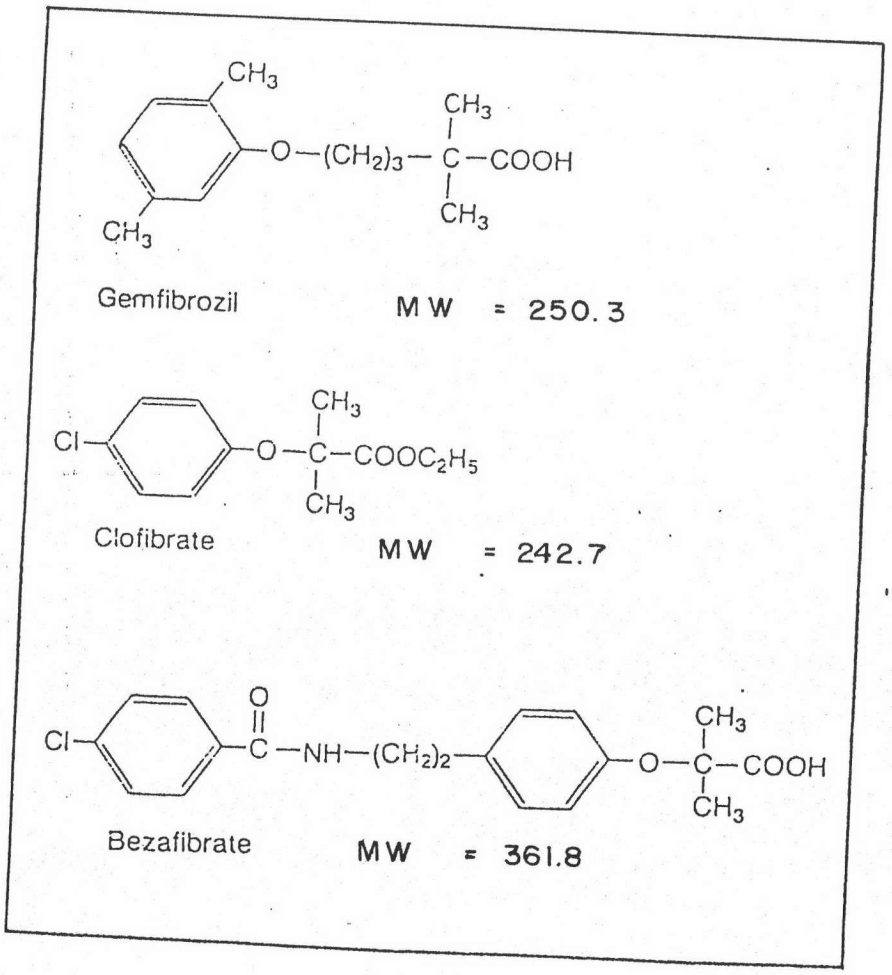
บทที่ 1

บทนำ

ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ (dyslipidaemia) ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของกระบวนการเมตาบอลิสมของไขมัน (lipid) และอโปไลโปโปรตีน (apolipoprotein) เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญซึ่งชักนำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease, CHD) และภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) อันจะนำไปสู่การเกิดโรคหัวใจขาดเลือดไปเลี้ยง (ischaemic heart disease), ความดันโลหิตสูงขั้นรุนแรง (severe hypertension) และโรคหัวใจอื่น ๆ ต่อไป ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นพัฒนายาที่มีคุณสมบัติควบคุมระดับไขมันในเลือดให้คงที่ (lipid-regulating drugs) ซึ่งส่วนมากจะเป็นยาลดระดับไขมันในเลือด เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะดังกล่าวข้างต้น

Gemfibrozil จัดเป็นยาลดระดับไขมันในเลือด ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ยานี้มีคุณสมบัติลดไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ได้ดีกว่าลดโคเลสเตอรอล (cholesterol) ในบทที่จะนำเสนอต่อไปนี้จะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก คือ

ส่วนที่ 1 เสนอข้อมูลทางด้านเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของ gemfibrozil



รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของเจมไฟโบรซิล (gemfibrozil) และอนุพันธ์อื่น ๆ ของกรดไฟบริก (fibric acid)

ส่วนที่ 2 เสนอการทำงานของไมโตคอนเดรียในแง่การหายใจและกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น (oxidative phosphorylation)

ส่วนที่ 3 เสนอแนวเหตุผลที่นำไปสู่การวิจัย

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทางด้านเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของ gemfibrozil

1. คุณสมบัติทั่วไปทางเภสัชวิทยาของ gemfibrozil

Gemfibrozil จัดเป็นยาลดระดับไขมันในเลือด (lipid-lowering drug) สังเคราะห์ขึ้นในปี 1968 ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นยาที่ให้ผลในการรักษาดีที่สุด และเกิดพิษน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับยาในกลุ่มอนุพันธ์เดียวกัน (1) ยานี้มีข้อบ่งใช้ คือใช้รักษาภาวะไขมันในเลือดสูงชนิด IIa, IIb, III, IV และ V (ทั้งที่มีหรือไม่มีโรคเบาหวานร่วมด้วย) และภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง (hypertriglyceridemia) (2) ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติแบ่งตามชนิดและปริมาณของไขมัน, ไลโปโปรตีนในเลือด ออกเป็น 5 ประเภท (ดังตารางที่ 1) คือ ชนิดที่ I, II, III, IV และ V โดยชนิดที่ II แบ่งย่อยเป็น IIa และ IIb

Gemfibrozil มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ (3) ผลทางเภสัชวิทยาของ gemfibrozil แตกต่างจากยาตัวอื่นในกลุ่มเดียวกัน (4) การลดระดับไขมันในเลือดเป็นผลจากการลดระดับ very low density lipoprotein (VLDL) ซึ่งจัดเป็นไลโปโปรตีนที่มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์เป็นสัดส่วนสูง ผลคือ ระดับไตรกลีเซอไรด์รวมในเลือด (total triglyceride) ลดลง ขณะเดียวกันแม้ยาจะลดปริมาณ VLDL cholesterol ด้วย แต่การที่ยาไปเพิ่มปริมาณ HDL cholesterol จึงทำให้ปริมาณโคเลสเตอรอลรวม (total cholesterol) ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (5) ในการศึกษาดูผลของ gemfibrozil ต่อกระบวนการเมตาบอลิสมไลโปโปรตีนหลัง

ตารางที่ 1 การแบ่งประเภทของภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ (classification of dyslipidaemias)

Characteristics	Type of dyslipidaemia					
	I	IIa	IIb	III	IV	V
Usual plasma lipid change						
Triglycerides	+++	N	++	++	++	+++
Cholesterol	+	++	++	+	N+	+
Cholesterol:triglceride ratio	< 0.2	> 0.5	Variable	About 1.0	Variable	0.15-0.60
Lipoprotein abnormality						
Chylomicrons	++	-	N	N+	N	+
VLDL	N+	N	+	+	++	++
LDL	--	++	+	+	N-	-
HDL	--	N	N	N	N-	-
Possible clinical manifestations	Pancreatitis; abdominal pain; hepatosplenomegaly; eruptive xanthomas	Premature CHD	Arcus corneae; tendinous; planar and tuberous xanthomas; premature CHD	Premature CHD; tuberoeruetive and palmar xanthomas		Pancreatitis; hepatospheno-megaly; eruptive xanthomas

Abbreviations : N = normal; CHD = coronary heart disease

กินอาหาร (postprandial lipoprotein metabolism) ในคนปกติและคนที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงชนิด IIa, III และ IV พบว่า gemfibrozil ช่วยลดระดับไขมันและลดระยะเวลาที่ไขมันอยู่ในกระแสเลือดหลังกินอาหารอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลนี้จะช่วยลดการเกิด CHD ได้เป็นอย่างดี (6)

กลไกการออกฤทธิ์ของ gemfibrozil ยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน แต่เชื่อกันว่าเกิดจาก

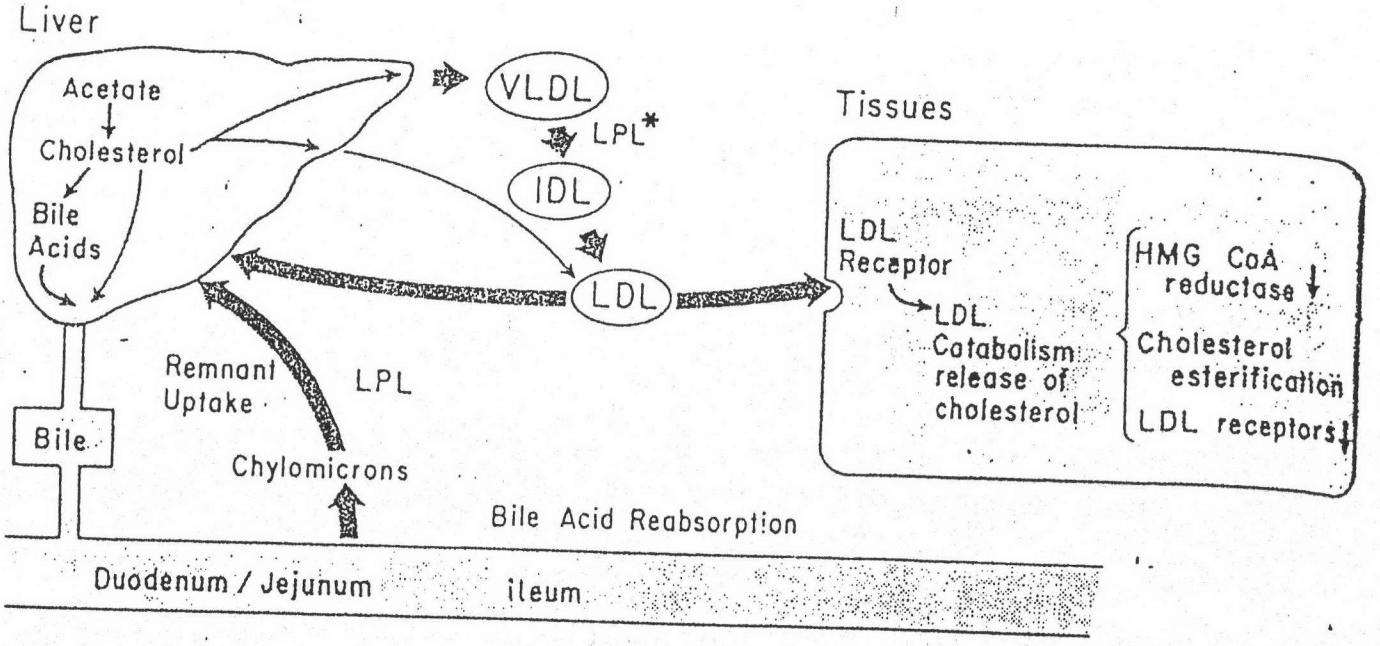
1. gemfibrozil กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ทำให้ VLDL สลายเป็น LDL (low density lipoprotein) มากขึ้น (รูปที่ 2) (7,8)

