อภินันทนาการ

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 13 JUL 2011
เลขทะเบียน 1563648
เลขเรียกหนังสือ ว RM
666
.C96
ก152ว
2553

โครงการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่มีต่อตัวรับชนิดนิโคตินิคและมัสคารินิกในเนื้อสมองของหนูขาวใหญ่ที่ได้รับเอทานอล

Study of nicotinic and muscarinic receptor activity in *Curcuma longa* extracts on brains of ethanol-received rats

โดย ดร.ธนศักดิ์ เทียกทอง และคณะ

กรกฎาคม 2553

สัญญาเลขที่ RX-52-01-001(5)

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย
การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่มีต่อตัวรับชนิดนิโคตินิคและมัสคารินิกในเนื้อสมองของหนูขาวใหญ่ที่ได้รับเอทานอล

โดย

ดร.ธนศักดิ์ เทียกทอง[1]

ผศ.ดร. นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ[1]

ผศ.ดร.สกลวรรณ ประพฤติบัติ[1]

[1]ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้บริหาร คณาจารย์ เจ้าหน้าที่ และผู้ช่วยวิจัยในคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่านที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยนี้ ที่มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้ดำเนินไปอย่างราบรื่นและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ พุทธศักราช 2552 จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

บทคัดย่อ

การติดสุราหรือ alcohol ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ รวมทั้งเป็นปัญหาต่อสังคมและเศรษฐกิจ การรักษาการติด alcohol จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง สมุนไพรเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้ในการรักษาการติด alcohol ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่นำมาใช้รักษาอาการผิดปกติต่างๆ และมีรายงานว่าสารสกัดขมิ้นชันลดการปกป้องการทำลายและการลดการอักเสบของเซลล์ประสาทจากการได้รับ ethanol การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดขมิ้นชันที่มีต่อ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ในหนูขาวใหญ่ โดยหนูขาวใหญ่แต่ละกลุ่มจะได้รับ ethanol ร่วมกับสารสกัดขมิ้นชันในขนาดต่างๆ เพื่อศึกษาการแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ในสมองของ carbachol และศึกษาการแทนที่ [^{3}H]scopolamine ในการจับกับ muscarinic receptors ในสมองของ atropine โดยทำการเปรียบเทียบกับหนูขาวใหญ่ที่ได้รับ glucose ผลการศึกษาพบว่าสมองของหนูขาวใหญ่ที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน มีค่า EC_{50} ของการแทนที่การจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol (EC_{50} = 0.045 μM) และมีค่า EC_{50} ของการแทนที่การจับกับ muscarinic receptors ของ atropine (EC_{50} = 0.0013 μM) ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ glucose (EC_{50} = 0.67 μM สำหรับการจับของ carbachol และ EC_{50} = 0.0042 μM สำหรับการจับของ scopolamine) แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มการจับของ non-radioligand กับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ซึ่งอาจเนื่องจากการที่ ethanol ไปมีผลเพิ่มการทำงานของ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ที่อยู่บริเวณปลายเซลล์ประสาท dopaminergic เป็นผลให้มีการหลั่ง dopamine เพิ่มมากขึ้นในสมอง ซึ่งจะทำให้เกิดภาวะติด alcohol สำหรับหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันร่วมกับ ethanol พบว่าสมองของหนูกลุ่มดังกล่าวมีการแทนที่การจับกับ muscarinic receptors ของ atropine และการแทนที่การจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสมองของหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol เพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสมองของหนูขาวใหญ่มีกลไกในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากการได้รับ ethanol ผ่านการกระตุ้นการทำงานและการเพิ่มปริมาณ nicotinic receptors และ muscarinic receptors นอกจากนี้ยังพบอีกว่าค่า EC_{50} สำหรับการแย่ง [^{3}H]scopolamine จับกับ muscarinic receptors ของ atropine จะน้อยกว่าค่า EC_{50} แย่ง [^{3}H]nicotine จับกับ nicotinic receptors ของ carbachol ในหนูขาวใหญ่ทุกกลุ่ม ผลดังกล่าวอาจเกิดจากการที่ปริมาณของ muscarinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่มีมากกว่า nicotinic receptors จึงทำให้สารสกัดขมิ้นชันไปมีผลเพิ่มการทำงานได้มากกว่า

Abstract

Alcohol dependence causes severe health, social and economic problems. Treatment of alcohol dependence must be understood and realized. An alternative way for the treatment is medicinal plant use. *Curcuma longa* has been used for treatment many disorders and has neuroprotective effects on ethanol-induced toxicity. This research aims to study the effects of *Curcuma longa* extract on nicotine and muscarinic receptors. Rats were received ethanol with various concentrations of *Curcuma longa* extract and displacement of carbachol on brain nicotinic receptors and atropine on brain muscarinic receptors were studied after the animals were sacrified. EC_{50} of displacement of nicotinic (EC_{50} = 0.045 μM) and muscarinic receptor binding (EC_{50} = 0.0013 μM) in the brains of ethanol-received rats were less than those in the brains of glucose-received rats (EC_{50} = 0.67 μM for carbachol binding and EC_{50} = 0.0042 μM for scopolamine binding). The result might be a stimulating effect of ethanol on nicotinic and muscarinic receptors located at terminal of dopaminergic neurons in brain leading to increasing of dopamine release and alcohol dependence. In brains of rat received *Curcuma longa* extract and ethanol, increases of atropine binding on muscarinic receptors and carbachol binding on nicotinic receptors were observed compared to brains of rat received only ethanol. The increases of binding might be involved with mechanisms of protection on neuronal cells from ethanol via enhancement of activities and levels of nicotinic and muscarinic receptors. Moreover, EC_{50} of displacement of muscarinic receptor binding was less than that of nicotinic receptor binding in all groups of the animals. This finding might be related to more *Curcuma longa* extract stimulation on muscarinic receptors which is found higher than nicotinic receptors on the rat brains.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	III
บทคัดย่อ	IV
Abstract	V
สารบัญเรื่อง	VI
สารบัญภาพ	VII
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	VIII
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
ขอบเขตของโครงการวิจัย	1
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	2
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย	3
ผลการทดลอง	5
อภิปรายผลการทดลอง	7
สรุปผลการทดลอง	10
เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย	11

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 Curve แสดงการแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol ในหนูขาวใหญ่กลุ่มต่าง ๆ 6

รูปที่ 2 Curve แสดงการแทนที่ [^{3}H]scopolamine ในการจับกับ muscarinic receptors ของ atropine ในหนูขาวใหญ่กลุ่มต่าง ๆ 8

มหาวิทยาลัยนเรศวร

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

^{o}C	Degree celcious
%	Percent
[^{3}H]	Tritium-labelled radioactive
µL	Microlitre
µM	Micromolar
CMC	carboxymethylcellulose
EC_{50}	50% of effective concentration
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
g	Gram
$GABA_A$	γ-Aminobutyric acid-A
HCl	Hydrochloride
kg	Kilogram
M	Molar
mg/kg	Milligram per kilogram
mg/ml	Milligram per millilitre
ml	Millilitre
mM	Millimolar
NaCl	Sodium chloride
nM	Nanomolar
NMDA	N-methyl-D-aspartic acid
pmol/mg	Picomole per milligram
rpm	Round per minute
SEM	Standard error of mean
v/v	Volume by volume

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การรักษาการติดสุราในปัจจุบันมีทั้งการรักษาโดยการปรับเปลี่ยนความคิดและพฤติกรรมในการดื่มสุราและการใช้ยาที่ออกฤทธิ์ผ่านการทำงานของ dopamine และ glutamate (Cryan et al., 2003) แต่ประสิทธิภาพในการรักษาการติดสุราโดยการใช้ยามักไม่ดีนัก สาเหตุอาจเนื่องมาจากการติดสุราเกิดผ่านกลไกอื่น ๆนอกเหนือไปจากการทำงานของ dopamine และ glutamate (Nevo and Hamon, 1995; Walters et al., 2005) ดังนั้นจึงมีการพยายามค้นหากลไกที่เกี่ยวข้องกับการติดสุรา รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาการติดสุราของยาที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกต่าง ๆ แต่การศึกษาดังกล่าวยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้อย่างแน่ชัด และการศึกษาส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาทางคลินิก (Nevo and Hamon, 1995; Kiefer and Mann, 2005; Johnson 2008) รวมทั้งยาส่วนใหญ่มักทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้มากและหากนำมาใช้ในทางปฏิบัติจริงอาจทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการรักษาค่อนข้างสูง ดังนั้นการใช้สมุนไพรในการรักษาการติดสุราจึงเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นทรัพยากรที่มีอยู่มากมายในประเทศไทยและเป็นการสนับสนุนภูมิปัญญาไทยที่มีอยู่แต่โบราณให้เกิดประโยชน์ที่คุ้มค่า ซึ่งสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าลดการติดสุราและลดพิษจากการได้รับเอทานอล คือ ขมิ้นชัน โดยจากการศึกษาพบว่าการลดการติดสุราและการลดการเกิดพิษที่เกิดจากการได้รับเอทานอลอาจเกี่ยวข้องกับการปกป้องการทำลายและการลดการอักเสบของเซลล์ประสาท (Rajakrishnan et al., 1999; 2000) แต่อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ในการรักษาการติดสุราของขมิ้นชันยังไม่เป็นที่แน่ชัด อีกทั้งการติดสุราส่วนหนึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors (Nevo and Hamon, 1995; Larsson and Engel, 2004) ดังนั้นการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของขมิ้นชันที่มีต่อการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors ในสมองของสัตว์ทดลอง จึงน่าจะทำให้สามารถอธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ของขมิ้นชันในการรักษาการติดสุราได้ระดับหนึ่ง ในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาถึงฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันต่อการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors ในเนื้อสมองของหนูขาวใหญ่ที่ได้รับเอทานอลติดต่อกัน และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้อธิบายถึงกลไกและประสิทธิภาพของขมิ้นชันในการรักษาการติดสุราในคนต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันที่มีต่อการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors ในสมองสัตว์ทดลอง
2. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของขมิ้นชันในการรักษาการติดสุรา

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในสมองของหนูทดลอง โดยทำการศึกษาถึงผลของสารสกัดขมิ้นชันในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการทำงานของ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ซึ่งจะใช้ระเวลา 1 ปี

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ปัญหายาเสพติดเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศไทยในปัจจุบัน และนำมาซึ่งผลกระทบต่อประเทศในหลายๆด้าน ไม่ว่าจะเป็นปัญหาด้านครอบครัว เศรษฐกิจ วัฒนธรรม และสังคม ผลกระทบที่สำคัญอย่างหนึ่งจากปัญหายาเสพติดคือผลด้านสุขภาพ โดยการเสพยาเสพติดมีผลทำให้สุขภาพของผู้เสพเปลี่ยนไปในทางที่แย่ลง ยาเสพติดที่มีการเสพอย่างมากและถือว่าเป็นปัญหาของประเทศมาเป็นเวลานานนั่นคือ สุรา การดื่มสุราทำให้สูญเสียประสิทธิภาพในการทำงาน ก่อให้เกิดอุบัติเหตุ อาชญากรรม รวมทั้งโรคและความผิดปกติต่างๆในร่างกายมากมาย และการดื่มสุราอย่างต่อเนื่องจะทำให้เกิดอาการของโรคที่รุนแรงและเสียชีวิตก่อนวัยอันควร (สุราสินค้าไม่ธรรมดา: ความสูญเสียทางเศรษฐกิจและสังคม, 2551)

สาเหตุของการติดสุราเกิดจาก ethanol โดยกลไกที่เชื่อว่า ethanol ทำให้เกิดการติดสุราคือการเกิดผลที่ทำให้เกิดความพึงพอใจ (rewarding effects) ได้แก่ ความรู้สึกเคลิบเคลิ้ม มีสมาธิมากขึ้น ลดอาการวิตกกังวล และรู้สึกมีความสุขหลังจากดื่มสุรา ทำให้เกิดความต้องการที่จะดื่มสุราต่อไปเรื่อยๆ เพื่อให้เกิดผลดังกล่าว ในที่สุดจะเกิดการพึ่งพาหรือติดสุราทางจิตใจ (psychological dependence) (Kiefer and Mann, 2005) และเมื่อหยุดดื่มสุราจะเกิดอาการไม่สบายต่างๆ เกิดขึ้น เช่น วิตกกังวล สั่น หัวใจเต้นเร็ว เหงื่อออก และประสาทหลอน ซึ่งอาการเหล่านี้เรียกรวมกันว่าอาการขาดสุราหรืออาการลงแดง (withdrawal syndrome) (McIntosh and Chick, 2004) ทำให้ต้องหันกลับไปดื่มสุราเพื่อลดอาการไม่สบายดังกล่าว จึงเป็นการส่งเสริมให้เกิดการติดสุรามากขึ้น

Ethanol ออกฤทธิ์ผ่านหลาย receptors รวมทั้ง nicotinic receptors, $GABA_A$ receptors, NMDA และ cannabinoid receptors แม้ว่าการออกฤทธิ์ของ ethanol ยังไม่แน่ชัด แต่เชื่อว่าการออกฤทธิ์ของ ethanol ที่ $GABA_A$ receptor ทำให้เกิดฤทธิ์ลดอาการวิตกกังวลและทำให้สงบ (anxiolytic and sedative effects) (Nevo and Hamon, 1995; Larsson and Engel, 2004) ส่วนกลไกการพึ่งพาหรือติดสุรา เกิดจากการที่ ethanol ออกฤทธิ์กระตุ้น nicotinic receptor ที่อยู่บริเวณปลายประสาท dopaminergic neurons ในสมองบริเวณที่ควบคุมการแสดงอารมณ์และความรู้สึกเป็นสุข ได้แก่ nucleus accumbens (Morgane et al., 2005) ซึ่ง nicotinic receptors ดังกล่าวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ethanol จะทำให้ dopamine ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่อยู่ที่ปลายประสาท dopaminergic neurons หลั่งออกมา แล้วไปจับกับ dopamine receptors ที่สมองบริเวณต่างๆ มีผลทำให้เกิดความรู้สึกสบายใจ มีความสุข มีชีวิตชีวา และทำให้เกิดการพึ่งพา ethanol ทางจิตใจในที่สุด (Nevo and Hamon, 1995; Balfour et al., 2000; Larsson and Engel, 2004) อีกทั้งการออกฤทธิ์ของ ethanol ผ่าน NMDA receptors มีส่วนทำให้เกิดการดื้อยา การพึ่งพายาและอาการถอนยา ซึ่งการได้รับ ethanol ติดต่อกันเป็นเวลานานจะเพิ่มการสร้าง NMDA receptors ทำให้เกิดการกระตุ้นอย่างมากในขณะที่หยุดยา (Nevo and Hamon, 1995; Larsson and Engel, 2004)

ในปัจจุบันการรักษาการติดสุรามีทั้งการรักษาโดยการปรับเปลี่ยนความคิดและพฤติกรรมในการดื่มสุราและการใช้ยาในการรักษา ยาที่มีการใช้ในการรักษาการติดสุรามีหลายชนิด ได้แก่ naltrexone, topiramate, acamprosate และ disulfiram ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกันออกไป โดย naltrexone ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ mu-opioid receptor ในสมองส่วน nucleus accumbens และ topiramate ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ dopaminergic neurons ในสมองส่วน

ventral tegmental area และ nucleus accumbens ทำให้ลดความพึงพอใจในการดื่มสุรา สำหรับ acamprosate จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ NMDA glutamate receptor ในสมองส่วน nucleus accumbens ทำให้ลดอาการถอนยาจากการขาดสุรา ในขณะที่ disulfiram ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ aldehyde dehydrogenase ทำให้เกิดการสะสมของ acetaldehyde จากการดื่มสุรา และเกิดความรู้สึกไม่สบายเมื่อดื่มสุรา (Cryan et al., 2003; Kiefer and Mann, 2005) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการรักษาการติดสุราหลายวิธี แต่พบว่าประสิทธิภาพในการรักษามักเกิดขึ้นไม่มากเท่าที่ควร และการรักษาด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งจะให้ประสิทธิภาพที่น้อยกว่าการรักษาหลายวิธีร่วมกัน อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการรักษาหลายวิธีอยู่ในอัตราที่สูง รวมทั้งการใช้ยาหลายตัวเกิดอาการไม่พึงประสงค์ค่อนข้างมาก จึงมีการคิดค้นหาแนวทางใหม่ๆในการรักษาการติดสุราเพื่อลดปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้น ในประเทศไทยซึ่งถือว่าเป็นประเทศที่อุดมไปด้วยทรัพยากรธรรมชาติ และจากนโยบายของรัฐบาลที่สนับสนุนให้มีการใช้ภูมิปัญญาไทยในด้านต่างๆ จึงมีการนำสมุนไพรชนิดต่างๆมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆเป็นจำนวนมาก รวมถึงการนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาการติดสุรา ซึ่งสมุนไพรไทยที่มีการศึกษาและนำมาใช้ในการลดการติดสุราและความเป็นพิษจากการดื่มสุรามีหลายชนิด ได้แก่ ฟ้าทะลายโจร (Singha et al., 2007), รางจืด (Pramyothin et al., 2004), กระเทียม (Rajasree et al., 1998), และชา (Luczaj et al., 2006) เป็นต้น ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าสามารถลดการเกิดพิษที่เกิดจากการได้รับเอทานอลในสัตว์ทดลอง ซึ่งกลไกจะเกี่ยวข้องกับการปกป้องการทำลายและการลดการอักเสบของเซลล์ประสาท (Rajakrishnan et al., 1999; 2000) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าการติดสุราหรือเอทานอลมีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors ซึ่งในสมองของผู้ติดสุราและสัตว์ทดลองที่ได้รับเอทานอลจะมีระดับของ nicotinic และ muscarinic receptors ที่เปลี่ยนแปลงไป (Nordberg et al., 1982; Kelly et al., 1989; Hellstrom-Lindahl et al., 1993) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันที่มีต่อการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors อาจสามารถอธิบายกลไกในการรักษาการติดสุราของขมิ้นชันได้มากขึ้น

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัดขมิ้นชัน

งานวิจัยนี้ใช้ผงสารสกัดขมิ้นชัน (curcumin powder) ที่ผลิตจากองค์การเภสัชกรรม

การเตรียมสัตว์ทดลอง

หนูขาวใหญ่ (rat) เพศผู้ สายพันธ์ Sprague-Dawley (140-180 กรัม) ถูกเลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง โดยได้รับแสงสว่างและความมืดสลับกัน ทุก 12 ชั่วโมง และมีการให้อาหารและน้ำไม่จำกัด ในการทดลองหนูขาวใหญ่จะถูกแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว ตามการได้รับสารต่างๆ โดยผ่านท่อเข้ากระเพาะโดยตรง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 60% glucose (ปริมาณแคลอรีเทียบเท่ากับ 40% ethanol) ขนาด 2.5 ml/100 g เป็นเวลา 90 วัน

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day เป็นเวลา 90 วัน

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day ร่วมกับ 0.5% carboxymethylcellulose (CMC) ต่ออีก 30 วัน

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 250 mg/kg ต่ออีก 30 วัน

กลุ่มที่ 5 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol ขนาด 8 g/kg/day เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 500 mg/kg ต่ออีก 30 วัน

กลุ่มที่ 6 ได้แก่ หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol ขนาด 8 g/kg/day เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ขนาด 8 g/kg/day ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 750 mg/kg ต่ออีก 30 วัน

หลังจากการได้รับสารต่าง ๆครั้งสุดท้ายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะทำการสลบหนูด้วย pentobarbital จากนั้นทำให้ตายอย่างสงบและรวดเร็ว และทำการผ่าตัดนำสมองออกไปเก็บที่อุณหภูมิ $-20^{\circ}C$ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

การศึกษาการแทนที่การจับของ [^{3}H]nicotine กับ nicotinic receptors และ [^{3}H]scopolamine กับ muscarinic receptors

สมองของหนูขาวใหญ่ทั้ง 6 กลุ่ม ถูกนำไปทำการปั่น (homogenize) รวมกับ 50 mM phosphate buffer ที่มี 1 mM EDTA โดยใช้ homogenizer แล้วจึงนำไป centrifuge ที่ 15,000 rpm อุณหภูมิ $4^{\circ}C$ เป็นเวลา 20 นาที นำ membrane pellets ที่ได้ปริมาตร 230 µL ไป incubate กับสารละลาย carbachol ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 mg/ml ปริมาตร 35 µL ที่อุณหภูมิ $25^{\circ}C$ เป็นเวลา 30 นาที ในกรณีการศึกษาการแทนที่การจับ nicotinic receptor หรือสารละลาย atropine ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 mg/ml ปริมาตร 35 µL ที่อุณหภูมิ $25^{\circ}C$ เป็นเวลา 30 นาที ในกรณีการศึกษาการแทนที่การจับ muscarinic receptor จากนั้นเติม 4 nM [^{3}H]nicotine (PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA) ปริมาตร 35 µL สำหรับการศึกษาการแทนที่การจับ nicotinic receptor หรือ 1 nM [^{3}H]scopolamine (PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA) ปริมาตร 35 µL สำหรับการศึกษาการแทนที่การจับ muscarinic receptor จากนั้นทำการ incubate ที่อุณหภูมิ $25^{\circ}C$ เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้น membrane pellets จะถูกกรองผ่าน filter โดยใช้ The FiterMate Universal Harvester (PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA) เพื่อนำไปวัด radioligand activity ด้วย liquid scintillation analyzer (TopCount NXT®, PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA) และแสดงเป็นค่าความสามารถของ ligand ในการจับกับ receptor โดยปราศจาก non-specific binding ในหน่วย pmol/mg protein ซึ่ง non-specific binding ในการแทนที่การจับ nicotinic และ muscarinic receptor ได้จากการเติม 10^{-5} M carbachol และ 100 µM atropine ตามลำดับ

การหาปริมาณโปรตีน

สมองของหนูขาวใหญ่ทั้ง 6 กลุ่ม ที่ผ่านการปั่น (homogenize) ถูกผสมในบัฟเฟอร์สำหรับแยกโปรตีน (Tris buffer ประกอบด้วย 50 mM Tris HCl, pH 8, 150 mM NaCl 1% v/v Tween 20, 0.1% sodium dodecyl sulphate (SDS), 10% v/v protease inhibitor cocktail) อุณหภูมิ 4°C แล้วนำมาปั่นแยกที่ 10,000 g 10 นาที นำของเหลวส่วนบนซึ่งประกอบด้วย membrane fraction เป็นหลักนำมาทำให้เจือจางในอัตราส่วนต่างๆ หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีการแบรดฟอร์ด (Bradford, 1976) (Micro BCA protein assay, Pierce, Illinois USA) นำสารละลาย ไปอ่านค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (microplate spectrophotometer) การคำนวณหาปริมาณโปรตีนใช้ standard curve จากโปรตีนมาตรฐานอัลบูมิน

การวิเคราะห์การแทนที่การจับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors

การวิเคราะห์การแทนที่การจับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ทำโดยการใช้วิธี nonlinear regression จาก GraphPad PRISM™ Software (GraphPad Inc., San Diego, USA) ซึ่งค่า EC_{50} หรือ 50% of effective concentration เป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของ carbachol หรือ atropine ที่เข้าไปแทนที่สารรังสีในการจับกับ specific binding

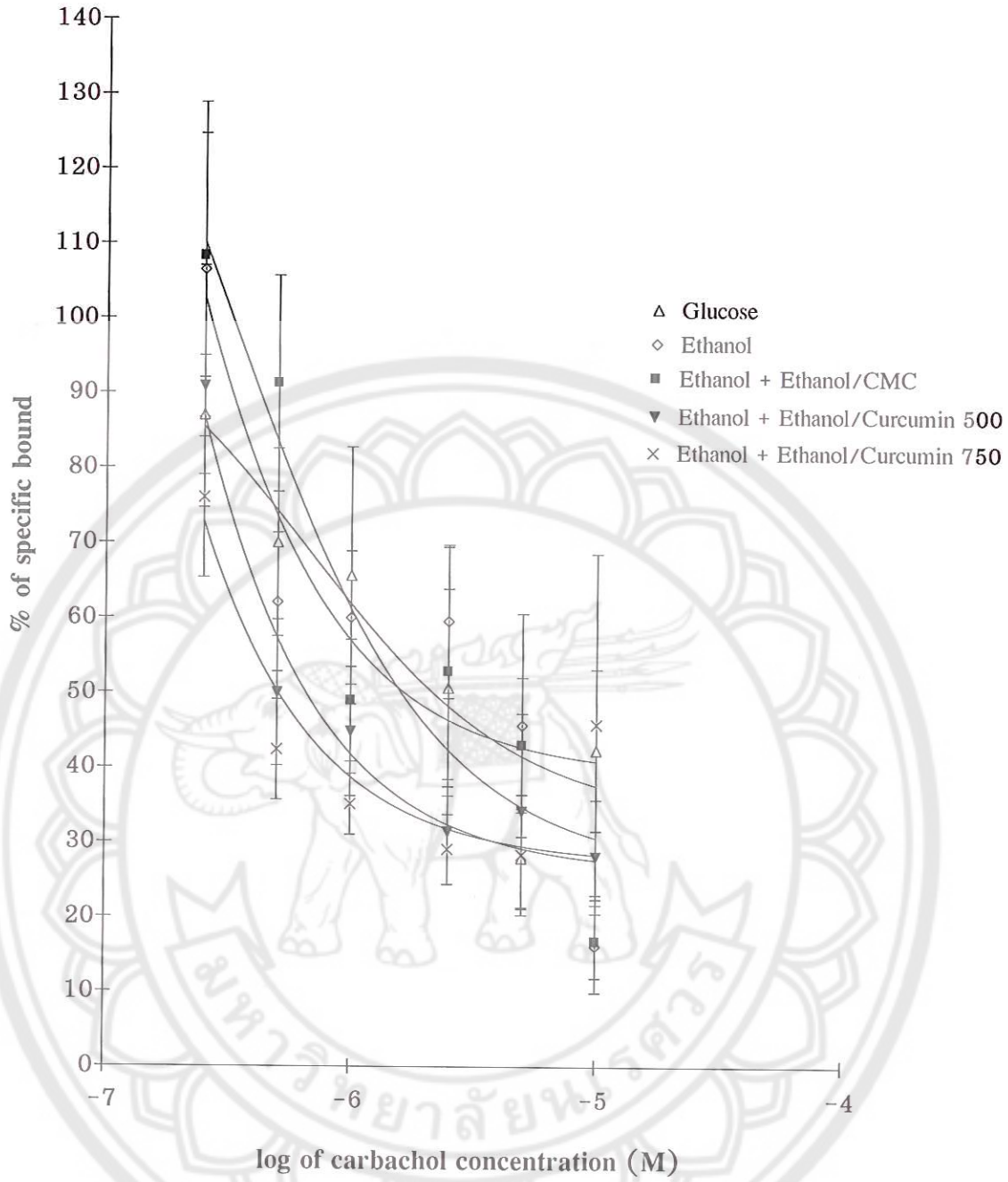
การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ จะนำค่า % การจับกับ receptors (% of specific bound) จาก homogenate ของสมองหนูขาวใหญ่ทั้ง 6 กลุ่มมาสร้างเป็น curve เพื่อแปรผลเป็นการออกฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันต่อการทำงานของ nicotinic และ muscarinic receptors โดยค่า % การจับกับ receptors ที่ได้จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (the standard error of the mean; SEM) ซึ่งได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง

ผลการทดลอง

ผลของการศึกษาการแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol

ผลการศึกษาการแทนที่ของ carbachol ต่อการจับของ [^{3}H]nicotine กับ nicotinic receptor แสดงในรูปที่ 1 โดยความสามารถในการแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol มีค่า EC_{50} ลดลงในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน (EC_{50} = 0.045 μM) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ glucose ติดต่อกัน 3 เดือน (EC_{50} = 0.67 μM) สำหรับหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันหลังจากได้รับ ethanol พบว่า carbachol สามารถแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน ซึ่ง EC_{50} ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันขนาด 500 และ 750 mg/kg เท่ากับ 0.014 และ 0.005 μM ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่า EC_{50} ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ CMC ร่วมกับ ethanol หลังจากได้รับ ethanol ติดต่อกัน 2 เดือน เท่ากับ 0.29 μM



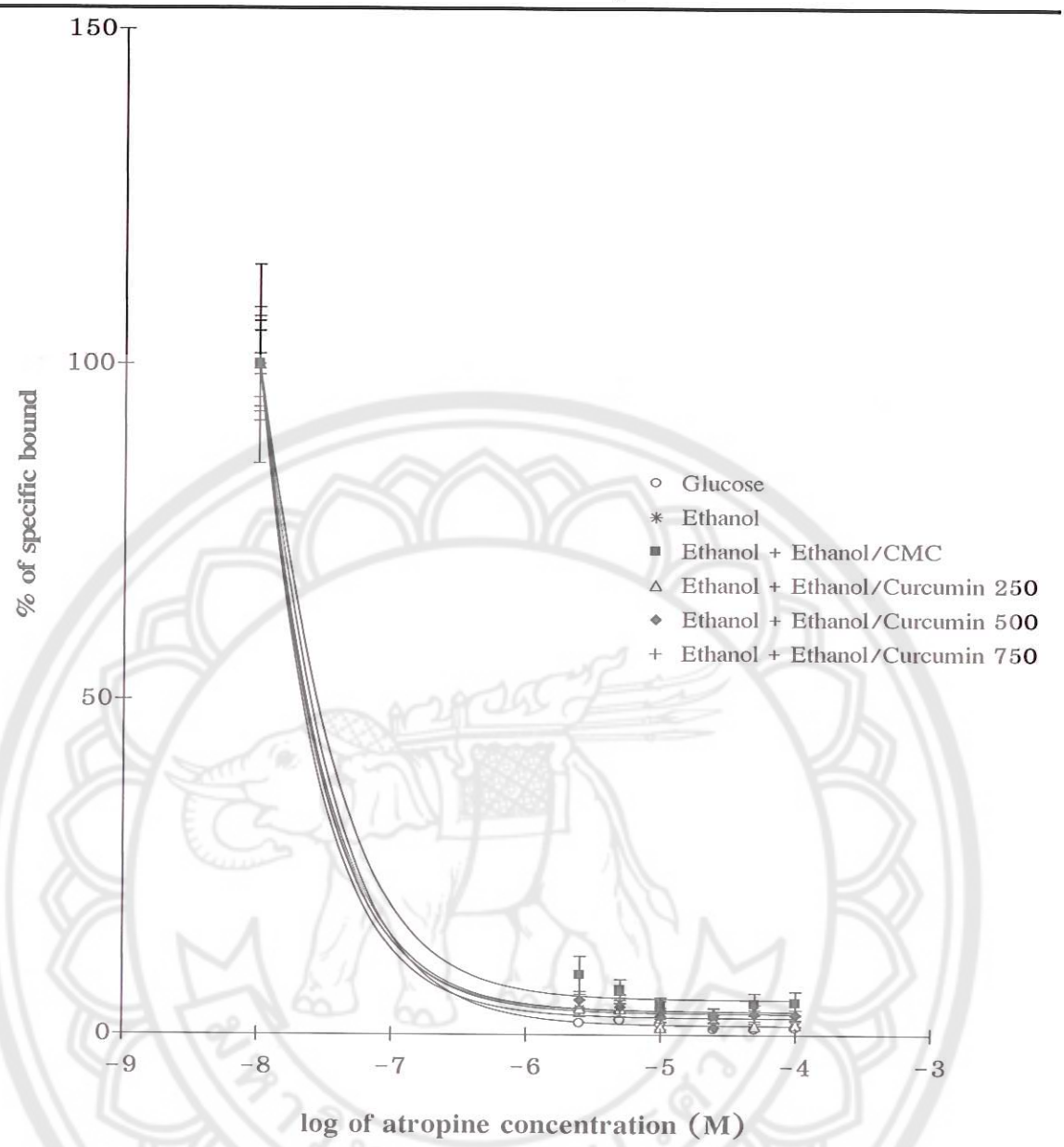
รูปที่ 1 Curve แสดงการแทนที่ [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ของ carbachol ในหนูขาวใหญ่กลุ่มต่าง ๆ ค่า % การจับกับ receptors แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SEM) ซึ่งได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง (Glucose = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 60% glucose เป็นเวลา 90 วัน, Ethanol = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol เป็นเวลา 90 วัน, Ethanol + Ethanol/CMC = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับ CMC ต่ออีก 30 วัน, Ethanol + Ethanol/Curcumin 500 = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 500 mg/kg ต่ออีก 30 วัน, Ethanol + Ethanol/Curcumin 750 = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 750 mg/kg ต่ออีก 30 วัน)

ผลของการศึกษาการแทนที่ [^{3}H]scopolamine ในการจับกับ muscarinic receptors ของ atropine

รูปที่ 2 แสดงการแทนที่ [^{3}H]scopolamine ในการจับกับ muscarinic receptors ของ atropine ในสมองของหนูขาวใหญ่กลุ่มต่างๆ การได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน (EC_{50} = 0.0013 μM) เป็นผลให้ atropine จับกับ muscarinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการได้รับ glucose (EC_{50} = 0.0042 μM) เมื่อหนูขาวใหญ่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันขนาด 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากได้รับ ethanol พบว่า nicotinic receptors ถูกจับโดย atropine มากขึ้น (EC_{50} = 0.00068 μM) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน แต่การแย่ง [^{3}H]nicotine ในการจับกับ nicotinic receptors ของ atropine ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชัน 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่ต่างจากหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน โดย EC_{50} ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชัน 500 และ 750 mg/kg เท่ากับ 0.002 และ 0.0016 μM ตามลำดับ ในขณะที่ค่า EC_{50} ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ CMC ร่วมกับ ethanol หลังจากได้รับ ethanol ติดต่อกัน 2 เดือน เท่ากับ 0.0056 μM เป็นที่น่าสังเกตว่าค่า EC_{50} สำหรับการแย่ง [^{3}H]scopolamine จับกับ muscarinic receptors ของ atropine จะน้อยกว่าค่า EC_{50} แย่ง [^{3}H]nicotine จับกับ nicotinic receptors ของ carbachol ในหนูขาวใหญ่ทุกกลุ่ม

อภิปรายผลการศึกษา

การติดสุรานับเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญปัญหาหนึ่งของระบบสาธารณสุขไทย ซึ่งก่อให้เกิดความผิดปกติต่ออวัยวะต่างๆในร่างกาย รวมทั้งส่งผลเสียต่อสังคมและเศรษฐกิจของชาติ (บัณฑิต ศรไพศาล, 2549) การรักษาการติดสุรามีหลายวิธีด้วยกันรวมทั้งการใช้สมุนไพรในการรักษา ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าสามารถลดการเกิดพิษที่เกิดจากการได้รับเอทานอลในสัตว์ทดลอง (Rajakrishnan et al., 1999; 2000) และผลจากการได้รับเอทานอลมีผลให้ระดับของ nicotinic และ muscarinic receptors ในสมองของผู้ติดสุราและสัตว์ทดลองเปลี่ยนแปลงไป (Nordberg et al., 1982; Kelly et al., 1989; Hellstrom-Lindahl et al., 1993) การศึกษานี้ต้องการแสดงให้เห็นถึงผลของสารสกัดขมิ้นชันที่มีต่อการทำงานของทั้ง nicotinic และ muscarinic receptors ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าการให้ ethanol ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน มีผลให้ non-radioligand ได้แก่ carbachol และ atropine จับกับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่ได้เพิ่มขึ้น และการให้สารสกัดขมิ้นชันกับหนูขาวใหญ่มีผลเพิ่มการจับของ non-radioligand กับทั้ง nicotinic receptors และ muscarinic receptors



รูปที่ 2 Curve แสดงการแทนที่ [^{3}H]scopolamine ในการจับกับ muscarinic receptors ของ atropine ในหนูขาวใหญ่กลุ่มต่าง ๆ ค่า % การจับกับ receptors แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SEM) ซึ่งได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง (Glucose = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 60% glucose เป็นเวลา 90 วัน, Ethanol = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol เป็นเวลา 90 วัน, Ethanol + Ethanol/CMC = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 %ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับ CMC ต่ออีก 30 วัน, Ethanol + Ethanol/Curcumin 250 = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 250 mg/kg ต่ออีก 30 วัน, Ethanol + Ethanol/Curcumin 500 = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 500 mg/kg ต่ออีก 30 วัน, Ethanol + Ethanol/Curcumin 750 = หนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ 40 % ethanol เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นได้รับ 40 %ethanol ร่วมกับผงสารสกัดขมิ้นชันขนาด 750 mg/kg ต่ออีก 30 วัน)

โดยทั่วไป nicotinic receptors และ muscarinic receptors เป็น receptors ที่กระจายในหลายบริเวณของสมอง (Perry et al., 1989; Piggott et al., 2002; Quik et al., 2000) และมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการติดยาและสารเสพติดชนิดต่างๆ ทั้งในคนและในสัตว์ทดลอง (Rezvani et al., 2010; See et al., 2003; Zarrindast et al., 2005) จากหลายการศึกษาที่ผ่านมารายงานถึงการทำงานและระดับของ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ที่เพิ่มขึ้นหลังจากได้รับสารเสพติดชนิดต่างๆ รวมทั้ง ethanol ติดต่อกัน (Light et al., 1989; Wahlstrom and Nordberg, 1991) ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษานี้ที่พบว่าการได้รับ ethanol ติดต่อกัน 3 เดือน มีผลทำให้ non-radioligand จับกับ receptors ได้มากขึ้น กลไกที่เป็นไปได้ในการอธิบายถึงการเพิ่มขึ้นของทั้ง nicotinic receptors และ muscarinic receptors เมื่อได้รับ ethanol ติดต่อกัน อาจเป็นเพราะ ethanol สามารถออกฤทธิ์โดยไปจับกับ nicotinic receptors ที่อยู่บริเวณปลายประสาท dopaminergic neurons ในสมองบริเวณที่ควบคุมการแสดงอารมณ์และความรู้สึกเป็นสุข ได้แก่ nucleus accumbens (Ericson et al., 2008; Tizabi et al., 2007) ซึ่ง nicotinic receptors ดังกล่าวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยนิโคตินจะทำให้ dopamine ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่อยู่ที่ปลายประสาท dopaminergic neurons หลั่งออกมา แล้วไปจับกับ dopamine receptors ที่สมองบริเวณต่างๆ มีผลทำให้เกิดความรู้สึกสบายใจ มีความสุข และมีชีวิตชีวา (Balfour et al., 2000) นอกจากนี้ ethanol สามารถไปจับกับ nicotinic receptors ในสมองบริเวณ hippocampus ที่ควบคุมการเรียนรู้และความจำ ผลคือทำให้มีความจำ การเรียนรู้ และสมาธิที่ดีขึ้น (Robles and Sabria, 2008) การได้รับ ethanol ติดต่อกันอาจมีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการทำงานและระดับของ nicotinic receptors ส่งผลให้มีการหลั่งของ dopamine อย่างต่อเนื่อง จนนำไปสู่การติด ethanol ในที่สุด อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ ไม่ได้ศึกษาถึงพฤติกรรมการติด ethanol ในสัตว์ทดลอง จึงยังอาจสรุปไม่ได้แน่ชัดว่าสัตว์ทดลองเกิดการติด ethanol หลังจากที่ได้รับติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน หรือไม่ ส่วนการเพิ่มขึ้นของ muscarinic receptors หลังจากได้รับ ethanol ติดต่อกัน อาจเป็นเพราะปลายประสาท dopaminergic neurons ในสมองส่วน ventral tegmental area และ nucleus accumbens เป็นบริเวณที่พบ muscarinic receptor และการกระตุ้นของ ethanol ที่ receptor นี้มีผลทำให้ dopamine หลั่งเพิ่มขึ้น และนำไปสู่การติด ethanol ได้เช่นเดียวกัน (McBride et al., 1999; Wahlstrom and Nordberg; 1992) ดังนั้นการให้ ethanol ติดต่อกันในสัตว์ทดลอง ซึ่งส่งผลให้ non-radioligand จับกับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ได้มากขึ้น อาจสัมพันธ์กับการเพิ่มระดับของ dopamine ในสมองและภาวะติด ethanol ของสัตว์ทดลอง

