

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากร่างกาย

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบต่างๆ ไปนั้น เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับแคลเซียม (Ca^{2+}) อิสระภายในเซลล์ (intracellular calcium) ซึ่งอาจมาจากภายนอกเซลล์ หรือจากการปลดปล่อยจากแหล่งเก็บสะสม (sarcoplasmic reticulum หรือ SR)

การให้น้ำมันระเหยจากมะเขັนแบบสะสม (cumulative dose) ในน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ Krebs-Henseleit solution ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงมีการหดตัวในลักษณะ dose - dependent (ภาพที่14) และเมื่อเปลี่ยนน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็น calcium free Krebs-Henseleit solution ไม่พบการหดตัวของหลอดเลือดแดง แสดงให้เห็นว่า การหดตัวของหลอดเลือดแดงที่เกิดขึ้น เมื่อให้น้ำมันระเหย เกิดจากมีการเคลื่อนที่ของแคลเซียมอิสระจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ เป็นผลทำให้แคลเซียมอิสระจากภายในเซลล์มีมากขึ้น จึงเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เมื่ออยู่ในน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มีแคลเซียม แม้จะให้น้ำมันระเหยจากมะเขັนก็ไม่สามารถทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง ซึ่งน่าจะบ่งบอกได้ว่า น้ำมันระเหยจากผลมะเขັน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane depolarization โดยทำให้มีการเคลื่อนที่ของแคลเซียมอิสระจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์

prazosin เป็น selective α_1 - adrenoreceptor antagonist (Guh and others, 1995) เมื่อกระตุ้น α_1 - adrenoreceptor มีผลกระตุ้นการทำงานของ G - protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถ hydrolyze phosphatidylinositol ให้กลายเป็น IP_3 (เมื่อระดับ IP_3 ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม) และ DAG ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของ protein kinase C (Bulbring and

Tomita, 1987 ; Muramatsu, Kigoshi and Oshita, 1990 ; Ruffolo and other , 1990 ;) และฤทธิ์ทางอ้อม เมื่อกระตุ้น α_1 - adrenoreceptor ทำให้มีการเปลี่ยนแปลง action potential ของ cell membrane มีผลทำให้แคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ (Bulbring and Tomita, 1987) จึงกล่าวได้ว่า การกระตุ้น α_1 - adrenoreceptor ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้นั้น เป็นผลจากการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งสะสม และการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ (Daly and others, 1990 ; Vila and others, 1997) จากผลการศึกษาหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) จะมี α_1 - adrenoreceptor อยู่ และ high affinity ต่อ prazosin (Bulbring and Tomita, 1987) และการที่ prazosin 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งการกระตุ้นการหดตัวของน้ำมันระเหยที่ให้แบบสะสมต่อหลอดเลือดแดงใหญ่ (ภาพที่ 15 และ 16) ได้นั้น น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่โดยผ่าน α_1 - adrenoreceptor หรืออาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ระดับแคลเซียมใน intracellular calcium

verapamil เป็น calcium channels antagonist สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยออกฤทธิ์ผ่าน L - type ของ voltage - operated calcium channels (VOC) ของ cell membrane (Yu and Bose, 1991 ; Spedding and Paoletti, 1992 ; Vaghy, 1994) ดังนั้น verapamil จึงสามารถลดขนาดของ action potential และยับยั้งการเกิด action potential ซึ่งเป็นผลให้ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ (Bolton, 1979b ; Yu and Bose, 1991 ; Salomone and others, 1995) จากผลการศึกษา verapamil 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งฤทธิ์การหดตัวของน้ำมันระเหยที่ให้แบบสะสมต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ได้ (ภาพที่ 17 และ 18) น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ได้โดยผ่าน VOC ทำให้แคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้หลอดเลือดหดตัว

ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

chlorpheniramine เป็น H_1 - receptor antagonist ซึ่งเมื่อ histamine จับกับ H_1 - receptor จะเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เนื่องมาจาก

