.* 20, 9-17
- Harkness, J.E., Wagner, J.E., (1989)*The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*, third ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Hernandez-Gomez, L. F. and Briones, J. U. B. A. (2003). Melon fruit distillates: comparison of different distillation methods. *Food Chemistry.* 82, 539–543.
- Hough, J.S., (1985) *The Biotechnology of Malting and Brewing* Cambridge University Press, Cambridge. 70-71.
- IARC (1984) *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Allyl Compounds, Aldehydes, Epoxides and Peroxides*, International Agency for Research on Cancer:Lyon. 36, 101-132.
- IARC (2009) *Agents reviews by the IARC Monographs Volumes 1-100A (ALPHABETICAL ORDER)* Last updated: 2 April 2009, Available online: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Listagentsalphorder.pdf>, assessed on May 2, 2009.

- Javier Franco-Perez, Monica Padilla, and Carlos Paz. (2006) Sleep and brain monoamine change produced by acute and chronic acetaldehyde administration in rats. 174, 86-92.
- Johnson, B.S. (1995) Child, Adolescent, and Family Psychiatric Nursing. Philadelphia. J.B.Lippincott .
- Kano, M., F. Ishikawa, S. Matsubara, H. Kikuchi-Hayakawa and Y. Shimakawa, (2002) Soymilk Products Affect Ethanol Absorption and Metabolism in Rats during Acute and Chronic Ethanol Intake, Yakult Central Institute for Microbiological Research, Yaho 1796, Kunitachi, Tokyo 186-8650, Japan, J. Nutr. 132:238-244.
- Kato, H., and Tsuchida, H. (1981). Estimation of Melanoidin Structure by Pyrolysis and Oxidation. Prog. Food Nutr. Sci., 5, 147-156.
- Kida, K., Morimura, S. and Zhong, Y.L. (1997) Production of ethanol from molasses by flocculating yeast for use as an alternative energy source. Seibutus-kogaku. Kais. 75(1), 15-34.
- Enomoto N, Yamashina S. Kono H. (1999) Development of a new, simple model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of Kupffer cells. Hepatology. 29(6):1680-89.
- Kolovou, G.D., Milkhaillidis, D.P., Adamopoulou, E.N., Salpea, K.D., Kafaltis, N., Bilianou, N., Malakos, J., Pilatis, N.D., Mykoniatis, M., Cokkinos, D.V. (2005) The effect of nicotinic acid and alcohol co-administration in Wistar rats 27(1): 17
- Kramer JW, Hoffmann WE. (1997) Clinical enzymology. In: Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed., edited by J.J. Kaneko. Academic Press, San Diego. p.303 - 24.
- Lobo, C.P, Jauaribe, F.E., Rodrigues, J. D Rocha da, A.A.F. (2007) Economics of alternative sugar cane milling options. Applied Thermal Engineering. 27, 1405-1413.
- Maddrey W C (1988) Alcoholic hepatitis: clinicopathologic features and therapy. Semin Liver Dis. 8, 91-102
- Michael D, Hammond B,Sc. (1975) The Use of an Internal Standard in the Determination of Ethanol in Blood, Brain and Vapour. Addiction 70 (2), 162-164.
- Naegle, M.A., and D'Avanzo, C.E. (2001) Addiction and substance abuse: Strategies for advanced practice nursing. New Jersey: Prentice Hall.
- Nikander, P., Seppaelae, T., Kilonzo, P.G., Huttunen, P., Saarinen, L., Kilima, E. and Pitkaenen, T. (1991) Ingredients and contaminants of traditional alcoholic beverages in Tanzania. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Volume 85, Issue 1, 133-135 pp.