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้เป็นเวลานานในประเทศไทย โดยจากการศึกษาพบว่าขมิ้นชันมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Wuthi-udomlert et al., 2000) ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Yue et al., 2010) ฤทธิ์ลดการเกิดแผลในทางเดินอาหาร (Prucksunand et al., 2001) และฤทธิ์ลดไขมันในเลือด (Babu and Srinivasan, 1997) สำหรับฤทธิ์ลดการติดสุรา ยังไม่มีการรายงานแน่ชัด อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสารสกัดขมิ้นชันสามารถลดการเกิดพิษจาก ethanol ในสัตว์ทดลอง (Rajakrishnan et al., 1999; 2000) จากการศึกษานี้พบการเพิ่มการจับของ non-radioligand กับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่หลังจากได้รับสารสกัดขมิ้นชัน แม้ว่าการเพิ่มขึ้นดังกล่าวไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าเกี่ยวข้องกับการลดการติด ethanol ในสัตว์ทดลองหรือไม่ แต่มีการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของ

nicotinic receptors และ muscarinic receptors กับการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากสารต่าง ๆ (Arias et al., 2004; Guan et al., 2010; Takada-Takatori et al., 2008) และเนื่องจากในขมิ้นชันประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายเซลล์ในภาวะต่าง ๆ (Rastogi et al., 2008; Rathore et al., 2008; Singh et al., 2010) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการให้สารสกัดขมิ้นชันแก่สัตว์ทดลองแล้วมีผลเพิ่มการจับของ non-radioligand กับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors นั้น เกี่ยวข้องกับการป้องกันเซลล์สมองจากการทำลายโดย ethanol

แม้ว่าสารสกัดขมิ้นชันจะมีความสามารถในการเพิ่มการจับของ non-radioligand กับ nicotinic receptors และ muscarinic receptors แต่จากการศึกษาพบว่าการจับของ atropine กับ muscarinic receptors มากกว่าการจับของ carbachol กับ nicotinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่ทุกกลุ่ม ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าในสมองส่วน cerebral cortex ของหนูขาวใหญ่ที่ใช้ในการศึกษานี้ มีปริมาณของ muscarinic receptors มากกว่า nicotinic receptors ดังจะเห็นได้จากหลายการศึกษาที่มีการแสดงให้เห็นว่าสมองส่วน cerebral cortex พบปริมาณของ muscarinic receptors มากกว่า nicotinic receptors (Pauly et al., 1989; Perry et al., 1989) จึงมีโอกาสที่ ethanol และสารสกัดขมิ้นชันจะไปมีผลในการเพิ่มการทำงานและปริมาณของ muscarinic receptors ได้มากกว่า nicotinic receptors

สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดขมิ้นชันที่มีต่อ nicotinic receptors และ muscarinic receptors ในสมองของหนูขาวใหญ่ โดยศึกษาการแทนที่การจับของ [^{3}H]nicotine กับ nicotinic receptors โดย carbachol และการแทนที่การจับของ [^{3}H]scopolamine และ muscarinic receptors โดย atropine จากผลการศึกษาพบว่าสมองของหนูขาวใหญ่ที่ได้รับ ethanol ติดต่อกัน ทำให้ carbachol จับกับ nicotinic receptors และ atropine จับกับ muscarinic receptor ได้มากขึ้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดภาวะติด alcohol .ในหนูขาวใหญ่กลุ่มที่ได้รับ ethanol ร่วมกับสารสกัดขมิ้นชันจะมีการจับของ carbachol กับ nicotinic receptors และ atropine กับ muscarinic receptor เพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นดังกล่าวอาจเป็นผลของการที่เซลล์ประสาทมีกลไกป้องกันอันตรายจาก ethanol โดยอาศัยการกระตุ้นการทำงานของ nicotinic receptors และ muscarinic receptors และในหนูขาวใหญ่ทุกกลุ่มจะพบการจับของ atropine กับ muscarinic receptor ที่มากกว่าการจับของ carbachol กับ nicotinic receptors ซึ่งอาจเกิดจากการที่ ethanol และสารสกัดขมิ้นชันไปมีผลกระตุ้น muscarinic receptors ได้มากกว่า nicotinic receptors ด้วยเหตุที่ปริมาณของ muscarinic receptors ในสมองหนูขาวใหญ่จะพบได้มากกว่า nicotinic receptors

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

บัณฑิต ศรไพศาล. การบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในประเทศไทย. คลินิก 2549;22(1):7-13.

สุราสินค้าไม่ธรรมดา: ความสูญเสียทางเศรษฐกิจและสังคม. ฟาร์มาไทม์ 2551;61: 45-6.

Arias E, Ales E, Gabilan NH, Cano-Abad MF, Villarroya M, Garcia AG, et al. Galantamine prevents apoptosis induced by beta-amyloid and thapsigargin: involvement of nicotinic acetylcholine receptors. Neuropharmacology 2004;46(1):103-14.

Babu PS, Srinivasan K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. Mol Cell Biochem 1997;166(1-2):169-75.

Balfour DJ, Wright AE, Benwell ME, Birrell CE. The putative role of extra-synaptic mesolimbic dopamine in the neurobiology of nicotine dependence. Behav Brain Res 2000;113:73-83.

Cryan JF, Gasparini F, van Heeke G, Markou A. Non-nicotinic neuropharmacological strategies for nicotine dependence: beyond bupropion. Drug Discov Today 2003;8(22):1025-34.

Ericson M, Lof E, Stomberg R, Chau P, Soderpalm B. Nicotinic acetylcholine receptors in the anterior, but not posterior, ventral tegmental area mediate ethanol-induced elevation of accumbal dopamine levels. J Pharmacol Exp Ther 2008;326(1):76-82.

Guan J, Zhang R, Dale-Gandar L, Hodgkinson S, Vickers MH. NNZ-2591, a novel diketopiperazine, prevented scopolamine-induced acute memory impairment in the adult rat. Behav Brain Res 2010;210(2):221-8.

Hellstrom-Lindahl E, Winblad B, Nordberg A. Muscarinic and nicotinic receptor changes in the cortex and thalamus of brains of chronic alcoholics. Brain Res 1993;620:42-8.

Johnson BA. Update on neuropharmacological treatments for alcoholism: scientific basis and clinical findings. Biochem Pharmacol 2008;75:34-56.

Kelly SJ, Black AC Jr, West JR. Changes in the muscarinic cholinergic receptors in the hippocampus of rats exposed to ethyl alcohol during the brain growth spurt. J Pharmacol Exp Ther. 1989 Jun;249(3):798-804.

