



บทที่ 1

บทนำ

ในบทนี้มีเนื้อหาที่สำคัญแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้ ส่วนที่ 1 เป็นข้อมูลเกี่ยวกับสารพิษที่นำมาศึกษาซึ่งจะกล่าวถึงคุณสมบัติ เมตาบอลิซึม และผลพิษที่เกิดขึ้น จากการได้รับแคดเมียมหรือการได้รับหรือขาดสังกะสี รวมทั้งกล่าวถึงโปรตีน metallothionein ที่มีบทบาทสำคัญต่อการลดพิษของแคดเมียม และสังกะสีที่ให้แก่สัตว์ทดลอง ส่วนที่ 2 จะกล่าวถึงทฤษฎีหรือสมมุติฐานที่เกี่ยวกับการทำงานของไมโทคอนเดรีย ที่จำเป็นสำหรับใช้อ้างอิงและอธิบายผลการวิจัยนี้

โลหะหนักเป็นสารมลพิษที่สำคัญเนื่องจากเป็นสารที่ละลายตัวได้ช้า และสามารถสะสมอยู่ใน น้ำ ตะกอนดิน และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ (1) และยังก่อให้เกิดความผิดปกติของเซลล์โดยมีผลรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมและโครงสร้างของเซลล์ (2) โลหะหนักที่ตรวจพบในแม่น้ำได้แก่ แคดเมียม โครเมียม ทองแดง ตะกั่วปรอท สังกะสี สารหนู เหล็ก แมงกานีส ฟลูออไรด์ (3) จากการสำรวจปริมาณโลหะหนักในน้ำบริเวณปากแม่น้ำรอบอ่าวไทย โดย นันทนา สันตติวุฒิ และคณะ ในปี พ.ศ. 2527 - 2529 โดยตรวจหาความเข้มข้นของแคดเมียม โครเมียม ทองแดง ตะกั่ว ปรอท และสังกะสี พบว่าบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยามีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ (3) ต่อมากองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม คณะกรรมการสิ่งแวดล้อม กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้ทำการศึกษาคุณภาพน้ำในแม่น้ำสายหลัก (แม่น้ำแม่กลอง) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2529 - 2531 รายงานว่าปริมาณแคดเมียมมีค่าตั้งแต่ตรวจไม่พบ ถึง 1.74 ไมโครกรัมต่อปริมาณน้ำ 1 ลิตร (พบปริมาณสูงสุดในเดือนมีนาคม) เกณฑ์มาตรฐาน 5.0 ไมโครกรัมต่อปริมาณน้ำ 1 ลิตร ปริมาณสังกะสีตลอดทั้ง 3 ปี พบว่า มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (1,000 ไมโครกรัมต่อปริมาณน้ำ 1 ลิตร) แต่มีแนวโน้มพบโลหะทั้ง 2 ชนิดสูงขึ้นและจากการสำรวจในกรุงเทพมหานคร ในปี 2531 พบว่า ในแต่ละปีโรงงานชุมชนโลหะขยายโลหะหนักทิ้งจากกระบวนการผลิตปีละประมาณ 12 ตัน (4) นั้นแสดงว่า โลหะหนักที่มีบทบาทสำคัญต่อสรีรวิทยา (physiological) หรืออาจมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (phar-

macological) หรืออาจเป็นสารที่สามารถทำอันตราย (toxicological) ต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต (5) ซึ่งตรวจพบมีแนวโน้มสูงขึ้นจะส่งผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ

แคดเมียม (cadmium)

แคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย แต่กระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ มักอยู่ปนกับแร่สังกะสี รวมกับกำมะถันเป็นแคดเมียมซัลไฟด์ (6) แคดเมียมเป็นโลหะหนักเนื้ออ่อน มีน้ำหนักอะตอม 112.4 มีจุดหลอมเหลวต่ำ ระเหิดกลายเป็นไอได้ง่ายพบร่วมกับสังกะสี ในสัดส่วนแคดเมียมต่อสังกะสี 1:445 (5)

แคดเมียมถูกนำมาใช้ในโลหะผสมอัลลอยด์ (alloys) ทำเป็นขั้วคาโอดของแบตเตอรี่ที่เรียกว่า nickel - cadmium battery ผลิตอัลคาไลน์แบตเตอรี่ (9) กระบวนการถลุงวัสดุ อุปกรณ์ที่เป็นโลหะต่างๆ เช่น เครื่องมือไฟฟ้า อุปกรณ์การผลิตท่อนพลาสติก ท่อพีวีซี ยางรถยนต์ สี น้ำยากันสนิม นอกจากนี้แคดเมียมปนเปื้อนในบรรยากาศได้เนื่องจาก การทำเหมืองหรือหลอมสังกะสี ในคนที่สูบบุหรี่ 1 มวนจะได้รับแคดเมียม 1-2 ไมโครกรัม (8)

เมตาบอลิซึม (metabolism)

แคดเมียมเข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจเอาฝุ่นละอองหรือไอโลหะได้ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ การรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของแคดเมียมนั้น ถูกดูดซึมได้ประมาณ 5-8 เปอร์เซ็นต์ แต่มีบางกรณีร่างกายสามารถดูดซึมแคดเมียมจากทางเดินอาหารได้เพิ่มขึ้น เช่น สภาวะที่มีแคลเซียมในกระแสเลือดต่ำ จะมีการกระตุ้นให้สร้างโปรตีนที่จะคอยจับแคลเซียมเพิ่มขึ้น ดังนั้นถ้าได้รับแคดเมียมในระยะนี้ แคดเมียมจะถูกดูดซึมได้เพิ่มขึ้น กรณีสตรีที่มีระดับ ferritin ต่ำ ร่างกายดูดซึมแคดเมียมได้เพิ่มเป็น 2 เท่า เนื่องจากกลไกโดยยังไม่ทราบแน่ชัด แคดเมียมเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดจะจับกับเซลล์เม็ดเลือดแดงและโปรตีนโมเลกุลใหญ่ ซึ่งอยู่ในพลาสมาหรือจับกับ albumin บางส่วนจับกับโปรตีนโมเลกุลเล็กซึ่งเรียกว่า metallothionein (จะกล่าวรายละเอียดต่อไป) ในชั่วโมงแรกหลังได้รับแคดเมียมโดยทางหลอดเลือดดำหรือทางช่องท้อง (IP) แคดเมียมเข้าสู่กระแสเลือดบาง

ส่วนถูกขจัดออกไป ระดับแคดเมียมในพลาสมาสูงขึ้นมากและลดลงอย่างรวดเร็วขณะเดียวกับที่ระดับแคดเมียมที่เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) สูงขึ้นแทน และจะลดลงอย่างช้า ๆ ใน 24 ชั่วโมงแรกแคดเมียมอยู่ที่เม็ดเลือดแดงหลังจากนั้นจะถูกสะสมที่ไต ซึ่งปริมาณที่สะสมที่ไต จะแตกต่างกันกับอัตราการกรอง (glomerular filtration rate) และการดูดกลับของท่อไต ดัชนีเป็นตัววัดที่มีการสะสมของแคดเมียมประมาณ 50 - 75 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะที่ peripheral lobe ส่วนของไตจะสะสมที่ cortex มากกว่า medullar อาจสะสมที่ตับอ่อนหรือม้าม บางส่วนที่ไขกระดูก และเยื่อหุ้มกระดูก ส่วนใหญ่แคดเมียมถูกขจัดออกทางอุจจาระในระยะแรกขับออกทางปัสสาวะได้น้อยแต่จะมากขึ้นถ้าท่อไตถูกทำลาย บางส่วนขจัดออกทางน้ำดี half-life ขึ้นกับขนาดที่ได้ จำนวนครั้ง ระยะเวลาการสังเกต พบว่าอาจนานเป็นปีหรือหลาย ๆ ปี ในผู้ใหญ่ควรมีแคดเมียมสะสมไม่เกิน 1 ไมโครกรัม/เดซิลิตรทารกควรมีแคดเมียมสะสมไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัวทั้งหมด ในน้ำนมไม่ควรเกิน 1 ไมโครกรัม/น้ำนม 1 กิโลกรัม

ผลพิษ (Toxicity)

แบ่งเป็น 2 ระยะ ระยะเฉียบพลัน (Acute) กรณีได้รับแคดเมียมครั้งเดียวและระยะเรื้อรัง (chronic) กรณีได้รับแคดเมียมต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน

ผลพิษในระยะเฉียบพลันจะแตกต่างกันขึ้นกับระยะเวลาการได้รับ และการกระจายของโลหะในเนื้อเยื่อ (tissue distribution) ซึ่งปัจจัยนี้ขึ้นกับขนาดและวิถีทางการได้รับแคดเมียม ในที่นี้จะแบ่งกล่าวตามอวัยวะที่แคดเมียมไปก่อผลพิษ

ผลพิษต่อตับ

ตับเป็นอวัยวะที่มีการสะสมของแคดเมียมมาก ทั้งกรณีที่ได้รับแคดเมียมฉับพลันหรือได้รับต่อเนื่อง พบว่าแคดเมียมจะจับกับโปรตีน metallothionein ซึ่งระดับของ metallothionein จะต่ำ ถ้าไม่เคยได้รับแคดเมียม การให้แคดเมียมจะกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีนนี้ขึ้นซึ่งเกิดหลังได้รับแคดเมียมไม่นาน กรณีได้รับอย่างฉับพลันเซลล์จะถูกทำลาย (parenchymal cell necrosis) เกิด vacuole ของ kupffer cell คั่งของหลอดเลือด

เลือดเล็ก ๆ ที่ทับ เนื่องจากการเกาะปิดกันของไฟบริน (fibrin) เกล็ดเลือด (platelets) เศษเนื้อเยื่อ (cellular debris) (12) มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไมโทคอนเดรียและ endoplasmic reticulum

แคดเมียมกระจายอยู่ในเซลล์โดยแบ่งได้ดังนี้ ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของแคดเมียมอยู่ที่ supernatant ประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์พบว่าที่ไมโทคอนเดรีย และไมโครโซม มีเพียงเล็กน้อยพบที่นิวเคลียส (10)

ผลพิษต่อไต

ในระยะเฉียบพลันพบว่า แคดเมียมทำลาย glomerulus และทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ glomerular capillary ศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์พบว่า podocytes เปลี่ยนแปลง basement lamina หนาขึ้น สะสมแคดเมียมที่ endothelial ของผนังหลอดเลือด เซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้ endothelial junctions ของ glomerulus vessel เปิดออก (12) กรณีได้รับแคดเมียมอย่างต่อเนื่อง proximal tubule ถูกทำลาย แคดเมียมถูกขับออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น เกิดสภาวะ proteinuria, aminoaciduria, glucosuria และลดการดูดซึมกลับของฟอสเฟต (8) กลไกการเกิดผลพิษต่อไตยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าแคดเมียมรวมกับโปรตีน metallothionein เป็นคอมเพล็กซ์ที่จะเคลื่อนไปที่ไต โดย glomerular filtration และถูกดูดซึมกลับโดยท่อไต ถ้ามีคอมเพล็กซ์นี้มากจะทำลายท่อไต การดูดซึมกลับลดลง ขับออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น เกิดสภาวะ proteinuria จะตรวจพบ α_2 -microglobulin (11) การเกิด glucosuria เชื่อว่ามีการหลั่ง insulin น้อยลงระดับกลูโคสในกระแสเลือดมากขึ้น ขณะเดียวกันกับการดูดซึมกลับของกลูโคสลดลงด้วย (11)

ผลพิษต่อระบบประสาท

ทดลองโดยให้แคดเมียมขนาดเด็วแก่หนูและกระต่ายแรกเกิด พบว่ามีเลือดออกในกระโหลกศีรษะเกิด vacuole ที่เชื่อมุมิว เมื่อทดลองกับหนูที่มีอายุมากขึ้น พบว่ามีผลต่อปลายประสาทรับความรู้สึกเกิด vacuole ที่ผนังหลอดเลือดและมีผลต่อ endothelial

gaps เพิ่ม permeability ต่อโมเลกุลใหญ่ ๆ กรณีได้รับแคะเมียมต่อเนื่องจะลด spontaneous neural firing ที่ cerebral cortex หรือ brain stem ของแมว พบว่า แคะเมียมออกฤทธิ์ยับยั้งที่ adrenergic และ cholinergic synapses (11) เมื่อทดลองฉีดแคะเมียมขนาด 0.5 มิลลิกรัม / น้ำหนัก 1 กิโลกรัม / วัน แก่หนูอายุ 22 วันเป็นเวลา นาน 30 วัน พบว่าระดับ norepinephrine ใน midbrain และ pons ถึง medulla เพิ่มขึ้นและระดับ 5-HT ที่ hypothalamus เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงระดับของ dopamine (11)



ผลพิษต่อรังไข่และมดลูก

ทดลองให้แคะเมียมขนาดเด็วแก่หนูเพศเมียที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์พบว่า รังไข่มีเลือดคั่งและฝ่อหลังจากได้รับแคะเมียม 6 ชั่วโมง ต่อมาไข่ (ovum) หรือ granulosa cell ฝ่อและอาจมีเลือดออกร่วมด้วย ผลต่อมดลูกเซลล์เยื่อผนังถูกทำลายจึงรบกวนการสร้าง rRNA (12)

ผลพิษต่อรก

กรณีแคะเมียมที่ให้ขนาดเด็วแก่หนูเพศเมียที่กำลังตั้งครรภ์ พบว่า รก และทารกในครรภ์ถูกทำลายแต่ไม่มีผลต่อมารดา (12) ถ้าให้แคะเมียมอย่างต่อเนื่องพบว่า น้ำหนักของทารกต่ำกว่าปกติ อาจมีความพิการร่วมด้วย หรืออาจขาดรกไทรเล็กกว่าปกติ เพดานโหว่ เท้า-ปุก ปอดเล็กกว่าปกติ กลไกยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเนื่องจากความผิดปกติของรก หรือผลจากแคะเมียมโดยตรงหรือผลโดยอ้อมหรือหลาย ๆ สาเหตุรวมกัน

ผลพิษต่ออวัยวะ

หลังได้รับแคะเมียมทางหลอดเลือดดำนาน 24-48 ชั่วโมง อวัยวะเน่า เนื่องจากแคะเมียมไปสะสมที่ช่องระหว่างเซลล์ อวัยวะบวม เนื่องจากผนังหลอดเลือดดำถูกทำลาย permeability เพิ่มขึ้น ถ้าให้แคะเมียมอย่างต่อเนื่องพบว่าความสามารถในการให้กำเนิดบุตรลดลงการนำ thymidine เข้าสู่เซลล์สืบพันธุ์เพศชายลดลง (5)

ผลพิษต่อปอด

เมื่อสูดฝุ่นละอองหรือควันพิษของแคดเมียมเข้าไป ทำให้เกิด acute chemical pneumonitis และ pulmonary edema ถ้าได้รับต่อเนื่องเกิดการอุดตันของทางเดินหายใจหรือ emphysema เป็นต้น (8) ซึ่งผลพิษจะมากหรือน้อย ขึ้นกับระยะเวลาการได้รับปริมาณ ควันพิษที่กระจายอยู่

ผลพิษต่อโครงร่างและกระดูก

มักเกิดในกรณีได้รับแคดเมียมเป็นเวลานาน แคดเมียมรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของแคลเซียมทำลายโครงร่างกระดูก ปวดกระดูก กระดูกพรุน (osteoporosis) กระดูกคดงอ (osteomalacia) เนื่องจากแคลเซียมถูกขจัดออกทางปัสสาวะมากขึ้น เกิดนิ้วที่ไตตามมา และกลไกการเกิดยังไม่ทราบแน่ชัด (8)

ผลพิษต่อระบบไหลเวียนโลหิต

มักเกิดในกรณีได้รับแคดเมียมนาน ๆ พบว่า ความดันโลหิตสูง สาเหตุเนื่องจากการคั่งของโซเดียมหรือระดับ renin ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น หรือ cardiac output เพิ่มขึ้นหรือจากการหดตัวของหลอดเลือดโดยตรง (8) จากการทดลองพบว่า แคดเมียมออกฤทธิ์ที่ presynaptic หรือที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดโดยตรงซึ่งมีผลต่อ adrenergic pathway ต่อมา นักวิจัยได้ทำการทดลองในหลอดทดลองถึงผลการยับยั้ง metabolism ของ catecholamines พบว่า Cd^{2+} ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ monoamine oxidase (MAO) และ catechol-o-methyltransferase (COMT) (13) และทดลองในสัตว์ทดลองโดยให้ดื่มน้ำที่มีแคดเมียมความเข้มข้น 5 ppm. อย่างต่อเนื่องพบว่าการทำงานของเอ็นไซม์ COMT เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการคั่งของโซเดียมในร่างกาย Caprino และคณะ ศึกษาผลต่อระดับ prostaglandin ในกระต่าย ทำการทดลองฉีดแคดเมียมความเข้มข้น 0.25 ถึง 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ทางหลอดเลือดดำหรือใต้ผิวหนัง พบว่าระดับ thromboxane B_2 ในซีรัมเพิ่มขึ้นตามขนาดของแคดเมียมที่เพิ่มขึ้น แต่ในวันที่ 4 การสร้าง prostacyclin ถูกยับยั้ง ถ้าเพิ่มแคดเมียมให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม พบว่าระดับ prostacyclin

เพิ่มขึ้น ผู้วิจัยเสนอแนะว่า แคดเมียมสามารถกระตุ้น arachidonic acid pathway โดยออกฤทธิ์เป็น biphasic effect ซึ่งกลไกยังไม่ทราบแน่ชัด (13) และเชื่อกันว่าแคดเมียมเป็นสารก่อมะเร็ง ทดลองโดยฉีดแคดเมียมซัลไฟด์หรือแคดเมียมซัลเฟตเข้าใต้ผิวหนังหรือกล้ามเนื้อสัตว์ทดลอง พบว่าเกิดก้อนเนื้อที่บริเวณที่ฉีดและสามารถแพร่กระจายไปที่ปอด ต่อมาน้ำเหลืองซึ่งปัจจัยร่วมที่กำหนดการก่อมะเร็ง เช่น ฮอร์โมน สถานะภาพ เชื้อชาติ ผิวพรรณของแต่ละบุคคล (8)

ได้มีการศึกษาพบว่า การให้สังกะสี และซีลีเนียม (selenium) สามารถป้องกันและลดพิษจากการได้รับแคดเมียมของสัตว์ทดลอง Merali และ Singhal (1975) รายงานว่าแคดเมียมลดการหลั่งของ insulin ซึ่งแก๊นพิษของแคดเมียมด้วยซีลีเนียมและสังกะสี นักวิจัยเชื่อว่า สังกะสีลดพิษของแคดเมียมโดยการกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน metallothionein ได้มากขึ้น เนื่องจากมี binding site ที่จำเพาะต่อสังกะสีมากกว่าแคดเมียมในการกระตุ้นการสร้างโปรตีนนี้ สังกะสีเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์หรือเมตาบอลิซึมต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าร่างกายได้รับแคดเมียม แคดเมียมสามารถเข้าไปแทนที่สังกะสี ทำให้เมตาบอลิซึมต่างๆ ผิดปกติ เนื้อเยื่อถูกทำลายได้ เพราะฉะนั้นถ้าให้สังกะสีในขนาดสูงๆ พบว่าสังกะสีช่วยลดพิษของแคดเมียมได้ ซีลีเนียมป้องกันและลดพิษของแคดเมียมโดยจะไปจับเป็นคอมเพล็กซ์กับแคดเมียม

การรักษา

ผลพิษที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ ความสามารถของร่างกายในการสร้างโปรตีน metallothionein การได้รับอาหารที่มี สังกะสี โคบอลต์ (cobalt) หรือซีลีเนียม

การก่อกำเนิดของแคดเมียมโดยจะรวมกับ sulfhydryl (-SH group) ของโปรตีนในร่างกาย ซึ่งในปัจจุบันพบว่า การใช้ chelator ไม่ค่อยได้ผล จากผลการทดลองพบว่า chelating agent จะออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลง pharmacokinetic ของแคดเมียมได้นั้นต้องขึ้นกับเวลา หรือจำนวนครั้งที่ให้ chelator การใช้ chelator ที่มี thiol group เช่น BAL (British Anti Lewisite หรือ 2,3 - dimercaptopropanol) และ penici-

Uramine ช่วยเพิ่มการขจัดแคดเมียมออกทางน้ำดี ข้อควรระวังในการใช้ BAL เนื่องจาก BAL จับกับแคดเมียมเกิดเป็นคอมเพล็กซ์ ซึ่งถูกนำไปที่ไต และสลายตัวแยกจากกัน แคดเมียมอิสระจะสะสมที่ epithelium ของไตมากขึ้น ซึ่งทำให้ไตถูกทำลายมากขึ้นเช่นกัน EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid), DPTA (diethylenetriamine - pentaacetic acid และ chelator ที่มีสูตรโครงสร้างคล้าย ๆ สารเหล่านี้ จะเพิ่มการขจัดของแคดเมียมทางปัสสาวะ กรณีที่ได้รับแคดเมียมอย่างต่อเนื่อง โปรตีน metallothionein ช่วยจับแคดเมียมได้ ดังนั้นการใช้ chelator ในกรณีนี้จะลดพิษของแคดเมียมได้เพียงเล็กน้อย (8,9)

สังกะสี (Zinc)

สังกะสีเป็นธาตุในหมู่ IIB ของตารางธาตุ มักอยู่ในรูป sphalerite (Zinc sulphide) อาจอยู่ในรูป smithsonite (Zinc carbonate), willemite (Zinc silicate), Zinc crite (Zinc oxide) เป็นต้น น้ำหนักอะตอม 65.38

Zn^{2+} เป็นไอออนที่ไม่มีสี อยู่ในธรรมชาติจะรวมตัวกับน้ำเป็นสารประกอบ hydrate ซึ่งเป็นสารละลายที่มีคุณสมบัติเป็นกรด ถ้าจับกับ hydroxide จะมีคุณสมบัติเป็นด่าง Zn^{2+} สามารถรวมเป็นคอมเพล็กซ์กับไอออนอื่น ๆ เช่น $Zn(NH_3)_4^{2+}$, $Zn(CN)_4^{2-}$ เป็นต้น (5) สังกะสีถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในกระบวนการฉายหรือเคลือบเหล็ก การหล่อหรือหลอมในโลหะผสมอัลลอยด์ เช่น ทองเหลือง อ่างรถยนต์เพื่อให้ความร้อนและลดการสึกกร่อน ผลิตภัณฑ์ แก้ว สี (ขาว) ยาฆ่าเชื้อรา ($ZnCl_2$) ยาสระผม ส่วนประกอบสำคัญในการเตรียมอินซูลิน และ Zinc bacitracin (5)

สังกะสีเป็นแร่ธาตุที่พบกระจายอยู่ทั่วไป และจำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย เนื่องจากสังกะสีเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ต่าง ๆ เกือบ 200 ชนิด (14) เช่น carbonic anhydrase, carboxy peptidase, alcohol dehydrogenase, glutamic dehydrogenase, lactic dehydrogenase, malic dehydrogenase, alkaline phosphatase, tryptophan desmolase และ metalloenzymes เป็นต้น (5) บทบาทต่อเมตาบอลิซึมของนิวคลีโออิก (nucleic acids) กระบวนการสังเคราะห์

โปรตีน (14) และยังมีบทบาทเป็น co-factor ของเอนไซม์หลายระบบซึ่งเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของพืช สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว และสัตว์ (5) เพราะฉะนั้นถ้าระดับของสังกะสีในร่างกายเปลี่ยนแปลงไป เช่น สภาวะขาดสังกะสี การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ความอยากอาหารและรับประทานอาหารได้ลดลง ผิวหนังเป็นแผล แผลหายช้า นิกการแต่กำเนิด ผมหงอก การสร้างโปรตีน และภูมิคุ้มกันลดลง เป็นต้น (5)

อาหารที่มีสังกะสีมาก เช่น เนื้อ ไข่ ผลิตภัณฑ์จากนม น้ำตาลทรายขาว ส้ม มะนาว กระจกปลา เป็นต้น อาจพบสังกะสีปนอยู่ในน้ำ อากาศ เป็นต้น ความต้องการแต่ละวันประมาณ 12 - 15 มิลลิกรัม / วัน (5,8)

เมตาบอลิซึม

สังกะสีถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ (8) เกิดที่ส่วนปลายของ duodenum (14) สังกะสีเคลื่อนเข้าสู่ intestinal cell โดยอาศัยตัวพา (carrier) ถูกสะสมใน intestinal cell บางส่วนรวมกับ metallothionein พบว่าประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ของสังกะสีในซีรัมจับกับ α - macroglobulin ปริมาณเล็กน้อย จับกับกรโคอะมิโน ส่วนที่เหลือจับอย่างหลวม ๆ กับ albumin การดูดซึมสังกะสีถูกควบคุมโดย homeostasis แสดงในรูปที่ 1(8, 14) ไตสามารถกรองสังกะสีได้วันละ 2 กรัม ถูกขับออกทางไตประมาณ 300-600 ไมโครกรัมและถูกดูดซึมกลับโดยท่อไต การดูดกลับอาจถูกรบกวนโดยยาขับปัสสาวะพวก thiazide สังกะสีกระจายอยู่ในเนื้อเยื่อแต่ละชนิดแตกต่างกัน อวัยวะที่พบมีสังกะสีมากเช่น ต่อมลูกหมาก เนื่องจากสังกะสีเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ phosphatase ไต กล้ามเนื้อลายและกระดูกในช่วงแรกสังกะสีถูกขับออกทางอุจจาระ ต่อมาทางปัสสาวะ น้ำนม ต่อมเหงื่อ และอาจถูกขับออกทางน้ำย่อยของตับอ่อน

