บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองในบทที่ 3 แสดงให้เห็นว่า amiodarone มีฤทธิ์สองอย่างต่อการหายใจของไมโตคอนเดรีย คือ กระตุ้นการใช้ออกซิเจนในระยะแรกหรือมีฤทธิ์อันคับปลิง (uncoupling) นั่นเอง และต่อมาตามด้วยการยับยั้งการหายใจในระยะหลัง (รูปที่ 14) นอกจากผลดังกล่าวแล้วยังพบว่า amiodarone สามารถกระตุ้น ATPase activity ของไมโตคอนเดรีย (ตารางที่ 6) รวมทั้งยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยม (รูปที่ 27) แต่ไม่มีผลยับยั้ง MAO activity เมื่อใช้ tyramine เป็นสับสเตรท (รูปที่ 28) สิ่งที่จะอภิปรายต่อไปนี้ จะกล่าวถึงแนวทางที่เป็นไปได้หรือกลไกการกระตุ้นและยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone ควรเป็นอย่างไร และผลเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหรือพิษวิทยาของ amiodarone อย่างไร

กลไกการเกิดอันคับปลิงในระยะแรก และตามด้วยการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียที่เกิดเนื่องจากฤทธิ์ของ amiodarone

มีสารจำนวนมากรวมทั้งยาบางชนิดที่สามารถทำให้เกิดอันคับปลิงหรือการไม่ควบคู่กันระหว่างการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจกับการสังเคราะห์ ATP ของไมโตคอนเดรีย สารที่รู้จักกันดี เช่น DNP, CCCP เป็นต้น ในปัจจุบันยังไม่ทราบถึงกลไกการเกิดอันคับปลิงของกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชั่นที่แท้จริง (56) แต่สามารถแบ่งสารเหล่านี้ออกได้หลายกลุ่มตามลักษณะทางเคมีและการออกฤทธิ์ของสาร (56-57) ดังนี้ 1) classical หรือ proton-ionophore uncouplers เช่น DNP เป็นต้น สารกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน pKa อยู่ระหว่าง 4.5 - 6.5 มีลักษณะการออกฤทธิ์ที่คล้ายกันคือจะทำให้มีการสลายของ electrochemical gradients ของ H^+ เนื่องจากสามารถนำ H^+ ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียโดยไม่ผ่าน H^+-channel ของ F_1F_o complex 2) alkali-metal ionophores เช่น valinomycin สามารถรบกวนความสมดุลของอิออนเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็น K^+-ionophore ซึ่งนำ K^+ ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย ทำให้เกิดการสลายของ transmembrane electrochemical gradients ซึ่งจำเป็นสำหรับการควบคู่ของปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชั่นของไมโตคอนเดรีย คือสารกลุ่มนี้จะทำให้พลังงานที่ได้จากการออกซิไดซ์ของสับสเตรท แทนที่จะถูกนำไปสังเคราะห์ ATP กลับต้องนำ

มาใช้ในการนำ cations เข้าสู่ไมโตคอนเดรียแทน 3) indirect uncouplers สามารถออกฤทธิ์เลียนแบบฤทธิ์ของ classical uncouplers ได้ด้วยกลไกต่าง ๆ กัน เช่น จับกับโปรตีนเฉพาะ (specific protein) ที่อยู่ในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียซึ่งอาจเป็น binding sites ของ uncouplers เช่น picrate หรืออาจจะจับกับ sulfhydryl groups ที่สำคัญแล้วทำให้เกิดสภาวะอันคับปลิง เช่น แคดเมี่ยม, arsenite เป็นต้น พบว่าฤทธิ์ของสารทั้งสองชนิดนี้จะ reverse ได้โดย dithiols ส่วนกรดไขมันสามารถทำให้สูญเสียการควบคุมการหายใจได้เช่นเดียวกัน โดยเชื่อว่ากรดไขมันจะทำปฏิกิริยากับโครงสร้างที่สำคัญของผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังชั้นในและเกิดสภาวะอันคับปลิงตามมา พบว่าสารกลุ่ม indirect uncouplers จะไม่มีผลกระตุ้น ATPase activity อย่าง classical uncouplers

จากผลการวิจัยพบว่า amiodarone มีฤทธิ์อันคับปลิงหรือสามารถกระตุ้น state 4 respiration ของไมโตคอนเดรีย และฤทธิ์การกระตุ้นนี้ไม่ถูกยับยั้งโดย oligomycin (รูปที่ 17) ลักษณะดังกล่าวนี้จะคล้ายกับฤทธิ์ของ DNP เพียงแต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า DNP มาก นอกจากนี้ amiodarone ยังสามารถกระตุ้น ATPase activity ของไมโตคอนเดรีย ซึ่งผลการกระตุ้นนี้จะถูกยับยั้งโดย oligomycin เช่นเดียวกับ DNP (ตารางที่ 6) จากผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า amiodarone มีคุณสมบัติบางประการที่คล้าย DNP ซึ่งเป็น classical uncoupler แต่อย่างไรก็ตามพบว่า มีกรณีที่มีความแตกต่างระหว่างสารทั้งสองชนิดคือ การเปลี่ยนแปลงของ pH แทบจะไม่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์อันคับปลิงของ amiodarone (รูปที่ 21) ซึ่งต่างกับที่เคยมีรายงานถึงผลของ pH ต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ในการทำให้เกิดอันคับปลิงของไมโตคอนเดรีย (46,58) ดังนั้นจึงอาจจะเป็นไปได้ที่กลไกการเกิดอันคับปลิงในระดับโมเลกุลของ amiodarone ต่างกับ DNP การที่ฤทธิ์ในการทำให้เกิดอันคับปลิงโดย amiodarone ไม่ถูกยับยั้งโดย oligomycin แสดงให้เห็นว่า ฤทธิ์อันคับปลิงที่เกิดขึ้นไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ ATPsynthase ทั้งนี้เนื่องจาก oligomycin เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดฟอสฟอริลเลชั่นของ ADP ในไมโตคอนเดรีย โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ATPsynthase สารในกลุ่ม uncouplers สามารถทำให้เกิดการไม่ควบคู่กันระหว่างการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจกับการสังเคราะห์ ATP คือแยกทั้งสองกระบวนการออกจากกันนั่นเอง ดังนั้นจึงพบว่า ถึงแม้การเกิดฟอสฟอริลเลชั่นจะถูกยับยั้งโดย oligomycin แต่ DNP ก็ยังคงสามารถกระตุ้นให้ไมโตคอนเดรียออกซิไดซ์สับสเตรทต่อไปได้อย่างอิสระ และมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งการออกฤทธิ์ของ amiodarone น่าจะเป็นไปในลักษณะดังกล่าวนี้ด้วย และเมื่อนำผลการทดลองอื่น ๆ มาพิจารณาประกอบกันจะได้ข้อมูลที่สอดคล้องกันดังนี้คือ amiodarone ทำให้มีการลดลงของทั้งค่า RCI และอัตราส่วน ADP/O (ตารางที่ 3) ซึ่งแสดงถึงการเกิดการไม่ควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟ-

ฟอสฟอริลเลชั่นและมีการสังเคราะห์ ATP ลดลงตามลำดับ นอกจากนี้ยังส่งผลให้มีสารสลายตัวของ ATP มากขึ้นโดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ATPase (ตารางที่ 6)

สำหรับกลไกการทำให้เกิดอันคับปลิงหรือการกระตุ้น state 4 respiration ของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone นี้ มีผู้เสนอว่า (44) amiodarone ที่อยู่ใน incubation medium จะมีบางส่วนอยู่ใน protonated form ซึ่งมีคุณสมบัติ lipophilic สามารถผ่านผนังชั้นในเข้าสู่ไมโตคอนเดรียได้ และเมื่ออยู่ใน matrix protonated form ของ amiodarone นี้จะปลดปล่อย H^+ ออกมา คือทำให้เกิดอันคับปลิงของไมโตคอนเดรียโดยทำหน้าที่คล้าย protonophore นั่นเอง แต่เมื่อพิจารณาจากผลการวิจัยที่ได้ (บทที่ 3) มีข้อคัดค้านกับข้อเสนอดังกล่าวคือ เมื่อทดลองโดยใช้ incubation medium ที่มี pH ต่าง ๆ กัน กลับพบว่า pH แทบจะไม่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์อันคับปลิงของ amiodarone เลย (รูปที่ 21) ดังนั้น จึงอาจจะเป็นไปได้ว่า การกระตุ้น state 4 respiration ของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone อาจต้องอาศัยกลไกอื่น ๆ ร่วมด้วยนอกจาก protonophoric effect หรืออาจจะไม่มีการปลดปล่อย H^+ ออกมาใน matrix หลังจาก protonated form ผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียแล้ว ผลอันคับปลิงที่เกิดขึ้นอาจเกิดเนื่องจาก amiodarone ที่ผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย สามารถจับกับโปรตีนที่สำคัญในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับ energy conservation mechanism ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเหล่านั้น หรือ amiodarone อาจจะจับกับ binding sites ของ uncoupler แล้วส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรีย โดยไม่มีการปลดปล่อย H^+ ออกมา เนื่องจากเคยมีรายงานของการพบ high affinity binding sites ของ uncouplers ที่ผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย (59) และจากผลการวิจัยนี้สามารถชี้ให้เห็นว่าการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียที่เกิดขึ้นโดย amiodarone ไม่ได้เกิดจากการที่ amiodarone ไปจับกับ sulfhydryl groups ซึ่งมีความสำคัญต่อการควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริล-เลชั่น เนื่องจาก dithiothreitol (DTT) ซึ่งเป็นตัวป้องกัน sulfhydryl groups ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์อันคับปลิงของ amiodarone (รูปที่ 18 C) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าฤทธิ์ของ amiodarone ในการทำให้เกิดอันคับปลิงจำเป็นต้องอาศัย sulfhydryl groups ในไมโตคอนเดรียด้วย ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองในรูปที่ 18 D DTNB ซึ่งเป็นสารพวก disulfide ที่สามารถจับกับ sulfhydryl groups ได้ จะทำให้ฤทธิ์อันคับปลิงของ amiodarone ลดน้อยลง และ sulfhydryl groups ที่ DTNB ไปทำปฏิกิริยาด้วยนี้ควรอยู่ที่ผิวด้านนอก (outer surface) ของผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย เนื่องจาก DTNB จะแตกตัวเป็นโมเลกุลที่มีประจุลบที่ pH 7.2 จึงไม่ควรที่จะเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้

เมื่อพิจารณาผลของ amiodarone ต่อ ATPase activity (ตารางที่ 6) พบว่า amiodarone สามารถกระตุ้นเอนไซม์ดังกล่าวได้ แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า DNP และเมื่อให้ amiodarone ร่วมกับ DNP กลับพบว่า amiodarone ทำให้ฤทธิ์การกระตุ้น ATPase activity ของ DNP ลดน้อยลง ขนาดของ DNP ที่ใช้ในที่นี้เป็นขนาดที่สามารถกระตุ้น ATPase activity ของไมโตคอนเดรียได้สูงสุด เมื่อพิจารณาประกอบกัน ข้อมูลดังกล่าวอาจจะสามารถบ่งบอกได้อย่างคร่าว ๆ ว่า amiodarone มีฤทธิ์ทั้งกระตุ้นและยับยั้ง ATPase activity ในเวลาเดียวกัน เมื่อให้ร่วมกับ DNP ซึ่งทำให้มีการกระตุ้น ATPase activity ได้สูงสุดแล้ว ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวโดย amiodarone จึงเด่นชัดขึ้นมา เนื่องจาก ATPase activity ที่ถูกกระตุ้นโดย amiodarone หรือโดย DNP ต่างถูกยับยั้งด้วย oligomycin ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าฤทธิ์การกระตุ้น ATPase ของ amiodarone อาจเกี่ยวข้องกับฤทธิ์อันคับปลิงในทำนองเดียวกับ DNP ส่วนฤทธิ์การยับยั้ง ATPase อาจเป็นฤทธิ์โดยตรงของ amiodarone ต่อเอนไซม์นี้

หลังจากที่มีการกระตุ้นการหายใจในระยะแรก ๆ แล้ว amiodarone ยังสามารถยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียในระยะต่อมา (ทั้ง state 4, state 3 และ state 3u respiration) เมื่อใช้สับสเตรทชนิดต่าง ๆ กันคือ NAD^+-linked substrates และ succinate แต่ไม่มีผลยับยั้งการหายใจเมื่อใช้ ascorbate + TMPD เป็นสับสเตรท (รูปที่ 14, 19-20 และตารางที่ 4) จากผลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า amiodarone สามารถยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย โดยจะยับยั้งที่ระดับของ complex I และ complex II และ/หรือยับยั้งที่ complex III แต่ไม่มีผลยับยั้ง complex IV เนื่องจากมีรายงานว่า amiodarone ไม่ยับยั้ง complex III จากการทดลองโดยใช้ duroquinol เป็นสับสเตรท ซึ่งส่งอิเลคตรอนเข้าสู่ complex III โดยตรง (44) ดังนั้นการที่ amiodarone ยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียเมื่อใช้ NAD^+-linked substrates ต่าง ๆ และ succinate แสดงว่า amiodarone ออกฤทธิ์ยับยั้งที่ complex I และ complex II

สำหรับกลไกการเกิดการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียในระยะหลังโดย amiodarone อาจเกิดเนื่องจากความสามารถในการผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียของ amiodarone จนถึงความเข้มข้นที่มากเพียงพอในการทำปฏิกิริยา หรือจับกับโปรตีนและ phospholipids ที่สำคัญในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย แล้วส่งผลให้เกิดการยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนใน complex I และ complex II ของลูกโซ่การหายใจ มีหลักฐานหลายประการที่แสดงให้เห็นว่ามีความจำเป็นของการผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียของ amiodarone แล้วทำให้เกิดการยับยั้งการหายใจดังกล่าว เช่น 1) พบการสะสมของ amiodarone ใน

ไมโตคอนเดรีย 2) การ incubate ไมโตคอนเดรียด้วย amiodarone ร่วมกับ tetraphenylboron ซึ่งเป็น lipophilic anion จะสามารถเพิ่มการสะสมของ amiodarone ในไมโตคอนเดรีย ส่งผลให้มีการเพิ่มทั้งฤทธิ์อันคับปลิงและฤทธิ์การยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone (44) 3) จากผลการทดลองในรูปที่ 14 ชี้ให้เห็นว่าจะต้องใช้เวลาสักระยะหนึ่ง จึงจะมีการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียเกิดขึ้น ซึ่ง lag peroid นี้อาจใช้ในการนำ amiodarone เข้าสู่ไมโตคอนเดรียจนได้ความเข้มข้นที่มากพอในการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรีย และเป็นที่น่าสังเกตว่า การยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียจะเห็นชัดเมื่อใช้ amiodarone ในขนาดสูง (เปรียบเทียบกับการทำให้เกิดอันคับปลิงของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone) 4) เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone (รูปที่ 22) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะที่อุณหภูมิสูงจะส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของอัตราการเคลื่อนที่ของ amiodarone เข้าสู่ไมโตคอนเดรีย

เมื่อพิจารณาถึงผลของ pH แล้วพบว่าamiodarone สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรีย หรือยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจได้ดีที่ pH 7.0 มากกว่า 7.2 และ 7.4 ตามลำดับ (รูปที่ 21) ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า protonated form ของ amiodarone มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ของ amiodarone และเป็นรูปที่สามารถผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียได้ดี

โดยทั่วไปแล้ว sulfhydryl groups ในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียมีความสำคัญต่อการทำงานของผนังชั้นในอย่างมาก เช่น ควบคุม permeability ของผนังชั้นใน, การควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชั่น, การทำงานของเอนไซม์ ATPsynthase และการขนส่งของอิออนต่าง ๆ เป็นต้น (60-62) แต่จากผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของ amiodarone ในการยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย ทั้งที่ complex I และ complex II ไม่เกี่ยวข้องกับหรือไม่ได้จับกับ sulfhydryl groups เนื่องจาก DTT ซึ่งเป็นสารป้องกัน sulfhydryl groups ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ของ amiodarone ในการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรีย (รูปที่ 23-24) ปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจจะมีผลต่อการออกฤทธิ์ของ amiodarone ที่ได้ทำการศึกษาในการวิจัยนี้คือ Mg^{2+} และ bovine serum albumin (BSA) ในกรณีของ Mg^{2+} (รูปที่ 25) พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $MgCl_2$ ใน incubation medium จาก 0 - 9.42 mM ไม่มีผลเปลี่ยนแปลง state 3u respiration แสดงว่า การขนส่งอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจไม่เปลี่ยนแปลง แต่ในกรณีของ amiodarone พบว่าการลด Mg^{2+} เพิ่มฤทธิ์การยับยั้ง state 4 respiration ของสารนี้ คำอธิบายอย่างหนึ่งที่อาจเป็นไปได้ก็คือ เมื่อเพิ่ม Mg^{2+} ใน medium ขึ้นจะทำให้ Mg^{2+} จับกับผิวด้านนอกของผนังชั้นในของไมโต-

คอนเดรียได้มากขึ้น เนื่องจาก Mg^{2+} มีประจุ +2 ดังนั้นจึงเกิดแรงผลักกันระหว่างประจุบวกของ Mg^{2+} กับประจุบวกของ protonated form ของ amiodarone ทำให้สารนี้เคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้ยากขึ้น ในกรณีของ BSA (รูปที่ 26) ให้ผลการทดลองที่น่าแปลกใจ กล่าวคือการเพิ่มปริมาณของ BSA ใน medium นอกจากจะไม่ยับยั้งหรือลดฤทธิ์แล้ว ยังเพิ่มฤทธิ์ของ amiodarone ในการยับยั้ง state 4 respiration อีกด้วย ในขณะนี้กลไกที่อาจเป็นไปได้ในการที่ BSA เพิ่มฤทธิ์ของ amiodarone ยังไม่ทราบ เนื่องจาก BSA เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ ไม่สามารถจะเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้ ดังนั้นจึงไม่น่าเป็นไปได้อย่างยิ่งว่า BSA อาจทำให้ความเข้มข้นของ amiodarone ในไมโตคอนเดรียเพิ่มขึ้น โดยการที่ BSA จับกับ amiodarone แล้ว BSA-amiodarone complex ที่เกิดขึ้นเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้ดีกว่า amiodarone เอง

ปกติแล้วไมโตคอนเดรียสามารถสะสมแคลเซียมได้โดยอาศัยพลังงานที่ได้จากการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจ หรือใช้พลังงานจาก protonmotive force นั่นเอง amiodarone สามารถยับยั้งการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียโดยแคลเซียม (รูปที่ 27) ทั้งนี้เนื่องจากสารชนิดนี้ยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนที่ระดับของ complex I และ complex II ในลูกโซ่การหายใจ ดังนั้นจึงไม่เกิด electrochemical gradients ที่จำเป็นสำหรับใช้ในการนำแคลเซี่ยมเข้าสู่ไมโตคอนเดรียโดยผ่าน Ca^{2+}-uniporter และการยับยั้งการขนส่งแคลเซี่ยมที่เกิดขึ้นนี้ ไม่ได้เกิดจากการที่ amiodarone ไปมีผลยับยั้งการทำงานของ Ca^{2+}-uniporter รวมอยู่ด้วย โดยพิจารณาจากผลการทดลองในรูปที่ 27 amiodarone ในขนาดที่สามารถยับยั้งการใช้ออกซิเจนใน state 3u respiration ให้ลดลงประมาณครึ่งหนึ่ง จะยับยั้งอัตราการกระตุ้นการใช้ออกซิเจนโดยแคลเซี่ยมให้ลดลงครึ่งหนึ่งเช่นเดียวกัน ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า การยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดย Ca^{2+} ควรเป็นผลที่เกิดจากการที่ amiodarone ยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียแต่เพียงอย่างเดียว

ผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 5 ชี้แนะว่า ถึงแม้ว่า amiodarone ในขนาดสูง สามารถยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียในระยะหลังก็ตาม แต่ว่าฤทธิ์อันคับปลิงในช่วงนี้ยังคงมีอยู่ คือ เมื่อศึกษาโดยใช้ ascorbate + TMPD เป็นสับสเตรทซึ่งส่งอิเลคตรอนเข้าสู่ cytochrome C โดยตรง การส่งผ่านอิเลคตรอนจึงไม่ถูกยับยั้งโดย amiodarone ดังนั้นจึงพบการกระตุ้นการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียโดย amiodarone เช่นเดียวกับ DNP ผลเหล่านี้จะต่างกับกรณีใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็นสับสเตรท

ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต่าง ๆ ของ amiodarone ต่อไมโตคอนเดรีย กับการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และพิษวิทยาของ amiodarone

เคยมีรายงานว่า การเกิด adverse effects จากการใช้ amiodarone มีความสัมพันธ์กับ diethylaminoethoxy group และ lipophilic side chain ของ amiodarone นอกจากนี้สารดังกล่าวยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phospholipase ใน lysosome ทำให้เกิด lysosomal phospholipidosis ดังที่กล่าวไว้ในบทที่ 1 และเนื่องจาก amiodarone เป็นสารที่สะสมในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้สูง เช่น ตับ ปอด หัวใจ สามารถผ่านเข้าสู่ไมโตคอนเดรียและสะสมอยู่ใน organelle ชนิดนี้ได้ ทำให้เกิดการยับยั้งหน้าที่ต่าง ๆ ของไมโตคอนเดรีย เช่น การส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจและการออกซิไดซ์ของกรดไขมัน ผลเหล่านี้อาจจะเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รวมทั้งอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ amiodarone ก็ได้

จากการที่ amiodarone มีฤทธิ์อันคับปลิง และในขนาดสูงขึ้นสามารถยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย นอกจากนี้ amiodarone ยังเพิ่มการสลายของ ATP มากขึ้นโดยการกระตุ้น ATPase activity ฤทธิ์เหล่านี้ทั้งหมด อาจจะทำให้ปริมาณของ ATP ภายในเซลล์ลดน้อยลงได้ เนื่องจาก ATP เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทำงานของเซลล์และการหดตัวของกล้ามเนื้อทุกชนิด ดังนั้นการลดลงของ ATP ภายในเซลล์ที่เกิดจากฤทธิ์ของ amiodarone สามารถส่งผลให้มีการคลายตัวของกล้ามเนื้อต่าง ๆ เช่น การคลายตัวของหลอดเลือด coronary ที่เลี้ยงหัวใจซึ่งเป็นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างหนึ่งของ amiodarone นอกจากผลดังกล่าวแล้ว การลดการสังเคราะห์ ATP ที่เกิดขึ้นอาจจะมีส่วนทำให้อาการของ congestive heart failure แย่ลงในผู้ป่วยบางคน หรืออาจสามารถใช้อธิบายการตายของเซลล์ตับ และการเกิดพิษต่อตับเนื่องจากการใช้ amiodarone ในขนาดสูงและ/หรือเป็นเวลานานได้ อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้มีหลักฐานมากเพียงพอ และได้คำตอบที่ชัดเจนยิ่งขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลใช้อธิบายฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของ amiodarone

กล่าวโดยสรุปแล้ว การวิจัยนี้พบว่า amiodarone มีฤทธิ์สองอย่างต่อกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรีย ฤทธิ์อันคับปลิงรวมทั้งฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase activity ของ amiodarone จะมีลักษณะบางอย่างคล้าย DNP กลไกที่ amiodarone กระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดจาก protonophoric effect หรือไม่ และเมื่อมีการสะสมของ amiodarone ในไมโตคอนเดรีย จะส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียตามมา โดยมีการการยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจที่ระดับ

ของ complex I และ complex II ยังไม่ทราบถึงกลไกในระดับโมเลกุลของการยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียที่เกิดขึ้นจาก amiodarone แต่อาจเกิดจากการที่ amiodarone สามารถทำปฏิกิริยาหรือจับกับส่วนสำคัญในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย ที่มีผลต่อการควบคุมการทำงานของไมโตคอนเดรีย แล้วทำให้มีการยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียตามมา และจากการที่ DTT ไม่มีผลลดฤทธิ์อันคับปลิงหรือฤทธิ์ยับยั้งที่ลูกโซ่การหายใจ แสดงว่า amiodarone ไม่ได้ออกฤทธิ์ดังกล่าวโดยการจับกับ sulfhydryl group ของไมโตคอนเดรีย