1) ฤทธิ์ทางตรง (direct action) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential มีผลต่อ ion channels ทำให้แคลเซียมและโซเดียม เคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ และมีผลกระตุ้นการทำงานของ G-protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถ hydrolyze phosphatidylinositol ให้กลายเป็น IP_3 (เมื่อระดับ IP_3 ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมหรือ SR) กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหดตัว 2) ฤทธิ์ทางอ้อม (indirect action) ทำให้มีการหลั่งของสารสื่อประสาท (neurotransmitters) เช่น ACh มีผลทำให้ลำไส้เล็กหดตัว (Bolton and others, 1981 ; Morel, Hardy and Godfraind, 1987 ; Hill, 1990) จากผลการศึกษา chlorpheniramine 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากมะเข็ญที่ให้แบบสะสมต่อการกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาได้ (ภาพที่ 20 และ 21) น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาโดยผ่าน H_1 -receptor

cyproheptadine เป็น $5-HT_2$ -receptor antagonist แต่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ histamine angiotensin II , bradykinin และ cholinergic receptor ได้ (Stone and others, 1961 ; Reylon and Siddiqui, 1983 ; Hoyer and others, 1994) เมื่อ serotonin จับตัวกับตัวรับสัมผัส (receptor) มีผลกระตุ้นการทำงานของ G-protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถทำให้เกิด phosphatidylinositol metabolism ให้กลายเป็น IP_3 (เมื่อระดับ IP_3 ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมหรือ SR) กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหดตัว และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential มีผลต่อ ion channels ทำให้แคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหดตัว (Casteels and Raeymaekers, 1979 ; Hoyer and other, 1994) นอกจากนี้ยังออกฤทธิ์ทางอ้อม (indirect action) ทำให้มีการหลั่งของสารสื่อประสาท (neurotransmitters) เช่น acetylcholine มีผลทำให้ลำไส้เล็กหดตัว (Costa and Furness, 1979) จากผลการศึกษา cyproheptadine 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งฤทธิ์ของน้ำมันระเหยที่ให้แบบสะสมต่อการกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาได้ (ภาพที่ 22 และ 23) น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาโดยผ่าน $5-HT_2$ -receptor

atropine เป็น cholinergic antagonist สามารถยับยั้ง muscarinic receptor ของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กได้ เมื่อ ACh จับกับ muscarinic receptor มีผลกระตุ้นการทำงานของ

G-protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถทำให้เกิด phosphatidylinositol metabolism ให้กลายเป็น IP_3 (เมื่อระดับ IP_3 ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมหรือ SR) กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหดตัว และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential มีผลต่อ ion channels ทำให้แคลเซียมและโซเดียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหดตัว (Bolton, 1979a ; Bolton and others, 1981 ; Bolton and Kitamura, 1983 ; Wang and Kotlikoff, 1997 ; Pappano, 1998) และ high dose ของ ACh มีผลกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย bound calcium ซึ่งมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้ (Bolton, 1979a) จากผลการศึกษา atropine 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งฤทธิ์ของน้ำมันระเหยที่ให้แบบสะสมต่อการกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาได้ (ภาพที่ 24 และ 25) น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาโดยผ่าน muscarinic receptor

verapamil เป็น calcium channels antagonist สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยออกฤทธิ์ผ่าน L-type ของ voltage-operated calcium channels (VOC) ของ cell membrane (Yu and Bose, 1991 ; Spedding and Paoletti, 1992 ; Vaghy, 1994) ดังนั้น verapamil จึงสามารถลดขนาดของ action potential และยับยั้งการเกิด action potential ซึ่งเป็นผลให้ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ (Bolton, 1979b ; Yu and Bose, 1991 ; Salomone and others, 1995) จากผลการศึกษา verapamil 1×10^{-7} M สามารถยับยั้งฤทธิ์การหดตัวของน้ำมันระเหยที่ให้แบบสะสมต่อกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ได้ (ภาพที่ 26 และ 27) น่าจะเกิดจากการที่น้ำมันระเหยสามารถกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ได้โดยผ่าน VOC ทำให้แคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้ลำไส้เล็กส่วน ileum หดตัว

การหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวซึ่งสามารถกระตุ้นได้ด้วยน้ำมันระเหยจากมะเขັน สามารถยับยั้งได้ด้วย prazosin 1×10^{-7} M, verpamil 1×10^{-7} M และในสารละลาย calcium free Krebs-Henseleit solution ส่วนในลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา สามารถยับยั้งได้ด้วย chlorpheniramine 1×10^{-7} M, cyproheptadine 1×10^{-7} M, atropine 1×10^{-7} M และ verapamil 1×10^{-7} M จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่า การออกฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวและลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา อาจเกิดจากการกระตุ้นผ่านหลายกลไก ดังกล่าวข้างต้น ซึ่งการออกฤทธิ์นั้น อาจเกิดจากการออก

ฤทธิ์ทางอ้อม (indirect action) เนื่องจาก ฤทธิ์ของน้ำมันระเหยสามารถยับยั้งได้ด้วยสารยับยั้ง (antagonists) หลายชนิด ดังนั้น น้ำมันระเหยจึงมีผลทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว และลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา มีการหดตัวเพิ่มขึ้น โดยผ่านกลไกใดก็ตาม ต้องมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์ แล้วจึงทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ (Bolton, 1979a ; Karaki and Weiss, 1988 ; Somlyo and Somlyo, 1994 ; Rang and other, 1995 , Karaki and others, 1997)

ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบท่ออสุจิของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

เมื่อให้ NE 1×10^{-6} M พบว่าท่ออสุจิส่วน epididymal หดตัวโดยเกิด phasic และตามด้วย rhythmic contraction NE ทำให้กล้ามเนื้อเรียบท่ออสุจิหดตัวโดยการกระตุ้น α_1 - adrenoreceptor ซึ่งกระตุ้นผ่าน α_{1A} - adrenoreceptor (Bultmann, Kurz, and Starke, 1994 ; Guh and others, 1995) เมื่อ NE จับกับ α_1 - adrenoreceptor มีผลทำให้เกิด couple กับ G-protein แล้วมีผลกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) เอนไซม์นี้มีผล hydrolyzed phosphatidylinositol - 4,5 - bisphosphate (PIP₂) ได้ second messenger คือ DAG และ IP₃ ซึ่ง IP₃ จะไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการหดตัวของท่ออสุจิ (Khoyi and others, 1993) นอกจากนี้การกระตุ้นผ่าน α_{1A} - adrenoreceptor ทำให้เกิด receptor - operated - calcium channels (ROC) ทำให้ calcium channels เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จึงเข้าสู่เซลล์มากขึ้น และแคลเซียมนี้จะมีผลกระตุ้นแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมให้มีการปลดปล่อยแคลเซียม ทำให้ท่ออสุจิหดตัว ดังนั้นการหดตัวของท่ออสุจิขึ้นอยู่กับ extracellular calcium เนื่องจาก calcium channels antagonists สามารถยับยั้งการหดตัวของท่ออสุจิจากการกระตุ้นด้วย NE ได้ และยังขึ้นอยู่กับ intracellular calcium เพราะในการทดลองด้วยสารละลาย calcium free - solution การหดตัวของท่ออสุจิยังเกิดขึ้นได้ (Vesperinas and others, 1989 , Mutsuki, Higo, Saito and Nakazawa, 1996) จากการทดลองพบว่า น้ำมันระเหย 8×10^{-4} μ l/25 ml เมื่อให้ร่วมกับ NE 1×10^{-6} M สามารถเสริมฤทธิ์ของ NE โดยเพิ่มการหดตัวแบบ phasic และ rhythmic ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากมะเข้มนอกออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนหนึ่งอาจกระตุ้นผ่าน α_1 - adrenoreceptor ไม่ว่าจะเป็ผลทางตรงหรือ

ทางอ้อม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของน้ำมันระเหยจากมะเป๋นต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกออกจากกายโดยสามารถยับยั้งการหดตัวได้ด้วย prazosin

จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้น ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยศึกษาการหดตัวของท่อสุจิส่วน epididymal ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs-Henseleit solution และกระตุ้นให้ท่อสุจิหดตัวด้วย NE พบว่า ท่อสุจิส่วน epididymal มีการหดตัวแบบ phasic เพียงอย่างเดียว เนื่องจาก การหดตัวแบบ phasic ของท่อสุจิส่วน epididymal ที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย NE จะต้องอาศัย calcium จากแหล่งเก็บสะสม (SR) และ calcium จากภายนอกเซลล์ แต่การหดตัวแบบ rhythmic นั้น ส่วนใหญ่จะอาศัย calcium จากภายนอกเซลล์ ทำให้ไม่สามารถพบการหดตัวแบบ rhythmic ของท่อสุจิได้ ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs-Henseleit solution (Mutsuki, Higo, Saito and Nakazawa, 1996) และเมื่อให้ร่วมกับน้ำมันระเหย ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs-Henseleit solution น้ำมันระเหยไม่สามารถเสริมฤทธิ์ของ NE ในการกระตุ้นให้ท่อสุจิส่วน epididymal หดตัวได้ ทำให้ทราบว่าการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยต่อการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวนั้น น่าจะเกิดขึ้นจาก การนำ calcium จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้ระดับ calcium ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของน้ำมันระเหยต่อหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกายใน calcium free Krebs-Henseleit solution ดังภาพที่ 14

เมื่อให้ $BaCl_2$ 1 mM ท่อสุจิส่วน prostatic เกิดการหดตัวแบบ phasic ตามด้วย rhythmic contraction $BaCl_2$ เป็นสารที่ออกฤทธิ์แบบ non-specific receptor นอกจาก calcium แล้ว barium สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้ทาง potential-operated calcium channels (POC) โดย Hay และ Wadsworth (1992) พบว่า phasic contraction เกิดจาก

1) barium ทำให้เกิด membrane depolarized ส่งผลให้ ion-channel เปิด เกิดการเคลื่อนที่ของ calcium จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์

2) เมื่อกระตุ้นผ่าน POC ion channels เปิดออก ทำให้ barium เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ และ barium จะมีผลไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย calcium จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) ทำให้ calcium อีตระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น

3) barium ทำให้มีการปลดปล่อย bound calcium จาก plasma membrane

4) barium ผ่าน POC ion channels เปิดออก ทำให้ barium เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ มีผลกระทบโดยตรงต่อ contractile protein ในกล้ามเนื้อเรียบท่ออสุจิ

5) barium ยังมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่ของ potassium ผ่าน barium sensitive potassium channels ที่ plasma membrane ของ smooth muscle โดยลด outward potassium current ทำให้เกิด membrane depolarized เกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential operated channel ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของ calcium จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้ calcium อีตรภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดย calcium อีตรนี้จะมีผลไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย calcium จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (Huang, 1995)

ส่วน rhythmic contraction เกิดเนื่องจาก barium ทำให้เกิด membrane depolarized มีผลต่อ POC ซึ่ง POC นี้จะแตกต่างจาก POC ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl เพราะ channels นี้มีความไวต่ำต่อ calcium antagonists (Hay and Wadsworth, 1983, 1992) จากการทดลองพบว่า น้ำมันระเหยจากมะเข็ญ 8×10^{-4} $\mu\text{l}/25 \text{ ml}$ เมื่อให้ร่วมกับ BaCl_2 1×10^{-6} M สามารถเสริมฤทธิ์ของ BaCl_2 โดยเพิ่มการหดตัวแบบ phasic และ rhythmic ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อาจเป็นผลจาก น้ำมันระเหยเสริมฤทธิ์ของ BaCl_2 โดยกระตุ้นผ่าน POC หรือกลไกอื่นๆ ข้างต้น

เมื่อให้ KCl 50 mM ท่ออสุจิส่วน prostatic จะเกิดการหดตัวแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction การหดตัวนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential เกิด depolarized กระตุ้นให้มีการเปิดของ ion channels ผ่าน POC L-type เนื่องจาก calcium antagonist สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย KCl ได้ ซึ่ง POC ชนิดอื่นๆ T, N, P type จะ resistant ต่อ calcium antagonist (Tsien, Ellinor and Home, 1991) เมื่อ POC ถูกกระตุ้นทำให้ calcium จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ นอกจากนี้ potassium จะมีผลทำให้มีการปลดปล่อย bound calcium (Hay and Wadsworth, 1982, 1984) ทำให้ระดับ calcium ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จึงเกิดการหดตัวของท่ออสุจิ การตอบสนองต่อ KCl นี้สามารถยับยั้งได้ด้วย La^{3+} (lanthanum) ซึ่งเป็น trivalent cation calcium antagonist ซึ่งแสดงว่าทั้ง phasic และ tonic contraction จะเกี่ยวข้องกับแคลเซียมภายนอกเซลล์ แต่เมื่อทดสอบในสารละลาย calcium free - solution พบว่า KCl ความเข้มข้นสูง (160 mM) สามารถทำให้ calcium ถูก

ปลดปล่อยออกจากแหล่งสะสมได้ โดยไม่สามารถยับยั้งได้ด้วย calcium antagonists เช่น nifedipine หรือ verapamil (Hay and Wadsworth, 1983) จากการทดลองพบว่า น้ำมันระเหย 8×10^{-4} $\mu\text{l}/25 \text{ ml}$ เมื่อให้ร่วมกับ KCl 50 mM สามารถเสริมฤทธิ์ของ KCl โดยเพิ่มการหดตัวแบบ phasic ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เพิ่มการหดตัวแบบ tonic ได้อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อาจเป็นผลจาก น้ำมันระเหยเสริมฤทธิ์ของ KCl โดย potassium จะกระตุ้น membrane depolarized ผ่าน POC ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ fast channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดเร็ว ทำให้มีการหดตัวแบบ phasic contraction ส่วน slow channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดช้า ทำให้มีการหดตัวแบบ tonic contraction ส่วน verapamil สามารถลดได้ทั้ง phasic และ tonic contraction อาจเกิดจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ที่ calcium channel (Hay and Wadsworth, 1980) น้ำมันระเหยน่าจะมีผลต่อ POC ทั้ง fast และ slow channel แต่อาจมีผลที่ fast channel มากกว่า slow channel จึงเสริมฤทธิ์การกระตุ้นการหดตัวของ KCl ต่อท่ออสุจิในการเกิด phasic contraction ได้ดีกว่า tonic contraction

ผลต่อการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติ

จากผลของน้ำมันระเหยจากมะเขັน ต่อการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรในตารางที่ 2 พบว่า การให้น้ำมันระเหย (5% volatile oil in 0.1% tween80) 10 ml/kg BW ทางปาก มีผลเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักร จะเห็นได้จาก สัดส่วนระหว่างระยะการเคลื่อนที่ไปของ น้ำหมึกในลำไส้ต่อความยาวทั้งหมดของลำไส้หนูถีบจักรแต่ละตัว พบว่า หนูถีบจักรในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันระเหย น้ำหมึกสามารถเคลื่อนที่ไปในลำไส้ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ 0.1% tween80 10 ml/kg BW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาใน ลำไส้ส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย ซึ่งน้ำมันระเหยจากผลมะเขັนสามารถเพิ่มการหดตัวของลำไส้ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน โดยน้ำมันระเหยอาจมีผลเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรสภาพปกติ โดยกระตุ้นผ่าน receptor – operated calcium channel (ROC) หรือ voltage- operated calcium channel (VOC) ได้ หรืออาจผ่านกลไกอื่นได้ เนื่องจากภายในร่างกายมีการควบคุมการทำงานของลำไส้ผ่านระบบประสาท และ ฮอร์โมน หลายชนิด เช่น acetylcholine เป็น neurotransmitter ที่สำคัญ

ทำให้ลำไส้เกิดการบีบตัวเพิ่มขึ้น โดยจับกับ muscarinic receptor ทำให้เกิด membrane depolarization รวมทั้ง 5-HT และ histamine จะมีผลเช่นเดียวกับ acetylcholine และ 5-HT ยังกระตุ้นให้มีการหลั่ง acetylcholine และ substance P ทำให้ลำไส้บีบตัวเพิ่มขึ้น ซึ่ง substance P จะอยู่ภายใน enteric neurons โดยจะมีผลเพิ่มการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้ทั้ง circular และ longitudinal และมีเซลล์บางชนิด คือ enterochromaffin (EC) cell ที่ intestinal mucosa เป็นพวก endocrineparacrine cell ที่สามารถปลดปล่อย 5-HT และ substance P ได้ จะมีผลเพิ่มการบีบตัวของลำไส้ได้เช่นเดียวกัน (Hills and Aaronson , 1991) และอาจเป็นไปได้ว่า น้ำมันระเหยจากผลมะแข่นออกฤทธิ์กระตุ้นเป็นแบบเฉพาะที่ (local effect) ต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้เล็ก จึงให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ที่แยกออกจากกาย

ผลจากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยจากผลมะแข่น สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากอวัยวะต่างๆ ที่แยกออกจากกาย และเพิ่มการบีบตัวของลำไส้เล็ก หนูถีบจักรในสภาพปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษากับฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากพืชชนิดอื่น จะให้ผลที่แตกต่างกัน เช่น ผลของน้ำมันระเหย peppermint oil ประกอบด้วยสารหลายชนิด ได้แก่ menthol (44%), menthone (33%), cineole (12%), และ mentyl acetate (4.4%) (Beesley and others , 1996) ซึ่งได้จาก *Mentha piperita* L. จะยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน taenia coli ของหนูตะเภาที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย carbachol, 5-HT, histamine, substance P, calcium in potassium - depolarized, CaCl_2 และ KCl และยับยั้ง spontaneous contraction ของลำไส้ส่วน colon ของหนูตะเภา และลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย (Hills and Aaronson , 1991) และการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยจาก *Zanthoxylum budrunga* ซึ่งสารสำคัญที่พบได้แก่ p-menthane และ trihydroxy-p-menthane สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย acetylcholine และ histamine (Agshikar and Abraham , 1972) และผลของ cardamom oil จาก *Elettaria cardamomum* ซึ่งมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ 1,8 - cineole (20-60%), alpha - terpinyl acetate (20-53%), linalyl acetate, linalol และ borneol (8%), alpha - terpineol (4.3%), alpha - pinene, limonene และ myrcene (3%) จะยับยั้งได้ทั้ง spontaneous intestinal movement และเมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine ได้ในกระต่าย และการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากเมล็ดของ *Nigella sativa* พบว่า สามารถยับยั้ง spontaneous movement และ เมื่อกระตุ้น high K^+ solution และ acetylcholine ของลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายได้ (Aqel , 1993) และยับยั้ง

spontaneous movement ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก และเมื่อถูกเหนี่ยวนำให้กล้ามเนื้อเรียบมดลูกหดตัวด้วย oxytocin ทั้งในหนูขาวและหนูตะเภา (Aqel and Shaheen, 1996) จากผลการศึกษาทางเภสัชวิทยาต่อกล้ามเนื้อเรียบที่ได้นั้นมีความแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากสารสำคัญที่พบในน้ำมันระเหยแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยเฉพาะน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ มีสารสำคัญที่พบมากได้แก่ limonene (31.09%), sabinene (9.13%) และ terpin-4-ol (13.94%) ทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาไม่เหมือนกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ (*Zanthoxylum limonella* Alston) เป็นพืชที่พบได้มากทางภาคเหนือของประเทศไทย ถูกนำมาเป็นเครื่องเทศในการประกอบอาหาร และมีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร จากผลการศึกษาเบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญต่อกล้ามเนื้อเรียบชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ มีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั้งสามชนิดได้ และเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติได้

ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญสามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้ แต่ยับยั้งได้ด้วย prazosin และ verapamil และกลไกการกระตุ้นให้มีการหดตัวของน้ำมันระเหยอาจจะผ่านทาง α_1 - adrenoreceptor หรือกระตุ้นผ่าน voltage - operated calcium channel (VOC) ทำให้ระดับ calcium ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เมื่อเปลี่ยนน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็น calcium free Krebs-Henseleit solution น้ำมันระเหยไม่สามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หดตัวได้นั้น น่าจะเกิดจากน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหดตัวได้คืออาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ที่เข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น

น้ำมันระเหยสามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาได้ โดยผ่านกลไก receptor - operated calcium channel (ROC) เนื่องจากสามารถยับยั้งได้ด้วยสารยับยั้งหลายชนิด คือ chlorpheniramine, cyproheptadine และ atropine รวมทั้ง

ออกฤทธิ์ผ่าน voltage-operated calcium channel (VOC) ซึ่งยับยั้งได้ด้วย verapamil ดังนั้น น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญอาจออกฤทธิ์ผ่านหลายกลไก โดยมีผลเพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบดำไส้เล็กหดตัวได้

ในกล้ามเนื้อเรียบท่ออสุจิ น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ มีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของท่ออสุจิ แบบ phasic และ rhythmic ได้ภายหลังจากถูกกระตุ้นด้วย norepinephrine แต่ไม่เพิ่มการหดตัวใน calcium free Krebs-Henseleit solution และ barium chloride ($BaCl_2$) ดังนั้น น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญอาจออกฤทธิ์ผ่าน α - adrenoreceptor และ voltage-operated calcium channel (VOC) ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นกล้ามเนื้อเรียบท่ออสุจิจึงหดตัวเพิ่มขึ้น และน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญมีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของท่ออสุจิ phasic และ tonic ได้ภายหลังจากถูกกระตุ้นด้วย KCl ผ่านทาง VOC L-type ชนิด fast และ slow activating voltage-operated calcium channel ดังนั้น น้ำมันระเหยอาจออกฤทธิ์ผ่านทั้ง fast และ slow-activating voltage-operated calcium channel แต่ออกฤทธิ์ต่อ fast channel ได้ดีกว่า slow channel เนื่องจากน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญเสริมฤทธิ์การหดตัวแบบ phasic ได้มากกว่า tonic contraction

น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญสามารถเพิ่มการบีบตัวของดำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในกล้ามเนื้อเรียบดำไส้เล็กส่วน ileum ที่แยกจากกายของหนูตะเภา โดยน้ำมันระเหยอาจมีผลเพิ่มการบีบตัวของดำไส้หนูถีบจักรสภาพปกติ โดยกระตุ้นผ่าน receptor-operated calcium channel (ROC) หรือ voltage-operated calcium channel (VOC) ได้ หรืออาจผ่านกลไกอื่นได้ เนื่องจากภายในร่างกายจะมีระบบประสาทและฮอร์โมนเข้ามาเกี่ยวข้องเพื่อควบคุมการทำงานของดำไส้

โดยสรุป น้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่และดำไส้เล็กส่วน ileum ได้ เป็นไปในลักษณะ dose-dependent และเป็นการออกฤทธิ์แบบไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific mechanism) เนื่องจากน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญ ประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด โดยกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากผลมะเข็ญนั้นอาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยผ่านทางช่องผ่านของแคลเซียม อาจผ่านทั้ง ROC และ VOC ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยา ดังนั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดเพิ่มขึ้น เช่น การแยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ (active ingredient) ได้ เฉพาะเจาะจงต่อกล้ามเนื้อเรียบแต่ละชนิด และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่ชัดเจนของสารสำคัญ ในน้ำมันระเหย เพื่อให้ได้ข้อมูลทางเภสัชวิทยาเพิ่มขึ้น และอาจมีการศึกษาในด้านอื่นๆ ได้แก่ การศึกษาทางพิษวิทยา ฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินหายใจ เพื่อสามารถ นำข้อมูลเหล่านี้มาเป็นประโยชน์ในการพัฒนาทางด้านเภสัชวิทยาต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย