



บทที่ 4

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดอัลลิซินต่อการหดตัวของมดลูกหนูแรท พบว่า สารสกัดอัลลิซินในความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.2-1.6 มิลลิลิตร มีผลทำให้มดลูกหนูแรทหดตัวแบบ dose response ดังรูปที่ 3, 4 และ 5 ( $P < 0.01$ ) ความแรงของการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของอัลลิซินที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับกลไกในการทำให้เกิดการหดตัวของมดลูกหนูแรทจากสารสกัดอัลลิซินยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีรายงานพบว่าถ้าให้หนูที่ตัดรังไข่ไปแล้ว กินกระเทียมขนาด 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว หรือฉีดเข้าใต้ผิวหนัง พบว่า กระเทียมมีฤทธิ์เป็น estrogenic effect (Lorenzo Velasquez และคณะ, 1958 ; Bickoff, 1963) หรือทำในหนูที่ยังเล็กอยู่ก็มีผลเป็น estrogenic effect เช่นกัน (Tewari, Mapa and Chaturvedi, 1976) ซึ่งฤทธิ์ในการบีบตัวของมดลูก อาจเนื่องมาจากการศึกษาที่กระเทียมสามารถเหนี่ยวนำให้มีการหลั่ง acetylcholine (Lorenzo Velasquez and Orellana Rodriguez, 1955) หรือออกฤทธิ์ในการยับยั้งฤทธิ์ของ cholinesterase ทำให้มีปริมาณ acetylcholine สูง (Bogin and Abrams, 1976) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าการหดตัวของมดลูกโดยสารสกัดอัลลิซิน มีกลไกอย่างไร

ผลของสารสกัดอัลลิซินต่อ muscarinic receptor พบว่า atropine ไม่มีผลยับยั้งสารสกัดอัลลิซิน ทั้งความแรง อัตรา จังหวะ และรูปลักษณ์ ของการหดตัว ไม่ว่าจะใช้สารสกัดอัลลิซินปริมาณเท่าใดก็ตาม ดังแสดงในรูปที่ 6, 7, 8, 9 และ 10 ผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดอัลลิซิน ไม่ได้ออกฤทธิ์ผ่านทาง muscarinic receptors เพราะ atropine ไม่สามารถยับยั้งผลได้ เนื่องจาก atropine เป็น competitive antagonist ที่ postganglionic ของพาราซิมพาเธติก ของกล้ามเนื้อเรียบ (Innes and Nicherson, 1975) และเคยมีรายงานพบว่า atropine สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลาไส้เล็กของหนูตะเภา เนื่องด้วยน้ำสกัดกระเทียม (อัจฉรา ภูพิศพัฒน์ไผล, 2524) ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากมีปัจจัยหลายอย่างแตกต่างกัน เช่น กรรมวิธีการสกัดกระเทียมไม่ได้สกัดเอาเฉพาะ

อัลลีลีน นอกจากนี้ อาจจะเป็นเทคนิคการทดลองที่แตกต่างกัน และโครงสร้างของกล้ามเนื้อเรียบที่แตกต่างกันด้วย (Gartner, Hiatt and Strum, 1988)

การหดตัวของมดลูกหนูแรทโดย acetylcholine หลังจากให้ atropine พบว่า atropine สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ acetylcholine ได้โดยพบว่าความเข้มข้นของ atropine เพิ่มขึ้น จะทำให้ความแรงของการหดตัวของมดลูกหนูแรทจากฤทธิ์ของ acetylcholine ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงในรูปที่ 13, 14, 15 และ 16 เนื่องจาก acetylcholine เป็น neurotransmitter ที่ preganglionic ของพาราซิมพา-เธติก และซิมพาเธติก และ postganglionic ของพาราซิมพาเธติก ออกฤทธิ์โดยทำให้เกิด depolarization ขึ้นที่ผิว receptor จะไปกระตุ้น receptor บน effector cells ทำให้กล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะต่าง ๆ หดตัว (Evans, Schild and Thesleff, 1958 ; อุษา หงส์วาริวัธน์ และ อุษา กิตยานี, 2521) เนื่องจาก atropine เป็น competitive antagonist ต่อ acetylcholine ที่ muscarinic receptors ของ postganglionic ของพาราซิมพาเธติก ของกล้ามเนื้อเรียบ จึงสามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง muscarinic action ของ acetylcholine ได้ (Innes and Nicherson, 1975)

จากผลการศึกษาครั้งนี้พอจะสรุปได้ว่า สารสกัดอัลลีลีนไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน muscarinic receptor ที่ postganglionic ของพาราซิมพาเธติก เพราะ atropine ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสารสกัดอัลลีลีน เหมือนกับที่ atropine สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ acetylcholine ได้

ผลของสารสกัดอัลลีลีนต่อ beta receptor ของมดลูกหนูแรท จากการศึกษาพบว่า propranolol ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสารสกัดอัลลีลีนได้ ดังนั้นผลของการให้สารสกัดอัลลีลีน หลังจากให้ propranolol ต่อความแรง อัตรา จังหวะ และรูปลักษณะของการหดตัวจึงไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 22 และ 23 โดย propranolol เพียงแต่ไปทำให้สารสกัดอัลลีลีนออกฤทธิ์ต่อมดลูกโดยตรงได้น้อยลงเท่านั้น ผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดอัลลีลีนไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน beta receptor เนื่องจาก propranolol เป็น beta antagonist สามารถยับยั้งการคลายตัว และให้ผลดีที่สุดตามกล้ามเนื้อมดลูกหนูแรท



(Wasserman and Levy, 1972) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดอัลลีซินกับ isoproterenol จะพบว่า propranolol สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ isoproterenol ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 20 และ 21 โดย isoproterenol เป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อ beta adrenergic receptor ของ myometrium ทำให้เกิดการคลายตัว (Wasserman and Levy, 1972 ; O'Donnell and Pesson, 1978) ดังนั้น propranolol จึงสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการคลายตัวทำให้ผลความแรงของการหดตัวโดย isoproterenol เพิ่มขึ้น ผกผันกับความเข้มข้นของ isoproterenol ซึ่งผลของการกระตุ้น beta receptor ที่ cellular surface จะสามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ เพราะกลไกการกระตุ้น receptor นี้จะส่งผลให้เพิ่ม cyclic adenosine monophosphate (cAMP) (Carsten, Jordan and Miller, 1987) ผลของ cAMP ที่เพิ่มขึ้นจะกระตุ้น protein kinases จึงมีผลทำให้เกิด phosphorylation ของ protein จาก plasma membrane และ sarcoplasmic reticulum ทำให้แคลเซียมในเซลล์ลดลง ยับยั้งการเชื่อมกันระหว่าง actin กับ myosin ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว (Korenman และคณะ, 1984)

จากผลการศึกษาค้างนี้พอสรุปได้ว่า สารสกัดอัลลีซินไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน beta receptor เพราะ propranolol ไม่สามารถยับยั้งการคลายตัว หรือเอื้อฤทธิ์ของสารสกัดอัลลีซินได้ เหมือนกับที่ propranolol ไปยับยั้งการคลายตัวที่เกิดจากฤทธิ์ของ isoproterenol จึงทำให้ความแรงของการหดตัวเพิ่มขึ้นได้

ผลของสารสกัดอัลลีซินต่อ alpha receptor ของมดลูกหนูแรท จากการศึกษาพบว่า phentolamine ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูก ที่เกิดจากสารสกัดอัลลีซินได้ ทั้ง ความแรง อัตรา จังหวะ และรูปลักษณ์ ของการหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 28 และ 29 จากผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดอัลลีซินไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน alpha receptor ของมดลูกหนูแรท ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดอัลลีซินกับ norepinephrine จะพบว่า phentolamine สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ norepinephrine ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 26 และ 27 เนื่องจาก norepinephrine เป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อ alpha adrenergic receptor ของมดลูกหนูแรททำให้เกิดการหดตัวได้ (Bisset,

Haldor and Lewin, 1966) ดังนั้น phentolamine จึงสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัว ทำให้ความแรงการหดตัวที่เกิดจาก norepinephrine ลดลง ซึ่งผลของการกระตุ้น alpha receptor จะทำให้จำนวน active channel เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของ channel หรืออัตราการเปิด-ปิดของ channel ส่งผลให้ระดับแคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้น กระตุ้นการเชื่อมกันของ actin กับ myosin ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว (Korenman และ คณะ, 1974)

จากผลการศึกษาพอสรุปได้ว่าสารสกัดอัลลีซินไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน alpha receptor เพราะ phentolamine ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสารสกัดอัลลีซินเหมือนกับที่ phentolamine สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ norepinephrine ได้

ผลของสารสกัดอัลลีซินต่อ Ca-blocker ของมดลูกหนูแรท ผลของการทำให้ verapamil พบว่า ทำให้มดลูกคลายตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 30 และ 31 จากการศึกษาพบว่า แคลเซียมเป็นสารที่สำคัญที่สุดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดย แคลเซียมสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ 2 ทาง คือ potential-dependent channels (PDC) ถูกกระตุ้นโดย membrane depolarization และ receptor-operated channel (ROC) ถูกกระตุ้นโดย specific receptor (Triggle, 1981) การศึกษาทาง electrophysiology พบว่า verapamil มีกลไกการออกฤทธิ์โดยปิดกั้น ROC และ PDC (Vanhoutte, 1987) และพบว่า methoxy verapamil (D-600) และ verapamil ใน ความเข้มข้นมาก ๆ คือ มากกว่า  $10^{-5}$  M นอกจากจะปิดกั้น calcium channel ทั้ง 2 ชนิดแล้ว ยังไปยับยั้งการ movement ของ calcium ในเซลล์ได้ด้วย (Triggle, 1981) ดังนั้นผลของ verapamil จึงทำให้มดลูกคลายตัวได้ เมื่อให้สารสกัดอัลลีซิน หลังจาก ให้ verapamil พบว่าสารสกัดอัลลีซินสามารถเพิ่มการหดตัวของมดลูกหนูแรทแบบ dose response อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 33 และ 34 แสดงให้เห็นว่าสารสกัด อัลลีซิน สามารถทำหน้าที่เป็น chemical agent ไปกระตุ้น membrane ทำให้เกิดการหลั่ง acetylcholine (Lorenzo Velasquez and Orellana Rodriguez, 1955) โดยพบว่า acetylcholine สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวได้ หลังจากให้ verapamil ใน canine trachea (Farley and Millers, 1978) ในท่อนองเดียวกัน



orepinephrine ก็สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวได้หลังจากให้ verapamil ใน rabbit aorta และ mesenteric artery (Schumann, Gorlitz and Wagner, 1975) โดยเชื่อว่ากลไกที่ทำให้เกิดการหดตัวได้ใน smooth muscle ทั้งของ acetylcholine และ norepinephrine หลังจากให้ verapamil เกิดจากการใช้ intracellular calcium และ sensitive ต่อ potential-dependent channels (PDC) แต่ insensitive ต่อ receptor-operated channels (ROC) หรือ intracellular sources เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของ verapamil นอกจากไปปิดกั้นทางเข้าของแคลเซียมจาก calcium channel แล้วยังมีผลไป inhibit specific ligand binding ที่ membrane receptor เช่น muscarinic, alpha adrenergic (Triggle, 1981) ส่วนกลไกอื่น ๆ ยังคงศึกษากันอยู่ แต่เชื่อว่าทั้ง acetylcholine และ norepinephrine สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด calcium mobilization ได้มากกว่า 1 แหล่ง ทั้งนี้ขึ้นกับ ชนิดของสารที่ใช้ ความเข้มข้น และส่วนประกอบของ mechanical response (Triggle, 1981) ในขณะที่ยวกันสารสกัดอัลลิซิน ก็เป็นสารชนิดหนึ่ง ซึ่งจากการทดลองพบว่าในความเข้มข้น 3.5 mg/ml สามารถเหนี่ยวนำให้มดลูกหนูแรทหดตัวได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถทำให้เกิดการหดตัว ได้หลังจาก ให้ verapamil เช่นเดียวกับ acetylcholine และ norepinephrine โดยกลไกนอกเหนือไปจากที่กล่าวมาแล้วเชื่อว่า สารสกัดอัลลิซินอาจจะไปกระตุ้นให้มีการเปิด ROC ร่วมด้วย เนื่องจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดอัลลิซิน ไม่ได้มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่าน muscarinic หรือ alpha adrenergic receptor ซึ่งถูกยับยั้งได้ด้วย verapamil นอกจากนั้นสารสกัดอัลลิซินอาจจะไปกระตุ้นเซลล์ให้มีการปล่อย calcium จากภายใน cytosol เอง คือจาก sarcoplasmic reticulum และ mitochondria ผลของการกระตุ้นจะทำให้แคลเซียมภายในเซลล์ เพิ่มขึ้น โดยพบว่า sarcoplasmic reticulum ใน smooth muscle cells มีเป็นจำนวนน้อย (Devine, Somlyo and Somlyo, 1972) แต่เมื่อศึกษาด้วยกล้อง electron microscope แล้วพบว่า มีลักษณะคล้ายกับในกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) โดยพบว่า มีประมาณ 1.5%-7.5% ของ cell volume ของ smooth muscle cell (Somlyo, 1985) และในสภาวะที่มี calcium free solution

และมี lanthanum ซึ่งสามารถจะไป block การผ่านเข้าของ calcium จาก plasma membrane พบว่า calcium จาก intracellular sources เพียงพอที่จะทำให้เกิด maximal contraction ได้ (Bond และคณะ, 1984)



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย