ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. ผลของโลหะหนักที่ให้ร่วมกันต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น

การวิจัยเพื่อดูผลของโลหะหนักต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่น ทำโดยดูผลของโลหะหนักที่นำมาวิจัยต่ออัตราการใช้ออกซิเจนของstate 3 respiration (ADP+Pi) และ state 3u respiration (DNP)เมื่อใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิซึ่งเหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังศึกษาถึงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเพื่อเป็นการเปรียบเทียบด้วย

1.1 ผลของปรอทอย่างเดียว และปรอทร่วมกับแคดเมี่ยม

ผลของการวิจัยเมื่อให้ปรอทอย่างเดียวในความเข้มข้น 1,2,5,10 μM และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมในความเข้มข้น 1 μM ต่อ state 3 respiration เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4) พบว่าปรอทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิจัยสามารถยับยั้ง state 3 respiration และเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของปรอทเพิ่มขึ้น เมื่อให้แคดเมี่ยมความเข้มข้น 1μM ร่วมกับปรอทในความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งเพิ่มขึ้น เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P<0.05$) ในทุก ๆ ความเข้มข้นของปรอท(แสดงด้วยเครื่องหมาย●) และเมื่อวิเคราะห์ถึงผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับการให้ร่วมกับปรอทพบว่าเปอร์เซนต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นเช่นกันและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อความเข้มข้นของปรอทเท่ากับ หรือ มากกว่า 2 μM (แสดงด้วยเครื่องหมาย ✲) ส่วนผลการวิจัยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อดูผลของการยับยั้งเมื่อได้รับปรอทอย่างเดียวกับเมื่อได้รับร่วมกับแคดเมี่ยมให้ผลทำนองเดียวกับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส คือเมื่อได้รับแคดเมี่ยมร่วมด้วย จะทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ที่ทุก ๆ ความเข้มข้นของปรอท (แสดงด้วยเครื่องหมาย ●) และเมื่อดูผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับปรอทจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะเพิ่มขึ้น แต่จะมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)เมื่อความเข้มข้นของปรอทมากกว่าหรือเท่ากับ 5 μM(แสดงด้วยรูป ✲)

รูปที่ 4

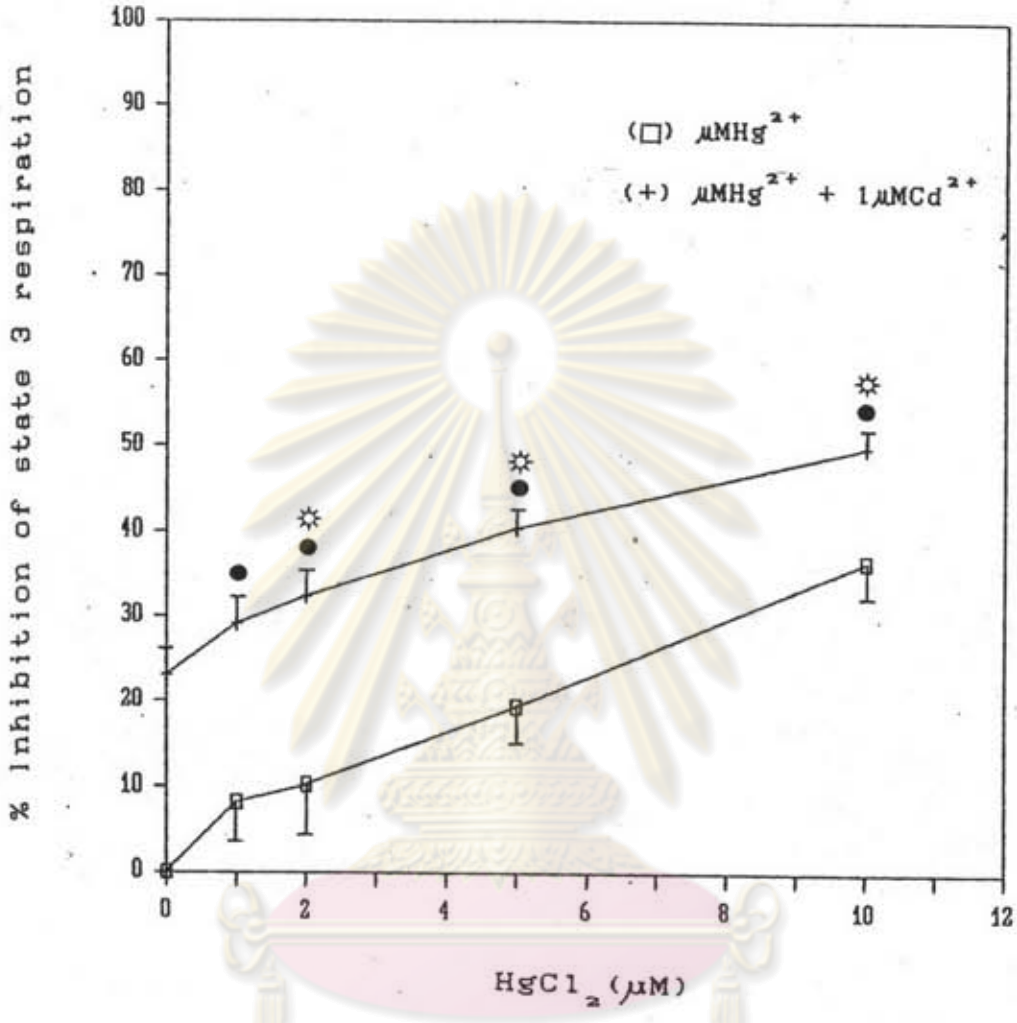
ผลของปรอทและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.09 mM sucrose , 0.63mM ADP , 1.25 mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ 1.92 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

✡ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5

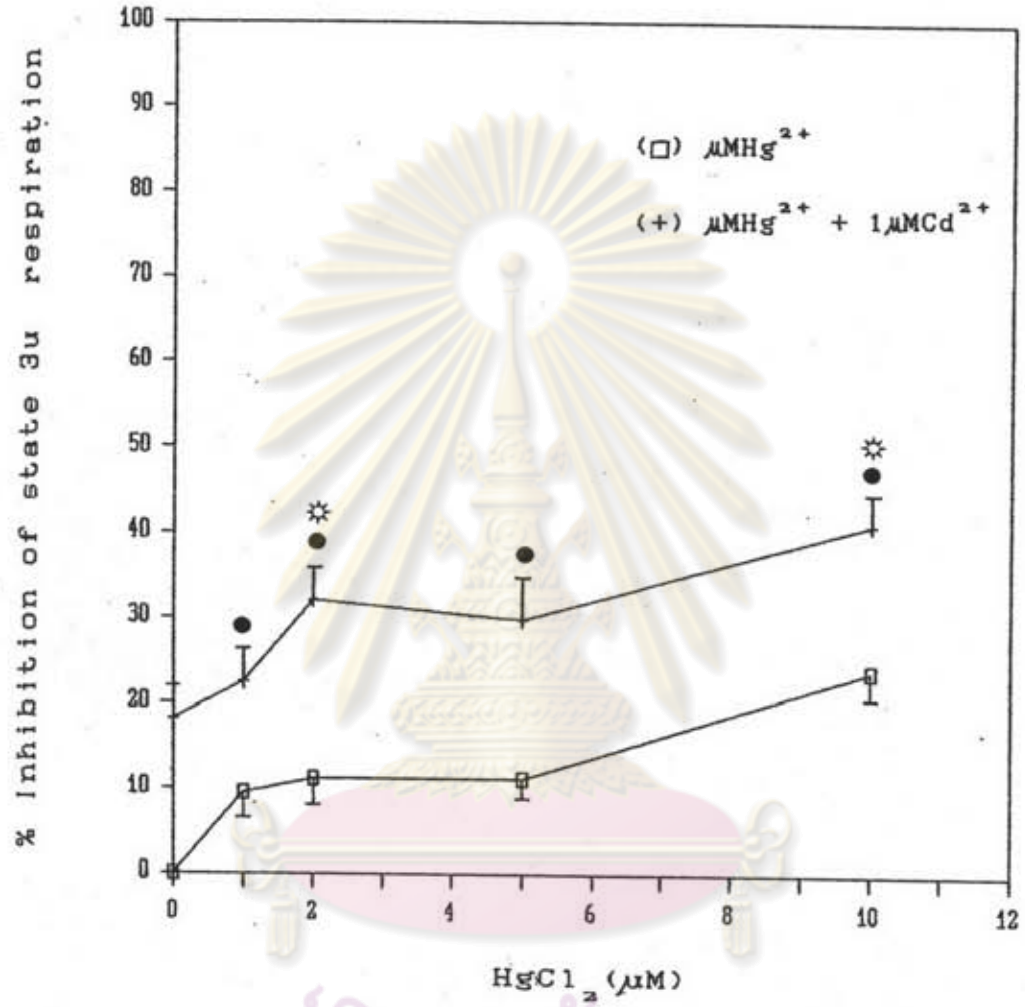
ผลของปรอทและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3u respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา: เช่นเดียวกับรูปที่ 4

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท+แคดเมี่ยม

☼$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

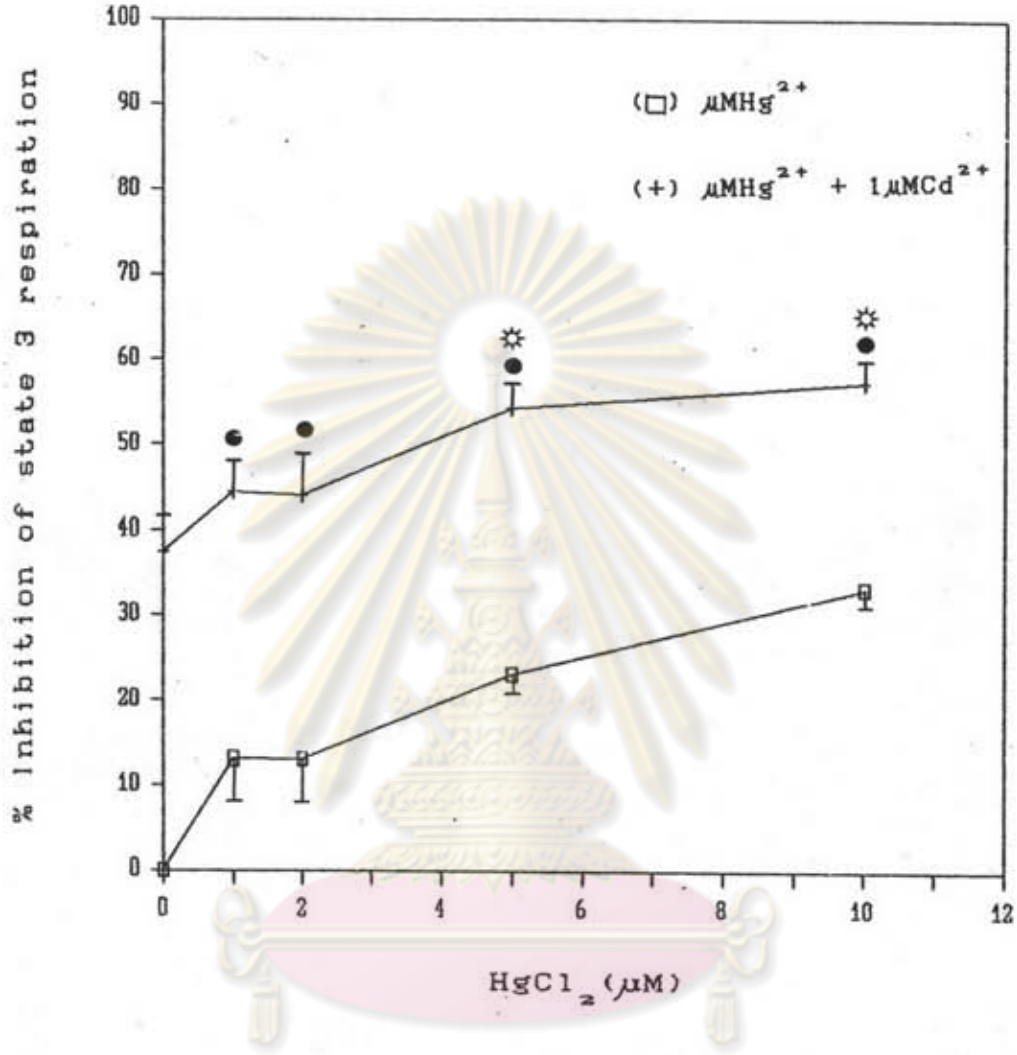
รูปที่ 6

ผลของปรอทและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3 respirationของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium succinate , 13.09 mM sucrose , 0.63mM ADP , 1.25mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ1.92 มล.อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

- ● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท + แคดเมี่ยม
- ✲ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7

ผลของปรอทและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3u respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาวเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

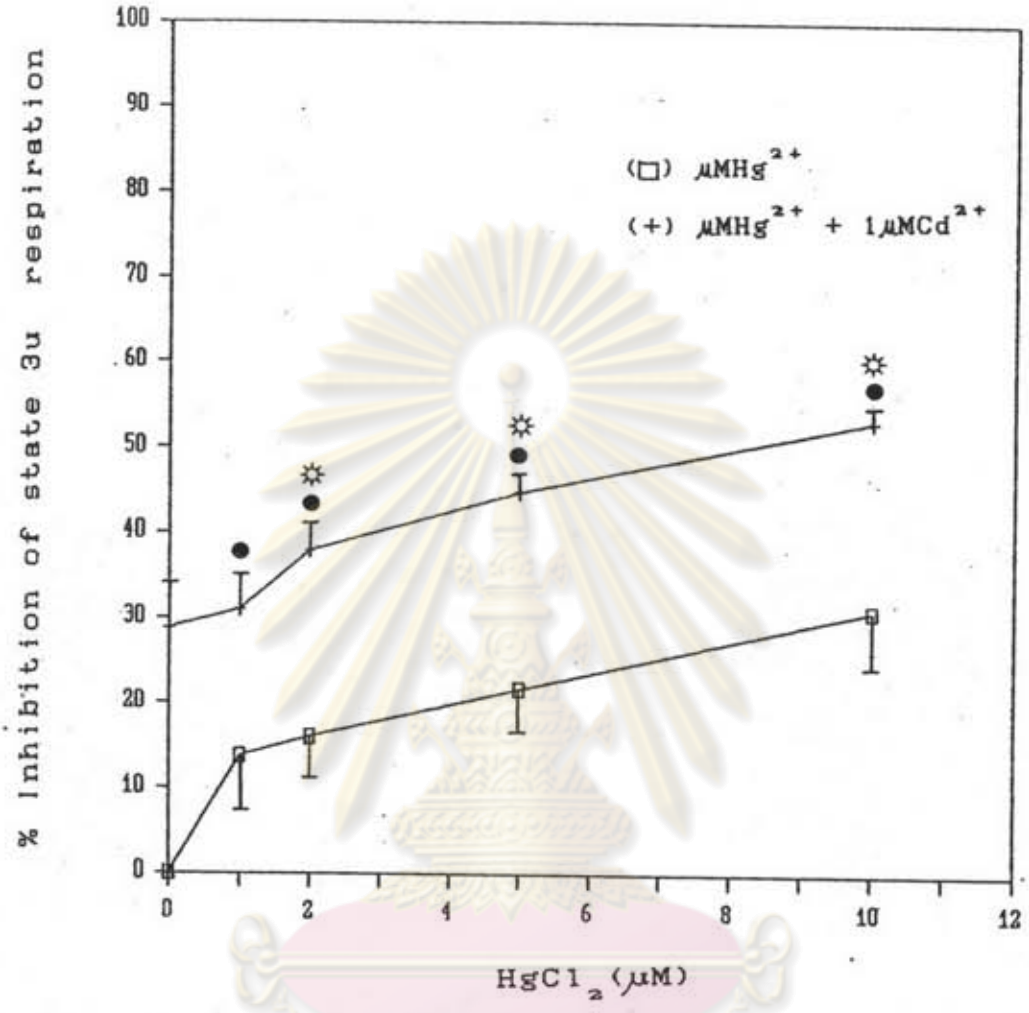
ส่วนประกอบของปฏิกิริยา: เช่นเดียวกับรูปที่ 6

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

☼ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17812012



รูปที่ 7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 8

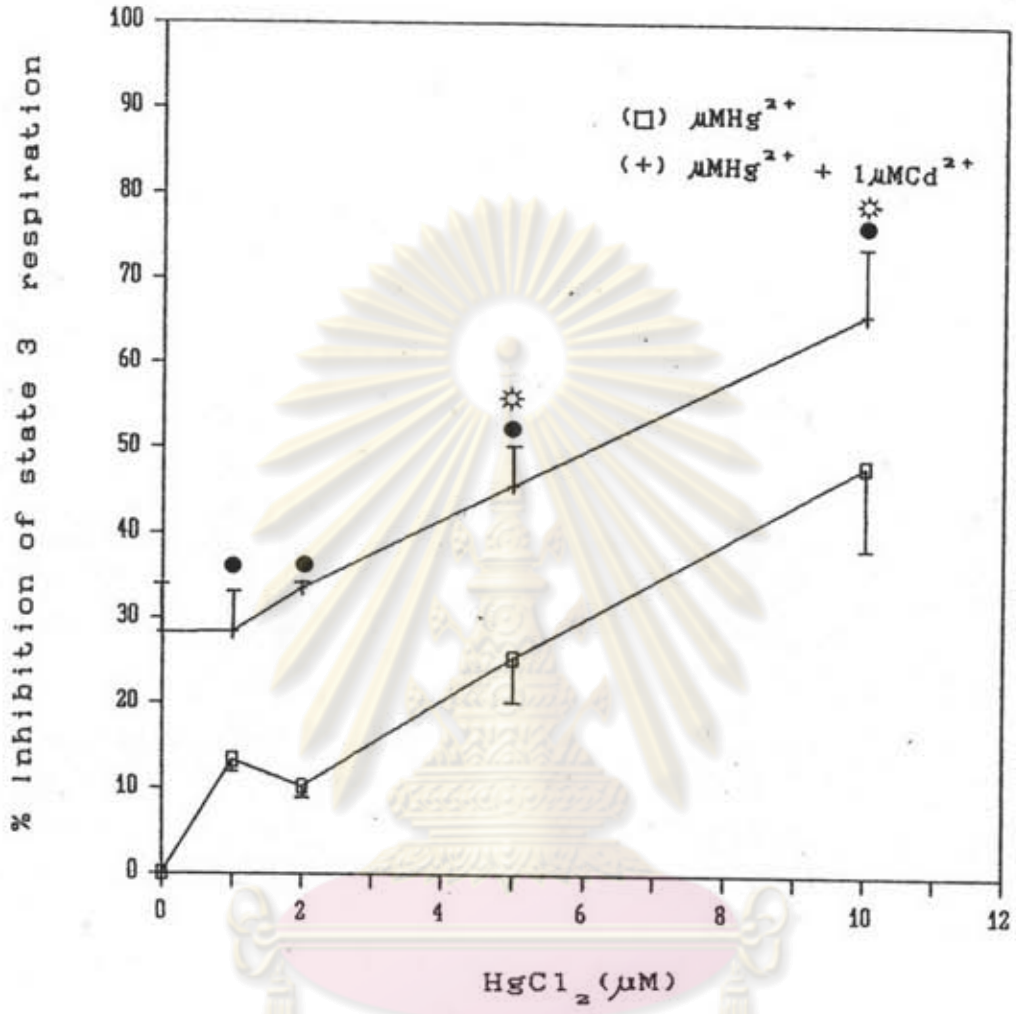
ผลของปรอทและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.09 mM sucrose , 0.63 mM ADP , 1.25 mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ 1.92 มล. อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

✡ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 8

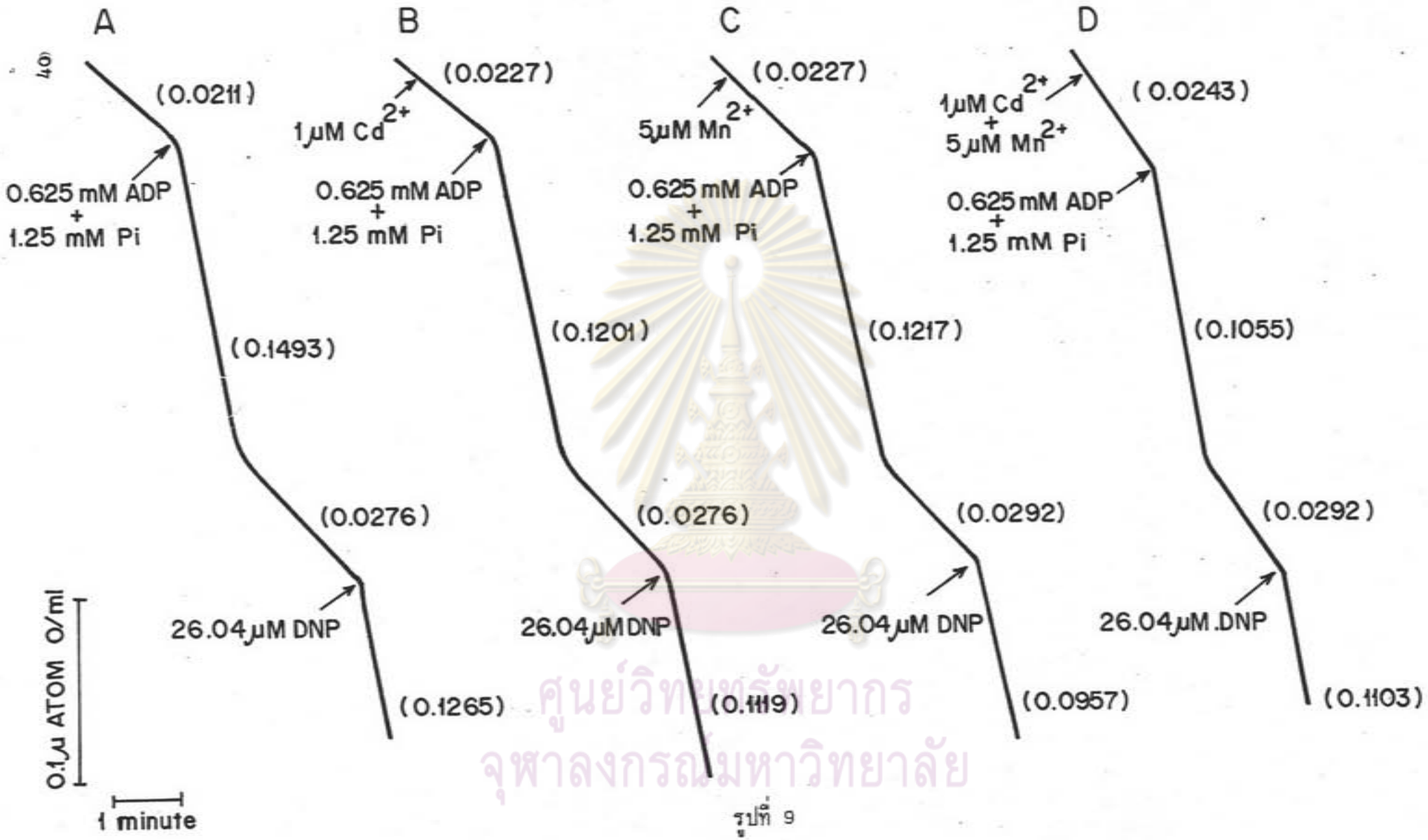
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 9

ตัวอย่าง Tracings แสดงผลของการให้แคดเมี่ยมและแมงกานีสอย่างเดียว และผลของการให้แคดเมี่ยมร่วมกับแมงกานีส ต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชั่น ของไมโตคอนเดรีย โดยใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 36.0 mM HEPES buffer pH 7.2 , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl, 5.21 mM potassium glutamate + 5.21mM potassium malate , 13.09 mM sucrose และไมโตคอนเดรีย 1.88 มก.-โปรตีน/มล. สารประกอบอื่นที่เติมลงไปดังแสดงในรูปคือ ADP + Pi, DNP, แคดเมี่ยม , แมงกานีส , แคดเมี่ยม + แมงกานีส ปริมาตรทั้งหมด 1.92 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตัวเลขในวงเล็บคือ อัตราการใช้ออกซิเจน มีหน่วยเป็น มคอ.ของออกซิเจน/มล./นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 10

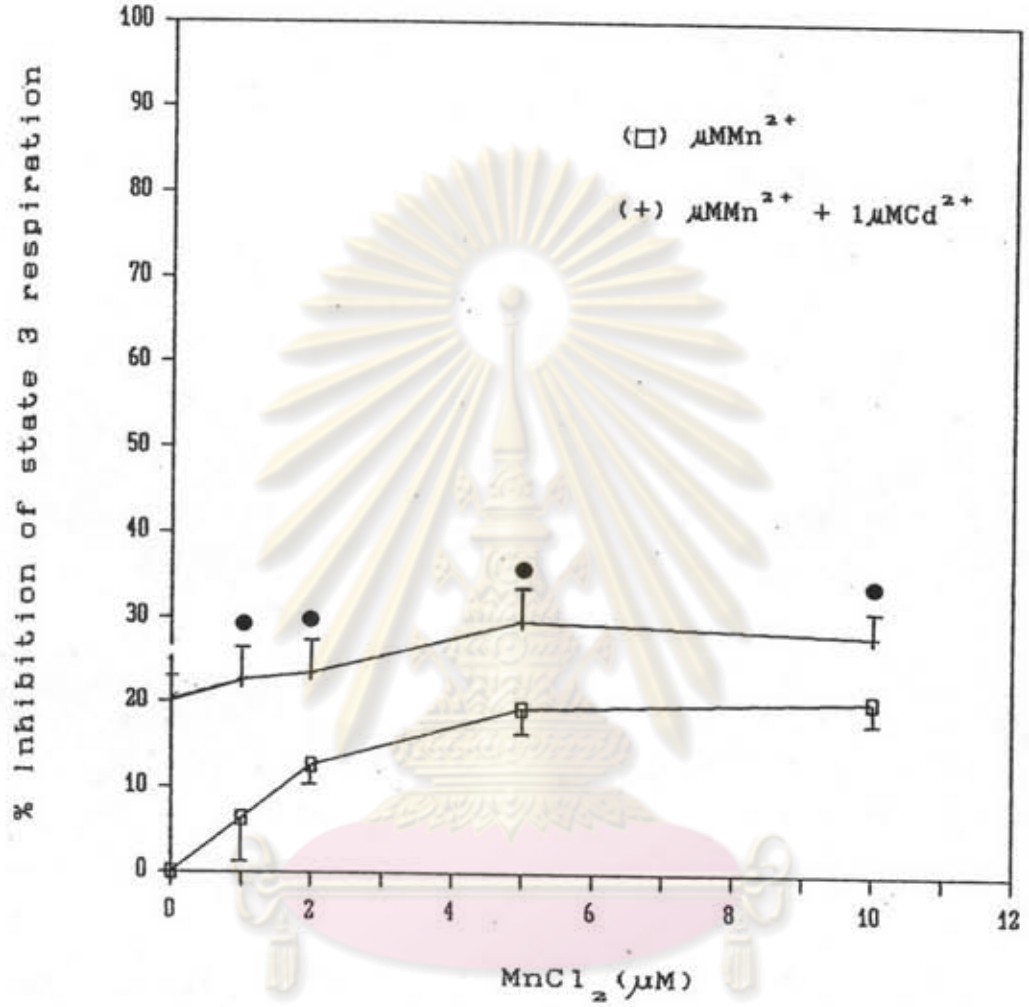
ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.09 mM sucrose , 0.63 mM ADP , 1.25 mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixturer เท่ากับ 1.92 มล. ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

✲$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 11

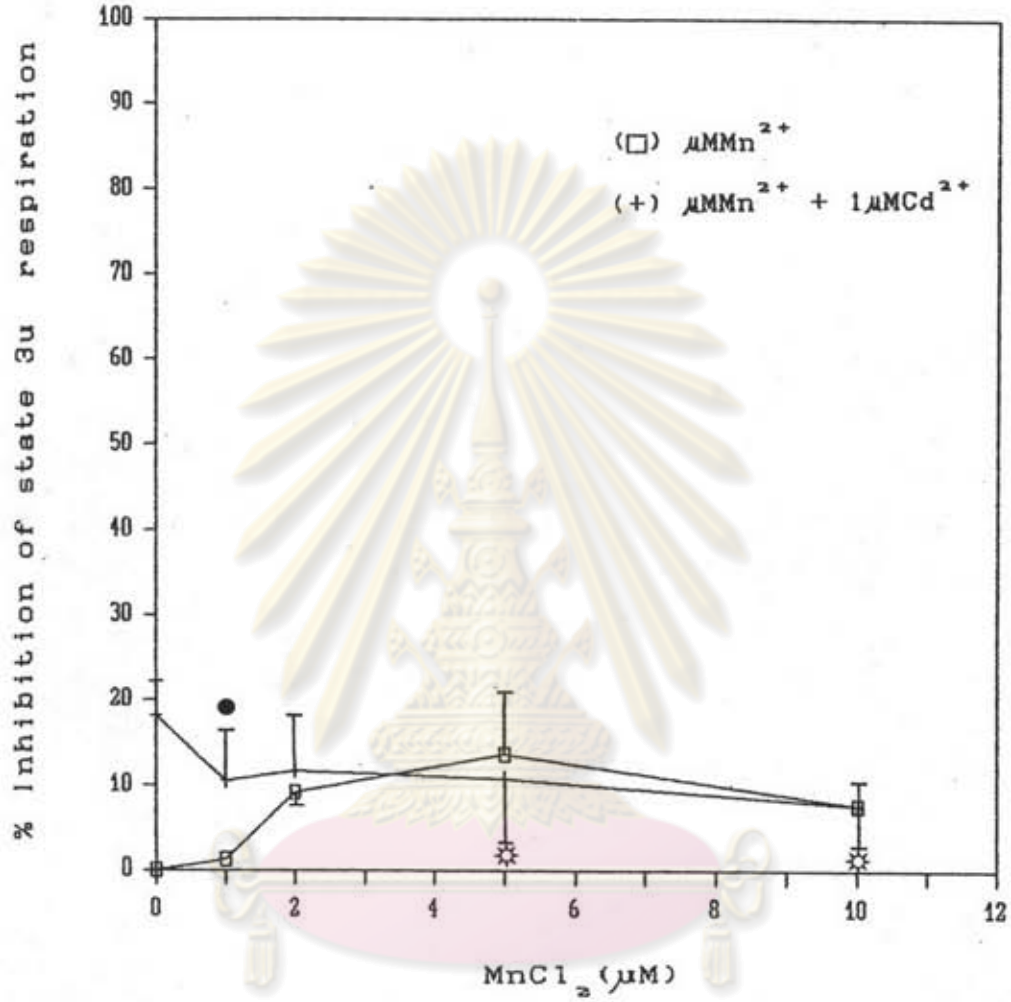
ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3u respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : เช่นเดียวกับรูปที่ 10

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

☼$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 12

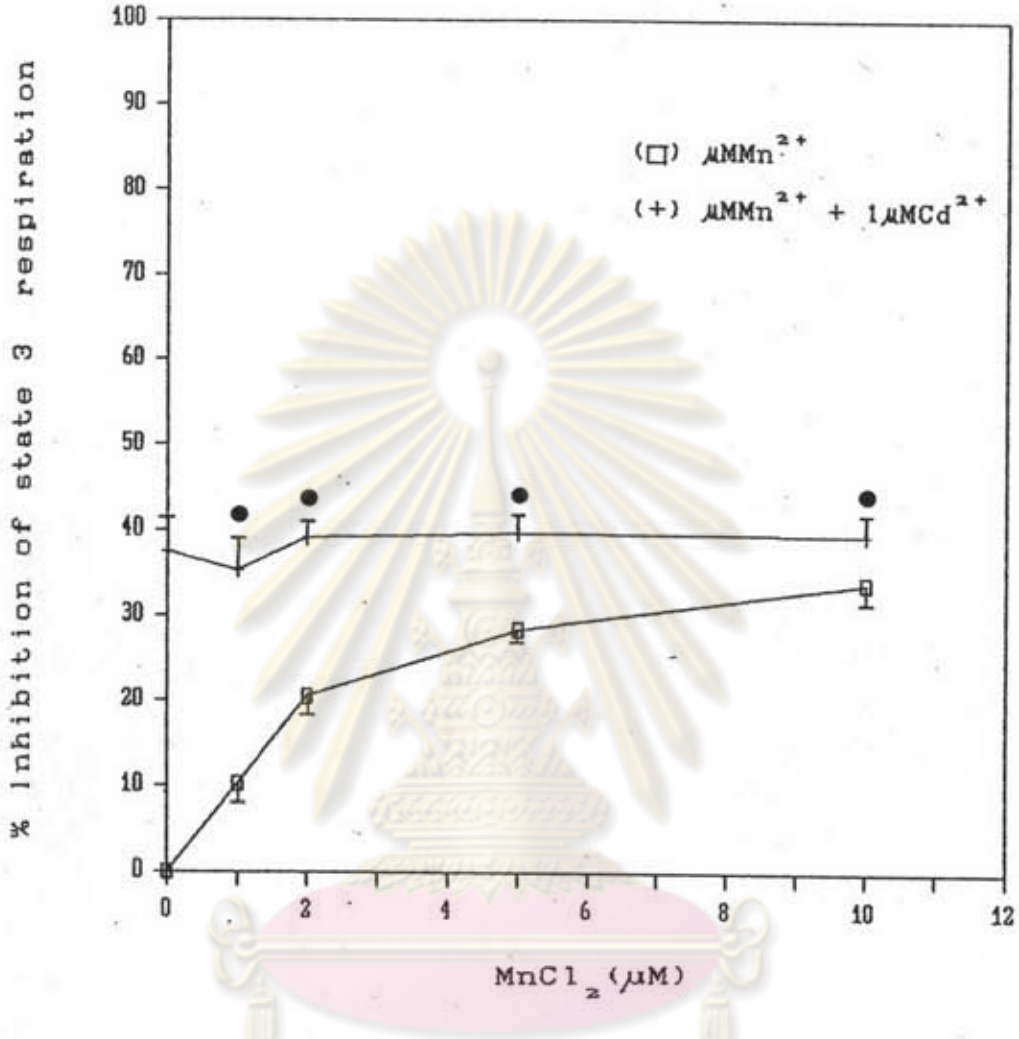
ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันในขนาดต่าง ๆ ต่อ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาวเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium succinate , 13.09 mM sucrose , 0.63 mM ADP , 1.25 mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ 1.92 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

☼ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 13

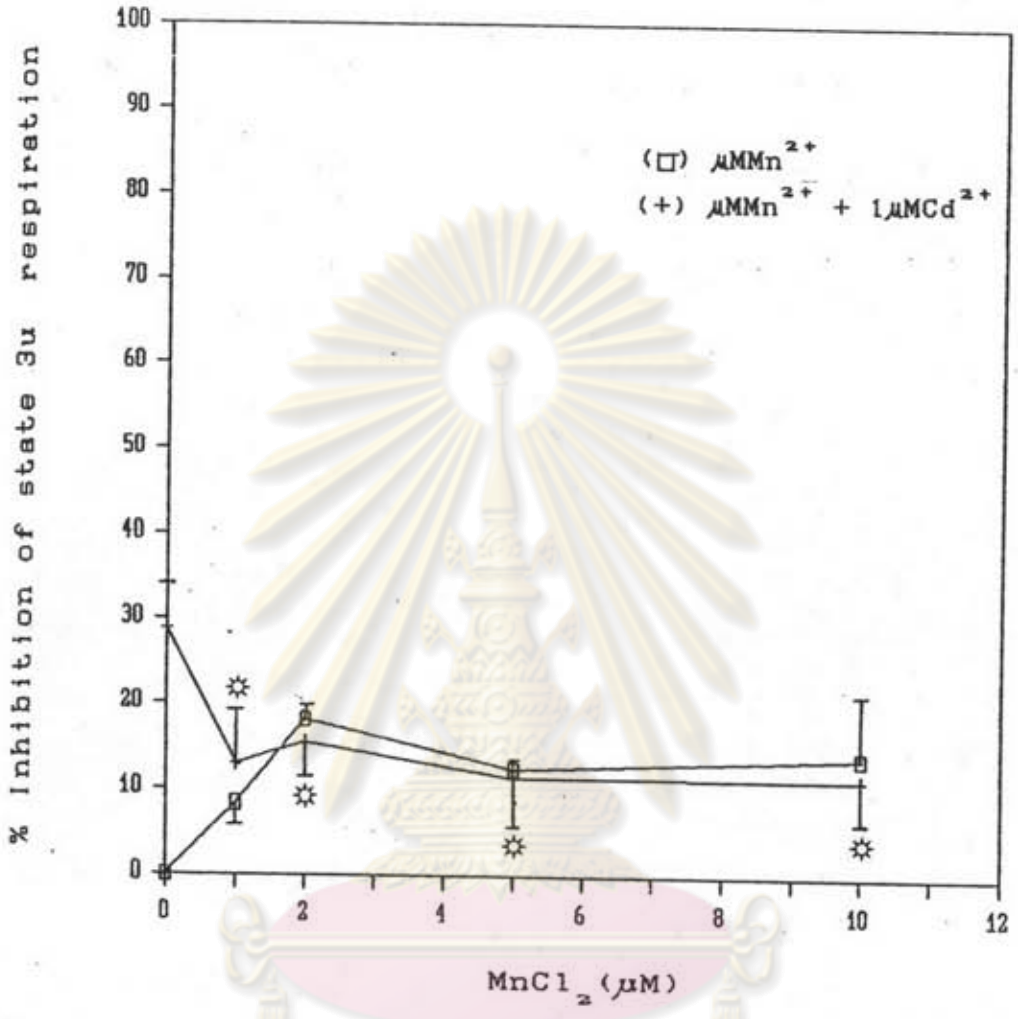
ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3u respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : เช่นเดียวกับรูปที่ 12

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

☼ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 14

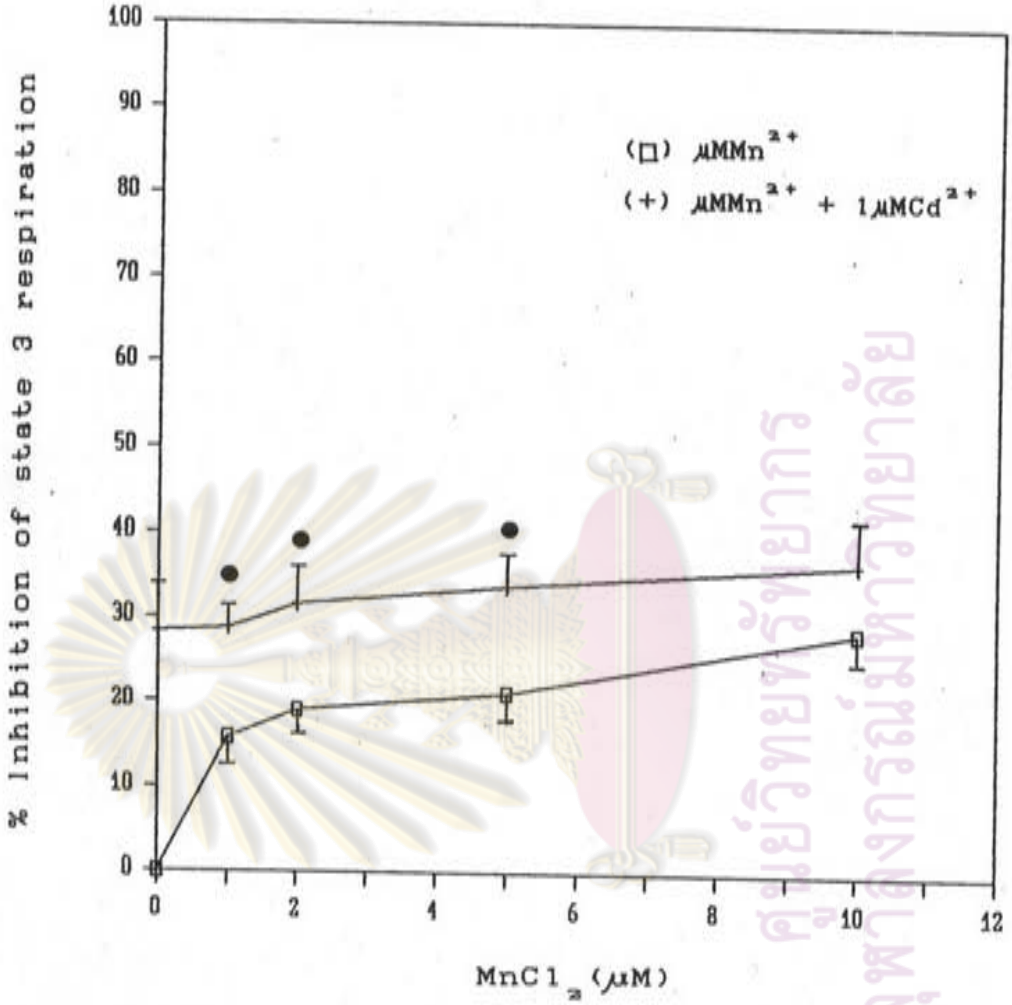
ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 36.0 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.09 mM sucrose , 0.63mM ADP , 1.25 mM potassium phosphate , 26.04 uM DNP และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.88 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ1.92 มล. อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

☼ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


% Inhibition of state 3 respiration
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
2
4
6
8
10
12
(□) μMMn2+
(+) μMMn2+ + 1μMCd2+
MnCl2 (μM)

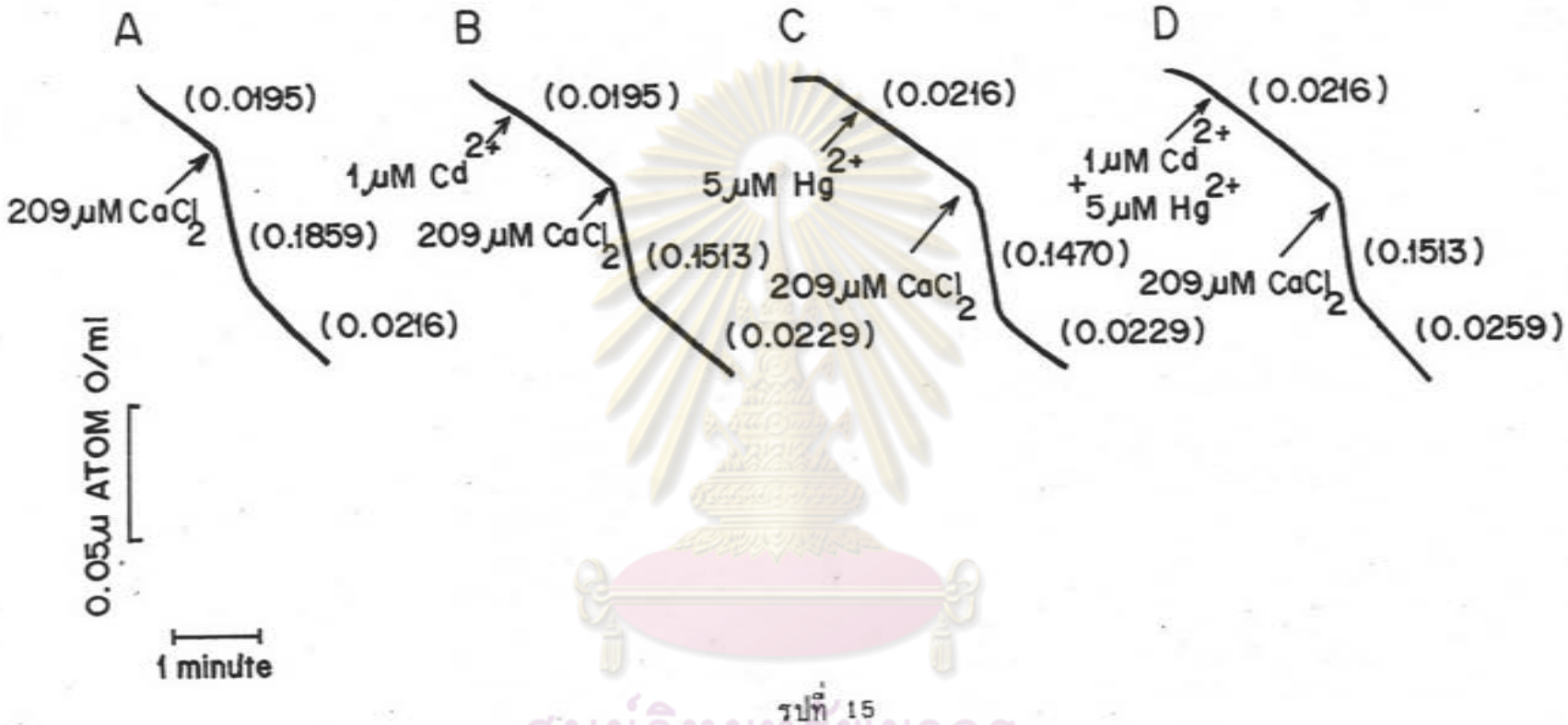
รูปที่ 14

รูปที่ 15

ตัวอย่าง Tracings แสดงผลของการให้แคดเมี่ยม และปรอทอย่างเดียว และผลของการให้แคดเมี่ยมร่วมกับปรอทต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยมของไมโตคอนเดรีย โดยใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 36 mM HEPES buffer pH 7.2, 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl, 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate, 13.09 mM sucrose, 209 mM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรีย 1.41 มก.โปรตีน/มล. ส่วนประกอบอื่นที่เติมลงไปอีก ดังแสดงในรูปคือ แคดเมี่ยม, ปรอท, แคดเมี่ยม + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 1.91 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตัวเลขในวงเล็บคือ อัตราการใช้ออกซิเจนมีหน่วยเป็น มคอ.ของออกซิเจน/มล./นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 15

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 16

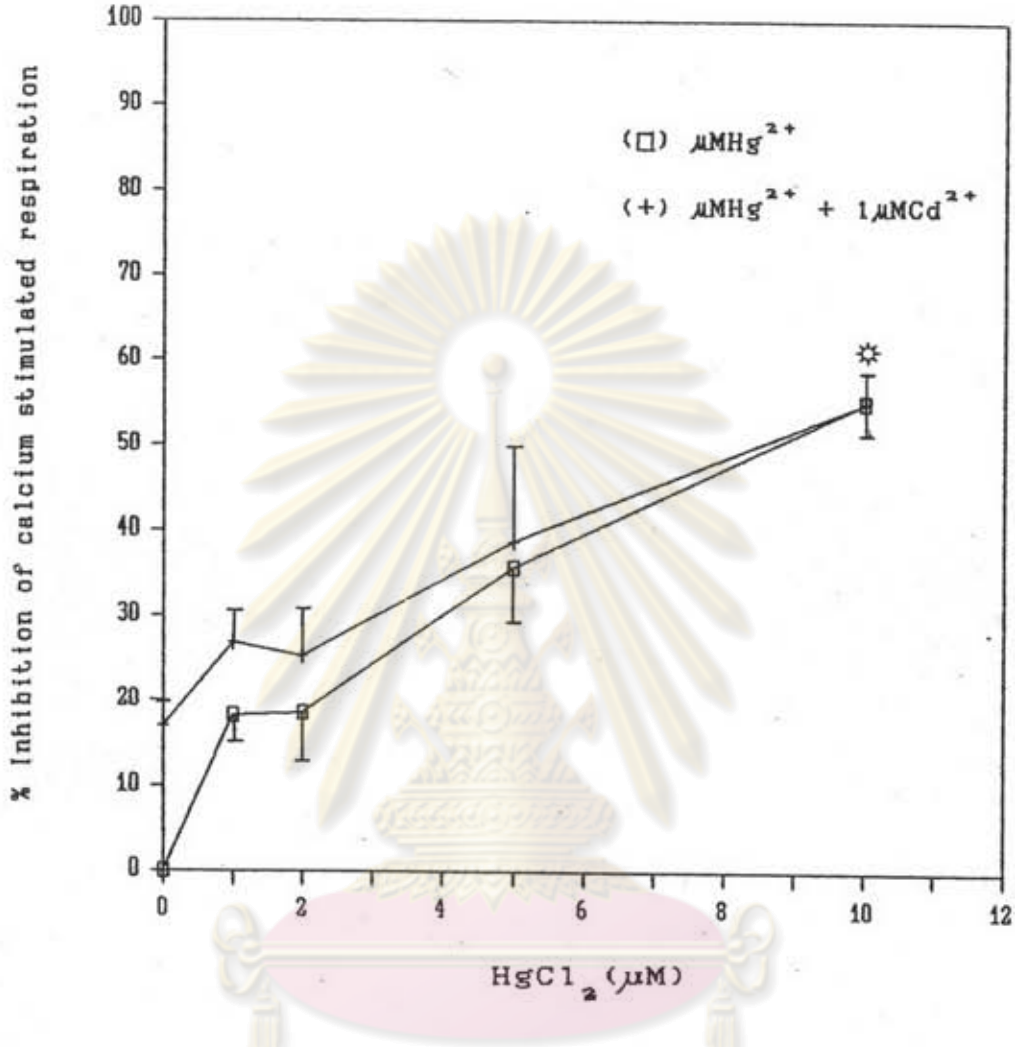
ผลของปรอท และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36 mM HEPES , 1.8 mM $MgCl_2$, 82.8 mM KCl , 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.09 mM sucrose , 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture เท่ากับ 1.91 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน จาก 4 การทดลอง

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียวกับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

☼$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 17

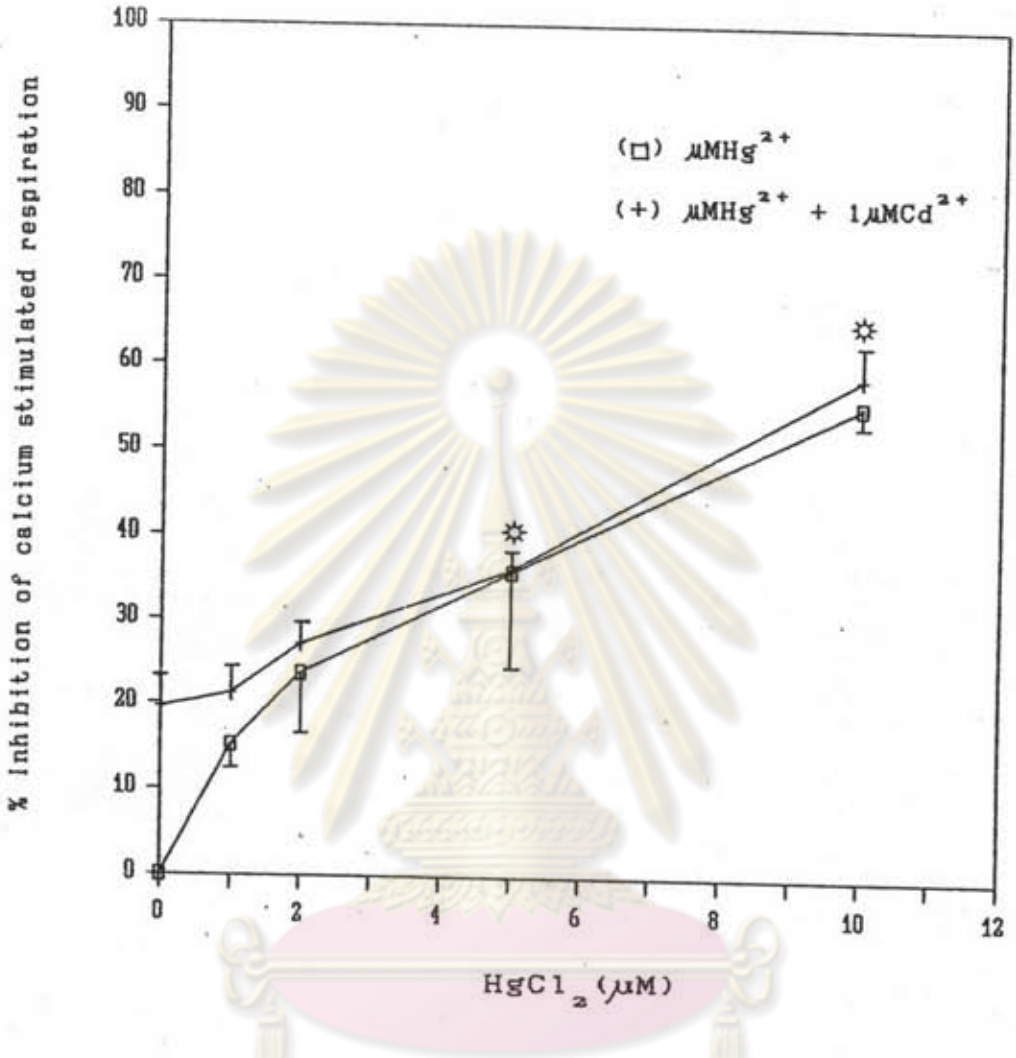
ผลของปรอท และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36mM HEPES, 1.8mM $MgCl_2$, 82.8mM KCl, 5.21mM potassium succinate, 13.09 mM sucrose, 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของreaction-mixture เท่ากับ 1.91 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียวกับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

☼ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 17

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

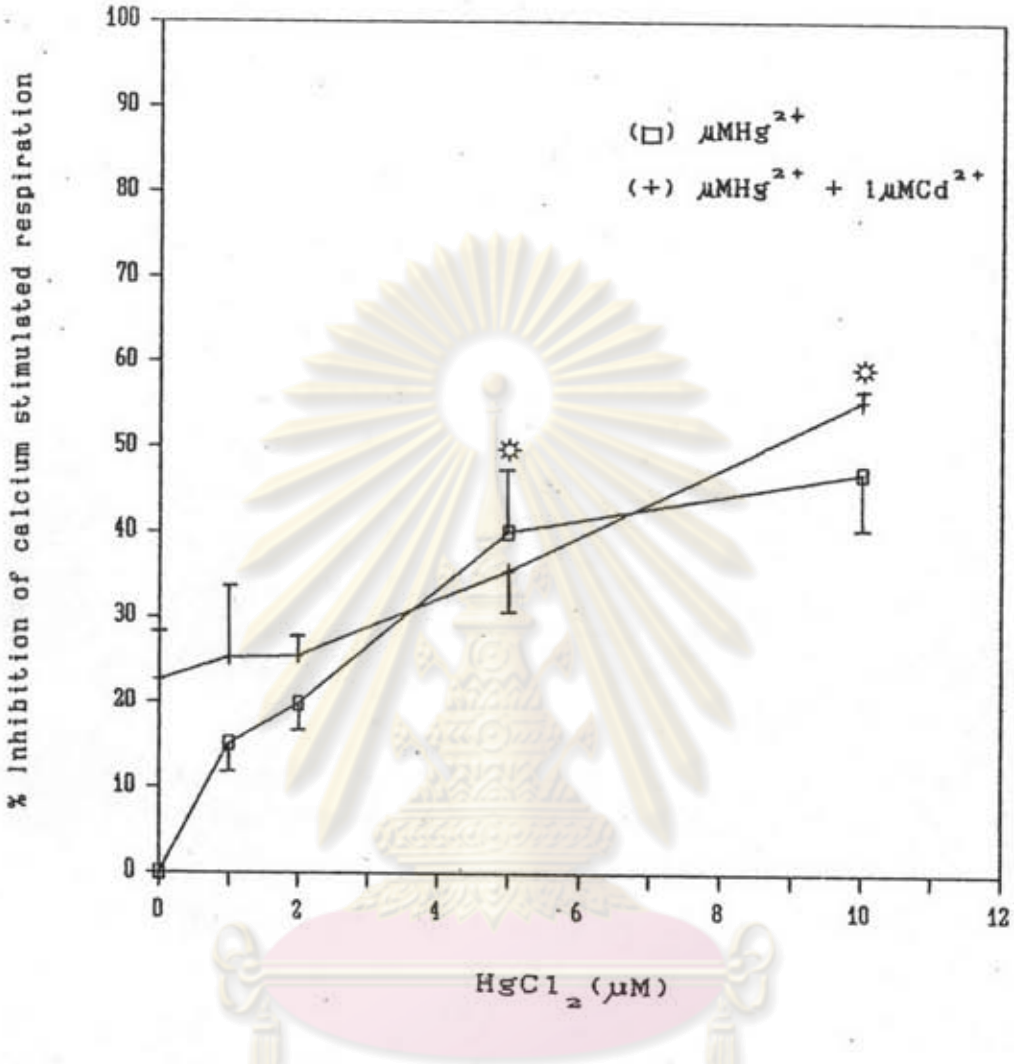
รูปที่ 18

ผลของปรอท และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36mM HEPES, 1.8mM $MgCl_2$, 82.8mM KCl, 5.21mM potassium glutamate + 5.21mM potassium malate, 13.09 mM sucrose, 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก.โปรตีน/ มล. ปริมาตรทั้งหมดของreaction mixture เท่ากับ 1.91 มล. อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสแต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4การทดลอง

- ● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียวกับผลของปรอท +แคดเมี่ยม
- ✲ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 18

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 19

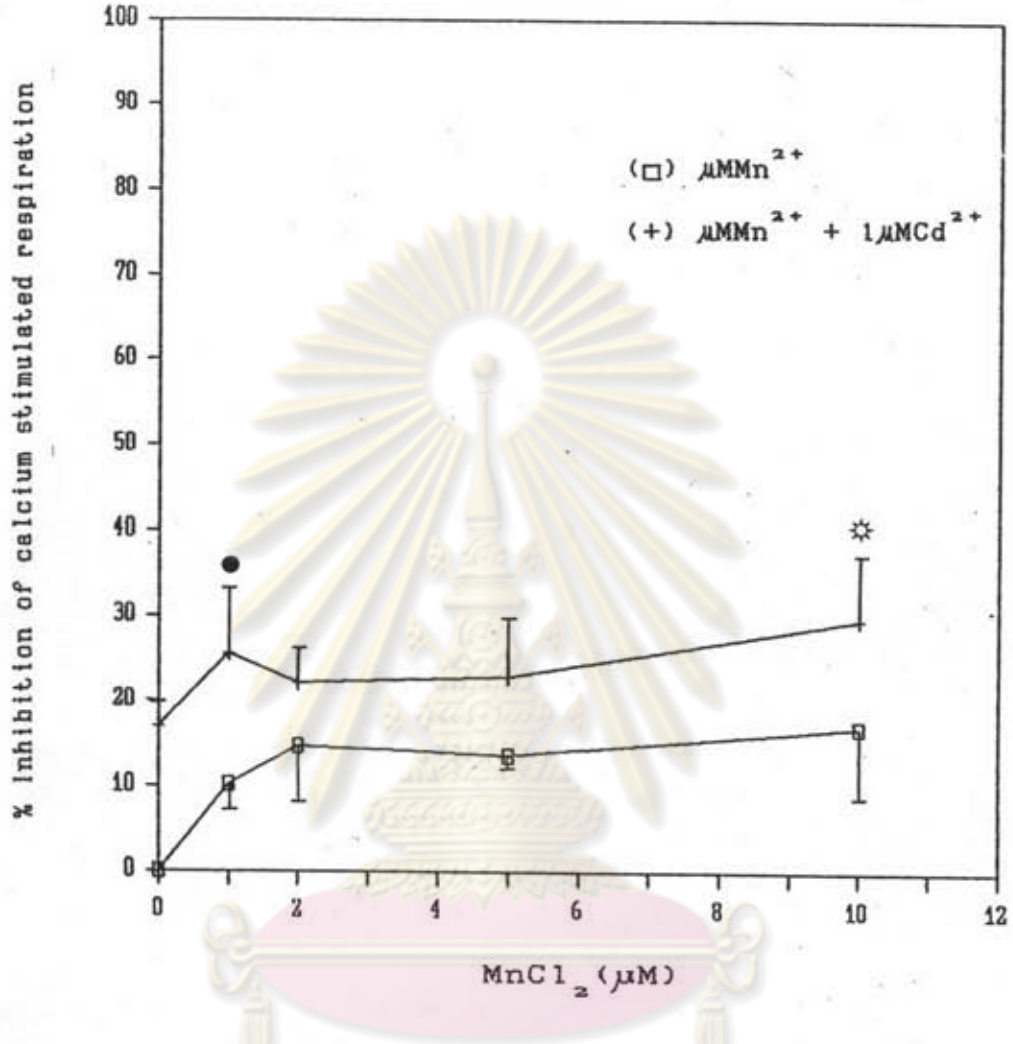
ผลของแมงกานีส และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36mM HEPES, 1.8mM $MgCl_2$, 82.8mM KCl, 5.21mM potassium glutamate + 5.21mM potassium malate, 13.09 mM sucrose, 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก.โปรตีน / มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction mixture อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียว กับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

✲ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 20

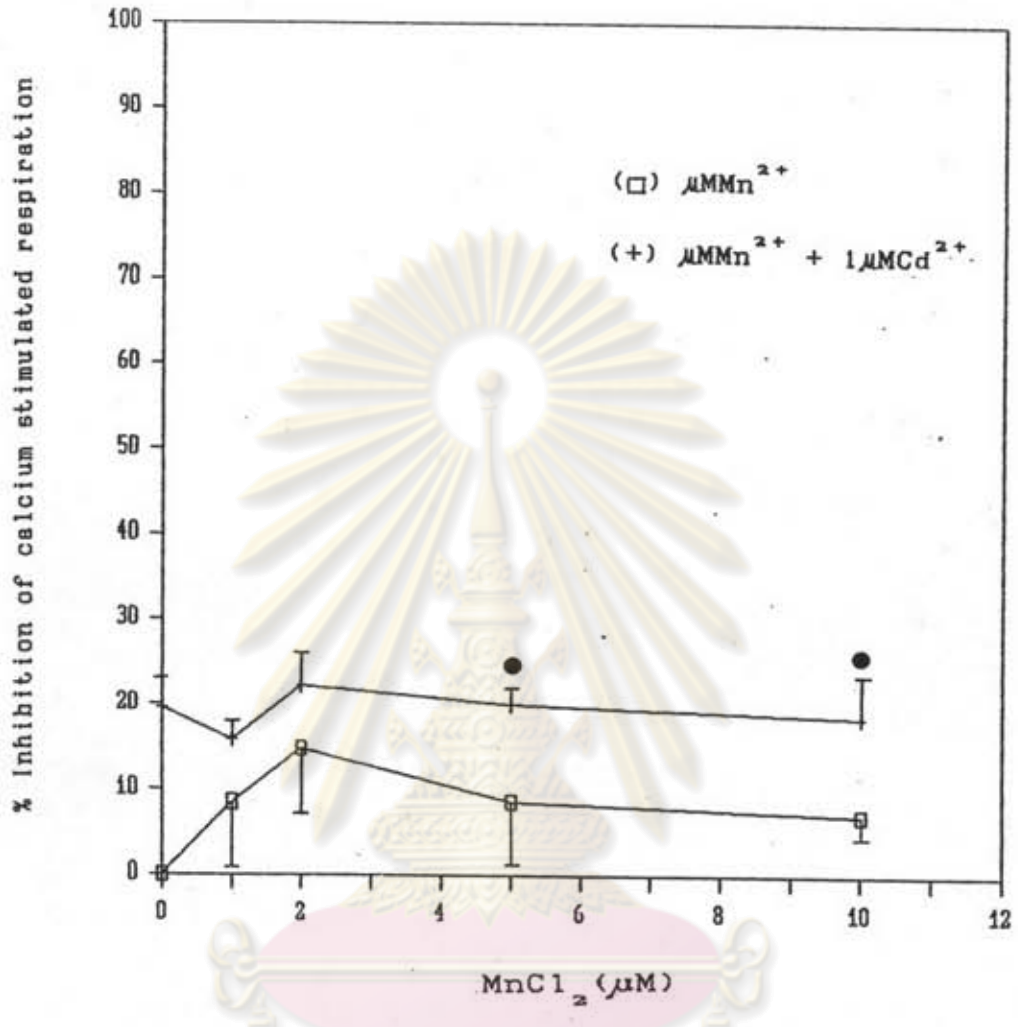
ผลของแมงกานีส และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบปฏิกริยา : 36mM HEPES, 1.8mM $MgCl_2$, 82.8mM KCl, 5.21 mM potassium succinate , 13.09 mM sucrose, 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก. โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction-mixture เท่ากับ 1.91 มล.อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

● $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

✲ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 20

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 21

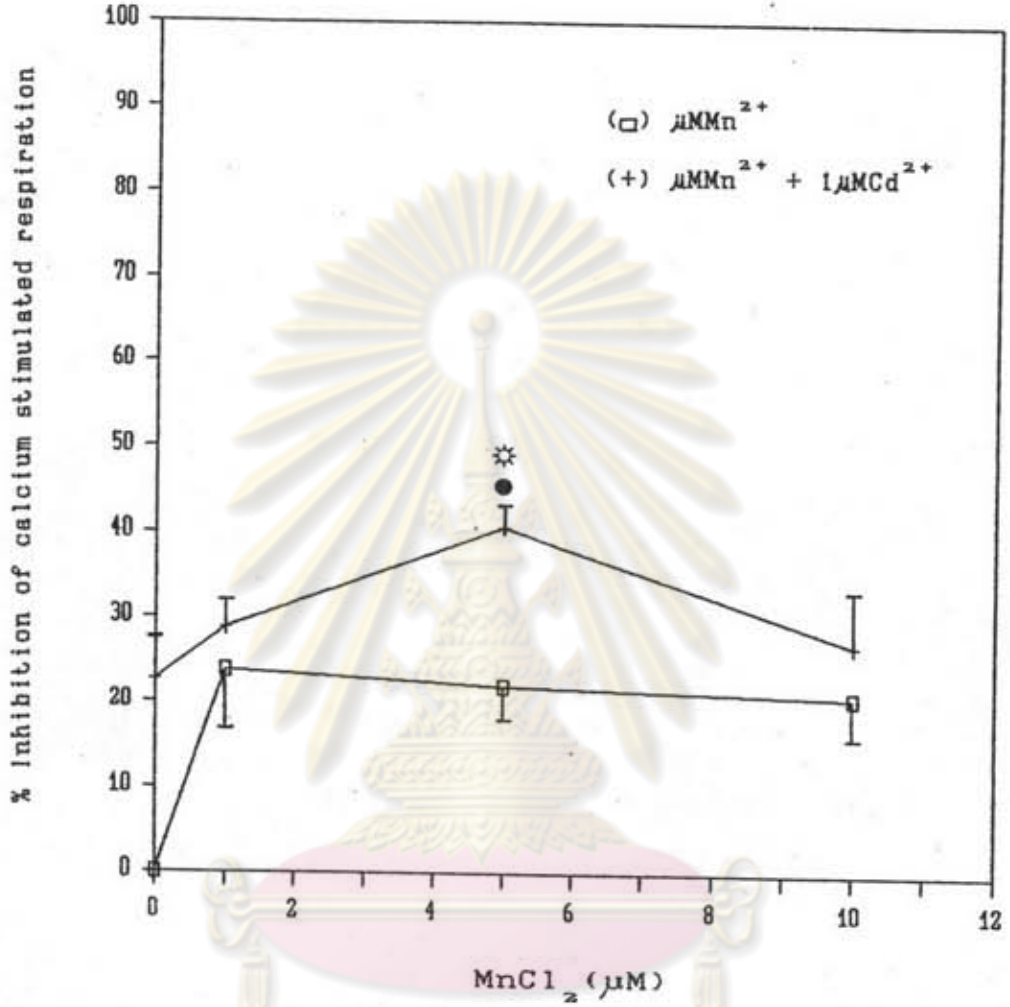
ผลของแมงกานีส และแคดเมี่ยม เมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกันต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซี่ยม เมื่อใช้glutamate + malate เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 36mM HEPES, 1.8mM $MgCl_2$, 82.8mM KCl, 5.21mM potassium glutamate + 5.21mM potassium malate, 13.09 mM sucrose, 209 uM $CaCl_2$ และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 1.41 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของreaction mixture เท่ากับ 1.91 มล. อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสแต่ละจุดที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย +ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสอย่างเดียวกับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม

☼$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม + แมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21

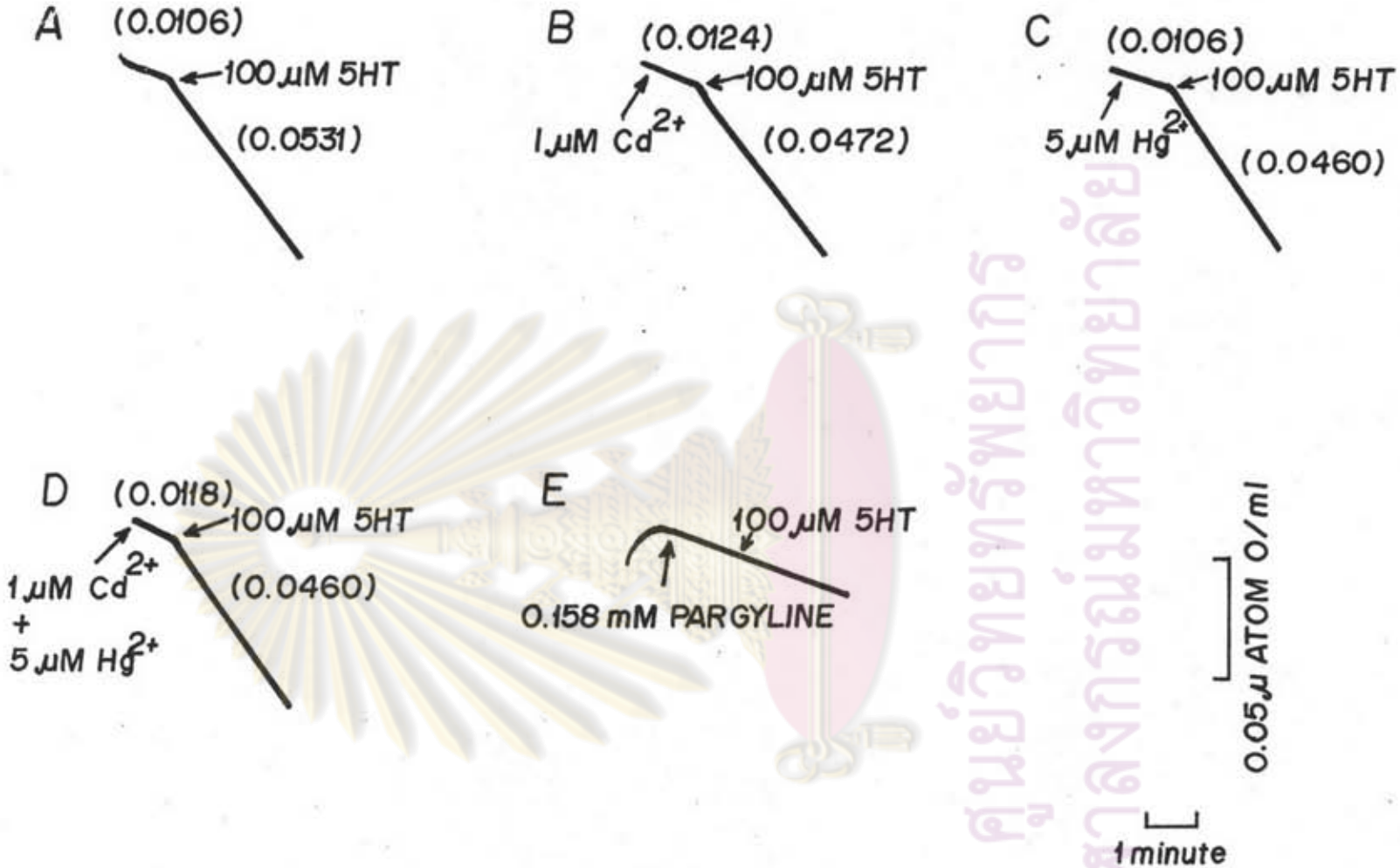
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 22

ตัวอย่าง Tracings แสดงผลของการให้แคดเมี่ยม และปรอทอย่างเดียว และผลของการให้แคดเมี่ยมร่วมกับปรอท ต่อ monoamine oxidase A activity ของไมโตคอนเดรียโดยใช้ 5-HT เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.0225 M phosphate buffer pH7.2, 10ug rotenone , 13.09 mM sucrose และไมโตคอนเดรีย 0.941 มก.-โปรตีน/มล. ส่วนประกอบอื่นที่เติมตามลงไปดังแสดงในรูปคือ 5HT , pargyline , แคดเมี่ยม , ปรอท , แคดเมี่ยม + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 1.91 มล. อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรีย ในระยะต่าง ๆ ที่แสดงในวงเล็บเป็นจำนวน มคอ. ของออกซิเจน/มล./2นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 22

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

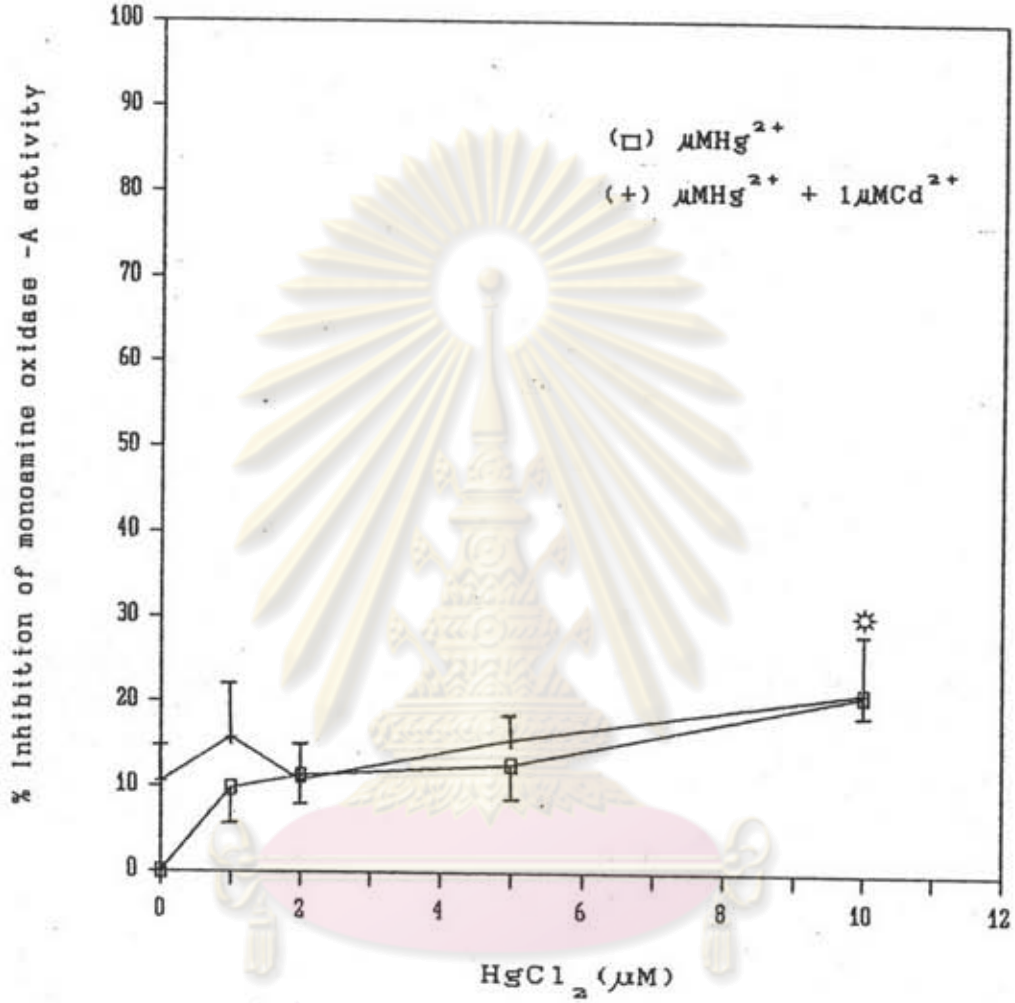
รูปที่ 23

ผลของปรอทและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด A เมื่อใช้ 5HT เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.0225 M phosphate buffer , 10 ug rotenone , 13.09 mM sucrose , 96 uM 5 HT และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 0.941 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของreaction mixtureเท่ากับ 1.92 มล.อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

☼p<0.05 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับผลของแคดเมี่ยม+ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23

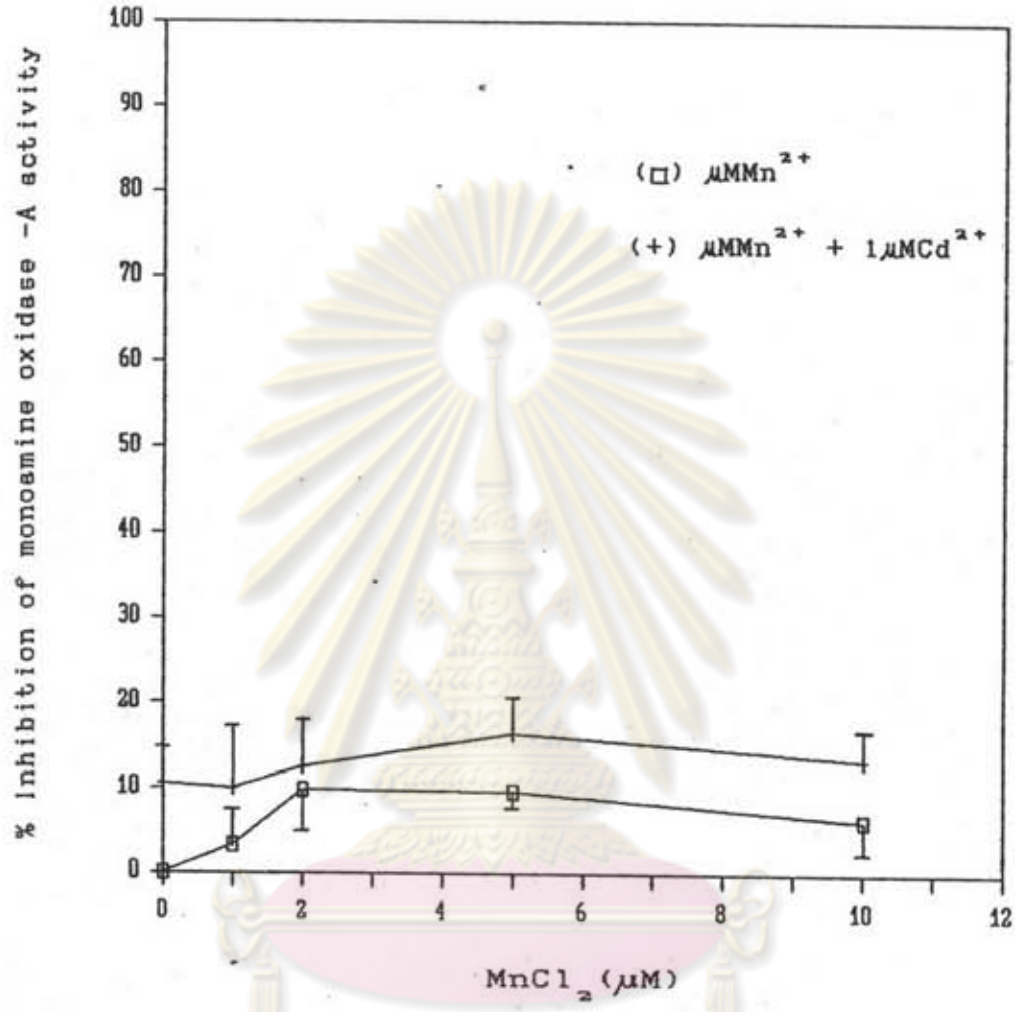
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 24

ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด A เมื่อใช้ 5HT เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.0225 M phosphate buffer , 10 ug rotenone , 13.09 mM sucrose, 96 uM 5 HT และไมโตคอนเดรียเฉลี่ย 0.941 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของreaction mixtureเท่ากับ 1.92 มล.อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

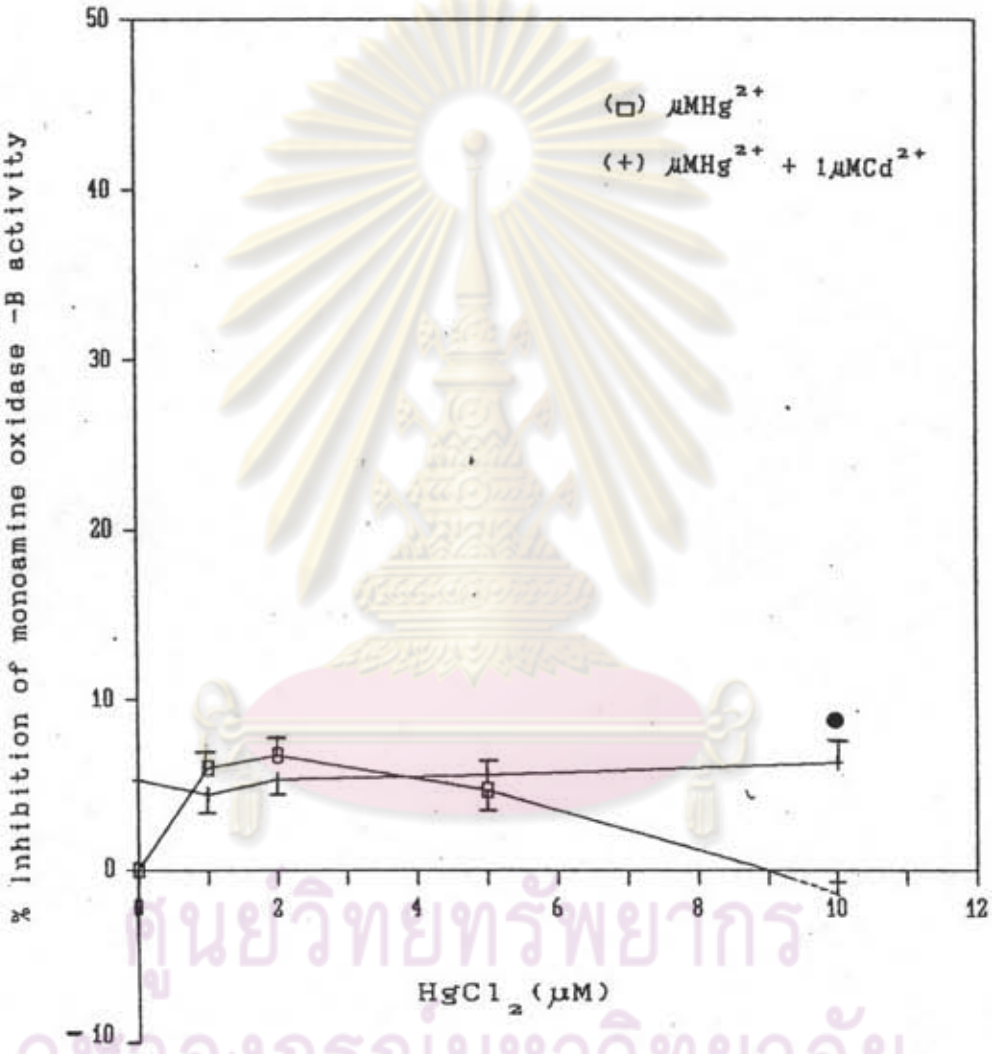
รูปที่ 25

ผลของปรอทและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกัน ต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนโอมีนออกซิเดส ชนิด B เมื่อใช้ phenethylamine เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.0225 M phosphate buffer, 10 µg rotenone , 13.09 mM sucrose , 96 uM phenethylamine และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.53 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction-mixture เท่ากับ 1.92 มล.อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงแทนค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของปรอทอย่างเดียว กับผลของปรอท + แคดเมี่ยม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25

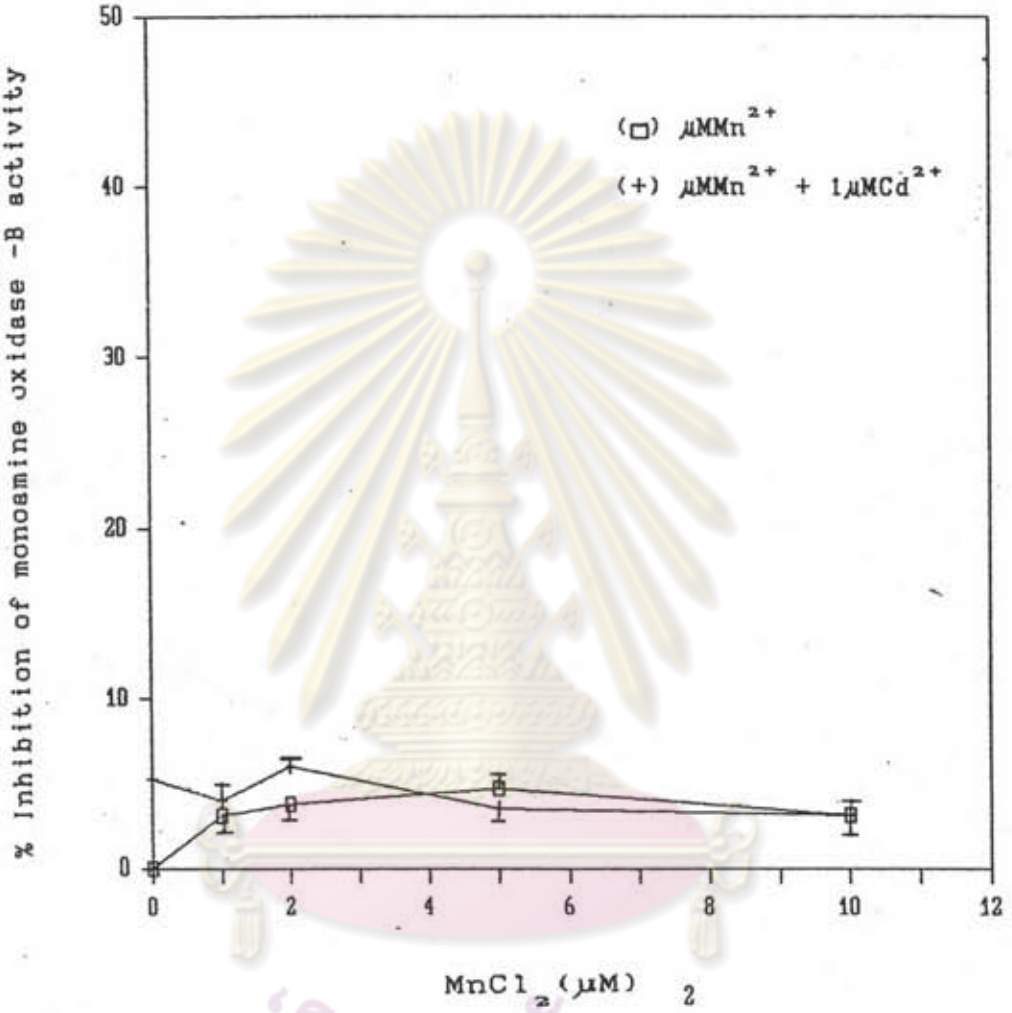
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 26

ผลของแมงกานีสและแคดเมี่ยมเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนโอมีนออกซิเดสชนิด B เมื่อใช้ phenethylamine เป็นสับสเตรท

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 0.0225 M phosphate buffer, 10 µg rotenone , 13.09 mM sucrose , 96 uM phenethylamine และไมโตคอนเดรีย เฉลี่ย 1.53 มก.โปรตีน/มล. ปริมาตรทั้งหมดของ reaction-mixture เท่ากับ 1.92 มล.อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ละจุดที่แสดงแทนค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจาก 4 การทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 26

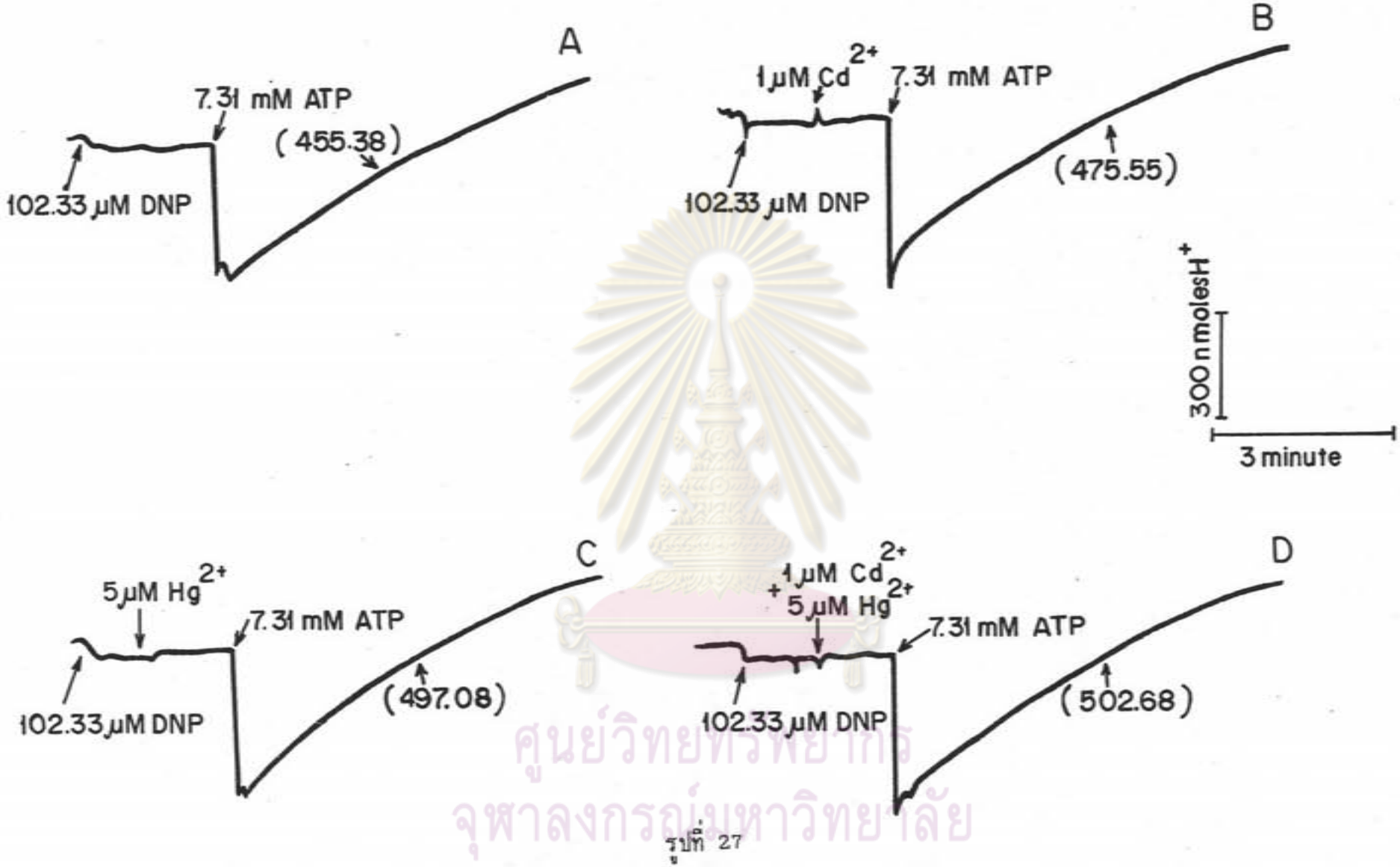
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 27

ตัวอย่าง Tracings แสดงผลของการให้แคดเมี่ยม และปรอทอย่างเดียว และผลของการให้แคดเมี่ยมร่วมกับปรอท ต่อ ATPase activity ของไมโตคอนเดรีย ที่ถูกกระตุ้นด้วย DNP

ส่วนประกอบของปฏิกริยา : 3.60 mM HEPES. buffer pH7.2 , 1.44 mM $MgCl_2$, 85.8 mM KCl และไมโตคอนเดรีย 1.71 มก.โปรตีน/มล. ส่วนประกอบที่เติมตามลงไปดังแสดงในรูปคือ DNP , ATP , แคดเมี่ยม , ปรอท , แคดเมี่ยม + ปรอท ปริมาตรทั้งหมด 3.42 มล. ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ค่าในวงเล็บแสดงถึงจำนวน n mole ของ H^+ ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาในเวลา 5 นาที หลังจากเติม ATP

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1

ผลของปรอทและแมงกานีสเมื่อให้อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรียที่ถูกกระตุ้น และไม่ถูกกระตุ้นโดย DNP

	ATPase activity (n moles H^+/mg protein/5 min) (mean ± SEM)	
	DNP	No DNP
Control	455.38 ± 22.42	44.13 ± 2.70
1 μM Cd^{2+}	475.55 ± 22.30	60.43 ± 3.34
5 μM Hg^{2+}	497.08 ± 19.43	64.35 ± 3.45
5 μM Mn^{2+}	482.50 ± 25.07	52.5 ± 1.14
1 μM Cd^{2+} + 5 μM Hg^{2+}	502.68 ± 22.27☼	76.85 ± 4.18●☼
1 μM Cd^{2+} + 5 μM Mn^{2+}	516.00 ± 25.76●☼	57.18 ± 3.70
10 μg oligomycin	73.53 ± 4.73	

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา : 3.6 mM HEPES , 1.44 mM $MgCl_2$, 85.8 mM KCl ,102.33 uM DNP (กรณีมี DNP) ,7.31 mM ATP ไมโตคอนเดรีย-เฉลี่ย 1.71 มก.โปรตีน/มล. (กรณีมี DNP) และ 2.28 มก.โปรตีน/มล. (กรณีไม่มี DNP) ปริมาตรทั้งหมด 3.413 มล. และ 3.406 มล. กรณีมี DNP และไม่มี DNP ตามลำดับ

●$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแมงกานีสหรือปรอทอย่างเดียว กับผลของแมงกานีส + แคดเมี่ยม หรือผลของปรอท + แคดเมี่ยม

☼$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับผลของแคดเมี่ยมร่วมกับปรอท หรือแคดเมี่ยมร่วมกับแมงกานีส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2

ผลการทดลองเมื่อให้ DTT ต่อการยับยั้ง state 3 respiration ของไมโตคอนเดรีย จากตับหนูขาว ของแคดเมี่ยม , ปรอท และแมงกานีส

	% Inhibition of state 3 respiration (mean ± SEM)		
	No DTT	DTT before heavy metal	DTT after heavy metal
1 μM Cd^{2+}	21.63 ± 4.70	0.59 ± 3.71*	1.79 ± 3.13*
5 μM Hg^{2+}	25.19 ± 5.97	5.46 ± 1.83*	14.60 ± 3.93*
5 μM Mn^{2+}	25.43 ± 5.08	10.98 ± 3.74*	7.87 ± 4.02*
1 μM Cd^{2+} + 5 μM Hg^{2+}	36.45 ± 4.57	3.93 ± 2.81*	15.92 ± 2.02*
1 μM Cd^{2+} + 5 μM Mn^{2+}	32.15 ± 5.68	8.73 ± 3.93*	9.68 ± 3.37*

ส่วนประกอบ : 37.50 mM HEPES , 86.24 mM KCl , 1.86 $MgCl_2$, 5.21 mM potassium glutamate + 5.21 mM potassium malate , 13.02 mM sucrose ,1 mM DTT , 0.62 mM ADP , 1.23 mM potassium phosphate , ไมโตคอนเดรียความเข้มข้นเฉลี่ย 1.68 มก.โปรตีน/มล. และโลหะหนักดังที่เขียนไว้ในตาราง ปริมาตรของ reaction mixture 1.92 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

*$p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ DTT กับการไม่ได้รับ DTT

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3

ผลการทดลองเมื่อให้ EDTA ต่อการยับยั้ง state 3 respiration ของไมโตคอนเดรียจากตับหนูขาว ของแคดเมี่ยม , ปรอท และแมงกานีส

	% Inhibition of state 3 respiration (mean ± SEM)		
	No EDTA	EDTA before heavy metal	EDTA after heavy metal
1 μM Cd^{2+}	21.63 ± 4.70	6.36 ± 3.71*	5.31 ± 2.46*
5 μM Hg^{2+}	25.19 ± 5.97	34.62 ± 8.57	25.56 ± 1.59
5 μM Mn^{2+}	25.43 ± 5.08	5.11 ± 3.02*	12.97 ± 2.40*
1 μM Cd^{2+} +5 μM Hg^{2+}	36.45 ± 4.57	11.39 ± 4.48*	19.22 ± 2.42*
1 μM Cd^{2+} + 5 μM Mn^{2+}	32.15 ± 5.68	6.47 ± 3.54*	18.49 ± 3.67

ส่วนประกอบของปฏิกริยา 36.54 mM HEPES, 84.06 mM KCl, 1.82 mM $MgCl_2$, 5.08 mM potassium glulamate + 5.08 mM potassium malate, 12.69 mM sucrose , 1 mM EDTA , 0.60 mM ADP, 1.20 mM potassium-phosphate , ไมโตคอนเดรียความเข้มข้นเฉลี่ย 1.8 มก.โปรตีน/มล.และโลหะหนักดังที่เขียนไว้ในตาราง ปริมาตรของ reaction mixture 1.97 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

*p<0.05 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการได้รับ EDTAและไม่ได้รับ EDTA

นอกจากนี้ผลการวิจัยเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (รูปที่ 6) พบว่าเมื่อได้รับปรอทร่วมกับแคดเมี่ยมเปอร์เซนต์การยับยั้ง state 3 respiration เพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้นของปรอทอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แสดงด้วยรูป ● และผลของปรอทเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมพบว่าปรอทมีผลเพิ่มเปอร์เซนต์การยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ที่ความเข้มข้นเท่ากับหรือมากกว่า 5 μM (แสดงด้วยรูป ☼)

ผลการวิจัยถึงผลต่อ state 3u respiration เมื่อใช้ glutamate + malate เป็น substrate ของปรอทอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 1, 2, 5, 10 μM ได้ผลคือ (รูปที่ 5) ปรอทสามารถยับยั้ง state 3u respiration เมื่อดูผลของแคดเมี่ยมเมื่อให้ร่วมกับปรอท พบว่าเมื่อให้แคดเมี่ยมความเข้มข้น 1 μM มีผลยับยั้ง state 3u เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ทุก ๆความเข้มข้นของปรอท (แสดงด้วยรูป ●) และปรอทเองก็มีผลเพิ่มการยับยั้ง state 3u เมื่อเทียบกับแคดเมี่ยมอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้น 2 และ 10 μM (แสดงด้วยรูป ☼) และเมื่อใช้ succinate เป็น substrate ผลวิจัยที่ได้ (รูปที่ 7) มีลักษณะทำนองเดียวกับเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท

1.2 ผลของแมงกานีสอย่างเดียวและแมงกานีสร่วมกับแคดเมี่ยม

ผลการวิจัยการให้แมงกานีสอย่างเดียวในความเข้มข้น 1,2,5,10 μM และให้ร่วมกับแคดเมี่ยม ความเข้มข้น 1 μM ต่อ state 3 respiration ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท พบว่า (รูปที่ 10) แมงกานีสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถยับยั้ง state 3 respiration และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมทำให้การยับยั้งมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ทุก ๆ ความเข้มข้น (แสดงด้วยรูป ●) เมื่อวิเคราะห์ถึงผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับการให้ร่วมกับแมงกานีส พบว่าเมื่อให้แมงกานีสเข้าไป ผลการยับยั้ง state 3 respiration มากขึ้นแต่ไม่มีมีนัยสำคัญ ส่วนผลการวิจัยที่ 37 องศาเซลเซียส (รูปที่ 14) เมื่อให้แมงกานีสร่วมกับแคดเมี่ยม การยับยั้ง state 3 respiration มากกว่า เมื่อได้รับแมงกานีสอย่างเดียว เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีนัยสำคัญ($p<0.05$)ที่ความเข้มข้นของแมงกานีส 1, 2, 5 μM (แสดงด้วยรูป ●) ส่วนที่ความเข้มข้นของแมงกานีส 10 μM พบว่ามีผลการยับยั้งเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลของแมงกานีส เมื่อเทียบกับการได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียว ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าไม่ทำให้การยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในทุก ๆ ความเข้มข้นของแมงกานีส

การวิจัยดังกล่าวเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท และทำการทดลองที่ 30 องศาเซลเซียส ได้ผลคือ (รูปที่ 12) เมื่อได้รับแคดเมี่ยมร่วมกับแมงกานีส จะทำให้การยับยั้งstate 3 เพิ่มขึ้นมากกว่าได้รับแมงกานีสอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ทุก ๆ ความเข้มข้นของแมงกานีส (แสดงด้วยรูป ●)ส่วนการยับยั้ง เนื่องจากผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวเปรียบเทียบกับเมื่อได้รับร่วมกับแมงกานีส เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท พบว่าไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

การวิจัยเพื่อดูผลต่อ state 3u respiration ของการให้แมงกานีสอย่างเดียวหรือเมื่อให้ร่วมกับปรอท เมื่อใช้ glutamate + malate เป็น substrate ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการวิจัยที่ได้คือ(รูปที่ 11) เมื่อให้แมงกานีสอย่างเดียวกับได้รับร่วมกับแคดเมี่ยม การยับยั้งจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะที่ความเข้มข้นของแมงกานีสเท่ากับ 1 µMเท่านั้น ส่วนที่ความเข้มข้นอื่น ๆ ผลการยับยั้งเพิ่มขึ้นหรือน้อยลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับเมื่อได้รับร่วมกับแมงกานีสในความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อให้ร่วมกับแมงกานีส ค่าการยับยั้งstate 3u ลดน้อยลงกว่าเมื่อได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)แสดงด้วยเครื่องหมาย ✲ ส่วนการวิจัยเมื่อใช้ succinate เป็น substrate (รูปที่ 13) พบว่าเมื่อให้แคดเมี่ยมร่วมกับแมงกานีสจะทำให้การยับยั้งลดลงในบางความเข้มข้นแต่ไม่มีนัยสำคัญและเมื่อเทียบแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับร่วมกับแมงกานีส พบว่าเมื่อให้ร่วมกับแมงกานีส ผลการยับยั้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุก ๆ ความเข้มข้น ($p<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย ✲

2.ผลของโลหะหนักที่ให้ร่วมกันต่อการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซียม

ไมโตคอนเดรียเป็น organelle หนึ่งซึ่งสามารถสะสมแคลเซี่ยม และการสะสมแคลเซี่ยมนั้นจำเป็นต้องอาศัยพลังงานจาก substrate oxidation หรือ ATP-hydrolysis ดังนั้นการจะดูผลของโลหะหนักต่อการสะสมแคลเซี่ยมจึงสามารถใช้วิธีการดูอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียเมื่อได้รับแคลเซี่ยมเป็นตัวบ่งชี้ได้

2.1 ผลของปรอทอย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม

ผลการทดลองเมื่อให้ปรอทในขนาด 1,2,5,10 µM และแคดเมี่ยม 1µM ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซียม เมื่อใช้ glutamate + malate เป็น substrate ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า (รูปที่ 16) ปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ มีผลยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซียมเมื่อให้แคดเมี่ยมความเข้มข้น 1µMร่วมด้วย

ปรากฏว่า ผลการยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับปรอท พบว่าการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อความเข้มข้นของปรอทเท่ากับ 10 μM ($P<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย ☼ ผลต่อกระบวนการดังกล่าว เมื่อใช้ succinate เป็น substrate พบว่าแคดเมี่ยมมีผลเพิ่มการยับยั้งมากขึ้น แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบการยับยั้งของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับปรอทผลปรากฏว่ามีผลทำให้การยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้นของปรอทเท่ากับ 5,10 μM ($P<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย ☼

การวิจัยถึงการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสโดยมี glutamate + malate เป็นสับสเตรท ให้ผลในทำนองเดียวกับการทดลองที่ 30 องศาเซลเซียส (รูปที่ 18)

2.2 ผลของแมงกานีสอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม

ผลการทดลองเมื่อให้แมงกานีสในขนาด 1,2,5,10 μM และแคดเมี่ยม 1μM ต่อกระบวนการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซียมเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า (รูปที่ 19) แมงกานีสอย่างเดียวสามารถยับยั้งกระบวนการนี้ได้ และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม ผลปรากฏว่าสามารถยับยั้งกระบวนการดังกล่าวได้มากขึ้น แต่มีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ที่ความเข้มข้นของแมงกานีสเท่ากับ 1 μM เท่านั้น ส่วนที่ความเข้มข้นอื่น ๆ นั้นเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อดูผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับการให้ร่วมกับแมงกานีสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นของแมงกานีส เท่ากับ 10 μM เท่านั้น

ผลการทดลองเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท พบว่า เมื่อเปรียบเทียบการได้รับแมงกานีสอย่างเดียวกับการได้รับร่วมกับแคดเมี่ยม การได้รับร่วมกับแคดเมี่ยมจะมีผลยับยั้งกระบวนการนี้ได้มากกว่าเมื่อได้รับอย่างเดียว มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ความเข้มข้นของแมงกานีสเท่ากับ 5,10 μM เมื่อเปรียบเทียบกับการได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับการได้รับร่วมกับ แมงกานีส ปรากฏว่า แมงกานีสมีผลทำให้การยับยั้งเพิ่มขึ้น หรือลดลงขึ้นกับความเข้มข้นของสาร แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท พบว่าเมื่อได้รับแมงกานีส ร่วมกับแคดเมี่ยมการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้นของแมงกานีสเท่ากับ 5 μM และ

เมื่อเปรียบเทียบการได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อได้ร่วมกับแมงกานีส ผลปรากฏว่าค่าการยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)ที่ความเข้มข้นของแมงกานีสเท่ากับ 5 μM เช่นกัน

3. ผลของโลหะหนักที่ให้ร่วมกันต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส

เอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่บริเวณ outer membrane ของไมโตคอนเดรีย ดังนั้นการศึกษาผลของโลหะหนักต่อหน้าที่ของไมโตคอนเดรีย จึงได้ทำการทดลองผลต่อactivityของ เอนไซม์ชนิดนี้ด้วย ปัจจุบันพบว่าเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส มี 2ชนิดคือชนิด A และชนิด Bซึ่งสามารถแยกได้โดยแต่ละตัวจะมีspecific substrate และ specific inhibitor ต่างกัน

3.1 ผลต่อโมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด A

3.1.1 ผลของปรอทอย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม (รูปที่ 23) พบว่าปรอทอย่างเดียวมีผลยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว แต่ยับยั้งในปริมาณที่น้อย และเมื่อให้แคดเมี่ยมร่วมด้วยผลปรากฏว่าค่าเปอร์เซนต์การยับยั้งเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบผลของแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับปรอทปรากฏว่าปรอทมีผลเพิ่มการยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ที่ความเข้มข้นของปรอทเท่ากับ 10 μM แสดงด้วยรูป ☼

3.1.2 ผลของแมงกานีสอย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม(รูปที่ 24) พบว่า เมื่อเปรียบเทียบการให้แมงกานีสอย่างเดียวกับการให้ร่วมกับแคดเมี่ยมการยับยั้ง activity ของเอนไซม์ เพิ่มขึ้น แต่เพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และในทำนองเดียวกัน เมื่อดูผลของการให้แคดเมี่ยมอย่างเดียวกับการให้ร่วมกับแมงกานีสปรากฏว่าเปอร์เซนต์การยับยั้ง activity ของเอนไซม์เพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของแมงกานีสตั้งแต่ 2 μM ขึ้นไป แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2 ผลต่อไมโนเอมีนออกซิเดส ชนิด B

3.2.1 ผลของปรอทอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมผลการทดลอง (รูปที่ 25) พบว่าปรอทสามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ได้บ้างเล็กน้อยในความเข้มข้นต่ำ ๆ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นการยับยั้งมีแนวโน้มลดลง และที่ 10 μM พบว่าปรอทมีผลกระตุ้นเอนไซม์ได้เล็กน้อย ผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างปรอทอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำ (1-5μM) แคดเมี่ยมไม่ทำให้การยับยั้งเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ความเข้มข้น 10 μM แคดเมี่ยมมี

ผลทำให้การยับยั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย ● เมื่อดูผลระหว่างแคดเมี่ยมอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับปรอท ปรากฏว่าผลการยับยั้งไม่ลดลงหรือเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

3.2.2 ผลของแมงกานีสอย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม ผลการทดลอง(รูปที่ 26) พบว่าแมงกานีสยับยั้ง activityของเอนไซม์ได้เล็กน้อยและเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมไม่ทำให้ผลการยับยั้งเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบผลของการได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับเมื่อให้ร่วมกับแมงกานีสปรากฏว่าการยับยั้งไม่มีผลเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

4. ผลของโลหะหนักที่ให้ร่วมกันต่อ ATPase-activity

ATPase เป็น enzyme ที่สำคัญในการสร้างและสลาย ATP ซึ่งอยู่บริเวณ inner membrane ของไมโตคอนเดรียดังนั้นจึงนำมาใช้เป็นตัวชี้นำอันหนึ่งในการศึกษาผลของโลหะหนักต่อหน้าที่ของไมโตคอนเดรีย

4.1 ผลต่อ ATPase activity เมื่อถูกกระตุ้นด้วย DNP ผลการทดลองพบว่าแคดเมี่ยมที่ความเข้มข้น 1 μM และปรอทที่ความเข้มข้น 5 μM มีผลกระตุ้นการทำงานของ ATPase แต่ไม่มีนัยสำคัญ เมื่อให้โลหะหนักทั้งสองชนิดร่วมกัน ปรากฏว่ามีผลเพิ่มการกระตุ้น ATPase มากกว่าเมื่อให้ปรอทอย่างเดียว แต่ไม่มีนัยสำคัญ แต่เมื่อเทียบแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับเมื่อให้ร่วมกับปรอท ปรากฏว่ามีการกระตุ้น ATPase อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย☼ ส่วนผลการทดลองเมื่อให้แมงกานีสอย่างเดียวกับเมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยม พบว่ามีการกระตุ้น ATPase activity อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)แสดงด้วยเครื่องหมาย ● และเมื่อเปรียบเทียบแคดเมี่ยมอย่างเดียว กับเมื่อให้ร่วมกับแมงกานีส ปรากฏว่ามีการเพิ่ม activity ของ enzyme อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($p<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย☼

นอกจากนี้ในตารางนี้ยังได้แสดงผลของ oligomycin ซึ่งเป็น inhibitor ที่ทราบกันดีว่ามีผลยับยั้ง ATPase activity ของไมโตคอนเดรียที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร uncoupler ไว้เพื่อเป็นการเปรียบเทียบอีกด้วย

4.2 ผลต่อ ATPase activityเมื่อไม่ได้กระตุ้นด้วย DNP ผลการทดลองพบว่า แคดเมี่ยม , ปรอท และแมงกานีสอย่างเดียว มีผลกระตุ้นเอนไซม์ โดยปรอทจะมีผลกระตุ้นมากที่สุด เมื่อนำแคดเมี่ยม ความเข้มข้น 1 μM มารวมกับปรอทที่ความเข้มข้น 5 μM พบว่าเพิ่ม enzyme activity อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)เมื่อเทียบกับการได้รับปรอทอย่างเดียวหรือการได้รับแคดเมี่ยมอย่างเดียว โดยแสดงด้วย

เครื่องหมาย ● และ ✲ ตามลำดับ ส่วนการได้รับแมงกานีสร่วมกับแคดเมี่ยมพบว่ามีผลกระตุ้น enzyme activity เพิ่มขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการได้รับแต่ละตัวอย่างเดียว

5. ผลของการให้ dithiothreitol (DTT) ต่อการยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชั่น ของ แคดเมี่ยม, ปรอท และแมงกานีส

ผลของการให้ DTT ร่วมในปฏิกิริยาพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง state 3 respiration ของ แคดเมี่ยม, ปรอท และ แคดเมี่ยม + ปรอทลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) (แสดงด้วยเครื่องหมาย *) ทั้งเมื่อให้ก่อนและหลังให้เติมโลหะหนักลงในปฏิกิริยาและการเติม DTTลงไปก่อนให้ปรอทและแคดเมี่ยมอย่างเดียว หรือให้ร่วมกันปฏิกิริยาจะคืนกลับได้มากกว่าการให้ DTT หลังจากให้โลหะหนัก

ผลของ DTT ต่อการคืนกลับของปฏิกิริยาต่อแมงกานีส และแมงกานีสร่วมกับแคดเมี่ยม ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง state 3 respiration ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เช่นเดียวกัน แสดงด้วยเครื่องหมาย * และผลของการให้ DTT ก่อนหรือหลังไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

6. ผลของการให้ ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) ต่อการยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชั่นของแคดเมี่ยม, ปรอท และแมงกานีส

ผลของการให้EDTAพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของstate 3 respiration ของแคดเมี่ยมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย * แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของปรอทไม่ลดลง ส่วนในปฏิกิริยาที่มีปรอทร่วมกับแคดเมี่ยม เปอร์เซ็นต์การยับยั้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แสดงด้วยเครื่องหมาย * ผลของการให้ EDTA ก่อนหรือหลังให้แคดเมี่ยม ไม่แตกต่างกันชัดเจน

ผลต่อแมงกานีสอย่างเดียว เมื่อให้ร่วมกับแคดเมี่ยมของ EDTA ต่อกระบวนการดังกล่าวพบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ EDTA ก่อนให้แมงกานีส แต่ไม่มีนัยสำคัญเมื่อให้ EDTA หลังจากให้แมงกานีส