- Nikolaos Kopsahelis, Nikolaos Agouridis, Argyro Bekatorou and Maria Kanellaki. (2006) Comparative study of spent grains and delignified spent grains as yeast supports for alcohol production from molasses. *Bioresource Technology*. 98, 1440-1447.
- Nikolaos Kopsahelis, Maria Kanellaki and Argyro Bekatorou. (2007) Low temperature brewing using cells immobilized on brewer's spent grains. *Food Chemistry*. (in press)
- Olfert, E.D., Cross, B.M., McWilliam, A.A. (Eds.), (1993) *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*, vol. 1, second ed. Canadian Council on Animal Care, Ontario, 211pp
- Pecze La 'szlo', Papp Andra' s, Institoris La 'szlo', Szabo' Andrea and Nagymajte' nyi La 'szlo'., (2005) Acute and subchronic effects of lead on the central and peripheral nervous systems in rats in combination with alcohol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 61, 139-144.
- Qiu D., Kurosawa M., Lin Y., Inaba Y., Matsuba T., Kikuchi S., Yagyu K., Motohashi Y., and Tamakoshi A. JACC Study Group. (2005) Overview of the epidemiology of pancreatic cancer focusing on the JACC Study. *Alcohol*. 35, 187-193.
- Rehm J, Room R, Monteiro M, Gmel G, Graham K, Rehn T, Sempos CT, Frick U, Jernigan D. *Alcohol*. (2004) In: WHO (ed), *Comparative quantification of health risks: Global and regional burden of disease due to selected major risk factors*. Geneva:WHO.
- Review by an international group. (1981) *Alcoholic liver disease: morphological manifestations*. *Lancet*. 1, 707-711
- Silva, M. L. and Malcata, F. X. (1998). Relationships between storage conditions of spirits obtained here form. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49, 56-64.
- Santucci L, Graham T J and Van Thiel D H (1983) Inhibition of testosterone production by rat Leydig cells with ethanol and acetaldehyde: Prevention of ethanol toxicity with 4-methylpyrazole. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 7(2), 135-139
- Schuppan D and Afdhal N H (2008) Liver cirrhosis. *Lancet*. 371, 838-851
- Sullivan, E.J. (1995) *Nursing care of clients with substance abuse*. St. Louis. Mosby.
- Sydney Youngerman-Cole, RN, BSN, RNC. (2006) *Alanine Aminotransferase (ALT)*. *Gastroenterology*.
- Thurman, R. G., Bradford, B. U., Iimuro, Y., Frankenberg, M.V., Knecht, K. T., Connor, H. D., Adachi, Y., Wall, C., Arteel, G. E., Raieigh, J. A., Forman, D. T. and Mason, R. P, "Mechanisms of ethanol-induced hepatotoxicity: studies in rats", *Frontiers in Bioscience*., Vol. 4, pp. 42-46, 1999.

- Van Thiel D H, Gavaler J S, Cobb C F, Santucci L and Graham T O (1983) Ethanol, a Leydig cell toxin: Evidence obtained in vivo and in vitro. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 18 (Suppl. 1), 317-323
- Zhou, Z., Wang, L., Song, Z., Lambert, J.C., McClain, C.J., and Kang, Y.J., "A critical involvement of oxidative stress in acute alcoholinduced hepatic TNF-alpha production", *Am J Pathol.*, Vol. 163, pp. 1137-1146, 2003.
- Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.c., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995). *Wine Analysis and Production*. Chapman and Hall, New York.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบน้ำหนักตัว และการผ่าชันสูตรซากหนูที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษแบบ
ก่อกำเนิดพิษกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic)

Exp. Gr.	Ani. No.	BW (g)	Necropsy sign	History
1	2	482.30	normal	
	7	431.05	normal	
	13	414.14	normal	
	14	467.45	normal	
	16	429.11	normal	
2	21	421.17	mild fatty degeneration	
	22	460.63	mild fatty degeneration	
	25	463.36	mild fatty degeneration	
	27	447.13	normal	
	28	440.33	mild fatty degeneration	
	33	473.15	normal	
3	37	481.18	normal	
	38	458.43	normal	
	39	517.94	normal	
	42	432.80	normal	
	51	475.75	normal	
4	65	459.33	normal	งดป้อนสาร 1 วัน
	66	448.91	normal	
	67	579.34	normal	
	68	448.43	normal	
	69	464.01	normal	
	70	492.43	normal	
	71	469.07	normal	
	72	445.21	normal	
5	83	495.48	normal	
	85	399.30	ก้อนหนองบริเวณส่วนต้นทางเดินอาหาร	งดป้อนสาร 4 วัน
	86	515.73	normal	
	87	396.20	normal	
	88	428.47	normal	
	89	489.99	normal	
	90	518.00	normal	
6	91	396.71	normal	
	92	473.98	normal	
	93	405.99	normal	
	94	495.82	normal	
	95	497.99	normal	
	96	409.99	normal	
	97	474.45	normal	
	98	472.96	normal	
7	119	475.23	normal	
	120	536.85	normal	
	121	465.03	normal	
	122	545.26	normal	
	123	443.15	normal	
	124	489.91	normal	
	125	401.61	normal	

