



### บทที่ 3

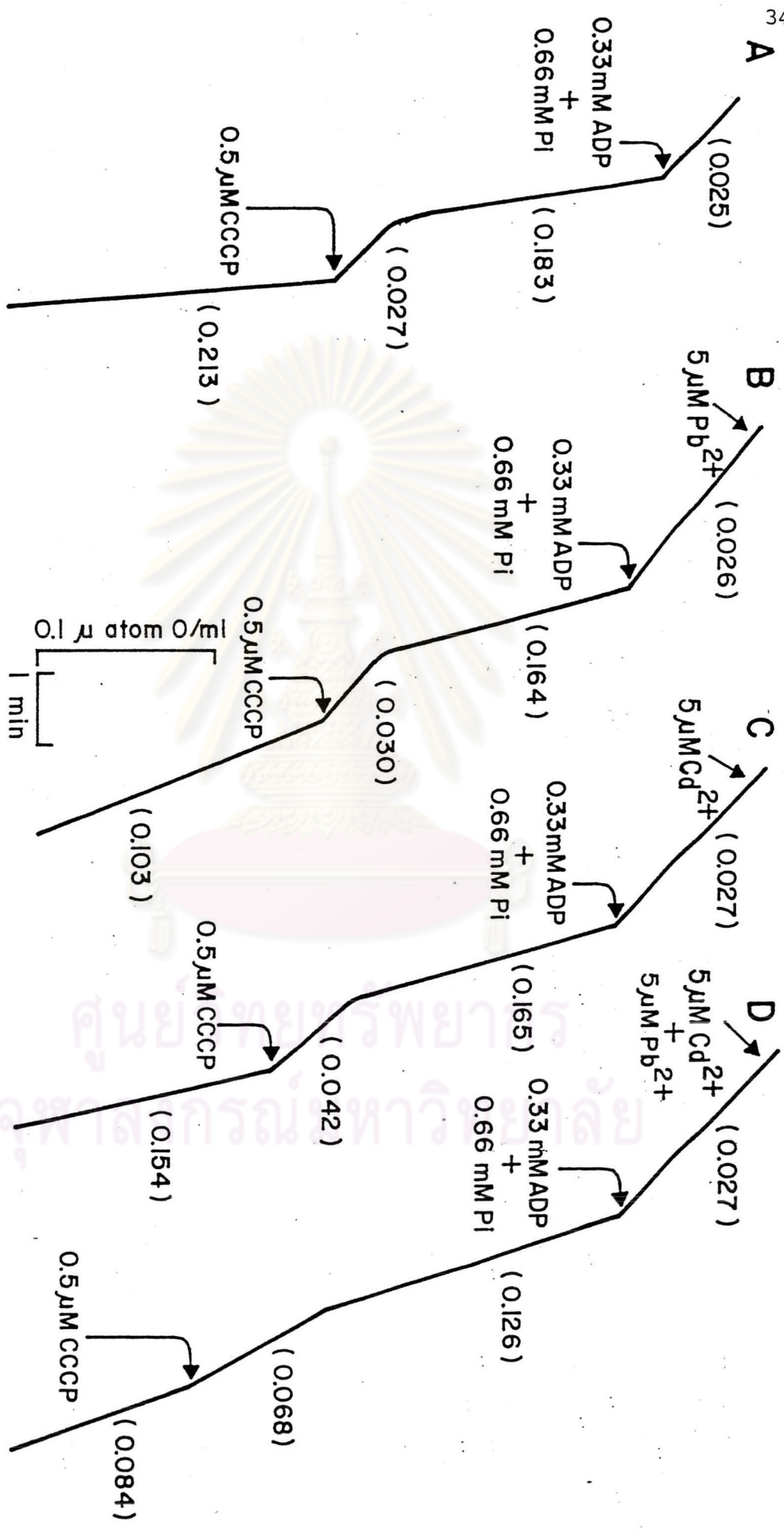
#### ผลการวิจัย

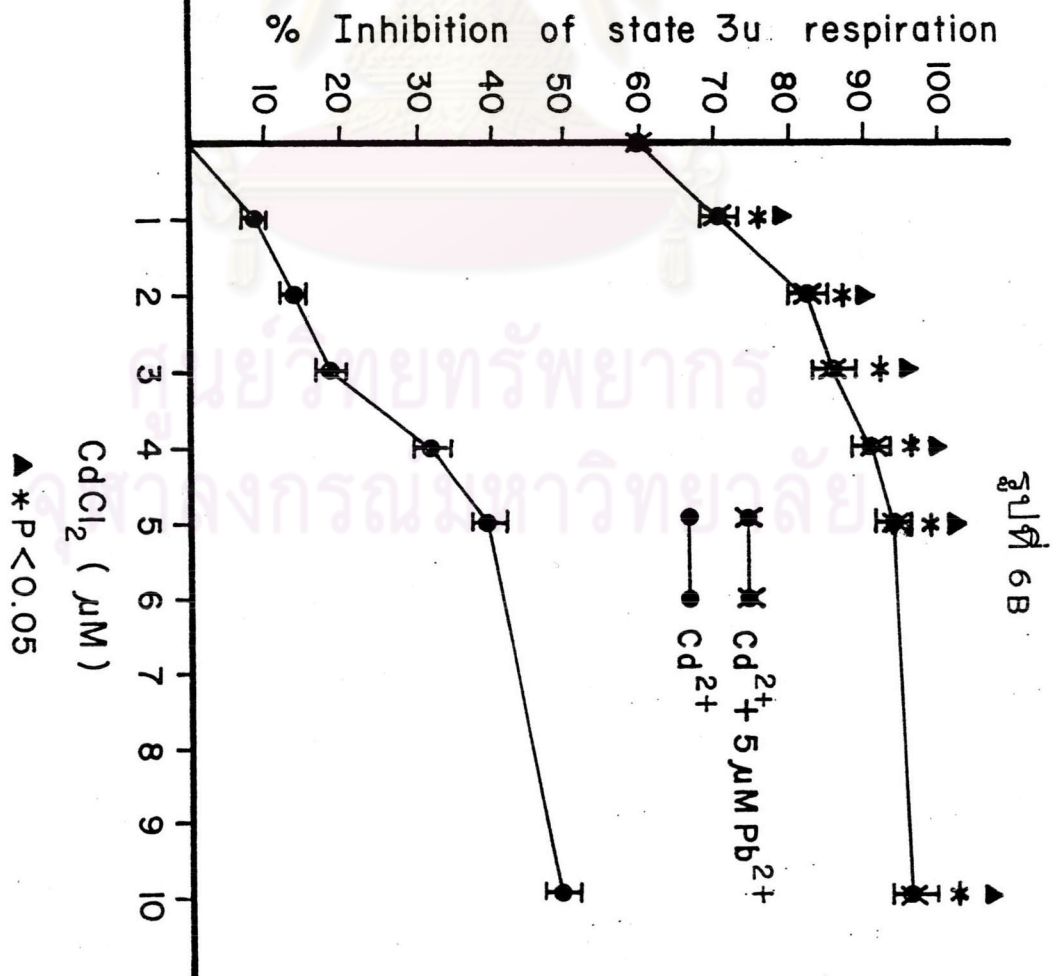
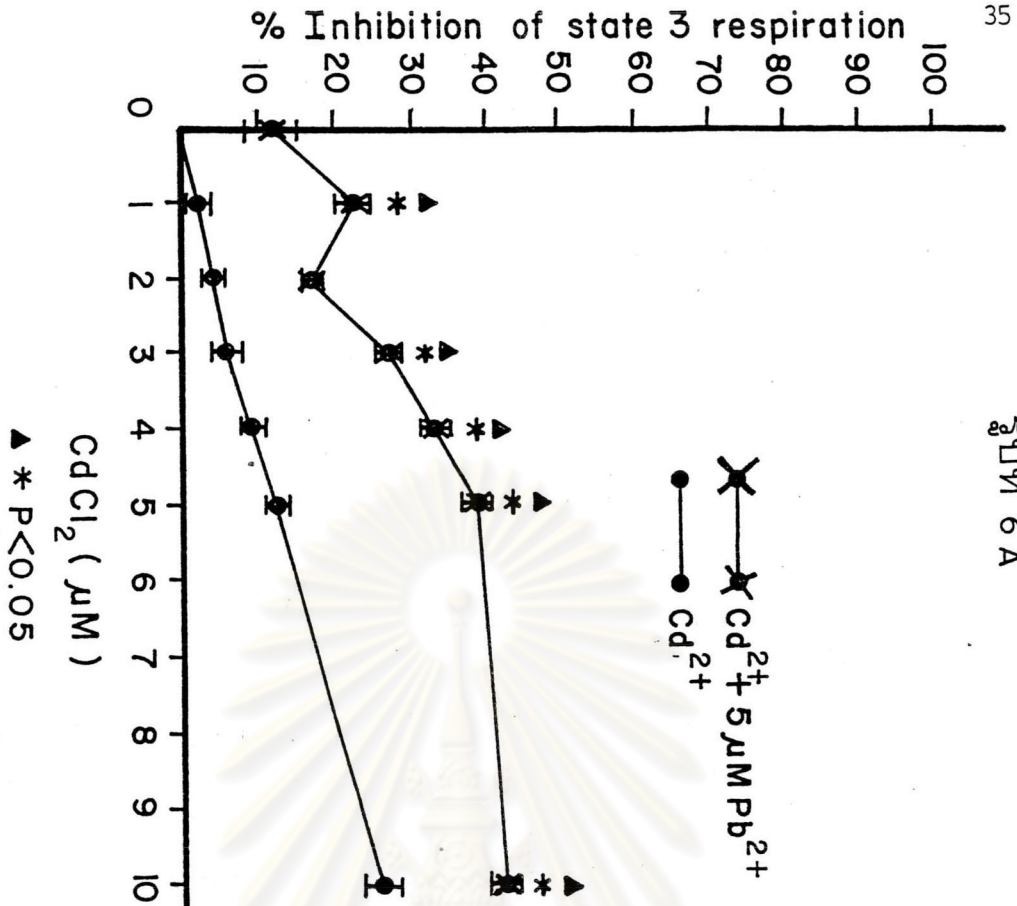
รูปและตารางที่ได้จากการทดลองทั้งหมดแสดงอยู่ในหน้า 34-55 โดยเรียงลำดับตามหัวข้อที่อยู่ในสารบัญ

