ผลของไดออสคอรีนต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ ในสมองน้อยของหนูแรท โดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตฟอเรซีส

นางสาวศิริวรรณ นิลเนตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2539

ISBN 974–636–155–4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17102111

EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT CEREBELLAR PURKINJE CELLS ACTIVITIES USING MICROIONTOPHORETIC TECHNIQUE

Miss Siriwan Nilnate

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Inter-department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic year 1996

ISBN 974–636–155–4

Thesis Title	Effects of Dioscorine on Rat Cerebellar Purkinje Cells Activities Using Microiontophoretic Technique
By	Miss Siriwan Nilnate
Inter-department	Physiology
Thesis Advisor	Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirments for the Master's degree.

.....Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

Thesis Committee

.....Chairman
(Professor Ratree Sudsuang, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

.....Member
(Assistant Professor Anan Srikiatkhachorn, M.D.)

.....Member
(Assistant Professor Kanokwan Tilokskulchai, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ศิริวรรณ นิลเนตร : ผลของไดออสคอรีนต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในสมองน้อยของหนูแรทโดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตฟอเรซีส (EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT CEREBELLAR PURKINJE CELLS ACTIVITIES USING MICROIONTOPHORETIC TECHNIQUE) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ภาวิช ทองโรจน์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. บุญยงค์ ตันติสิระ, 56 หน้า, ISBN 974-636-155-4

การวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของไดออสคอรีนต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในสมองน้อยของหนูแรท โดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตฟอเรซีส พบว่า ไดออสคอรีนออกฤทธิ์เพิ่มอัตราการปลดปล่อยกระแสประสาทของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ เมื่อให้ไดออสคอรีนร่วมกับสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง ได้แก่ GABA, glycine, taurine, 5-hydroxytryptamine, และ noradrenaline พบว่า ไดออสคอรีนออกฤทธิ์ต้านการยับยั้งของสารสื่อประสาทดังกล่าวทุกตัว ขณะที่ไดออสคอรีนไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น ได้แก่ glutamate และ aspartate เลย

ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ไดออสคอรีนอาจออกฤทธิ์ผ่านกลไกช่องทางผ่านของไอออนที่เป็นเหตุของฤทธิ์ยับยั้งของสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง ได้แก่ ช่องโปแตสเซียม หรือ ช่องคลอไรด์ หรือทั้งสองช่อง

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต Siriwan Nilnote

สาขาวิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Boonyong Tantisira

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C745749 : MAJOR PHYSIOLOGY
KEY WORD: dioscorine / cerebellar Purkinje cell / microiontophoresis

SIRIWAN NILNATE : EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT CEREBELLAR PURKINJE CELLS ACTIVITIES USING MICROIONTOPHORETIC TECHNIQUE. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PAVICH TONGROACH, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSO. PROF. BOONYONG TANTISIRA, Ph.D. 56pp. ISBN 974-636-155-4

Effects of dioscorine (DCR) were tested on rat cerebellar Purkinje cells by means of microiontophoresis. It was observed that DCR consistently excited spontaneous firing of Purkinje cells. When tested against responses of Purkinje cells to inhibitory putative neurotransmitters, namely, GABA, glycine, taurine, 5-hydroxytryptamine, and noradrenaline, it was observed that DCR produced blockade of depressant actions of all these neurotransmitters, while the actions of excitatory putative neurotransmitters, glutamate and aspartate, remained unaffected.

It is suggested that DCR may act on Purkinje cells via ion channel mechanism which is common to all inhibitory neurotransmitters, namely, potassium channels, or chloride channels, or both.

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต Siriwan Nilnate

สาขาวิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Pavich Tongroach

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Boonyong Tantisira

Acknowledgements

I would like to express my gratitude to my advisor, Assoc. Prof. Dr. Pavich Tongroach, and co-advisor, Assoc. Prof. Dr. Boonyong Tantisira, for their kind advice, guidance, and constant encouragement throughout the preparation of this study.

My thanks are also due to Assist. Prof. Dr. Chamnan Patarapanich for preparation of dioscorine HCl. Special thanks are due to Heads of Departments of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences and Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for their helpful advice and allowing me to carry out this work in their departments.

Similarly, I am indebted to all staff members of the Department of Physiology , Faculty of Pharmaceutucal Sciences, for their valuable helps.

I would like to extend my grateful thanks to the Graduate School, Chulalongkorn University for the financial support in conducting this study.

Last, but not least, my grateful thanks are extended to my parents whose support, patience and encouragement, made everything possible.

Contents

	Page
Abstract (Thai)	iv
Abstract (English)	v
Acknowledgements	vi
Contents	vii
List of Tables	viii
List of Figures	ix
List of Abbreviations	xii
Chapter	
I Introduction	1
II General Method	12
III Results	25
IV Discussion and Conclusion	40
References	45
Curriculum Vitae	56

List of Tables

Table Page

1. Substances used in microiontophoretic study..... 16
2. Summary of microiontophoretic study of DCR on cortical neurones of the cerebellum..... 26

List of Figures

Figure Page

1. Chemical Structure of Dioscorine..... 10
2. Schematic view of a single cerebellar folium..... 10
3. Basic neuronal circuitry and putative neurotransmitters in the cerebellum..... 11
4. Diagramatic representation of experimental arrangments routinely employed in experiments involving electrophysiological investigation and microiontophoresis..... 23
5. Maintained discharge of a Purkinje cell, recorded extracellularly, showing its two different spike potentials..... 24
6. Effect of microiontophoretic application of DCR in dose dependent manner on spontaneous firing rate of Purkinje cells..... 31
7. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (30 nA) and GLY (45 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 32
8. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 40 nA) superimposed

on the depressant actions of GABA (45 nA) and TAU (80 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 33

9. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and NA (70 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 34

10. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and 5–HT (90nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 35

11. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the excitant actions of GLU (50 nA) and ASP (70nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 36

12. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR: 30 nA) superimposed on the depressant action of GABA (10 nA) and the excitant actions of GLU (10 nA) ans ASP (20 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 37

13. Effect of continuous microiontophoretic application of BMC (30 nA) and DCR (30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and GLY (70 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 38

14. Effect of continuous microiontophoretic application of STRY (30 nA) and DCR (30 nA) superimposed on

the depressant actions of GABA (20 nA) and GLY
(50 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 39

List of Abbreviations

γ	=	gamma
μV	=	microvolt
%	=	percentage
° C	=	degree celsius
$M\Omega$	=	megaohm
ACh	=	acetylcholine
CNS	=	Central Nervous System
D.C.	=	direct (electrical) current
EEG	=	electroencephalogram
et al.	=	et alii (and other)
g	=	gram
HCl	=	hydrochloric acid; hydrochloride
kg	=	kilogram
LD_{50}	=	median lethal dose
M	=	molar
mM	=	millimolar
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
mm	=	millimetre
nA	=	nanoampare
NaCl	=	sodium chloride

NaOH	=	sodium hydroxide
sec	=	second