หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ผลจากการทดลองในบทที่ 3 พบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดที่นำมาศึกษา ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท เมื่อให้ชนิดเดียวหรือสองชนิดร่วมกันโดยใช้ตะกั่วเป็นโลหะหลักในการให้ร่วมกับแคดเมียม หรือปรอทต่างก็มีผลต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียทั้ง 4 ประการที่ได้ศึกษาในการวิจัยนี้ ในส่วนนี้จะได้อภิปรายและสรุปผลการทดลองโดยแยกออกเป็นหัวข้อตามกระบวนการที่ได้ทำการทดลองดังนี้

1. กระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน

ผลของโลหะหนักต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันนั้นได้มีผู้ทำการศึกษาวิจัยกันค่อนข้างกว้างขวางเนื่องจากโลหะหนักเกือบทุกชนิด สามารถกระจายและถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ และมักทำการศึกษาเฉพาะผลของโลหะหนักชนิดใดชนิดหนึ่งในเวลาเดียวกันเท่านั้น สำหรับตะกั่ว แคดเมียม และปรอท นั้นก็สามารถถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรีย และรบกวนต่อกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรียได้เช่นโลหะหนักอื่น ๆ

ตะกั่วในรูปของ Pb^{2+} จะถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรียในลักษณะคล้ายกับแคลเซียม และพบว่ามันสามารถแข่งขันกับแคลเซียมในการถูกสะสมโดยไมโตคอนเดรียด้วย จากการวิจัยพบว่าตะกั่วเมื่อจับกับเยื่อหุ้มไมโตคอนเครียสามารถเปลี่ยนแปลง membrane permeability สำหรับ anion และ cation บางชนิดเช่น K^+ เป็นต้น (Zaba et al, 1976)

ผลของตะกั่วต่อการหายใจของไมโตคอนเดรีย ที่ทำการศึกษา in vitro นั้นจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของ medium ที่ใช้ในการทดลอง และเป็นผลรวมซึ่งเกิดขึ้นจากผลต่าง ๆ ของตะกั่วต่อไมโตคอนเดรีย ดังต่อไปนี้ (Brierey, 1976)

- Pb^{2+} จะยับยั้งการหายใจที่ระดับ substrate dehydrogenase ได้แก่ succinate dehydrogenase เป็นต้น
- Pb^{2+} จะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอิออน บางชนิดผ่านเยื่อหุ้มของไมโตคอนเดรียในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจำเป็นต้องใช้พลังงาน ทำให้เกิดการกระตุ้นการหายใจเพื่อให้พลังงานแก่กระบวนการนี้ด้วย

- Pb^{2+} โดยตัวมันเองก็สามารถถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรีย ดังได้กล่าวมาแล้วแต่การสะสม Pb^{2+} ก็จะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านพลังงานในไมโตคอนเดรีย

- Pb^{2+} จะยับยั้ง Substrate uptake โดยไมโตคอนเดรียและเหนี่ยวนำ Cl^{-}/OH^{-} exchange ทำให้ membrane potential และ proton gradient ลดลง หรือถูกทำลายไป

ส่วนแคดเมียมในรูปของ Cd^{2+} จะจับกับเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรีย in vitro และ Cd^{2+} ในระดับไมโครโมลาร์ จะกระตุ้น State 4 respiration และก่อให้เกิด uncoupling ของออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน (Jacobs, 1956) แต่ในความเข้มข้นสูงกว่านี้จะยับยั้ง State 3 และ State 3U respiration ได้ และสามารถแก้ไขได้โดย chelating agent คือ EDTA และเชื่อว่าแคดเมียมไปยับยั้ง respiratory chain ที่บริเวณก่อนหน้า cytochromes การศึกษาดังกล่าว ทำในไมโตคอนเดรียที่แยกจากหัวใจของหนูขาว (Diamond and Kench, 1974; Mustafa and Cross, 1971)

ในกรณีของปรอทพบว่า Hg^{2+} จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ โดยการสร้าง mercaptides กับ Sulfhydryl group อิสระของโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ต่าง ๆ หลายชนิดในไมโตคอนเดรีย และเป็น non-competitive inhibitor ต่อเอนไซม์เหล่านั้น อย่างไรก็ตามกลไกดังกล่าวไม่สามารถนำมาอธิบายถึงผลของปรอทที่เกิดขึ้นทั้งหมดได้ทั้งนี้เนื่องจากผลของปรอทใน Chemical form ที่แตกต่างกันจะก่อผลพิษที่แตกต่างกันไปด้วย

Sone et al. (1977) พบว่า Hg^{2+} ที่ระดับความเข้มข้น 10-50 นนม./มก. โปรตีนของไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับมนุษย์และหนูขาว จะยับยั้ง State 3 respiration, ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน และกระตุ้น State 4 respiration และเมื่อทำการศึกษาโดยใช้ Submitochondrial electron transporting particle (ETP) พบว่า Hg^{2+} มีผลยับยั้งการเคลื่อนที่ของอีเลคตรอนระหว่าง NADH กับ coenzyme Q (ubiquinone) โดยไปจับกับ sulfhydryl group ใน complex I ของ respiratory chain และผลดังกล่าวนี้แก้ไขได้โดย DTT และ mercaptoehanol

การทดลอง in vivo ที่เกี่ยวกับผลของปรอทต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียนั้นนับว่าน่าสนใจอย่างยิ่ง ได้มีรายงานการวิจัยพบว่าในสัตว์ทดลองที่ได้รับปรอทในลักษณะเรื้อรัง (chronic exposure) จะมีโครงสร้างภายในเซลเสียไป มีการบวมของไมโตคอนเดรียที่ได้จากไตและตับและเมื่อเพิ่มขนาดของปรอทที่ให้กับสัตว์ทดลอง จะพบว่ามีการลดจำนวนลงของไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลล์ตับของลูกที่เกิดจากแม่ที่ได้รับ 5-10 มคก. ของปรอท /มล. ของน้ำดื่มและลดการสังเคราะห์โปรตีนของไมโตคอนเดรีย, ยับยั้ง State 3 respiration และ ลดการทำงานของ marker enzymes ที่พบในเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นในของไมโตคอนเดรียผลจากการทดลองนี้ชี้แนะว่า ผลพิษที่เกิดจาก Hg^{2+} น่าจะเกิดเนื่องจากผลในการลดการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นเยื่อหุ้มของไมโตคอนเดรีย มากกว่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยตรง (Fowler and Woods, 1977)

จากผลการทดลองในบทที่ 3 ข้อ 1 พบว่า 5 uMPb^{2+} , 1-10 uM Cd^{2+} และ 1-10 uM Hg^{2+} ต่างก็สามารถยับยั้ง state 3 และ State 3U respiration ได้ในระดับต่าง ๆ กัน ซึ่งผลการยับยั้งดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้กล่าวถึงมาแล้ว และเมื่อให้ 5 uMPb^{2+} ร่วมกับ Cd^{2+} หรือ Hg^{2+} จะให้ผลในลักษณะเดียวกันกล่าวคือ จะมีการเสริมฤทธิ์กันในลักษณะ additive effect ไม่ว่าจะใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็นสับสเตรท เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง (รูปที่ 6 และ 9) จะเห็นว่าตะกั่วในระดับ 5 ไมโครโมลาร์จะยับยั้ง state 3U respiration ได้มากกว่า แคดเมียม และปรอทที่ความเข้มข้นเดียวกัน ($Pb^{2+} > Cd^{2+} > Hg^{2+}$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการยับยั้ง state 3 และ state 3u โดยแคดเมียม หรือ ปรอทแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ซึ่งชี้แนะว่าผลต่อ state 3u respiration ที่แตกต่างกับ state 3 ชัดเจนในกรณีที่ใช้ตะกั่ว + แคดเมียมก็ดี หรือ ตะกั่ว + ปรอท ก็ดีเป็นผลที่เกิดขึ้นเนื่องจากตะกั่วเพียงอย่างเดียว

จากผลการทดลองที่มีการยับยั้ง State 3u respiration มากกว่า state 3 respiration อย่างชัดเจนนี้ชี้แนะว่าตะกั่วอาจมีผลรบกวนต่อการออกฤทธิ์เป็นสารอันคัปปลิงของ CCCP ทางใดทางหนึ่ง นอกเหนือจากการยับยั้ง substrate dehydrogenase และ substrate uptake ของไมโตคอนเดรีย (Brierey, 1976)

อย่างไรก็ตามสรุปได้ว่าการได้รับโลหะหนักตะกั่วร่วมกับแคดเมียมและตะกั่วร่วมกับปรอท จะสามารถเสริมฤทธิ์กันในลักษณะ additive effect ต่อการยับยั้ง State 3 และ State 3u respiration ได้

2. กระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซียม

ดังกล่าวแล้วในข้อ 1 ว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดที่นำมาศึกษาถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรียของสิ่งมีชีวิต ซึ่งจากการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับผลโลหะหนักต่อกระบวนการสะสมแคลเซียมโดยไมโตคอนเดรียนั้นพบว่า ตะกั่วที่ระดับ 4 นนม./มก.โปรตีนของไมโตคอนเดรีย จะสามารถยับยั้งการสะสมแคลเซียมของไมโตคอนเดรียได้โดยสมบูรณ์ (Zaba et al.,1976) สำหรับแคดเมียมนั้นพบว่าถูกสะสมได้โดยไมโตคอนเดรียทั้งในลักษณะ passive และ active และจากการศึกษาโดยใช้ Submitochondrial electron transporting particle พบว่ามันไปจับกับ law-affinity binding site สำหรับแคลเซียม ทำให้มีผลรบกวนต่อการขนส่งแคลเซียม (Stoner et al.,1978; Brierley and Jung, 1980; Jacobus and Brierley, 1969) ส่วนปรอทนั้นเราพบว่า มันสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการบวมของไมโตคอนเดรียได้ และกระตุ้นการ uptake ของ K^+ เข้าสู่ไมโตคอนเดรียได้ทำให้ membrane potential สูญเสียไปดังนั้นจึงทำให้การสะสมแคลเซียมโดยไมโตคอนเดรียถูกยับยั้งไปด้วย (Sone et al, 1977)

จากผลการทดลองในบทที่ 3 ข้อ 2 เราพบว่าตะกั่วมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลซียมน้อยกว่าปรอทและแคดเมียมในความเข้มข้นเดียวกันอย่างมาก (5 ไมโครโมลาร์) ผลที่ได้ชี้ว่าตะกั่วควรจะมีผลยับยั้งการขนส่ง และการสะสมแคลเซียมของไมโตคอนเดรียน้อยกว่าแคดเมียมและปรอทมาก ซึ่งผลดังกล่าวนี้ไม่สอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ได้กล่าวถึงมาแล้วทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของตะกั่วต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียนั้นจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของ medium ที่ใช้ในการทดลองด้วย (Brierey, 1976) ผลที่ได้จากการทดลองในรูปที่ 12 และ 14 แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการได้รับตะกั่วเพียงอย่างเดียว กับการได้รับตะกั่วร่วมกับปรอทหรือแคดเมียม ในขณะที่หากเปรียบเทียบระหว่างปรอทหรือแคดเมียมอย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับตะกั่วแล้วพบว่าไม่มีนัยสำคัญ ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการได้รับตะกั่วในความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ร่วมกับปรอทหรือแคดเมียมผลต่อกระบวนการนี้เป็นผลของปรอทหรือเพียงอย่างเดียว การที่โลหะหนักสามารถยับยั้งกระบวนการนี้เป็นสิ่งที่สอดคล้องกับผลการทดลองในข้อ 1 เนื่องจาก

ทั้งปรอท และแคดเมียม ต่างก็สามารถยับยั้ง State 3u respiration ได้ แต่ผลในการยับยั้งโดยปรอท และแคดเมียม นั้นมีค่าสูงมากกว่า (ผลการยับยั้งสูงสุดที่ 10 ไมโครโมลาร์ของแคดเมียมและปรอทมีค่าเท่ากับ 91.87 $\pm$ 3.20% และ 100 $\pm$ 0.00% ตามลำดับ) จึงคาดว่าโลหะหนักทั้งสองน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการรบกวนการทำงานของ calcium uniporter ด้วย

3. การทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส

โดยทั่วไปแล้วโลหะหนักแทบทุกชนิดเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายแล้วแตกตัวอยู่ในรูปของอิออนจะไปจับกับ ligand ชนิดต่าง ๆ และสร้างสารประกอบเชิงซ้อนที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ขึ้น ในการวิจัยนี้ได้ทดสอบผลของตะกั่ว แคดเมียม และปรอท ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มชั้นนอกของไมโตคอนเดรียและเป็น marker enzyme ด้วย

จากการศึกษาในไมโตคอนเดรียที่แยกจากไตของสัตว์ทดลองที่ได้รับปรอท 5 - 10 ไมโครกรัม / มล. ของน้ำดื่ม จะพบว่าการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนั้นลดลงโดยมี relative activity เหลือเพียงร้อยละ 62 เท่านั้น (Fowder and Woods, 1977) สำหรับกรณีของตะกั่ว เมื่อใช้สารในกลุ่มตะกั่วอินทรีย์ ได้แก่ tetraethyl lead มาทำการศึกษาจะพบว่ามันสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โมโนเอมีน ออกซิเดสได้เช่นเดียวกัน ซึ่งในปัจจุบันนี้ทราบแล้วว่าสารที่เป็นตัวก่อพิษในกรณี tetraethyl lead นี้ได้แก่ Pb^{2+} และ triethyl lead (Galzinga et al., 1964; Vardanis et al., 1978)

จากผลการทดลองในบทที่ 3 เราพบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดในขนาดที่ใช้ในการทดลองสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดสได้ สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้กล่าวถึงมาแล้ว และพบว่าตะกั่วมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวได้มากกว่าปรอทและแคดเมียมในความเข้มข้นเดียวกัน จากรูปที่ 16 และ 18 จะเห็นได้ว่าเมื่อไมโตคอนเดรียได้รับตะกั่วร่วมกับแคดเมียม และได้รับตะกั่วร่วมกับปรอทนั้น ให้ผลในลักษณะ antagonize ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์นี้ของตะกั่ว กล่าวคือ ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการได้รับแคดเมียมหรือปรอทอย่างเดียว ผลดังกล่าวนี้ชี้แนะว่า ปรอทและแคดเมียมอาจไปใส่ที่ตะกั่วในการจับกับ binding site ที่เอนไซม์ได้เกือบสมบูรณ์ ผลการทดลองในตารางที่ 4 และ 5 พบว่า DTT ซึ่งเป็นสารที่มี thiol group จะสามารถป้องกันผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดสของปรอทหรือตะกั่วเมื่อให้อย่างเดียว และ

เมื่อให้ร่วมกันได้ ผลการทดลองดังกล่าวนี้ชี้แนะว่า การออกฤทธิ์ของโลหะหนักทั้งสองชนิดนี้จะมีความเกี่ยวข้องกับ sulfhydryl group อิสระของเอนไซม์นี้ และเป็นไปได้ว่าการ antagonize ฤทธิ์ของตะกั่วโดยปรอทน่าจะเกิดเนื่องจากการแย่งจับกับ sulfhydryl group อิสระของเอนไซม์นี้ ส่วนในกรณีของแคดเมียมนั้นถึงแม้ว่าจะไม่เห็นผลในการที่ DTT จะไปป้องกันหรือแก้ไขฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์นี้อย่างมีนัยสำคัญ แต่จากตารางที่ 4 ก็จะเห็นแนวโน้มในการที่ DTT ไปป้องกันและแก้ไขฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์นี้โดยแคดเมียมได้จึงเชื่อว่าการออกฤทธิ์ของแคดเมียมต่อเอนไซม์นี้น่าจะเกี่ยวข้องกับ sulfhydryl group อิสระของเอนไซม์นี้เช่นกัน จึงควรจะทำการทดลองเพิ่มเติมต่อไปอีกในส่วนนี้

4. การทำงานของเอนไซมท์ ATPase

จากผลการทดลองในบทที่ 3 ข้อที่ 1 พบว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดต่างก็มีผลกกระตุ้น State 4 respiration หลังจากที่ไมโตคอนเดรียได้รับ ADP ซึ่งชี้แนะว่าโลหะหนักทั้งสามสามารถกระกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรีย จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ตะกั่ว ปรอท และแคดเมียม มีผลเปลี่ยนแปลง membrane permeability ของไมโตคอนเดรีย ซึ่งสามารถส่งผลให้ membrane potential ของเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียเสียไป ทำให้มีการกระตุ้น ATPase activity ของ F_1 - Fo complex บริเวณเยื่อหุ้มชั้นในของไมโตคอนเดรีย (Jacobs et al., 1956; Selwyn, 1972; Sone et al., 1977)

จากผลการทดลองในบทที่ 3 ตารางที่ 6 และ 7 แสดงผลของปรอทและแคดเมียมเมื่อได้รับอย่างเดียว และได้รับร่วมกับตะกั่วในระดับ 5 ไมโครโมลาร์ ที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ที่ถูกกระตุ้นด้วย CCCP และไม่ถูกกระตุ้นด้วย CCCP ตามลำดับ จากผลการทดลองในตารางที่ 6 จะเห็นว่า โลหะหนักที่นำมาศึกษาไม่ว่าจะให้เพียงอย่างเดียวหรือให้ตะกั่วร่วมกับปรอท หรือแคดเมียม ต่างก็ไม่มีผลยับยั้งเอนไซม์ ATPase ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย CCCP ข้อมูลดังกล่าวชี้แนะว่าโลหะหนักทั้งสามไม่ควรมีผลรบกวนการทำงานของ adeninenucleotide translocater หรือยับยั้งปฏิกริยา phosphorylation เช่นเดียวกับ atractylate หรือ oligomycin อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้นี้ขัดแย้งกับผลของปรอทที่ได้มีการวิจัยไว้ว่ามันจะไปยับยั้ง nucleotide transport และ ADP/ Pi exchange reaction ในไมโตคอนเดรีย (Vignais et al., 1972)

สำหรับผลในการกระตุ้นเอนไซม์ ATPase เมื่อไม่มีการกระตุ้นด้วย CCCP นั้นจะให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในส่วนของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน ในข้อที่ 1 กล่าวคือ โลหะหนัก ตะกั่ว ปรอท และแคดเมียม ที่นำมาศึกษาต่างก็มีผลกระตุ้นเอนไซม์ ATPase โดยตัวของมันเองและเมื่อให้ร่วมกันจะเสริมฤทธิ์กันในการกระตุ้นเอนไซม์ดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญไม่ว่าเมื่อเทียบระหว่างการให้ตะกั่วเพียงอย่างเดียว กับการให้โลหะหนักสองชนิดร่วมกัน หรือเทียบระหว่าง ปรอท หรือ แคดเมียม อย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับตะกั่ว

จากการอภิปรายและสรุปผลการทดลองที่กล่าวมาแล้วทั้งหมดนี้ จะเห็นว่าโลหะหนักทั้งสามชนิดที่นำมาศึกษา อันได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท เมื่อให้ร่วมกันแบบ in vitro กับไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาวจะมีผลต่อการทำงานของไมโตคอนเดรีย มากกว่าการให้โลหะหนักชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งปฏิกริยาออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน ซึ่งเป็นปฏิกริยาพื้นฐานที่สำคัญที่สุดของไมโตคอนเดรียจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของคนและสัตว์ ผลที่เพิ่มขึ้นเป็นไปในทาง additive effect ยกเว้นกรณีของเอนไซม์ โมโนเอมีน ออกซิเดส ซึ่งแคดเมียมและปรอท ไปลดฤทธิ์ของตะกั่วที่มีต่อเอนไซม์นี้ ข้อมูลดังกล่าวทั้งหมดนี้ควรจะชี้เป็นแนวทางได้การได้รับโลหะหนักมากกว่า 1 ชนิด ในเวลาเดียวกัน อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อการทำงานของร่างกายมากกว่าการได้รับโลหะหนักเพียงชนิดเดียว อย่างไรก็ตามการที่จะเชื่อมโยงผลของโลหะหนักต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียกับพยาธิสภาพที่เกิดในคนและสัตว์ที่ได้รับโลหะหนักต่าง ๆ นั้น ทำได้ยาก เนื่องจากโลหะหนักจะก่อพิษต่ออวัยวะหลายอวัยวะ และมีปฏิกริยาเชิงชีวเคมีระดับเซลล์ที่จำเพาะเจาะจงในเนื้อเยื่อหรือเซลล์แต่ละชนิด นอกจากนี้การก่อพิษยังเกี่ยวข้องกับ Chemical form ของโลหะเหล่านี้อีกด้วย ซึ่งโลหะหนักใน chemical form ที่ต่าง ๆ กันจะมีรูปแบบในการดูดซึม การกระจาย การคงอยู่ภายในร่างกาย และการขับถ่ายต่าง ๆ กันออกไป อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับการจับกับ ligand ต่าง ๆ ภายในร่างกายที่ต่างกันอีกด้วย ได้แก่ การสร้าง protein complex เช่นกรณีของ metallothionein กับ แคดเมียม เป็นต้น นอกจากนี้โลหะหนักเหล่านี้อาจมีผลเสียต่อการทำงานของ enzyme systems และ cellular organelles อื่น ๆ นอกเหนือจากผลต่อไมโตคอนเดรีย เนื่องจากการวิจัยนี้มีข้อจำกัดกล่าวคือเป็นการวิจัยแบบ in vitro และไมโตคอนเดรียได้รับโลหะหนักในลักษณะเฉียบพลัน ผลการทดลองจึงควรเป็นเพียงการชี้แนะถึงผลของการที่ไมโตคอนเดรียได้รับโลหะหนักมากกว่าหนึ่งชนิดในเวลาเดียวกัน ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นประโยชน์ในทางพิษวิทยาในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของไมโตคอนเดรียและเป็นแนวทางในการทำงานวิจัยในไมโตคอนเดรียที่แยกจาก susceptible organ อื่น ๆ และการวิจัย in vivo ต่อไปซึ่งจะให้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น