2. gemfibrozil ยับยั้งกระบวนการสลายไขมัน (lipolysis) จากเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ triglyceride ที่ตับมีน้อยลง ผลคือการสังเคราะห์ VLDL ที่ตับลดลง

3. gemfibrozil ยับยั้งการหลั่ง (secretion) ของ VLDL จากเซลล์ตับออกสู่กระแสเลือด

ผลจากกลไกทั้ง 3 นี้ทำให้ปริมาณ VLDL triglyceride ในเลือดลดลง แต่ยังต้องทำการศึกษากลไกในระดับโมเลกุลต่อไป ส่วนการศึกษาถึงผลของ gemfibrozil ต่อการเกิดนิ่วในถุงน้ำดี พบว่า gemfibrozil เพิ่มโอกาสการเกิดนิ่วในถุงน้ำดี (gallstone) โดยการที่ยาไปเพิ่มระดับโคเลสเตอรอลในถุงน้ำดีและลดการขับถ่ายกรดน้ำดี (bile acid) ทำให้ความเสี่ยงต่อการตกผลึกของโคเลสเตอรอลในถุงน้ำดีเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามอัตราการเกิดนิ่วจาก gemfibrozil จัดว่าน้อยมาก เมื่อเทียบกับ clofibrate และ bezafibrate (9, 10)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

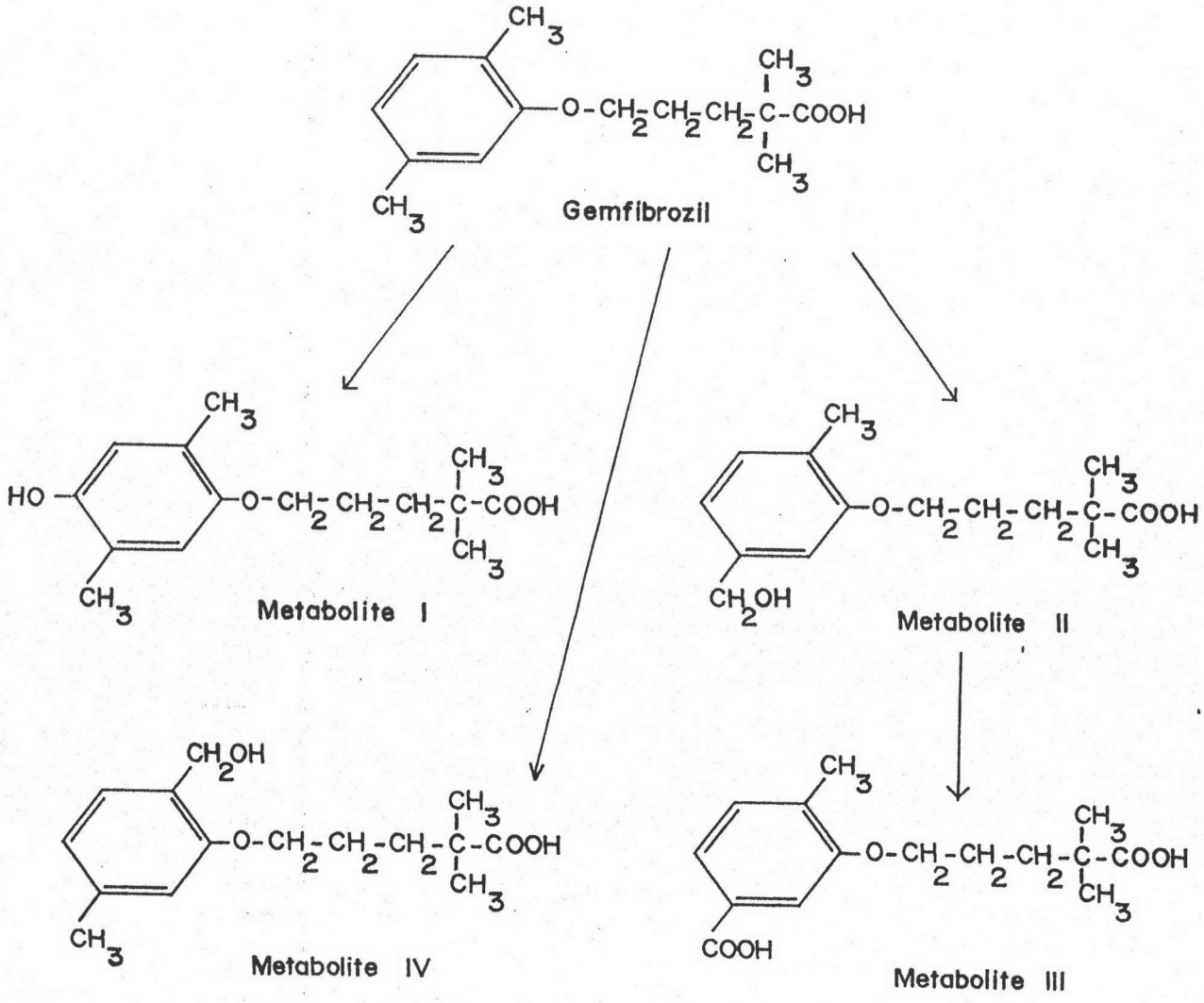


รูปที่ 2 แสดงเมตาบอลิสมและการขนส่ง lipoprotein ในกระแสเลือด

* แสดงตำแหน่งที่ gemfibrozil ออกฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ lipoprotein lipase (LPL)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic properties) ของยานี้พบว่า คนปกติที่ได้รับยาขนาด 1,200 มก./วัน ทางปาก จะมีการดูดซึมยาอย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ ระดับยาสูงสุดในพลาสมา (peak plasma concentration) เกิดหลังจากได้รับยานาน 1-2 ชั่วโมงและมีระดับยาในเลือด 15-25 มก./ลิตร (11,12) มี enterohepatic circulation จึงสามารถรักษาระดับยาในเลือดได้คงที่ การศึกษา in vitro พบว่า 97-99% ของ gemfibrozil ที่เข้าสู่ร่างกายจับกับโปรตีนอัลบูมิน (albumin) ในซีรั่ม (13) ยานี้ถูกเมตาบอไลส์ที่ตับได้เป็นอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก (benzoic acid derivatives) และถูกขับออกทางไตในรูป glucuronide conjugates (รูปที่ 3) ค่าครึ่งชีวิตของการขจัดยาเฉลี่ยหลังการให้ยาทางปาก ขนาด 600 มก. เท่ากับ 1.2-2 ชั่วโมง (14, 15) มีรายงานไม่พบการสะสมของยาในร่างกาย แม้ในผู้ป่วยซึ่งมีภาวะไตบกพร่อง แต่การศึกษานี้ทำในกลุ่มคนเพียง 6 คนเท่านั้น (16)

ขนาดยาที่ใช้ในการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง คือ 1,200 มก./วัน โดยแบ่งให้วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ก่อนอาหาร 30 นาที จากการศึกษาทางคลินิคที่กรุงเฮลซิงกิ ประเทศฟินแลนด์ (Helsinki Heart Study) ดูผลของการใช้ gemfibrozil ต่ออุบัติการณ์เกิด CHD โดยทำในกลุ่มคนวัยกลางคน (40-55 ปี) เพศชาย 4,081 คน ซึ่งทุกคนมีระดับไขมันเลือดสูง แบบ primary dyslipidaemia ซึ่งมีสาเหตุจากความผิดปกติของกระบวนการเมตาบอลิสมไขมันเนื่องจากกรรมพันธุ์ แล้วทำการแบ่งคนไข้ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก (2,051 คน) ให้ gemfibrozil ขนาด 600 มก. วันละ 2 ครั้ง และกลุ่มที่ 2 (2,030 คน) ให้ placebo ติดตามผลนาน 5 ปี พบว่ากลุ่มที่รับ gemfibrozil มีอุบัติการณ์เกิด CHD ต่ำกว่ากลุ่มที่รับ placebo อย่างมีนัยสำคัญ (17)



รูปที่ 3 แสดง metabolism ของ gemfibrozil

2. อาการข้างเคียง (side effects), ความเป็นพิษ (toxicity) และการก่อมะเร็งของ gemfibrozil

2.1 *อาการข้างเคียง (side effects)*

ผู้ป่วยส่วนใหญ่ทนต่อยาได้ดี มีเพียงส่วนน้อยที่ต้องหยุดยาขณะทำการรักษาและไม่พบอาการข้างเคียงที่ก่ออันตรายถึงชีวิต อาการข้างเคียงที่พบบ่อย คือระคายทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้, ปวดท้อง, ท้องเสีย ส่วนอาการที่พบน้อย คือ ผื่นคัน, กล้ามเนื้อติงตัว

2.2 *ความเป็นพิษ (toxicity)*

เนื่องจาก gemfibrozil มีอวัยวะเป้าหมายที่ยาไปออกฤทธิ์คือ ตับ เพราะกระบวนการสังเคราะห์, การหลั่งและการสลาย VLDL เกิดที่ตับทั้งสิ้น ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาวิจัยดูผลของ gemfibrozil ในแง่การเกิดพิษต่อตับ โดยการทำการศึกษาทั้งในคนและในสัตว์ทดลองมากมาย ในที่นี้จะนำเสนอโดยแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อ ดังนี้

2.2.1 *การศึกษาความเป็นพิษต่อตับในสัตว์ทดลอง*

เมื่อให้ gemfibrozil ขนาดมากกว่า 300 มก./กก./วัน (เป็นขนาดยาที่มากกว่าขนาดยาที่ใช้ในการรักษาปกติถึง 10 เท่า) แก่ลิงนาน 3 เดือน (19) แก่หนูขาว (rat), และสุนัขนาน 12 เดือน พบว่า gemfibrozil ก่ออาการคลื่นไส้ อาเจียนซึ่งเป็นผลข้างเคียงของยาต่อระบบทางเดินอาหารและเมื่อนำเซลล์ตับหนูขาวมาส่องกล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีการบวม (hypertrophy) ของ smooth endoplasmic reticulum (SER) และ peroxisomes ในเซลล์ตับ ส่วนการศึกษาในหนูขาวเพศผู้ พบว่า gemfibrozil ก่อภาวะตับโต พบการบวมของ peroxisomes ในเซลล์ตับเช่นกัน (20, 21, 22) นอกจากนี้ยังพบว่ายาตัวอื่นในกลุ่มเดียวกับ gemfibrozil เช่น clofibrate, fenofibrate, bezafibrate และ ciprofibrate ก่อภาวะ

ตับโตเช่นเดียวกับ gemfibrozil และยังพบว่า gemfibrozil กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ใน peroxisomes ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลาย (catabolism) เช่น เอนไซม์ catalase, glycerophosphate acyltransferase, carnitine acyltransferase เป็นต้น (20, 22, 23, 24)

2.2.2 *การศึกษาความเป็นพิษต่อตับในคน*

การศึกษาทำในผู้ป่วย 9 คน ที่รับ gemfibrozil นาน 2 ปี พบการเปลี่ยนแปลงที่ตับเล็กน้อยแล้วทำการตัดชิ้นเนื้อตับ (liver biopsy) มาส่องกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ดูการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้างระดับ subcellular ผลคือ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ที่บ่งชี้ว่าเกิดพยาธิสภาพที่ไมโตคอนเดรีย และ endoplasmic reticulum แต่ในที่นี้ไม่ได้ทำการตรวจสอบหน้าที่ (functions) ของ organelles ดังกล่าวว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่, อย่างไร นอกจากนี้ยังพบว่า มีการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่สร้างจากตับ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางคลินิค (25, 26, 27, 28)

2.3 *การก่อการกลายพันธุ์และการก่อมะเร็ง (mutagenicity and carcinogenicity)*

Gemfibrozil และเมตาบอไลท์ ของมันให้ผลลบต่อ AME's test ซึ่งหมายถึงยานี้ไม่ก่อการกลายพันธุ์ และเมื่อให้ gemfibrozil ขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน แก่หนูถีบจักร (mice) และหนูขาว (rat) เป็นเวลา 104 อาทิตย์ ผลคือ ไม่พบการเกิดเนื้องอก (29) อย่างไรก็ตาม ยังพบการก่อมะเร็งที่เซลล์ตับในหนูขาวเพศผู้ เมื่อใช้ gemfibrozil ในขนาดต่ำๆ และยังพบว่า gemfibrozil เพิ่มการเกิด pheochromocytoma, เนื้องอกที่ตับ และ Leydig's cell อีกด้วย การชักนำให้เกิดเนื้องอกโดย gemfibrozil นี้ขึ้นกับขนาดยาที่ใช้ เชื่อกันว่าการเกิดภาวะตับโตและการบวมของ peroxisomes ในเซลล์ตับเกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลอง โดย

เฉพาะอย่างยิ่งในหนูขาว (30) แม้ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองจะไม่สามารถนำมาทำนายถึงอุบัติการณ์ที่จะเกิดในคนได้อย่างตรงไปตรงมาก็ตาม แต่เราก็ไม่อาจละเลยผลการศึกษาดังกล่าวได้ และส่วนใหญ่จะนำผลที่ได้นั้นมาเป็นแนวทางในการประเมิน หรือเป็นแนวทางในการทำการศึกษา เพื่อดูผลของยาในคนต่อไป

การใช้ยาลดไขมันในเลือด โดยเฉพาะยาที่มีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับ clofibrate (เช่น gemfibrozil) ติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจก่อการเพิ่มอัตราการตายในคน เนื่องจากยากลุ่มนี้ก่อการเกิดเนื้องอกชนิดร้ายแรง (malignant neoplasms) (31) ส่วนการศึกษาที่กรุงเฮลซิงกิ (Helsinki Heart Study) พบว่าหลังจากให้ยา gemfibrozil แก่คนไข้นาน 5 ปี ไม่พบการเกิดมะเร็งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับ placebo แต่ถ้าต้องการให้ผลการศึกษาชัดเจนขึ้น ควรเพิ่มระยะเวลาติดตามผลหลังให้ยานานกว่านี้ เนื่องจากระยะเวลารอ (latency period) การพัฒนาการเกิดมะเร็งในคน ต้องใช้เวลานาน 10 ปี ขึ้นไป

คำเตือนในการใช้ยา (precautions) ที่นำมาพิจารณาร่วมกับจุดประสงค์การทำการวิจัย คือ

1. ห้ามใช้ในผู้ป่วยโรคตับและไต
2. ถ้าใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ต้องตรวจสอบการทำงานของตับเป็นระยะ ๆ ตามความเหมาะสม เพราะยังไม่มีข้อมูลเพียงพอเกี่ยวกับความปลอดภัยจากการใช้ยานี้ติดต่อกันเป็นเวลานาน

ส่วนที่ 2 การทำงานของไมโตคอนเดรียในแง่การหายใจและกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น

ไมโตคอนเดรียจัดเป็นแหล่งสร้างพลังงานหลักของเซลล์ (power-house of the cell) เนื่องจากกระบวนการเมตาบอลิสมต่าง ๆ ในเซลล์สัตว์ชั้นสูง (eukaryotic cell) นั้นต้องการพลังงานจากการหายใจ เพื่อให้สิ่งมีชีวิตนั้นอยู่รอด และสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ใช้คาร์โบไฮเดรท เป็นสารอาหารหลักในการให้พลังงาน โดยมีกลไก คือ สารอาหารทำปฏิกิริยากับก๊าซออกซิเจนที่ได้จากการหายใจ จากนั้นจึงมีการเก็บรักษาพลังงานที่ปล่อยออกมาในรูปโมเลกุลของ adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งเซลล์จะนำพลังงานที่ได้ไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ต่อไป ถ้าร่างกายได้รับสารใดก็ตามที่ยับยั้งการสร้างพลังงาน (ATP) หรือยับยั้งกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรีย อวัยวะที่สัมผัส (expose) กับสารนั้นก็จะมีพลังงานใช้ในเซลล์ลดลง

ในส่วนนี้จะนำเสนอหน้าที่ที่สำคัญบางประการของไมโตคอนเดรีย ที่เกี่ยวข้องกับการทำวิจัยนี้ โดยแบ่งเป็นหัวข้อ ดังนี้

1. รูปแบบและโครงสร้างของไมโตคอนเดรีย (mitochondrial form and structure)
2. การหายใจของไมโตคอนเดรีย (mitochondrial respiration)
3. สารยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรีย (inhibitors of mitochondrial functions)

1. รูปแบบและโครงสร้างของไมโตคอนเดรีย (Mitochondrial form and structure)

ไมโตคอนเดรียเป็น organelle ที่สำคัญมาก ซึ่งพบได้ในเซลล์สัตว์ชั้นสูง (eukaryotic cell) มีรูปทรงหลายแบบ เช่น รูปกลม

รูปแท่ง และรูปรี ซึ่งรูปรีมักพบในเซลล์ที่ไมโตคอนเดรียสามารถลอยได้อย่างอิสระ ดังรูปที่ 4 บน

ไมโตคอนเดรีย มีความยาวประมาณ 2 μ กว้างประมาณ 0.5 μ ในเซลล์ต่างชนิดกันจะมีจำนวนไมโตคอนเดรียต่อเซลล์ไม่เท่ากัน ซึ่งจำนวนไมโตคอนเดรียต่อเซลล์ จะเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความสามารถในการเกิดเมตาบอลิสมของเซลล์ (metabolic activity) เช่น เซลล์ตับซึ่งมีเอนไซม์ และหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิสมมากมาย จะมีจำนวนไมโตคอนเดรียต่อเซลล์ ประมาณ 1,000-1,600 หรือประมาณ 30-35% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเซลล์ตับ จึงกล่าวได้ว่า ตับเป็นอวัยวะที่มีความสามารถในการเกิดเมตาบอลิสมสูง (high metabolic activity) เป็นต้น (32)