#### 1. ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษาต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน

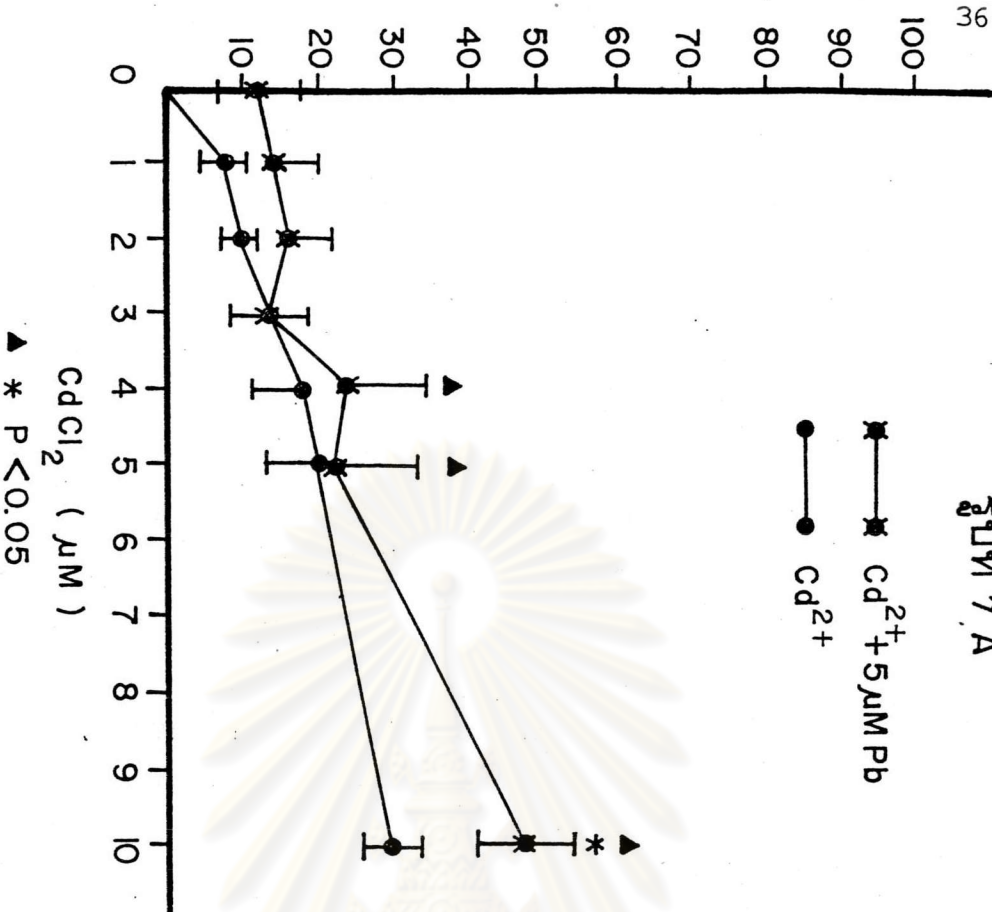
1.1 ผลของตะกั่วและแคดเมียมเมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกัน แสดงเป็น oxygraph tracings ในรูปที่ 5 ได้จากการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในสภาวะต่าง ๆ โดย polarographic oxygen electrode technique ดังกล่าวแล้วในบทที่ 2 tracing A แสดง control respiratory response ของไมโตคอนเดรียที่ใช้ในการทดลองต่อการเติม ADP + Pi และ CCCP เมื่อมี glutamate + malate เป็นสับสเตรท ตัวเลขที่กำกับอยู่ทุกกระยะของทุก oxygraph tracing คือค่าอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในสภาวะต่าง ๆ โดยคำนวณออกมาเป็นจำนวน มคอ. ของออกซิเจน/มล./นาที ในระยะแรกของการ tracing A จะเห็นว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในระยะแรกนี้ (0.025) ยังต่ำอยู่ เราเรียกกระยะ (state) ที่ไมโตคอนเดรียใช้ออกซิเจนเมื่อ incubate ใน medium ที่มีออกซิเจนและสับสเตรทว่า state 4 respiration ระยะต่อไปของการ tracing A เริ่มต้นเมื่อมีการเติม ADP และ Pi ลงไปทำปฏิกิริยาด้วย จะเห็นว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในระยะนี้ (0.183) สูงขึ้นมากจนกระทั่ง ADP ถูก phosphorylate ไปเป็น ATP หมด อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียจึงได้กลับต่ำลง (0.027) คืบสู่ state 4 ดังเดิม เราเรียกกระยะที่ไมโตคอนเดรียมีการใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการเติม ADP ลงไปนี้ว่า state 3 respiration หรือ active state และเรียกการที่อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียถูกควบคุมด้วยการเติม ADP ลงไปนี้ว่าไมโตคอนเดรีย มีการควบคุมการหายใจ (respiratory control) และถือว่าเป็นคุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่งของไมโตคอนเดรีย คือถ้าไม่มี ADP (state 4) อัตราการหายใจจะช้า และถ้ามี ADP (state 3) อัตราการหายใจจึงจะเร็ว และเรียกอัตราส่วนของอัตราการหายใจใน state 3/อัตราการหายใจใน state 4 ว่า respiratory control index (RCI) ดังนั้น RCI ของไมโตคอนเดรียในการทดลองนี้จึงมีค่าเท่ากับ  $0.183/0.027 = 6.8$  (อัตราการหายใจใน state 4 ที่ใช้คำนวณค่า

(ต่อหน้า 56)



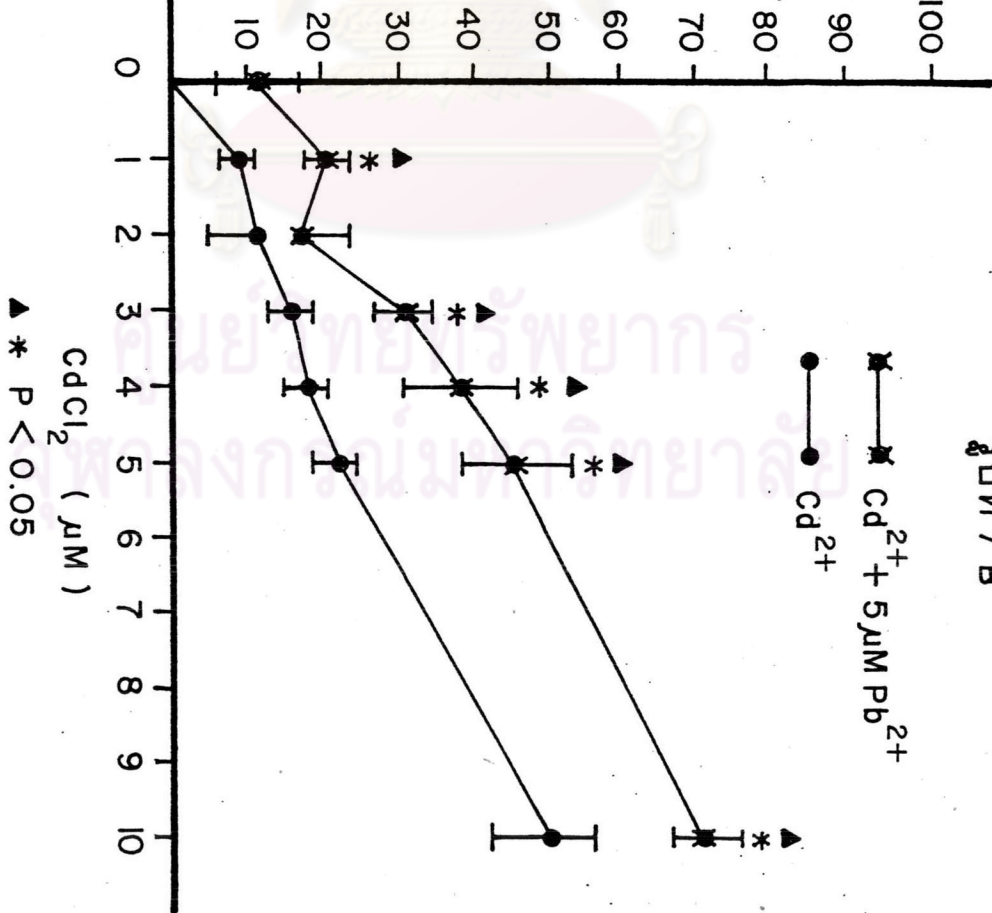


% Inhibition of state 3 respiration

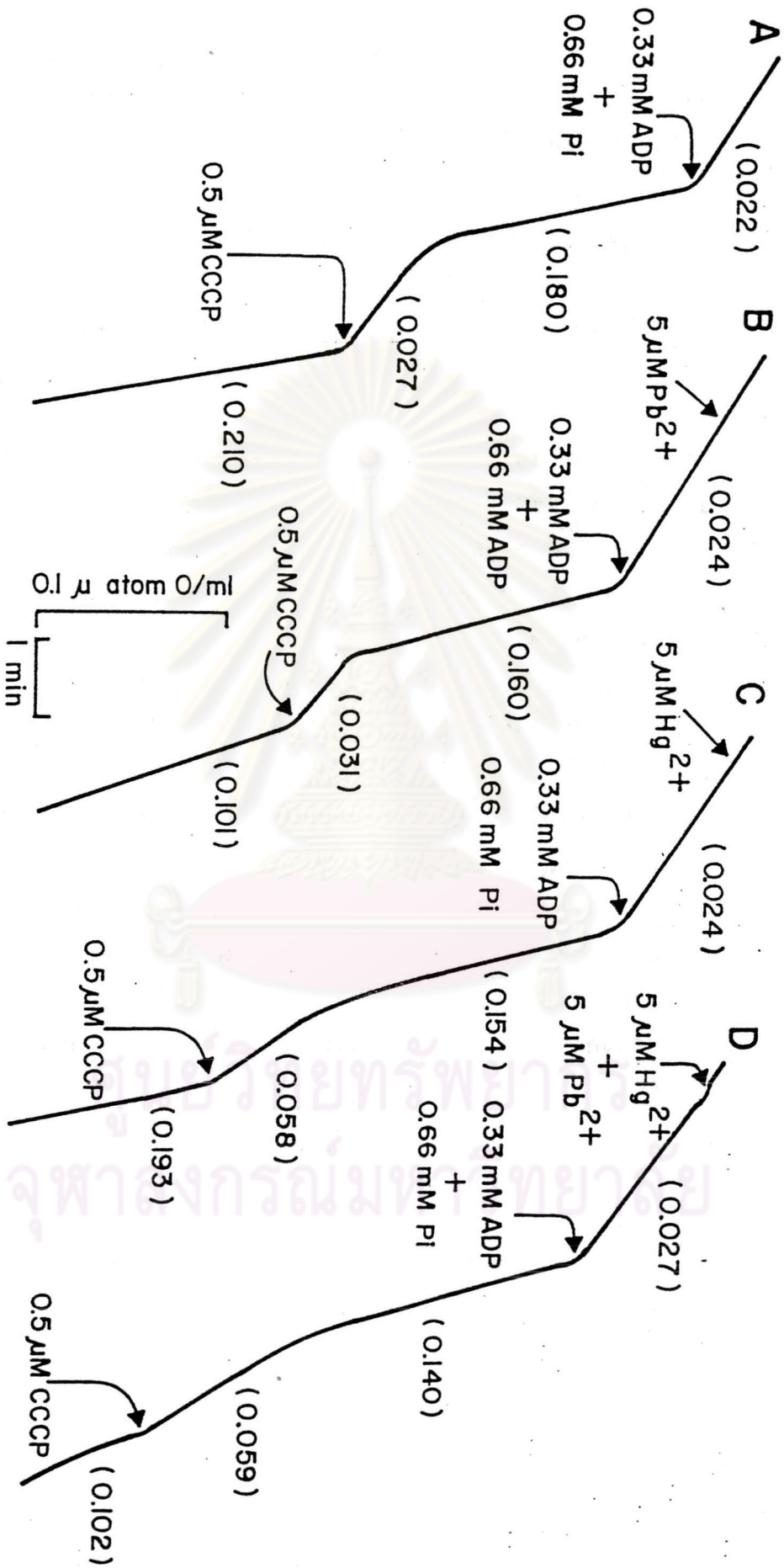


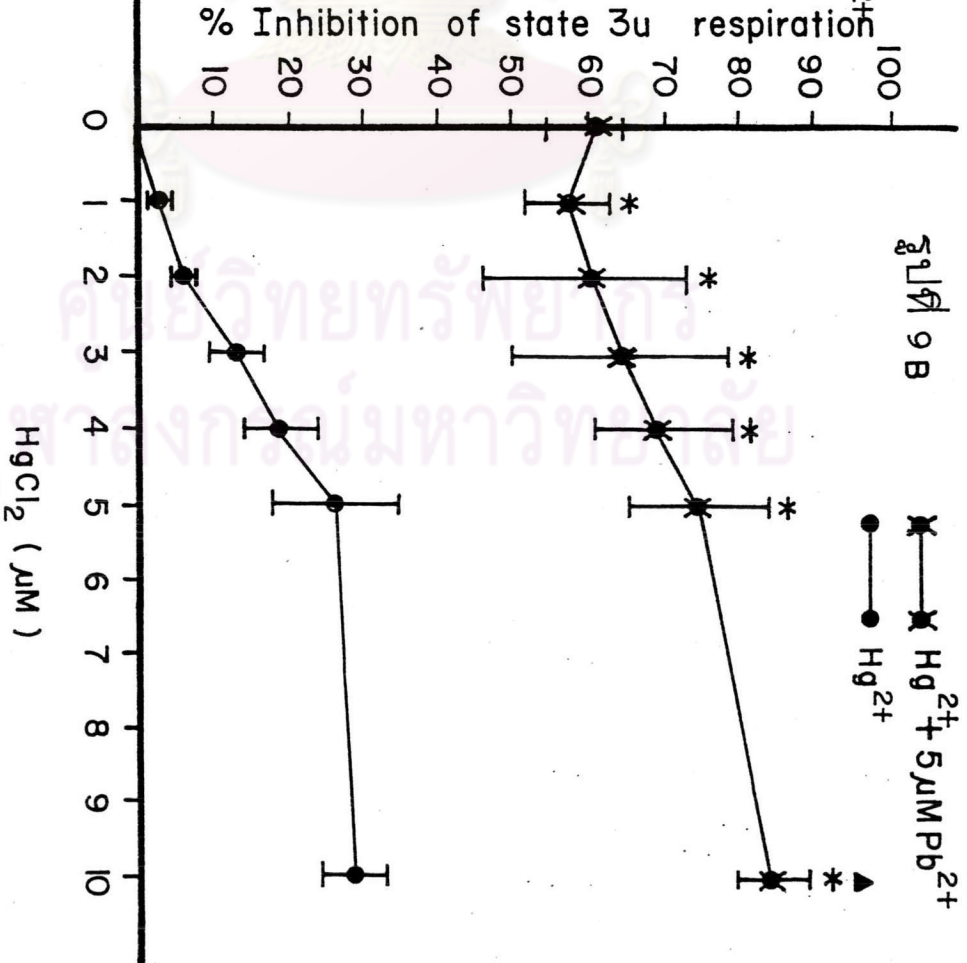
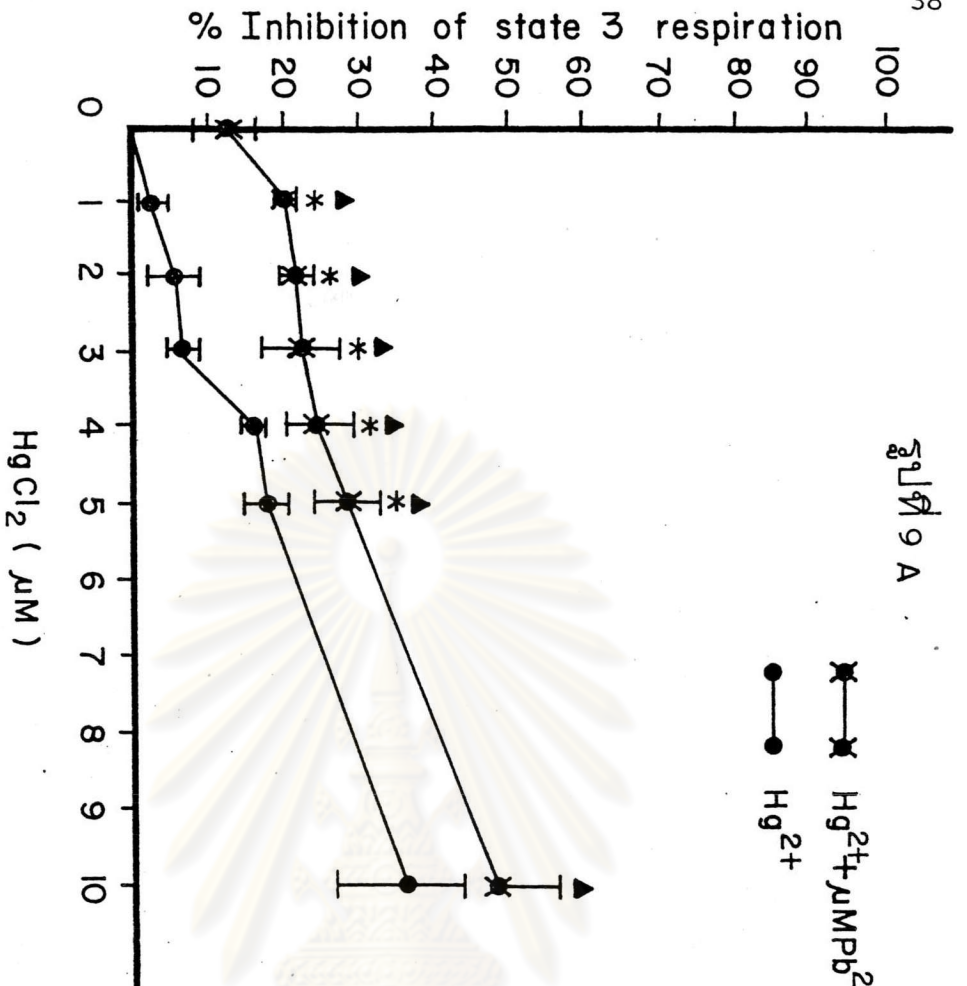
รูปที่ 7 A

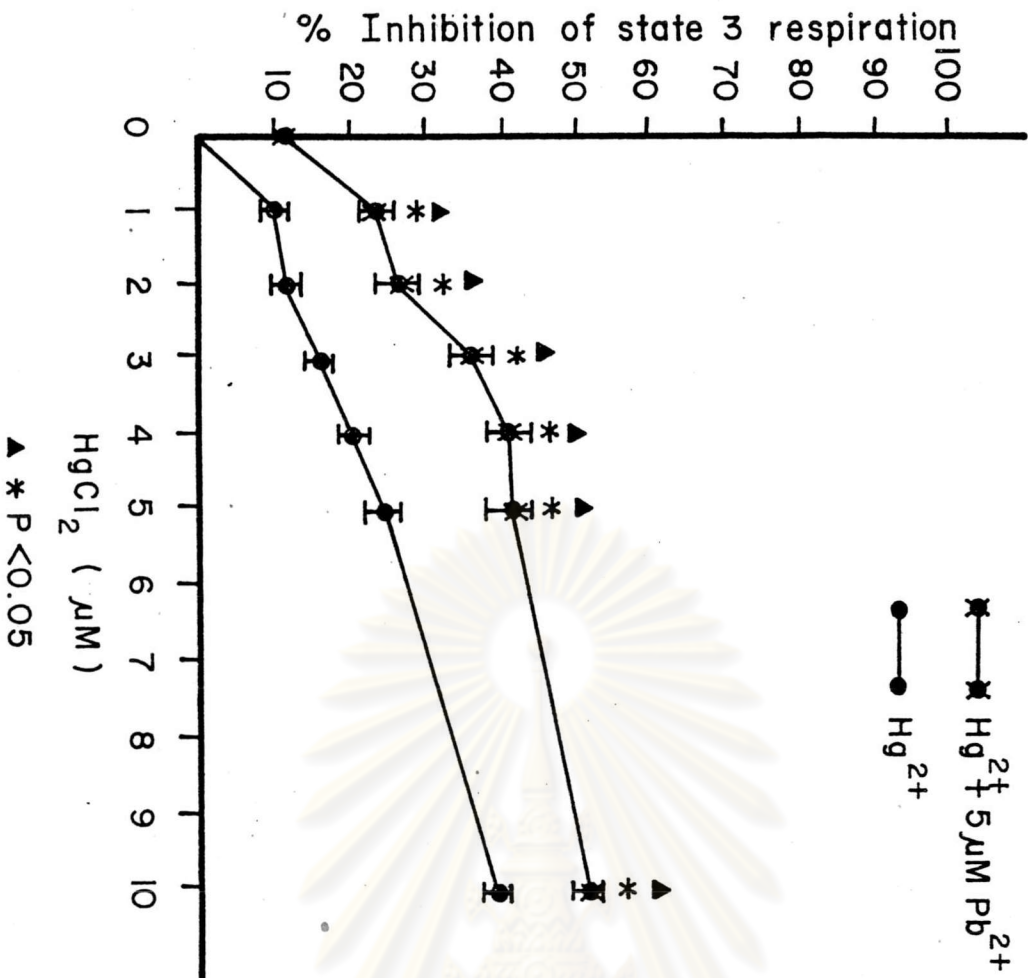
% Inhibition of state 3u respiration



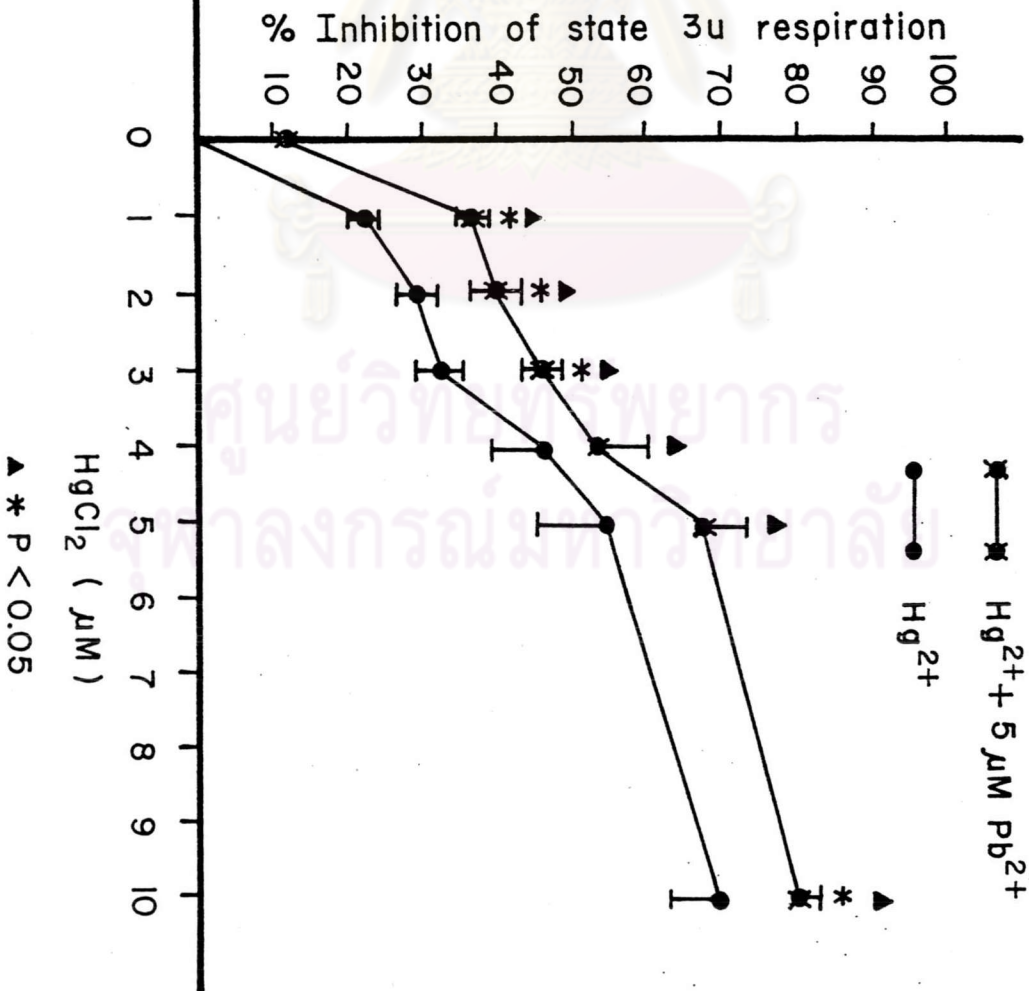
รูปที่ 7 B



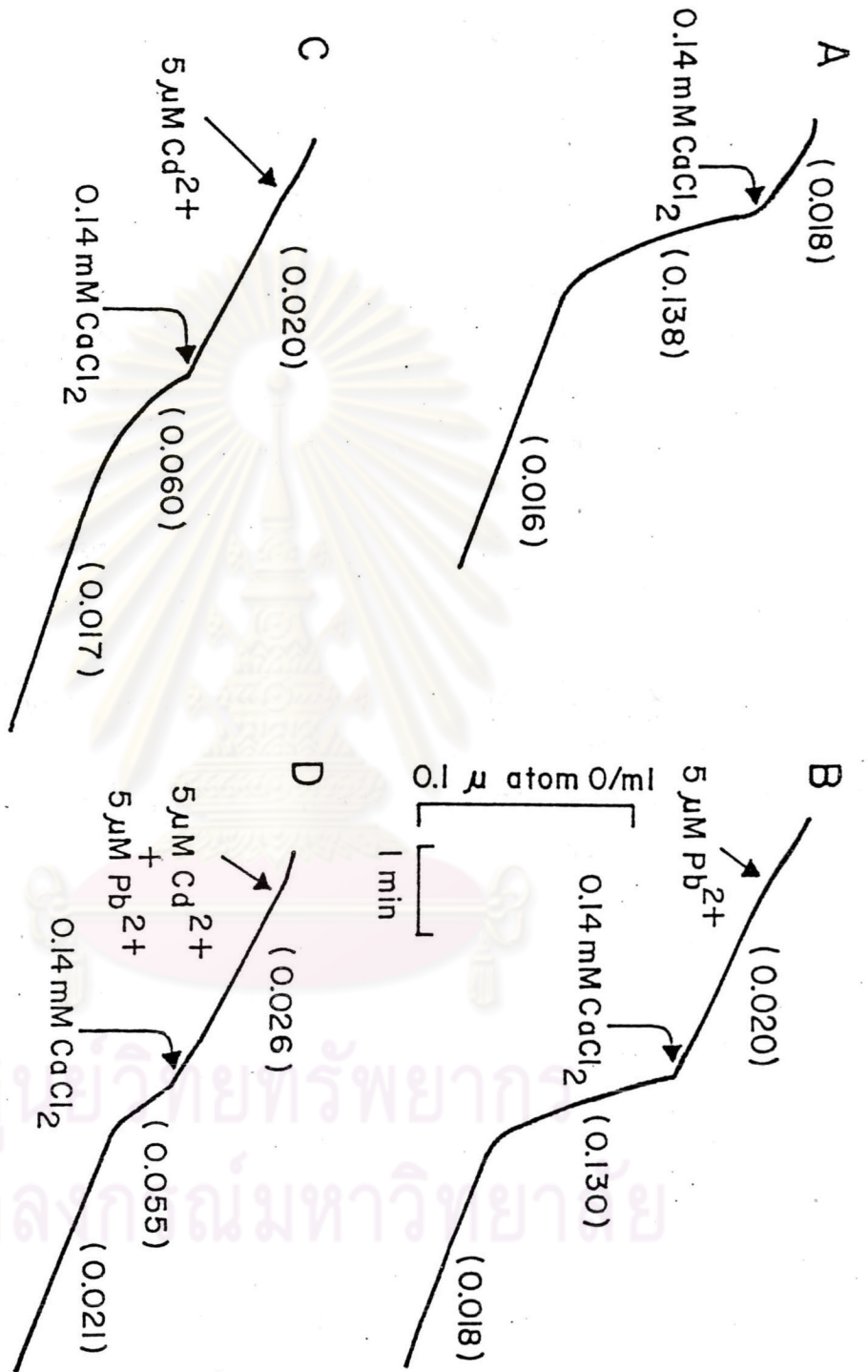




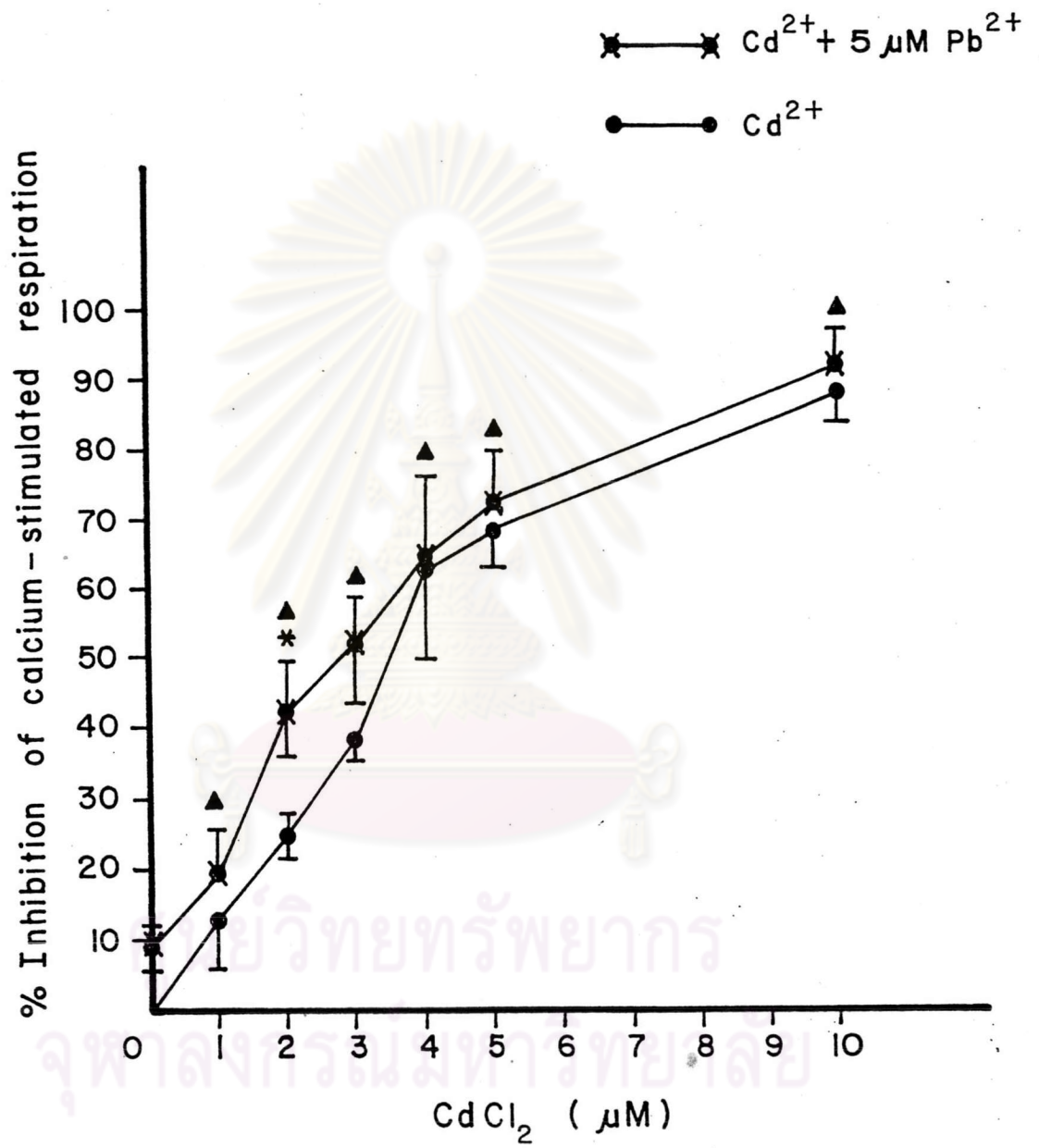
รูปที่ 10 A



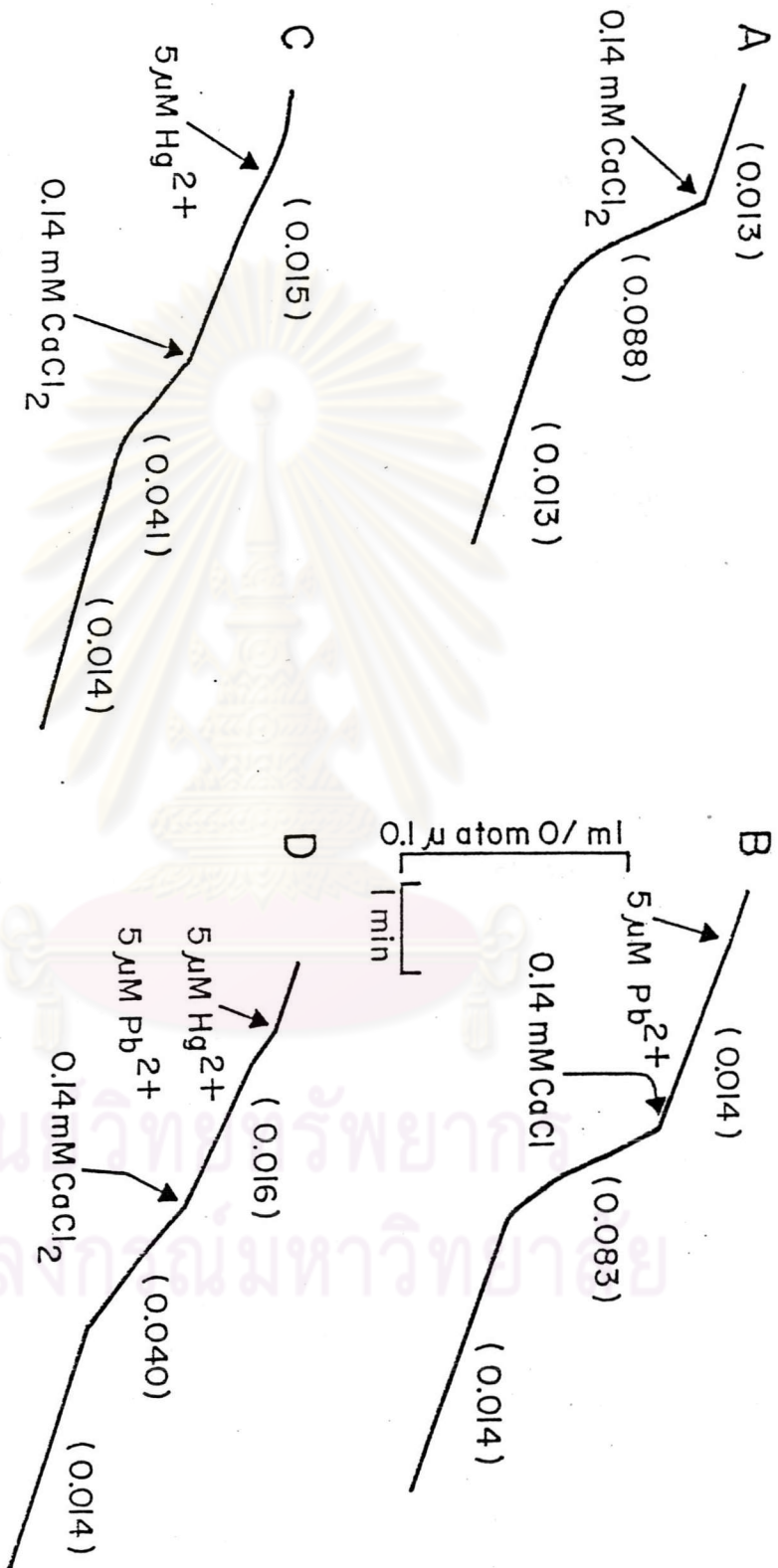
รูปที่ 10 B

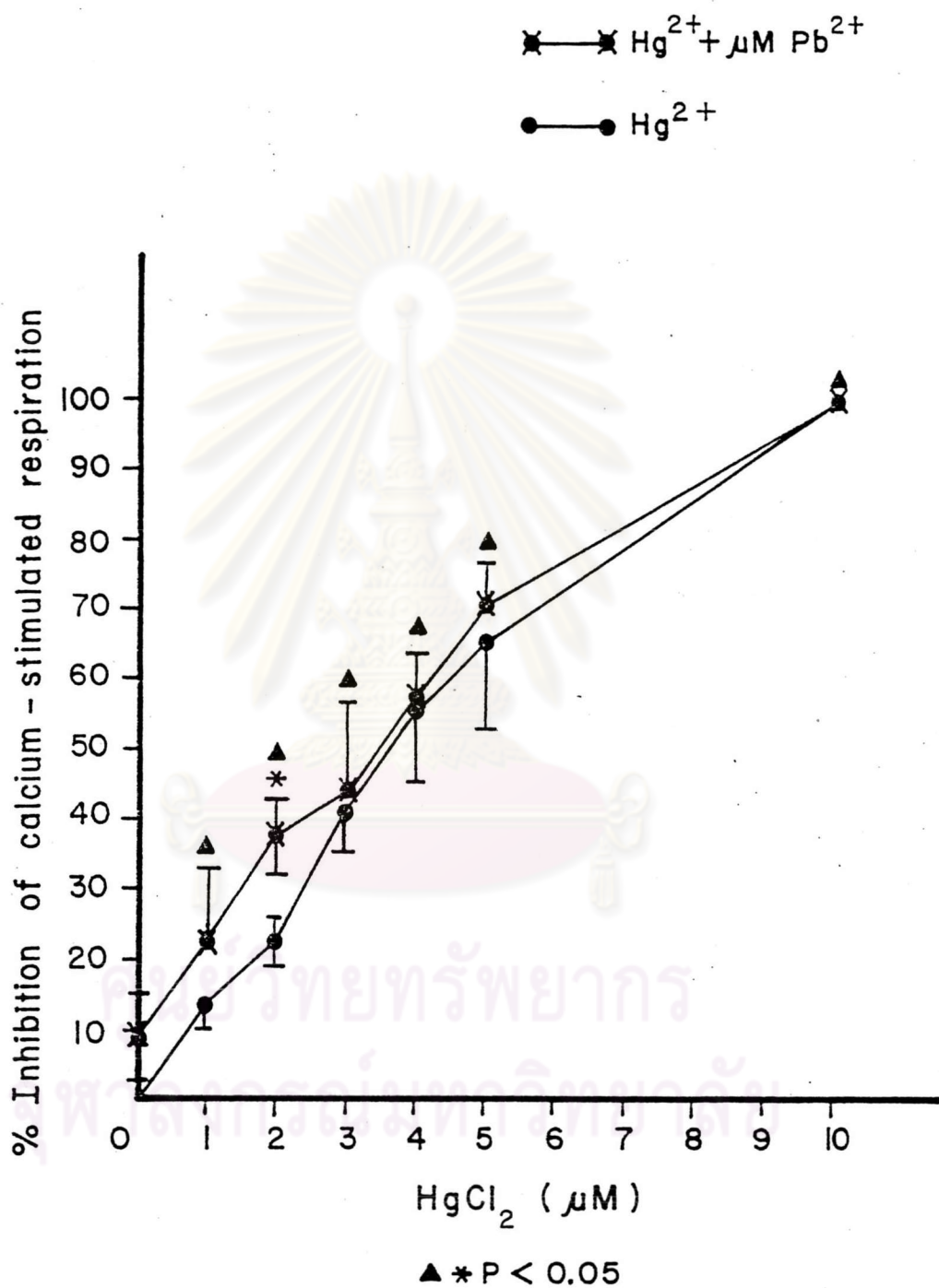


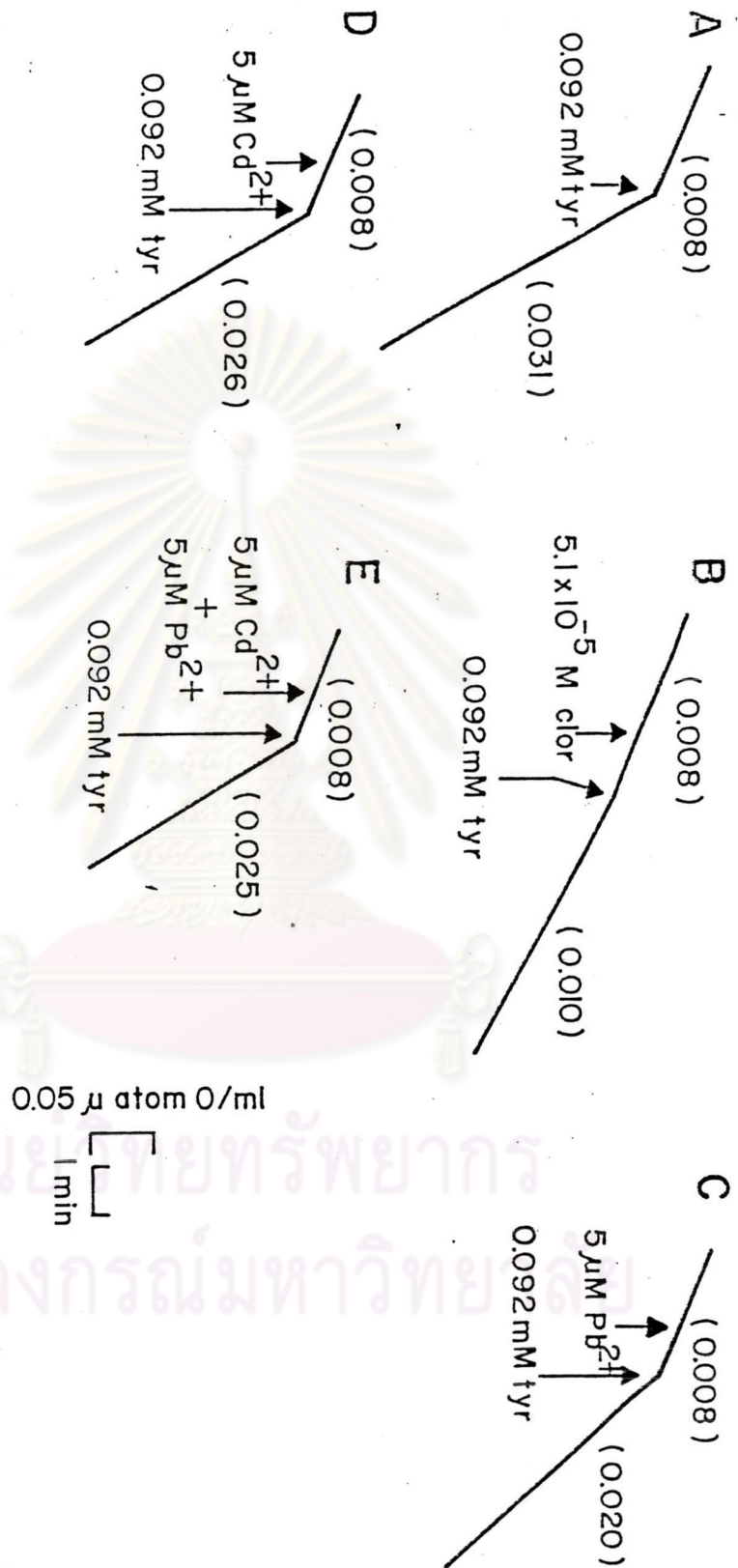




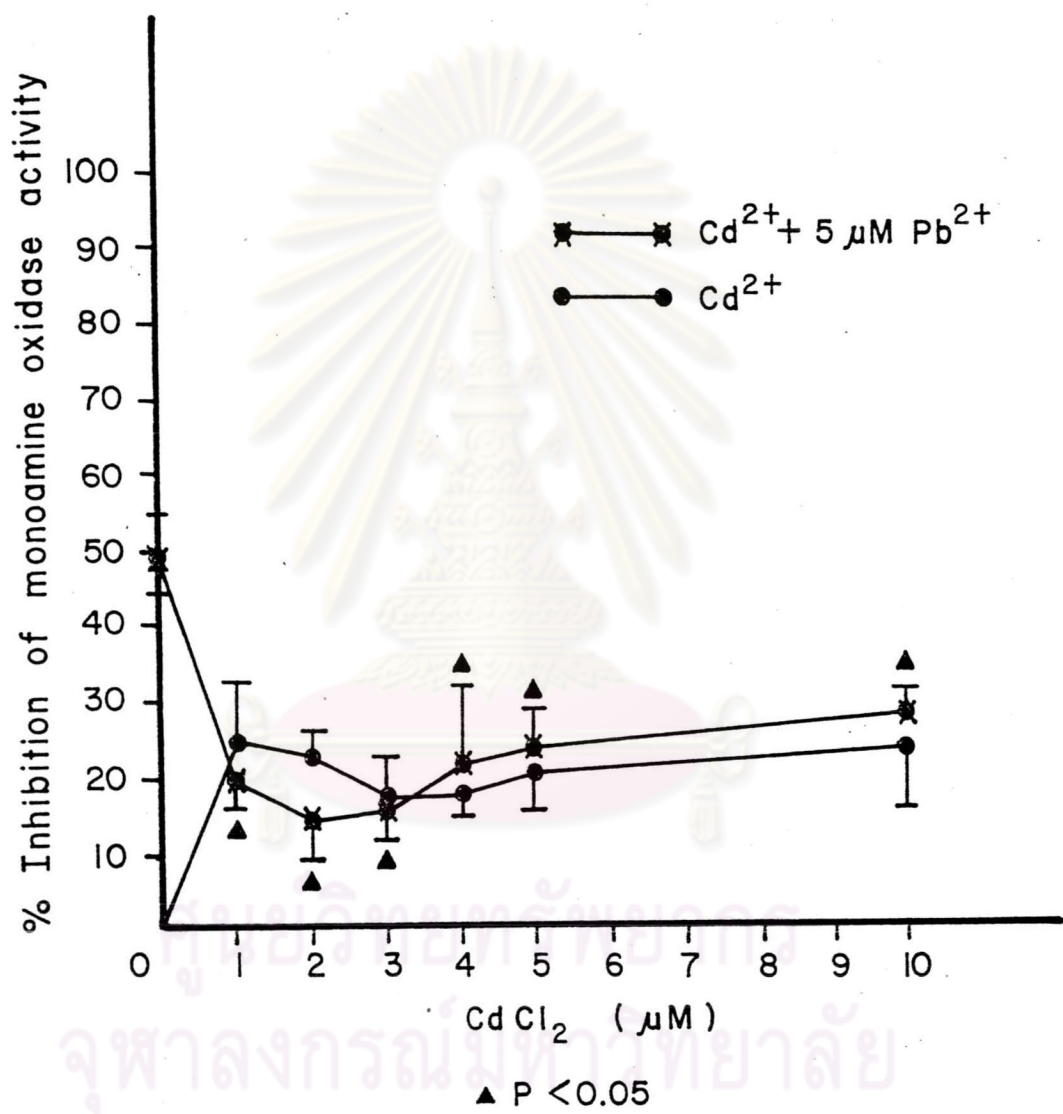
▲ \*  $P < 0.05$

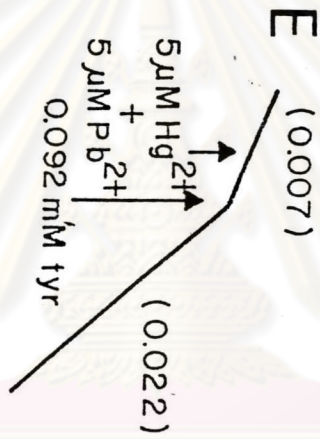
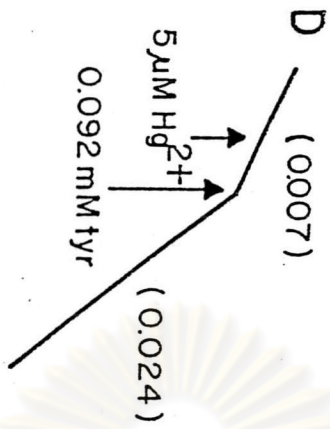
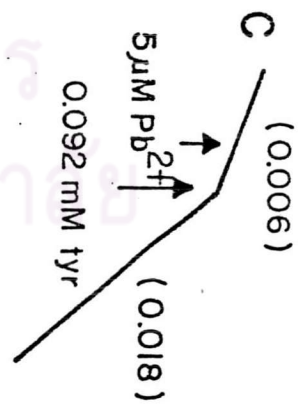
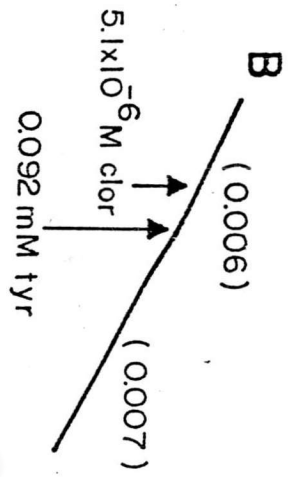
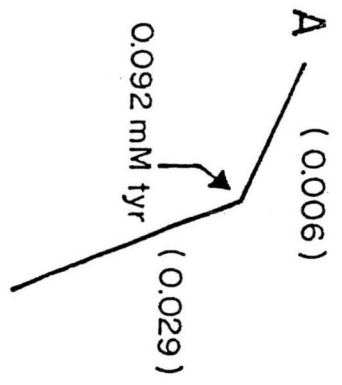






ศูนย์เภสัชวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

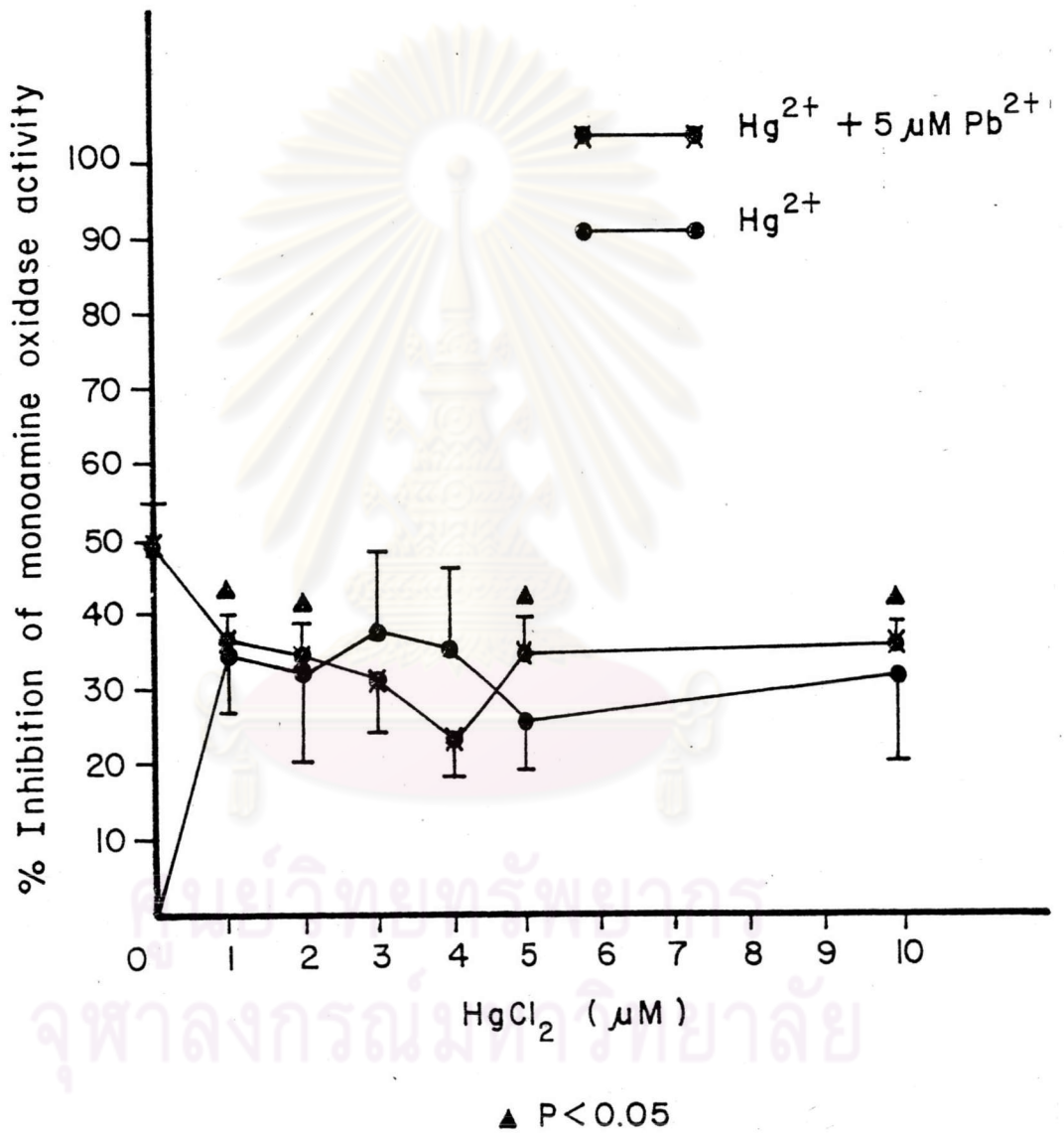




0.05 μ atom O/ml

1 min

ศูนย์แพทย์ทหาร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 2 ผลของตะกั่วและแคดเมียมเมื่อให้เดี่ยว และเมื่อให้ร่วมกันต่อฤทธิ์ของ clorgyryne ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

Additions	% inhibition (mean $\pm$ SEM)
6.2 $\mu$ M clorgyryne	66.12 $\pm$ 2.54
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup>	48.39 $\pm$ 5.23
5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	20.54 $\pm$ 4.46
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	23.52 $\pm$ 4.91
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	71.81 $\pm$ 3.17
5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	60.74 $\pm$ 3.64
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	80.30 $\pm$ 2.17*

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.024 M phosphate buffer pH 7.2, 10  $\mu$ g rotenone, 10  $\mu$ g antimycin A, 13.44 mM sucrose, 0.92 mM tyramine และไมโตคอนเดรีย 2.56 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตาลงไปอีกแสดงในตารางคือ clorgyryne, ตะกั่ว, แคดเมียม และตะกั่ว + แคดเมียม ปริมาตรทั้งหมด 1.83 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

\* P < 0.05

\* แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผลของ 6.2  $\mu$ M clorgyryne เดี่ยว กับเมื่อให้ 6.2  $\mu$ M clorgyryne ร่วมกับโลหะหนัก



ตารางที่ 3 ผลของตะกั่วและปรอทเมื่อให้เดี่ยว และเมื่อให้ร่วมกันต่อฤทธิ์ของ clorgyryne ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

Additions	% inhibition (mean $\pm$ SEM)
6.2 $\mu$ M clorgyryne	66.12 $\pm$ 2.54
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup>	48.39 $\pm$ 5.23
5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	25.65 $\pm$ 3.92
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	34.63 $\pm$ 4.76
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	71.81 $\pm$ 3.17
5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	66.20 $\pm$ 2.07
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup> + 6.2 $\mu$ M clorgyryne	71.10 $\pm$ 2.74

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.024 M phosphate buffer pH 7.2, 10  $\mu$ g rotenone, 10  $\mu$ g antimycin A, 13.44 mM sucrose, 0.92 mM tyramine และไมโทคอนเดรีย 2.42 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตาลงไปอีกแสดงในตารางคือ clorgyryne, ตะกั่ว, ปรอท และ ตะกั่ว + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 1.83 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

ตารางที่ 4 ผลของ dithiotheritol (DTT) ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส เมื่อถูกยับยั้งการทำงานโดยตะกั่วและแคดเมียม ทั้งเมื่อให้อย่างเดี่ยว และเมื่อให้ร่วมกัน เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

Additions	% inhibition (mean $\pm$ SEM)
0.11 mM DTT	0.892 $\pm$ 0.003
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup>	48.39 $\pm$ 5.23
5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	20.54 $\pm$ 4.46
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	23.52 $\pm$ 4.91
0.11 mM DTT added before 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup>	20.86 $\pm$ 3.55*
0.11 mM DTT added after 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup>	24.42 $\pm$ 4.32*
0.11 mM DTT added before 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	13.80 $\pm$ 4.98
0.11 mM DTT added after 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	12.99 $\pm$ 3.19
0.11 mM DTT added before 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	21.10 $\pm$ 4.91
0.11 mM DTT added after 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Cd <sup>2+</sup>	19.32 $\pm$ 4.29

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.024 M phosphate buffer pH 7.2, 10  $\mu$ g rotenone, 10  $\mu$ g antimycin A, 13.44 mM sucrose, 0.092 mM tyramine และ ไมโตคอนเดรียเจลลี่ 2.36 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตามลงไปอีกตั้งแสดงในตารางคือ DTT, ตะกั่ว, แคดเมียม และ ตะกั่ว + แคดเมียม ปริมาตรทั้งหมด 1.83 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

\* P < 0.05

\* แสดงการเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่เติม 0.11 mM DTT และ ไม่ได้เติม 0.11 mM DTT ลงใน reaction chamber

ตารางที่ 5 ผลของ dithiotharial (DTT) ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส เมื่อถูกยับยั้งการทำงานโดยตะกั่วและปรอท เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกัน เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

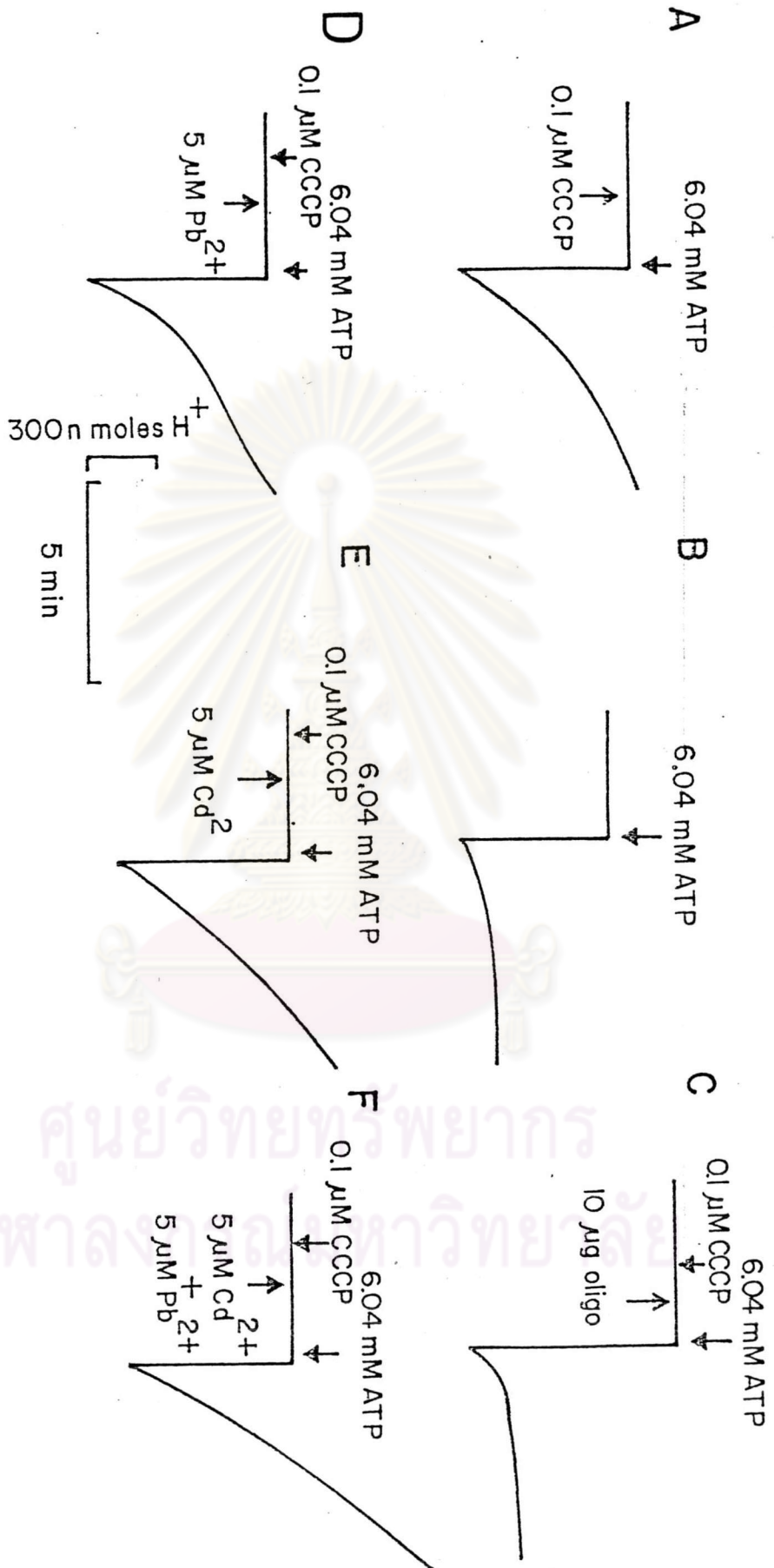
Additions	% inhibition (mean $\pm$ SEM)
0.11 mM DTT	0.892 $\pm$ 0.003
5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	25.65 $\pm$ 3.92
5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	34.63 $\pm$ 4.76
0.11 mM DTT added before 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	10.71 $\pm$ 4.42*
0.11 mM DTT added after 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	20.29 $\pm$ 2.75
0.11 mM DTT added before 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	22.08 $\pm$ 5.20*
0.11 mM DTT added after 5 $\mu$ M Pb <sup>2+</sup> + 5 $\mu$ M Hg <sup>2+</sup>	27.43 $\pm$ 3.59

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.024 M phosphate buffer pH 7.2, 10  $\mu$ g rotenone, 10  $\mu$ g antimycin A, 13.44 mM sucrose, 0.092 mM tyramine และไมโตคอนเดรีย 2.36 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตามลงไปอีกดังแสดงในตาราง คือ DTT, ตะกั่ว, ปรอท และตะกั่ว + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 1.83 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

\* P < 0.05

\* แสดงการเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่เติม 0.11 mM DTT และ ไม่ได้เติม 0.11 mM DTT ลงใน reaction chamber



ตารางที่ 6 ผลของแคดเมียม และปรอทเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับตะกั่ว ที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรียที่ถูกกระตุ้น โดย CCCP

Additions	ATPase activity (nmoles H <sup>+</sup> /mg protein/5 min) (mean ± SEM)
none	75.56 ± 7.60
0.1 μM CCCP	698.16 ± 22.84
5 μM Pb <sup>2+</sup>	754.96 ± 20.02
5 μM Hg <sup>2+</sup>	844.55 ± 32.51
5 μM Cd <sup>2+</sup>	824.19 ± 35.03
5 μM Pb <sup>2+</sup> + 5 μM Hg <sup>2+</sup>	862.12 ± 30.98 ▲
5 μM Pb <sup>2+</sup> + 5 μM Cd <sup>2+</sup>	886.05 ± 32.23 * ▲
10 μg oligomycin	254.58 ± 14.45

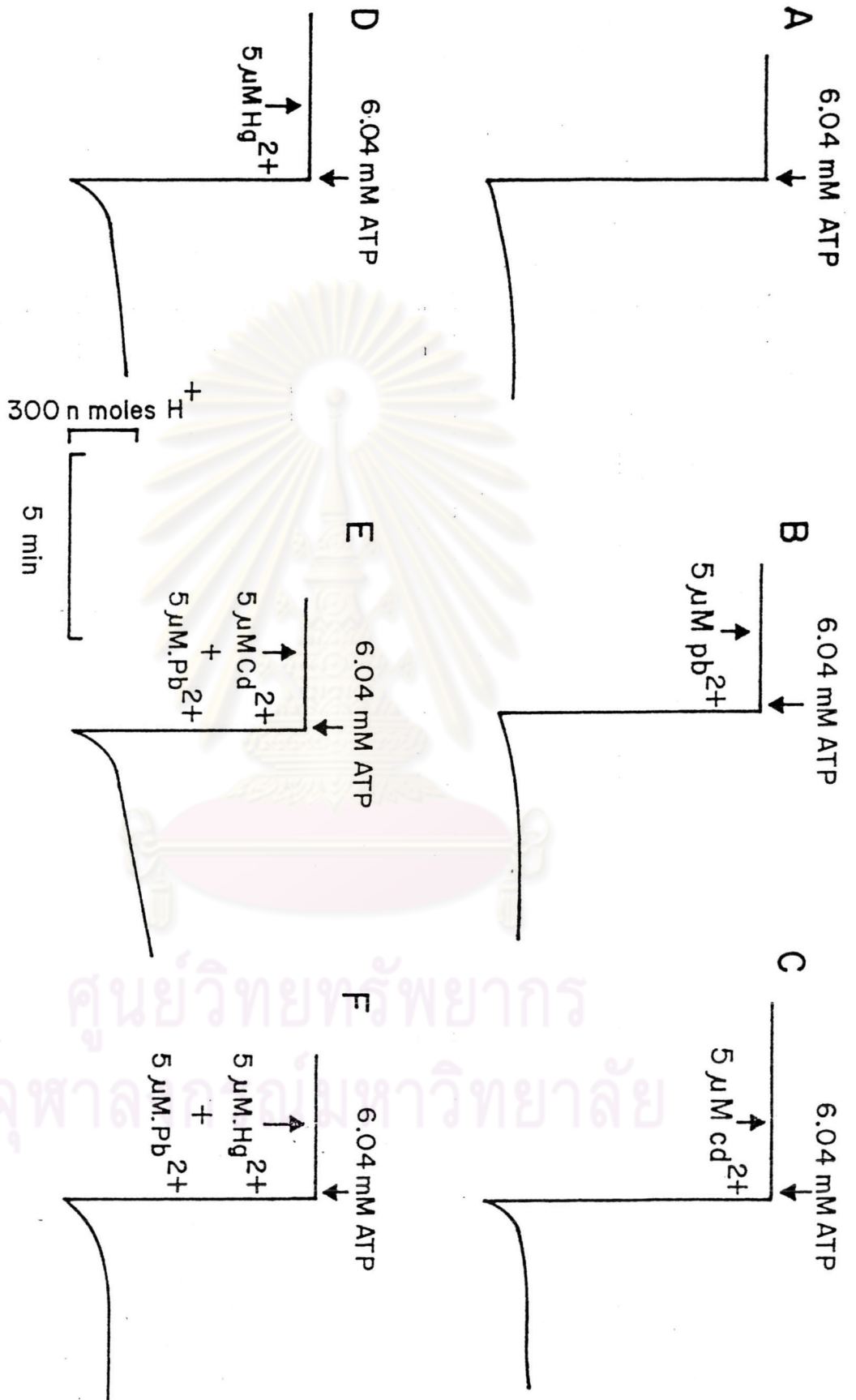
ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 3.60 mM Hepes buffer pH 7.2, 1.44 mM MgCl<sub>2</sub>, 85.8 mM KCl, 11.41 mM sucrose, 6.04 mM ATP และ ไมโทคอนเดรียเฉลี่ย 2.41 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตามลงไปอีกดังแสดง ในตารางคือ CCCP, oligomycin, ตะกั่ว, แคดเมียม, ปรอท, ตะกั่ว + แคดเมียม และ ตะกั่ว + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 4.16 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

▲ \* P < 0.05

\* แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผลของ แคดเมียม หรือ ปรอท เพียงอย่างเดียว กับผลของตะกั่ว + แคดเมียม หรือ ตะกั่ว + ปรอท ตามลำดับ

▲ แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผลของตะกั่วอย่างเดียวกับ ตะกั่ว + แคดเมียม หรือ ตะกั่ว + ปรอท



ตารางที่ 7 ผลของแคดเมียมและปรอท เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ ตะกั่วที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย

Additions	ATPase activity (nmoles H <sup>+</sup> /mg protein/5 min) (mean ± SEM)
none	75.56 ± 7.60
5 μM Pb <sup>2+</sup>	99.11 ± 7.03
5 μM Hg <sup>2+</sup>	132.59 ± 6.19
5 μM Cd <sup>2+</sup>	120.16 ± 12.16
5 μM Pb <sup>2+</sup> + 5 μM Hg <sup>2+</sup>	158.29 ± 11.09 * ▲
5 μM Pb <sup>2+</sup> + 5 μM Cd <sup>2+</sup>	174.58 ± 10.84 * ▲

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 3.60 mM HEPES buffer pH 7.2, 1.44 mM MgCl<sub>2</sub>, 85.8 mM KCl, 11.41 mM sucrose, 6.04 mM ATP และ ไมโทคอนเดรียเฉลี่ย 2.45 มก. โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตามลงไปดังแสดงใน ตารางคือ ตะกั่ว, แคดเมียม, ปรอท, ตะกั่ว + แคดเมียม และ ตะกั่ว + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 4.16 มล.

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง  
▲ \* P < 0.05

- \* แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผลของ แคดเมียม หรือ ปรอท เพียงอย่างเดียว กับผลของตะกั่ว + แคดเมียม หรือ ตะกั่ว + ปรอท ตามลำดับ
- ▲ แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผลของตะกั่วอย่างเดียวกับ ตะกั่ว + แคดเมียม หรือ ตะกั่ว + ปรอท

RCI ใช้อัตราการหายใจหลังการเกิด state 3) แต่ก็มีสารเคมีบางอย่างเช่น 2,4-dinitrophenol (DNP) และ carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP) เป็นต้น มีคุณสมบัติที่สามารถทำให้การควบคุมการหายใจของไมโทคอนเดรียนี้เสียไป โดยที่มันจะไปกระตุ้น state 4 ได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้ ADP เลย (ไม่มีการสร้าง ATP) และมีผลทำให้ไมโทคอนเดรียใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็วติดต่อกันไป จนกระทั่งออกซิเจนหมดไปจาก reaction chamber เราเรียกว่าสารเหล่านี้ทำให้เกิดอันคัปปลิง ในการวิจัยนี้เราใช้ CCCP เป็นตัวอันคัปปลิง การเติม CCCP ลงไปในระยะสุดท้ายของ tracing A จึงทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียในระยะนี้ (0.213) สูงมาก และมีการใช้ออกซิเจนติดต่อกันจนกระทั่งหมดไปในที่สุด เราเรียกการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อเติมสารอันคัปปลิงนี้ว่า state 3U respiration tracings B, C และ D แสดงผลของ  $Pb^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  ในระดับความเข้มข้น 5  $\mu M$  เปรียบเทียบเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน จะเห็นว่าทั้ง  $Pb^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  สามารถยับยั้ง state 3 และ state 3U respiration ได้รวมทั้งยังสามารถกระตุ้น state 4 respiration ได้อีกด้วย และเมื่อให้  $Pb^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  ร่วมกันจะสามารถเสริมฤทธิ์ดังกล่าวได้ รูปที่ 6 เป็นผลการทดลองที่ได้เมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลอง โดยใช้  $Cd^{2+}$  ความเข้มข้น 1-10  $\mu M$  อย่างเดียวและให้ร่วมกับ 5  $\mu M$   $Pb^{2+}$  แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้ง state 3 และ state 3U respiration พร้อมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในกรณีเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  กับการได้รับ  $Cd^{2+}$  อย่างเดียวถ้ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จะแสดงด้วยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ ) แต่หากเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $Pb^{2+} + Cd^{2+}$  กับการได้รับ  $Pb^{2+}$  อย่างเดียวถ้ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จะแสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ส่วนในรูปที่ 7 ทำการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลในลักษณะเดียวกัน แต่ใช้ succinate เป็นสับสเตรทพบว่าให้ผลทำนองเดียวกับการใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท แต่จะต่างกันในเรื่อง quantitative กล่าวคือเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท จะเห็นความแตกต่างระหว่างการให้โลหะหนักชนิดเดียว และเมื่อให้ร่วมกันได้ชัดเจนว่า อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็นสับสเตรท จะพบว่า การยับยั้งจะเกิดต่อ state 3U respiration มากกว่า state 3 respiration

1.2 ผลของตะกั่วและปรอทเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน แสดงเป็น oxygraph tracings ในรูปที่ 8 tracing A แสดง control respiratory



response ดังได้อธิบายแล้วในข้อ 1.1 tracings B, C และ D แสดงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ tracing A แล้ว พบว่า  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  สามารถยับยั้ง state 3 และ state 3U respiration ได้ นอกจากนี้ยังกระตุ้น state 4 respiration ได้ ชัดเจนทำนองเดียวกับแคลเซียม เมื่อให้  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  จะเห็นผลเสริมฤทธิ์ในการยับยั้ง state 3 และ state 3U ชัดเจนกว่าการเสริมฤทธิ์กระตุ้น state 4 respiration เมื่อเทียบกับการให้  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  เพียงอย่างเดียว แต่เมื่อเทียบกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  อย่างเดียวแล้วจะเห็นผลเสริมฤทธิ์ทั้งสามประการชัดเจน ซึ่ง oxygraph tracings ที่แสดงในรูปที่ 8 นี้ ทำการทดลองโดยใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท เมื่อทำการทดลองเพิ่มเป็น 4 การทดลองโดยใช้  $\text{Hg}^{2+}$  ความเข้มข้น 1-10  $\mu\text{M}$  อย่างเดียว และให้ร่วมกันกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้ง state 3 และ state 3U respiration พร้อมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $\text{Hg}^{2+}$  เพียงอย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในเกือบทุกความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  ดังแสดงด้วยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 9A และ 9B แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  กับการได้รับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + \text{Hg}^{2+}$  จะพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นและบางความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  ในกรณีของการยับยั้ง state 3 และ state 3U respiration ตามลำดับ ดังแสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 9A และ 9B ส่วนในรูปที่ 10 จะแสดงผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลในลักษณะเดียวกัน แต่ใช้ succinate เป็นสับสเตรท จะให้ผลในทำนองเดียวกันกับการใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ยกเว้น state 3U respiration ซึ่งมีการยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญทุกความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  ที่ให้ร่วมกันกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  เมื่อเทียบกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  เพียงอย่างเดียว

## 2. ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษาต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยแคลเซียม

2.1 ผลของตะกั่วและแคลเซียมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน แสดงเป็น oxygraph tracings ในรูปที่ 11 tracing A แสดง control respiratory response ของไมโทคอนเดรียต่อ  $\text{CaCl}_2$  ในช่วงแรกของ tracing A ซึ่งใน reaction chamber ประกอบด้วยสับสเตรท (glutamate + malate) และ Pi จะพบว่าอัตราการหายใจของไมโทคอนเดรียยังคงต่ำอยู่

(0.018) เมื่อเติม 0.14 mM  $\text{CaCl}_2$  ลงไปใน reaction chamber อัตราการใช้ออกซิเจนจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (0.138) เนื่องจากไมโทคอนเดรียจะออกซิไดซ์สับสเตรท เพื่อให้ได้พลังงานมาใช้ในการสะสมแคลเซียม ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการดังกล่าวเป็น active transport ซึ่งจำเป็นต้องใช้พลังงาน เมื่อแคลเซียมที่เข้าไปถูกสะสมโดยไมโทคอนเดรียแล้ว อัตราการหายใจจึงลดลงดังเดิม (0.016) ในตอนสุดท้ายของ tracing A

tracing B, C และ D แสดงถึงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  ต่อกระบวนการดังกล่าวตามลำดับ พบว่า ทั้ง  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  ยับยั้งกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียโดยแคลเซียม โดย  $\text{Cd}^{2+}$  จะมีผลยับยั้งมากกว่า  $\text{Pb}^{2+}$  อย่างชัดเจน จาก tracing D จะเห็นผลเสริมฤทธิ์กันระหว่าง  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  ในการยับยั้งกระบวนการดังกล่าว รูป 12 เป็นผลจากการทดลอง 4 การทดลองโดยใช้  $1-10 \mu\text{M Cd}^{2+}$  อย่างเดียว และให้ร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้งกระบวนการนี้ พร้อมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $\text{Cd}^{2+}$  เพียงอย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น  $2 \mu\text{M Cd}^{2+}$  เท่านั้น ดังแสดงไว้ด้วยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 12 แต่หากเทียบระหว่างการได้รับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  อย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $1-10 \mu\text{M Cd}^{2+}$  จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของ  $\text{Cd}^{2+}$  แสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 12

2.2 ผลของตะกั่วและปรอทเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน แสดงเป็น oxygraph tracings ในรูปที่ 13 tracing A แสดง control response ของไมโทคอนเดรียที่ใช้ในการทดลอง ดังอธิบายไว้ในข้อ 2.1 แล้ว tracing B, C และ D แสดงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  ตามลำดับ พบว่า  $\text{Hg}^{2+}$  มีผลยับยั้งกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียโดยแคลเซียมได้เด่นกว่า  $\text{Pb}^{2+}$  เช่นเดียวกับกรณี  $\text{Cd}^{2+}$  และเมื่อให้  $\text{Hg}^{2+}$  ร่วมกับ  $\text{Pb}^{2+}$  จะเห็นแนวโน้มการเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการดังกล่าว เมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลองโดยใช้  $1-10 \mu\text{M Hg}^{2+}$  แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้งกระบวนการนี้ แล้วนำมาวาดกราฟดังรูปที่ 14 พร้อมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $\text{Hg}^{2+}$  อย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  จะมีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะที่ความเข้มข้น  $2 \mu\text{M Hg}^{2+}$  เท่านั้น ดังแสดงด้วยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 14 แต่หากเทียบระหว่างการได้รับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  อย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $1-10 \mu\text{M Hg}^{2+}$  จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  แสดงด้วยเครื่องหมาย ▲ ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 14

จากผลในข้อ 2.1 และ 2.2 จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ  $5 \mu\text{M}$  เช่นเดียวกันจะพบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียโดยแคลเซียมเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้  $\text{Hg}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Pb}^{2+}$

### 3. ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษาต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส

#### 3.1 ผลของตะกั่วและแคดเมียมต่อการทำงานของเอนไซม์ โมโนเอมีน ออกซิเดส

ตลอดการศึกษาในหัวข้อ 3 นี้จะใช้ tyramine เป็นสับสเตรทในการทำงานของเอนไซม์ โมโนเอมีน ออกซิเดส ดังได้กล่าวแล้วในบทที่ 2 ผลของตะกั่วและแคดเมียมต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวนี้ แสดงเป็น oxygraph tracing ในรูปที่ 15 tracing A แสดงถึง control response ของไมโทคอนเดรียเมื่อได้รับ tyramine ในช่วงต้นของ tracing จะพบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียนั้นยังต่ำอยู่ ( $0.008$ ) ในช่วงนี้ใน reaction chamber จะประกอบด้วย incubation medium, respiratory chain inhibitors ได้แก่ rotenone และ antimycin A และไมโทคอนเดรีย เมื่อเราเริ่มต้นปฏิกิริยาด้วย  $0.092 \text{ mM tyramine}$  จะพบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ( $0.031$ ) ซึ่งแสดงว่ามีการใช้ออกซิเจนไปในปฏิกิริยา oxidative deamination ของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส และเพื่อเป็นการยืนยันว่าการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียใน reaction chamber เกิดจากการทำงานของเอนไซม์นี้จริง จึงเติม  $5.1 \times 10^{-5} \text{ M clorgyline}$  ซึ่งเป็น monoamine oxidase inhibitor ลงใน reaction chamber แล้ว incubate กับไมโทคอนเดรียเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงเริ่มต้นปฏิกิริยาด้วย  $0.092 \text{ tyramine}$  ดังแสดงด้วย tracing B จะเห็นได้ว่า อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียไม่ได้เพิ่มสูงขึ้นเช่นที่แสดงใน tracing A แสดงว่าการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียใน reaction chamber เกิดจากการทำงาน

เอนไซม์ โมโนเอมีน ออกซิเดส ซึ่งสามารถยับยั้งได้ด้วย clorgyline ซึ่งเป็น MAO inhibitor tracings C, D และ E แสดงถึงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  ต่อการทำงานของเอนไซม์นี้ตามลำดับพิจารณาจาก tracing จะเห็นผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ ทั้งเมื่อให้โลหะหนักอย่างเดี่ยว และเมื่อให้ร่วมกันเมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลอง โดยใช้  $1-10 \mu\text{M Cd}^{2+}$  เพียงอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ แล้วนำมาวาดกราฟ ดังรูปที่ 16 พร้อมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $\text{Cd}^{2+}$  อย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  อย่างเดียว กับการได้รับร่วมกับ  $1-10 \mu\text{M Cd}^{2+}$  จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของ  $\text{Cd}^{2+}$  แสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 16 และเห็นได้ว่าการได้รับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  เพียงอย่างเดียวจะมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้มากกว่าการได้รับร่วมกับ  $\text{Cd}^{2+}$  และเห็นแนวโน้มการต้านฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ระหว่าง  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  อย่างชัดเจน

3.2 ผลของตะกั่วและปรอทต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส แสดงเป็น oxygraph tracing ในรูปที่ 17 tracing A และ B แสดง control response ของไมโทคอนเดรีย เมื่อไม่มี clorgyline และเมื่อ preincubate ด้วย  $5.1 \times 10^{-5} \text{ M clorgyline}$  ตามลำดับ ดังได้อธิบายแล้วในข้อ 3.1 tracing C, D และ E แสดงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  ต่อการทำงานของเอนไซม์นี้ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจาก tracing จะเห็นผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้โดยโลหะหนัก และเมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลองโดยใช้  $1-10 \mu\text{M Hg}^{2+}$  เพียงอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้แล้วนำมาวาดกราฟดังรูปที่ 8 พร้อมทั้งทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมา เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $\text{Hg}^{2+}$  อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  อย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับ  $1-10 \mu\text{M Hg}^{2+}$  จะพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  แสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ในรูปที่ 18 และเห็นได้ว่าการได้รับ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  เพียงอย่างเดียวจะมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้มากกว่าได้รับร่วมกับ  $\text{Hg}^{2+}$  ซึ่งเป็นแนวโน้มที่สังเกตได้ เช่นเดียวกับกรณี  $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$

3.3 ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษาเมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกันต่อฤทธิ์ของ clorgyryne ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

จากผลการทดลองในข้อ 3.1 และ 3.2 พบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดที่นำมาศึกษาได้แก่  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  และ  $Hg^{2+}$  นั้นต่างก็มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาต่อไปถึงผลของโลหะหนักเหล่านี้ต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว เมื่อไมโทคอนเดรียถูก preincubate ด้วย clorgyryne ซึ่งเป็น MAO inhibitor ดังได้กล่าวถึงแล้วในข้อ 3.1 โดยจะใช้โลหะหนักทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้น  $5 \mu M$  ทั้งเมื่อให้อย่างเดี่ยว และเมื่อให้  $5 \mu M$   $Cd^{2+}$  และ  $5 \mu M$   $Hg^{2+}$  ร่วมกับ  $5 \mu M$   $Pb^{2+}$  ทำการทดลองในแต่ละชุด 4 การทดลอง แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส พร้อมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมา จะได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2 และตารางที่ 3 โดยตารางที่ 2 จะเป็นผลของ  $Pb^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  เมื่อให้อย่างเดี่ยว และให้ร่วมกัน ส่วนตารางที่ 3 จะเป็นผลของ  $Pb^{2+}$  และ  $Hg^{2+}$  เมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกัน จากตารางที่ 2 จะพบผลการเสริมฤทธิ์กับ clorgyryne อย่างมีนัยสำคัญเพียงกรณีเดี่ยวคือ  $5 \mu M$   $Pb^{2+}$  +  $5 \mu M$   $Cd^{2+}$  ส่วนตารางที่ 2 นั้นไม่พบว่าการเสริมฤทธิ์กับ clorgyryne อย่างมีนัยสำคัญในทุกการทดลอง

3.4 ผลของ dithiotheritol (DTT) ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส เมื่อถูกยับยั้งโดยโลหะหนักที่นำมาทำการทดลอง ทั้งเมื่อให้อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกัน เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท

ผลการทดลองในตารางที่ 4 แสดงผลของ DTT ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส เมื่อถูกยับยั้งโดย  $5 \mu M$   $Pb^{2+}$  และ  $5 \mu M$   $Cd^{2+}$  อย่างเดี่ยวและเมื่อให้ร่วมกัน ค่าที่แสดงในตารางที่ 4 เป็นค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส ได้จากการทดลองทั้งหมด 4 การทดลอง จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า  $0.11$  mM DTT เกือบไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์นี้เลย แต่สามารถมีผลลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้โดย  $5 \mu M$   $Pb^{2+}$  ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งกรณีที่เติมลงไปก่อนและหลังจากที่ไมโทคอนเดรียจะได้รับ  $5 \mu M$   $Pb^{2+}$  แล้วแสดงด้วยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามในกรณีของ  $5 \mu M$   $Cd^{2+}$  นั้นพบแนวโน้มในการที่  $0.11$  mM DTT

จะสามารถลดผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ได้ ถึงแม้ว่าจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม

ตารางที่ 5 เป็นผลที่ได้จากการทดลองในทำนองเดียวกัน แต่ใช้  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  ทั้งเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน จะพบว่า  $0.11 \text{ mM DTT}$  สามารถลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ได้อย่างมีนัยสำคัญ ดังกรณีต่อไปนี้เป็นคือ เมื่อเติม  $0.11 \text{ mM DTT}$  ลงไปก่อนที่ไมโทคอนเดรียจะได้รับ  $5 \mu\text{M Hg}^{2+}$  หรือ  $5 \mu\text{M Hg}^{2+} + 5 \mu\text{M Pb}^{2+}$  แสดงโดยเครื่องหมาย \* ( $P < 0.05$ )

#### 4. ผลของโลหะหนักที่นำมาศึกษาต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย

จากผลการวิจัยในข้อ 1 พบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดมีผลกระตุ้น state 4 respiration ได้ ทั้งในกรณีที่เมื่อให้อย่างเดียวและให้ร่วมกัน ซึ่งผลดังกล่าวชี้แนะว่าโลหะหนักเหล่านี้มีผลกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย ดังนั้นจึงได้ทดสอบผลของโลหะหนักต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย โดยจะได้ศึกษาถึงผลของโลหะหนักต่อเอนไซม์นี้เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CCCP ซึ่งเป็นสารอันคัปปลิง และไม่ถูกกระตุ้นด้วย CCCP

4.1 ผลของแคดเมียมและปรอทเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับตะกั่วที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย ที่ถูกกระตุ้นด้วย CCCP

รูปที่ 19 เป็น tracings ที่ได้จากการวัดจำนวน  $\text{H}^+$  ที่เพิ่มขึ้นใน medium ดังได้อธิบายไว้ในบทที่ 2 แล้ว tracing A แสดงถึง control ATPase activity ของไมโทคอนเดรียซึ่งถูกกระตุ้นด้วย  $0.1 \mu\text{M CCCP}$  เมื่อ preincubate ไมโทคอนเดรียด้วย  $0.1 \mu\text{M CCCP}$  แล้วเริ่มปฏิกิริยาด้วย  $6.04 \text{ mM ATP}$  จะมี  $\text{H}^+$  เพิ่มขึ้นใน medium จากปฏิกิริยา  $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{Pi} + \text{H}^+$  ส่วน tracing B แสดง endogenous hydrolysis ของ ATP ซึ่งแสดงถึงการทำงานของเอนไซม์ ATPase ซึ่งเกิดขึ้นอยู่แล้วแม้จะไม่ถูกกระตุ้นด้วยสารใดก็ตามจะเห็นได้ว่า  $\text{H}^+$  ที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น tracing C แสดงถึงผลของ oligomycin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาฟอสฟอริลเลชัน จะเห็นได้ว่า oligomycin สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ CCCP ในการกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ได้ ส่วน tracing D, E และ F แสดงถึงผลของ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+}$ ,  $5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  และ  $5 \mu\text{M Pb}^{2+} + 5 \mu\text{M Cd}^{2+}$  ตามลำดับ จาก tracings ดังกล่าวจะเห็นแนวโน้มในการกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ได้

ทั้งเมื่อให้อย่างเดียวและให้ร่วมกันเมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลอง แล้วหาค่าเฉลี่ยของ  $H^+$  ที่เพิ่มขึ้นใน medium จะได้ผลดังตารางที่ 6 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่าโลหะหนักที่นำมาศึกษาทั้งสามชนิดที่ระดับ  $5 \mu M$  สามารถกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ได้อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อให้  $5 \mu M Pb^{2+}$  ร่วมกับ  $5 \mu M Cd^{2+}$  หรือ  $5 \mu M Hg^{2+}$  ก็จะสามารถกระตุ้น ATPase ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับ control response ที่ถูกกระตุ้นด้วย CCCP และเมื่อเปรียบเทียบกรณีที่ไม่โตคอนเดรียได้รับโลหะหนักอย่างเดียวกับได้รับร่วมกัน จะพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $5 \mu M Pb^{2+}$  อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu M Cd^{2+}$  หรือ  $5 \mu M Hg^{2+}$  จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองกรณี ดังแสดงด้วยเครื่องหมาย  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ในตารางที่ 6 แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ  $5 \mu M Hg^{2+}$  เพียงอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu M Pb^{2+}$  จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรณีเปรียบเทียบ  $5 \mu M Cd^{2+}$  เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu M Pb^{2+}$  จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงด้วยเครื่องหมาย  $*$  ( $P < 0.05$ ) ในตารางที่ 6

4.2 ผลของแคดเมียมและปรอทเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับตะกั่วที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย

รูปที่ 20 แสดง tracings ของผลการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.1 แต่ในขั้นตอนนี้จะศึกษาผลของโลหะหนักที่มีต่อ ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย โดยไม่มี CCCP รวมอยู่ด้วย เพื่อดูว่าโลหะหนักดังกล่าวมีผลกระตุ้น ATPase ด้วยตัวมันเองหรือไม่ tracing A แสดงถึง endogenous ATP hydrolysis ของไมโทคอนเดรียที่ใช้ในการทดลองโดยไม่มีโลหะหนักรวมอยู่ด้วย และเป็น control response สำหรับการทดลองนี้ด้วย ส่วน tracings B, C และ D จะแสดงถึงผลของ  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  และ  $Hg^{2+}$  ที่ระดับ  $5 \mu M$  ตามลำดับ จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ tracing A แล้วจะเห็นแนวโน้มว่ามีการกระตุ้น ATPase ค่อนข้างชัดเจน ในกรณีของ  $5 \mu M Cd^{2+}$  และ  $5 \mu M Hg^{2+}$  ส่วน tracings E และ F แสดงถึงผลของ  $5 \mu M Pb^{2+}$  เมื่อให้ร่วมกับ  $5 \mu M Cd^{2+}$  และ  $5 \mu M Hg^{2+}$  ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ tracing A แล้วจะเห็นผลการกระตุ้นเอนไซม์ ATPase เมื่อทำการทดลองเพิ่มขึ้นเป็น 4 การทดลอง แล้วหาค่าเฉลี่ยของ  $H^+$  ที่เพิ่มขึ้นใน medium เช่นเดียวกับข้อ 4.2 จะได้ผลดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติออกมาพบว่า ในกรณีนี้โลหะหนักทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับ  $5 \mu M$

สามารถกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อให้  $5 \mu\text{M}$   $\text{Hg}^{2+}$  หรือ  $5 \mu\text{M}$   $\text{Cd}^{2+}$  ร่วมกับ  $5 \mu\text{M}$   $\text{Pb}^{2+}$  จะเสริมฤทธิ์ในการกระตุ้นเอนไซม์นี้ ได้อย่างมีนัยสำคัญไม่ว่าจะเปรียบเทียบกับตัวมันเองหรือกับ  $5 \mu\text{M}$   $\text{Pb}^{2+}$  ดังแสดงด้วย เครื่องหมาย \* และ  $\blacktriangle$  ( $P < 0.05$ ) ตามลำดับ



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย