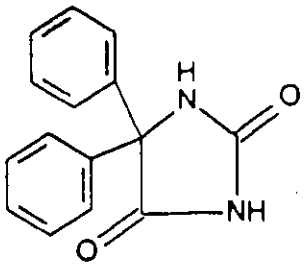
บทที่ 1

บทนำ

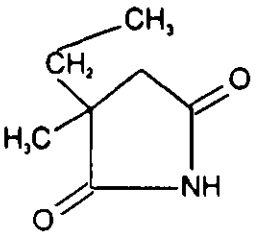
กรดวาลโปรอิค (Valproic acid)

กรดวาลโปรอิค (VPA : Valproic acid; di-n-propylacetic acid; DPA: 2-propylpentanoic acid หรือ 2-propylvaleric acid) ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกเมื่อ ค.ศ.1882 โดย Burton และต่อมาพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านชักโดยบังเอิญ เพราะใช้เป็นตัวทำละลายสารที่ใช้ทดสอบการชัก เมื่อกุมภาพันธ์ ค.ศ.1962 โดย Meunier, H., Meunier, Y.และ Eymard, P. ต่อมาได้นำกรดวาลโปรอิคมาศึกษาทางคลินิก (clinical trial) เป็นครั้งแรกใน ค.ศ.1967 ณ ประเทศฝรั่งเศส โดยอยู่ในรูปเกลือโซเดียม (sodium valproate) มีชื่อทางการค้าว่า "Depakine" และกลายเป็นยาต้านชักที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายๆประเทศ เช่น ประเทศฮอล์แลนด์ และเยอรมันนี (1968) ประเทศอังกฤษ (1973) และประเทศสหรัฐอเมริกา (1978) (Chapman et al., 1982; Woodbury,Penry and Pippenger, 1982)

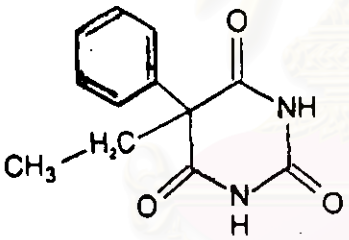
Valproic acid มีสูตรโครงสร้างเป็น simple aliphatic molecule (branched chain fatty acid) ลักษณะคล้าย fatty acid ซึ่งต่างจาก antiepileptic drugs อื่นๆ (รูปภาพที่ 1) จากการศึกษาฤทธิ์การต้านชักในสัตว์ทดลอง พบว่า VPA สามารถต้านการชักได้จากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (MES : Maximal electroshock seizures) และจากสารเคมี เช่น pentylenetetrazol (PTZ), bicuculline, picrotoxin, strychnine เป็นต้น ดังนั้น VPA จึงเป็นยาต้านชักที่ได้ผลดีมากในการรักษาทั้ง generalised seizures และ partial seizures และใช้เป็น drug of choice ในการรักษา absence seizures (Petit mal seizures) ที่ยังไม่เคยได้รับการรักษามาก่อน และเมื่อเปรียบเทียบกับยาอื่น เช่น Carbamazepine, phenytoin, ethosuximide และ phenobarbital เป็นต้น จะให้ผลในการรักษา (efficacy rates) พอๆ กันในการรักษาทั้ง generalised seizures และ partial seizures เช่น valproic acid และ ethosuximide ให้ผลในการรักษาเด็กที่เป็น Petit mal seizures ให้ผลเท่ากันไม่ว่าจะใช้เป็นยาเดี่ยว (monotherapy) หรือให้ร่วมกับยาอื่น (polytherapy) สำหรับเด็กยานี้ได้ผลดีมากในการรักษา absence seizures (Katzung, 1992; Davis, Peters and McTavish, 1994)



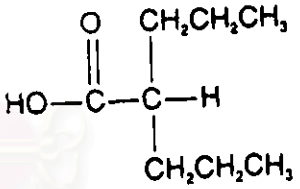
Phenytoin



Ethosuximide



Phenobarbital



Valproic acid

รูปภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ valproic acid และ antiepileptic drugs อื่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กลไกการออกฤทธิ์

ตั้งแต่ Meunier et al. (1963) ได้รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านชักของ VPA ต่อมาได้มีการศึกษาและนำ VPA มาใช้รักษาโรคลมชักกันอย่างแพร่หลาย ปัจจุบันยังไม่ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัด แต่ได้มีผู้เสนอเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ไว้หลายกลไก เช่น

(1) เกี่ยวข้องกับ GABA system

VPA ออกฤทธิ์โดยผ่านกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ inhibitory neurotransmitterในระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) คือ γ-aminobutyric acid (GABA) ซึ่งจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า VPA ทำให้ระดับ GABA ในสมองเพิ่มขึ้น โดยที่ VPA ยับยั้งเอนซัยม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของ GABA คือเอนซัยม์ GABA-transaminase (GABA-T) (Godin et al., 1969) และเอนซัยม์ succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) (Van der Lean, De Boer and Bruinvels, 1979; Zeise, 1991) และอาจเกิดจาก VPA ไปเพิ่มการสร้าง GABA โดยการกระตุ้น glutamic acid decarboxylase (GAD) (Taburner, Charington and Univin, 1980; Loscher, 1981; Phillips and Fowler, 1982)

(2) เป็นผลเกี่ยวกับ amino acid neurotransmitter อื่น

จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง มีผู้เสนอว่ากลไกในการออกฤทธิ์ของ VPA อาจจะเกี่ยวข้องกับ amino acid neurotransmitter อื่นๆ โดยยับยั้งการหลั่งของ exicitatory amino acid (aspartate, glutamate) และยับยั้งการหลั่งของ γ-hydroxybutyric acid (GHB) โดยการยับยั้ง aldehyde reductase (Chapman et al., 1982; Whittle and Turner, 1982; Vayer, Cash and Maitre, 1988)

(3) เกี่ยวกับ ion channel ที่เยื่อหุ้มเซลล์

ได้มีผู้เสนอแนะกลไกการออกฤทธิ์ของ VPA ซึ่งเกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจากการศึกษาใน aplysia neurones ที่แยกออกจากกาย พบว่าเมื่อให้ VPA ความเข้มข้น 5-30 mmole/l. จะมีการเปลี่ยนแปลงของ potassium และเกิด membrane potential เพิ่มขึ้น (Slater and Johnston,

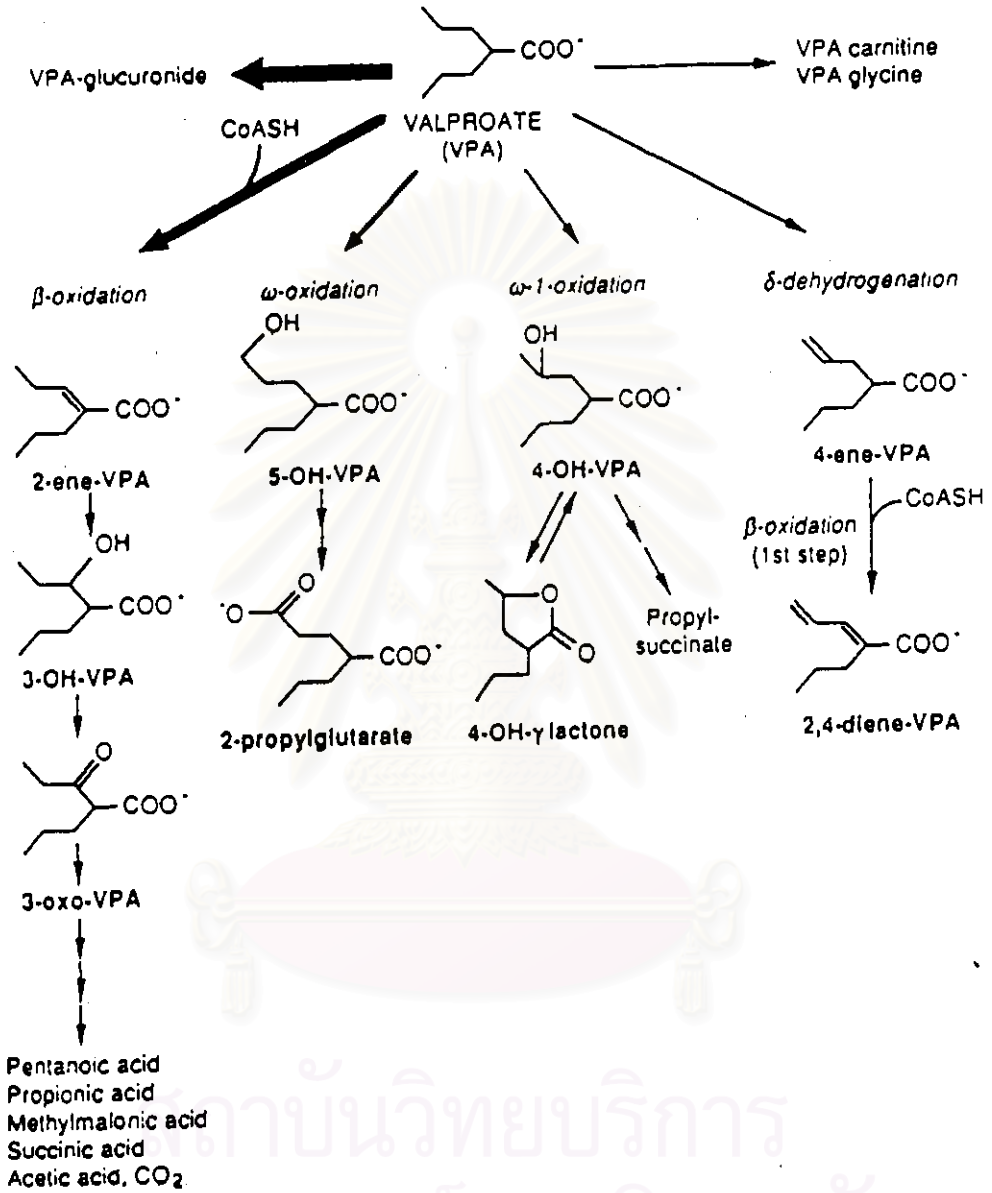
1978) และจากการศึกษาในหนูขาวพบว่า VPA ป้องกันการชักได้โดยการ block ที่ potassium channel (Morre et al., 1984) ดังนั้น VPA ทำให้ SRF (sustained repetitive firing) ของ neurone ลดลง โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงที่ potassium และ sodium channel แต่กลไกในการเปลี่ยนแปลงที่ ion channel นั้นยังไม่ชัดเจน (Davis et al., 1994)

Pharmacokinetics

VPA ถูกดูดซึมทางปากได้ดี (bioavailability > 80%) สามารถประเมินระดับยาในเลือดได้ภายใน 2 ชั่วโมงหลังรับประทานยา อาหารอาจมีผลต่อการดูดซึมโดยทำให้การดูดซึมช้าลง ดังนั้นจึงพบว่าการให้ VPA หลังรับประทานอาหาร อาจจะมีผลให้อาการพิษลดลงได้ VPA มีค่าคงที่ในการแตกตัว (pKa) เท่ากับ 4.7 สามารถจับกับโปรตีนในพลาสมาได้สูงถึง 90% ปริมาตรการกระจายตัว (Vd : Volume of distribution) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.126 - 0.175 l/kg (ประมาณ 0.15 l/kg.) (Katzung, 1992) ระดับยาในพลาสมาที่ปรากฏจะมีค่าถึงระดับให้ผลในการรักษา คือ ประมาณ 30-100 μg/ml ส่วนระดับยาในสมองและไขสันหลังจะน้อยกว่าในพลาสมา VPA มีค่าครึ่งชีวิต (half-life) 9-16 ชั่วโมง เมื่อให้ VPA ร่วมกับยาที่เป็น hepatic enzyme inducer ค่าครึ่งชีวิตจะลดลง ถ้าให้ VPA ในรูปยาเดี่ยว (monotherapy) ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยาจะอยู่ระหว่าง 10-16 ชั่วโมง และเมื่อให้ร่วมกับยาอื่น ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยาจะอยู่ระหว่าง 8-9 ชั่วโมง (Penry and Dean, 1993)

VPA ถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับ สำหรับในคนจะมี metabolic pathway หลักอย่างน้อย 5 ทาง ได้แก่ glucuronidation, β-oxidation, ω-, ω_1- และ ω_2-oxidation (Zaccara, Messori and Moroni, 1988) โดย 1-3% จะถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลง (unchanged form) ส่วนที่เหลือจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น metabolites ตาม pathways ต่างๆ โดยส่วนใหญ่จะรวมกับ glucuronic acid (glucuronidation) ซึ่งเกิดขึ้น 20-70% (Rall and Schleifer, 1990; Richens and Perucca, 1993) (รูปภาพที่ 2)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 2 metabolic pathways ของ valproic acid

metabolites ที่เกิดขึ้น อาจจะมีฤทธิ์มากขึ้นหรือหมดฤทธิ์ ซึ่ง metabolite ที่มีฤทธิ์นั้น อาจจะมีฤทธิ์มากกว่า VPA เช่น 2-ene-valproic acid ซึ่งเป็น metabolite หลักในกระบวนการ β-oxidation ที่มีฤทธิ์ของ VPA แต่ metabolite บางตัวอาจทำให้เกิดพิษได้ เช่น 4-ene-valproic acid ทำให้เกิดพิษต่อตับได้ (Davis, 1994)

การเกิดพิษ

ถึงแม้ว่า VPA จะเป็นยาต้านชักที่ให้ผลในการรักษาดี มีขอบเขตการรักษาปลอดภัย แต่พบว่ามีผลข้างเคียง (side effect) หลายอย่างที่พบได้เช่น

Common Side Effect

(1) รบกวนต่อระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal disturbance)

ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียนได้ ซึ่งพบได้บ่อยที่สุด น้ำหนักลดและเพิ่มขึ้น อาการเช่นนี้อาจเกิดขึ้นได้ในระยะ 1 เดือนแรกของการรักษา (Schmidt, 1982; Woodbery et al., 1982)

(2) อาการทางระบบประสาท (Neurological toxicity)

อาจพบอาการง่วงซึมได้ซึ่งจะเกิดขึ้นบ่อยเมื่อให้ VPA ร่วมกับ phenobarbital อาการมือสั่นจะพบได้ยาก แต่จะเกิดขึ้นเมื่อได้รับยาในขนาดสูง (Woodbery et al., 1982)

(3) อาการผมร่วง (Hair changes)

พบว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับ VPA แล้วผมร่วง ซึ่งจะปรากฏเมื่อได้รับยาในขนาดที่สูง อาการผมร่วงพบได้ยาก ปัจจุบันยังไม่ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาของ VPA กับอาการผมร่วง (Penry and Dean,1993)

อาการไม่พึงประสงค์ที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารมักจะพบได้บ่อยกว่าอาการทางระบบประสาท และพบว่าระดับยาในพลาสมาที่สูงกว่า 120 μg/ml จะทำให้มีอุบัติการณ์ของการเกิดอาการไม่พึงประสงค์เหล่านี้ได้สูง (Schmidt, 1982; Davis et al., 1994)

Severe side effects

อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นเหล่านี้มักจะพบได้ยาก แต่ถ้าเกิดขึ้นมักจะแสดงอาการที่รุนแรง ได้แก่

(1) ระบบเลือด (Hematological toxicity)

VPA มีผลทำให้เกิด thrombocytopenia แต่พบยาก ซึ่งอาจจะมีอาการแสดงให้เห็นได้เมื่อได้รับ VPA ในขนาดสูง เช่น epistaxis, prolonged bleeding, petechial เป็นต้น ส่วนกลไกนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อุบัติการณ์เกิดนั้นน่าจะสัมพันธ์กับระดับของ VPA ในพลาสมา (Schmidt, 1982; Woodbery et al., 1982; Blaise and Bourgeois, 1988)

(2) Teratogenicity

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า VPA ทำให้เกิดรูปวิรูปในสัตว์ได้ เช่น เกิด encephaloceles ใน mice มีการเปลี่ยนแปลงของไตในกระต่าย นอกจากนี้ยังพบว่าทำให้เกิด congenital abnormalities ในทารกที่มารดาได้รับยาในระหว่างตั้งครรภ์ มีความผิดปกติของ spida bifida ได้ 1% มีความเสี่ยงต่อการเกิด neural tube defects ประมาณ 1-2% และเด็กที่เกิดมามีโอกาสเป็น cleft palate 3-10 เท่าของคนปกติ (Woodbery et al., 1982; Penry et al., 1989; Richen and Perucca, 1993; Davis, 1994)

(3) Hepatotoxicity

หลังจากมีการใช้ VPA อย่างแพร่หลายตั้งแต่ ค.ศ. 1978 มีรายงานเกี่ยวกับผลของการรักษาด้วยยานี้กับการเกิดพิษต่อตับ เช่น ทำให้เกิด hepatitis-like syndrome, Reye's like

syndrome และ hyperammonemia เป็นต้น ในผู้ป่วยจำนวน 3 คน (อายุ 3, 8 และ 14 ปี) เมื่อได้รับ VPA แล้วทำให้มีอาการ anorexia, lethargy และ vomiting และ มีการเปลี่ยนแปลงทาง biochemical ทำให้เกิด severe metabolic acidosis ส่งผลให้ระดับของ ammonia ในเลือดสูงขึ้น (155, 120, 208 μmole/l ; normal range = 11-15 μmole/l) ระดับของ aspartate aminotransferase activity เพิ่มขึ้น และเสียชีวิตในเวลาต่อมา เนื่องจาก cerebral edema (Powell-Jackson, Tredger and Williams, 1984) ในเด็กที่อายุต่ำกว่า 2 ปี เมื่อได้รับยา VPA ร่วมกับยาอื่น ทำให้เกิดพิษต่อตับได้มากกว่าเด็กที่มีอายุมากกว่า 2 ปีและได้รับ VPA เพียงอย่างเดียว (Zimmerman and Ishak, 1982; Davis et al., 1994)

ลักษณะทางด้านพยาธิวิทยา

Valproic acid ทำให้เกิดพิษต่อตับโดยทำให้เกิด microvesicular steatosis ในบริเวณ periportal และ centrilobular ถ้ามีการคั่งของไขมันเป็นจำนวนมากอาจทำให้พยาธิสภาพรุนแรงขึ้น โดยทำให้เกิด hepatocellular necrosis ซึ่งพบว่าเกิดที่บริเวณ centrilobular นอกจากนี้การตรวจด้วย electron microscope พบว่า มีความผิดปกติของ mitochondria ที่ cristal และ residual bodies ด้วย (Powell-Jackson et al., 1984; Zafrani and Berthelot, 1982)

การศึกษาเพื่อหากลไกการเกิดพิษต่อตับ

จากการศึกษาในผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากการได้รับ VPA แล้วทำให้เกิดพิษต่อตับจำนวน 23 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 20 ปี และได้รับ VPA มานานกว่า 1 เดือน เมื่อตรวจทางด้านพยาธิวิทยา พบว่าเซลล์ตับมีลักษณะของ microvesicular steatosis อย่างเดียว บางรายก็พบว่ามีทั้ง cirrhosis หรือ necrosis ร่วมกับ microvesicular steatosis แต่กลไกในการที่ VPA ทำให้เกิด microvesicular steatosis และ hepatocellular necrosis นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ได้มีผู้เสนอทฤษฎี Stimulating theory ที่น่าจะเป็นไปได้เพื่ออธิบายกลไกของ VPA ที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพได้ ดังนี้ (Zimmerman and Ishak, 1982)

การเกิดขึ้นของ microvesicular steatosis มีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงของ VPA โดยกระบวนการ β-oxidation ซึ่งทำให้ได้ toxic metabolites ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับ hepatotoxic

4-pentenoic acid (4-PA) ที่ทำให้เกิด Reye's-like syndrome (Gerber et al., 1979) และ toxic metabolite ของ hypoglycin A ซึ่งทำให้เกิด Jamaican vomiting sickness คือ 4-methylenecyclopropylacetic acid (Tanaka, Kean and Johnson, 1976) โดยทำให้เกิด centrilobular necrosis ต่อตับในลักษณะคล้ายกัน จึงมีความเป็นไปได้ว่า toxic metabolite ของ VPA หนึ่ง หรือมากกว่าหนึ่ง metabolites ที่ทำให้เกิดการสะสมของ fat และทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับ (hepatocellular necrosis) (Zafrani et al., 1982) อีกประการหนึ่งอาจมีสาเหตุจากการที่ VPA ถูกชักนำให้เกิดพิษต่อตับได้โดยเกี่ยวข้องกับ enzyme inducer โดยผ่านกระบวนการ ω-oxidation (P-450 dependent) และทำให้เกิด reactive metabolites ซึ่งจะไปจับกับ macromolecules แบบ covalent binding แล้วนำไปสู่การเกิด necrosis (Zimmerman and Ishak, 1982)

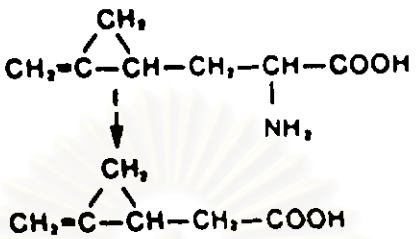
จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยให้ VPA ขนาด 700 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นขนาดใกล้เคียงกับขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย พบว่าทำให้เกิดการสะสมของไขมันในตับหนูขาวที่โตเต็มที่ แต่ไม่เกิดในหนูขาวที่อายุน้อย และเมื่อให้ VPA ร่วมกับ phenobarbital ในหนูขาวที่ไม่โตเต็มที่ พบว่าเกิดการสะสมของไขมันในตับ การเกิดขึ้นนี้อาจจะมีสาเหตุมาจาก toxic metabolites ของ VPA คือ 4-ene-VPA และ 2,4-diene-VPA ที่ทำให้เกิด microvesicular steatosis ในหนูขาวที่ไม่โตเต็มที่ได้เหมือนกับ 4-PA ส่วนกลไกที่ทำให้เกิดพิษนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีความเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากการยับยั้งกระบวนการ β-oxidation ซึ่งอาจจะแตกต่างกันระหว่าง VPA และ en-metabolite ของ VPA (Kesterson, Grannemann and Machinist, 1984)

การศึกษาในหนู mice โดยให้ VPA ในขนาด 400 -1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้าทางช่องท้อง สามารถทำให้เกิด microvesicular steatosis ซึ่งพบว่าอาการพิษจะสัมพันธ์กับขนาดของ VPA ที่ให้ นอกจากนี้เมื่อให้ร่วมกับ phenobarbitone สามารถเพิ่มการสะสมของไขมันที่ตับในสัตว์ทดลองที่ได้รับ VPA ทั้งแบบครั้งเดียว (acute) และได้รับเป็นเวลานานได้ (chronic) ในหนู mice และ rat ที่ได้รับ VPA เพียงครั้งเดียว (acute) หรือได้รับหลังจากให้ microsomal enzyme inducing agent ก่อน เช่น phenobarbitone, β-naphthoflavone, pregnenolone 16 α-carbonitrile, Arochlor 1254 และ clofibrate เป็นต้น พบว่าทำให้เกิด liver necrosis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ activity ของ transaminases enzyme ไม่เพิ่มขึ้น (Powell-Jackson et al., 1984)

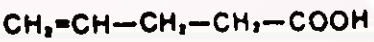
จากการศึกษาในหนูขาวและ rat liver homogenates พบว่า VPA และ 2-n-propyl-4-pentetonic acid ทำให้เกิด microvesicular steatosis โดยเกิดจากการยับยั้งกระบวนการ fatty acid β-oxidation ใน rat liver homogenates (Bjorge and Baillie, 1985) และพบว่าระหว่างการเปลี่ยนแปลงโดย β-oxidation ของ VPA และ 2-n-propyl-4-pentenoic acid ทำให้เกิด electrophilic intermediate (3-keto-Δ^4-VPA) ซึ่งจะจับกับ macromolecule แบบ covalent binding ในหนูขาว และเมื่อให้ clofibrate (induction of β-oxidation enzymes) ก่อนการทดลอง สามารถชักนำให้เกิด covalent binding ได้ชัดเจนกว่า phenobarbitone และ 4-pentenoic acid (inhibition of β-oxidation enzymes) สามารถยับยั้งการเกิด covalent binding ได้สูง ในขณะที่ borneol และ 8-bromo-cAMP (inhibitions of glucuronidation) มีผลในระยะแรกของการ incubation แต่ metyrapone (inhibitor of cytochrome P-450 activity) ไม่มีผลในการยับยั้งการเกิด covalent binding (Porubek, Grillo and Baillie, 1988)

VPA (ในขนาด 500 มิลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 7วัน) และ VPA ร่วมกับ phenobarbital (ขนาด 20 มิลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 7วัน) ในสัตว์ทดลอง ทำให้เกิด microvesicular steatosis ที่ตับ ขนาดของ mitochodria ใหญ่ขึ้น และมีจำนวนเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะเมื่อให้ VPA ร่วมกับ phenobarbital กลไกที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากการยับยั้ง β-oxidation ของ fatty acid ใน mitochodria โดย VPA ทำให้เกิดความผิดปกติในขั้นตอนของ oxidation pathway (sequestration of CoASH) และอาจเกิดจากความบกพร่องของ carnitine (Sugimoto et al., 1987) ในการศึกษา in vitro ใน mitochodria พบว่า VPA และ metabolites (2-ene และ 3-oxo-VPA) ยับยั้ง β-oxidation ใน mitochodria ได้โดยยับยั้ง medium-chain acyl-CoA synthetase (Ponchaut, van Hoof and Veitch, 1992)

ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาถึงกลไกที่ทำให้เกิดพิษต่อตับของ valproic acid อย่างมากแต่ยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งมีผู้เสนอแนะถึงกลไกที่น่าจะเป็นไปได้หลายกลไกดังกล่าวมาแล้ว ซึ่งได้นำมาเป็นแนวทางที่จะศึกษากลไกการเกิดพิษต่อตับของสารใหม่ๆ ที่มีฤทธิ์ในการต้านชักได้ดี เพื่อการพัฒนายาต่อไป



(A)



(B)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 3 สูตรโครงสร้าง ของ hypoglycin A และ toxic metabolite (A) และ 4-pentenoic acid (B)

ตับ

ตับเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกายของมนุษย์มี 2 กลีบ คือกลีบซ้ายและกลีบขวา ในหนูขาวมี 6-7 กลีบ (Wells, 1964) ได้แก่

- กลีบซ้าย (ขนาดใหญ่ที่สุด) ประกอบด้วย lobus sinister medialis - left medial lobe และ lobus sinister medialis - left lateral lobe
- กลีบขวา มี 2 กลีบติดกัน ประกอบด้วย lobus dexter medialis - right medial lobe และ lobus dexter medialis - right lateral lobe
- กลีบกลาง มี 2-3 กลีบและกลีบรอบหลอดอาหาร (คล้ายรูปไต) มีขนาดเล็กที่สุด เรียกว่า "caudate lobe"

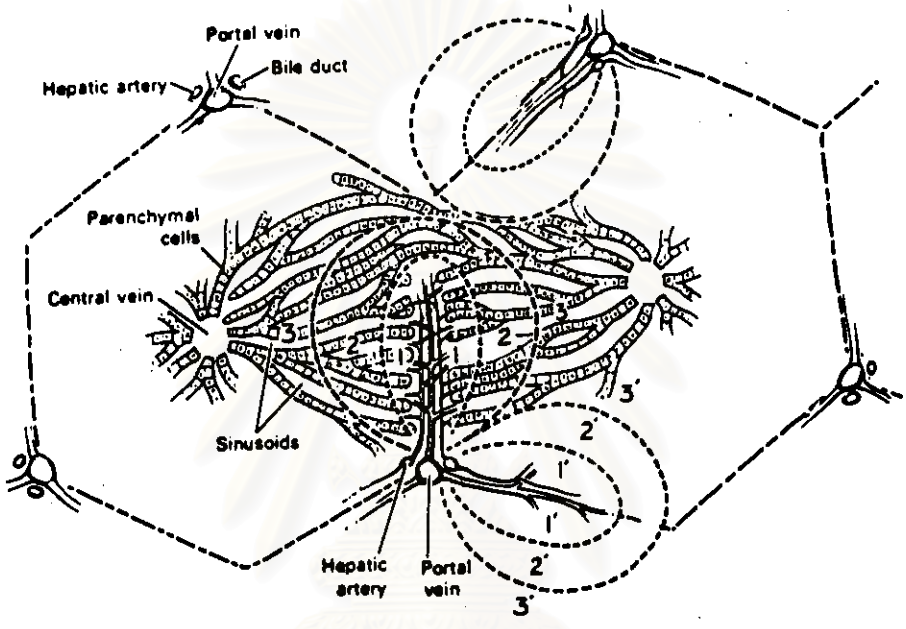
เลือดที่มาเลี้ยงตับมีประมาณ 1/4 ของ cardiac output ซึ่งได้มาจาก portal vein และ hepatic artery

- portal vein เป็นหลอดเลือดดำที่นำเลือดมาสู่ตับ 75 % ของเลือดที่มาเลี้ยงตับทั้งหมด
- hepatic artery เป็นหลอดเลือดแดงที่นำเลือดมาตับ 25 % ของเลือดที่มาเลี้ยงตับทั้งหมด

เลือดจาก portal vein และ hepatic artery จะไหลเข้าสู่ sinusoid และผ่านเข้า central vein ซึ่งเป็นส่วนปลายของ hepatic vein จากนั้นก็เข้าสู่ inferior vena cava และเข้าหัวใจห้องบนขวา (รูปภาพที่ 4)

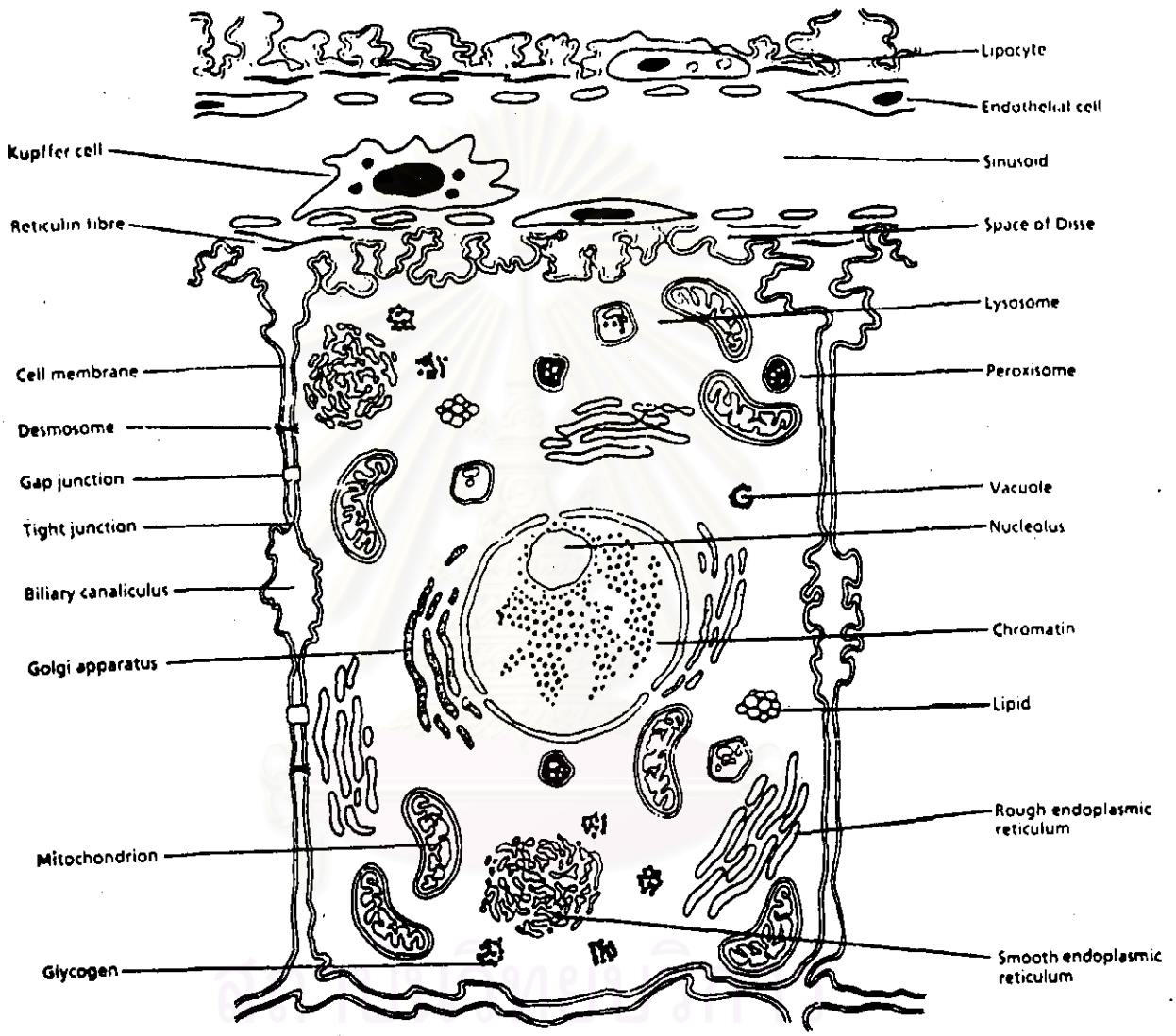
ตับประกอบด้วยเซลล์ตับ (hepatocytes) จำนวนมาก มีประมาณ 70 % ของเซลล์ทั้งหมด มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 µm ภายในประกอบด้วย necleolus, smooth and rough endoplasmic reticulum (SER & RER), golgi complex, lysosome, mitochondria และ granule สำหรับสะสมสารต่างๆ (Goldberg and Gornall, 1980) (รูปภาพที่ 5) .

hepatocytes สามารถแบ่งออกเป็นโซน (Zone) เพื่อประโยชน์ทางพยาธิวิทยาของเซลล์ตับโดยยึดระยะห่างระหว่างหลอดเลือดเป็นหลัก (รูปภาพที่ 4) (Rappaport, 1956) ดังนี้



รูปภาพที่ 4 เส้นเลือดที่มาเลี้ยงตับและการแบ่งการแบ่งโซนของ liver acinus (Rappaport, 1956)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 5 ส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ตับ

(Sherlock and Dooley, 1993)

1. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 1 (Zone 1) เรียกว่า periportal area หมายถึง เซลล์ที่อยู่รอบๆ portal vein เป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้ทางเข้าของเลือดที่มาเลี้ยง lobule ซึ่งเป็นเลือดที่มีส่วนประกอบของเลือดแดงมากกว่าเลือดดำ เป็นส่วนที่ได้รับสารอาหารและออกซิเจนสูง และเป็นเซลล์กลุ่มแรกที่จะเกิดการ regeneration ภายหลังการเกิดอันตรายต่อตับ แต่จะเป็นเซลล์กลุ่มสุดท้ายที่จะเกิดการ necrosis

2. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 2 (Zone 2) เรียกว่า midzone หมายถึง เซลล์ที่อยู่ระหว่าง periportal area กับ centrilobular area

3. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 3 (Zone 3) เรียกว่า centrilobular หรือ periacinal area หมายถึง เซลล์ที่อยู่รอบๆ central vein เป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้ทางออกของหลอดเลือดที่ออกจากตับ ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มี hepatic arterioles มาเลี้ยงเลย

เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 2 และ 3. จะเป็นบริเวณที่มีความต้านทานต่ออันตรายน้อย เนื่องจากได้รับเลือดที่มีสารอาหารและออกซิเจนต่ำ จึงพบว่าจะเกิดการตายของเซลล์ได้มากกว่าบริเวณอื่น

ตับเป็นอวัยวะหนึ่งของร่างกาย ที่มีความสำคัญและจำเป็นในการดำรงชีวิตของมนุษย์ ซึ่งมีหน้าที่หลายอย่างได้แก่ การสร้างและหลั่งน้ำดีเพื่อช่วยย่อยอาหารจำพวกไขมัน เก็บสะสมสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตไว้ในรูปของไกลโคเจน เก็บสะสมไขมันไว้ในรูปไตรกลีเซอร์ไรด์ สังเคราะห์สารอาหารจำพวกโปรตีน นอกจากนี้ยังรักษาสมดุลทางชีวภาพของอวัยวะต่างๆ ช่วยในการทำลายพิษ (detoxification) ที่เกิดจากสารแปลกปลอมต่างๆในร่างกาย (Leffer et al., 1982; Amenta, 1991) ซึ่งต้องอาศัยการทำงานของเซลล์ตับ (hepatocytes) ดังนั้นถ้าร่างกายได้รับสารที่มีพิษต่อตับจะทำให้การทำงานของเซลล์ตับและหน้าที่ของตับเปลี่ยนแปลงไป

การเกิดพิษของตับ

การดำรงชีวิตของมนุษย์และสัตว์ จำเป็นต้องสัมผัสกับสารพิษอยู่ตลอดเวลาทั้งจากอาหาร น้ำและอากาศ สารต่างๆจะผ่านเข้าสู่ตับซึ่งจะมีเอนซัยม์จำนวนมาก ที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ ทำให้สารนั้นๆไม่มีพิษ หรือบางครั้งอาจก่อให้เกิดพิษต่อตับ แล้วกำจัดออกจากร่างกาย สารเหล่านี้อาจมาจากธรรมชาติ เช่น พืช สัตว์ และแร่ธาตุ เป็นต้น หรืออาจได้มาจากการสังเคราะห์ขึ้น เช่น ยา สารเคมีต่างๆ เป็นต้น ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภาย

ในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงนี้จะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของอันตรายนั้น ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าเซลล์จะสามารถกลับสู่สภาพเดิมได้หรือไม่

การประเมินรูปร่างลักษณะ (morphological assessment) ของเซลล์ตับที่ได้รับอันตรายอย่างเฉียบพลันแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ดังนี้

1. ถ้าอันตรายนั้นมีความรุนแรงน้อย จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่สามารถเปลี่ยนกลับได้ (reversible change) เรียก degeneration เป็นการเสื่อมของเซลล์ตับที่นำมาก่อนการเกิด cell death เช่น cloudy swelling (cellular swelling), hydropic degeneration vacuolar degeneration และ fatty change (fatty degeneration) เป็นต้น

2. ถ้าอันตรายนั้นมีความรุนแรงมาก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่ไม่สามารถกลับสู่สภาพเดิมได้ (irreversible change) เซลล์จะสูญเสียความสามารถในการซ่อมแซมเซลล์ เรียกระยะนี้ว่า cell death

3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ภายหลังสมดุลระหว่างเซลล์ที่ตายกับของเหลวที่เหลืออยู่ล้อมรอบเซลล์นั้น เรียกว่า prenecrotic change

4. การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เกิดขึ้นภายหลัง cell death เรียก cell necrosis มีหลายชนิด เช่น coagulative necrosis, enzymatic fat necrosis เป็นต้น

(สุพิศ จึงพาณิชย์, 2524; Kepple and Proper, 1986)

กลไกที่เกี่ยวข้องในการเกิดพิษต่อตับ เช่น Lipid peroxidation, Covalent binding to proteins, Gluthathione depletion, Peroxisome proliferation เป็นต้น (McIntyre et al., 1991)

ลักษณะที่ทำให้เกิดพิษต่อตับส่วนใหญ่มักเป็น fatty liver และ liver necrosis

Fatty liver

Fatty liver หรือ steatosis หมายถึง สภาวะที่ตับมีปริมาณไขมันมากกว่า 5% โดยน้ำหนัก (ปกติจะมีไขมันอยู่ในตับประมาณ 5 กรัมต่อน้ำหนักตับ 100 กรัม) (McIntyre et al., 1991) เกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิสมของไขมัน หรือการขาดสมดุลทางโภชนาการ

ซึ่งทำให้เกิดการสะสมที่ผิดปกติของไขมันโดยเฉพาะ triglycerides กลไกการเกิดก็แตกต่างไปขึ้นกับสารที่เป็นต้นเหตุแต่กลไกที่น่าจะเป็นไปได้ เช่น

1. การมีกรดไขมันมาที่ตับมากเกินไป

กลไกนี้น่าจะเป็นกลไกหลักของการเกิด fatty acid จาก CCl_4, ethionine และฟอสฟอรัส โดยสารเหล่านี้จะกระตุ้นให้เกิดการสลายตัวของไขมันจากเนื้อเยื่อไขมัน ทำให้เกิดการสะสมของไขมันอิสระในตับ เอนซัยม์ต่างๆใน triglyceride cycle จึงต้องทำงานอย่างหนักจนถึงจุดอิ่มตัว และเกิดการสะสมของ triglyceride ขึ้น

2. การเปลี่ยนแปลงของ triglyceride cycle

กระบวนการใดที่เปลี่ยนแปลงการสร้าง apoprotein, phospholipid, fatty acids, cholesterol, cholesterol esters และ carbohydrate ซึ่งจะรวมตัวกันเป็น VLDL มักจะส่งผลให้เกิด fatty liver ลักษณะการเกิดพิษต่อตับแบบนี้พบว่าเกิดจากสารหลายประเภท เช่น CCl_4 , ethionine และ puromycin เป็นต้น กระบวนการที่เปลี่ยนแปลง triglyceride cycle ที่อาจจะเป็นไปได้ ได้แก่

-การลด oxidation ของกรดไขมัน กรดไขมันเป็นแหล่งพลังงานดังนั้นการขัดขวางการให้พลังงานโดยปฏิกิริยา oxidation ของกรดไขมันที่ผ่านทาง tricarboxylic acid cycle อาจเป็นกลไกที่สำคัญที่ทำให้เกิด fatty liver ได้

-lipid peroxidation จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่เกิดพิษจาก ethanol มี ethane เกิดขึ้นและ fatty liver ที่เกิดขึ้นป้องกันได้ด้วย antioxidants ดังนั้น lipid peroxidation จึงน่าจะเป็นกลไกที่ทำให้เกิด fatty liver เมื่อเกิดพิษเฉียบพลันพบว่า mitochondria ถูกทำลายอย่างมากและเกิดการสะสมของ conjugated diene (ผลจากการเกิด lipid peroxidation) มากกว่าใน microsome แต่ถ้าเป็นพิษเรื้อรังจะเกิดพิษต่อ microsome มากกว่า mitochondria (พรเพ็ญ เปรมโยธิน , 2529)

Valproic acid ทำให้เกิด microvesicular steatosis ในเด็ก ซึ่งเชื่อว่าอาจจะเกิดจากการที่ valproic acid หรือ metabolites ตัวใดตัวหนึ่ง ทำให้เกิดการยับยั้ง fatty acid oxidation ของ mitochondria ซึ่งคล้ายกับการเกิด fatty changed ใน Jamaican vomiting sickness (4-methylenecyclopropylacetic acid) (Zimmerman and Ishak, 1982; Powell - Jackson et al., 1984; McIntyre et al.,1991)

4 - pentenoic acid ทำให้เกิด microvesicular steatosis ใน Reye's syndrome ซึ่งมีสาเหตุจากการลดลงของ activity ของเอนซัยม์ใน mitochondria (McIntyre et al., 1991)

Liver necrosis

liver necrosis หมายถึง การตายของเซลล์ตับซึ่งมีสาเหตุจากการยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิสม ที่มีความจำเป็นต่อเซลล์ เช่น ยับยั้งการควบคุมและการสร้างพลังงานของ mitochondria การเปลี่ยนสมดุลย์ของ Na^+ และ K^+ ระหว่างเซลล์ตับกับเลือด เป็นต้น มีสารจำนวนมากทำให้เกิด liver necrosis โดย necrosis ที่เกิดขึ้นอาจเกิดเฉพาะที่หรือทั่วทั้งตับ กลไกการเกิดนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีผู้เสนอกลไกการเกิด ดังนี้

1. การจับกับ macromolecules

เมตาบอลิสมของสารต่างๆโดยเอนซัยม์ที่ตับ บางครั้งอาจเกิดเมตาบอไลท์พวก alkylating หรือ arylating หรือ acylating derivatives ที่สามารถจับแบบ covalent binding กับโมเลกุลต่างๆในเนื้อเยื่อได้ เช่น โปรตีน ไขมัน และโมเลกุลอื่นๆที่เล็กกว่า เป็นต้น เมื่อมี covalent coplex เกิดขึ้น กลไกอื่นอย่างน้อยหนึ่งกลไกจะถูกกระตุ้น และทำให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติไป ถ้ารุนแรงมากก็อาจทำให้เซลล์ตายได้ (พรเพ็ญ เปรมโยธิน , 2529)

จากการศึกษา in vivo และ in vitro พบว่า toxic metabolite (2-n-propyl-4-pentanoic acid ของ valproic acid มีการจับกับโปรตีนแบบ covalent binding ในเซลล์ตับได้สูงกว่า valproic acid และเมื่อให้ clofibrate ซึ่งเป็นเอนซัยม์อินดิวเซอร์ของ β - oxidattion ทำให้มีการจับแบบ covalent binding สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (Porubek, Grillo, and Baillie, 1989) แต่ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดของการเกิด liver necrosis

2. ความบกพร่องของ mitochondria

เนื่องจาก mitochondria มีบทบาทสำคัญในการเป็นแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์ เป็น organelle ที่มีการสังเคราะห์ ATP ให้กับเมตาบอลิสมต่างๆภายในเซลล์ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ของ mitochondria ทำให้เกิดความบกพร่องในการสังเคราะห์ ATP ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงการมีชีวิตของเซลล์ และอาจนำไปสู่การตายของเซลล์ตับได้ เช่น

การศึกษา in vitro พบว่าการให้อะเซตามิโนเฟนซึ่งเป็นตัวที่ทำให้ระดับ glutathione ภายในเซลล์ตับลดลง หรือ NABQI แก่เซลล์ตับจะทำให้การทำงานของ mitochondria respiration apparatus ของเซลล์ตับลดลงก่อนที่จะมีการทำลาย plasma membrane เกิดขึ้น (Meyers et al., 1988; Esterline, Ray, and Ji, 1989; Ramsay, Rashed, and Nelson, 1989; Burcham and Harman, 1990 & 1991) อาจเป็นไปได้ว่าอะเซตามิโนเฟนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลย์ Ca^{2+} ภายในเซลล์ตับ ทำให้การทำงานของ mitochondria บกพร่อง (Schanne et al., 1979)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเผาผลาญของกรดไขมัน (Catabolism of fatty acid)

lipid ที่ถูกดูดซึมจะถูกนำเข้าสู่ตับ แล้วจะถูกใช้ไปเพื่อการสังเคราะห์ฟอสฟอลิปิด ในรูปที่อาจจะถูกนำกลับไปยังกระแสเลือดสำหรับแพร่ไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ถ้าการแปรสภาพไปเป็นฟอสฟอ ลิปิดถูกขัดขวาง จะทำให้มีการสะสมของไขมันในตับ ทำให้เกิดสภาวะที่ผิดปกติที่เรียกว่า fatty liver

คะตาบอลิสม หรือ ออกซิเดชันของกรดไขมัน (catabolism of fatty acid) เป็นกระบวนการเผาผลาญกรดไขมัน ที่เกิดขึ้นภายในไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ซึ่งจะทำให้คาร์บอนจำนวน 2 อะตอมถูกดึงออกจากโมเลกุลตามลำดับ โดยเริ่มจากปลายข้างที่เป็น carboxyl group ของกรดไขมัน (รูปภาพที่ 6)

ออกซิเดชันของกรดไขมัน มี 3 วิธี

1. บีตา- ออกซิเดชัน (β - oxidation)
2. อัลฟา-ออกซิเดชัน (α - oxidation)
3. โอมีกา-ออกซิเดชัน (ω - oxidation)

1. บีตา- ออกซิเดชัน (β - oxidation)

ลำดับของปฏิกิริยาซึ่งเร่งโดยเอนซัยม์ต่างๆในการกระตุ้นกระบวนการ oxidation ของกรดไขมัน แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1) Activation ของกรดไขมัน

กรดไขมันอิสระภายใน cytoplasm จะถูกกระตุ้นโดยเกิด esterification กับ โคเอนซัยม์เอที่อยู่ภายนอก mitochondria (extramitochondrial CoA) และอาศัยพลังงานจาก ATP เกิดเป็น fatty acyl-CoA เอนซัยม์ที่เร่งปฏิกิริยานี้ คือ Acyl-CoA synthetase ซึ่งมีอย่างน้อยที่สุด 3 ชนิด ได้แก่

1.1 Short-chain acyl-CoA synthetase เป็นเอนซัยม์ที่ถูกกระตุ้นโดย K^+ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา activation ของกรดอะซิติก, โปรปิโนอิคและอะคริลิค

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 Medium-chain acyl-CoA synthetase สำหรับ activate กรดไขมันที่มีคาร์บอน 4-12 อะตอม กรดไขมันที่มี branch chain กรดไขมันที่มี phenyl substituted, α -, β - หรือ β, γ-unsaturated และ β-hydroxylated acid

1.3 Long-chain acyl-CoA synthetase สำหรับ activate กรดไขมันที่มีคาร์บอน 12-22 อะตอม หรือมากกว่า

การทำงานของเอนซัยม์ทั้ง 3 นี้ เกือบเหมือนกันและพบในเนื้อเยื่อชั้นนอกของไมโตคอนเดรียและใน endoplasmic reticulum (ER) ในปฏิกิริยานี้ thioester linkage เกิดขึ้นระหว่าง carboxyl group ของกรดไขมัน และ thiol group ของ Co-A ATP จะเกิดการตัด pyrophosphate ไปเป็น inorganic pyrophosphate (PPi) ซึ่งสมดุลย์จะไปทางการเกิด acyl-CoA เนื่องจากพลังงานอิสระมาตรฐาน (standard free energy) ของ hydrolysis ของ ATP ไปเป็น AMP และ PPi

ตอนแรกกรดไขมันจะรวมตัวกับ ATP เกิดเป็นสารตัวกลางที่รวมอยู่กับเอนซัยม์ (enzyme-bond intermediate) ซึ่งเป็น mixed anhydride ของกรดไขมัน และ phosphate group ของ ATP คือ fatty acyl adenylate โดยการที่ fatty acyl group ของกรดไขมันจะไปรวมตัวกับ α-phosphate group ของ ATP และมีการสูญเสีย β - และ γ -phosphate group ออกมาในรูปของ PPi ซึ่ง fatty acyl adenylate เกิดบนบริเวณเร่งของเอนซัยม์ ส่วน PPi จะถูกปล่อยออกมาใน medium ต่อมา enzyme-bound fatty acyl adenylate ทำปฏิกิริยากับ CoA ได้ fatty acyl-CoA และ AMP (รูปภาพที่ 7)

2) การนำกรดไขมันจากไซโตพลาสม (cytoplasm) เข้าสู่ไมโตคอนเดรีย

เนื่องจากกรดไขมันจะถูกเผาผลาญอยู่ในไซโตพลาสม แต่เอนซัยม์ที่เร่งปฏิกิริยาในกระบวนการ β-oxidation นั้นอยู่ในไมโตคอนเดรีย ดังนั้นจึงต้องอาศัยกระบวนการนำเอากรดไขมันในไซโตพลาสมผ่านผนังไมโตคอนเดรีย เพื่อนำกรดไขมันในรูปของ fatty acyl CoA จากไซโตพลาสมเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย ทั้งนี้เพราะเนื้อเยื่อชั้นในของไมโตคอนเดรียไม่ยอมให้ทั้งกรดไขมันและอนุพันธ์ของกรดไขมันผ่านเข้า แต่กรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่มีโมเลกุลยาวๆในรูปของ CoA-thioesters จะมีความสามารถในการผ่านเยื่อชั้นในของไมโตคอนเดรียได้อย่างจำกัด

กระบวนการนำเอากรดไขมันจากไซโตพลาสมผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียนั้น เป็นการถ่ายทอด acyl group จาก fatty acyl-CoA ไปยัง acyl carrier molecule คือ carnitine เกิดเป็น

fatty acyl carnitine จากนั้นจะมีการถ่ายทอด acyl group จาก fatty acyl carnitine ไปยังโคเอนซัยม์เอ ที่มีอยู่ในไมโตคอนเดรีย (intramitochondrial CoA) ซึ่งจะเกิดขึ้นที่ผิวด้านในของเนื้อเยื่อชั้นในของไมโตคอนเดรีย

การถ่ายทอด acyl group จากกรดไขมันไปยัง acyl carrier molecule คือ carnitine เกิดขึ้นดังนี้

fatty acyl carnitine ที่เกิดขึ้นจะผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้นในของไมโตคอนเดรีย เข้าสู่ matrix โดยระบบการลำเลียงชนิดพิเศษ ต่อจากนั้น acyl group จะถูกถ่ายทอดจาก fatty acyl carnitine ไปยังโคเอนไซม์เอ ที่อยู่ภายในไมโตคอนเดรียโดยอาศัยการเร่งปฏิกิริยาของเอนซัยม์ชนิดที่ 2 คือ carnitine acyltransferase ซึ่งอยู่ที่ผิวด้านในของเนื้อเยื่อชั้นในของไมโตคอนเดรีย ผลที่เกิดขึ้น คือ fatty acyl-CoA ที่มีอยู่ภายในไมโตคอนเดรียจะกลายเป็น substrate ของกระบวนการ oxidation ของกรดไขมันต่อไป ส่วน carnitine ที่ได้กลับคืนมาจะซึมผ่านเยื่อของไมโตคอนเดรียกลับออกสู่ไซโตพลาสม และทำหน้าที่เป็น acyl carrier molecule สำหรับ fatty acyl-CoA โมเลกุลใหม่ได้อีก (รูปภาพที่ 8)

3) การเผาผลาญกรดไขมันภายใน mitochondria

การเผาผลาญกรดไขมันภายใน mitochondria เรียกว่า β-oxidation แบ่งลำดับของปฏิกิริยาได้เป็น 4 ขั้น ตอนดังนี้

3.1 Dehydrogenation หรือoxidation ครั้งแรก; fatty acyl-CoA จะถูก dehydrogenate โดยการดึงเอาอะตอมของไฮโดรเจน 1 คู่ ออกจาก α และ β อะตอมของคาร์บอน (อะตอมที่ 2 และ 3) ได้ α และ β หรือ δ-2-unsatturated fatty acyl-CoA

3.2 Hydration ;unsatturated fatty acyl-CoA จะถูกเติมน้ำเข้าไปที่บอนด์คู่ เกิดเป็น β-hydroxy fatty acyl-CoA

3.3 Dehydrogenation หรือ oxidation ครั้งที่ 2; β-hydroxy fatty acyl-CoA จะถูก dehydrogenate เป็นครั้งที่ 2 ได้ β-keto fatty acyl-CoA

3.4 Thiolytic cleavage; เกิด thiolytic cleavage โดย β-keto fatty acyl-CoA ทำปฏิกิริยากับ acetyl-CoA โมเลกุลที่ 2 ผลผลิตที่ได้ตัวหนึ่งคือ acetyl CoA ซึ่งมาจากอะตอมที่ 1 และ 2 ของคาร์บอนในกรดไขมันโมเลกุลเดิม และอีกตัวหนึ่งคือ fatty acyl CoA ที่มีโมเลกุล

ยาว และมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนน้อยกว่ากรดไขมันที่เป็นตัวเริ่มต้น 2 อะตอม ซึ่งจะมาเป็น substrate สำหรับปฏิกิริยาในรอบต่อไปโดยเริ่มที่ dehydrogenation ครั้งแรกใหม่ (รูปภาพที่ 9)

2. อัลฟา-ออกซิเดชัน (α - oxidation)

ที่มีชื่อว่า α-oxidation เพราะมีคาร์บอนเพียงอะตอมเดียวคือ carboxyl carbon ที่สูญเสียไปในแต่ละขั้นตอนของปฏิกิริยา ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ และอะตอมที่ 2 คือ คาร์บอนที่ตำแหน่งอัลฟาจะถูก oxidize เป็น carboxyl group ขึ้นใหม่

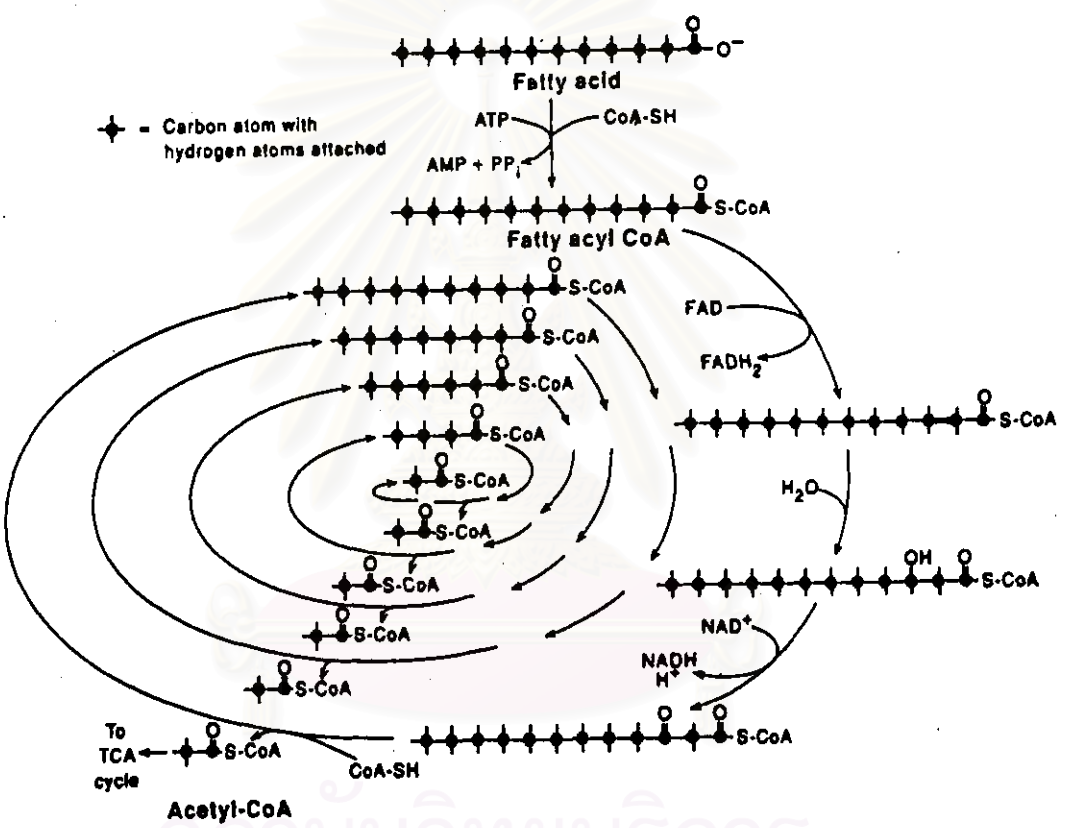
ปฏิกิริยาเริ่มแรก คือ hydroxylation ที่คาร์บอนตำแหน่งอัลฟาของกรดไขมัน ไปเป็น α-hydroxy fatty acid เอนซัยม์ที่เร่งปฏิกิริยานี้คือ monooxygenase ในไมโตคอนเดรีย ต่อมาเกิด dehydrogenation ที่คาร์บอนตำแหน่งอัลฟาของ α-hydroxy fatty acid ไปเป็น α-keto acid และในที่สุดเกิด oxidative decarboxylation ทำให้ carboxyl carbon หลุดออกมาในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ และเปลี่ยนกรดไขมันที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอน จากเลขคู่เป็นเลขคี่ ปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายนั้นเกิดใน endoplasmic reticulum

หน้าที่ของ α-oxidation ยังไม่ทราบแต่มีประโยชน์สำหรับออกซิเดชันของกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาวมากๆที่พบในสมอง และที่ไม่สามารถถูกออกซิไดส์ได้โดย β - oxidation

3. โอมีกา-ออกซิเดชัน (ω - oxidation)

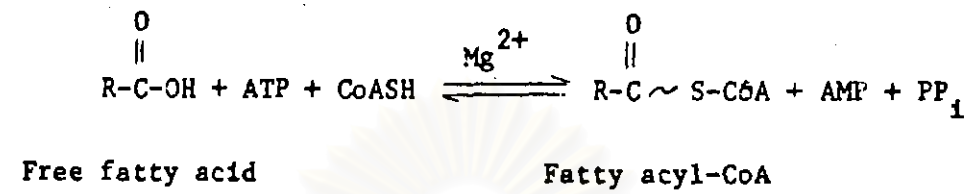
กรดไขมันที่มีโมเลกุลยาวปานกลาง และที่มีโมเลกุลยาว ส่วนน้อยอาจจะเกิด ω-oxidation ไปเป็น ω-hydroxy fatty acid ซึ่งจะเปลี่ยนต่อไปเป็น ω-dicarboxylic acid โดยเอนซัยม์ใน microsome ของตับ

ω - oxidation ต้องการ cofactor คือ NADPH , O_2 , Fe^{2+} และ cytochome P_{450} และจากการที่เกิด hydroxy fatty acid ในปฏิกิริยานี้แสดงว่าเอนซัยม์ตัวหนึ่งจะต้องอยู่ใน mixed function oxygenase ซึ่งออกซิเดชันชนิดนี้ ออกซิเจน 1 อะตอม จะไปยัง substrate ในขณะที่อีกตัวหนึ่งถูกรีดิวส์โดย pyridine nucleotide coenzyme ดังนั้นจึงมีชื่อว่า mixed function oxidase หรือ hydroxylase เอนซัยม์นี้เป็นลักษณะพิเศษของ ER ไม่เพียงแต่เร่งปฏิกิริยาของกรดไขมัน ยังเร่งปฏิกิริยาของสเตอรอยด์ alkane หรือ aromatic ซึ่งมีความสำคัญในการทำลายสารพิษและยาต่างๆ

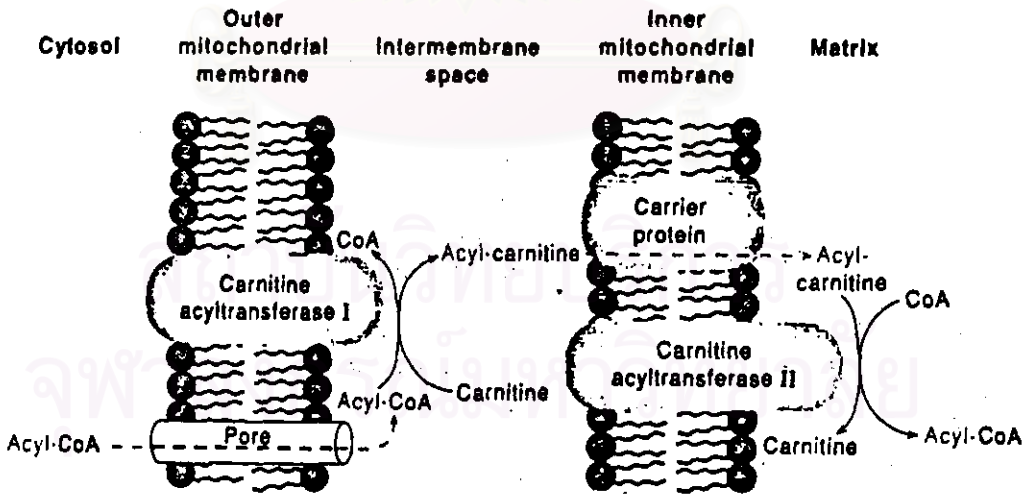


รูปภาพที่ 6 การเผาผลาญกรดไขมันที่เกิดขึ้นภายในไมโตคอนเดรีย

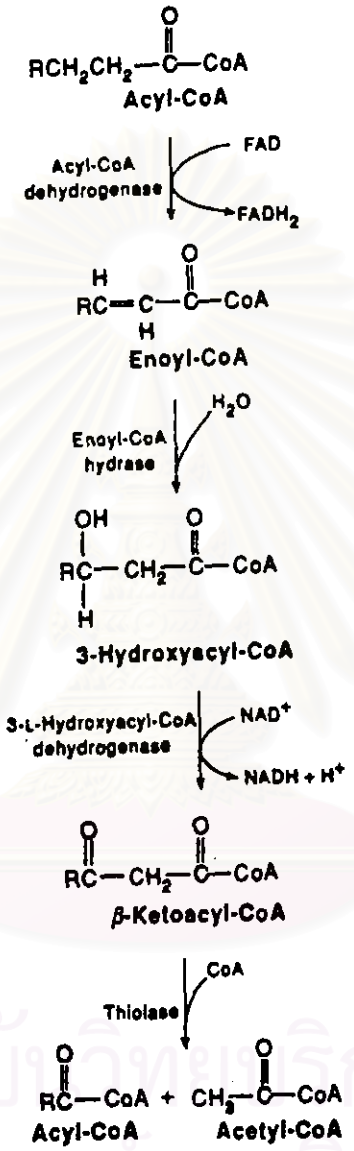
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 7 ปฏิกิริยา activation ของกรดไขมันภายในไซโตพลาสมซึ่งเร่งโดย acyl - CoA synthetase



รูปภาพที่ 8 การนำ fatty acyl - CoA จากไซโตพลาสมเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย

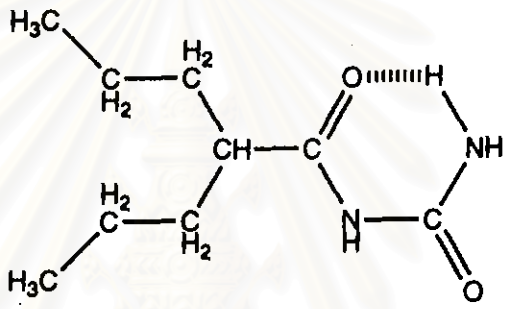


รูปภาพที่ 9 ลำดับปฏิกิริยา β-oxidation

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอ็น - (2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย [n - (2-propylpentanoyl) Urea]

ในปี ค.ศ. 1992 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช และ นาย วิชาญ จันทรวิทยานุชิต ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารอนุพันธ์ของกรดวาลโปรอิก (Valproic acid : VPA) เพื่อสรรหาสารอนุพันธ์ที่มีประสิทธิภาพสูงและมีผลข้างเคียงน้อย ได้แก่ (N,N-dimethylaminoethyl)-2-propylpentanoate, N - (2-Propylpentanoyl) urea และ N - (2-Propylpentanoyl) thiourea เป็นต้น N - (2-Propylpentanoyl) urea (VPU) มีสูตรโครงสร้างดังรูปภาพที่ 10



รูปภาพที่ 10 สูตรโครงสร้างของ n - (2-propylpentanoyl) urea

ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 อาจารย์ ธงชัย สุขเศวต ได้นำสารอนุพันธ์ของ VPA คือ n - (2-propylpentanoyl) urea (VPU) มาศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านชัก โดยเปรียบเทียบกับ VPA ซึ่งศึกษาในหนูถีบจักร จากการทดลองในหนู mice พบว่า VPU สามารถต้านชักจากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า และสารเคมี ได้แก่ สารเพนทิลีนเตตราซอล (pentylenetetrazol) และสารไบคูคูลลิน (bicuculin) ให้ขอบเขตของผลคล้ายคลึงกัน แต่ต้านชักไม่ได้จากการให้สารสตริกนิน (strychnine) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ระหว่าง VPA กับ VPU พบว่ามีความแรงเท่ากันในการต้านชักจากการให้สารไบคูคูลลิน แต่แรงกว่า VPA จากการต้านชักจากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า และสารเพนทิลีนเตตราซอล ดังจะเห็นได้จากขนาดของสารที่ให้ในการต้านชักได้ครึ่งหนึ่ง จากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า สารเพนทิลีนเตตราซอล และสารไบคูคูลลิน ของ VPU เท่ากับ 66 , 57 และ 331 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และ VPA เท่ากับ 242, 95 และ 393 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนในหนูขาว การต้านชักจากการกระตุ้นด้วย

ไฟฟ้า และสารเพนทิลีนเตตราซอล พบว่า VPU มีฤทธิ์สูงกว่า VPA เท่ากับ 67 และ 233 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และ เท่ากับ 80 และ 140 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ได้ศึกษาการเกิดพิษเฉียบพลันในหนู mice เมื่อให้ VPU และ VPA ฉีดทางช่องท้องในขนาดที่สูง (500-2,500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) พบว่าทำให้เกิด ataxia, sedation, hypnosis และ respiratory tract secretion และยังพบว่ามีสัตว์ทดลองตายภายใน 24 ชั่วโมงหลังได้รับ VPU และ VPA เมื่อครบ 72 ชั่วโมง พบว่าขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ของ VPU (1,553 mg/kg) สูงกว่า VPA (838 mg/kg)

แสดงว่า VPU น่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงและปลอดภัย และอาจจะนำมาพัฒนาเป็นยาใหม่ได้ แต่เนื่องจาก VPU เป็นสารอนุพันธ์ของ VPA ดังนั้นควรจะศึกษาเกี่ยวกับผลของสารนี้ต่อตับด้วยเพราะ VPA มีผลข้างเคียงที่สำคัญคือ ทำให้เกิดพิษต่อตับโดยทำให้เกิด hepatocellular necrosis และ microvesicular steatosis (Zimmerman and Ishak, 1982; Kesterson et al., 1984) ส่วนสาเหตุและกลไกในการเกิดพิษยังไม่ทราบแน่ชัด แต่สาเหตุที่เชื่อว่าน่าจะเป็นไปได้ ได้แก่ การได้รับ VPA ในขนาดสูง หรือได้รับร่วมกับยาอื่น เช่น phenobarbital (Granneman et al., 1984; Kesterson et al., 1984) เป็นต้น และกลไกที่เชื่อว่าน่าจะเป็นไปได้คือ การยับยั้งกระบวนการ β-Oxidation ของ fatty acid

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการเกิดพิษต่อตับของ VPU โดยทำการศึกษาในหนูขาว และเซลล์ตับอิสระ (isolated rat hepatocytes) และศึกษาผลของการให้ VPU ร่วมกับสารอื่นที่เป็นเอนซัยม์อินดิวเซอร์ คือ phenobarbital และ clofibrate และเอนซัยม์อินฮิบิเตอร์ คือ 4-pentenoic acid และ metyrapone ซึ่งอาจจะทำให้ทราบถึงสาเหตุและกลไกการเกิดพิษต่อตับที่น่าจะเป็นไปได้ของ VPU และอาจจะนำสารนี้มาพัฒนาเป็นยาต่อไป จะทำให้ได้ยาใหม่ที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งชนิด