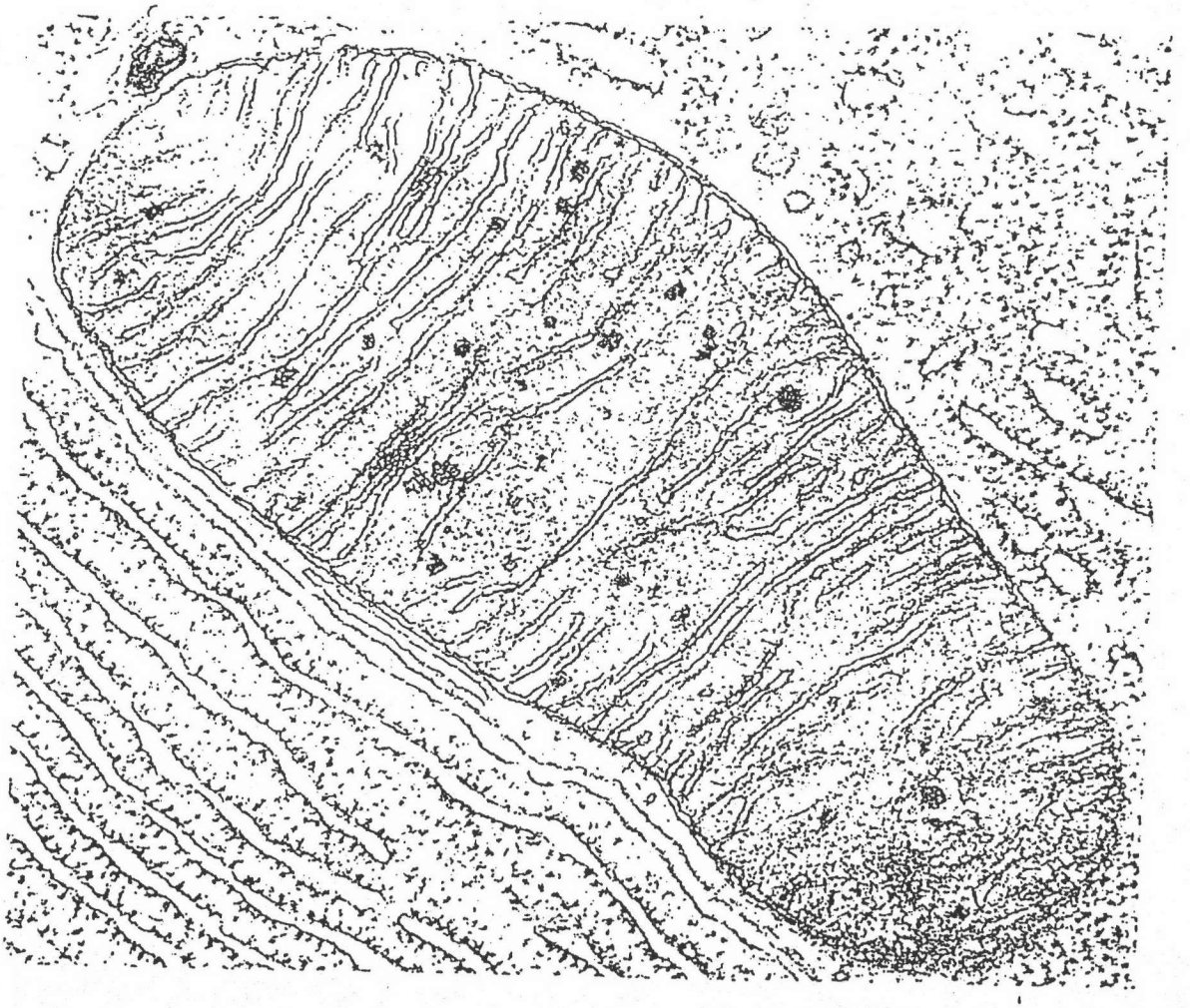
ไมโตคอนเดรียประกอบด้วยโครงสร้างสำคัญดังนี้ (รูปที่ 4 ล่าง)

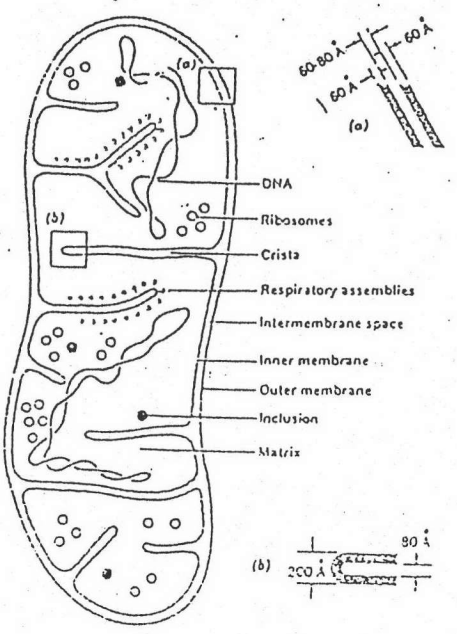
- ผนังชั้นนอก (outer membrane)

ผนังชั้นนี้จะยอมให้สารโมเลกุลเล็ก เช่น ADP, ATP, sucrose ผ่านได้และมีเอนไซม์สำคัญชนิดหนึ่ง คือ โมโนเอมีน ออกซิเดส (monoamine oxidase, MAO) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ออกซิไดส์สารโมโนเอมีน เช่น tyramine, benzylamine เป็นต้น

- ผนังชั้นใน (inner membrane)

บริเวณผนังชั้นในนี้จะไม่ยอมให้ substrates และเมตาบอไลท์ต่าง ๆ ผ่านเข้า-ออก อย่างอิสระ จะต้องผ่านระบบขนส่งจำเพาะ (specific transport system) โดยอาศัยโปรตีนเป็นตัวพา (carrier protein) สารเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย (ตารางที่ 2) ผนังชั้นนี้จะพับ (fold) ยื่นเข้าด้านในของไมโตคอนเดรีย เรียกส่วนที่ยื่นนี้ว่า cristae ที่บริเวณนี้มีเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหายใจระดับเซลล์ของไมโตคอนเดรีย เช่น respiratory chain enzymes ระหว่างผนังชั้นนอกและชั้นใน จะมีช่องว่าง เรียก intermembrane space ซึ่งมีเอนไซม์สำคัญ คือ adenylate cyclase (ตารางที่ 3)





รูปที่ 4 บน : แสดงภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของไมโตคอนเดรียซึ่งจะเห็นการพับ (fold) ของผนังชั้นในยื่นเข้าไปใน matrix

ล่าง : ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของไมโตคอนเดรีย

ตารางที่ 2 แสดงถึง mitochondrial membrane transport systems

System	Exchange
Dicarboxylate carrier	Exchange on mole-for-mole basis of malate, succinate, fumarate, and phosphate between matrix and cytosol
Tricarboxylate carrier	Exchange on mole-for-mole basis citrate and isocitrate between matrix and cytosol Exchange citrate or isocitrate for dicarboxylate
Aspartate-glutamate carrier	Exchange aspartate for glutamate across membrane
α-Ketoglutarate-malate carrier	Specifically exchange α-ketoglutarate for malate across membrane
ADP-ATP carrier	Exchange of ADP for ATP

019269

ตารางที่ 3 เอนไซม์ซึ่งกระจายอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของไมโตคอนเดรีย

Outer membrane
Monoamine oxidase
Rotenone-insensitive NADH-cytochrome-c reductase
Kynurenine hydroxylase
Fatty acid CoA ligase
Space between outer and inner membranes
Adenylate kinase
Nucleoside diphosphokinase
Inner membrane
Respiratory chain enzymes
ATP synthetase
Succinate dehydrogenase
β-Hydroxybutyrate dehydrogenase
Carnitine fatty acid acyl transferase
Matrix
Malate and isocitrate dehydrogenases
Fumarase and aconitase
Citrate synthetase
α-Keto acid dehydrogenases
β-Oxidation enzymes

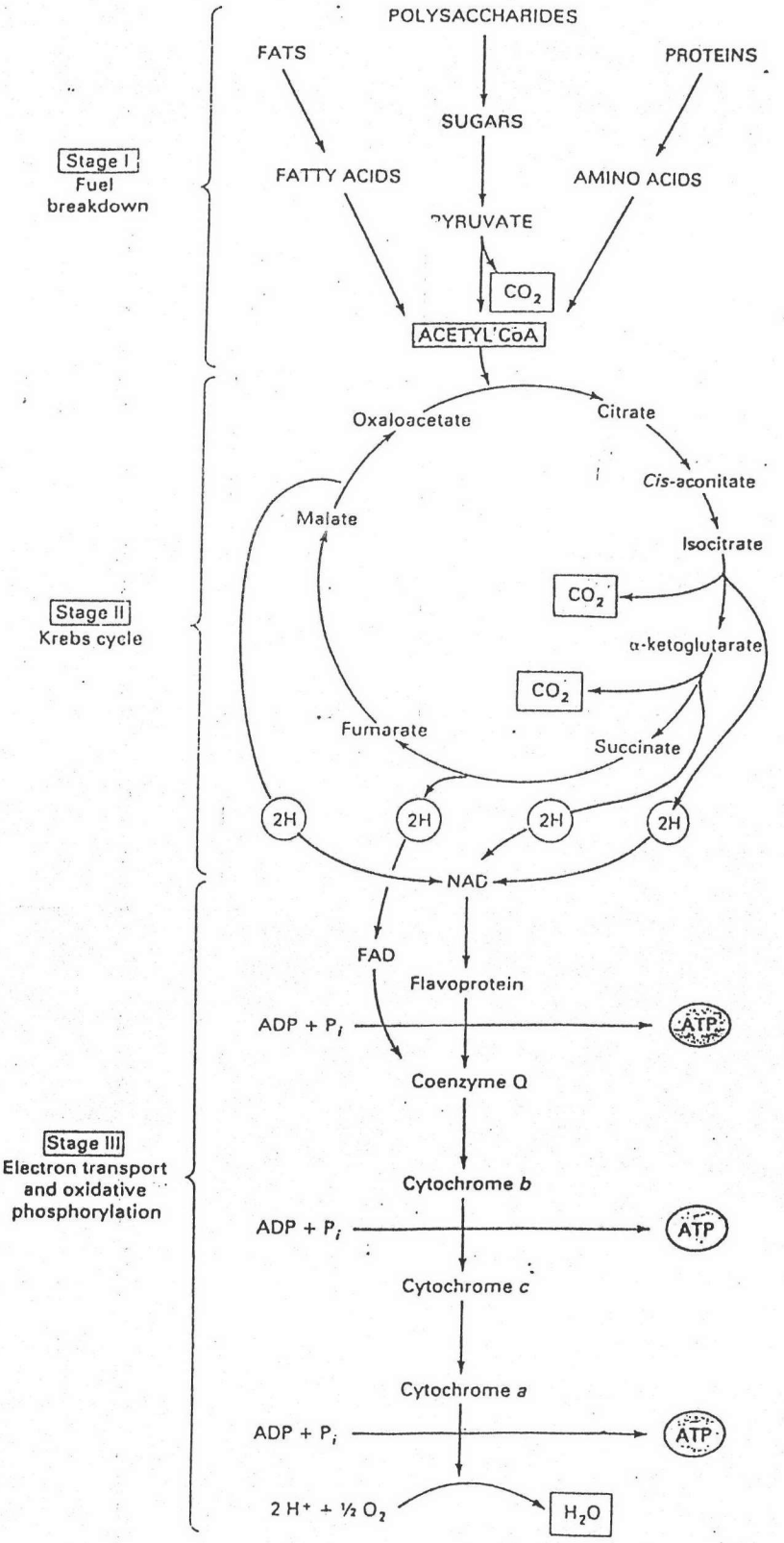
- ของเหลวในไมโตคอนเดรีย (matrix)

Matrix เป็นของเหลวคล้ายเจล ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ dehydrogenation (32) นอกจากนี้ยังมี DNA และ ribosome แขวนตัวอยู่ใน matrix ด้วย

2. การหายใจของไมโตคอนเดรีย (Mitochondiral respiration)

ก่อนจะกล่าวถึงกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรีย ในที่นี้ขอกล่าวถึง ความสัมพันธ์ของกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย ที่ใช้ในการสลายอาหารให้ได้เป็นพลังงานใช้ในเซลล์ (รูปที่ 5)

สารอาหารที่ร่างกายนำมาใช้สร้าง ATP ได้แก่ คาร์โบไฮเดรท, โปรตีนและไขมัน ซึ่งส่วนใหญ่ร่างกายจะใช้คาร์โบไฮเดรทเป็นหลัก เมื่อร่างกายย่อยสลายสารอาหารเหล่านั้นจนได้เป็นสารโมเลกุลเล็ก เช่น โปรตีนย่อยได้เป็นกรดอะมิโน (amino acid), คาร์โบไฮเดรทถูกย่อยเป็น กลูโคส (glucose) และไขมัน ถูกย่อยจนได้เป็นกรดไขมัน (fatty acid) แล้ว สารอาหารโมเลกุลเล็กเหล่านี้จะเข้าสู่กระบวนการเบตาบอลิสม เพื่อให้ได้ acetyl-coA ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediates) ที่สำคัญเข้าสู่วัฏจักรเครปส์ (Krebs cycle หรือ citric acid cycle) เพื่อให้ได้สารตัวกลางอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็น substrate ของลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย (mitochondrial respiratory chain) ตัวอย่างของ substrate เช่น malate และ α-ketoglutarate ซึ่งจัดเป็น NAD^+-linked substrate เนื่องจากไฮโดรเจน 2 อะตอม (2H) ที่ถูกปลดปล่อยออกจาก substrate จะไปรีดิวซ์ (reduce) NAD^+ ได้เป็น $NADH + H^+$ และ $NADH + H^+$ นี้จะให้อิเลคตรอนเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจที่ complex I ส่วน succinate จัดเป็น



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ของกระบวนการสลายสารอาหาร, Krebs cycle, respiratory chain และกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น

FAD-linked substrate เพราะไฮโดรเจนที่ถูกปลดปล่อยจะไปรีดิวซ์ FAD ได้เป็น $FADH_2$ ก่อน $FADH_2$ ที่ได้จะให้อิเลคตรอนเข้าลูกโซ่การหายใจที่ complex II(รูปที่ 6) จึงเรียก NADH + H^+ และ $FADH_2$ ว่าตัวให้อิเลคตรอน

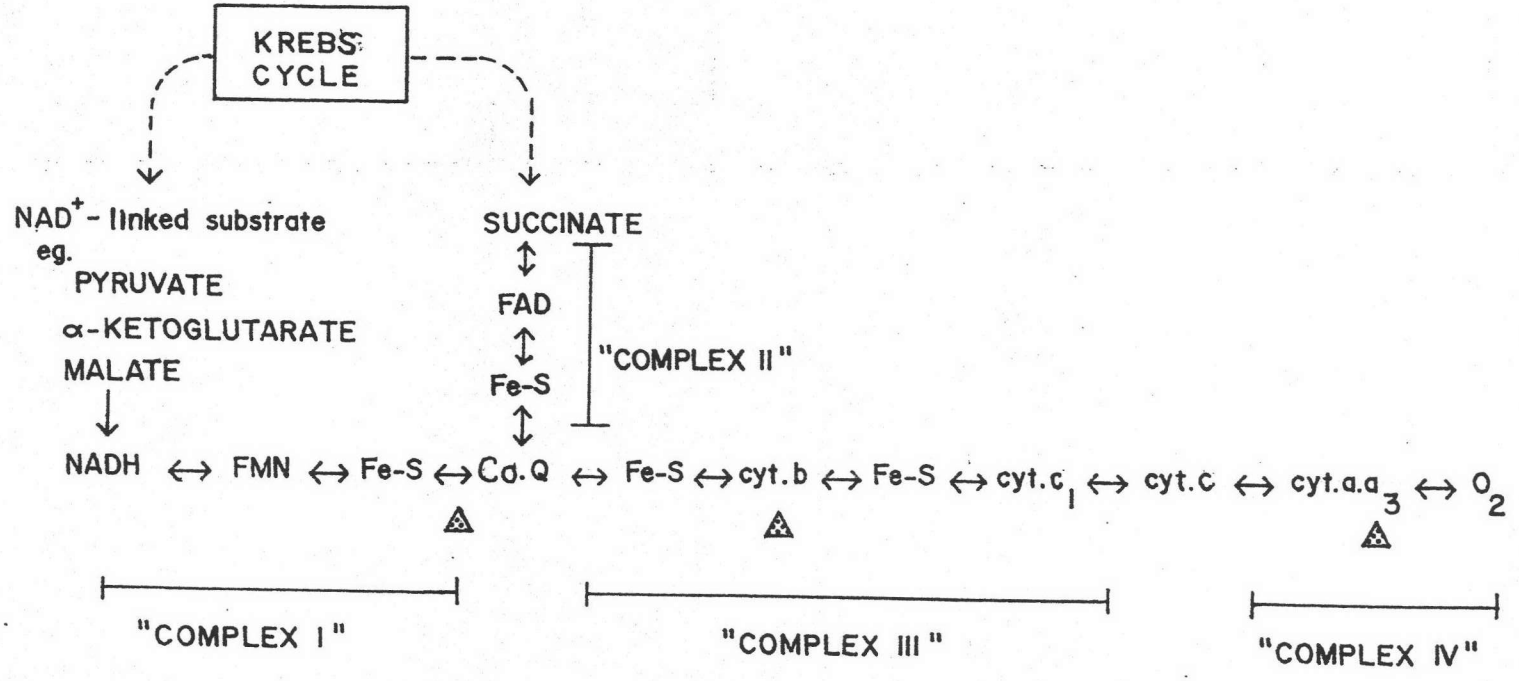
ตัวรับอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย จะส่งผ่านอิเลคตรอนตามลำดับจนถึงโมเลกุลออกซิเจน (O_2) ซึ่งเป็นตัวรับอิเลคตรอนสุดท้าย จะเห็นว่าในลูกโซ่การหายใจนี้จะมีปฏิกิริยาเกิด 2 แบบ คือ

- การให้อิเลคตรอน (oxidation)
- การรับอิเลคตรอน (reduction)

ดังนั้นการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ จึงเป็นปฏิกิริยา oxidation-reduction หรือเรียก redox reaction ตัวกลางในลูกโซ่การหายใจ จึงทำหน้าที่ทั้งรับและส่งอิเลคตรอนด้วย ในที่นี้จึงแบ่งชนิดของตัวกลาง ดังกล่าวได้เป็น 5 ชนิด คือ

1. Pyridine-linked dehydrogenase จะมี NAD^+ หรือ $NADH^+$ เป็น prosthetic group
2. Flavin-liked dehydrogenase (Flavoprotein) จะมี FAD หรือ FMN เป็น prosthetic group
3. Coenzyme Q หรือ Ubiquinone
4. ระบบ cytochrome ซึ่งมี heme เป็นองค์ประกอบ
5. Iron-sulfur center (Fe-S) ไม่มี heme ในโมเลกุล

การแบ่งส่วนประกอบของลูกโซ่การหายใจ (components of the respiratory chain) อาจทำได้โดยใช้ mild detergent แยกแต่ละ complex ออกจากกันและแต่ละ complex ที่ได้จะยังคงมี lipid เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งจะทำให้ complex นั้นยังคงมี activity อยู่ David Green และคณะ ได้ทำการวิจัยและแบ่งส่วนประกอบของลูกโซ่การหายใจของไมโตคอน-เดรียออกเป็น 4 ส่วนหลัก (complex I-IV) ดังตารางที่ 4 ซึ่งถ้านำเอา



รูปที่ 6 การแบ่งส่วนประกอบของลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 การแบ่งองค์ประกอบของลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียออกเป็น complex I-IV

COMPLEX	COMPONENTS
I, NADH dehydrogenase complex	NAD FMN Iron sulfur (FeS) centers Coenzyme Q_{10} Phospholipids
II, Succinate dehydrogenase complex	FAD Iron sulfur (FeS) centers Cytochrome b_{558} Phospholipids
III, Cytochrome b–c_1 complex	Cytochrome b Cytochrome c_1 Nonheme iron protein Coenzyme Q_{10} Phospholipids
IV, Cytochrome oxidase complex	Cytochrome a Cytochrome a_3 Copper Phospholipids

แต่ละ complex ที่แยกได้กลับมาผสมกันด้วยสัดส่วนที่เหมาะสมก็จะกลับสู่สภาพเดิมและมี activity เช่นเดิมได้ (33)

องค์ประกอบของลูกโซ่การหายใจ แบ่งออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

1. Complex I (NADH dehydrogenase complex)

ส่วนนี้จัดเป็น complex ที่ใหญ่ที่สุดโครงสร้างประกอบด้วยหน่วยย่อย (subunits) 16 หน่วย ได้แก่ FMN และ Iron-sulfur center (Fe-S) substrate ที่ให้ reducing equivalent เข้าที่ complex นี้ได้ คือ NAD^+- linked substrate เช่น glutamate, malate, pyruvate, α-ketoglutarate โดยมี $NADH + H^+$ เป็น reducing equivalent

2. Complex II (succinate dehydrogenase complex)

Complex นี้ประกอบด้วย polypeptides 2 สาย มี FAD และ ion-sulfur centers เป็นหลัก มีข้อแตกต่างจาก complex I คือจะรับอิเลคตรอนจาก succinate ได้โดยตรง ผ่านทาง FAD เข้าที่ coenzyme Q (succinate จึงเป็น substrate ที่ไม่สามารถให้ reducing equivalent เข้าที่ complex I ได้

3. Complex III (cytochrome b-c_1 complex)

Complex นี้ประกอบด้วย cytochrome b, c_1 และ iron sulfur protein

4. Complex IV (cytochrome oxidase complex)

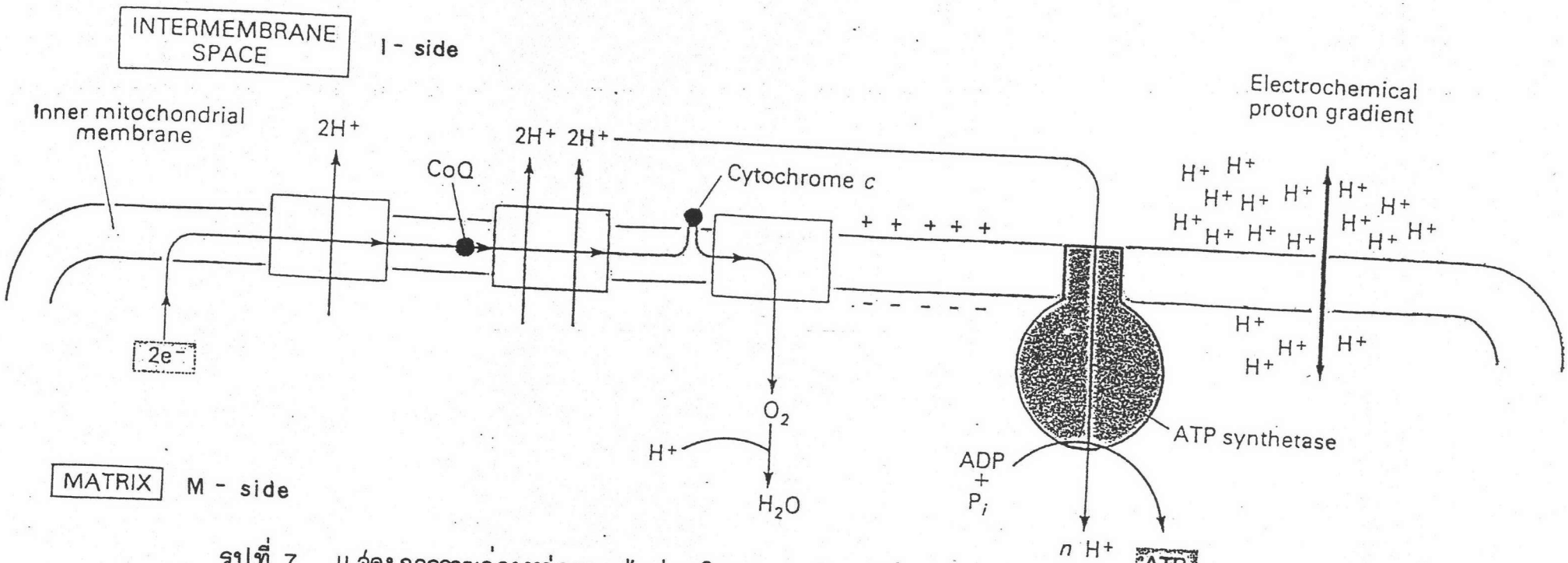
Complex นี้ประกอบด้วย polypeptides 2-3 สาย, cytochrome 2 หน่วย (a และ a_3) และทองแดง (Cu) 2 อะตอม complex นี้สามารถรับอิเลคตรอนจาก ascorbate (vitamin C) และ N, N, N′, N′- tetramethylphenylenediamine (TMPD) ได้

ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่นของไมโตคอนเดรีย (Mitochondrial oxidative phosphorylation)

ในระหว่างที่มีการขนส่งอิเลคตรอนเกิดขึ้นในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียจะเกิดกระบวนการฟอสฟอริเลชั่น (phosphorylation) ควบคู่กันไปตลอดเวลาที่ไมโตคอนเดรียอยู่ในสภาวะปกติ เชื่อกันว่าตำแหน่งที่เกิดการควบคู่(couple)ของกระบวนการทั้งสองนั้นมีทั้งหมด 3 ตำแหน่ง (รูปที่ 6) คือ site I, site II และ site III และเรียกตำแหน่งทั้งสามนี้ว่า coupling sites ซึ่งหมายถึงตำแหน่งที่มีการควบคู่ของกระบวนการออกซิเดชั่น (หรือการขนส่งอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ) กับกระบวนการฟอสฟอริเลชั่นเกิดขึ้น เรียกกระบวนการทั้งสองที่เกิดควบคู่กันนี้ว่า ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น (oxidative phosphorylation)

ในไมโตคอนเดรียที่มีสภาวะปกติ (intact mitochondria) นั้น ไมโตคอนเดรียจะมีการส่งผ่านอิเลคตรอนเกิดควบคู่อย่างแน่นหนา (tightly coupled) กับกระบวนการฟอสฟอริเลชั่น ทำให้การสร้าง ATP เกิดได้ตามปกติ แต่ในบางกรณีกระบวนการทั้งสองอาจแยกจากกันได้ เช่น ไมโตคอนเดรียที่เก็บไว้นานจนหมดสภาพ (aging mitochondria) หรือไมโตคอนเดรียที่เตรียมขึ้นมีคุณภาพไม่ดี หรือไมโตคอนเดรียที่สัมผัสกับสารที่มีคุณสมบัติเป็น uncouplers เช่น 2,4-dinitrophenol (DNP) ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นการออกซิไดส์ substrate โดยลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียให้เกิดอย่างรวดเร็วและเกิดแยกเป็นอิสระจากกระบวนการฟอสฟอริเลชั่น ผลคือ ไมโตคอนเดรียจะมีอัตราการหายใจสูง แต่ไม่เกิดการสังเคราะห์ ATP เราเรียกสภาวะนี้ว่า uncoupling (34)

ขณะที่การขนส่งอิเลคตรอนเกิดควบคู่กับกระบวนการฟอสฟอริเลชั่นขึ้นนั้น (รูปที่ 7) โปรตอน (H^+) ที่เกิดจากการขนส่งอิเลคตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้น



รูปที่ 7 แสดงการควบคู่ระหว่างการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจกับการเกิดฟอสฟอริเลชั่น ซึ่งอธิบายโดยทฤษฎีเคมิออสโมติก คัปปลิง (chemiosmotic coupling theory)

ในของไมโตคอนเดรียจาก matrix (M-side) ไปยัง intermembrane space (I-side) ตามทฤษฎี chemiosmetic ของ Peter Mitchell ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

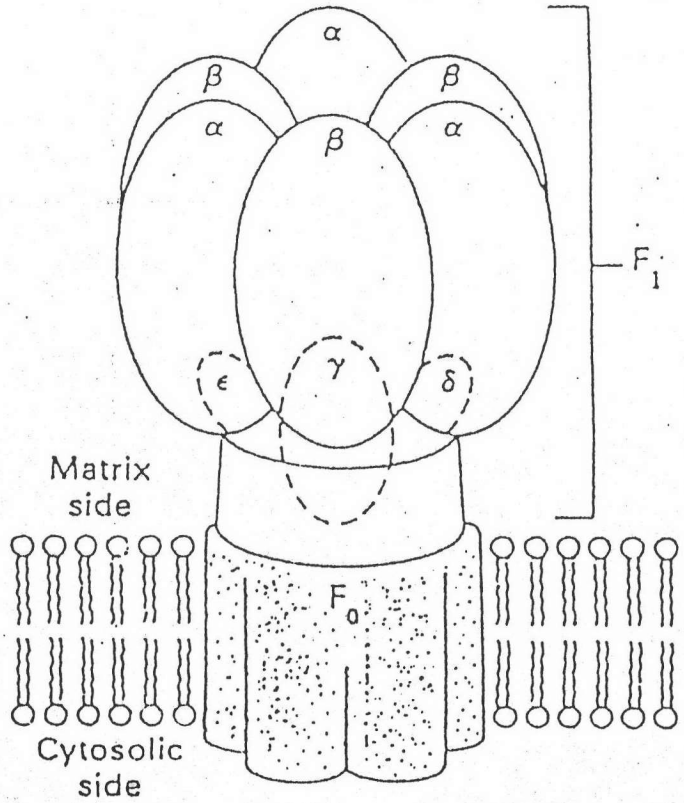
การเคลื่อนที่ของโปรตอน ในลักษณะดังกล่าวก่อให้เกิดความแตกต่างของ pH (pH difference) ระหว่าง M-side กับ I-side และเกิดความต่างศักย์ (membrane potential) ระหว่าง 2 ด้านของ inner membrane ทั้ง pH difference และ membrane potential รวมกันเป็นแรงผลักดันโปรตอน เรียกว่า protonmotive force ซึ่งแรงนี้จะผลักดันโปรตอนให้เคลื่อนที่กลับจาก I-side เข้ามาสู่ M-side โดยผ่านทาง "proton channel" ของเอนไซม์ ATP synthase (หรือเรียก F_1F_o-ATP ase) เมื่อโปรตอนเคลื่อนจาก I-side เข้าสู่ M-side จะทำให้ F_1 - ATPase ทำงานในทิศทางสร้าง ATP ขึ้น ดังรูปที่ 7 เมื่อ NADH ถูกออกซิไดส์จะได้โปรตอน 6 อะตอม ซึ่งเมื่อโปรตอนทั้ง 6 นี้กลับเข้ามายัง M-side จะเกิดการสร้าง ATP 3 โมเลกุล ส่วน $FADH_2$ เมื่อถูกออกซิไดส์จะได้โปรตอน 4 อะตอม ทำให้เกิดการสร้าง ATP เพียง 2 โมเลกุล

โครงสร้างของเอนไซม์ ATPsynthase (F_1F_o-ATPase) ของไมโตคอนเดรีย (Mitochondrial ATPsynthase - A structurally complex proton pump)

โมเลกุล ATP synthase ของไมโตคอนเดรีย ประกอบด้วยสาย polypeptides ที่อยู่รวมกันอย่างซับซ้อน (multi-polypeptide complex) และแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก ดังนี้ (รูปที่ 8)

1. F_1 (หรือ soluble ATP ase)

ส่วนนี้จะเป็นส่วนหัวยื่นเข้าไปใน matrix ของไมโตคอนเดรีย และเป็นส่วนที่มี activity ของเอนไซม์ ATP synthase ซึ่งในภาวะ



รูปที่ 8 แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบของเอนไซม์ ATPsynthase (F_1F_0-ATPase)

intact mitochondria นี้ (F_1 ยังคงยึดติดกับผนังของไมโตคอนเดรียอยู่) F_1 จะทำงานในทิศทางการสร้าง ATP จาก ADP + Pi

2. F_o

ส่วนนี้ประกอบด้วยโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ เช่น โปรตีโอไลปิด (proteolipid) ซึ่งจะฝังตัวอยู่ในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย ทำหน้าที่เป็นทางผ่านของโปรตอน (proton channel)

3. stalk

ส่วนนี้เป็นโปรตีนเชื่อม 2 ส่วนแรกเข้าด้วยกัน และเป็นส่วนที่ทำให้เอนไซม์ ATP synthase นี้ไวต่อการถูกยับยั้งด้วย oligomycin นั่นคือ stalk มีโปรตีนที่เรียกว่า oligomycin-sensitivity conferring protein (OSCP) (35) ประกอบอยู่ด้วย

ทฤษฎีเคมิออสโมติก
(Chemiosmotic theory)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าอิเลคตรอน หรือ reducing equivalent ที่ได้จากวัฏจักรเครปส์ จะถูกส่งเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจและในระหว่างที่มีการขนส่งอิเลคตรอนนั้น จะมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อใช้สร้าง ATP โดยเอนไซม์ ATP synthase ปัญหาเบื้องต้น คือ กลไกอะไรที่เชื่อมระหว่างการขนส่งอิเลคตรอนและสร้าง ATP มีนักวิจัยหลายคนได้เสนอสมมติฐานหลายอัน แต่ที่น่าเชื่อถือมากที่สุด คือ ทฤษฎีเคมิออสโมติก คัปปลิง (chemiosmotic coupling theory) ซึ่งเสนอโดย Peter Mitchell

Peter Mitchell ได้เสนอหลักการสำคัญ 4 ข้อที่เกี่ยวข้องกับทฤษฎีดังกล่าวไว้ ดังนี้

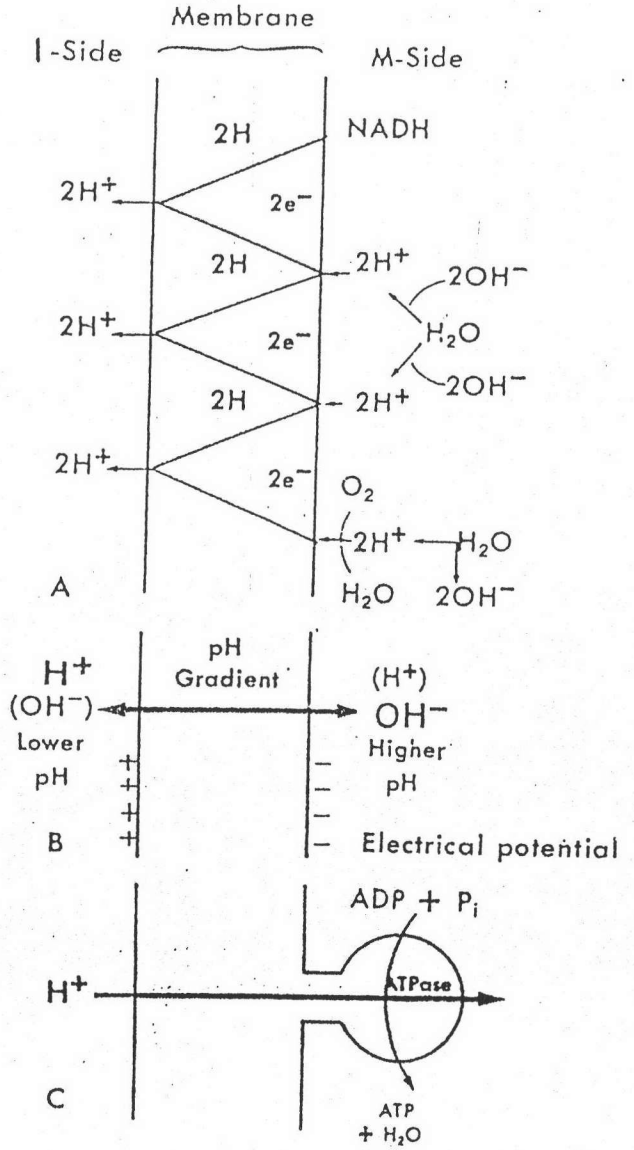
1. ปกติผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียไม่ยอมให้โปรตอนและไฮดรอกซิลอิออน (OH^-) ผ่านเช่นเดียวกับอิออนอื่น

2. ถ้าองค์ประกอบของระบบขนส่งอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจยังคงฝังอยู่ที่ผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียตามปกติ เมื่อมีอิเลคตรอนถูกส่งผ่านจากด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่ง โปรตอนก็จะเคลื่อนที่ตามโดยออกจาก matrix ผ่านผนังชั้นในเข้าสู่ช่องว่างระหว่างผนัง 2 ชั้นของไมโตคอนเดรีย (intermembrane space)

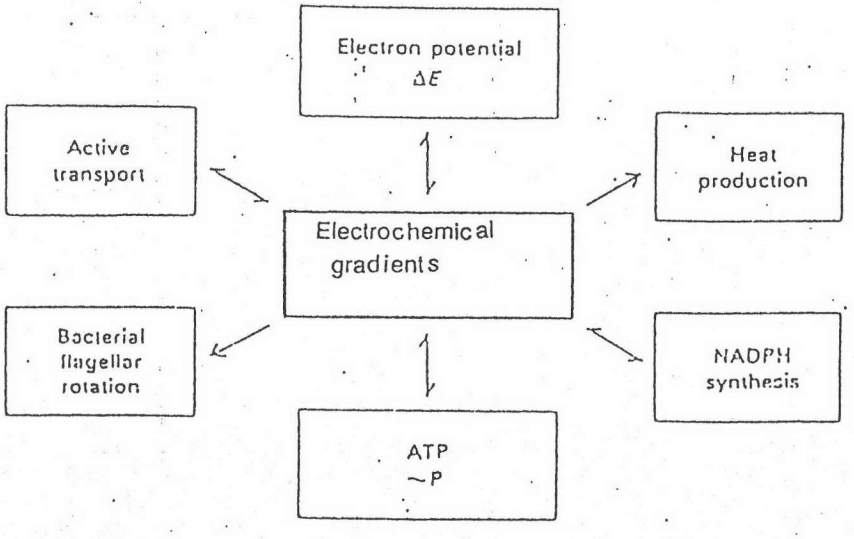
3. ATPsynthase complex สามารถนำพลังงานที่อยู่ในรูป "electrochemical gradient" ของโปรตอนไปใช้ในการสร้าง ATP นอกจากนี้ไมโตคอนเดรียยังสามารถใช้พลังงานจากการไฮโดรไลส์ ATP เพื่อ pump โปรตอนออกจาก matrix ได้

4. ผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย มีระบบขนส่งโปรตอนและไฮดรอกซิลอิออน เพื่อช่วยส่งผ่านเมตาบอไลท์ (metabolites) ต่าง ๆ ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย หรือนำออกจาก matrix ได้

จากหลักการ 4 ข้อข้างต้น กล่าวได้ว่าผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียทำหน้าที่เป็นตัวแปรรูปพลังงาน (energy-transducing membrane) โดยขณะที่เกิดการขนส่งอิเลคตรอน ภายในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย โดยมีลักษณะเป็น redox loop (loop ละ 2 อิเลคตรอน) ดังรูปที่ 9 อยู่นั้น โปรตอนจะถูกขับออกทาง M-side ไปยัง I-side แต่ไฮดรอกซิลอิออนยังคงอยู่ที่ matrix (M-side) ผลคือ ความเข้มข้นของโปรตอนที่ M-side ต่ำกว่า I-side จึงเกิดความแตกต่างของ pH ระหว่าง 2 ด้านขึ้น โดย pH ของ M-side เป็นด่างเมื่อเปรียบเทียบกับ I-side เรียก pH ที่แตกต่างกันนี้ว่า pH gradient และนอกจากนี้การเคลื่อนที่ของประจุบวก (โปรตอน) ดังกล่าวยังก่อให้เกิดความต่างศักย์ไฟฟ้า เรียก electrical gradient (หรือ electrical potential) ขึ้น



รูปที่ 9 แผนภาพอธิบายทฤษฎีเคมีออสโมติก คัปปลิง เสนอโดย Peter Mitchell



รูปที่ 10 แสดงถึงปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่ใช้ electrochemical gradients ที่เกิดขึ้นจากการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ

ผลรวมของ pH gradient ($\triangle$pH) และ electrical gradient ($\triangle$) เรียก electroehemical gradient ของโปรตอน (หรืออาจเรียก protonmotive force, $\triangle$P) ซึ่งพลังงานส่วนนี้จะผลักดันโปรตอนให้กลับเข้าสู่ matrix ทาง proton channel ของ F_o การเคลื่อนที่ดังกล่าวของโปรตอนจะมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อนำไปใช้สร้าง ATP จาก ADP + Pi โดยเอนไซม์ ATP synthase ดังสมการต่อไปนี้

$$ADP + Pi \xrightarrow{\text{ATP synthase } (F_1F_o \text{ ATP ase})} ATP + H_2O$$

นอกจากไมโตคอนเดรียจะใช้ electrochemical gradient ในการสร้าง ATP แล้ว ไมโตคอนเดรียยังนำเอาพลังงานส่วนนี้ไปใช้ในกระบวนการอื่น ๆ ที่สำคัญอีก เช่น ใช้ในกระบวนการขนส่งเมตาบอไลท์และอิออนต่าง ๆ แบบ active transport ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย, ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ NADPH, ใช้ในการเคลื่อนไหวของ flagella หรือสลายกลายเป็นพลังความร้อน (heat) เป็นต้น (ดังรูปที่ 10)

3. สารที่ยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรีย (Inhibitors of Mitochondroal Functions)

สารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรีย แบ่งออกเป็น 5 ชนิด คือ

3.1 สารที่ยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ (Respiratory chain inhibitors)

แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อยตามตำแหน่งที่สารไปยับยั้ง ดังนี้

3.1.1 สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอนที่ complex I (coupling site I) ของลูกโซ่การหายใจ

สารกลุ่มนี้จะยับยั้งการออกซิเดชั่นของ NAD^+-linked substrate เช่น malate, glutamate แต่ไม่ยับยั้งการออกซิเดชั่นของ succinate ซึ่งจัดเป็น FAD-linked substrate

ตัวอย่างสารได้แก่ rotenone

3.1.2 สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอนที่ complex III (coupling site II) ของลูกโซ่การหายใจ

สารกลุ่มนี้ มีคุณสมบัติยับยั้งการออกซิเดชั่นของ NAD^+-linked substrate และของ succinate

ตัวอย่างสาร - antimycin

3.1.3 สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอนที่ complex IV (coupling site III) ของลูกโซ่การหายใจ

สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติยับยั้งออกซิไดส์ของ ascorbate+ TMPD ซึ่งให้อิเลคตรอนเข้าที่ cytochrome C ผ่านไปยังออกซิเจนโดยการยับยั้งที่ cytochrome oxidase

ตัวอย่างสาร - cyanide, azide และ carbon monoxide

ในกรณีที่เรามีสาร unknown ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ แต่ไม่ทราบตำแหน่งที่สารนี้ออกฤทธิ์เราสามารถทำการศึกษาเพื่อแยกประเภทของสารยับยั้งนี้คร่าว ๆ ด้วยการเปลี่ยน substrate ที่ใช้ในการทดลองจนกว่าจะทราบว่า สารนี้ยับยั้งที่ complex ใด

3.2 สารยับยั้งการขนส่ง substrate เข้าสู่ไมโตคอนเดรีย (Substrate transport inhibitors)

แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

3.2.1 สารที่ยับยั้งการขนส่ง substrate ของกระบวนการออกซิเดชั่น

เนื่องจากไมโตคอนเดรียต้องใช้ระบบขนส่งจำเพาะ (specific carrier) ในการขนส่งสารหรือ substrate เข้าสู่ไมโตคอนเดรีย ดังนั้นสารที่ยับยั้งการขนส่ง substrate ก็จะยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียด้วย เพราะ substrate เป็นแหล่งของ reducing equivalent ที่จะให้อิเลคตรอนเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจต่อไป

ตัวอย่างสาร - butylmalonate สารนี้ยับยั้ง dicarboxylate transporter ซึ่งมีหน้าที่ขนส่ง succinate และ malate เข้าสู่ไมโตคอนเดรีย

3.2.2 สารที่ยับยั้งการขนส่ง substrate ของกระบวนการฟอสฟอริเลชั่น

ตัวอย่างสาร - atractyloside ซึ่งยับยั้ง adenine nucleotide transporter ทำให้ไมโตคอนเดรียไม่สามารถขนส่ง ADP และ ATP ผ่านเข้า-ออกได้

- N-ethylmaleimide (NEM) สารนี้ยับยั้ง phosphate (Pi) transporter

3.3 สารยับยั้งการขนส่งอิออนเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย (Ion transport inhibitores)

ตัวอย่างสาร - ruthenium red (RR) ซึ่งยับยั้งที่ calcium uniporter ทำให้การขนส่งแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) เข้า-ออกไมโตคอนเดรียถูกยับยั้ง

3.4 สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ ATP (ATPsynthase inhibitors)

ตัวอย่างสาร - oligomycin

3.5 Uncouplers

เป็นสารที่มีคุณสมบัติทำลาย protonmotive force ทำให้ไมโตคอนเดรียขาดพลังงานไม่สามารถสร้าง ATP ได้ และยังกระตุ้นให้เกิดการไฮโดรไลส์ ATP อีกด้วย

ตัวอย่างสาร - 2,4-dinitrophenol (DNP)

ส่วนที่ 3 แนวเหตุผลนำไปสู่การวิจัย

เมื่อนำข้อมูลในส่วนแรกและส่วนที่สองมาประกอบเป็นแนวเหตุผลในการทำวิจัย สามารถแบ่งออกเป็น 3 ข้อดังนี้

1. สูตรโครงสร้างของ gemfibrozil จัดเป็นกรดอ่อน (weakly acidic) และสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรียหลายกลุ่มก็มีคุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญคือเป็นกรดอ่อนเช่นกัน ตัวอย่างเช่น uncouplers และสารยับยั้งการขนส่งอิเลคตรอนที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจ เช่น rhein (37) จึงมีแนวโน้มว่า gemfibrozil อาจจะมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรียได้เช่นกัน

2. ภาวะ dyslipidaemia ซึ่งเป็นข้อบ่งใช้ของยา gemfibrozil นี้จัดเป็นโรคเรื้อรัง (chronic disease) โดยเฉพาะที่มีสาเหตุแบบ primary ซึ่งเป็นผลจากกรรมพันธุ์ ทำให้กระบวนการเมตาบอลิสมไขมันที่เซลล์ตับผิดปกติไป ผลคือคนไข้จำเป็นต้องใช้ยาในการรักษาติดต่อกันเป็นเวลานาน (long term therapy) ดังนั้นโอกาสที่เซลล์ตับจะเกิดพิษจากยา gemfibrozil จึงมีได้เช่นกันถ้าใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานาน

3. ต้องการศึกษาผลของ gemfibrozil ต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียจากเซลล์ตับ ซึ่งผลดังกล่าวอาจจะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและ/หรือพิษวิทยาของยาตัวนี้