

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากผลการวิจัยในบทที่ 3 แสดงให้เห็นว่า gemfibrozil มีผล 2 แบบ ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียได้แก่ แบบที่ 1 gemfibrozil ออกฤทธิ์เป็น uncoupler กระตุ้นการหายใจ state 4 ของไมโทคอนเดรีย (รูปที่ 16, 17 และ 18) และแบบที่ 2 gemfibrozil ออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนของลูกโซ่การหายใจทำให้การหายใจใน state 3 และ 3u มีอัตราลดลงด้วย (รูปที่ 17 และ ตารางที่ 7 ตามลำดับ) ส่วนผลของ gemfibrozil ต่อการทำงานอื่น ๆ ของไมโทคอนเดรียซึ่งแสดงไว้ในผลวิจัยบทที่ 3 คือ gemfibrozil สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรีย (ดังตารางที่ 16), กระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากไมโทคอนเดรีย (รูปที่ 25) แต่ไม่ยับยั้ง activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase เมื่อใช้ benzylamine เป็น substrate (รูปที่ 27) นอกจากนี้ยังพบว่าทั้ง gemfibrozil และ clofibric acid ให้ผลคล้ายคลึงกันในการออกฤทธิ์กระตุ้นการหายใจ state 4 และยับยั้งการหายใจ state 3 และ 3u ของไมโทคอนเดรียด้วย (รูปที่ 28)

ผลของ gemfibrozil ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย

จากที่กล่าวมาข้างต้นว่า gemfibrozil ออกฤทธิ์เป็นทั้ง uncoupler และ respiratory chain inhibitor ในที่นี้จะกล่าวถึงผลดังกล่าวรวมทั้งกลไกการออกฤทธิ์ที่น่าจะเป็นไปได้โดยแบ่งเป็น 2 หัวข้อดังนี้

1. Gemfibrozil ออกฤทธิ์เป็น uncoupler

เนื่องจากมีสารหลายชนิด ตัวอย่างเช่น DNP สามารถก่อภาวะ uncoupling หรืออีกนัยหนึ่งเกิดการไม่ควบคุมของกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน และกระบวนการฟอสโฟรีเลชันของไมโทคอนเดรียขึ้น การเกิดภาวะดังกล่าวนี้ทำให้ไมโทคอนเดรียไม่สามารถสร้าง ATP ได้ แม้ไมโทคอนเดรียมีการใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็ว ในการขนส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจก็ตาม นักวิจัยได้จำแนกประเภทของ uncouplers โดยอาศัยคุณสมบัติทางเคมีของสารแต่ละชนิดและลักษณะการออกฤทธิ์ ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท (48) คือ

1. 'Classical' หรือ 'true' หรือ 'DNP-like' หรือ 'proton ionophore' uncouplers.

ส่วนใหญ่สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญ คือเป็นกรดอ่อน มี pKa ระหว่าง 4.5-6.5 (49) ละลายในไขมันได้ดี (lipophilic) และเป็น proton ionophore เมื่อสารนี้ผ่านเยื่อหุ้มของไมโทคอนเดรียเข้าไป จะทำลาย protonmotive force ทำให้โปรตอนผ่านเข้าไปในไมโทคอนเดรียได้อย่างอิสระโดยไม่ต้องผ่านเข้าทาง proton channel ของ ATPsynthase เสมือนว่าผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย permeable ต่อโปรตอน

ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ได้แก่ DNP, FCCP (carbonyl cyanide 4-trifluoromethoxyphenylhydrazone) และ TBI (tribromoimidazole)

2. Alkali-metal ionophore

สารกลุ่มนี้เป็น antibiotics ที่ได้จากธรรมชาติ มีสูตรโมเลกุลเป็น macrocyclic และมีคุณสมบัติชักนำให้ cation อื่นนอกเหนือจากโปรตอน (เช่น K^+) เคลื่อนผ่านเข้าสู่ไมโทคอนเดรียได้อย่างอิสระ กลไกคือสาร uncoupler กลุ่มนี้จะจับกับ cation เกิดเป็น lipophilic complex ซึ่งสามารถเคลื่อนผ่านผนังชั้นในเข้าไปในไมโทคอนเดรีย ผลคือ มีการทำลาย protonmotive force และก่อภาวะ uncoupling ขึ้น

ตัวอย่างสาร ได้แก่ gramicidin, tyrothricin, tyrocidin, valinomycin.

3. 'Indirect' uncouplers

สารกลุ่มนี้ไม่มีคุณสมบัติจำเพาะ จะประกอบด้วยสารหลายประเภทแตกต่างกันไป แต่ก็ยังก่อภาวะ uncoupling โดยออกฤทธิ์เลียนแบบ true uncoupler ตัวอย่างสาร ได้แก่

3.1 Desaspidin

Desaspidin เป็นผลิตภัณฑ์จากพืชมี phenolic group เป็นองค์ประกอบ สารนี้ออกฤทธิ์เป็น uncoupler โดยการจับกับโปรตีนจำเพาะของไมโทคอนเดรียที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการฟอสฟอริเลชัน คือ F_1 -ATPase ทำให้ไมโทคอนเดรียไม่สามารถสร้าง ATP ได้

3.2 Picrate และ tetraphenyl boron

สารกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์ ที่มีประจุลบจึงไม่แทรกผ่าน (penetrate) ผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย การออกฤทธิ์เป็น uncoupler เกิดโดยการจับกับ submitochondrial particle ซึ่งเป็นไมโทคอนเดรียที่ผนังชั้นในของมันกลับด้าน (inside-out) สัมผัสกับ medium

3.3 Inorganic ions บางตัว เช่น arsenite, cadmium.

ไอออนเหล่านี้จะจับกับ sulfhydryl group (-SH) ของไมโทคอนเดรียและก่อภาวะ uncoupling

ข้อแตกต่างของ 'indirect' uncoupler กับ 'classical' uncoupler คือ 'indirect' uncoupler ไม่กระตุ้น activity ของเอนไซม์ ATPase ในขณะที่ 'classical' uncoupler สามารถกระตุ้นได้

จากผลการวิจัยในบทที่ 3 พบว่า gemfibrozil มีฤทธิ์ uncoupling โดย gemfibrozil สามารถกระตุ้นการหายใจ state 4 ของไมโทคอนเดรีย ความแรงของการกระตุ้นแปรผันตามขนาดยาที่เติมลงไป (รูปที่ 16) และการออกฤทธิ์เป็น uncoupler นี้เกิดในทุกกรณีของการใช้ substrate 3 ชนิด ซึ่งให้ reducing equivalent เข้าที่ complex ต่างๆ กันของลูกโซ่การหายใจ เมื่อพิจารณาสูตรโครงสร้างของ gemfibrozil (รูปที่ 1) จะเห็นว่าสูตรโครงสร้างของ gemfibrozil เป็นอนุพันธ์ของกรดไฟบริก ซึ่งเป็นกรดอ่อนเช่นเดียวกับ classical uncoupler ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อนเช่นกัน (50) เมื่อพิจารณาผลของ gemfibrozil ต่อ activity ของเอนไซม์ ATPase (ตารางที่ 16) พบว่า gemfibrozil สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ATPase ได้ และมีความแรงของการตอบสนองแปรผันตามความเข้มข้นของยาที่ใช้ ข้อมูลนี้ชี้แนะว่า gemfibrozil น่าจะจัดเป็น 'classical' uncoupler ทั้งนี้เนื่องจาก 'indirect' uncoupler ไม่สามารถกระตุ้น activity ของเอนไซม์ ATPase ได้ เหตุผลที่ gemfibrozil มีฤทธิ์อ่อนกว่า DNP มาก ในการกระตุ้นเอนไซม์ ATPase ยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่า gemfibrozil มีฤทธิ์เป็น uncoupler อ่อนกว่า DNP มาก เนื่องจากสารนี้อาจละลายในไขมันได้น้อยกว่า DNP ทำให้เคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโทคอนเดรียได้ไม่ดี

เมื่อพิจารณาผลของการเปลี่ยนแปลง pH ใน incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ gemfibrozil ต่อการหายใจ state 4 ของไมโทคอนเดรีย (ตารางที่ 12) จะเห็นว่า gemfibrozil สามารถกระตุ้นการหายใจ state 4 ได้มากขึ้น เมื่อทำการทดลองใน medium ที่มี pH เป็นกรดโดย gemfibrozil จะออกฤทธิ์เป็น uncoupler ได้ที่ pH 6.8 มากกว่าที่ pH 7.2 และ 7.6 ตามลำดับ เนื่องจากที่ pH 6.8 gemfibrozil จะอยู่ในรูป unionized form มากกว่าที่ pH 7.2 และ 7.6 ซึ่ง unionized form จะละลายในไขมันได้ดี จึงผ่านผนังชั้นในของไมโทคอนเดรียเข้าสู่ matrix ได้ง่ายและออกฤทธิ์เป็น uncoupler ได้ดี

2. Gemfibrozil ออกฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor

นอกจาก gemfibrozil จะมีฤทธิ์เป็น uncoupler แล้วยังมีฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor หรือสารยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโทคอนเดรียอีกด้วย สารที่ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจจะยับยั้งการหายใจ state 3 และ 3u จากผลวิจัยรูปที่ 17 และ 18 ซึ่งแสดง dose-response curve ของ gemfibrozil ต่อการหายใจ state 4,3 และ 3u ของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้ substrates คือ glutamate + malate และ succinate ตามลำดับ พบว่าเมื่อใช้ glutamate + malate ซึ่งให้ reducing equivalent เข้าที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจเป็น substrate gemfibrozil ออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจใน state 3 และ 3u แต่เมื่อเปลี่ยน substrate เป็น succinate พบว่า gemfibrozil กระตุ้นการหายใจ state 4 แต่ไม่ยับยั้งการหายใจ state 3 และ 3u ของไมโทคอนเดรีย ผลดังกล่าวชี้แนะว่า gemfibrozil ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนที่ complex I แต่ไม่ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนที่ complex อื่นของลูกโซ่การหายใจ จึงได้ทำการวิจัยหาข้อมูลสนับสนุนโดยทำการทดลองดูผล gemfibrozil ในการยับยั้ง state 3u ของไมโทคอนเดรีย ซึ่งทำทั้งใน intact และ osmotic-shocked mitochondria (ตารางที่ 7 และ 8 ตามลำดับ) พบว่าใน intact mitochondria ซึ่งถูกกระตุ้นให้เกิด state 3u โดยการเติม DNP แล้วดูผลของ gemfibrozil ต่อการหายใจเมื่อใช้ substrates 3 ชนิด แต่ละชนิดให้ reducing equivalent เข้าที่ complex ต่าง ๆ กันของลูกโซ่การหายใจ ผลที่ได้คือ gemfibrozil ยับยั้งการหายใจ state 3u เมื่อใช้ glutamate + malate เป็น substrate เท่านั้น ผลนี้ไม่เกิดในการทดลองที่ใช้ succinate และ ascorbate + TMPD เป็น substrates ส่วนการทดลองกับ osmotic-shocked mitochondria ซึ่งไมโทคอนเดรียอยู่ในสภาวะ uncoupling อยู่แล้วจึงไม่ต้องเติม DNP ไปกระตุ้น แล้วดูผลของ gemfibrozil ต่อการหายใจ state 3u โดยใช้

substrates 3 ชนิดเช่นเดียวกับใน intact mitochondria ผลคือ gemfibrozil ยับยั้งการหายใจ state 3u เมื่อใช้ NADH เป็น substrate (NADH เป็น reducing equivalent จาก NAD^+ -linked substrate เช่น glutamate + malate สามารถให้อิเล็กตรอนเข้าที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจได้โดยตรง) แต่ไม่ยับยั้ง state 3u เมื่อใช้ succinate และ ascorbate+TMPD เป็น substrate ผลนี้สนับสนุนว่า gemfibrozil ออกฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor ที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจ การทดลองอื่นที่ช่วยสนับสนุนความคิดข้างต้น คือ การดูผลของ gemfibrozil ต่อการหายใจ state 3 และ 3u ของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ substrate ตัวอื่น ซึ่งเป็น NAD^+ -linked substrate เช่นเดียวกับ glutamate + malate ซึ่งในที่นี้ใช้ β -hydroxybutyrate และ α -ketoglutarate (ดังตารางที่ 9 และ 10 ตามลำดับ) ผลที่ได้คือ gemfibrozil ยับยั้งการหายใจทั้ง state 3 และ 3u เมื่อใช้ NAD^+ -linked substrate ทั้ง 3 ชนิด จากผลการวิจัยที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนี้ ทำให้สรุปได้ว่า gemfibrozil แยกจากจะออกฤทธิ์เป็น uncoupler แล้วยังออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจอีกด้วย

จากการที่ gemfibrozil กระทบต่อการหายใจ state 4 และยับยั้งการหายใจ state 3 ของไมโทคอนเดรีย ทำให้ค่า RCI ของไมโทคอนเดรีย ลดลง ดังข้อมูลในตารางที่ 6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า gemfibrozil มีผลให้ค่า RCI ลดลงหรืออีกนัยหนึ่ง gemfibrozil ลดการควบคุมกันของกระบวนการออกซิเดชัน และกระบวนการฟอสฟอริเลชันลง เป็นผลให้การสร้าง ATP โดยไมโทคอนเดรีย เกิดน้อยลง

คุณสมบัติของ gemfibrozil ประการหนึ่งที่น่าสนใจ คือ เมื่อ gemfibrozil เข้าสู่ร่างกาย ประมาณ 97-99% ของยาที่เข้าสู่ร่างกายจะจับ

กับโปรตีนในซีรัม (11, 13) ซึ่งได้แก่ albumin ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองดูผลของ bovine serum albumin (BSA) ต่อการออกฤทธิ์ของ gemfibrozil ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย ดังผลวิจัยในรูปที่ 22 ซึ่งแสดงว่าเมื่อให้ gemfibrozil ร่วมกับ BSA เปรียบเทียบผลกับกรณีที่ไม่เติม BSA ผลคือ BSA สามารถลดผลของ gemfibrozil ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลนี้สนับสนุนรายงานวิจัยที่ว่า gemfibrozil จับได้ดีกับ serum albumin เนื่องจาก BSA เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ซึ่งไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโทคอนเดรียได้ การที่ BSA สามารถลดฤทธิ์ของ gemfibrozil ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียได้ ชี้แนะว่า gemfibrozil ควรจะมีบริเวณออกฤทธิ์ที่ matrix และ/หรือที่ในผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย

การทดลองดูผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ gemfibrozil (รูปที่ 23 และตารางที่ 15) ทำเพื่อพิสูจน์ว่า gemfibrozil ออกฤทธิ์ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียโดยการจับกับ sulphhydryl group (-SH) ของไมโทคอนเดรียหรือไม่ ทั้งนี้เพราะ DTT มีคุณสมบัติป้องกัน -SH group และเนื่องจาก -SH group มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์บางชนิด รวมทั้งการทำงานของโปรตีนที่ผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย ซึ่งควบคุมการขนส่งสารผ่านเข้า-ออกจากไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อการควบคุมกันของกระบวนการออกซิเดชันและกระบวนการฟอสโฟรีเลชันอีกด้วย (53-55) จากผลการทดลองพบว่า DTT ไม่สามารถลดผลของ gemfibrozil ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย แสดงว่า gemfibrozil ไม่ได้ออกฤทธิ์ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยผ่านกลไกการจับกับ -SH group ของไมโทคอนเดรีย แต่อย่างใด

ผลของ gemfibrozil ต่อการทำงานอื่นของไมโทคอนเดรีย

1. ผลของ gemfibrozil ต่อ ATPase activity

จากผลวิจัยบทที่ 3 รูปที่ 24 และตารางที่ 16 แสดงให้เห็นว่า gemfibrozil ยับยั้ง activity ของเอนไซม์ ATPase ของไมโทคอนเดรียที่ถูกกระตุ้นด้วย DNP ได้และกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียเมื่อไม่เติม DNP ด้วย แต่ฤทธิ์ของ gemfibrozil ในการกระตุ้น ATPase activity นี้อ่อนกว่า DNP มาก ในการวิจัยนี้ใช้ DNP ในปริมาณที่สามารถก่อการกระตุ้น ATPase activity ได้สูงสุด จากผลที่ได้ทำให้สามารถบ่งชี้ได้ว่า gemfibrozil มีฤทธิ์ 2 แบบ คือ มีฤทธิ์ก่อการกระตุ้นและยับยั้ง activity ของเอนไซม์ ATPase ได้แต่จะออกฤทธิ์แบบใดนั้นขึ้นกับภาวะ (condition) ของการทำการทดลองโดยถ้า ATPase activity ถูกกระตุ้นเต็มที่อยู่แล้วด้วยการให้ DNP gemfibrozil จะแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง ATPase activity แต่ความแรงของ gemfibrozil ในการออกฤทธิ์ยับยั้ง activity ของเอนไซม์ ATPase ที่ถูกกระตุ้นด้วย DNP นี้จัดว่าน้อยมาก เมื่อเทียบกับฤทธิ์ของ oligo-mycin

ส่วนกรณีที่ไม่เติม DNP ลงไปกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียก่อน ซึ่งในภาวะนี้ไมโทคอนเดรียจะมี ATPase activity ที่ต่ำมาก พบว่า gemfibrozil สามารถกระตุ้น activity ของเอนไซม์ ATPase ได้ และผลดังกล่าวนี้ช่วยสนับสนุนว่า gemfibrozil ควรจะมีคุณสมบัติเป็น classical uncoupler

2. ผลของ gemfibrozil ต่อการสะสมและการปลดปล่อยแคลเซียมของไมโทคอนเดรีย

การทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาผลของ gemfibrozil ที่มีต่อการสะสมและการปลดปล่อยแคลเซียมของไมโทคอนเดรียโดยใช้ substrate 2 ชนิด

คือ glutamate + malate และ succinate นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบกับ DNP ซึ่งเป็น uncoupler ทำให้เกิดการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากไมโทคอนเดรียหลังจากเกิดการสะสมไว้แล้ว (56, 57) ผลจากการวิจัยแสดงในบทที่ 3 รูปที่ 25 และรูปที่ 26 ซึ่งใช้ substrate คือ glutamate + malate และ succinate ตามลำดับ จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า gemfibrozil กระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากไมโทคอนเดรียอย่างรวดเร็วทั้งในกรณีที่ใช้ glutamate + malate และ succinate เป็น substrate นอกจากนี้ผลดังกล่าว ยังเกิดทั้งในกรณีที่ preincubate gemfibrozil กับไมโทคอนเดรียก่อนเติม CaCl_2 และในกรณีที่ปล่อยให้ไมโทคอนเดรียสะสมแคลเซียมไว้นาน 5 นาที แล้วจึงเติม gemfibrozil ผลของ gemfibrozil ในการกระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากไมโทคอนเดรียนี้คล้ายคลึงกับผลของ DNP แต่ DNP ให้ผลในการกระตุ้นแรงกว่า gemfibrozil เล็กน้อย เนื่องจาก gemfibrozil มีฤทธิ์ uncoupling ที่อ่อนกว่า DNP มาก แต่กลับมีผลในการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากไมโทคอนเดรียได้แรงใกล้เคียงกับ DNP ดังนั้นจึงไม่น่าเป็นไปได้ว่าฤทธิ์การกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมของ gemfibrozil เป็นผลสืบเนื่องจากฤทธิ์ uncoupling แต่เพียงอย่างเดียว อาจเป็นไปได้ว่า gemfibrozil มีฤทธิ์โดยตรงต่อกระบวนการขนส่งแคลเซียมของไมโทคอนเดรียโดยมีผลต่อการทำงานของโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งแคลเซียม (calcium efflux mechanism) เนื่องจากแคลเซียมเป็นไอออนที่มีความสำคัญมากต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม และการทำงานของเซลล์ต่าง ๆ ฤทธิ์การกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากไมโทคอนเดรียของ gemfibrozil จึงเป็นฤทธิ์ที่น่าสนใจและสมควรที่จะได้รับการศึกษาต่อไป เพื่อให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ทั้งผลกระทบของฤทธิ์ดังกล่าวต่อกระบวนการ calcium homeostasis ภายในเซลล์

3. ผลของ gemfibrozil ต่อ activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase.

การทดลองนี้ดูผลของ gemfibrozil ต่อ activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่กึ่งชั้นนอกของไมโทคอนเดรีย และทำหน้าที่ออกซิไดส์สารโมโนเอมีน ในการทดลองนี้ใช้ benzylamine เป็น monoamine substrate และใช้ pargyline ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้ง activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase เป็นมาตรฐานในการประเมินผลของ gemfibrozil จากผลวิจัยแสดงในรูปที่ 27 และตารางที่ 17 ซึ่งให้เห็นว่า gemfibrozil ไม่ยับยั้ง activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase ของไมโทคอนเดรีย

การเปรียบเทียบผลของ gemfibrozil และ clofibric acid ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย

เนื่องจาก clofibrate จัดเป็นเยาต้นแบบ (prototype) ของยาในกลุ่มอนุพันธ์กรดไฟบริก มีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด และมี active form ที่ออกฤทธิ์ในร่างกายคือ clofibric acid ดังนั้นจึงนำ clofibric acid มาทำการทดลองศึกษาเปรียบเทียบกับ gemfibrozil ถึงผลของยาทั้งสอง ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย ดังผลในรูปที่ 28 ส่วนผลในตารางที่ 18, 19 และ 20 แสดงผลของยาทั้งสองที่มีต่อการหายใจ state 4, 3 และ 3u ตามลำดับ ผลวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่ายาททั้งสองตัวออกฤทธิ์ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย ในแบบเดียวกัน คือกระตุ้นการหายใจ state 4 หรืออาจกล่าวว่ามีฤทธิ์เป็น uncoupler และสามารถยับยั้งการหายใจ state 3 และ 3u การที่ clofibric acid ออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ state 3u ชี้แนะว่าสารนี้มีฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor แต่ตำแหน่งการออกฤทธิ์จะอยู่ที่ complex I เช่นเดียวกับ gemfibrozil หรือไม่ จำเป็นจะต้องทำการศึกษาต่อไป

ความแรงในการตอบสนองของยาทั้งสอง เมื่อใช้ขนาดยาเท่ากันนั้นแตกต่างกันโดย gemfibrozil ให้ผลในการยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียได้มากกว่า clofibric acid อนึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่า dose ของ clofibrate ที่ใช้ในการรักษาเพื่อให้ผลลดระดับไขมันในเลือดมีขนาดสูงกว่า dose ของ gemfibrozil (1)

ความเกี่ยวข้องระหว่างผลวิจัยที่ได้กับคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา และ/หรือพิษวิทยาของ gemfibrozil

จากผลวิจัยที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนี้ เราสามารถนำข้อสรุปที่ได้มาใช้ในการประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และ/หรือพิษวิทยาของ gemfibrozil ได้แม้ว่าผลการทดลองทั้งหมดนี้จะไม่ได้ทำการศึกษาในคน แต่ทำในสัตว์ทดลอง (หนูขาว) ก็ตาม โดยทั่วไปแล้วในการศึกษาวิจัยทางเภสัชวิทยา นิยมใช้สัตว์ทดลองเป็น model ในการศึกษาและนักวิจัยจะไม่แปรผลการทดลองที่ได้ไปสู่คนอย่างตรงไปตรงมา แต่จะนำผลที่ได้มาประเมินร่วมกับข้อมูลที่มีอยู่ และนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยต่อไป หากผลวิจัยที่ได้ชี้แนะว่าเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางพิษวิทยาของยา นักวิจัยได้ตั้งข้อสังเกตไว้ว่าควรระวังการเกิดผลพิษดังกล่าวขึ้นในคนที่ใช้ยานั้น และควรดำเนินการศึกษาติดตามผลของการใช้ยานั้นในคนต่อไปด้วย

ผลวิจัยสรุปได้ว่า gemfibrozil ออกฤทธิ์ 2 แบบ คือเป็น classical uncoupler และเป็น respiratory chain inhibitor ที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจของไมโทคอนเดรีย ทำให้การหายใจใน state 3 มีอัตราการลดลงและลดการควบคุมของกระบวนการออกซิเดชัน กับกระบวนการฟอสฟอริเลชันลง ฤทธิ์ดังกล่าวทั้งหมดนี้สามารถส่งผลให้การสร้าง ATP เกิดได้น้อยลงโดยทั่วไปเซลล์ใช้ ATP เป็นแหล่งพลังงานหลักในกระบวนการสังเคราะห์,

กระบวนการสลาย, การคัดหลัง, การขนส่งแบบ active transport ฯลฯ ภายในเซลล์ (58) เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของยา gemfibrozil ในการลดปริมาณไขมันในเลือดเกิดที่เซลล์ตับเป็นหลัก โดย gemfibrozil จะยับยั้งการสังเคราะห์ VLDL และยับยั้งการหลั่ง VLDL ออกจากเซลล์ตับเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า การที่ gemfibrozil ไปลดปริมาณ ATP ในเซลล์ตับ อาจส่งผลให้พลังงานที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ และกระบวนการหลั่ง VLDL จากเซลล์ตับมีน้อยลง ผลคือ กระบวนการทั้งสองเกิดได้ช้าลงหรือน้อยลง ทำให้ระดับ VLDL ในเลือดลดลงหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าฤทธิ์ของ gemfibrozil ในการเป็น uncoupler และ respiratory chain inhibitor อาจเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของยาในระดับโมเลกุล เมื่อพิจารณาในเชิงชีววิทยา การที่ gemfibrozil ออกฤทธิ์ลดการสร้าง ATP ในเซลล์ตับนี้ นอกจากจะลดการสังเคราะห์และการหลั่ง VLDL ที่เซลล์ตับแล้ว ยังอาจมีผลข้างเคียงลด activity ของ กระบวนการอื่น ๆ ที่สำคัญในเซลล์ตับด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสร้างเอนไซม์ การสร้างโปรตีนต่าง ๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของ organelle ต่าง ๆ ในเซลล์ ดังนั้น gemfibrozil จึงอาจก่อพิษต่อเซลล์ตับได้ในกรณีที่ใช้ยานี้ติดต่อกันเป็นเวลานาน จากข้อมูลทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ของยา ยังไม่มีรายงานพบการสะสมของ gemfibrozil ในร่างกาย และประมาณ 97-99% ของยาที่เข้าสู่ร่างกายจับกับโปรตีน (albumin) ในพลาสมา ข้อมูลนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยนี้ ซึ่งพบว่า BSA สามารถลดผลของ gemfibrozil ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียได้ ข้อมูลดังกล่าวนี้ช่วยอธิบายได้ว่า gemfibrozil ในขนาดที่ใช้ในการรักษานี้ไม่ก่อพิษรุนแรงต่อตับ อาจเนื่องจากปริมาณส่วนใหญ่ของยาที่เข้าสู่ร่างกายจับกับ albumin ในพลาสมา แต่นักวิจัยก็ยังให้ระมัดระวังโอกาสการเกิดพิษต่อตับ จากการใช้นานติดต่อกันเป็นเวลานานและยังมีคำแนะนำให้ตรวจสอบการทำงานของตับเป็นระยะ ๆ ตามความเหมาะสม เช่น การตรวจวัดปริมาณเอนไซม์ SGOT, SGPT ในเลือดเป็นต้น (59, 60) โดยที่ gemfibrozil เพิ่งถูกนำออกมาจำหน่ายในท้องตลาดไม่เกินระยะเวลา 10 ปี จึงมีรายงานเกี่ยวกับความปลอดภัยและอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยานี้ ไม่มากนักที่จะสรุปถึงการเกิดพิษต่อตับจากยา gemfibrozil ได้.