สังกะสีกระจายอยู่ในเซลล์โดยสะสมที่ไมโทคอนเดรีย นิวเคลียส และส่วน supernatant

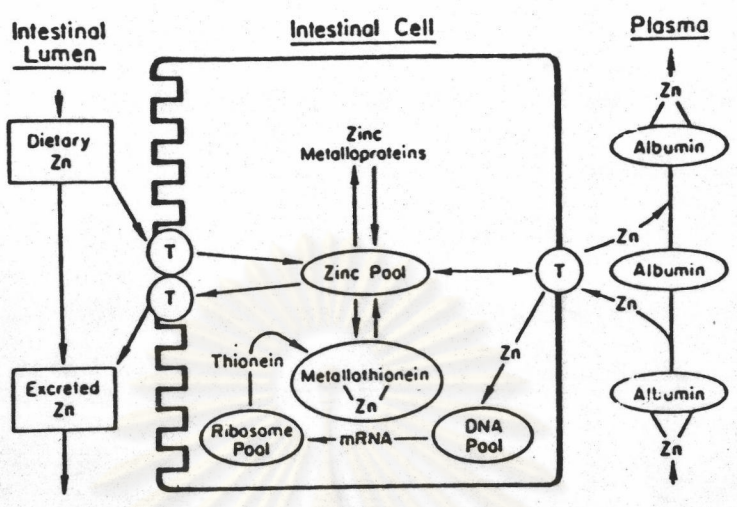
ภาวะการขาดสังกะสี (Zinc deficiency)

เนื่องจากสังกะสีเป็น co-factor ของเอนไซม์ metalloenzymes ประมาณ 70 ชนิด ดังนั้นถ้าร่างกายขาดธาตุสังกะสีก็จะส่งผลกระทบต่อต่าง ๆ มากมาย เช่น การเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ช้ากว่าปกติ ขาดสารอาหารและพลังงาน โรค pellagra (ผิวหนังเป็นจำสีม่วง) ขาดเหล็กและ folic acid ผิวหนังอักเสบ ผมหร่วง แผลหายช้า ภูมิคุ้มกันต่ำ ผิดปกติของจิตประสาท ถ้าเกิดภาวะขาดสังกะสีนาน ๆ เกิดภาวะลำไส้อักเสบ การดูดซึมสารอาหารบกพร่อง โรคไตเรื้อรัง เม็ดเลือดแดงทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง สารพวก chelator ของโลหะ และยาพวก penicillin, isoniazid ถ้าได้รับนาน ๆ ปริมาณสังกะสีในกระแสเลือดจะลดลงเนื่องจากสารเหล่านี้จะแย่งจับกับสังกะสีแล้วรวมเป็นคอมเพล็กซ์ (5) กลไกการเกิดอาการหรือภาวะต่าง ๆ ที่กล่าวแล้วยังไม่ทราบแน่ชัด (8)

ผลพิษ toxicity ผลพิษจากการได้รับสังกะสี พบได้น้อย ถ้าได้รับสังกะสีในปริมาณมากและฉับพลันอาจพบท้องเสีย ภาวะผิดปกติของกระเพาะลำไส้ กรณีได้รับฝุ่นละอองจากโรงงานโดยเฉพาะ zinc oxide หลังสัมผัส 4-8 ชั่วโมง เกิดอาการหนาวสั่น มีไข้ เหงื่อออกและอ่อนเพลีย มักเป็นประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง สาเหตุยังไม่ทราบแต่อาจเกิดจากเซลล์เม็ดเลือดขาว (leucocytes) ถูกทำลาย แล้วหลัง endogenous pyrogen ออกมา ผลต่อปอดมีการรวมของช่องระหว่างเซลล์มี cellular infiltrate ที่ทางเดินหายใจและถุงลม อาจพบเป็นมะเร็งหรือก้อนเนื้อที่อวัยวะพบในสัตว์ทดลองที่ให้สังกะสี (8)

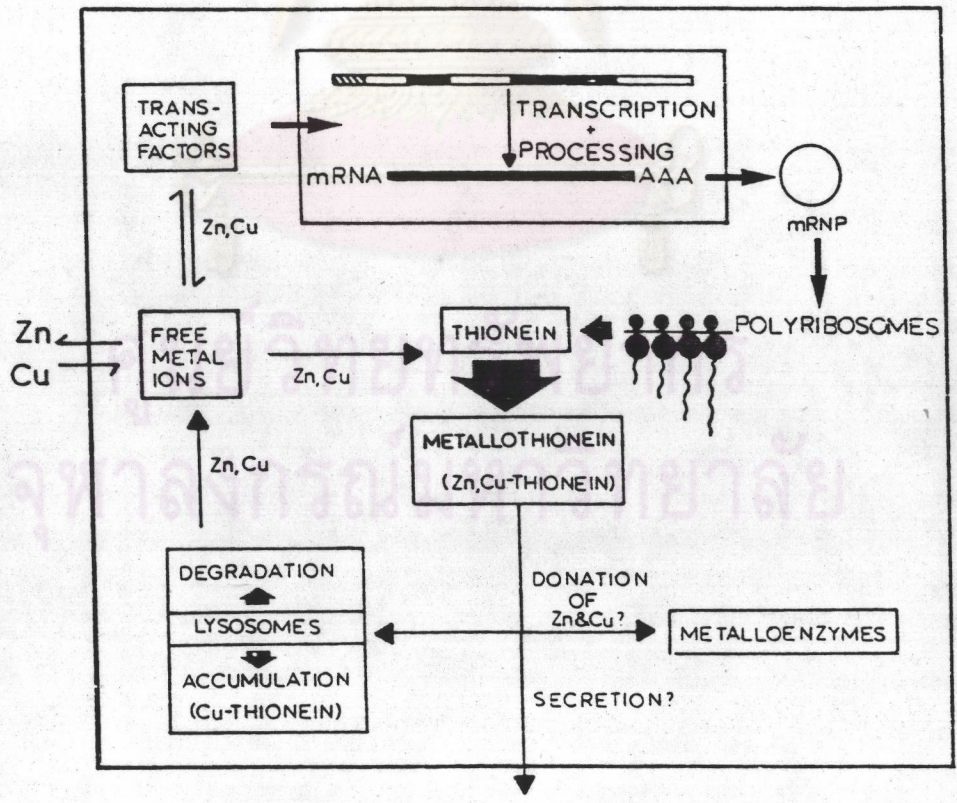
การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีกรณีเกิดภาวะขาดสังกะสี

ในปี ค.ศ. 1940 Keilin และ Mann ค้นพบว่าสังกะสีเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ carbonic anhydrase ต่อมาในปี ค.ศ. 1963 พบว่าสังกะสีเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ต่อ ๆ มาพบว่าสังกะสีจำเป็นสำหรับเอนไซม์ DNA polymerase, RNA polymerase และกระบวนการ reverse transcription การสังเคราะห์ DNA ผิดปกติเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ thymidine kinase ซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์ DNA ถูกจำกัด (5) และพบว่าถ้าขาดสังกะสีการสร้าง metallo-thionein ลดลง เนื่องจากเชื่อว่าสังกะสีมีบทบาทสำคัญในการควบคุม หรือกระตุ้น mRNA ที่



รูปที่ 1 แสดงการดูดซึมธาตุสังกะสีที่ควบคุมโดย homeostasis ของร่างกาย

[Hendricks, K.M., and Allan, W. (1988) Nutri. Review. 46, No 12, 403]



รูปที่ 2 แสดง model การทำงานของโปรตีน metallothionein

[Richards, M.P. (1989) J. Nutr. 1067]

กระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน thionein ระดับของเอนไซม์ carbonic anhydrase ที่เม็ดเลือดแดงต่ำลง การทำงานของ helper T-cell ผิดปกติไป พบว่า granulocytes ที่มีบทบาทเป็น chemotactic และ chemokinetic ทำหน้าที่ผิดปกติไป (5, 15) การสะสมของ platelet ที่เซลล์เมมเบรนซึ่งกระตุ้นโดย Collagen ถูกยับยั้ง ปัจจุบันเชื่อว่าสังกะสีจับกับ thiol group ของโปรตีน หรืออาจจับกับ phosphate group ของ phospholipid หรือจับกับ carboxyl group ของ sialic acid หรือจับโปรตีนบนพลาสมาเมมเบรนจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ fluidity และ stabilization ของเมมเบรน และเชื่อว่าสังกะสีมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เมมเบรนเช่น Ca^{2+} -dependent ATPase และ phospholipase A_2 และยังเชื่อว่าสังกะสีมีบทบาทคล้ายอนุพันธ์ของ Vit E ในการรักษา stabilization ของเมมเบรน และลดการ peroxidation ในเซลล์ เกี่ยวกับการหายของแผล เชื่อว่าสังกะสีเกี่ยวข้องกับการสร้าง collagen ในสภาวะขาดสังกะสีนี้ ปริมาณของฮอร์โมน LH (luteinizing hormone) และ FSH (follicle-stimulating hormone) จากข้อมูลข้างต้นพบว่า โลหะที่เข้าสู่ร่างกายทั้งที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมและที่เป็นพิษ เมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่มากแล้วโลหะเหล่านั้นก็สามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อต่าง ๆ ดังที่กล่าวไปแล้ว ดังนั้นร่างกายจึงพยายามลดพิษของโลหะโดยการกระตุ้นยีนส์ให้สร้างโปรตีนที่เรียกว่า metallothionein (MT) metallothionein เป็นโปรตีนโมเลกุลเล็ก (low molecular weight) ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน cysteine ที่สามารถจับกับไอออนโลหะ ถูกค้นพบและแยกได้จากไตส่วนนอกของม้า ในปี ค.ศ. 1957 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 6700 ดาลตัน (19, 21) ในหนึ่งโมเลกุลประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 61 หรือ 62 ตัว (21) เป็น cysteines 20 ตัว และไอออนของโลหะแคดเมียมหรือสังกะสี อาจเป็นโลหะทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) ปรอท (Hg) พบว่าโปรตีน 1 โมล มีแคดเมียมหรือสังกะสี 7 โมล (21) ตดกลืนแสงที่ความถี่ 215 และ 248 nm

บทบาทของ metallothionein ยังไม่ทราบแน่ชัดแต่เชื่อว่ามีบทบาทดังนี้ 1. ทำหน้าที่คล้ายเป็น buffer ของสารพิษ เนื่องจากโปรตีนถูกสร้างขึ้นเพื่อจับโลหะหรือสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย 2. ในสภาวะปกติหรือระยะมีการเจริญเติบโต metallothionein อาจมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึม (17)

การสังเคราะห์ กลไกการสังเคราะห์ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าต้องอาศัย ยีนส์ metallothionein ที่แบ่งเป็น 2 ส่วน cis - acting DNA เป็นส่วนควบคุมการทำงานและ ส่วน trans - acting DNA เป็นส่วนรับสัญญาณ (binding site) ยีนส์ metallothionein ควบคุมการ differentiation และ proliferation ของโปรตีน thionein (14, 19) โลหะหรือสารที่กระตุ้นยีนส์เช่น Cd, Zn, Cu, Hg, Au, Ag, Co, Ni, Bi, glucocorticoids, interleukin I, interferon, progesterone, estrogen, glucagon, catecholamines, butyrate, retinoate, phorbol esters, endotoxin, carrageenan, dextran, streptozotocin, 2 - propanol, ethanol, ethionine, alkylating agents, chloroform, carbon tetrachloride, starvation, infection, inflammation, physical stress, x- irradiation, high O_2 tension (17, 19) การ transcription ของยีนส์เกิดภายใน 1-2 วันหลังได้รับสิ่งกระตุ้น และมี half life นาน 1-4 วัน ขึ้นกับชนิดของโลหะที่อยู่ในโมเลกุล ในคนพบว่ายีนส์ metallothionein มีหลายชนิดซึ่งจำเพาะต่อสารหรือโลหะที่มากระตุ้น รูปที่ 2 แสดง model การทำงานของโปรตีน metallothionein ที่ทำหน้าที่เป็น buffer ของโลหะหรือสารพิษในเซลล์ ทดลองให้โลหะสังกะสีหรือแคดเมียม โลหะผ่านเข้าเซลล์ด้วยกระบวนการที่ต่างกัน อีออนของโลหะจะเข้าไปอยู่รวมกันเป็นอีออนอิสระซึ่งสามารถจับกับเซลล์ได้ ถ้าในร่างกามีโปรตีน thionein อยู่ อีออนของโลหะจะถูกจับโดยโปรตีน thionein เกิดเป็น complex metal-thionein ในกรณีที่ไม่เคยได้รับสิ่งกระตุ้นให้มีการสร้าง thionein มาก่อน อีออนเหล่านี้จะจับกับโปรตีนชนิดอื่น หรืออาจไปที่ tran - acting factor ซึ่งเป็น binding site ของยีนส์ metallothionein แล้วกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน thionein โปรตีน thionein ที่ถูกสร้างขึ้นนี้จับกับอีออนของโลหะที่มีมากเกินไปซึ่งเป็นกลวิธีในการลดระดับอีออนอิสระ และเป็นการลดอีออนที่จะไปกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน thionein นั้นเอง ซึ่งเป็นลักษณะ autoregulation ของร่างกาย

กรณีอีออนนั้นจำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม ปริมาณอีออนอิสระในเซลล์จะมีระดับหนึ่งซึ่งเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ไลโซโซม (lysosome) จะทำหน้าที่สลาย (degradation) complex นี้แล้วปลดปล่อยหรือเก็บสะสมโลหะไว้ ขึ้นกับชนิดของโลหะเอง บางส่วนของอีออนโลหะที่จับกับ thionein อาจไปแลกเปลี่ยนกับ metalloenzymes หรือ

โปรตีนอื่น ๆ ที่ต้องการไอออนโลหะ บางส่วนถูกขับออกจากเซลล์ที่พลาสมา ปัสสาวะ น้ำดี (14, 16, 17, 20)

โปรตีน metallothionein พบได้ในพืชชั้นสูง, eukaryotes และ prokaryotes บางชนิดในสัตว์พบโปรตีนนี้มากที่เซลล์ไต ตับอ่อน และลำไส้ ปริมาณในแต่ละเซลล์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเผ่าพันธุ์ อายุ ระยะของการเจริญเติบโต การได้รับอาหาร และปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัด ในระดับเซลล์พบโปรตีน metallothionein ใน cytoplasm, lysosome และในระยะที่มีการเจริญเติบโตอาจพบที่นิวเคลียส (21)

การหายใจ และออกซิเดชันฟอสฟอริลเอชันของไมโทคอนเดรีย

(Mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation)

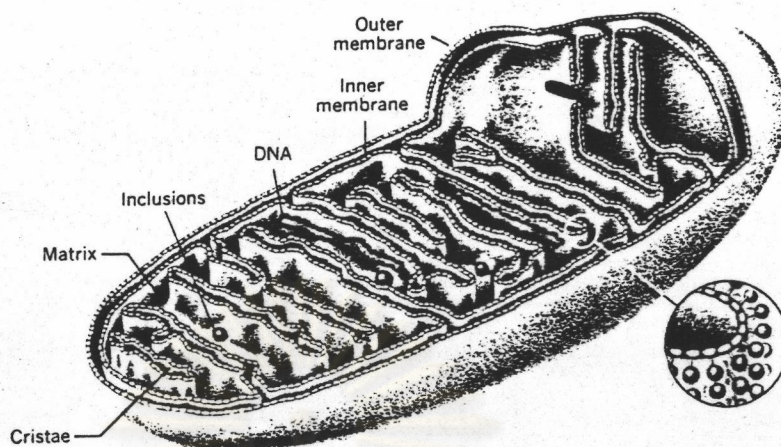
การทำงานและกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ที่ต้องการพลังงาน ซึ่งพลังงานส่วนใหญ่ได้จากการ hydrolysis ของ ATP (adenosine triphosphate) ที่มีพันธะฟอสเฟตซึ่งแยกสลายให้พลังงานสูง (free energy) โดยจะนำพลังงานนี้ไปใช้ในกระบวนการ active transport, muscle contraction และ biosynthesis (22) และแหล่งที่ให้พลังงานนี้ คือ ไมโทคอนเดรีย ถือได้ว่าเป็น power house ของเซลล์ (23)

ไมโทคอนเดรียประกอบด้วยเมมเบรน 2 ชั้น คือ ชั้นนอก (outer membrane) ชั้นใน (inner membrane) เมมเบรนชั้นในจะมีการพับ และยื่นเข้าไปในช่องภายในไมโทคอนเดรียเรียกส่วนนี้ว่า cristae ลักษณะ และจำนวนของ cristae แตกต่างกันไปกับเซลล์แต่ละชนิด ช่องระหว่างเมมเบรนชั้นในและนอกเรียกว่า ช่องระหว่างเมมเบรน (intermembrane space) ส่วนช่องภายในไมโทคอนเดรียติดกับเมมเบรนชั้นในจะมีของเหลวลักษณะคล้ายวุ้น (gel) ซึ่งเรียกว่า matrix รูปร่างและโครงสร้างของไมโทคอนเดรียแสดงในรูปที่ 3 (23-25) เมมเบรนชั้นนอกประกอบด้วยไขมัน 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็น cholesterol ที่เหลือเป็น phosphatidyl inositol และโปรตีน porin เกือบอย่างหลวม ๆ เรียงเป็น channel (22, 24, 26) เมมเบรนชั้นในประกอบด้วย ไขมันประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่เป็น phospholipid นอกนั้นเป็นโปรตีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการขนส่งสาร เนื่อง