Kiefer F, Mann K. New achievements and pharmacotherapeutic approaches in the treatment of alcohol dependence. Eur J Pharmacol 2005;526:163-71.

Larsson A, Engel JA. Neurochemical and behavioral studies on ethanol and nicotine interactions. Neurosci Biobehav Rev 2004;27:713-20.

Light KE, Serbus DC, Santiago M. Exposure of rats to ethanol from postnatal days 4 to 8: alterations of cholinergic neurochemistry in the cerebral cortex and corpus striatum at day 20. Alcohol Clin Exp Res 1989;13(1):29-35.

Luczaj W, Siemieniuk E, Roszkowska-Jakimiec W, Skrzydlewska E. Protective effect of black tea against ethanol-induced oxidative modifications of liver proteins and lipids. J Stud Alcohol 2006;67:510-8.

McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S. Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. Behav Brain Res 1999;101(2):129-52.

McIntosh C, Chick J. Alcohol and the nervous system. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75 Suppl 3:iii16-21.

Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. Prog Neurobiol 2005;75:143-60.

Nevo I, Hamon M. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. Neurochem Int 1995;26:305-36.

Nordberg A, Larsson C, Perdahl E, Winblad B. Cholinergic activity in hippocampus in chronic alcoholism. Drug Alcohol Depend 1982;10:333-44.

Quik M, Polonskaya Y, Gillespie A, Jakowec M, Lloyd GK, Langston JW. Localization of nicotinic receptor subunit mRNAs in monkey brain by in situ hybridization. J Comp Neurol 2000;425(1):58-69.

Pauly JR, Stitzel JA, Marks MJ, Collins AC. An autoradiographic analysis of cholinergic receptors in mouse brain. Brain Res Bull 1989;22(2):453-9.

Pramyothin P, Chirdchupunsare H, Rungsipipat A, Chaichantipyuth C. Hepatoprotective activity of *Thunbergia laurifolia* Linn extract in rats treated with ethanol: in vitro and in vivo studies. J Ethnopharmacol 2005;102:408-11.

Perry EK, Smith CJ, Perry RH, Whitford C, Johnson M, Birdsall NJ. Regional distribution of muscarinic and nicotinic cholinergic receptor binding activities in the human brain. J Chem Neuroanat 1989;2(4):189-99.

Piggott M, Owens J, O'Brien J, Paling S, Wyper D, Fenwick J, et al. Comparative distribution of binding of the muscarinic receptor ligands pirenzepine, AF-DX 384, (R,R)-I-QNB and (R,S)-I-QNB to human brain. J Chem Neuroanat 2002;24(3):211-23.

Prucksunand C, Indrasukhsri B, Leethochawalit M, Hungspreugs K. Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2001;32(1):208-15.

Rajakrishnan V, Jayadeep A, Arun OS, Sudhakaran PR, Menon VP. Changes in the prostaglandin levels in alcohol toxicity: effect of curcumin and N-acetylcysteine. J Nutr Biochem 2000;11:509-14.

Rajakrishnan V, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP. Neuroprotective role of curcumin from *Curcuma longa* on ethanol-induced brain damage. Phytother Res 1999;13:571-4.

Rajasree CR, Rajamohan T, Augusti KT. Antiperoxide effect of garlic protein in alcohol fed rats. Indian J Exp Biol 1998;36:60-4.

Rastogi M, Ojha RP, Rajamanickam GV, Agrawal A, Aggarwal A, Dubey GP. Curcuminoids modulates oxidative damage and mitochondrial dysfunction in diabetic rat brain. Free Radic Res. 2008 Nov;42(11-12):999-1005.

Rathore P, Dohare P, Varma S, Ray A, Sharma U, Jagannathan NR, Ray M. Curcuma oil: reduces early accumulation of oxidative product and is anti-apoptogenic in transient focal ischemia in rat brain. Neurochem Res. 2008 Sep;33(9):1672-82.

Rezvani AH, Slade S, Wells C, Petro A, Lumeng L, Li TK, et al. Effects of sazetidine-A, a selective alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor desensitizing agent on alcohol and nicotine self-administration in selectively bred alcohol-preferring (P) rats. Psychopharmacology (Berl) 2010;211(2):161-74.

Robles N, Sabria J. Effects of moderate chronic ethanol consumption on hippocampal nicotinic receptors and associative learning. Neurobiol Learn Mem 2008;89(4):497-503.

See RE, McLaughlin J, Fuchs RA. Muscarinic receptor antagonism in the basolateral amygdala blocks acquisition of cocaine-stimulus association in a model of relapse to cocaine-seeking behavior in rats. Neuroscience 2003;117(2):477-83.

Singh G, Kapoor IP, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). Food Chem Toxicol 2010;48(4):1026-31.

Singha PK, Roy S, Dey S. Protective activity of andrographolide and arabinogalactan proteins from *Andrographis paniculata* Nees. Against ethanol-induced toxicity in mice. J Ethnopharmacol 2007;111:13-21.

i 51364b
สำนักหอสมุด
13 JUL 2011

Takada-Takatori Y, Kume T, Ohgi Y, Izumi Y, Niidome T, Fujii T, et al. Mechanism of neuroprotection by donepezil pretreatment in rat cortical neurons chronically treated with donepezil. J Neurosci Res 2008;86(16):3575-83.

Tizabi Y, Bai L, Copeland RL Jr, Taylor RE. Combined effects of systemic alcohol and nicotine on dopamine release in the nucleus accumbens shell. Alcohol Alcohol 2007;42(5):413-6.

Wahlstrom G, Nordberg A. Changes in drinking behaviour and cholinergic binding sites induced by intermittent long-term ethanol treatment in the male rat. Alcohol Alcohol 1991;26(5-6):575-84.

Wahlstrom G, Nordberg A. Atropine as an inhibitor of voluntary ethanol intake in male rats. Alcohol Alcohol 1992;27(4):381-91.

Walters CL, Cleck JN, Kuo YC, Blendy JA. Mu-opioid receptor and CREB activation are required for nicotine reward. Neuron 2005;46(6):933-43.

Wuthi-udomlert M, Grisanapan W, Luanratana O, Caichompoo W. Antifungal activity of *Curcuma longa* grown in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2000;31 Suppl 1:178-82.

Yue GG, Chan BC, Hon PM, Lee MY, Fung KP, Leung PC, et al. Evaluation of in vitro anti-proliferative and immunomodulatory activities of compounds isolated from *Curcuma longa*. Food Chem Toxicol 2010;48(8-9):2011-20.

Zarrindast MR, Fattahi Z, Rostami P, Rezayof A. Role of the cholinergic system in the rat basolateral amygdala on morphine-induced conditioned place preference. Pharmacol Biochem Behav 2005;82(1):1-10.