

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

การศึกษาผลของสารสกัดบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
ที่ถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าในลำไส้เล็กส่วนอิลีียมของหนู

The effect of barakol on electrical field stimulation-evoked contraction
of isolated rat ileum

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร. จัตรศรี เดชะปัญญา

ผศ.ดร. วัชรวิรรณ ทองสะอาด

อ.สพ.ญ.ดร. สุทธาสินี ปุญญโชติ*

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ถนนสุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ ๑ 10110

*ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ ๑ 10330

แหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัย

งบรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประจำปี 2543

615.323931
จ235ร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	2
Abstract	3
บทนำ	4
วัตถุประสงค์	8
วัสดุอุปกรณ์	9
วิธีการทดลอง	11
ผลการทดลอง	12
วิจารณ์ผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	26



การศึกษาผลของสารสกัดบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ที่ถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าในลำไส้เล็กส่วนอเลียมของหนู

บทคัดย่อ

บาราคอลเป็นสารสกัดสำคัญจากใบและดอกซีเหล็กซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านเพื่อรักษาและบรรเทาอาการต่าง ๆ เช่น ลดไข้ รักษาโรคเบาหวาน และใช้เป็นยาระบาย จากรายงานการวิจัยพบว่า บาราคอลมีฤทธิ์ในการคลายเครียดและต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง จากการศึกษาต่อมาในหลอดทดลองพบว่าบาราคอลสามารถลดการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองส่วนสไตราตัม จึงเป็นที่น่าสนใจว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาททางเดินอาหารซึ่งประกอบด้วยระบบประสาทมากมายรวมทั้งระบบประสาทโดปามีนที่มาควบคุมการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนอเลียมของหนูขาวทั้งในสภาวะพักและในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า ผลการทดลองพบว่า การให้บาราคอลความเข้มข้น $10\ \mu\text{M}$ – $1\ \text{mM}$ สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กในสภาวะพัก โดยหดตัวมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของบาราคอล เมื่อให้บาราคอลที่ความเข้มข้น $100\ \mu\text{M}$ ก่อนเป็นเวลา 5 นาทีพบว่าบาราคอลสามารถต้านฤทธิ์ของนอร์อิพิเนฟรินที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ โดยลดผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยนอร์อิพิเนฟรินจาก 72 % เหลือ 29 % แต่ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งโดยโดปามีน จากการศึกษากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นโดยสนามไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลต์ ความถี่ 20 เฮิรตซ์ กระตุ้นนาน 10 วินาที พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อถูกยับยั้งโดยสมบูรณ์ด้วยสารซาทิไทอกซิน และถูกยับยั้งโดยสารอาโทรปีน 75 % แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อส่วนใหญ่อยูภายใต้การทำงานของระบบประสาท cholinergic การให้บาราคอลที่ความเข้มข้น 10 , 50 และ $100\ \mu\text{M}$ มีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้น $500\ \mu\text{M}$ และ $1\ \text{mM}$ กลับมีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยผ่านการทำงานของระบบประสาท นอกจากนี้การให้บาราคอลที่ความเข้มข้น $100\ \mu\text{M}$ ก่อนเป็นเวลา 5 นาที สามารถต้านฤทธิ์ของนอร์อิพิเนฟรินที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ผ่านการทำงานของระบบประสาท โดยลดผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยนอร์อิพิเนฟรินจาก 39 % เหลือ 12 % แต่ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งโดยโดปามีนเช่นเดียวกันกับในสภาวะพัก จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดบาราคอลที่ได้จากใบและดอกซีเหล็กออกฤทธิ์โดยตรงเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กของหนูขาวในสภาวะพัก และที่ความเข้มข้นต่ำยังมีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อที่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาท cholinergic ผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อสามารถต้านฤทธิ์ของนอร์อิพิเนฟรินที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ จากผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางการแพทย์ที่สำคัญในการพิจารณานำบาราคอลไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก ในแง่ของการกระตุ้นการขับเคลื่อนตัวของลำไส้เล็ก หรือนำไปใช้ร่วมกับยาระบายแผนปัจจุบัน

The effect of barakol on electrical field stimulation-evoked contraction of isolated rat ileum

Abstract

Barakol, an active constituent extracted from the plant *Cassia siamea*, has been shown to inhibit dopamine release from brain striatum in central nervous system. In enteric nervous system, an increase in intestinal motility by prokinetic drugs is mediated by increasing cholinergic or decreasing dopaminergic activities. It is of interest to study whether barakol exerts modulatory effect on gastrointestinal function mediated by enteric nervous system. Therefore, the possible effects of barakol on spontaneous contraction and neurotransmitter-mediated contraction of longitudinal smooth muscle were investigated in the isolated rat ileum. Application of barakol (10 μ M-1 mM) to the bathing solution increased atropine-sensitive spontaneous contractions in concentration dependent manner. Pretreatment of tissue with barakol (100 μ M) significantly suppressed the inhibitory effect of norepinephrine (NE, 10 μ M) on spontaneous contraction from 72% to 29% but not the inhibitory effect of dopamine (DA, 10 μ M). Under condition where smooth muscle contraction was elicited by electrical field stimulation (EFS; 10 Hz, 50 V, 10 sec duration), the muscle contraction was completely blocked by saxitoxin (0.3 μ M) and 75 % blocked by atropine (1 μ M). Application of barakol to the bathing solution produced different responses. Low concentration of barakol (10 μ M - 100 μ M) stimulated whereas high concentration of barakol (100 μ M - 1 mM) inhibited the component of atropine- and saxitoxin-sensitive contraction elicited by EFS. NE or DA at the concentration of 1 μ M inhibited the EFS-induced contraction by 39 % or 4 %, respectively. In the presence of barakol (100 μ M), the NE-inhibited muscle contraction was significantly reduced to 12 % whereas the DA-inhibited muscle contraction was not affected by barakol pretreatment. These results demonstrate the direct stimulatory effect of barakol on spontaneous and cholinergically mediated smooth muscle contraction in isolated rat ileum. The stimulatory effect of barakol potentially reduces the inhibition of contraction mediated by adrenergic neurotransmission. These findings may provide preliminary data for clinical application of barakol as a potential prokinetic drug especially in preventing or reducing the gastrointestinal function mediated by adrenergic activity.

ชี้เหล็ก

ชี้เหล็ก (*Cassia siamea*) เป็นพืชพื้นบ้านที่ปลูกมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งในประเทศไทย พม่า อินเดีย และมาเลเซีย ส่วนต่าง ๆ ของต้นชี้เหล็กได้ถูกนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านเพื่อรักษาโรคและอาการต่าง ๆ เช่น รากนำมาใช้ลดไข้ เปลือกนำมาใช้รักษาโรคผิวหนังบางชนิด เมล็ดใช้รักษาโรคเบาหวาน ผลใช้รักษาโรคเบาหวานและใช้เป็นยาระบาย ส่วนใบอ่อนและดอกนำมาใช้รักษาโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง และที่ใช้กันแพร่หลายที่สุดคือใช้เป็นยาแก้อาการนอนไม่หลับ ในประเทศไทยยังใช้ใบอ่อนและดอกมาปรุงอาหารด้วย การศึกษาผลทางเภสัชวิทยาของใบและดอกชี้เหล็กเริ่มมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1949 โดย ศ.พญ. อุไร อรุณลักษณะนา ได้นำใบชี้เหล็กมาสกัดด้วยเอธานอลและป้อนแก่สัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดเอธานอลจากใบชี้เหล็กมีผลลดการทำงานของระบบประสาท ลดความรุนแรงของการชักที่กระตุ้นโดยยาstrykine และเพิ่มแรงตึงตัวของกล้ามเนื้อลำไส้และหัวใจ

โครงสร้างทางเคมีและผลทางชีววิทยาของบาราคอล

ในปลายปี ค.ศ.1969 ได้พบสารออกฤทธิ์สำคัญที่สกัดได้จากใบและดอกชี้เหล็กและตั้งชื่อสารสำคัญนี้ว่า "บาราคอล (barakol)" (Hassanali - walji *et al.*, 1969) ปีต่อมาได้มีการเสนอโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีของบาราคอล โดยมีชื่อทางเคมีว่า 3a, 4-dihydro-3a, 8-dihydroxy-2, 5-dimethyl-1, 4-dioxaphenalene ($C_{13}H_{12}O_4$) (Bycroft *et al.*, 1970) นอกจากสารบาราคอล ยังมีสารอื่น ๆ อีกมากที่พบในใบและดอกชี้เหล็ก เช่น anthraquinones, alkaloids, flavonoids, chromones, terpenoids, aloe-emodin, anhydrobarakol, arabinose, β -sitosterol, dihydronaphthalenone และ luteolin (Wagner *et al.*, 1987; Biswas and Mallik, 1986; Ingkaninan *et al.*, 2000)

มีรายงานการศึกษาวิจัยถึงผลของบาราคอลต่อการทำงานของระบบต่าง ๆ มากมาย อาทิเช่น บาราคอลมีผลด้านการเจริญของแบคทีเรียทั้งกรัมบวกและกรัมลบเพียงเล็กน้อย (Gritsanapan *et al.* 1989) สำหรับระบบไหลเวียนโลหิตและหลอดเลือดพบว่าบาราคอลสามารถลดความดันโลหิตในหนูและกระต่าย (Suwan *et al.*, 1992) และลดอัตราการเต้นของหัวใจรวมทั้งความดันเลือดในสัตว์ทดลองที่ทำให้สับสนได้ (Momose *et al.*, 1996) นอกจากนี้บาราคอลยังมีผลลดการหดตัวของเส้นเลือดทอแรกซิกที่ถูกกระตุ้นโดยสารเพนนิลเอฟฟริน (Suwan *et al.*, 1992)

ผลของบาราคอลต่อระบบประสาทส่วนกลางนั้นได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง มีรายงานถึงการฉีดบาราคอลเข้าทางช่องท้อง (10-100 mg/kg, i.p) พบว่ามีผลลดการทำงานของสาร 5-hydroxytryptophan ที่กระตุ้นให้เกิดพฤติกรรมก้าวร้าว (Jantarayota, 1987; Tongroach *et al.*, 1992) และลดพฤติกรรมเคลื่อนไหวในหนูถีบจักร (Jantarayota, 1987; Kaokeaw, 1992) แต่เมื่อให้บาราคอลในปริมาณสูงชันกลับมีผลกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทและทำให้ชักตายในที่สุด บาราคอล (75-150 mg/kg, i.p) มีผลเพิ่มพฤติกรรมหมุนตัวที่ถูกกระตุ้นโดยสารอะโปมอร์ฟินในหนูที่ถูกทำลายสมองส่วนสโตรอาตัม (striatum) (Jantarayota, 1987; Tongroach *et al.*, 1992) นอกจากนี้บาราคอล (100-200 mg/kg, i.p) ยังสามารถลดความเจ็บปวดในหนูถีบจักรเมื่อทดสอบบนแผ่นความร้อน (Jantarayota, 1987, Tongroach *et al.*, 1992)

เมื่อไม่นานมานี้ทีมผู้วิจัยพบว่าบาราคอล (10 -50 mg/kg, i.p) มีฤทธิ์ลดความเครียดในหนูขาวเมื่อทดสอบด้วย elevated plus maze คล้ายกับฤทธิ์ของยาไดอะซีแพม (diazepam) นอกจากนี้บาราคอลยังมีผลเพิ่มพฤติกรรมเคลื่อนที่และสำรวจ (locomotor and exploratory behaviors) ซึ่งไม่พบในยา diazepam (Thongsaard

et al, 1996a) การศึกษาต่อมาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของบาราคอลในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าบาราคอลออกฤทธิ์ต่อการทำงานของระบบประสาทโดปามีนผ่านตัวรับ D_2 (D_2 -like receptor) โดยมีฤทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมผ่านทางตัวรับ D_2 ที่ปลายประสาทส่วนหลังจุดประสาท (postsynaptic receptor) ซึ่งบาราคอลขนาดต่ำ (10 mg/kg) ออกฤทธิ์ในการลดความเครียด (anxiolytic and exploratory behaviors) ในขณะที่บาราคอลขนาดสูง (75 mg/kg) มีฤทธิ์สงบระงับ (sedation) และบาราคอลที่ความเข้มข้น 10-100 μ M ยังมีฤทธิ์ในการลดการหลั่งสารโดปามีนผ่านทางตัวรับ D_2 ที่ปลายประสาทส่วนก่อนจุดประสาท (presynaptic receptor) ด้วย (Thongsard et al. 1997) จากการศึกษาโดยใช้เทคนิคไมโครไดอะไลซิส (microdialysis technique) พบว่าบาราคอลขนาด 10 และ 100 mg/kg มีผลลดระดับโดปามีนในสารละลายภายนอกเซลล์ซึ่งการลดระดับโดปามีนนี้ไม่ได้เป็นผลมาจากการเพิ่มการดูดกลับ (reuptake) ของโดปามีนจากปลายประสาท (Thongsard et al, 1996b) จากรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความเครียดกับการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทในสมองพบว่า การเกิดความเครียดนอกจากจะเกิดจากความผิดปกติของระดับสารสื่อประสาทประเภท GABA และ serotonin (5-HT) แล้ว การมีระดับโดปามีนสูงน่าจะส่งผลในการเพิ่มความเครียดได้ (Biggio et al., 1990; Puglisi-Allegra et al., 1991; Imperato et al., 1993) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์ลดความเครียดโดยมีผลเปลี่ยนแปลงการหลั่งสารสื่อประสาทตัวใดตัวหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับความเครียด

จากรายงานการศึกษาวิจัยถึงผลและกลไกการออกฤทธิ์ของบาราคอลที่มีต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system, CNS) ที่ผ่านมา จึงเป็นที่น่าสนใจว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral nervous system, PNS) ในลักษณะคล้ายคลึงหรือแตกต่างจากระบบประสาทส่วนกลาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบประสาททางเดินอาหาร (enteric nervous system, ENS) ที่ประกอบด้วยระบบประสาทหลายชนิดที่ควบคุมการทำงานภายในระบบทางเดินอาหารเอง โดยไม่ต้องอาศัยการควบคุมจากระบบประสาทภายนอก (extrinsic innervation)

ลักษณะโครงสร้างของลำไส้เล็ก

โครงสร้างของทางเดินอาหารส่วนลำไส้เล็ก ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเรียงตัวเป็นชั้นรวม 4 ชั้น แต่ละชั้นมีหน้าที่แตกต่างกัน ดังนี้ (1) ชั้นเยื่อเมือก (mucosa) เป็นชั้นที่อยู่ด้านในสุดติดกับท่อทางเดินอาหาร (lumen) ถูกปกคลุมไปด้วยส่วนของเซลล์เยื่อบุผิวที่มีรูปร่างกระบอก (columnar epithelium) ซึ่งเป็นส่วนที่มีความสำคัญในการดูดซึมสารอาหาร น้ำ และอิเล็กโทรไลต์ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ขับหลั่งสาร ฮอริโมน และสารสำคัญบางชนิดสำหรับช่วยย่อย ในชั้นเยื่อเมือกนี้ยังประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเนื้อเยื่อตอมน้ำเหลืองจำนวนมากมาย อยู่ในชั้นที่เรียกว่า lamina propria ทำหน้าที่ทำลายสิ่งแปลกปลอม และเชื้อโรคที่ถูกดูดซึมมากับสารอาหาร นอกจากนี้ยังพบส่วนของเนื้อเยื่อที่มีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อเรียบเรียกว่า muscularis mucosa การหดตัวของกล้ามเนื้อชั้นนี้ทำให้ผิวด้านในของท่อทางเดินอาหารพับเป็นลูกคลื่น ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารได้ดียิ่งขึ้น (2) ชั้นใต้เยื่อเมือก (submucosa) เป็นชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ประกอบด้วยเส้นประสาท ต่อมต่าง ๆ ที่ทำหน้าที่หลั่งสาร และเส้นเลือดที่มาเลี้ยงท่อทางเดินอาหาร สารอาหารที่ถูกดูดซึมผ่านเซลล์ในชั้น epithelium จะผ่านเข้าสู่กระแสเลือดในชั้นนี้ ในชั้นใต้เยื่อเมือกนี้มีกลุ่มเซลล์ประสาทที่สำคัญคือ Miessner's plexus หรือ Submucosal plexus ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ประสาทของทางเดินอาหาร (ENS) ที่ควบคุมการทำงานของชั้นเยื่อบุผิว (epithelium) ในการควบคุมการดูดซึมสารน้ำ และอาหาร สำหรับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก เช่น หนูตะเภา หนูขาว นั้น กลุ่มเซลล์ประสาท Miessner's

plexus ยังมีหน้าที่ควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ในชั้นถัดไปด้วย (3) ชั้นกล้ามเนื้อเรียบ (muscularis externa) ทำหน้าที่สำคัญในการหดตัวอย่างเป็นจังหวะเพื่อขับเคลื่อนอาหารไปยังส่วนท้าย (aboral direction) ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบที่เรียงตัว 2 ลักษณะคือ กล้ามเนื้อที่เรียงตัวตามยาว (longitudinal smooth muscle layer) และเรียงตัวเป็นวงแหวน (circular smooth muscle layer) โดยที่ระหว่างกล้ามเนื้อ 2 ชั้นนี้มีกลุ่มเซลล์ประสาทชนิด Auerbach's plexus แทรกอยู่ ซึ่งเป็นเส้นประสาทหลักที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อทั้งสองชั้นนี้ (4) ชั้นเยื่อหุ้มทางเดินอาหาร (serosa) เป็นชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบาง ๆ ที่อยู่นอกสุด ทำหน้าที่เป็นเพียงเครื่องห่อหุ้มทางเดินอาหาร เป็นทางผ่านของหลอดเลือด ท่อน้ำเหลือง และเส้นประสาทจากภายนอก (extrinsic nerve) (Kutchai, 1996) ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไป

การควบคุมการบีบตัวของลำไส้โดยระบบประสาทของทางเดินอาหาร

การเคลื่อนตัวของทางเดินอาหารมีหลายรูปแบบโดยมีวัตถุประสงค์ในการช่วยย่อยอาหาร การคลุกเคล้า และการดูดซึมสารอาหารได้ดียิ่งขึ้น การเคลื่อนตัวของลำไส้ชนิด peristalsis มีบทบาทสำคัญที่สุดในการเคลื่อนอาหารจากลำไส้ส่วนต้นไปยังส่วนปลายสุดของลำไส้ การเคลื่อนตัวแบบ peristalsis เกิดจากการหดตัวที่ประสานกันระหว่างกล้ามเนื้อเรียบตามยาว (longitudinal smooth muscle) และกล้ามเนื้อเรียบชนิดวงแหวน (circular smooth muscle) ที่อยู่ในผนังของทางเดินอาหาร การทำงานของทางเดินอาหารนั้นอยู่ภายใต้การควบคุมจากปัจจัยหลัก 4 ประการคือ (1) การควบคุมอัตโนมัติจากกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหาร (autonomous smooth muscle function) (2) ระบบประสาทภายในทางเดินอาหาร (intrinsic nerve) (3) ระบบประสาทภายนอกทางเดินอาหาร (extrinsic nerves) และ (4) ฮอโมนจากทางเดินอาหาร เป็นที่น่าสังเกตว่าการเคลื่อนตัวของทางเดินอาหารแบบ peristalsis สามารถเกิดขึ้นได้ถึงแม้จะมีการแยกลำไส้ออกมาจากร่างกาย แสดงให้เห็นถึงการทำงานดังกล่าวสามารถถูกควบคุมโดยตรงจากระบบประสาท ENS และ การควบคุมอัตโนมัติจากกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหารเป็นหลัก (Costa et al., 1992)

ระบบประสาททางเดินอาหาร (ENS) เป็นระบบประสาทที่ถูกพิจารณาว่าเป็นส่วนหนึ่งของระบบประสาทส่วนปลาย (PNS) ประกอบไปด้วยเซลล์ประสาทประมาณ 10 ล้านเซลล์ซึ่งอยู่ภายในผนังลำไส้โดยจะรวมตัวอยู่เป็นกลุ่ม เรียกว่า ganglionated neural plexuses ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก เช่น หนูตะเภา หรือ หนูขาว กลุ่มเซลล์ประสาทจะพบอยู่ที่ 2 บริเวณคือ (1) Miessner's plexus (submucosal plexus) อยู่ในชั้น submucosa ซึ่งจะส่งปลายประสาทมาเลี้ยงเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารเพื่อควบคุมให้มีการหลั่งสารช่วยย่อยต่าง ๆ รวมทั้งฮอโมน โดยอาหารที่ผ่านเข้ามาในลำไส้จะเป็นตัวกระตุ้นให้ปลายประสาทของ Miessner's plexus ที่เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารหลั่งสาร acetylcholine ไปกระตุ้นการหลั่งสารจากเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามการทำงานของ Miessner's plexus จะสามารถถูกควบคุมอีกทอดหนึ่งได้ด้วยเส้นประสาทซิมพาเธติกและเส้นประสาทพาราซิมพาเธติก (2) Auerbach's plexus (myenteric plexus) จะแทรกอยู่ระหว่างชั้นของกล้ามเนื้อตามยาวและกล้ามเนื้อตามขวาง ทำหน้าที่ควบคุมกล้ามเนื้อเรียบตามยาว และวงแหวน ให้หดตัวอย่างเป็นจังหวะสอดคล้องกันเพื่อที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนตัวของลำไส้ในการที่จะขับเคลื่อนอาหารไปยังทางเดินอาหารส่วนท้ายได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kutchai, 1996)

ตามปกติเซลล์ประสาทที่พบในระบบประสาท ENS แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ เซลล์ประสาทตัวรับ (sensory neurons) เซลล์ประสาทตัวกลาง (interneurons) และเซลล์ประสาทสั่งการ (motor neurons) โดยกลุ่ม

เซลล์ประสาททั้ง 3 กลุ่มจะทำงานประสานกันเพื่อควบคุมการทำงานของทางเดินอาหารบริเวณต่าง ๆ ตลอดทางเดินอาหาร รวมทั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งมีความสัมพันธ์กับการหลั่งน้ำย่อย และการดูดซึมอาหาร กลไกการควบคุมของ ENS ในการขับเคลื่อนอาหารแบบ peristalsis นั้น ค่อนข้างซับซ้อนโดยเริ่มต้นจากตัวรับรู้ของเซลล์ประสาททางกล (mechanoreceptor) ซึ่งพบได้ที่ผนังของท่อทางเดินอาหารถูกกระตุ้นด้วยการยืดจากก้อนอาหาร แล้วส่งสัญญาณไปยังเซลล์ประสาทตัวรับ จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งต่อไปยังเซลล์ประสาทสั่งการโดยมีจุดเชื่อมต่อสัญญาณคือเซลล์ประสาทตัวกลาง เซลล์ประสาทสั่งการเมื่อรับสัญญาณแล้วจะไปควบคุมเซลล์ประสาทชนิดต่าง ๆ ที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบในทางเดินอาหาร จากรายงานพบว่าจำนวนครึ่งหนึ่งของเซลล์ประสาทสั่งการที่ควบคุมส่วน longitudinal muscle ของลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ (colon) จะเป็นชนิด excitatory neurons ชนิด cholinergic และส่วนที่เหลือจะเป็นเซลล์ประสาทที่หลั่งสารสื่อประสาทชนิด tachykinins, substance P (SP) และ neurokinin A (Brookes and Costa, 1994) ส่วนเซลล์ประสาทสั่งการชนิด inhibitory neurons มีน้อยกว่า 3% ของจำนวนเซลล์ประสาทสั่งการที่มาเลี้ยง longitudinal smooth muscle ซึ่งส่วนใหญ่หลั่งสารสื่อประสาทชนิด vasoactive intestinal peptides (VIP) หรือ nitric oxide (NO) มาควบคุมจังหวะการหดตัวและการคลายตัวของกล้ามเนื้อ (Costa *et al.*, 1996; Porter *et al.*, 1997) จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าถ้าสัญญาณนั้นถูกส่งผ่านไปยังเซลล์ของ excitatory neurons จะกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว ในทางตรงกันข้ามถ้าเซลล์ของ inhibitory neurons เป็นเซลล์ประสาทสั่งการที่ไปยังกล้ามเนื้อเรียบจะพบว่ากล้ามเนื้อเรียบจะเกิดการคลายตัว จากการควบคุมของ ENS จะทำให้การหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของท่อทางเดินอาหารขณะที่มีก้อนอาหารอยู่นั้นเกิดขึ้นเป็นจังหวะ และทำให้เกิดการขับเคลื่อนของทางเดินอาหารเป็นแบบ peristalsis นอกจากระบบประสาทภายในทางเดินอาหารแล้ว การเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนตัวของลำไส้ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของการทำงานจากสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจากเส้นประสาทภายนอก และฮอร์โมนที่พบในทางเดินอาหารด้วย

ระบบประสาทภายนอก (extrinsic Innervation) จัดเป็นส่วนหนึ่งของระบบประสาทอัตโนมัติโดยประกอบด้วยเส้นประสาทจากระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system) และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nervous system) โดยจะมีบทบาทในการควบคุมการทำงานของทางเดินอาหารแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของทางเดินอาหาร และยังสามารถติดต่อรับสัญญาณและมีบทบาทในการควบคุมการทำงานของระบบประสาท ENS อีกด้วย

Sympathetic nervous system ที่มาเลี้ยงทางเดินอาหารมีจุดเริ่มต้นมาจากไขสันหลัง โดยปลายประสาทจะหลั่งสารสื่อประสาทชนิดนอร์อิพิเนฟริน (norepinephrine) ดังนั้นการกระตุ้นเส้นประสาทซิมพาเทติกจะเป็นการยับยั้งการทำงานเชิงกล และการหลั่งสารช่วยย่อยของลำไส้

Parasympathetic nervous system ที่มาเลี้ยงทางเดินอาหารตั้งแต่หลอดอาหารส่วนปลายจนถึง transverse colon นั้นเป็นส่วนที่ส่งผ่านมาจาก vagus nerve โดยที่ทางเดินอาหารส่วน descending colon, sigmoid colon, rectum และ anal canal จะถูกเลี้ยงด้วยเส้นประสาทที่มาจาก Pelvic nerve ระบบประสาท parasympathetic ที่มาเลี้ยงทางเดินอาหารมักจะเป็นเส้นประสาท cholinergic เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสามารถส่งสัญญาณติดต่อและควบคุมการทำงานของทางเดินอาหารโดยตรงที่อวัยวะเป้าหมาย เช่น กล้ามเนื้อ หรือต่อมต่าง ๆ ในทางเดินอาหาร หรือควบคุมโดยการส่งสัญญาณต่อไปยังระบบประสาท ENS โดยการส่งสัญญาณประสาท (synapse) ที่บริเวณ ganglion ของระบบประสาท ENS เนื่องจากเส้นประสาทของ parasympathetic nervous system ที่มาจาก vagus nerve เป็นเส้นประสาทผสมระหว่าง afferent และ efferent nerve fibers จึงทำให้มีการ

ส่งสัญญาณที่ได้รับมาจากตัวรับบางชนิด เช่น ตัวรับทางเคมี (chemoreceptor) ตัวรับความเจ็บปวด (pain receptor) ที่ปรากฏอยู่บนทางเดินอาหารชั้น mucosa และกล้ามเนื้อเรียบ ถูกปล่อยส่งผ่านไปยังทั้งระบบประสาทส่วนกลาง และ ระบบประสาท ENS ทำให้เกิดความสัมผัสและเชื่อมต่อการทำงานระหว่างระบบประสาทส่วนกลาง และระบบประสาททางเดินอาหารได้อีกด้วย (Furness et al., 1998) จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสื่อประสาท (classical neurotransmitters) ที่หลังจากปลายประสาทภายนอกที่มีบทบาทมากที่สุดในการควบคุมการทำงานของลำไส้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้แก่ acetylcholine (ACh), norepinephrine (NE), dopamine (DA) และ 5-Hydroxytryptamine (5-HT) โดยที่สารสื่อประสาทเหล่านี้อาจทำงานร่วมกับสารสื่อประสาทอื่นที่หลั่งออกมาจากเซลล์ประสาทของ ENS หรือออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหาร (Kutchai, 1996) สารสื่อประสาทจะออกฤทธิ์ต่อการทำงานของทางเดินอาหารได้หลายรูปแบบ แต่โดยส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์ในการเปลี่ยนแปลง excitability ของเซลล์ประสาทอีกตัวที่ถูก synapse (pre- or post-synaptic neurons) เพื่อที่จะหลั่งสารสื่อประสาทไปยังอวัยวะเป้าหมาย เนื่องจากตัวรับ adrenergic และ dopaminergic ที่พบในทางเดินอาหารมักพบอยู่บนเซลล์ประสาท postganglionic ของระบบประสาท cholinergic ที่อยู่ใน Myenteric plexus (Das et al., 1991) ดังนั้นการออกฤทธิ์ของสารสื่อประสาทในกลุ่ม catecholaminergic และ dopaminergic ต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อทางเดินอาหารมักจะออกฤทธิ์โดยยับยั้งการทำงานของเซลล์ประสาท ENS ชนิด cholinergic ซึ่งทำให้การเคลื่อนตัวแบบ transit ของทางเดินอาหารลดลง (Kunze and Furness, 1999) นอกจากนี้แล้วยังมีสารสื่อประสาทชนิดอื่น เช่น สารสื่อประสาท opioid ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของระบบประสาท cholinergic เช่นเดียวกัน (Kromer, 1990)

ในการให้ยาเพื่อออกฤทธิ์กระตุ้นการเคลื่อนตัวของทางเดินอาหาร (prokinetic drugs) โดยเฉพาะส่วนลำไส้ หรือเพื่อใช้เป็นยาระบาย เช่น ยา cisapride นั้น จะเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยที่มียฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของระบบประสาท dopaminergic จึงทำให้การทำงานของระบบประสาท ENS ชนิด cholinergic ส่วน post synaptic excitatory neurons สามารถออกฤทธิ์ได้อย่างเต็มที่ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อ ยาที่มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางโดยมีข้อบ่งใช้ในการรักษาอาการทางจิตนั้นมักจะมีฤทธิ์ข้างเคียงที่สำคัญต่อการทำงานของทางเดินอาหารด้วย (Misiewicz, 1993) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารสมุนไพรใดก็ตามที่ออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางอาจมีฤทธิ์ที่สำคัญต่อการทำงานของทางเดินอาหารที่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาท

วัตถุประสงค์การทดลอง

จากการศึกษาผลของบาราคอลในระบบประสาทพบว่า บาราคอลมีผลลดการทำงานของ 5-HT ที่กระตุ้นพฤติกรรมการสับัดหัวในหนูขาว (Jantarayota, 1987; Tongroach et al., 1992) และเมื่อไม่นานมานี้พบว่าบาราคอลสามารถลดการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองส่วนสไตราตัมของหนูขาว (Thongsaard et al., 1996; Thongsaard et al., 1997) แสดงให้เห็นถึงผลของบาราคอลที่มีต่อการหลั่งสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง จึงเป็นไปได้ว่า บาราคอลอาจจะมีผลต่อการหลั่งสารสื่อประสาทเหล่านี้ในระบบทางเดินอาหารด้วย เนื่องจากในทางเดินอาหารมีเส้นประสาทหลายชนิดมาเลี้ยง และมีการหลั่งสารสื่อประสาทบางตัวเหมือนกับที่พบในสมองที่สำคัญคือเซลล์ประสาทที่หลั่งโดปามีน 5HT, GABA รวมทั้ง enkephalin พบกระจายอยู่ทั่วไปใน enteric nervous plexus (Miessner's plexus และ Auerbach's plexus) ของลำไส้หนู กระต่าย และคน (Brown and Miller, 1990 ;

Costa *et al.*, 1982) ซึ่งสารที่หลั่งออกมาจากปลายประสาทเหล่านี้อาจไปมีผลต่อการทำงานของระบบประสาท adrenergic และ cholinergic ทั้งภายในและภายนอกระบบทางเดินอาหารอีกทีหนึ่ง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของลำไส้ เป็นต้นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อและการหลั่งสารช่วยย่อยต่าง ๆ จากเซลล์เยื่อบุลำไส้

เนื่องจากโดปามีน (dopamine) มีฤทธิ์ลดการหดตัวของลำไส้ในกระต่าย (Cheng *et al.*, 1988) และหนู (Lucchelli *et al.*, 1986) และยังพบตัวรับโดปามีนชนิด 1 A ในลำไส้เล็กของหนูขาว (Marmon *et al.*, 1993) โดปามีนมีผลต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อทางเดินอาหารโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเซลล์ประสาท cholinergic ใน ENS ทำให้การเคลื่อนตัวของทางเดินอาหารลดลง ยาที่ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของระบบประสาท dopaminergic จึงทำให้การทำงานของระบบประสาท cholinergic สามารถออกฤทธิ์ได้อย่างเต็มที่ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อ จากผลของโดปามีนต่อการทำงานของระบบทางเดินอาหารร่วมกับผลของบาราคอลในการลดระดับโดปามีนในสมองส่วนกลาง (Thongsaard, 1998) จึงเป็นที่น่าสนใจว่า บาราคอลอาจมีผลต่อการหลั่งหรือการออกฤทธิ์ของสารสื่อประสาทโดปามีนในระบบประสาทของทางเดินอาหาร แล้วมีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบทางเดินอาหารในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบดังกล่าวข้างต้น

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ พบว่าการให้บาราคอลไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนอิลีียม (ileum) ของหนูตะเภา (guinea pig) (Gritsanapan *et al.*, 1989) และไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนอิลีียมของหนูตะเภาที่ถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโดยตรงที่ extrinsic nerve ส่วน mesenteric nerve (Thongsaard *et al.*, 1997) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่บาราคอลอาจไม่ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อของหนูตะเภาเพิ่มขึ้น นอกเหนือไปจากการใช้วิธีการกระตุ้นที่แตกต่างกัน

การวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการทดลองในหนูขาว (Wistar rat) ซึ่งมีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. ศึกษาผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนอิลีียมในสภาวะปกติและในสภาวะที่ระบบประสาททางเดินอาหาร (ENS) ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation)
2. ศึกษาผลของบาราคอลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของกล้ามเนื้อที่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาทในทางเดินอาหาร

วัตถุประสงค์ สารเคมีและระเบียบวิธีวิจัย

สารเคมี

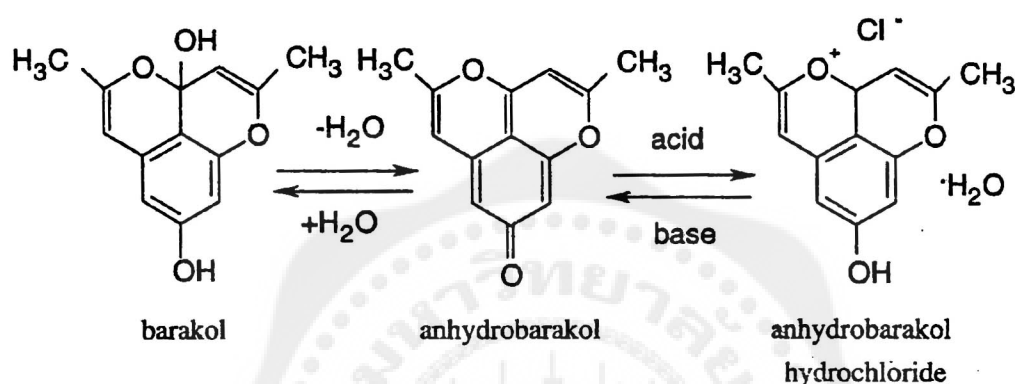
ยาและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ คาบาโคล (Carbachol, MW 182.6), อเซทิลโคลีน (Acetylcholine, MW 181.7), นอร์อิพิเนฟริน (Norepinephrine, MW 205.6), อาโทรปีน (Atropine, MW 678.8), โดปามีน (Dopamine, MW 189.6), โพรพานอลอล (Propanolol, MW 295.6), เฟนโทลามีน (Phentolamine, MW 317.0) ซาซิโทกซิน (Saxitoxin, MW 419.4) รวมทั้งเกลือต่าง ๆ ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายสั่งซื้อจากบริษัท Sigma Chemical ประเทศสหรัฐอเมริกา

การสกัดสารบาราคอล

สารบาราคอลที่ใช้ในการทดลองสกัดมาจากใบอ่อนและดอกขี้เหล็กตามวิธีการสกัดในห้องปฏิบัติการของคณะผู้วิจัย (Thongsaard *et al.*, 2001) โดยนำใบและดอกขี้เหล็กมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปต้มในกรดซัลฟูริก 0.5% กรองส่วนที่เป็นน้ำออกมาแล้วทำให้เป็นผงด้วยสารละลายไซเดียมไบคาร์บอเนต จากนั้นนำไปสกัดด้วย

คลอโรฟอร์มและเติมกรดอะซิติก 5% แล้วทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายแอมโมเนีย ทิ้งไว้ให้เย็นจะได้ผลึกสีขาวเหลือ เมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกจะได้สารบาราคอลในรูปของเกลือ สารสกัดที่ได้จะนำไปทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นด้วย thin layer chromatography (TLC) บน silica gel ก่อนนำไปตรวจสอบอีกครั้งด้วยเครื่อง nuclear magnetic resonance (NMR) ในการสกัดแต่ละครั้งจะได้สารบาราคอลประมาณ 1-5 กรัมต่อซีเหล็กประมาณ 10 กิโลกรัม

โครงสร้างของบาราคอลมีลักษณะแบบ tricyclic ring ที่ไม่เสถียร ซึ่งเมื่อตั้งน้ำออกหนึ่งโมเลกุล จะเปลี่ยนรูปจาก $C_{13}H_{12}O_4$ เป็น anhydrous barakol ($C_{13}H_{10}O_3$) และเติม HCl เข้มข้นลงไปจะได้เกลือบาราคอลที่เสถียร (ดังรูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงปฏิกิริยาของ barakol, anhydrobarakol และ anhydrobarakol hydrochloride (Thongsaard, 1998)

สัตว์ทดลองและการเตรียมเนื้อเยื่อ

การทดลองใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar น้ำหนักประมาณ 200-250 กรัม เลี้ยงในกรงโดยให้อยู่ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส และให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ และน้ำอย่างเพียงพอ

วิธีเตรียมเนื้อเยื่อ

1. นำหนูขาวมาซึ่งน้ำหนักแล้วทำให้ตายด้วยวิธีตัดคอด้วยเครื่องตัดคอหนู Gillotin
2. นำส่วนลำตัวของหนูขาวมาเปิดช่องท้อง จากนั้นเลือกลำไส้ส่วนอิลีียม โดยตัดออกมายาวประมาณ 20 เซนติเมตร แช่ใน Kreb's bicarbonate solution ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและให้แก๊ส 95 % ออกซิเจน และ 5 % คาร์บอนไดออกไซด์ ตลอดเวลา
3. นำลำไส้ส่วนอิลีียมที่ได้มาล้างสิ่งสกปรกที่อยู่ด้านในออกด้วย Kreb's bicarbonate solution
4. ตัดแบ่งเนื้อเยื่อเป็น 4 ชิ้น ชิ้นละเท่า ๆ กัน โดยให้แต่ละชิ้นมีความยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร หลังจากที่ถูกด้วยดัมน้ำหนัก 2 กรัม และกว้างประมาณ 0.5 เซนติเมตร
5. นำเนื้อเยื่อแต่ละชิ้นมาผูกด้วยด้าย และผูกติดกับปลายอิเล็กโทรด (electrode) ด้านหนึ่ง ปลายอีกด้านหนึ่งให้สอดด้ายผ่านห่วงที่เป็นสนามไฟฟ้าของอิเล็กโทรด ด้ายควรมีความยาวพอสมควร

6. นำอวัยวะพร้อมเนื้อเยื่อใส่ในอ่างแก้วสำหรับใส่เนื้อเยื่อ (organ bath) ที่มี Krebs's bicarbonate solution บรรจุอยู่ใน ความคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และให้แก๊ส (95 % ออกซิเจน และ 5 % คาร์บอนไดออกไซด์) ตลอดเวลา
7. แขนเนื้อเยื่อลงในอ่างใส่เนื้อเยื่อ แล้วผูกปลายด้วยด้านที่ยาวเข้ากับ force transducer (Milford, USA) ซึ่งต่ออยู่กับ Bridge amplifier ของเครื่อง MacLab ซึ่งได้ทำการเบรียบเทียบค่า (calibration) ไว้แล้ว ในการผูกด้วยกับ transducer ต้องจัดให้เนื้อเยื่อให้มีการสัมผัสกับห่วง
8. ค่อย ๆ ยึดเนื้อเยื่อให้ได้ประมาณ 1.0-1.5 กรัม ซึ่งเป็นความยาวที่ทำการทดลองในเบื้องต้นแล้วพบว่าให้ความแรงการหดตัวของกล้ามเนื้อสูงสุด
9. พักเนื้อเยื่อไว้ในอ่างใส่เนื้อเยื่อเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เนื้อเยื่อเข้าสู่ภาวะสมดุล โดยเปลี่ยน Krebs's bicarbonate solution ทุก 15 นาที
10. หลังจากเปลี่ยน Krebs's bicarbonate solution ครั่งสุดท้ายแล้วให้รอประมาณ 5 นาที แล้วจึงทำการทดลอง

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอเล็กยม ภายใต้สภาวะพัก (resting state)

1.1 ศึกษาผลการหดตัวของกล้ามเนื้อหลังจากได้รับสารชนิดต่าง ๆ ได้แก่ carbachol, acetylcholine, norepinephrine, dopamine, atropine, propranolol, phentolamine และ saxitoxin

ตอนที่ 2 การศึกษาผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กยม ภายใต้สภาวะพัก

2.1 ศึกษาฤทธิ์และความแรง (potency) ของบาราคอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 0.1 - 1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนอเล็กยมในสภาวะพัก เพื่อดูว่าการตอบสนองของการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อได้รับบาราคอลด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ

2.2 ศึกษาผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วยสารในกลุ่ม catecholamine ได้แก่ norepinephrine และ dopamine เพื่อดูฤทธิ์ของบาราคอลในการยับยั้งผลของสาร ในกลุ่ม catecholamine ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ

ตอนที่ 3 ศึกษาผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอเล็กยม ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation)

3.1 ทดสอบหาค่าความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมในการกระตุ้นเพื่อให้ได้ความแรงของการหดตัวสูงสุด โดยกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วยเครื่อง electronic stimulator ด้วยกระแสไฟฟ้า 50 โวลต์ ความถี่ตั้งแต่ 5 - 50 เฮิร์ตซ์ กระตุ้นเป็นเวลาครั้งละ 5 วินาที

3.2 ศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าทั้งก่อนและหลังได้รับสารชนิดต่าง ๆ เหมือนในหัวข้อ 1.1 โดยกระตุ้นกล้ามเนื้อจากเครื่อง electronic stimulator ด้วยกระแสไฟฟ้า 50 โวลต์ และใช้ความถี่ที่ได้จากข้อ 3.1 ในการทดสอบผลของสารต่าง ๆ จะใส่สารลงไปอย่างเลี่ยนเนื้อเยื่อ ทิ้งไว้เป็นเวลา 3-5 นาที แล้วจึงทำการกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วยสนามไฟฟ้าโดยใช้กระแสไฟฟ้าและความถี่เท่าเดิม

ตอนที่ 4 การศึกษาผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กยมที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation)

4.1 ศึกษาฤทธิ์และความแรง (potency) ของบาราคอลด้วยความเข้มข้นแตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.1 - 1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนอเล็กซ์ที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า สังเกตดูแรงหดตัวของกล้ามเนื้อก่อนและหลังใส่สารบาราคอลว่าให้ผลลดหรือเพิ่มอย่างไร

4.2 ศึกษาผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าโดยใช้สารในกลุ่ม catecholamine ได้แก่ norepinephrine และ dopamine เพื่อดูฤทธิ์ของบาราคอลในการยับยั้งผลของสารในกลุ่ม catecholamine ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อในสภาวะพักและสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าจะทำการวัดค่าการหดตัวหรือการตอบสนองสูงสุดจาก baseline แล้วนำเสนอผลการทดลองที่ได้ในรูปของค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ SEM (standard error of mean) วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมโดยใช้ Student T Test ชนิด paired หรือ unpaired แล้วแต่ความเหมาะสม ค่า $P < 0.05$ ถือว่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการทดลอง

ผลของสารต่าง ๆ และบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กซ์ภายใต้สภาวะพัก

ในการศึกษาขั้นต้นถึงผลและกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายใต้สภาวะพัก ได้ทำการทดสอบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในการตอบสนองต่อสารสื่อประสาท สารที่กระตุ้นหรือยับยั้งตัวรับสารสื่อประสาทชนิดต่าง ๆ ที่มีผลควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อ พบว่า ในสภาวะพักกล้ามเนื้อมีการหดตัวด้วยความแรงเฉลี่ย 12.33 ± 1.14 mN การให้สาร acetylcholine ที่ความเข้มข้น $10 \mu\text{M}$ มีผลเพิ่มความแรงในการหดตัว โดยหดตัวแรงขึ้น 22.35 ± 2.97 mN จากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หรือหดตัวเพิ่มขึ้นจากค่าปกติร้อยละ 180.92 ± 16.71 ดังแสดงในตารางที่ 1 การให้สาร carbachol ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นตัวรับ cholinergic ให้ผลเช่นเดียวกันกับการให้ acetylcholine โดย carbachol ที่ความเข้มข้น $1 \mu\text{M}$ สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อ 19.92 ± 1.96 mN ($P < 0.05$) หรือคิดเป็นร้อยละ 243.74 ± 13.20 จากค่าเริ่มต้น ในทางตรงกันข้ามการให้สาร atropine ซึ่งเป็นสารยับยั้งตัวรับ cholinergic ในขนาด $1 \mu\text{M}$ มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเพียง -1.95 ± 0.39 mN ($P < 0.05$) จากค่าเริ่มต้น ซึ่งคิดเป็นร้อยละ -14.60 ± 2.54

ในการศึกษาผลของสารในกลุ่ม catecholamine ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายใต้สภาวะปกติ พบว่าการให้ norepinephrine ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ $10 \mu\text{M}$ สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อ -3.50 ± 0.44 mN ($P < 0.05$) และ -8.37 ± 2.99 mN ($P < 0.05$) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ -31.22 ± 3.04 และ -72.57 ± 15.85 ตามลำดับ สำหรับการให้ dopamine ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ $10 \mu\text{M}$ มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเพียง -1.45 ± 0.50 mN ($P < 0.05$) และ -1.86 ± 0.53 mN ($P < 0.05$) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ -11.06 ± 3.05 และ -17.67 ± 4.65 ตามลำดับ การให้สาร phentolamine เพื่อยับยั้งการทำงานของตัวรับระบบประสาท adrenergic ชนิด alpha และ propranolol เพื่อยับยั้งการทำงานของตัวรับ adrenergic ชนิด beta ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อในสภาวะพัก นอกจากนี้การให้สาร saxitoxin ($0.3 \mu\text{M}$) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทโดยยับยั้งการ

ทำงานของ voltage-dependent Na⁺ channel ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะพักเช่นกัน (รูปที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กยมภายใต้สภาวะพัก

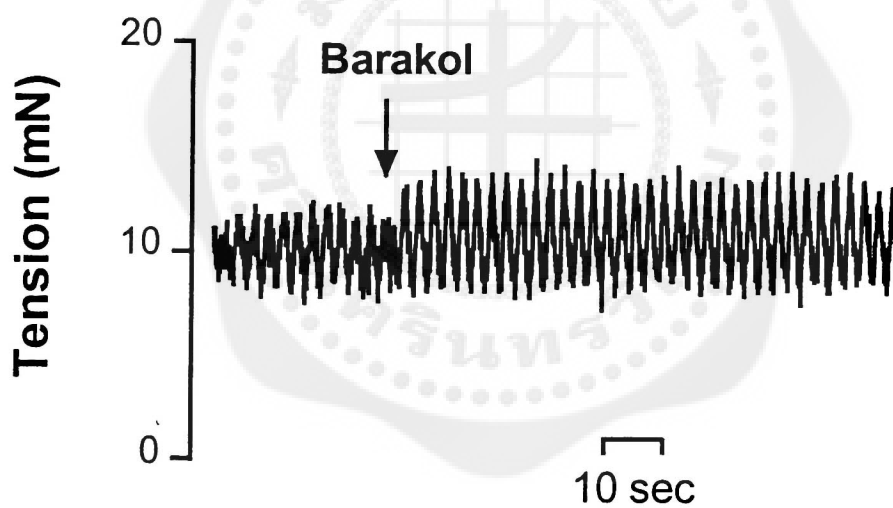
Agent	N	Before (mN)	After (mN)	Change (mN)	%Change
Acetylcholine 10 µM	9 (3)	12.33 ± 1.14	34.68 ± 3.86*	22.35 ± 2.97	180.92 ± 16.71
Atropine 1 µM	28 (9)	12.47 ± 0.65	10.52 ± 0.58*	-1.95 ± 0.39	-14.60 ± 2.54
Carbachol 10 µM	16 (6)	8.23 ± 0.50	28.15 ± 1.85*	19.92 ± 1.46	243.74 ± 13.20
Norepinephrine 1 µM	22 (6)	10.76 ± 0.62	7.26 ± 0.43*	-3.50 ± 0.44	-31.22 ± 3.04
Norepinephrine 10 µM	9 (6)	11.64 ± 2.76	3.27 ± 1.15*	-8.37 ± 2.99	-72.57 ± 15.85
Dopamine 1 µM	26 (7)	11.11 ± 0.53	9.66 ± 0.43*	-1.45 ± 0.50	-11.06 ± 3.05
Dopamine 10 µM	14 (6)	10.26 ± 0.73	8.40 ± 0.80*	-1.86 ± 0.53	-17.67 ± 4.65
Phentolamine 1 µM	14 (4)	13.61 ± 1.20	13.94 ± 1.21	0.34 ± 0.21	3.23 ± 2.50
Propanolol 1 µM	28 (7)	12.69 ± 0.78	12.50 ± 0.79	-0.20 ± 0.12	-1.55 ± 0.81
Saxitoxin 0.3 µM	8 (3)	8.43 ± 0.73	8.16 ± 0.54	-0.27 ± 0.33	-1.99 ± 2.82

ตัวเลขหน้าวงเล็บเป็นจำนวนเนื้อเยื่อที่ทำการทดลองและตัวเลขในวงเล็บเป็นจำนวนสัตว์ทดลอง

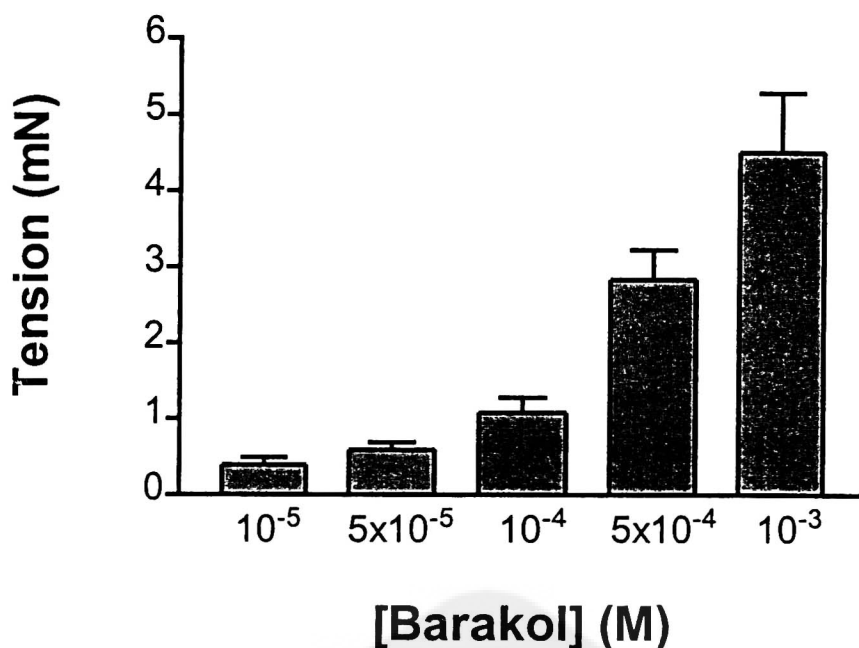
*P<0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับผลของการหดตัวก่อนการใส่สารด้วย Student T-test



รูปที่ 2 ตัวอย่าง tracing แสดงผลของการให้สาร saxitoxin ($0.3 \mu\text{M}$) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อของลำไส้เล็กส่วนอเล็กซ์ภายใต้สภาวะพัก



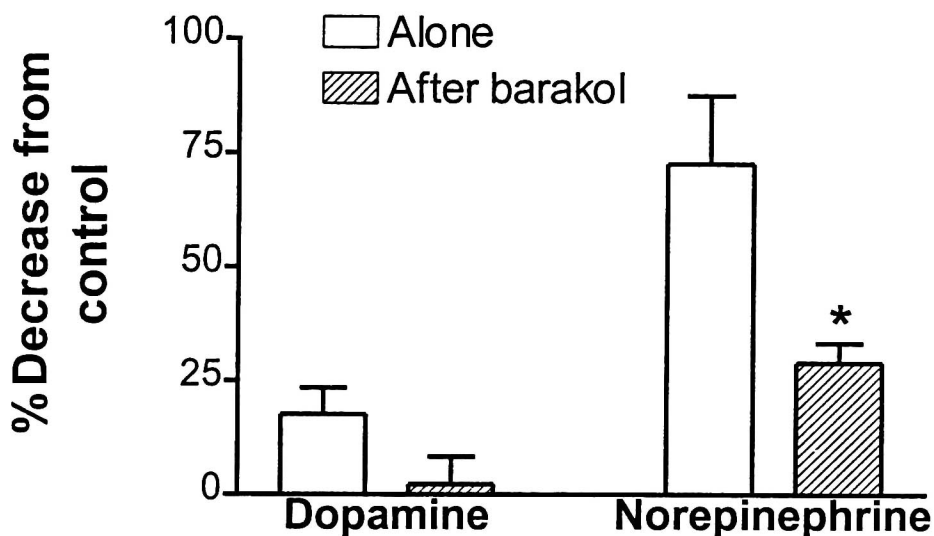
รูปที่ 3 ตัวอย่าง tracing แสดงผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลังจากใส่สารสกัดบาราคอลที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ ภายใต้สภาวะพัก



รูปที่ 4 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารบาราคอลและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอิลีียมภายใต้สภาวะพัก การให้บาราคอลที่ความเข้มข้น 10, 50, 100, 500 และ 1000 μM เพิ่มความแรงในการหดตัวเท่ากับ 0.39 ± 0.10 mN ($n = 8$), 0.59 ± 0.10 mN ($n = 7$), 1.08 ± 0.20 mN ($n = 55$), 2.84 ± 0.29 mN ($n = 23$) และ 4.19 ± 0.84 mN ($n = 5$) ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 4.19 ± 0.84 , 9.39 ± 3.59 , 12.78 ± 2.13 , 25.61 ± 3.59 และ 48.00 ± 6.53 ตามลำดับ

ในการทดสอบผลของสารสกัดบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ภายใต้สภาวะพัก พบว่าเมื่อใส่สารบาราคอลที่ความเข้มข้น 100 μM ลงในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะเห็นกล้ามเนื้อหดตัวเพิ่มขึ้นหลังจากการให้สารบาราคอลประมาณ 5 วินาที และหดตัวค้างในลักษณะเช่นนั้นอยู่สักครู่แล้วจึงค่อย ๆ คลายตัวลงและกลับเข้าสู่ภาวะเริ่มต้นภายในเวลา 2-3 นาที ดังแสดงในรูปที่ 3 การทดลองในกลุ่มควบคุมโดยการให้สารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 3 ซึ่งเป็นค่า pH ที่วัดได้จากสารละลายบาราคอลไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อแต่อย่างใด (ข้อมูลไม่ได้แสดง) การให้บาราคอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันส่งผลให้กล้ามเนื้อมีการหดตัวแรงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของบาราคอลที่เพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4

ในการศึกษาต่อไปเพื่อดูว่าผลของบาราคอลในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อจะสามารถต้านฤทธิ์การหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งด้วยสาร norepinephrine หรือ dopamine ได้หรือไม่ ผลการทดลองปรากฏว่า เมื่อใส่สารบาราคอลขนาดความเข้มข้น 100 μM ลงในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนเป็นเวลา 5 นาที จะทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งโดยสาร dopamine 10 μM มีแนวโน้มลดลงจากร้อยละ -17.67 ± 5.77 เป็นร้อยละ -2.27 ± 6.09 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทำนองเดียวกัน บาราคอลสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งโดยสาร norepinephrine 10 μM ลดลงจากร้อยละ -72.57 ± 14.94 เป็นร้อยละ -29.02 ± 4.32 ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 5

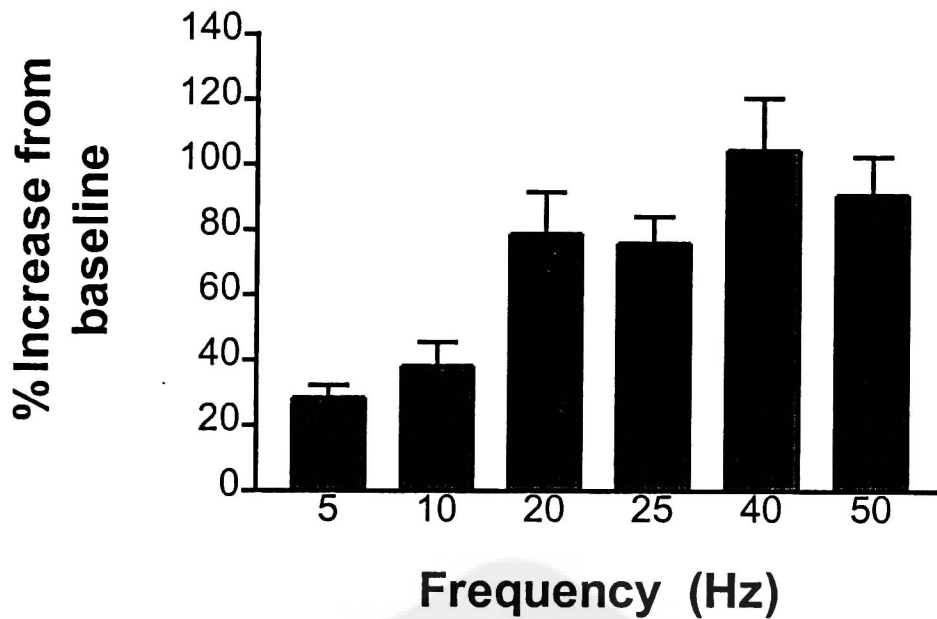


รูปที่ 5 กราฟแท่งแสดงผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งด้วยสาร dopamine และ norepinephrine ภายใต้สภาวะพัก การให้ dopamine 10 μM อย่างเดียวลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -17.67 ± 5.77 ($n = 14$) แต่เมื่อใส่บาราคอลลงไปก่อนเป็นเวลา 5 นาที dopamine จะลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -2.27 ± 6.09 ($n = 11$) ในทำนองเดียวกันการให้ norepinephrine 10 μM อย่างเดียวลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -72.57 ± 14.94 ($n = 9$) และเมื่อให้บาราคอลก่อน Norepinephrine จะลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -29.02 ± 4.32 ($n = 7$)

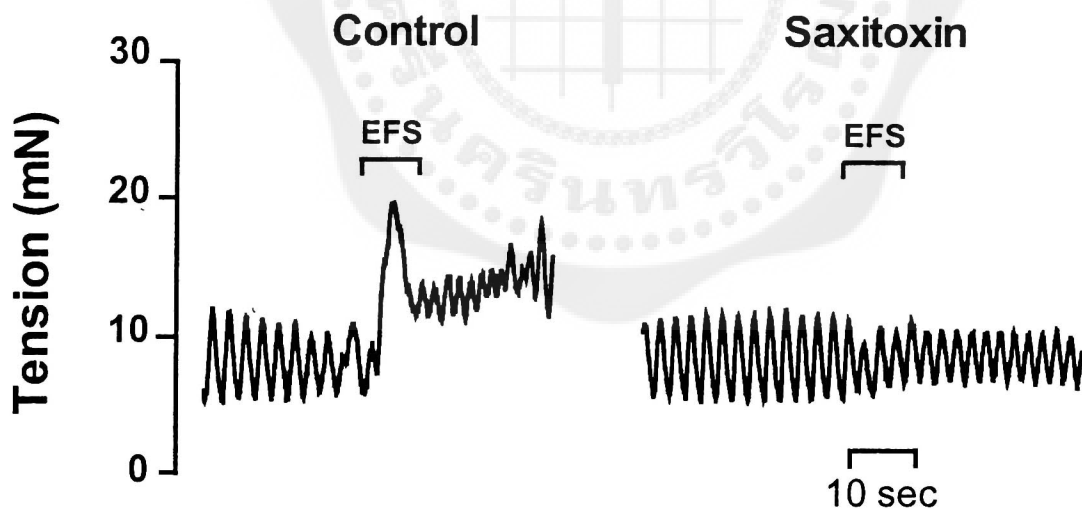
* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ norepinephrine เพียงอย่างเดียว

ผลของสารต่าง ๆ และบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กซ์ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation)

การศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่เหมาะสม ในการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กหดตัว ได้ทำการทดลองใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลต์ กระตุ้นกล้ามเนื้อด้วยความถี่ต่าง ๆ กันตั้งแต่ 5 - 50 รอบต่อวินาที (เฮิร์ตซ์, Hz) โดยกระตุ้นเป็นเวลาครั้งละ 5 วินาที พบว่า กล้ามเนื้อมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ใช้กระตุ้น โดยการกระตุ้นที่ความถี่ 40 เฮิร์ตซ์ จะให้การหดตัวของกล้ามเนื้อสูงสุดดังแสดงในรูปที่ 6 ในการศึกษาถึงผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยในการทดลองต่อไป ผู้วิจัยได้เลือกใช้ความถี่ 20 เฮิร์ตซ์ ซึ่งเป็นความถี่ที่ใช้กระตุ้นกล้ามเนื้อแล้วให้ความแรงในการหดตัวเกือบสูงสุด คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละ 76 ของการหดตัวสูงสุด และการหดตัวของกล้ามเนื้อยังสามารถถูกยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์โดยสารยับยั้งการเหนี่ยวนำกระแสประสาท saxitoxin ที่มีความเข้มข้น 300 nM ซึ่งให้ผลยับยั้งอย่างสมบูรณ์ คือร้อยละ -106.73 ± 5.88 ดังแสดงในรูปที่ 7 และตารางที่ 2



รูปที่ 6 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความถี่ของกระแสไฟฟ้าและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอเล็กยม การกระตุ้นด้วยความถี่ 5, 10, 20, 25, 40 และ 50 รอบต่อวินาที (Hz) จะเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อคิดเป็นร้อยละ 28.38 ± 3.91 ($n = 10$), 38.20 ± 7.31 ($n = 10$), 78.75 ± 12.90 ($n = 10$), 75.95 ± 8.22 ($n = 10$) 104.52 ± 15.99 ($n = 10$) และ 90.83 ± 11.71 ($n = 10$) ตามลำดับ



รูปที่ 7 ตัวอย่าง tracing แสดงผลของสาร saxitoxin ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอเล็กยมที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation, EFS) กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นโดยใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลท์ ความถี่ 20 รอบต่อวินาที กระตุ้นนาน 10 วินาที รูปซ้ายมือเป็นค่าควบคุมแสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า รูปขวามือแสดงผลของการกระตุ้นกล้ามเนื้อหลังจากการใส่สาร saxitoxin ($0.3 \mu\text{M}$) ซึ่งสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าอย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 2 แสดงผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กซ์ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า

Agent	N	Before (mN)	After (mN)	Change (mN)	%Change
Control	16 (9)	9.00 ± 1.25	9.32 ± 1.34	0.32 ± 0.35	3.46 ± 4.24
Saxitoxin 0.3 µM	9 (3)	6.75 ± 1.18	-0.15 ± 0.32*	-6.90 ± 1.19	-106.73 ± 5.88
Atropine 1 µM	10 (5)	6.38 ± 1.03	2.05 ± 0.68*	-4.33 ± 0.61	-75.09 ± 9.15
Propanolol 1 µM	8 (3)	7.18 ± 1.50	6.21 ± 2.30	-0.97 ± 1.69	-16.61 ± 15.42
Atropine 1 µM + Propanolol 1 µM + Phentolamine 1 µM	10 (5)	10.85 ± 1.61	3.47 ± 0.89*	-7.38 ± 1.10	-70.19 ± 5.57
Norepinephrine 1 µM	10 (4)	5.96 ± 1.22	3.67 ± 1.01*	-2.29 ± 0.31	-57.14 ± 17.96
Norepinephrine 10 µM	7 (4)	14.80 ± 4.83	8.43 ± 2.37*	-6.37 ± 3.06	-39.28 ± 8.78
Dopamine 1 µM	8 (3)	8.16 ± 1.57	7.75 ± 1.69	-0.40 ± 0.56	-6.19 ± 8.94
Dopamine 10 µM	9 (4)	10.88 ± 3.01	11.56 ± 3.41	0.69 ± 1.20	5.80 ± 9.40

กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลต์ ความถี่ 20 รอบต่อวินาที กระตุ้นนาน 10 วินาที
ตัวเลขหน้าวงเล็บเป็นจำนวนเนื้อเยื่อที่ทำการทดลองและตัวเลขในวงเล็บเป็นจำนวนสัตว์ทดลอง

*P<0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับผลของการหดตัวของกล้ามเนื้อก่อนการใส่สารชนิดนั้น ๆ ด้วย Student T-test

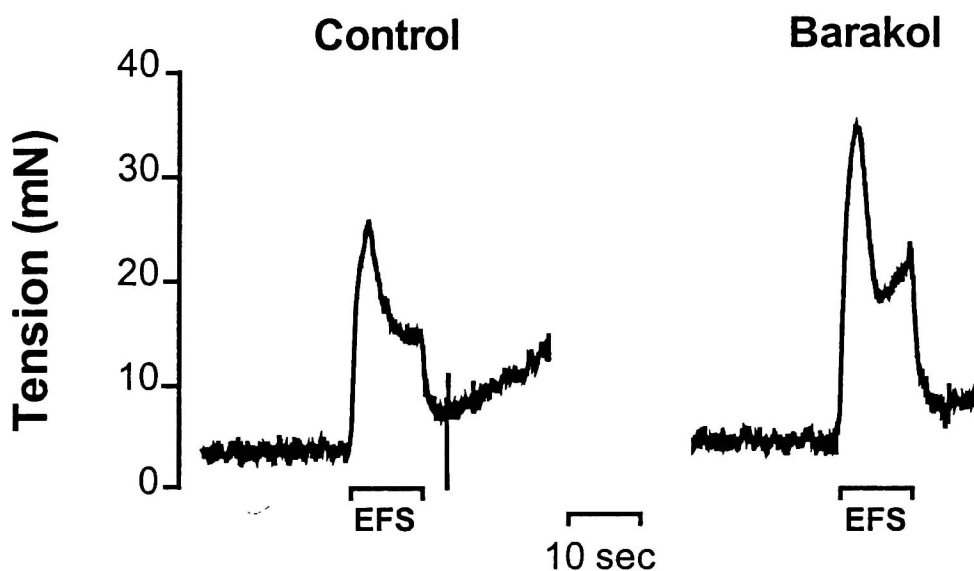
การกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วยสนามไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลต์ ความถี่ 20 เฮิรตซ์ กระตุ้นกล้ามเนื้อเป็นเวลา 10 วินาที พบว่ากล้ามเนื้อตอบสนองด้วยการหดตัวอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาของการกระตุ้นดังแสดงในรูปที่ 7 โดยได้ความแรงของการหดตัวสูงสุดเท่ากับ 9.00 ± 1.25 mN ในกลุ่มควบคุม และเมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วยสนามไฟฟ้าในครั้งต่อ ๆ ไปพบว่าความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อในแต่ละครั้งค่อนข้างคงที่

การศึกษาถึงสารสื่อประสาทที่มีบทบาทต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ ได้ทำการศึกษาโดยใช้สารยับยั้งหรือสารกระตุ้นการทำงานของตัวรับระบบประสาท cholinergic และ adrenergic จากผลการทดลองพบว่า การให้สาร atropine $1 \mu\text{M}$ มีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าคิดเป็นร้อยละ -75.09 ± 9.15 ($P < 0.05$) ในขณะที่การให้ propanolol $1 \mu\text{M}$ ไม่มีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การให้ atropine ร่วมกับ propanolol และ phentolamine มีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าคิดเป็นร้อยละ -70.19 ± 5.57 ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

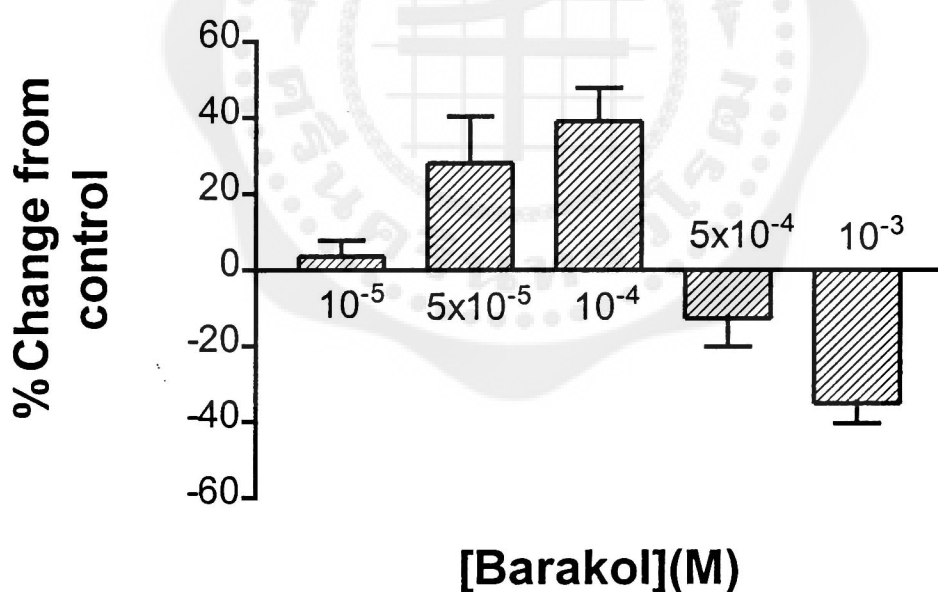
การให้ norepinephrine ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ $10 \mu\text{M}$ มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าโดยมีค่าเท่ากับ -2.29 ± 0.31 mN และ -6.37 ± 3.06 mN เมื่อเปรียบเทียบกับค่าควบคุม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ -57.14 ± 17.96 ($P < 0.05$) และ -39.28 ± 8.78 ($P < 0.05$) ตามลำดับ ในขณะที่การให้ dopamine ที่ความเข้มข้น 1 และ $10 \mu\text{M}$ ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (ตารางที่ 2)

ในการศึกษาฤทธิ์ของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า พบว่าการให้สารบาราคอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันจะมีการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อใน 2 ลักษณะ กล่าวคือ การให้บาราคอลที่ความเข้มข้น 10, 50 และ $100 \mu\text{M}$ มีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยแปรผันทางตรงกับระดับความเข้มข้นของบาราคอลที่สูงขึ้น โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นร้อยละ 3.64 ± 4.14 , 28.06 ± 12.27 และ 39.01 ± 8.86 ตามลำดับ แต่เมื่อให้บาราคอลที่ความเข้มข้น $500 \mu\text{M}$ และ $1000 \mu\text{M}$ กลับมีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยให้ผลยับยั้งร้อยละ -12.78 ± 7.44 และ -35.20 ± 5.32 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 9 ตัวอย่างการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าก่อนและหลังการใส่สารบาราคอลที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ แสดงให้เห็นในรูปที่ 8

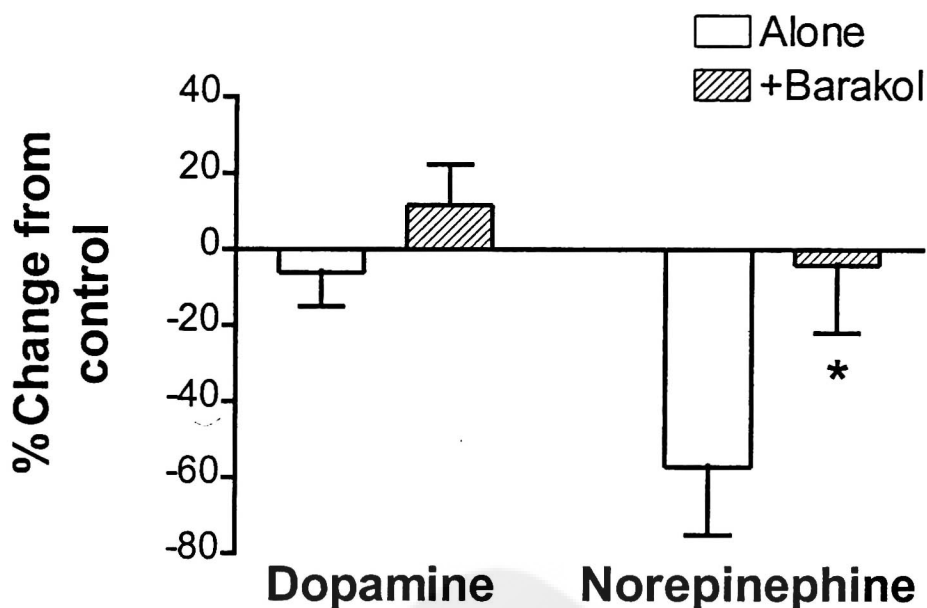
ในการศึกษาถึงผลของบาราคอลในการต้านฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อของ dopamine หรือ norepinephrine ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า ได้ทำการทดลองโดยใช้สารบาราคอลความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อสูงสุด จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การให้ dopamine $1 \mu\text{M}$ อย่างเดียวมีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า โดยลดลงจากกลุ่มควบคุมร้อยละ -6.19 ± 8.94 แต่เมื่อใส่สารบาราคอลขนาดความเข้มข้น $100 \mu\text{M}$ ลงไปในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนเป็นเวลา 5 นาทีแล้วตามด้วย dopamine $1 \mu\text{M}$ กลับมีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อจากกลุ่มควบคุมคิดเป็นร้อยละ 11.71 ± 10.53 (รูปที่ 10) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทำนองเดียวกันเมื่อกกล้ามเนื้อได้รับ norepinephrine $1 \mu\text{M}$ เพียงอย่างเดียวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อร้อยละ -57.14 ± 17.96 แต่ถ้ากล้ามเนื้อนั้นได้รับบาราคอลก่อนจะทำให้กล้ามเนื้อหดตัวลดลงเหลือเพียงร้อยละ -4.19 ± 17.72 ($P < 0.05$)



รูปที่ 8 ตัวอย่าง tracing แสดงผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนอเล็กที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (EFS) กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นโดยใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความแรง 50 โวลท์ ความถี่ 20 รอบต่อวินาที กระตุ้นนาน 10 วินาที รูปซ้ายมือเป็นค่าควบคุมแสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า รูปขวามือเป็นผลของการใส่สารบาราคอลที่ความเข้มข้น $100\ \mu\text{M}$ ก่อนเป็นเวลา 5 นาที แล้วตามด้วยการกระตุ้นกล้ามเนื้อ



รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอเล็กภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า การให้บาราคอลความเข้มข้น 10, 50, 100, 500 และ $1000\ \mu\text{M}$ เพิ่มความแรงในการหดตัวทั้งสิ้น $0.29 \pm 0.59\ \text{mN}$ ($n=12$), $1.37 \pm 0.78\ \text{mN}$ ($n=7$), $3.23 \pm 0.49\ \text{mN}$ ($n=15$), $-1.96 \pm 0.69\ \text{mN}$ ($n=8$) และ $-4.61 \pm 1.47\ \text{mN}$ ($n=10$) ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 3.64 ± 4.14 ($n=12$), 28.06 ± 12.27 ($n=7$), 39.01 ± 8.86 ($n=15$), -12.78 ± 7.44 ($n=8$) และ -35.20 ± 5.32 ($n=10$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าควบคุมตามลำดับ



รูปที่ 10 กราฟแสดงผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกยับยั้งด้วยสาร dopamine และ norepinephrine ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า การให้ dopamine 1 μM อย่างเดียวลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -6.19 ± 8.94 (n = 8) และเมื่อกกล้ามเนื้อได้รับบาราคอล 100 μM ร่วมกับ dopamine 1 μM จะเพิ่มการหดตัวร้อยละ 11.71 ± 10.53 (n = 8) ในทำนองเดียวกันการให้ norepinephrine 1 μM อย่างเดียวลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลงร้อยละ -57.14 ± 18.95 (n = 9) และเมื่อให้บาราคอล 100 μM ร่วมกับ norepinephrine 1 μM กล้ามเนื้อจะหดตัวลดลงร้อยละ -4.19 ± 17.72 (n = 8)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ norepinephrine เพียงอย่างเดียว

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าบาราคอล (10 μM – 1 mM) มีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วนอเล็กซ์ในสภาวะพัก (spontaneous contraction) และบาราคอลที่ความเข้มข้น 10 - 100 μM ยังให้ผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation) เช่นกัน ในขณะที่บาราคอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (500 μM – 1 mM) กลับให้ผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าที่มีความแรง 100 โวลต์ ความถี่ 20 รอบต่อวินาที กระตุ้นนาน 10 วินาที ผลของบาราคอลในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อสามารถต้านฤทธิ์ของ norepinephrine ที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ แต่ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของ dopamine ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ

จากการสรุปรายงานการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากลำไส้เล็กของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งหนูขาวในสภาวะพัก (resting state) (Vanderwinden, 1999) พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อไม่ได้อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาทเนื่องจากการให้สาร saxitoxin ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการนำกระแสประสาท ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อภายใต้สภาวะที่ไม่ถูกกระตุ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้จากการศึกษาเพิ่ม

เดิมพบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายใต้สภาวะพักไม่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาท adrenergic ด้วยเนื่องจาก phentolamine (α -adrenergic blocker) และ propranolol (β -adrenergic blocker) ซึ่งเป็นสารยับยั้งตัวรับสารสื่อประสาท adrenergic ไม่มีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (ตารางที่ 1) ในทางตรงกันข้าม การหดตัวของกล้ามเนื้อถูกยับยั้งเป็นบางส่วน (15 %) โดยสาร atropine ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งตัวรับ muscarinic ของสารสื่อประสาทชนิด cholinergic (mAChR) แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วนอเล็กซ์ในหนูขาวภายใต้สภาวะพักที่ไม่มีสิ่งกระตุ้นนั้นบางส่วนอยู่ภายใต้อิทธิพลของสารสื่อประสาท acetylcholine ซึ่งพบได้ที่บริเวณปลายประสาทชนิด cholinergic ของทั้ง extrinsic nerves และ intrinsic nerves ผ่านตัวรับ mAChR ที่อยู่บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ นอกจากนี้การที่พบว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับสาร saxitoxin (300 nM) ที่ยับยั้งการเหนี่ยวนำสัญญาณประสาท จึงเป็นไปได้ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายใต้สภาวะพักส่วนใหญ่จะเกิดจากการหดตัวของกล้ามเนื้อเอง (autonomous smooth muscle activity) และส่วนน้อยเท่านั้นที่ถูกควบคุมโดยสารสื่อประสาทของระบบประสาทชนิด cholinergic จากรายงานพบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายในนี้เป็นผลมาจากการกำหนดของเซลล์ชนิดพิเศษที่พบอยู่ระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อเรียบกับ myenteric plexus ซึ่งเรียกว่า interstitial of cajal cells (ICC) นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ ICC มักอยู่ในตำแหน่งที่ติดกับปลายประสาทที่หลังสารสื่อประสาทชนิด VIP ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบอีกด้วย (Vanderwinden, 1999) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าสาร หรือยาที่ออกฤทธิ์ต่อการหดตัวในสภาวะที่อยู่ในสภาวะที่ไม่มีสิ่งกระตุ้นอาจเนื่องเป็นผลจากการออกฤทธิ์ของสารนั้นต่อการทำงานของ ICC หรือ เซลล์กล้ามเนื้อเรียบโดยตรงได้

จากผลการทดลองให้ acetylcholine โดยตรงต่อกล้ามเนื้อพบว่า แรงที่ได้จากการหดตัวของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นจากสภาวะเริ่มต้น (basal state) อย่างมาก (180 %) ในทางตรงกันข้ามแรงที่ได้จากการหดตัวของกล้ามเนื้อลดลงถึง 73 % จากค่าเริ่มต้นหลังจากให้ norepinephrine ที่ความเข้มข้น 10 μ M แสดงให้เห็นว่า acetylcholine เป็นสารสื่อประสาทตัวสำคัญที่ถูกหลังจากระบบประสาท enteric nervous system เพื่อควบคุมการทำงานของระบบทางเดินอาหาร และเป็นที่ทราบกันดีว่า acetylcholine ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อโดยจับกับตัวรับ muscarinic ที่เยื่อหุ้มเซลล์แล้วกระตุ้นให้เกิดการหดตัวแรงขึ้น (Brown, 1990) นอกจากนี้จากรายงานการศึกษาในสัตว์ทดลองหลายชนิดรวมทั้งในหนูขาวพบว่าการหลั่ง acetylcholine จากปลายประสาท cholinergic สามารถถูกยับยั้งโดยสารสื่อประสาท norepinephrine ได้ (Kunze and Furness, 1999) ประกอบกับมีรายงานที่สนับสนุนว่าตัวรับ adrenergic ส่วนใหญ่มักพบอยู่บนประสาทชนิด cholinergic จึงเป็นที่น่าเชื่อถือว่า การออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วนใหญ่นั้นน่าจะเป็นผลที่เกิดจากการยับยั้งการทำงานของระบบประสาท cholinergic อย่างไรก็ตามตัวรับ adrenergic สามารถพบได้ตามบนเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบเช่นกัน ดังนั้นผลของ norepinephrine ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้ออาจเป็นผลจากการออกฤทธิ์โดยตรงของ norepinephrine ต่อเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และ/หรือการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งการทำงานของระบบประสาท cholinergic แต่จากการศึกษาครั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าผลของ norepinephrine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อน่าจะเป็นผลที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อมากกว่าผลที่เกิดจากการยับยั้งระบบประสาท cholinergic ทั้งนี้เนื่องจากระบบประสาท cholinergic มีบทบาทเพียงเล็กน้อยต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อในสภาวะพัก

นอกจากผลของ norepinephrine ต่อกล้ามเนื้อแล้ว สารในกลุ่ม catecholamine อีกตัวหนึ่งคือ dopamine ให้ผลเพียงเล็กน้อยในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับผลของ norepinephrine ผลดังกล่าว

สอดคล้องกับจากการศึกษาในหนูขาวที่พบว่า dopamine สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ได้ แต่ออกฤทธิ์น้อยกว่า norepinephrine หลายเท่าตัว (Kunze and Furness, 1999) นอกจากนี้ยังพบตัวรับ dopamine ชนิด 1A ในลำไส้เล็กของหนูขาว (Marmon *et al.*, 1993) จึงเป็นไปได้ว่า dopamine น่าจะออกฤทธิ์โดยตรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ

จากรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดบาราคอลที่มีผลเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง แสดงให้เห็นว่า บาราคอลอาจมีฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทหรือระดับสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของพฤติกรรมเหล่านั้น จากการศึกษาของวัชรวรรณและคณะ ในหลอดทดลองพบว่า บาราคอลที่ความเข้มข้น 1 – 100 μM สามารถลดการหลั่งสารสื่อประสาท dopamine จากเนื้อเยื่อสมองส่วน striatum เมื่อถูกกระตุ้นด้วยโปแตสเซียม แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหลั่ง dopamine ในสภาวะปกติ บาราคอลลดการหลั่งบาราคอลด้วยกลไกการออกฤทธิ์ผ่านการทำงานของตัวรับ dopamine (D2 receptor) ที่ปลายประสาทส่วนก่อนจุดประสาท (Thongsaard *et al.*, 1998) จากการศึกษาโดยใช้เทคนิคไมโครไดอะไลซิสพบว่าบาราคอลมีผลลดระดับ dopamine ในสารละลายภายนอกเซลล์ซึ่งไม่ได้เป็นผลมาจากการเพิ่มการดูดกลับ (Thongsaard *et al.*, 1996) จากผลของบาราคอลในการลดการหลั่งสาร dopamine ในระบบประสาทส่วนกลาง จึงเป็นที่น่าสนใจว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral nervous system) โดยทำการศึกษาในระบบประสาททางเดินอาหาร (enteric nervous system) ที่ประกอบด้วยระบบประสาทหลายชนิดมาควบคุมการทำงานของทางเดินอาหาร เช่น การหลั่งน้ำย่อย การเคลื่อนไหวของลำไส้ การไหลเวียนของโลหิต และการหดตัวของกล้ามเนื้อ เป็นต้น จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้นี้พบว่าบาราคอลมีผลเพิ่มความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะพักซึ่งเป็นการหดตัวที่ไม่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาทหรือสารสื่อประสาทชนิด adrenergic หรือ dopaminergic ดังนั้นผลที่ได้จากการศึกษาในเนื้อเยื่อสมองจึงไม่อาจนำมาอธิบายเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการศึกษากันครั้งนี้ได้ ในกรณีเดียวกับสารสื่อประสาทชนิด acetylcholine, norepinephrine หรือ dopamine ที่สามารถออกฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ไม่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาท จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารบาราคอลเองอาจมีผลโดยตรงต่อเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ หรืออาจออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับชนิดอื่นเช่น ตัวรับ adrenergic ที่มีผลในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วนอวัยวะของหนูขาว ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าเมื่อเนื้อเยื่อถูกอาบด้วยสารบาราคอลก่อนที่จะมีการให้สาร norepinephrine พบว่าบาราคอลสามารถหักล้างฤทธิ์ยับยั้งของ norepinephrine ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ถึง 44 % ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลของบาราคอลอย่างเดียวต่อการเพิ่มความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อ 13 % (ที่ความเข้มข้น 100 μM) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาท adrenergic หรือระบบประสาทอื่นที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ นอกเหนือไปจากฤทธิ์โดยตรงของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงของบาราคอลในการออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับประสาท adrenergic นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งสมควรได้รับการศึกษาในโอกาสต่อไป

ในการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอวัยวะที่ถูกกระตุ้นโดยสนามไฟฟ้า (electrical field stimulation, EFS) พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อสามารถถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วย saxitoxin 300 nM และถูกยับยั้งประมาณ 75 % โดย atropine ในขณะที่การให้ atropine ร่วมกับสารยับยั้งตัวรับ adrenergic (propranolol และ phentolamine) ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อในสนามไฟฟ้า แสดงให้เห็นว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเกิดจากการที่สนามไฟฟ้าไปกระตุ้นเซลล์ประสาทชนิด cholinergic ให้หลั่งสารสื่อประสาท acetylcholine

ออกมาเพิ่มขึ้นจากปลายประสาทและมาจับกับตัวรับ muscarinic cholinergic receptor ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อและส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ อย่างไรก็ตาม atropine สามารถยับยั้งการหดตัวดังกล่าวเพียง 75% เท่านั้น ยังคงมีการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าเหลืออีก 25% ซึ่งเป็นกลไกการหดตัวที่มีไขเป็นกลไกของการกระตุ้นผ่านระบบประสาท cholinergic หรือ adrenergic (noncholinergic and nonadrenergic pathway)

เป็นที่น่าสนใจว่าในสภาวะที่กล้ามเนื้อลำไส้เล็กถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า บาราคอลที่ความเข้มข้น 0.1 - 100 μM ให้ผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อ แต่เมื่อความเข้มข้นมากกว่า 100 μM กลับให้ผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าบาราคอลมีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยการกระตุ้นผ่านระบบประสาท cholinergic ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 100 μM แต่กลับมีผลยับยั้งระบบประสาทชนิดเดียวกันเมื่อความเข้มข้นมากขึ้น หรืออาจเป็นไปได้ว่าสารบาราคอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปมีส่วนเกี่ยวกับการทำงานของระบบประสาทของทางเดินอาหารอื่น ๆ ที่มาควบคุมการทำงานของระบบประสาท cholinergic อีกทีหนึ่ง อย่างไรก็ตามยังคงต้องมีการศึกษาหลักการออกฤทธิ์ของบาราคอลที่มีต่อระบบประสาททางเดินอาหารต่อไป

จากผลของบาราคอลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าที่ได้จากการศึกษาในหนูขาว พันธุ์ Wistar ในครั้งนี้ ให้ผลแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาในหนูตะเภา (Guinea pig) ที่พบว่า บาราคอลไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนอูเลียมของหนูตะเภาทั้งในสภาวะปกติ (Gritsanapan *et al.*, 1989) และในสภาวะที่ถูกกระตุ้นไฟฟ้าแบบ electrical field stimulation (Thongsaard *et al.*, 1997) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างในชนิดของสัตว์ทดลอง วิธีการกระตุ้น และอาจรวมทั้งความแตกต่างในกระบวนการสักระบบบาราคอล

ถึงแม้ว่าสารยับยั้งตัวรับระบบประสาท adrenergic ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า แต่การให้ norepinephrine ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 10 μM กลับมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อดังกล่าว ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการทำงานของ norepinephrine ที่ไปยับยั้งการหลั่ง acetylcholine จากปลายประสาท cholinergic ที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดขึ้นอย่างไม่เต็มที่ นอกจากนี้การออกฤทธิ์โดยตรงของ norepinephrine ที่มีต่อกล้ามเนื้อเองก็อาจมีส่วนขัดขวางการหดตัวของกล้ามเนื้อที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของระบบประสาท cholinergic เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบว่าการให้สารบาราคอลในขนาดที่กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อสูงสุด (100 μM) สามารถต้านฤทธิ์ของ norepinephrine ที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ถึง 90 % เมื่อเปรียบเทียบกับผลของบาราคอลอย่างเดียวในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อ 40 % จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นในทำนองเดียวกันกับการหดตัวของกล้ามเนื้อในสภาวะพัก ว่า บาราคอลอาจออกฤทธิ์บางส่วนขัดขวางการทำงานของ norepinephrine ที่ไปควบคุมการทำงานของระบบประสาท cholinergic ร่วมกับฤทธิ์ของบาราคอลในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อผ่านการทำงานของระบบประสาท cholinergic ดังกล่าวมาแล้ว

จากผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดบาราคอลจากใบและดอกชี้เหล็ออกฤทธิ์โดยตรงเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กส่วนอูเลียมของหนูขาวพันธุ์ Wistar ในสภาวะพัก บาราคอลในขนาดที่ต่ำยังออกฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่กระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าซึ่งผ่านการทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อ แต่ให้ผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าในขนาดที่สูงขึ้น ฤทธิ์ของบาราคอลในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั้งในสภาวะพักและสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าสามารถต้านฤทธิ์ของ norepinephrine ที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ แต่ไม่แสดงผลเด่นชัดในการ

ด้านฤทธิ์ของ dopamine ที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ จากผลการศึกษาในครั้งนี้จะทำให้สารสกัดบาราคอลในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมน่าจะเป็นสารสกัดสมุนไพรอีกตัวหนึ่งที่ควรพิจารณาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป ในแง่ของการกระตุ้นการขับเคลื่อนตัวของลำไส้เล็ก หรืออาจนำไปใช้ร่วมกับยาระบายแผนปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่มีอาการท้องผูกอันเนื่องมาจากความเครียด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒเป็นอย่างสูงที่ให้เงินทุนสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ นางสาวพจพร ศรีสกุลดี และ นางสาวปิยะนุช ตปณียพันธ์์ นิสิตชั้นปีที่ 4 คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ช่วยทำการทดลองในงานวิจัยครั้งนี้



เอกสารอ้างอิง

- Allescher, H.D., Flick, H., Schusdziarra, V. and Classen, M. (1992) Mechanisms of neurotensin-induced inhibition in rat ileal smooth muscle. *The American Physiological Society* 92: G767-G773.
- Allescher, H.D., Willis, S., Schusdziarra, V., Classen, M. (1991) Modulatory effect of insulin on rat small intestinal motility and peptide release *in vitro*. *Dig.Dis.Sci.* 48: 192-201.
- Arunlakshana, O. (1949) Pharmacological study of the leaves of *Cassia siamea*. *Siriraj.Hosp.Gaz.*,1: 434-444.
- Biswas, K.M. and Mallik, H. (1986) *Phytochemistry* 25: 1727-1730.
- Brookes, S.J.H. and Costa M. (1994) Enteric motor neurons. In: *Innervation of the Gut: Pathophysiological Implication*, edited by Tache, Y., Wingate, D.L., and Burks, T.F., Raton, B. Florida: CRC, chap 17, pp 237-248.
- Brown, D.R. and Miller, R.L. (1990) Neurohormonal control of fluid and electrolyte transport in intestinal mucosa. In *Handbook of Physiology IV, the Gastrointestinal System: Absorptive and Secretory processes of the intestine*, edited by Field, M. and Frizzell, R.A. American Physiological Society, Bethesda, Maryland, pp. 527-589.
- Brown, D.R., Poonyachoti, S., Osinski, M.A., Kowalski, T.R., Pampusch, M.S., Elde, R.P. and Murtaugh, M.P. (1998) Delta-opioid receptor mRNA expression and immunohistochemical localization in porcine ileum. *Dig.Dis.Sci.* 43(7): 1402-1410.
- Bycroft, B.W., Hassanali-walji, A., Johnson, A.W. and King, T.J. (1970) The structure and synthesis of barakol : a novel dioxaphenylene derivative from *Cassia siamea*. *J. Chem. Soc.* 12: 1686-1689.
- Cheng, J. T. and Hsieh-Chen, S.C. (1988) Octopamine relaxes rabbit jejunal smooth muscle by selective activation of dopamine D1 receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 338(4): 373-378.
- Costa, M., Brookes, S.J.H., Steele, P.A., Gibbins, I., Burcher, E. and Kandiah, C.J. (1996) Neurochemical classification of myenteric neurons in the guinea-pig ileum. *Neuroscience* 75: 949-967.
- Costa, M., Brookes, S.J.H., Waterman, S.A., and May, R. (1992) Enteric neuronal circuitry and transmitter controlling intestinal motor function. In *Advances in the Innervation of Gastrointestinal Tract*, edited by Holle, G.E. and Wood, J.D. Amsterdam: Excerpta Medica/Elsevier Scientific, pp 115-121.
- Costa, M., Furness, J.B., Cuellar, A.C., Verhofstad, A.J., Steinbusch, H.W.J. and Elde, R.P. (1982) Neurons with 5-hydroxytryptamine-like immunoreactivity in the enteric nervous system: their visualization and reactions to drug treatment. *Neuroscience* 7: 351-363.
- Das, M., Chohan, S.P. and Ganguly, D.K. (1991) Possible existence of dopaminergic receptors on cholinergic nerve terminals in the guinea-pig Auerbach's plexus. *Life. Sci.* 48(14): 1395-1399.

- Furness, J.B., Kunze, W.A.A., Bertrand, P.P., Clerc, N. and Bornstein J.C. (1998) Intrinsic primary afferent neurons of the intestine. *Prog. Neurobiol.* 54: 1-18.
- Gritsanapan, W., Mekmanee, R. and Chulasiri, M. (1989) Antimicrobial activity and effect on isolated guinea pig ileum of barakol. *J.Pharm.Sci.*16: 27-31.
- Hassanali-Walji, A., King, T.J. and Wallwork, S.C. (1969) Barakol, a novel dioxaphenylene derivative from *Cassia siamea*. *J. Chem. Soc.Chem.commun.* 12: 678.
- Ingkaninan, K., Ijzerman, A.P. and Verpoorte, R. (2000) Luteolin, a compound with adenosine A1 receptor-binding activity, and chromone and dihydronaphthalenone constituents from *Senna siamea*. *J.Nat.Prod.* 63: 315-317.
- Jantarayota, P. (1987) Effect of barakol extracted from leaves of *Cassia siamea* on the rat central nervous system. Thesis submitted for the degree of Master of Science in Pharmacy, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- Kaokeaw, K. (1992) Iodination reaction and evaluation of sedative action of barakol, the main ingredient extract from the young leaves of *Cassia siamea* Lamk. Thesis submitted for the degree of Master of Science in biological Chemistry, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.
- Kromer, W. (1990) Reflex peristalsis in the guinea pig isolated ileum is endogenously controlled by kappa opioid receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 341: 450-454.
- Kunze, W.A.A. and Furness, J.B. (1999) The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Annu. Rev. Physiol.* 61: 117-142.
- Kutchai, H.C. (1996) Structure and innervation of the gastrointestinal tract. In: *Principles of Physiology*, 2nd ed., edited by Berne, R.M. and Levy, M.N. St. Louis: Mosby, pp 437-440.
- Marmon, L.M., Albercht, F., Canessa, L.M., Hoy, G.R. and Jose, P.A. (1993) Identification of dopamine1A receptors in the rat small intestine. *J. Surg. Res.* 54(6): 616-620.
- Misiewicz, J.J. (1993) Dyspepsia In: *Gastrointestinal Disease* edited by Sleisenger, M.H. and Fordtran, J.S. Philadelphia: W.B. Saunders, pp 572-579.
- Momose, Y., Chaichantiyuth, C., Leelasangakul V. and Tongroach, P. (1996) Effects of barakol on aconitine-induced arrhythmias in heart. In *Proceeding of the Third NRCT-JSPS Joint Seminar on Current Advance in Natural Product Research*. Bangkok, Thailand, pp 153-156.
- Porter, A., Brookes, S.J.H., Schemann, M and Costa, M. (1997) Choline acetyltransferase immunoreactivity in the human small and large intestine. *Gastroenterology* 111: 401-408.
- Suwan G., Sudsuang, R., Ghumma-Upakorn,D. and Werawong, C. (1992) Hypertensive effects of barakol extracted from leaves of *Cassia siamea* Lam. in rats and cats. *Thai J. Physiol. Sci.* , 5: 53-65.
- Thongsaard, W. (1998) Physiological and pharmacological properties of *Cassia siamea* and its active constituent, barakol. *Thai.J. Physiol. Sci.* .11(1): 1-26.

- Thongsarad, W., Pongsakorn, S., Sudsuang, R., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (1996) Effect of barakol on extracellular dopamine and its metabolites in rat striatum *in vivo*. In *Proceeding of the 7th International Conference on in vivo Methods*. Santa Cruz de Temtife, Spain, pp. 127-128.
- Thongsaard, W., Ting, K.N., Marsden, C.A. and Wilson, V.G. (1997) The effect of barakol against electrically-evoked contraction of the isolated procine tail artery and guinea pig ileum. *Br.J.Pharmacol.* 122: 141P.
- Thongsaard, W., Pongsakorn, S., Sudsuang, R., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (1997) Barakol, a natural anxiolytic, inhibits striatal dopamine release but not uptake *in vitro* *Eur.J.Pharmacol.* 319: 157-164.
- Thongsaard, W., Chainakul, S., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (2001) Determination of barakol extracted from *Cassia siamea* by HPLC with Electrochemical Detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25 : 853-859.
- Vanderwinden, J.M. (1999) Role of interstitial cells of cajal and other relationship with enteric nervous system. *Eur. J. Morphol.* 37: 250-256.
- Wagner, H., El-Sayyad, S.M., Seligmann, O. and Chari, V.M. (1978) *Planta Med.* 33: 258-261.
- Wood, J.D. (1994) Physiology of enteric nervous system. In *Physiology of gastrointestinal tract*. 3rd edi. edited by Leonard, R.J. New York: Raven Press, pp 423-482.