จากความแตกต่างกันในสัดส่วนของไขมันต่อโปรตีนของเมมเบรนทั้ง 2 ชั้นนี้จึงเป็นสิ่งบ่งชี้ได้ว่า เมมเบรนชั้นนอกมี permeability มากกว่าชั้นในโดยที่เมมเบรนชั้นนอก permeable ต่อสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล 10,000 ดาลตัน รวมทั้งโปรตีนโมเลกุลเล็ก ๆ (23-24) ส่วนเมมเบรนชั้นใน permeable ต่อสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100 - 150 ดาลตัน เพราะฉะนั้นการขนส่งสารผ่านเมมเบรนชั้นในจึงต้องให้พาหะ (carrier) หรือกระบวนการขนส่ง นอกจากนี้ในโครงสร้างของไมโทคอนเดรียที่กล่าวแล้วนั้นจะประกอบด้วยเอ็นไซม์ โปรตีนและสารประกอบอื่น ๆ แตกต่างกันไป ดังแสดงในรูปที่ 4 (23-27)

เมื่อเรารับประทานสารอาหารพวกไขมัน โปรตีน และโพลีแซคคาไรด์เข้าไปแล้ว ร่างกายจะย่อยสลายได้สารโมเลกุลที่เล็กลง จนในที่สุดได้กรดไขมัน กรดอะมิโนและน้ำตาลตามลำดับ แล้วจึงผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ต่อไป จนเกิดเป็นสารตัวกลาง (intermediate) เช่น acetyl CoA (acetyl coenzyme A) แล้วเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (krebs cycle) หรือ Tricarboxylic acid cycle ในสภาวะที่มีออกซิเจน ผลผลิตที่ได้จากการออกซิไดซ์ acetyl CoA คือ คาร์บอนไดออกไซด์, GTP (guanosine triphosphate), NADH (reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide) และ $FADH_2$ (reduced form of flavin adenine dinucleotide) ซึ่งเป็น reducing equivalent, reducing equivalent เหล่านี้จะถูกส่งต่อเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจ (respiratory chain) ที่อยู่บนเมมเบรนชั้นในของไมโทคอนเดรีย ลูกโซ่การหายใจประกอบด้วยไซโตโครม (cytochromes) และโปรตีนอื่น ๆ ขณะที่อิเล็กตรอนถูกส่งผ่านลูกโซ่การหายใจสู่ออกซิเจนซึ่งตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายนั้นจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction reaction) หลายขั้นตอนนั้นคือ เกิดการออกซิไดซ์หรือรีดิวซ์ของสารตัวกลางที่รับส่งไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนควบคู่กันไปเช่น NADH ถูกออกซิไดซ์เป็น NAD^+ และ FAD ถูกรีดิวซ์เป็น $FADH_2$ เป็นต้น (23, 24, 28) สารตัวกลางที่รับส่งอิเล็กตรอนได้แก่

1. Pyridine - linked dehydrogenases ต้องการ NAD^+ หรือ $NADP^+$ เป็น co - enzymes พบใน cytosol และไมโทคอนเดรีย (23, 27)
2. Flavin - linked dehydrogenases หรือเรียกว่า flavoprotein (FP)
3. Ubiquinones หรือ coenzymes เป็นสารที่ละลายในไขมันได้ดี



รูปที่ 3 แสดงโครงสร้างของไมโทคอนเดรีย

Outer Membrane	Inner Membrane	Intermembrane Space	Matrix
Cytochrome <i>b</i> ₅	δ -aminolevulinic acid synthase	Adenylate kinase	Aconitase
Fatty acid elongation enzymes	Choline dehydrogenase	Cytochrome <i>c</i> peroxidase (yeast)	Amino acid activating enzymes
Glycerolphosphate acyl transferase	Coenzyme QH ₂ -cytochrome <i>c</i> reductase	Nucleoside diphosphokinase	Aspartate aminotransferase
Kinurine hydroxylase	Cytochrome <i>b</i>	Nucleoside monophosphokinase	Carbamyl phosphate synthase
Lysophosphatidyl acyl transferase	Cytochrome <i>c</i> ₁	Sulfite oxidase	Citrate synthase
Monoamine oxidase	Cytochrome oxidase		Enol hydrase
NADH-cytochrome <i>c</i> reductase	Fatty acyl carnitine transferase		Fatty acyl-CoA synthase
Nucleoside diphosphokinase	Ferrochetalase		Fatty acyl-CoA dehydrogenase
Phosphatidate phosphatase	Glycerol 3-phosphate dehydrogenase		Fumarase
Phospholipase A	β -hydroxybutyrate dehydrogenase		Glutamate dehydrogenase
	NADH dehydrogenase		β -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
	Nicotinamide nucleotide transhydrogenase		Isocitrate dehydrogenase
	Oligomycin-sensitive ATPase		β -ketoacyl-CoA thiolase
	Succinate dehydrogenase		α -ketoglutarate dehydrogenase
			Malate dehydrogenase
			Ornithine carbamyl transferase
			Pyruvate carboxylase
			Pyruvate dehydrogenase
			DNA polymerase
			RNA polymerase

รูปที่ 4 แสดงเอ็นไซม์ โปรตีน และสารประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ในไมโทคอนเดรีย

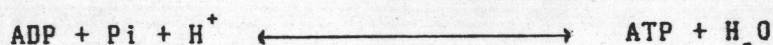
[Avers, C.J. (1986) molecular cell biology.P 335]

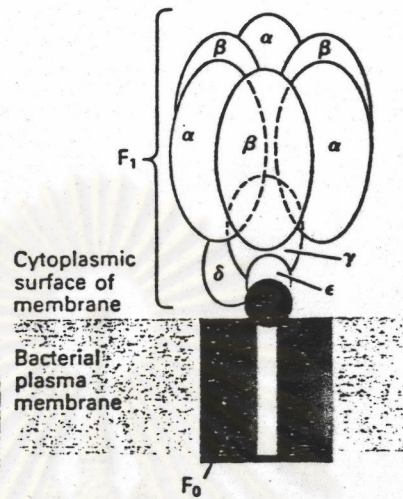
4. Cytochromes เป็นโปรตีนที่มี heme group มีเหล็ก (Fe) และอาจมีทองแดง (Cu) เป็นส่วนประกอบ

5. โปรตีน iron - sulfur ซึ่งเป็นสารตัวกลางรับ-ส่งไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอน ที่มีเหล็ก และ sulfur เป็นส่วนประกอบ (27, 29)

การส่งไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนจาก NADH ไปสู่ออกซิเจนเกิดควบคู่กับการส่งผ่านโปรตอน (H^+) จากเมตริกสู่ช่องระหว่างเมมเบรน ทำให้ความเข้มข้นของโปรตอนภายในไมโทคอนเดรียต่ำกว่าภายนอก (proton concentration gradient) และ/หรือทำให้ภายในไมโทคอนเดรียมีความต่างศักย์เป็นลบเมื่อเทียบกับภายนอก (membrane potential) ซึ่งเกิดจากโปรตอนซึ่งมีประจุบวก (ในสภาวะปกติ H^+ ไม่สามารถเคลื่อนผ่านเมมเบรนชั้นใน) เคลื่อนผ่านเมมเบรน จึงส่งผลให้เกิด proton concentration gradient และ membrane potential ตามมา (22, 29) ซึ่งเรียกการเกิดปรากฏการณ์ทั้ง 2 นี้ว่า electrochemical proton gradient หรือ protonmotive force ถือว่าเป็นพลังงานที่ไมโทคอนเดรียสงวน (conserve) ไว้ และพลังงานนี้จะถูกนำมาใช้ในการสร้าง ATP โดย โปรตอนจะเคลื่อนกลับผ่าน ATPsynthase complex หรือ F_1F_0 - ATPase (23, 25) ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ F_0 เป็นโปรตีนที่ติดบนเมมเบรนชั้นใน ส่วนประกอบ 3 ใน 4 ส่วนเป็น polypeptide และ 1 ส่วนเป็นโปรตีนที่จับกับไขมัน (proteolipid) (22) F_0 เชื่อมต่อกับ F_1 (27) F_0 ถือเป็นช่องทางผ่านของ H^+ (27) ส่วน F_1 หรือ F_1 ATPase เป็นโปรตีนที่มี polypeptide 5 subunit คือ α , β , γ และ ϵ จับกันเป็น knob ติดกับเมตริกเป็นตำแหน่งที่กระตุ้นให้มีการสร้าง ATP ดังรูปที่ 5(22) นั่นคือการนำโปรตอนกลับเข้าสู่เมตริกจะเกิดควบคู่กับการสร้าง ATP และ P_i (24) ซึ่งกระบวนการสร้าง ATP นี้เรียกว่า phosphorylation ดังสมการนี้

ATP synthase (F_1F_0 ATPase)





รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างของ F₁F₀ - ATPase

[Darnell, J., Lodish, H., and Baltimore, D. (1986)

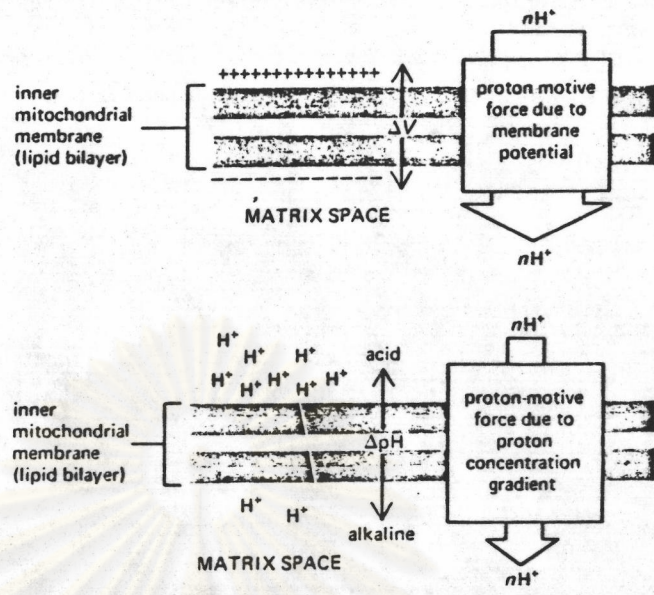
Molecular cell biology.P 876

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนจาก NADH หรือ $FADH_2$ สู่ออกซิเจนตามลูกโซ่การหายใจที่เกิดควบคู่ (tightly coupled) กับกระบวนการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i นี้เรียกว่า oxidative phosphorylation ซึ่งนักวิจัยได้ทราบความสัมพันธ์ของกระบวนการนี้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1930 ปัจจุบันยอมรับแล้วว่า การสร้าง ATP ในไมโทคอนเดรียต้องอาศัยกระบวนการทั้ง 2 นี้ ซึ่งแนวคิดที่อธิบายถึงความสัมพันธ์ของ 2 กระบวนการนี้เป็นที่ยอมรับกันในปัจจุบันเสนอโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษ Peter Mitchell ในปี ค.ศ. 1961 ซึ่งเรียกแนวคิดนี้ว่า chemiosmotic theory ที่สรุปได้ว่า เมื่ออิเล็กตรอนถูกส่งไปตามลูกโซ่การหายใจ ขณะที่อิเล็กตรอนผ่านแต่ละสารตัวกลางที่ทำหน้าที่รับ-ส่งอิเล็กตรอนก็มีการผลักดันเอาโปรตอนผ่านเมมเบรนชั้นในจากเมตริกซ์ช่องระหว่างเมมเบรน ทำให้เกิด proton electrochemical gradient ($\Delta \mu H^+$) หรือ protonmotive force ที่ถือว่าเป็น free energy ที่มาจากการส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ ซึ่งไมโทคอนเดรียสงวนไว้รูปที่ 6, 7 (24) และพลังงานส่วนนี้จะถูกใช้ไปในการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i โดยเอ็นไซม์ ATP synthase นั่นคือโปรตอนเคลื่อนที่กลับเข้ามาในไมโทคอนเดรียผ่านเอ็นไซม์ ATP synthase นี้

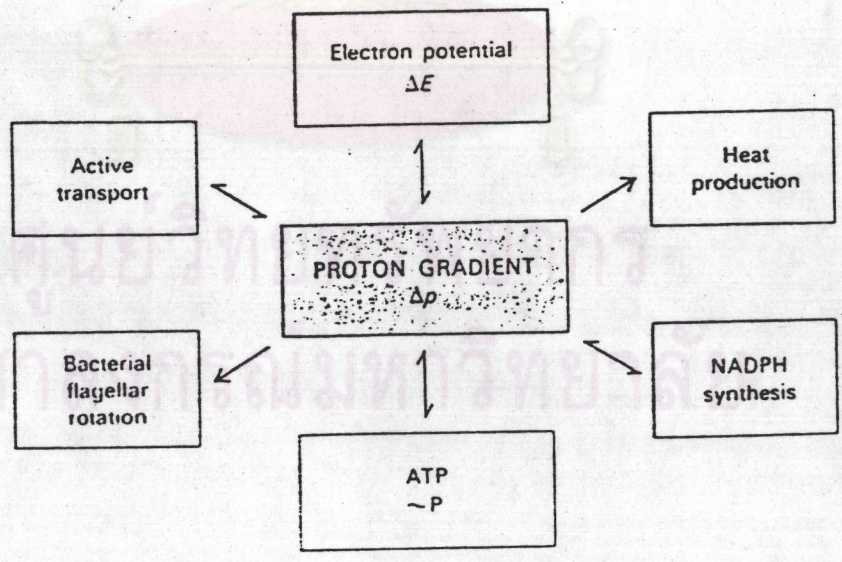
สับเสตราที่ไมโทคอนเดรียสามารถออกซิไดซ์ได้แก่ NAD^+ - linked substrate เช่น glutamate และ malate, β -hydroxybutyrate เมื่อถูกออกซิไดซ์โดยลูกโซ่การหายใจจะมีการสร้าง ATP 3 โมเลกุลต่อ 1 อะตอมของออกซิเจนที่ใช้ไป (30) ส่วน succinate ถูกออกซิไดซ์แล้วสร้าง ATP ได้ 2 โมเลกุล และถ้าใช้ ascorbate และ TMPD แทนจะสร้าง ATP ได้ 1 โมเลกุล ทั้งนี้เนื่องจากอิเล็กตรอนจากสับเสตราทั้ง 3 เข้าสู่ลูกโซ่การหายใจของไมโทคอนเดรียที่ตำแหน่งต่างกัน ดังรูปที่ 8 (27)

การออกซิไดซ์สับเสตราต้องใช้ออกซิเจน นั้นแสดงว่า อัตราการใช้ออกซิเจนจะขึ้นกับอัตราการออกซิไดซ์สับเสตรา และการสร้าง ATP ดังนั้นกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนของ intact ไมโทคอนเดรียจะมีอัตราสูงมากเมื่อมี ADP และ P_i ละลายใน medium ซึ่งถ้าไม่มี ADP อัตราการหายใจจะลดลง สภาวะนี้เรียกว่า state 4 respiration เมื่อเติม ADP อัตราการหายใจจะเพิ่มขึ้นนั่นคือ ADP ถูก phosphorylated ให้ ATP ซึ่งเรียกสภาวะนี้ว่า state 3 หรือ active respiration ส่วนค่าดัชนีการควบคุมการหายใจ (respiratory control index, RCI) หาได้จากสัดส่วนอัตราการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อมี ADP (state 3) หารด้วยอัตราการหายใจเมื่อไม่มี ADP (state 4) ค่านี้จะบ่งชี้



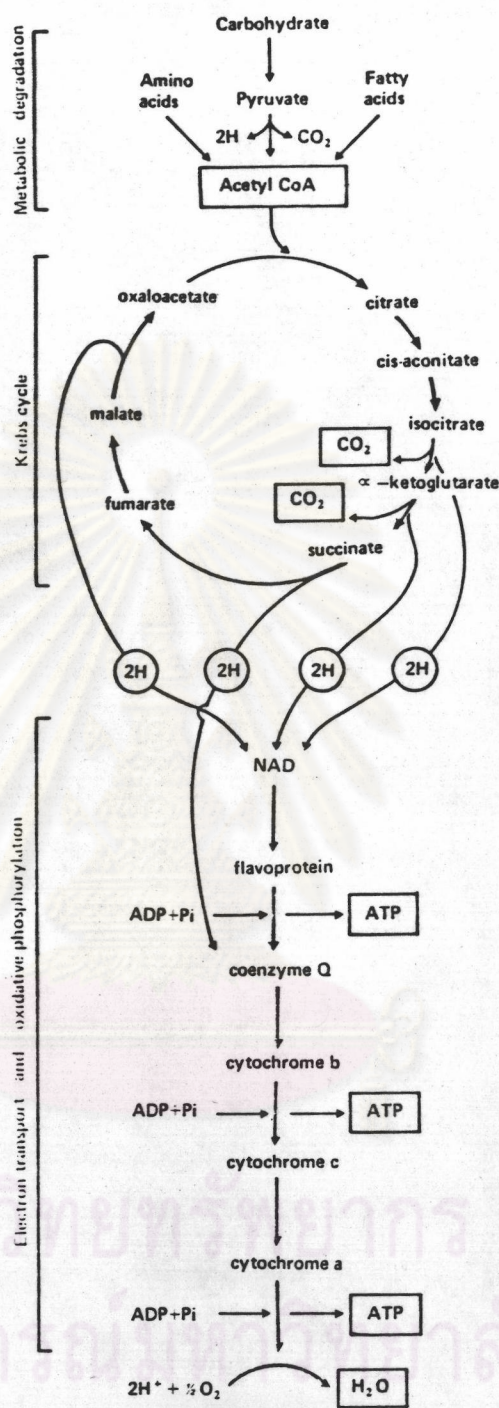
รูปที่ 6 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงในเมมเบรนของไมโทคอนเดรียขณะเกิด protonmotive force

[Alberts, B., Bray, O., and Lewis, J. (1983) Molecular Biology of the cell. P 496]



รูปที่ 7 แสดงการนำ proton gradient ของไมโทคอนเดรียไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ

[Donald, P.S. (1987) Cell and Molecular Biology 3rd]



รูปที่ 8 แสดงตำแหน่งที่สับสเตรทชนิดต่าง ๆ ส่งอิเล็กตรอนเข้าสู่ห่วงโซ่การหายใจ

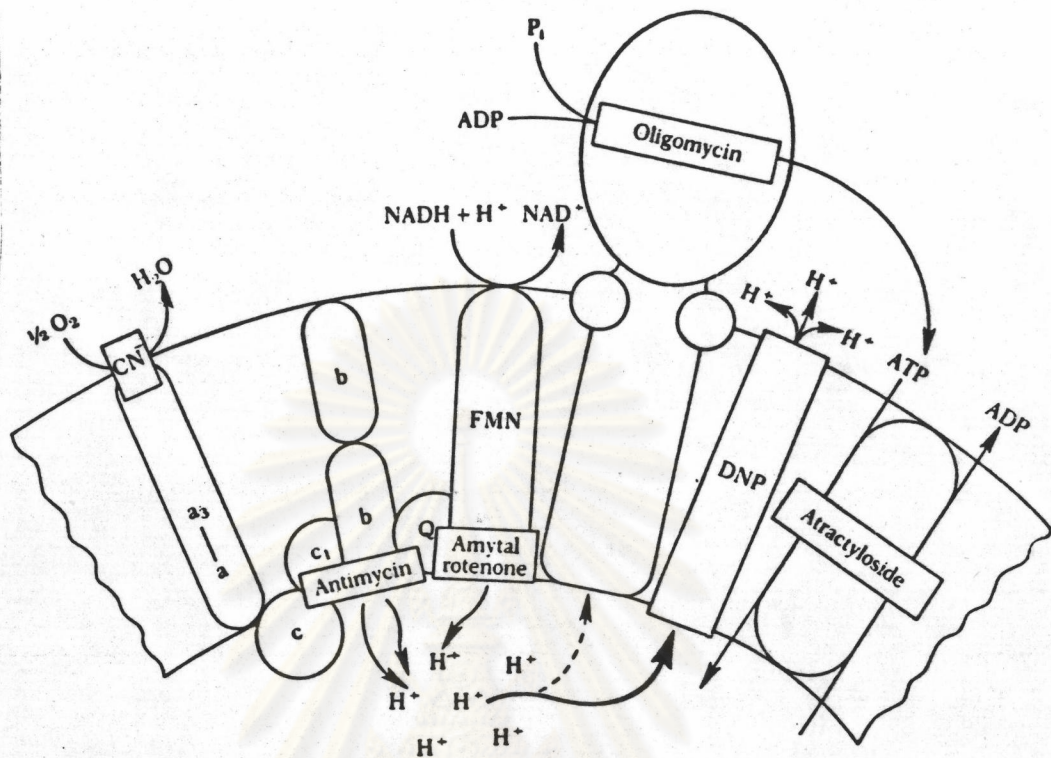
คุณภาพของไมโทคอนเดรีย ว่ามี tightness ของการ coupling ระหว่าง oxidation และ phosphorylation ถ้าไมโทคอนเดรียคุณภาพไม่ดี หรือเก็บไว้นานเกินไป (aging) ค่า RCI จะต่ำ ซึ่งหมายความว่า ความสามารถในการสร้าง ATP ลดลงนั่นเอง

สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรียแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม

ประเภทที่ 1 สารออกฤทธิ์เป็นอันคัปปลิง (uncoupling agent) ซึ่งสามารถแยกกระบวนการฟอสฟอริลเลชัน ออกจากกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งคือการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่ การหายใจกล่าวคือ เมื่อให้สารในกลุ่มนี้ไมโทคอนเดรียสามารถออกซิไดซ์สับสเตรทส่งผ่านอิเล็กตรอนไปตามลูกโซ่การหายใจและมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีการสังเคราะห์ ATP จาก ADP และ Pi (24, 31) ในสภาวะปกติการออกซิไดซ์สับสเตรทการส่งผ่านอิเล็กตรอนตามลูกโซ่การหายใจจะเกิดควบคู่กับการฟอสฟอริลเลชัน เพื่อสังเคราะห์ ATP ตัวอย่างสารเหล่านี้ได้แก่ DNP (2, 4 - dinitrophenol) และ CCCP (carbonylcyanide *m* - chlorophenylhydrazone) เป็นต้น สารทั้งสองนี้มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน ละลายได้ดีในไขมันออกฤทธิ์โดยเป็นตัวพาเอาโปรตอนผ่านเมมเบรนชั้นในของไมโทคอนเดรียได้อย่างอิสระโดยไม่ผ่าน ATPsynthase ทำให้เกิดการ collapse ของ protonmotive force (1, 32)

การเกิด uncoupler ของกระบวนการออกซิเดชันฟอสฟอริลเลชันนี้พบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนมากขึ้น เนื่องจากมีการออกซิไดซ์สับสเตรทเพื่อนพยายามสร้าง protonmotive force ถ้า protonmotive force ไม่มากพอเอ็นไซม์ ATPsynthase จะทำงานในทิศทางย้อนกลับ คือ สลาย ATP (23) เพื่อนำพลังงานจาก ATP hydrolysis มาสร้าง protonmotive force ดังนั้นสาร uncouple จึงสามารถกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียได้

ประเภทที่ 2 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการฟอสฟอริลเลชันหรือการสร้าง ATP เช่น oligomycin เป็นยาฆ่าเชื้อซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันและฟอสฟอริลเลชันใน intact ไมโทคอนเดรีย โดยจับกับ F_0 ของเอ็นไซม์ ATPsynthase (23, 27)



รูปที่ 9 แสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชัน

[Orten, J.M., and Neutrous, O.W. (1982) Human biochemistry. P 143]

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

atractyloside (plant glycoside) และ bongkrekic acid (anti-biotic) ออกฤทธิ์ยับยั้งโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น carrier ที่ใช้ในการขนส่ง ADP จากภายนอกเข้าไปในไมโทคอนเดรีย และแลกเปลี่ยน ATP ออกสู่ข้างนอก (adenine nucleotide translocator) ส่วน DTNB (5, 5 -dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) เป็น aromatic disulfide ไปทำปฏิกิริยากับ -SH group ส่งผลให้มีการยับยั้งการส่งผ่าน Pi ภายนอกเข้าไปในไมโทคอนเดรีย ทำให้ขาด Pi สารดังกล่าวนี้ สามารถยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรียได้เช่นกัน

ประเภทที่ 3 สารที่ยับยั้งกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจโดยยับยั้งที่ตำแหน่งต่าง ๆ ที่จำเพาะแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

3.1 ยับยั้งที่ระหว่าง NADH ถึง ubiquinone เช่น rotenone, amytal และ piericidin เป็นต้น (25, 27, 30)

3.2 ยับยั้งระหว่าง cytochrome b และ c เช่น antimycin A และอนุพันธ์ของ quinone เป็นต้น

3.3 ยับยั้งการส่งผ่านอิเล็กตรอนสู่ออกซิเจนที่ cytochrome oxidase (aa₃) เช่น cyanide, azide และ carbon monoxide เป็นต้น

รูปที่ 9 แสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ของสารทั้งสามประเภทต่อกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย

ในการวิจัยนี้จุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของ cd^{2+} และ zn^{2+} ทดลอง in vitro ต่อหน้าที่การทำงานต่าง ๆ ของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับของหนูขาวโดยเน้นถึงผลที่เกิดจากการให้โลหะหนักทั้งสองชนิดร่วมกัน เปรียบเทียบกับผลที่เกิดจากโลหะหนักแต่ละชนิดเป็นหลักซึ่งข้อมูลที่ได้นอกจากจะมีประโยชน์ในทางนิเวศวิทยาของโลหะหนักแล้วยังทำให้ทราบถึงปฏิกิริยาต่อกัน (interaction) ของ cd^{2+} และ zn^{2+} ที่ส่งผลถึงการทำงานของไมโทคอนเดรียด้วย