	126	445.09	normal	
8	127	471.32	normal	
	128	464.28	normal	
	129	496.15	normal	
	130	513.75	normal	
	137	422.93	normal	
	138	478.42	normal	
	139	457.72	normal	
	140	480.78	มีก้อนไขมัน Φ 1 ซม. ในช่องท้อง	
9	155	551.84	normal	
	156	449.24	normal	
	157	426.49	normal	
	158	536.93	normal	
	159	481.31	normal	
	160	422.97	normal	
	161	459.40	normal	
	162	435.86	normal	

ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบน้ำหนักตัว และการผ่าชันสูตรซากหนูที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษแบบ
ก่อให้เกิดพิษเรื้อรัง (Chronic)

Exp. Gr.	Ani. No.	BW (g)	Necropsy sign	History
1	5	559.77	normal	
	9	565.61	normal	
	10	522.18	normal	
	11	485.67	normal	
	12	577.06	normal	
	17	501.98	normal	
	18	537.40	normal	
2	19	552.91	normal	
	23	475.91	normal	
	24	540.27	normal	
	29	598.74	normal	
	30	550.27	normal	
	31	664.85	normal	
	32	546.28	normal	
3	43	531.04	normal	
	44	597.95	normal	
	46	558.87	normal	
	47	515.49	normal	
	48	501.90	มีก้อนหนองที่ปลายตับ 1 ก้อน	
	49	505.33	มีก้อนเนื้อแทรกในไขมัน	
	50	557.09	normal	
	53	509.21	normal	
	54	599.26	normal	
	205	403.97	มีก้อนไขมันในตับ	กลุ่ม 3 มี เสริม 2 ตัว อายุ 4 อาทิตย์
206	592.52	normal		
4	55	581.70	normal	
	56	547.47	normal	
	57	676.46	normal	
	58	528.97	normal	
	59	519.71	normal	
	60	507.82	normal	
	61	567.79	normal	
	62	565.09	normal	
	63	547.01	normal	
	64	550.79	normal	
5	73	684.23	normal	
	74	487.90	normal	
	75	537.12	normal	
	78	494.84	ตับออก	
	79	569.67	normal	
	80	506.10	normal	
	81	662.13	normal	
6	105	546.85	normal	
	106	528.76	normal	
	107	508.72	normal	
	108	609.05	normal	
	99	623.75	normal	
	101	540.91	normal	
	102	580.00	normal	

	104	576.07	normal	
7	109	556.99	normal	
	110	512.25	normal	
	111	684.23	normal	
	112	540.70	normal	
	113	487.40	normal	
	114	625.67	normal	
	115	588.44	normal	
	116	550.13	normal	
	117	542.77	normal	
	118	600.59	มีบางส่วนของตัวโมลอยู่ในช่องอก	
8	131	600.13	normal	
	133	504.59	normal	
	134	500.20	normal	
	135	531.07	normal	
	136	563.68	normal	
	143	562.46	normal	
	144	596.60	normal	
	141	569.37	normal	
9	145	567.64	normal	
	146	580.64	normal	
	147	603.95	normal	
	148	623.08	normal	
	149	552.75	normal	
	150	585.17	normal	
	151	566.07	normal	
	152	617.63	normal	
	153	574.28	normal	
	154	555.39	normal	
Control หนูอายุ 5 wk	1	153.30	normal	
	2	162.91	normal	
	3	154.26	normal	
	4	155.62	normal	
	5	150.18	normal	
	6	159.67	normal	
	7	156.46	normal	
	8	158.27	normal	

ภาคผนวก ค ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Sub-chronic

I เปรียบเทียบความถี่ : กลุ่มที่ได้รับ Artificial alcohol ทุกวัน (กลุ่ม 1), 4 วันต่อสัปดาห์ (กลุ่ม 6) และ 1 วันต่อสัปดาห์ (กลุ่ม 7)

GLU (mg/dl)	1	6	7	8	9
	273.8	236.6	159.3	223.3	129.8
	235.5	205.5	197.1	232.8	226.7
	241.8	228.0	189.0	196.4	230.0
	211.5	224.1	208.6	250.2	241.8
	200.9	230.9	235.1	261.1	197.5
		226.7	222.1	260.8	236.9
		252.1	283.3		227.0

จากการวิเคราะห์ SPSS: Blood glucose ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ Blood glucose

BUN (mg/dl)	1	6	7	8	9
	23.2	17.5	19.6	19.4	17.5
	19.0	18.0	19.3	17.5	20.7
	21.4	21.2	18.4	20.1	20.0
	25.3	21.4	17.8	18.2	17.2
	18.5	18.4	23.7	15.6	16.2
		19.9	22.1	19.5	20.6
		21.6	21.5		20.3

จากการวิเคราะห์ SPSS: BUN ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ BUN

GLOB (g/dl)	1	6	7	8	9
	2.4	2.5	2.5	2.7	2.3
	2.7	2.6	2.5	2.4	2.6
	2.7	2.3	2.3	2.3	2.8
	3.3	2.9	2.4	2.5	2.3
	2.6	3.1	2.8	2.7	2.7
		2.3	2.7	2.9	2.5
		2.7	2.8		2.6

จากการวิเคราะห์ SPSS: GLOB ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ในหนูทั้ง 3 กลุ่มไม่มีผลต่อระดับ GLOB

CREA (mg/dl)	1	6	7	8	9
	0.56	0.44	0.42	0.53	0.40
	0.50	0.44	0.49	0.46	0.46
	0.53	0.45	0.45	0.42	0.48

	0.61	0.48	0.42	0.45	0.48
	0.53	0.44	0.52	0.40	0.46
		0.46	0.50	0.48	0.50
		0.52	0.51		0.46
Mean	0.55	0.46	0.47	0.46	0.46
SD	0.041593	0.029681	0.042314	0.045898	0.031472

จากการวิเคราะห์ SPSS: Creatinine มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G1, 6, 7, 8, 9 แสดงว่าความถี่ของการได้รับ Artificial alcohol ทุกวันแบบกึ่งเรื้อรังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับ Creatinine แสดงว่าผลต่อการทำงานของไต

II เปรียบเทียบความถี่ : กลุ่มที่ได้รับ Artificial alcohol + Acetaldehyde ทุกวัน (กลุ่ม 2, 3) เปรียบเทียบกับ G8 และ G9

GLU (mg/dl)	2	3	8	9
	216.6	152.9	223.3	129.8
	200.8	177.9	232.8	226.7
	238.1	175.5	196.4	230.0
	159.5	180.0	250.2	241.8
	222.9		261.1	197.5
	196.9		260.8	236.9
			227.0	
Mean	205.80	171.58	237.43	212.81
SD	27.20382	12.58501	25.19545	39.23346

ALB (g/dl)	2	3	8	9
	5.0	4.9	4.8	4.6
	4.8	4.9	4.9	4.8
	4.9	4.8	4.6	5.0
	4.7	4.3	4.7	4.6
	5.0		4.8	4.7
	4.6		4.9	4.8
			5.1	
Mean	4.83	4.73	4.78	4.80
SD	0.163299	0.287228	0.116905	0.191485

BUN (mg/dl)	2	3	8	9
	19.4	24.6	19.4	17.5
	15.7	19.8	17.5	20.7
	22.4	19.5	20.1	20.0
	18.4	16.5	18.2	17.2
	21.7		15.6	16.2
	23.1		19.5	20.6
			20.3	
Mean	20.12	20.10	18.38	18.93
SD	2.813835	3.349627	1.660622	1.890074

GLOB (g/dl)	2	3	8	9
	2.5	2.3	2.7	2.3
2.1	2.5	2.4	2.6	
2.7	2.5	2.3	2.8	
2.5	2.4	2.5	2.3	
2.7		2.7	2.7	
2.5		2.9	2.5	
			2.6	
Mean	2.50	2.47	2.56	2.58
SD	0.244949	0.057735	0.240832	0.17224

CREA (mg/dl)	2	3	8	9
	0.47	0.51	0.53	0.40
0.44	0.46	0.46	0.46	
0.56	0.43	0.42	0.48	
0.47	0.40	0.45	0.48	
0.43		0.40	0.46	
0.55		0.48	0.50	
			0.46	
Mean	0.49	0.43	0.44	0.47
SD	0.061237	0.03	0.031937	0.01633

จากการวิเคราะห์ SPSS: GLU ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง G2, 3, 8, 9 โดย G3 มีระดับ GLU ต่ำสุด แสดงว่าการได้รับแบบกึ่งเรื้อรัง Artificial alcohol (35% ethanol) + Acetaldehyde ระดับปานกลางมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับ GLU น้อยกว่าการได้รับ 35% ethanol ที่มี Acetaldehyde สูงกว่า หรือได้รับเฉพาะ 35% ethanol หรือน้ำกลั่นอย่างเดียว

III เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 4, 8, 9

AST (U/L)	2	4	8	9
	76.0	87.2	77.0	64.2
96.7	122.2	88.1	65.6	
108.8	97.0	96.9	72.9	
112.8	111.7	64.4	65.2	
86.0	138.3	70.0	82.5	
115.3	77.6	80.5	108.4	
	83.5		77.2	
	85.9			
Mean	99.3	100.4	79.5	76.6
SD	15.84319	21.51689	11.85098	15.62484

ALT (U/L)	2	4	8	9
	38.0	37.4	29.6	19.6
42.6	69.0	40.3	36.1	
62.1	40.8	38.8	31.2	
78.1	81.1	25.5	27.6	
60.7	103.5	31.5	58.4	
73.8	46.3	33.9	64.0	
	47.0		37.8	
	52.5			
Mean	59.2	59.7	33.3	39.2
SD	16.16186	23.02198	5.610229	16.21705

IV เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 3, 5, 8, 9

GLU (mg/dl)	3	5	8	9
	152.9	224.4	223.3	129.8
	177.9	240.1	232.8	226.7
	175.5*	273.8	196.4	230.0
	180.0	135.6	250.2	241.8
		371.0	261.1	197.5
		319.8	260.8	236.9
		298.0		227.0
Mean	171.6	266.1	237.4	212.8
SD	12.58501	75.7295	25.19545	39.23346

AST (U/L)	3	5	8	9
	86.3	78.8	77.0	64.2
	78.4	100.7	88.1	65.6
	78.1	108.0	96.9	72.9
	85.4	162.5	64.4	65.2
		95.0	70.0	82.5
		89.7	80.5	108.4
		92.5		77.2
Mean	82.1	103.9	79.5	76.6
SD	4.404921	27.39169	11.85098	15.62484

ALP (U/L)	3	5	8	9
	55	53	54	63
	58	74	61	68
	57	75	56	61
	48	80	60	63
		96	46	47
		69	100	68
		103		56
Mean	54.5	78.6	62.8	60.9
SD	4.50925	16.74174	18.97806	7.380799

V เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 4, 5, 8, 9

GLU (mg/dl)	4	5	8	9
	186.1	224.4	223.3	129.8
	220.4	240.1	232.8	226.7
	168.9	273.8	196.4	230.0
	263.7	135.6	250.2	241.8
	368.8	371.0	261.1	197.5
	400.0	319.8	260.8	236.9
	299.1	298.0		227.0
	304.0			
Mean	276.38	266.10	237.43	212.81
SD	82.89356	75.7295	25.19545	39.23346

ALB (g/dl)	4	5	8	9
	4.4	4.6	4.8	4.6
	4.9	4.8	4.9	4.8
	4.4	4.6	4.6	5.0
	5.2	4.9	4.7	4.6
	4.4	4.9	4.8	4.7
	5.0	4.9	4.9	4.8
	4.8	5.0		5.1
	4.9			
Mean	4.75	4.81	4.78	4.80
SD	0.311677	0.157359	0.116905	0.191485

BUN (mg/dl)	4	5	8	9
	19.1	19.3	19.4	17.5
	24.0	28.7	17.5	20.7
	17.5	17.4	20.1	20.0
	28.1	19.1	18.2	17.2
	18.1	18.7	15.6	16.2
	20.1	20.7	19.5	20.6
	20.4	19.7		20.3
	21.0			
Mean	21.04	20.51	18.38	18.93
SD	3.481353	3.74541	1.660622	1.890074

GLOB (g/dl)	4	5	8	9
	2.5	2.5	2.7	2.3
	2.5	2.8	2.4	2.6
	2.5	2.2	2.3	2.8
	3.0	2.5	2.5	2.3
	2.5	2.9	2.7	2.7
	2.8	2.6	2.9	2.5
	2.5	2.6		2.6
	2.8			
Mean	2.64	2.59	2.58	2.54
SD	0.199553	0.226779	0.22286	0.190238

CREA (mg/dl)	4	5	8	9
	0.47	0.48	0.53	0.40
	0.59	0.49	0.46	0.46
	0.43	0.52	0.42	0.48
	0.61	0.47	0.45	0.48
	0.47	0.50	0.40	0.46
	0.55	0.55	0.48	0.50
	0.48	0.49		0.46
	0.54			
Mean	0.52	0.50	0.46	0.46
SD	0.06431	0.02708	0.045898	0.031472

AST (U/L)	4	5	8	9
	87.2	78.8	77.0	64.2
	122.2	100.7	88.1	65.6
	97.0	108.0	96.9	72.9
	111.7	162.5	64.4	65.2
	138.3	95.0	70.0	82.5
	77.6	89.7	80.5	108.4
	83.5	92.5		77.2
	85.9			
Mean	100.43	103.89	79.48	76.57
SD	21.51689	27.39169	11.85098	15.62484

ALT (U/L)	4	5	8	9
	37.4	31.3	29.6	19.6
	69.0	51.6	40.3	36.1
	40.8	50.0	38.8	31.2
	81.1	47.2	25.5	27.6
	103.5	42.2	31.5	58.4
	46.3	55.7	33.9	64.0
	47.0	53.8		37.8
	52.5			
Mean	59.70	47.40	33.27	39.24
SD	23.02198	8.371977	5.610229	16.21705

ALP (U/L)	4	5	8	9
	68	53	54	63
	68	74	61	68
	86	75	56	61
	77	80	60	63
	64	96	46	47
	85	69	100	68
	74	103		56
	78			
Mean	75.00	78.57	62.83	60.86
SD	8.053393	16.74174	18.97806	7.380799

UA (mg/dl)	4	5	8	9
	2.27	3.50	3.83	2.09
	3.02	3.75	3.42	3.65
	3.36	5.39	2.15	3.81
	5.92	2.90	3.76	5.25
	6.39	6.13	4.50	3.38
	8.19	5.22	4.08	3.46
	4.44	3.98		2.87
	4.60			
Mean	4.77	4.41	3.62	3.50
SD	1.966926	1.176407	0.806292	0.964545

ภาคผนวก ง ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มการทดลองของ Chronic

I ข้อมูล chronic เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 1, 6, 7, 8, 9

ผลของระดับ Glu ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.067$)

GLU (mg/dl)	1	6	7	8	9
	195.0	157.9	188.8	216.4	148.1
	213.2	326.5	288.8	401.1	263.2
	247.5	211.6	302.7	335.9	287.7
	204.2	170.7	286.1	217.2	261.5
	216.8	350.4	144.6	382.0	276.7
	204.5	280.1	262.9	361.1	273.0
	250.2	372.2	243.9	284.1	223.4
		281.8	278.0		227.3
			218.6		259.2
			250.0		221.6
Mean	218.8	268.9	246.4	314.0	244.2
SD	21.71441	81.21425	49.7632	76.04651	40.99789

ALB (g/dl)	1	6	7	8	9
	5.2	4.8	4.7	5.1	4.5
	4.9	4.7	5.3	5.7	4.6
	5.2	4.8	5.0	4.9	4.7
	5.0	4.8	4.9	4.8	4.8
	5.1	4.6	4.7	4.9	4.6
	5.0	5.0	4.6	4.8	5.1
	4.8	4.8	4.8	4.6	4.9
		4.7	4.9		4.8
			4.7		4.7
			4.8		4.8
Mean	5.0	4.8	4.8	5.0	4.8
SD	0.149603	0.116496	0.201108	0.354562	0.171594

CREA (mg/dl)	1	6	7	8	9
	0.70	0.53	0.49	0.68	0.50
	0.61	0.56	0.68	0.71	0.63
	0.71	0.50	0.59	0.56	0.56
	0.61	0.59	0.57	0.52	0.53
	0.59	0.61	0.51	0.64	0.53
	0.60	0.54	0.52	0.57	0.52
	0.56	0.61	0.52	0.49	0.55
		0.48	0.53		0.56
			0.51		0.48
			0.52		0.51
Mean	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5

SD 0.056821 0.048917 0.056214 0.082635 0.041647

Concentration (*10 ⁶ cell / ml)	1	6	7	8	9
	32	18	25	24	26
	30	17	32	38	32
	27	18	30	44	28
	17	21	25	34	40
	13	10	35	28	42
	13	20	20	20	34
	14	28	28	28	38
		35	34	26	32
			30		34
			42		32
Mean	20.9	20.9	30.1	30.3	33.8
SD	8.47405	7.567553	6.17252	7.887603	5.028806

Concentration (*10 ⁶ cell / ml)	1	6	7	8	9
	32	18	25	24	26
	30	17	32	38	32
	27	18	30	44	28
	17	21	25	34	40
	13	10	35	28	42
	13	20	20	20	34
	14	28	28	28	38
		35	34	26	32
			30		34
			42		32
Mean	20.9	20.9	30.1	30.3	33.8
SD	8.47405	7.567553	6.17252	7.887603	5.028806

II ข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 3, 8, 9

GLU (mg/dl)	2	3	8	9
	299.4	301.4	216.4	148.1
	190.6	252.4	401.1	263.2
	214.7	292.6	335.9	287.7
	206.7	203.6	217.2	261.5
	257.9	329.3	382.0	276.7
	184.3	333.7	361.1	273.0
	232.2	303.8	284.1	223.4
		354.8		227.3
				259.2
				221.6
Mean	226.5	296.5	314.0	244.2
SD	40.68943	48.58906	76.04651	40.99789

ALB (g/dl)	2	3	8	9
	4.8	4.9	5.1	4.5
	4.5	4.5	5.7	4.6
	5.0	4.5	4.9	4.7
	4.6	4.2	4.8	4.8
	4.8	4.9	4.9	4.6
	4.2	4.6	4.8	5.1
	4.7	4.6	4.6	4.9
		4.8		4.8
				4.7
				4.8
Mean	4.7	4.6	5.0	4.8
SD	0.257275	0.237547	0.354562	0.171594

ข้อสังเกต: ANOVA ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.063$) แต่ Homogeneity of Variance มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

Concentration (*10 ⁶ cell / ml)	2	3	8	9
	30	32	24	26
	35	25	38	32
	30	27	44	28
	28	25	34	40
	30	20	28	42
	25	28	20	34
	37	30	28	38
		32	26	32
		30		34
				32
Mean	30.7	27.7	30.3	33.8
SD	4.070802	3.905125	7.887603	5.028806

III เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 4, 8, 9

ไม่มีค่าใดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

IV เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 3, 5, 8, 9

ไม่มีค่าใดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

V เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 4, 5, 8, 9

GLU (mg/dl)	4	5	8	9
	324.3	219.8	216.4	148.1
	403.4	287.6	401.1	263.2
	191.3	325.4	335.9	287.7
	319.8	285.8	217.2	261.5
	228.3	156.9	382.0	276.7
	347.2	280.0	361.1	273.0
	382.1	287.0	284.1	223.4
	292.8			227.3
	236.4			259.2
	260.6			221.6
Mean	298.62	263.21	313.97	244.17
SD	69.30531	56.28334	76.04651	40.99789

ALB (g/dl)	4	5	8	9
	4.8	4.6	5.1	4.5
	4.8	5.0	5.7	4.6
	4.7	4.9	4.9	4.7
	4.7	4.8	4.8	4.8
	4.5	4.3	4.9	4.6
	4.9	4.8	4.8	5.1
	4.9	4.8	4.6	4.9
	4.7			4.8
	4.6			4.7
	4.7			4.8
Mean	4.73	4.74	4.97	4.75
SD	0.125167	0.229907	0.354562	0.171594

GLOB (g/dl)	4	5	8	9
	2.7	2.5	2.7	2.3
	2.8	3.1	3.4	3.0
	2.6	2.8	2.5	3.1
	2.6	2.6	2.6	2.7
	2.5	2.6	2.8	3.0
	3.0	2.6	2.8	2.8
	2.6	2.7	2.6	2.7
	2.7			2.6
	2.3			2.7
	2.5			2.7
Mean	2.63	2.70	2.77	2.76
SD	0.188856	0.2	0.298408	0.2319

CREA (mg/dl)	4	5	8	9
	0.66	0.51	0.68	0.50
	0.63	0.62	0.71	0.63
	0.49	0.54	0.56	0.56

	0.52	0.60	0.52	0.53
	0.58	0.54	0.64	0.53
	0.68	0.54	0.57	0.52
	0.57	0.62	0.49	0.55
	0.55			0.56
	0.55			0.48
	0.54			0.51
Mean	0.58	0.57	0.60	0.54
SD	0.061473	0.044987	0.082635	0.041647

AST (U/L)	4	5	8	9
	122.3	123.9	98.5	79.1
	84.0	109.7	85.6	111.2
	85.7	79.5	81.0	88.7
	83.2	109.0	92.4	70.4
	90.0	90.8	104.1	91.5
	84.7	95.6	83.9	140.3
	188.0	121.0	97.9	83.6
	90.6			79.8
	83.1			70.3
	106.9			91.3
Mean	101.85	104.21	91.91	90.62
SD	32.83877	16.26463	8.671299	21.12759

ALT (U/L)	4	5	8	9
	109.2	75.1	50.5	33.9
	39.8	34.0	31.0	77.1
	32.1	28.3	28.6	53.8
	38.7	53.4	49.6	34.7
	49.6	44.2	35.8	64.2
	35.3	46.4	30.3	120.0
	164.4	73.8	50.9	34.6
	27.6			52.4
	51.5			33.8
	52.6			50.6
Mean	60.08	50.74	39.53	55.51
SD	43.27573	18.15506	10.34693	26.96893

ALP (U/L)	4	5	8	9
	52	75	62	49
	52	63	55	52
	69	50	61	59
	61	55	47	49
	57	57	57	51
	60	50	47	73
	61	72	58	50
	50			42
	49			47
	45			53

Mean	55.60	60.29	55.29	52.50
SD	7.244922	10.09479	6.129554	8.409651

UA (mg/dl)	4	5	8	9
	4.58	3.06	3.21	3.36
	5.54	5.15	6.92	6.53
	2.21	5.07	5.13	6.64
	4.63	3.89	3.02	4.68
	3.04	2.16	5.42	5.47
	4.81	3.59	4.84	5.21
	6.07	4.08	4.67	3.90
	4.28			3.32
	3.15			3.97
	3.12			4.32
Mean	4.14	3.86	4.74	4.74
SD	1.226667	1.063041	1.334227	1.200333

Concentration (*10 ⁶ cell / ml)	4	5	8	9
	10	35	24	26
	32	25	38	32
	30	37	44	28
	25	20	34	40
	25	30	28	42
	21	28	20	34
	24	37	28	38
	24		26	32
	30			34
	30			32
Mean	25.10	30.29	30.25	33.80
SD	6.384878	6.473389	7.887603	5.028806

TG (mg/ml)	4	5	8	9
	8.597285	12.01357	5.791855	1.470588
	5.904977	11.0181	5.678733	2.420814
	5.927602	5.927602	5.40724	0.769231
	7.579186	6.515837	4.932127	1.719457
	7.828054	5.384615	8.461538	4.773756
	4.095023		7.647059	3.597285
	10.02262			2.60181
	8.303167			3.868778
Mean	7.28224	8.171946	6.319759	2.652715
SD	1.87303	3.098697	1.399768	1.349186

CHOL (ug/ml)	4	5	8	9
	21.06	27.05	20.52	18.19
	21.76	28.06	18.19	11.35
	25.73	29.84	17.41	17.49
	21.22	31.48	15.00	12.12
	18.50	26.97	19.74	17.72
	21.68	23.16	19.12	
	20.75	20.52	18.26	

Mean	21.53	26.72	18.32	15.37
SD	2.15	3.77	1.80	3.34