1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ต้นตีนเป็ดทะเล *Cerbera odollam* GAERTN เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae ขึ้นได้ดีในที่สูง ดินเลนแข็ง น้ำทะเลท่วมถึงบางครั้งบางคราว ใบยาวเป็นกระจุกอยู่บนส่วนยอด ยางเป็นพิษ ผลกลมสีเขียว ผิวของผลเรียบเป็นมัน ดอกสีขาวมี 5 กลีบ แต่ละกลีบยาวประมาณ 3 cm เกสรมีสีเหลือง ลักษณะของต้นและใบเหมือนต้นลั่นทม ผลแก่จัดเป็นสีชมพูเข้ม มี 1-2 เมล็ด ผลแก่ลอยน้ำได้ ชื่ออื่นๆ ที่เรียก คือ ตีนเป็ดน้ำ (ภาคกลาง) ตุม (กาญจนบุรี) พะเนียงน้ำ สั่งลา (กระบี่) สรรพคุณที่ใช้เป็นยาพบว่าเปลือกใช้เป็นยาถ่าย ผลเป็นยาระงับปวดและรักษาโรคกลัวน้ำ เนื้อในของผล ต้นและใบทำให้อาเจียนและเป็นยาถ่าย เนื้อในของผลนั้นถ้ารับประทานมากๆ อาจทำให้ถึงตายได้ เมล็ดใช้เบื่อปลา มีฤทธิ์ต่อหัวใจและทางเดินอาหารทำให้อาเจียน ใช้เป็นยาถ่ายและทำให้แท้งได้ นอกจากนี้น้ำมันจากเมล็ดยังใช้แก้หวัด แก้หิด ใส่ผมแก้เหา

มีรายงานการค้นพบสารหลายชนิดในกลุ่มคาร์ดิโนไลด์ไกลโคไซด์ จากส่วนต่างๆ ของพืชในวงศ์ Apocynaceae เช่นใบของ *Cerbera odollam* และ *Cerbera manghas* มีสาร 17β-neriifolin, 17α-neriifolin, 17β-deacetyltanghinin และ 17α-deacetyltanghinin (Yamauchi *et al.*, 1987) สารกลุ่มนี้มีโครงสร้างหลักเป็นส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ aglycone และน้ำตาลโดย aglycone เป็นส่วน steroid nucleus ที่มีตำแหน่ง 17 ต่อกับวงแหวน unsaturated lactone และที่ตำแหน่ง 3 ต่อกับส่วนของน้ำตาล สารแต่ละตัวจะแตกต่างที่หมู่ฟังก์ชันบน steroid nucleus และชนิดหรือจำนวนโมเลกุลของน้ำตาล สำหรับสารคาร์ดิโนไลด์ไกลโคไซด์หลักๆ ที่สกัดได้จากเมล็ดสดของตีนเป็ดทะเล ได้แก่ cerberin และ 17β-neriifolin ซึ่งโครงสร้างของสารทั้งสองตัวนี้มีหมู่ hydroxyl จับที่ตำแหน่ง 14 ของ steroid nucleus และที่ตำแหน่ง 3 ต่อกับน้ำตาล 1 โมเลกุล พบว่าโครงสร้างนี้มีส่วนของ aglycone คล้ายสูตรโครงสร้างของ digoxin ที่เป็นสารคาร์ดิโนไลด์ไกลโคไซด์ที่ใช้รักษาโรคหัวใจ แต่ต่างกันที่ digoxin มีหมู่ hydroxyl จับที่ตำแหน่ง 12 อีกหมู่หนึ่ง และที่ตำแหน่ง 3 ต่อกับน้ำตาล 3 โมเลกุล

digoxin เป็นยาที่ใช้รักษาโรคหัวใจ สกัดได้จากใบของพืช *Digitalis purpura* และ *Digitalis lanata* เริ่มใช้มาตั้งแต่ ค.ศ 1930 โดย Dr. Sydney Smith (Davies and Hollman, 1998) digoxin มีฤทธิ์เพิ่มการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ATPase (Eisner and Smith, 1991; Lisawhee and Lip, 1998; Hauptman and Kelly, 1999) ใช้ในการรักษาภาวะหัวใจล้มเหลว และภาวะหัวใจเต้นผิดปกติ (Hauptman and Kelly, 1999) แต่

ถ้าใช้ในขนาดที่สูงเกินไป อาจมีพิษต่อหัวใจ ทำให้หัวใจเต้นช้าลงหรือหยุดเต้น อาการอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Hauptman and Kelly, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลของ digoxin ต่อการทำงานของไต โดยเพิ่มอัตราการขับทิ้งปัสสาวะ (Allen *et al.*, 1971; Kuzmin and Tarasov, 1992) เพิ่ม glomerular filtration rate (GFR) และ renal plasma flow (RPF) (Ogiso *et al.*, 1984)

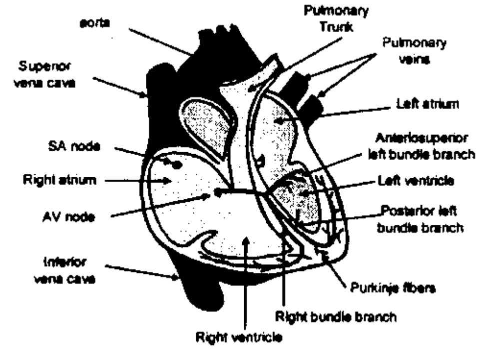
เนื่องจากสูตรโครงสร้าง cerberin และ 17β-neriifolin มีส่วนที่คล้ายกับ digoxin ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์น่าจะมีส่วนคล้ายคลึงกันได้ และมีรายงานผลการออกฤทธิ์ของสารจากเมล็ด *Cerbera dilatata* ว่ามี cardiotonic activity ในตัวหนูตะเภา (Thorp, 1953) และจากเมล็ด *Cerbera manghas* ในกบ (Chen and Steldt, 1942) ซึ่ง *Cerbera dilatata* และ *Cerbera manghas* เป็นพืชในวงศ์เดียวกับ *Cerbera odollam* แต่ยังไม่มีผู้ใดรายงานผลการทดสอบสารสกัดจากพืชชนิดนี้ต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ มาก่อน ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาผลของ cerberin และ 17β-neriifolin ต่อการบีบตัวของหัวใจห้องบน (atrium) ของหนูขาวที่แยกออกจากตัวโดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับผลของ digoxin จากนั้นจะนำสารสกัดชนิดที่ออกฤทธิ์แรงกว่ามาศึกษาผลต่อการทำงานของไตและความดันเลือดแดงในตัวหนูขาว ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสารบริสุทธิ์ที่ได้จากพืชสมุนไพรชนิดนี้เพื่อจะได้นำมาศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เพื่อพัฒนาเป็นยาต่อไป.

การตรวจเอกสาร (Literature Review)

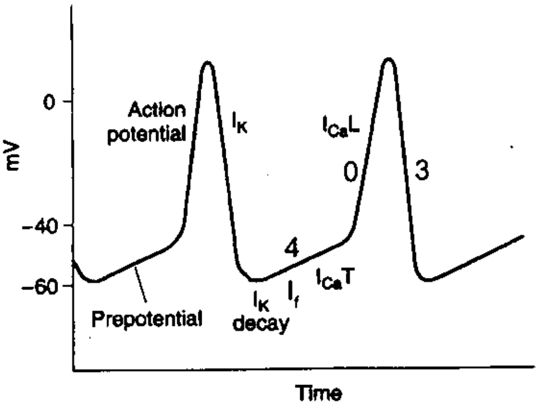
1. โครงสร้าง หน้าที่ และกลไกการทำงานของหัวใจ (Heart)

1.1 ลักษณะโครงสร้างและหน้าที่

หัวใจเป็นเครื่องสูบที่ทำหน้าที่สูบฉีดเลือดส่งไปตามหลอดเลือดเพื่อไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกายเป็นอวัยวะที่ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเป็นส่วนใหญ่ หัวใจคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แบ่งออกเป็น 4 ห้อง (cardiac chamber) คือ atrium ซ้าย ขวา และ ventricle ซ้าย ขวา (รูปที่ 1.1) กล้ามเนื้อหัวใจประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชนิด คือ 1) contractile cell พบที่ atrium และ ventricles ทำหน้าที่เกี่ยวกับการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (Katz, 2000) 2) conducting cell ทำหน้าที่นำสัญญาณไฟฟ้า (action potential) ได้แก่ Bundle of His และ Purkinje system เป็นต้น และ 3) pacemaker cell ได้แก่ sinoatrial node (SA node) และ atrioventricular node (AV node) ทั้ง SA node และ AV node เป็นแหล่งสร้าง action potential ที่ไปควบคุมอัตราการเต้นของหัวใจ (Berne and Levy, 2000) ซึ่ง SA node พบที่ atrium ขวาด้านบนติดกับหลอดเลือด superior vena cava (Oosthock *et al.*, 1993a ; Verheijck *et al.*, 1998) ส่วน AV node อยู่บริเวณด้านหลังทางขวาของผนังกั้นระหว่าง atrium กับ ventricle (Oosthock *et al.*, 1993b) pacemaker cell ทำหน้าที่สร้างศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ (membrane potential) และเกิดการถ่ายทอด action potential ไปกระตุ้นเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจให้หดตัว ลักษณะ action potential ที่เกิดขึ้นที่บริเวณ SA node และ AV node เป็นแบบ slow response (รูปที่ 1.2) ประกอบด้วย 3 phase (phase 0,3 และ 4) phase 0 มีลักษณะเป็น slow depolarization จาก inward calcium current type L (long-lasting) (I_{CaL}) phase 3 เกิด repolarization จาก outward potassium current (I_K) พร้อมกับการลดลงของ I_{CaL} ส่วน phase 4 จะมีค่า resting potential ไม่คงที่ เกิด diastolic depolarization (prepotential) ช้าๆ ตลอด phase 4 จาก inward sodium current (I_f) (I_f คือ การผ่านเข้าเซลล์ของ sodium ทาง channels อื่น ที่ไม่ใช่ fast sodium channel) (Opie, 1998), I_{Ca} type T (transient) (I_{CaT}) และการลดลงของ I_K และที่ต่างจากเซลล์อื่นๆ ของหัวใจคือไม่มี phase 1 และ phase 2



รูปที่ 1.1 แสดงองค์ประกอบของเนื้อเยื่อหัวใจและตำแหน่งที่อยู่ของ SA node AV node และเซลล์ที่ทำหน้าที่นำสัญญาณไฟฟ้า (Vander, 2001)



รูปที่ 1.2 แสดงลักษณะของ action potential ของ pacemaker cell (ดัดแปลงจาก Ganong, 2001)

1.2 อัตราการเต้นของหัวใจ (Heart rate)

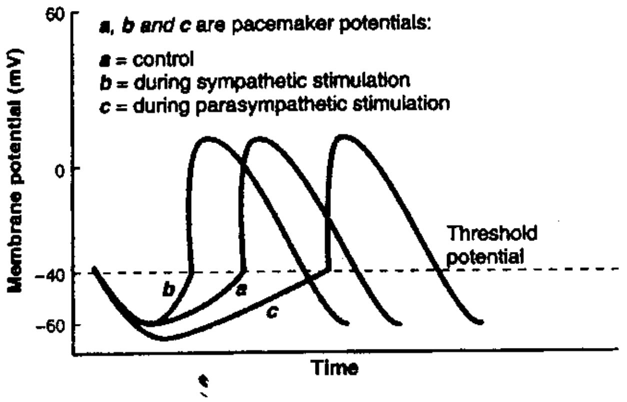
อัตราการเต้นของหัวใจมีความสำคัญกับปริมาณเลือดที่ส่งออกจากหัวใจ (cardiac output) ในผู้ใหญ่ปกติขณะพักอัตราการเต้นของหัวใจมีค่าประมาณ 60-80 ครั้ง/นาที (Hauptman and Kelly, 1999; Chemla *et al.*, 2003) แต่อย่างไรก็ตามอัตราการเต้นของหัวใจสามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 60-100 ครั้ง/นาที (Vander, 2001) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ละชนิดจะมีค่าอัตราการเต้นของหัวใจแตกต่างกันเช่น สุนัขมีค่า 100-160 ครั้ง/นาที (Schwartz *et al.*, 1988; Auchampach *et al.*, 2003), ลิง 160-170 ครั้ง/นาที (Takagi *et al.*, 2003), กระต่าย 255-280 ครั้ง/นาที (Nagai *et al.*, 1996; Qin *et al.*, 2003), หนู rat พันธุ์ Sprague-Dawley 320-480 ครั้ง/นาที (Baker *et al.*, 1979; Kirima *et al.*, 2003; Wei *et al.*, 2003), หนู rat พันธุ์ Wistar 370-430 ครั้ง/นาที (Tiefenbacher *et al.*, 2003) และ หนู mice 390-420 ครั้ง/นาที (Kirchhof *et al.*, 2003; Piuhola *et al.*, 2003) ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อตัดแยกออกมาศึกษานอกตัวเช่น กระต่าย มีค่า 130-135

ครั้ง/นาที (Harrison *et al.*, 2003), หนู rat พันธุ์ Sprague-Dawley 290-300 ครั้ง/นาที (Koch *et al.*, 2003), หนู mice 230-270 ครั้ง/นาที (Kirchhof *et al.*, 2003; Hopkins *et al.*, 2003) และ หนูตะเภา 168-199 ครั้ง/นาที (Gok *et al.*, 1997 ; Kocic *et al.*, 1997) เป็นต้น เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อตัดแยกหัวใจออกมาศึกษานอกตัวจะพบว่าอัตราการเต้นของหัวใจต่ำกว่าเมื่ออยู่ในตัว

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ

1) การทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ (Levick, 2000)

การกระตุ้นระบบประสาท sympathetic มีผลทำให้ เพิ่มอัตราการสร้าง action potential จาก SA node ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้น เพิ่มความเร็วในการนำ action potential ในทุกๆ ส่วนของหัวใจ โดยมีกลไกการทำงานดังนี้คือ เมื่อ sympathetic nerve ที่ไปเลี้ยงหัวใจถูกกระตุ้นจะหลั่ง norepinephrine (NE) จากปลายประสาท postganglionic ทำให้เซลล์ในหัวใจเพิ่ม permeability ต่อ Ca^{2+} ใน SA node จะพบว่า NE ไปจับกับ β-adrenergic receptor ทำให้ระดับ cAMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ voltage-dependent Ca^{2+} channel เปิดนานขึ้นทำให้ค่า resting potential เป็นลบน้อยลง และเกิด diastolic depolarization เร็วขึ้น การสร้าง impulse เกิดได้เร็วขึ้นมีผลเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ นอกจากนี้ NE ยังไปเร่งให้มีการปิดของ K^+ channels ในช่วง repolarization ทำให้สิ้นสุดเร็วขึ้นและทำให้ prepotential มีค่าเป็นลบน้อยลง (รูปที่ 1.3) มีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นด้วย



รูปที่ 1.3 แสดงผลของการกระตุ้น sympathetic nerve และ parasympathetic nerve ต่อความชันของ prepotential ที่ SA node (Vander, 2001)

การกระตุ้นระบบประสาท parasympathetic ทำให้มีการหลั่ง acetylcholine (Ach) จากปลายประสาท ซึ่งมีผลต่อหัวใจ คือ ลดอัตราการสร้าง action potential ของ SA node ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจช้าลง ลดอัตราเร็วในการนำ action potential ที่ AV node ทำให้การนำ action

potential จาก atrium ไปยัง ventricle ใช้เวลานานขึ้น กลไกการออกฤทธิ์คือ Ach ที่หลั่งจากปลายประสาทจะไปจับกับ muscarinic receptor ที่หัวใจ ทำให้ SA node เพิ่ม membrane permeability ต่อ K^+ ทำให้ K^+ เคลื่อนออกนอกเซลล์มากขึ้น มีผลให้ resting potential เป็นลบมากขึ้น เกิด repolarization เร็วขึ้น เกิด hyperpolarization และความชันของ prepotential ลดลง (รูปที่ 1.3)

2) ผลของฮอร์โมนและสารต่างๆ

ฮอร์โมนและสารต่างๆ สามารถออกฤทธิ์ต่ออัตราการเต้นของหัวใจได้ ดังสรุปในตารางที่ 1.1 พบว่าสารต่างๆ เหล่านี้สามารถทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นหรือลดลงจากภาวะปกติได้ เช่น สารพวก catecholamines เช่น NE ปกติจะหลั่งจากปลายประสาท sympathetic แล้วมีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นแต่มีรายงานการศึกษาของ Miyamoto *et al.* (2003) พบว่า NE ที่ความเข้มข้น 100 μg kg^{-1} h^{-1} (i.v) มีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลงในกระต่าย นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่ม cardiac glycosides เช่น digoxin ที่ความเข้มข้น 1-10 μM ไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจหนูที่แยกออกมาศึกษานอกตัว แต่ที่ความเข้มข้น 30 μM มีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลง (Kocic and Korolkiewicz, 1998) เป็นต้น

ตารางที่ 1.1 ผลของฮอร์โมนและสารต่างๆ ต่ออัตราการเต้นของหัวใจ (Opie, 1998 ; Katz, 2001)

INCREASE HEART RATE	DECREASE HEART RATE
Catecholamines	Atrial natriuretic peptide (ANP)
Angiotensin II (AII)	Nitric oxide (NO)
Arginine vasopressin	Bradykinin
Endothelin	Dopamine
Thyroid	Adenosine
	Calcium antagonists (verapamil, diltiazem)

3) อุณหภูมิ

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร่างกายมีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจเพราะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร่างกายมีผลต่ออัตรา metabolism ของร่างกาย ซึ่งเมื่ออุณหภูมิร่างกายลดลงมีผลให้อัตรา metabolism ลดลงด้วย ทำให้อัตราการเกิด depolarization ของ SA node ลดลง จึงมีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจ แต่เมื่ออุณหภูมิร่างกายเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นด้วย (Ganong, 2001)

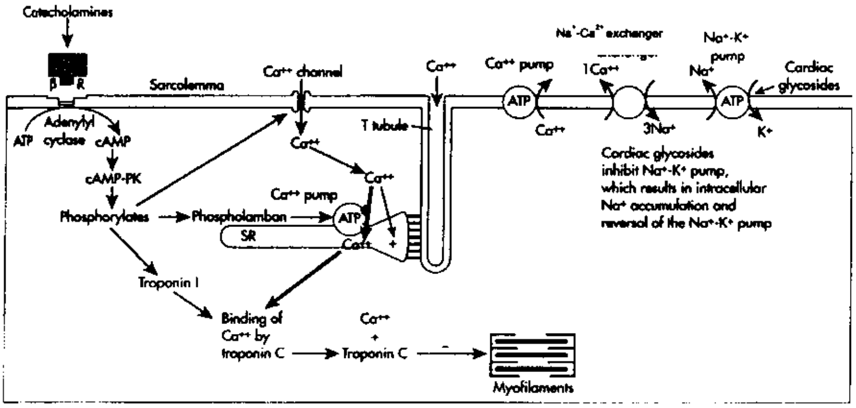
1.3 การหดตัวของหัวใจ (Cardiac contraction)

การหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (รูปที่ 1.4) มีกลไกเริ่มจากเกิดการกระจายของ action potential ที่ sarcolemma โดยผ่านทาง gap junction ที่ intercalated disc ในขณะเดียวกัน depolarization จะกระจายเข้าสู่ด้านในของเซลล์กล้ามเนื้อทาง T-tubule กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก sarcoplasmic reticulum (SR) นอกจากนี้ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของกล้ามเนื้อหัวใจมี permeability ต่อ Ca^{2+} ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ไหลเข้าเซลล์และไปกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ทำให้มีระดับ free Ca^{2+} ภายในเซลล์สูงขึ้น จะไปจับกับ troponin C ทำให้มีการเปิด binding site บน actin แล้ว myosin head จึงจับกับ actin เกิด cross-bridge และ thin filament เลื่อนเข้าหา thick filament กล้ามเนื้อหัวใจจึงหดตัว ส่วนการคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเกิดเมื่อมีการลดระดับ free Ca^{2+} รอบๆ myofibril โดยการ pump กลับเข้าสู่ SR และถูกขับออกนอกเซลล์โดยแลกเปลี่ยนกับ Na^{+} (Na^{+}-Ca^{2+} exchanger)

ปัจจัยที่มีผลต่อแรงในการหดตัวของหัวใจ

1) การทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ

การกระตุ้นระบบประสาท sympathetic มีผลเพิ่มความแรงในการหดตัวของหัวใจ NE ที่หลั่งจากปลายประสาท sympathetic จะจับกับ β_1-adrenergic receptor ที่เยื่อผนังเซลล์หัวใจ ทำให้เซลล์หัวใจเพิ่ม permeability ต่อ Ca^{2+} ส่งผลให้ความแรงของการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเพิ่มขึ้น เรียกว่า positive inotropic effect นอกจากนี้ยังมีรายงานผลการเพิ่มความแรงของการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจโดยการออกฤทธิ์ของ NE ผ่าน α_1-adrenergic receptor ด้วย (Skomedal *et al.*, 1985; Endoh and Blinks, 1988)



รูปที่ 1.4 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ ATP=adenosine triphosphate cAMP=cyclic adenosine monophosphate SR=sarcoplasmic reticulum βR=beta adrenergic receptor PK=protein kinase (Berne, 2000)

การกระตุ้นระบบประสาท parasympathetic มีผลลดความแรงในการหดตัวของหัวใจ โดยระบบประสาท parasympathetic ในหัวใจมี presynaptic inhibition ต่อ sympathetic postganglionic fiber สามารถลดการกระตุ้นจาก sympathetic nerve ได้ นอกจากนี้ Ach ที่หลั่งออกจากปลายประสาท parasympathetic ทำให้ความแรงในการหดตัวของหัวใจลดลงโดยตรง เรียกลักษณะนี้ว่า negative inotropic effect ซึ่งผลนี้จะพบที่ atrium เป็นส่วนใหญ่โดย Ach เพิ่ม membrane permeability ต่อ K^+ ทำให้ K^+ เคลื่อนออกนอกเซลล์มา มีผลให้ resting potential เป็นลบมากขึ้น จึงลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจ

2) ผลของฮอร์โมนและสารต่างๆ ในเลือด

ฮอร์โมนที่มีรายงานผลการออกฤทธิ์ที่หัวใจได้แก่ thyroid hormone, epinephrine norepinephrine และ glucagon ทำให้เกิด positive inotropic effect โดยเพิ่ม Ca^{2+} sensitivity ของ contractile protein ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ นอกจากนี้ยังพบว่า adrenomedullin ซึ่งเป็นโปรตีนที่หลั่งจาก endothelial cell สามารถทำให้เกิด positive inotropic effect โดยการไปออกฤทธิ์เพิ่ม sympathetic tone (Szokosi *et al.*, 1998) ส่วนฮอร์โมนและสารต่างๆ ในเลือดที่มีผลทำให้เกิด negative inotropic effect เช่น ANP (Thoren *et al.*, 1986; Schultz *et al.*, 1988; Tajima *et al.*, 1998), NO, bradykinin (Katz, 2001) dopamine (Civelli *et al.*, 1993) เป็นต้น

3) ผลจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ electrolyteในกระแสเลือด

การหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ จะเกิดขึ้นได้ต้องมีการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากการเคลื่อนเข้าหรือออกจากเซลล์ของ electrolyte ต่างๆ ในกระแสเลือดได้แก่ Na^+ K^+ และ Ca^{2+} แต่ electrolyte ที่สำคัญที่พบว่าเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงแล้วทำให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของหัวใจได้แก่ K^+ และ Ca^{2+}

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Ca^{2+} นอกเซลล์มีผลต่อการบีบตัวของหัวใจ ปกติ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์มีค่า 2.5-3 mmol l^{-1} (Blinks, 1986; Opie, 1998; Katz, 2001) ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ Ca^{2+} ในของเหลวนอกเซลล์หรือในเลือดจะทำให้เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจบีบตัวเร็วและแรงขึ้น ซึ่งถ้าความเข้มข้นสูงมากๆ หัวใจจะเกิดการบีบตัวค้าง แต่ถ้าความเข้มข้นของ calcium ลดลงต่ำกว่าปกติ การบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจจะลดลงและอาจหยุดบีบตัวได้ (Guyton, 2000)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ K^+ มีผลต่อการบีบตัวของหัวใจ ภาวะปกติระดับของ K^+ นอกเซลล์มีค่า 3.5- 5.5 mM (Levick, 2000) เมื่อความเข้มข้นของ K^+ ภายนอกเซลล์สูงกว่าปกติประมาณ 8-12 mM กล้ามเนื้อหัวใจจะลดความแรงในการหดตัว และหดตัวไม่เป็นจังหวะ เนื่องจากมีการลด resting potential ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้ amplitude ของ action potential ลดลง ส่งผลให้การกระจายสัญญาณไฟฟ้าภายในหัวใจถูกยับยั้งได้ง่าย เกิดภาวะการเต้นผิดจังหวะของหัวใจ นอกจากนี้ยังทำให้อัตราการเต้นของหัวใจช้าลงด้วย แต่ถ้าความเข้มข้นของ K^+ ภายนอกเซลล์

ลดลงจะให้ผลต่อการบีบตัวตรงกันข้ามกับที่ความเข้มข้นสูง (Guyton, 2000)

2. ความดันเลือด (Blood pressure)

ความดันเลือดเป็นผลจากการที่แรงดันเลือดกระทำกับผนังหลอดเลือด ความดันเลือดในหลอดเลือดชนิดต่างๆ ของระบบไหลเวียนโลหิตไม่เท่ากันตลอด โดยทั่วไปความดันเลือดแดงที่ส่งจากหัวใจมีความดันมากที่สุด และจะค่อย ๆ ลดลง จนถึงหลอดเลือดดำใหญ่ที่จะเข้าสู่หัวใจจะมีความดันเลือดน้อยที่สุด ในผู้ใหญ่ขณะพักค่าความดันเลือด systolic 130-140 mmHg และค่า diastolic 65-75 mmHg (Chemla *et al.*, 2002) ส่วนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ เช่นหนู rat ความดันเลือด systolic ประมาณ 130-140 mmHg และค่า diastolic ประมาณ 80-90 mmHg (Joseph *et al.*, 2003) เนื่องจากค่าความดันเลือดในหลอดเลือดแดงแปรผันโดยตรงกับค่าปริมาณเลือดที่หัวใจบีบตัวส่งเลือดออกไปใน 1 นาทีหรือเรียกว่า cardiac output (CO) และค่าความต้านทานส่วนปลายทั้งหมด (total peripheral resistance, TPR) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่า CO หรือ TPR อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่าง จะมีผลทำให้ความดันเลือดเปลี่ยนแปลงไปด้วย

การควบคุมความดันเลือด

การควบคุมความดันเลือดเกิดจากการทำงานของอวัยวะหลักๆ ได้แก่ หลอดเลือด หัวใจ และไต และระบบประสาทอัตโนมัติ

2.1 บทบาทและกลไกการทำงานของหลอดเลือดในการควบคุมความดันเลือด

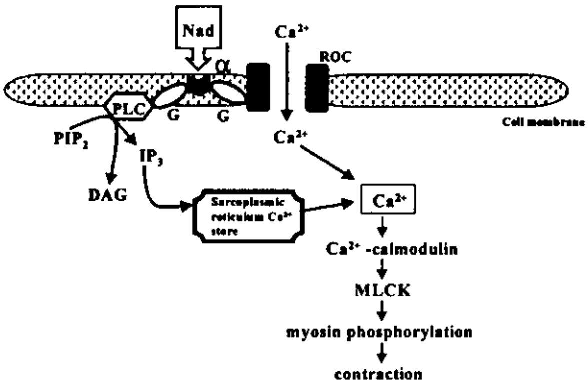
การเปลี่ยนแปลงของขนาดของหลอดเลือดแดงเล็ก เช่น small artery และ arteriole มีผลทำให้ความดันเลือดแดงเปลี่ยนแปลงด้วยเนื่องจากหลอดเลือดแดง small artery และ arteriole เป็นหลอดเลือดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กซึ่งทำให้มีความต้านทานต่อการไหลของเลือดสูง และนอกจากนี้หลอดเลือดแดง arteriole ยังมีผนังที่มีกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนประกอบมากกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น ซึ่งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะทำให้หลอดเลือดบีบตัว (vasoconstriction) เพิ่มความต้านทานต่อการไหลของเลือด ทำให้ความดันในหลอดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vasodilation) ความต้านทานต่อการไหลของเลือดลดลง ทำให้ความดันเลือดแดงลดลง ซึ่งจะเห็นว่าการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดเหล่านี้จึงเป็นการควบคุมความดันเลือดด้วย กลไกการควบคุมขนาดของหลอดเลือดมีหลายกลไกดังนี้

2.1.1 การควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic nervous system)

หลอดเลือดจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ ซึ่งประกอบด้วยระบบประสาท sympathetic และ parasympathetic ระบบประสาท sympathetic มีความสำคัญต่อการควบคุมขนาดของหลอดเลือด small artery และ arteriole และหลอดเลือดดำขนาดเล็ก ใยประสาทของ

ระบบประสาท sympathetic ที่ไปเลี้ยงหลอดเลือดมี 2 ชนิด ได้แก่ ใยประสาทแอดรีเนอร์จิก (sympathetic adrenergic fiber) ซึ่งปลายประสาทหลั่ง NE หรือ noradrenaline (NA) และใยประสาทโคลิเนอร์จิก (sympathetic cholinergic fiber) ปลายประสาทหลั่ง Ach หลอดเลือดส่วนใหญ่ของร่างกายถูกควบคุมด้วยใยประสาทแอดรีเนอร์จิก ซึ่งทำงานอยู่ตลอดเวลา NE ที่หลั่งออกมาจะจับกับตัวรับชนิด α_1- adrenergic receptor ทำให้หลอดเลือดบีบตัว (Ganong, 2001)

กลไกการออกฤทธิ์ของ NE ที่หลอดเลือด เมื่อ NE จับกับตัวรับ α_1 - adrenergic ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด จะทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยผ่านกลไกอย่างน้อย 2 กลไกได้แก่ 1) ทำให้ Ca^{2+} channel ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเปิด และ 2) กระตุ้นเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ผ่าน G protein ซึ่งจะเปลี่ยน phosphatidyl inositol bisphosphate (PIP_2) ไปเป็น inositol trisphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DAG) และ IP_3 ทำให้ sarcoplasmic reticulum ปล่อย Ca^{2+} ออกมามากขึ้น Ca^{2+} ที่มากขึ้นนี้จะเข้าไปในเซลล์แล้วจับกับ calmodulin กระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Levivk, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 1.5



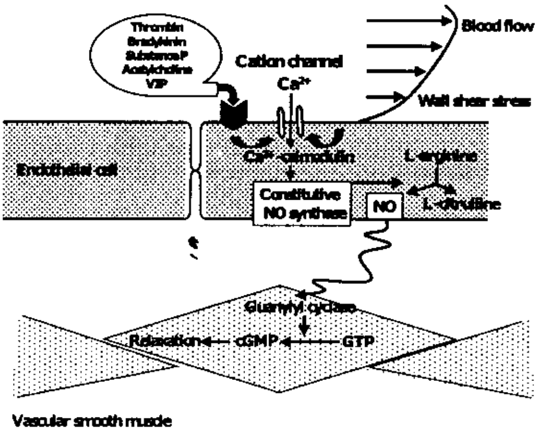
รูปที่ 1.5 กลไกการบีบตัวของหลอดเลือดจากตัวกระตุ้น Nad = noradrenaline หรือ norepinephrine, G = GTP binding protein, ROC = receptor-operated cation channel PIP_2 = phosphatidyl inositol bisphosphate, IP_3 = inositol trisphosphate, DAG = diacylglycerol MLCK = myosin light chain kinase, α = alpha adrenergic receptors, PLC = phospholipase C (ดัดแปลงจาก: Levick, 2000)

ส่วนใยประสาทโคลิเนอร์จิกพบที่ arteriole ในกล้ามเนื้อลายของสัตว์บาง species (เช่น สุนัข แมว หมู) ใยประสาทนี้จะทำงานในบางภาวะของร่างกาย เช่น ภาวะ สู้ หรือ หนี (Smith and Kampine, 1990) ปัจจุบันพบว่าใยประสาทนี้สามารถหลั่งสารสื่อประสาทอื่นๆ ด้วยเรียกสารพวกนี้ว่า non-adrenergic non-cholinergic (NANC) เช่น VIP และ substance P เป็นต้น (Levick, 2000)

ระบบประสาท parasympathetic มีใยประสาทไปยังหลอดเลือดของบางอวัยวะเท่านั้น

ได้แก่ ต่อมน้ำลาย, ตับอ่อนส่วน exocrine, gastrointestinal mucosa, อวัยวะเพศชาย หลอดเลือดในสมองและหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจ (coronary arteries) (Levick, 2000) ปลายประสาทหลั่ง Ach ทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดคลายตัวและหลอดเลือดขยายตัว (Ganong, 2001)

กลไกการออกฤทธิ์ของ Ach ที่หลอดเลือดพบว่าผ่านอย่างน้อย 2 กลไก คือ 1) Ach จับกับตัวรับ muscarinic ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดทำให้เพิ่ม K^+ permeability เกิด hyperpolarization ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Levick, 2000) เมื่อ Ach จับกับตัวรับ muscarinic มีผลกระตุ้นการหลั่ง endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) จาก endothelial cell ของหลอดเลือดโดยเฉพาะที่ arteriole จากนั้น EDHF จะเปิด K^+ channel ที่ membrane ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดทำให้เกิด hyperpolarization เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบและหลอดเลือดคลายตัว (Nishikawa *et al.*, 1999) และ 2) Ach จับกับตัวรับ muscarinic ที่ผนังของ endothelial cell ของหลอดเลือด มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ผ่าน G Proteins เปลี่ยน phosphatidyl inositol bisphosphate (PIP_2) ไปเป็น inositol trisphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DAG) ซึ่งเชื่อว่า DAG ทำให้ Ca^{2+} channel ที่ผนัง endothelial cell เปิด ซึ่งมีผลทำให้ Ca^{2+}ในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่ง Ca^{2+} ทำหน้าที่เป็น cofactor สำหรับเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) เปลี่ยน L-arginine ให้เป็น L-citrulline และ nitric oxide (NO) แล้ว NO จะแพร่เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดไปกระตุ้นเอนไซม์ guanylyl cyclase (GC) เปลี่ยน GTP เป็น cGMP ซึ่ง cGMP ไปกระตุ้น protein kinase G (PKG) ทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin ยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Rang and Dale, 1999; Katzung, 2001; Levick, 2000) ดังรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 การควบคุมทางสรีรวิทยาของการสร้าง nitric oxide (NO) โดย endothelial cell, GTP = guanosine triphosphate, cGMP = cyclic guanosine monophosphate, VIP = vasoactive intestinal peptide, PKG= protein kinase G (ดัดแปลงจาก: Levick, 2000)

2.1.2 การควบคุมหลอดเลือดเฉพาะที่ (Local control)

ขนาดของหลอดเลือดในแต่ละอวัยวะหรืออวัยวะเดียวกันแต่อยู่คนละตำแหน่งจะถูกควบคุมโดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารบางชนิดในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะนั้น สารต่างๆ ที่มีรายงานการออกฤทธิ์เป็น vasodilator หรือ vasoconstrictor ดังแสดงในตารางที่ 1.2 ตัวอย่างเช่น เมื่อเนื้อเยื่อหรืออวัยวะใดมีการทำงานมากขึ้น หรือมี metabolism เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณของ metabolites เช่น CO_2, K^+ และ H^+ เพิ่มขึ้นรวมทั้งมีปริมาณของ O_2 ลดลง ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ทำให้หลอดเลือดบริเวณนั้นขยายตัว (Ganong, 2001) หรือสารพวก autacoids ซึ่งเป็นสารที่ผลิตขึ้นและหลั่งเฉพาะที่ และมีฤทธิ์ต่อหลอดเลือดเฉพาะบริเวณนั้นเท่านั้น เช่น histamine ทำให้ arteriole ขยายตัว แต่ vein บีบตัว bradykinin ทำให้หลอดเลือดขยายตัว serotonin ทำให้หลอดเลือดบีบตัว (Levick, 2000) เป็นต้น อุณหภูมิก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือดที่บริเวณผิวหนัง เช่นเมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นหลอดเลือดที่ผิวหนังจะขยายตัว แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงหลอดเลือดจะบีบตัว นอกจากนี้พบว่าหลอดเลือดในบางอวัยวะ เช่น สมอง หัวใจ ไต และกล้ามเนื้อลายนั้นสามารถปรับขนาดของหลอดเลือดได้เอง โดยการหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังหลอดเลือด เพื่อให้อวัยวะนั้นๆ ได้รับเลือดมาเลี้ยงเพียงพอ (autoregulation of blood flow)

2.2 บทบาทของหัวใจในการควบคุมความดันเลือด

เนื่องจากความดันเลือด (blood pressure) เท่ากับผลคูณของ cardiac output (CO) (ในคนปกติขณะพักมีค่า 4-7 L min^{-1}; Levick, 2000) กับความต้านทานของหลอดเลือดส่วนปลาย (TPR) (BP= CO x TPR) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อ TPR ได้กล่าวถึงแล้วในตอนต้น ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อ CO คือปัจจัยที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ stroke volume (SV) และ อัตราการเต้นของหัวใจ (heart rate, HR) เช่น การเพิ่มความแรงในการบีบตัวของ ventricle ทำให้เลือดไหลเข้าสู่หลอดเลือด aorta ได้มากขึ้น 2) การเพิ่มปริมาณเลือดในร่างกายมีผลเพิ่มปริมาณของเลือดกลับเข้าสู่หัวใจ (venous return) หรือ 3) การเพิ่ม venous tone จะทำให้หลอดเลือดดำบีบตัว ดันให้เลือดไหลเข้าสู่หัวใจมากขึ้น ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มีผลเพิ่ม SV (Ganong, 2001) ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อ HR ส่วนใหญ่จะเป็นการควบคุมผ่านระบบประสาทอัตโนมัติหรือสารเคมีในเลือดดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น

ตารางที่ 1.2 ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการควบคุมขนาดของหลอดเลือด (Ganong, 2001)

VASOCONSTRICTORS	VASODILATORS
การลดอุณหภูมิเฉพาะที่	การลดความเข้มข้นของ O_2
Endothelin-1	การเพิ่มความเข้มข้นของ CO_2, K^+ และ H^+
Serotonin	การลด pH
Vasopressin	การเพิ่มอุณหภูมิเฉพาะที่
Angiotensin II	ANP
Neuropeptide Y	Histamine
	Kinin
	Substance P
	Vasoactive intestinal peptide (VIP)
	Nitric oxide
	Adenosine
	Eicosanoids
	Bradykinin
	Lactate
	ADP, AMP

2.3 บทบาทของไตในการควบคุมความดันเลือด

ไตจะทำหน้าที่ในการรักษาปริมาตร extracellular fluid (ECF) ปริมาตรเลือดและ ความเข้มข้นของ electrolyte ให้อยู่ในระดับปกติเพื่อควบคุมความดันเลือด ปริมาตร ECF มีความสำคัญต่อการควบคุมความดันเลือดมาก เช่นเมื่อร่างกายมี ECF เพิ่มขึ้นจะทำให้ความดันเลือดสูงขึ้นร่างกายจะมีกลไกการปรับให้ความดันเลือดเข้าสู่ปกติโดย เพิ่มอัตราการกรองที่ไต จึงเพิ่มการขับน้ำออกทางปัสสาวะ นอกจากนี้ระบบประสาทและฮอร์โมนยังมีผลต่อการทำงานของไตในการควบคุมความดันเลือดด้วยเช่นกัน เช่น การเพิ่มของ ECF จะไปกระตุ้น cardiovascular reflex มีผลยับยั้งการทำงานของระบบประสาท sympathetic ทำให้หลอดเลือดคลายตัวรวมทั้งหลอดเลือดแดงที่ไตด้วย ทำให้ไตเพิ่มอัตราการกรองและเพิ่มอัตราการขับทิ้งปัสสาวะ และถ้า osmolality ของ ECF ลดลงจะยับยั้งการหลั่ง antidiuretic hormone ทำให้ลดการดูดกลับน้ำที่ collecting duct นอกจากนี้ยังมี renin-angiotensin system ที่ช่วยรักษาความดันเลือดให้คงที่ โดย renin จะหลั่งมากในภาวะที่มีความดันเลือดต่ำ หรือเกิดการเสียเลือด หรือเสียน้ำ หรือร่างกายขาดโซเดียม renin จะเปลี่ยน

angiotensinogen ในเลือดให้เป็น angiotensin I และถูกเปลี่ยนเป็น angiotensin II โดย angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่ง angiotensin II มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดบีบตัว ลดการไหลเวียนเลือดผ่านไตทำให้อัตราการกรองลดลง กระตุ้นการหลั่ง aldosterone และยังเกี่ยวข้องกับการกระหายน้ำด้วย ซึ่งผลของ renin-angiotensin system ทำให้ปริมาตรเลือดกลับเข้าสู่ปกติ และมีผลให้ความดันเลือดกลับเป็นปกติด้วย

3. การไหลเวียนเลือดที่ไต (renal blood flow, RBF) และกลไกการควบคุม

ปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงไตมีค่าประมาณ 20-25% ของปริมาณเลือดที่ออกจากหัวใจในหนึ่งนาที (Windhager, 1992) ในคนมีค่า RBF ประมาณ 1.2 L min^{-1} (Baer, 2001) น้ำหนักของไตคนทั้งสองข้างรวมกันมีค่าประมาณ 300 กรัม ดังนั้นจึงเป็นอวัยวะที่มีเลือดมาเลี้ยงมากเมื่อเทียบกับอวัยวะอื่นๆ ไตจึงจัดเป็นอวัยวะสำคัญในการควบคุมปริมาณและองค์ประกอบของของเหลวในร่างกาย

3.1 การควบคุมการไหลเวียนเลือดที่ไต

3.1.1 การควบคุมโดยระบบประสาท sympathetic

หลอดเลือดที่ไตทั้ง afferent และ efferent arteriole จะมีใยประสาท sympathetic มาเลี้ยงซึ่งการกระตุ้นการทำงานของระบบประสาท sympathetic จะทำให้หลอดเลือด arteriole ที่ไตหดตัว (Hermansson *et al.*, 1981) หลอดเลือดนี้เป็นตำแหน่งที่ทำให้เกิดความต้านทานส่วนใหญ่ภายในไตทำให้ renal vascular resistance (RVR) เพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาตรเลือดที่มาเลี้ยงไต (RBF) ลดลง (Hermansson *et al.*, 1981; Kon and Ichikawa, 1983)

3.1.2 การควบคุมโดยฮอร์โมน และ autacoid

NE, epinephrine (EP) และ endothelin ทำให้หลอดเลือด afferent และ efferent arterioles หดตัว ทำให้ renal blood flow ลดลง (Yuan *et al.*, 1990 ; Berthold *et al.*, 1999)

angiotensin II เป็นฮอร์โมนที่ทำให้หลอดเลือดแดงบีบตัวทั้ง afferent และ efferent arterioles ทำให้ความต้านทานของหลอดเลือดภายในไตเพิ่มขึ้น มีผลลด RBF อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาผลของ angiotensin II ต่อการเพิ่มความต้านทานของ afferent และ efferent arterioles แตกต่างกัน เช่น Kimula *et al.* (1997) พบว่าความต้านทานของหลอดเลือดทั้งสองไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ Yuan *et al.* (1990) พบว่า angiotensin II ทำให้ความต้านทานของ efferent arteriole มากกว่า afferent arteriole

renal vasodilators ฮอร์โมนและ autacoids ที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวได้ เช่น endothelial-derived nitric oxide, prostaglandins และ bradykinin สารเหล่านี้ทำให้ renal vascular resistance ลดลง มีผลให้ RBF เพิ่มขึ้น (Villa *et al.*, 1997 ; Matsumura *et al.*, 1999)

3.1.3 การควบคุมโดยกระบวนการ autoregulation

การเปลี่ยนแปลงของความดันเลือดในช่วง 80-180 mmHg ไตสามารถที่จะควบคุม RBF ให้คงที่ เพื่อทำให้ไตมีสารอาหารและออกซิเจนมาเลี้ยงเพียงพอโดยการทำงานภายในไตที่ไม่ต้องอาศัยระบบประสาทหรือฮอร์โมนจากภายนอกมาควบคุม (Ganong, 2001) เรียกกลไกนี้ว่า autoregulation ซึ่งเกิดจากการทำงานของกลไก 2 อย่างร่วมกันได้แก่

1) tubuloglomerular feedback กลไกนี้เสนอโดย Thurau และ Schnermann (1965) เป็นกลไกที่เกิดขึ้นเนื่องจากกรณีที่แรงดันเลือดและ glomerular filtration rate ลดลงทำให้ความเข้มข้นของ NaCl ที่ผ่าน macula densa cells ลดลง จึงทำให้เกิดการลดลงของ afferent arteriole resistance เป็นผลให้ RBF ลดลง

2) myogenic mechanism เป็นกลไกที่เกิดขึ้นเพื่อควบคุมไม่ให้ glomerular filtration rate เปลี่ยนแปลงมากนัก ซึ่งกลไกนี้ก็เกิดจากคุณสมบัติของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด คือเมื่อมีแรงดันมากระทำต่อผนังหลอดเลือดมากขึ้นก็จะทำให้เกิดการหดตัวตอบสนองเพิ่มมากขึ้นด้วยทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้หลอดเลือดถูกยืดมากเกินไป (Windhager, 1992)

4. อัตราการกรองของไต (glomerular filtration rate, GFR)

อัตราการกรองของไต คือปริมาตรของ plasma ที่ผ่านกระบวนการกรองออกจากไตทั้งสองข้างในหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่ง GFR ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ปัจจัย คือ net filtration pressure (NFP) และ glomerular ultrafiltration coefficient (K_f) ความสัมพันธ์ดังแสดงในสมการ

$$GFR = K_f \times NFP$$

$$= K_f \times (P_{GC} - P_{BC} - \pi_{GC})$$

โดย K_f = glomerular ultrafiltration coefficient

NFP = net filtration pressure

P_{GC} = hydraulic pressure in glomerular capillary

P_{BC} = hydraulic pressure in Bowman' capsule

π_{GC} = oncotic pressure in glomerular capillary

4.1 การควบคุมอัตราการกรองของไต

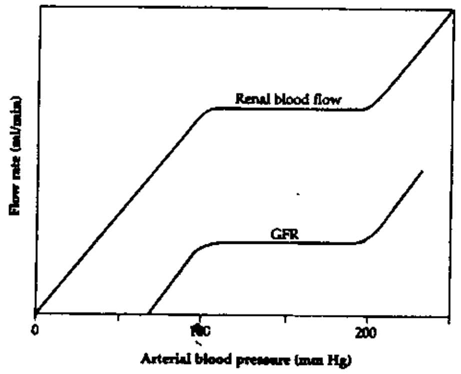
4.1.1 การควบคุมโดยระบบประสาท ไตมีเส้นประสาท sympathetic มาเลี้ยงจำนวนมากและมีแขนงย่อยไปเลี้ยง mesangial cell ที่มี smooth muscle cell แทรกอยู่ ดังนั้นเมื่อกระตุ้นเส้นประสาท sympathetic จะทำให้ mesangial cell เกิดการบีบตัวทำให้ค่า K_f ลดลง เป็นผลทำให้ GFR ลดลงด้วย นอกจากนี้ยังมีใยประสาทไปเลี้ยงหลอดเลือด afferent และ efferent

arterioles และ macula densa cells ด้วย (Barajas, 1964; Bell, 1978) การกระตุ้นประสาททำให้หลอดเลือด arteriole หดตัวทำให้ renal vascular resistance เพิ่ม RBF และ GFR ลดลง

4.1.2 การควบคุมโดยฮอร์โมน ฮอร์โมนหลายชนิดที่มีผลต่อ GFR ซึ่งจะควบคุมค่า GFR โดยการเปลี่ยนแปลงค่า K_f โดย mesangial cell คือเมื่อ mesangial cell เกิดการบีบตัว จะทำให้ค่า K_f ลดลง จึงทำให้ GFR ลดลงตามด้วย ซึ่งฮอร์โมนและสารต่างๆที่ทำให้ mesangial cell เกิดการบีบตัว ได้แก่ angiotensin II, endothelin, thromboxane A_2, vasopressin, PGF_2, norepinephrine, leukotrienes C และ D, platelet-activating factor, histamine และ platelet-derived growth factor ส่วนฮอร์โมนหรือสารที่ทำให้ mesangial cell เกิดการคลายตัว จะทำให้ค่า K_f เพิ่มขึ้น จึงทำให้ GFR เพิ่มขึ้นด้วย ได้แก่ ANP, dopamine, PGE_2 และ cAMP (Ganong, 2001)

4.1.3 การเพิ่มขึ้นของ RBF ทำให้ค่า GFR เพิ่มขึ้น การเพิ่มปริมาณเลือดผ่านเข้า glomerulus เป็นการเพิ่มความดันที่ glomerulus จึงทำให้เกิดการกรองเพิ่มขึ้น

4.1.4 การเปลี่ยนแปลงของความดันเลือดแดงของร่างกาย คือ เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความดันเลือดค่า GFR จะเพิ่มขึ้นตามด้วย แต่จะเพิ่มตามจนถึงความดันประมาณ 100-120 mmHg เท่านั้น (รูปที่ 1.7) เพราะไตมีกลไก autoregulation ของ GFR เพื่อควบคุม GFR ให้คงที่ โดยอาศัยกลไกหลายชนิดร่วมกัน ได้แก่ myogenic, tubuloglomerular feedback (TGF) และ AII แต่กลไกที่สำคัญมากได้แก่ TGF คือเมื่อความดันเพิ่มขึ้นปริมาณของ Cl^- ที่ผ่าน macula densa เพิ่มขึ้น มีผลให้เกิดการปรับ GFR และอัตราการไหลของของเหลวในหลอดไตฝอยกลับสู่ปกติ



รูปที่ 1.7 แสดง autoregulation ของ renal blood flow และ glomerular filtration rate (Bullock, 2001)

5. บทบาทของไตกับการควบคุมการขับทิ้ง Na^+ และน้ำ

Na^+ เป็น electrolyte ที่มีปริมาณมากที่สุดใน ECF จึงจัดเป็น electrolyte ที่สำคัญ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Na^+ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงปริมาตรและ osmolarity ของ ECF ทำให้เซลล์ต่างๆ ในร่างกายทำหน้าที่ไม่ปกติ ดังนั้นจึงต้องมีกลไกที่จะควบคุมความเข้มข้นของ Na^+ ให้มีค่าคงที่ ซึ่งในคน ไตทำหน้าที่เป็นกลไกหลักในการปรับความเข้มข้นของ Na^+ โดยการเพิ่มหรือลดการขับ Na^+ ทิ้ง แต่การทำงานของไตต้องอาศัยการทำงานของระบบประสาทและฮอร์โมนร่วมด้วย ดังตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการขับทิ้ง Na^+

INCREASE Na^+ EXCRETION	REFERENCE	DECREASE Na^+ EXCRETION	REFERENCE
Increase ECF volume	Windhager, 1992	Decrease ECF volume	Windhager, 1992
Increase renal perfusion pressure	Baer *et al.*, 1970		
Ach	Lamiere *et al.*, 1982; Fadem *et al.*, 1982	Angiotensin II	Hall *et al.*, 1979
Secretin	Fadem *et al.*, 1982	Aldosterone	Windhager, 1992
Bradykinin	Fadem *et al.*, 1982		
Dopamine	Ball *et al.*, 1978; Krishna *et al.*, 1985		
Prostaglandin	Johnston *et al.*, 1967 Haas *et al.*, 1984		
Kinin	Marin-Grez *et al.*, 1972		

6. ผลของ ethanol ต่อการทำงานของไต

ethanol หรือ ethyl alcohol เป็นของเหลวที่ระเหยง่าย เป็นแอลกอฮอล์สามัญที่ใช้กันมากทั้งในอุตสาหกรรม ทางการแพทย์ และห้องปฏิบัติการเคมี ในการวิจัยนี้ใช้ ethanol เป็นตัวทำละลายสารสกัด cardenolide glycosides จากลูกเนื้อเป็ดทะเล (cerberin และ 17β-neriifolin) ซึ่งมีตัวอย่างการศึกษาผลของ ethanol ต่อความเข้มข้นของฮอร์โมนใน plasma และ renal excretion ของของเหลว และ eletrolyte สรุปดังตารางที่ 1.4 ดังนี้

ตารางที่ 1.4 แสดงผลของ ethanol ต่อความเข้มข้นของฮอร์โมนใน plasma และ renal excretion ของ ของเหลว และ electrolyte

DOSES/EFFECTS	REFERENCE
Acute ethanol (1 ml kg^{-1}) - increase urine volume, plasma atrial natriuretic peptide, plasma antidiuretic hormone, plasma renin and plasma catecholamines - decrease potassium excretion and plasma aldosterone - no change sodium excretion	Colantonio *et al.*, 1991
Acute ethanol (8 mg min^{-1}) - no change glomerular filtration rate, urine volume, sodium, potassium, calcium, magnesium and chloride excretion	Bilotta *et al.*, 1984
Chronic ethanol 20% (v/v) (*in vitro*) - inhibit renal Na^+-K^+ ATPase	Rodrigo *et al.*, 1997
Ethanol (1.6 g $kgbw^{-1}$) - no change sodium excretion and plasma aldosterone concentration	Musabayane *et al.*, 2000

7. Sodium-and potassium dependent adenosinetriphosphatase (Na^+-K^+ ATPase)

7.1 โครงสร้างและหน้าที่ของ Na^+-K^+ ATPase

Na^+-K^+ ATPase หรือ sodium pump (Gltnn, 1973) เป็น membrane-bound enzyme ทำหน้าที่ 1) รักษา gradients ของ Na^+ และ K^+ โดยการ pump Na^+ 3 ions ออกจากเซลล์ แลกกับการ pump K^+ 2 ions เข้าเซลล์ต้าน concentration gradients (Lingrel *et al.*, 1994) หรือทำหน้าที่ในการขนส่ง cation ผ่าน cell membrane แบบ active (Skou, 1965 ; Katz *et al.*, 1968 ; Dahl *et al.*, 1974) 2) รักษา resting membrane potential ของเซลล์ทั่วไป และ excitable tissue เช่น nerve heart และ muscle (Lingrel *et al.*, 1994; Zahler *et al.*, 1996) 3) ช่วยในการขนส่งสารต่างๆ เช่น glucose, amino acids, bile acids, neurotransmitters, ions และ สารละลายต่างๆ (Lingrel *et al.*, 1994; Glitsch, 2001) และ 4) ช่วยควบคุมปริมาตรและ pH ของเซลล์ และควบคุมความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ (Therien and Blostein, 2000; Glitsch, 2001) พบครั้งแรกในปี ค.ศ 1957 โดย Jens C. Skou (Therien and Blostein, 2000 ; Xie *et al.*, 2002) จัดอยู่ในกลุ่ม P-type ของ ATPase ซึ่งประกอบด้วย Na^+-K^+ ATPase, H^+-K^+ ATPase และ Ca^{2+}-ATPase (Lingrel *et al.*, 1994 ; Dunbar *et al.*, 2001) Na^+-K^+ ATPase ประกอบด้วย 3 subunit คือ α, β และ γ α subunit มี 4 isoforms คือ α_1, α_2, α_3, และ α_4 β subunit มี 3 isoforms คือ β_1, β_2 และ β_3 และ γ subunit มี 2 isoforms คือ γ_1 และ γ_2 (Lingrel *et al.*, 1994 ; Therien and Blostein, 2000 ; Feraille *et al.*, 2001)

7.2 การกระจายของ Na^{+}-K^{+} ATPase ที่พบตามอวัยวะต่างๆ

การกระจายของ Na^{+}-K^{+} ATPase ที่พบตามอวัยวะต่างๆ พบว่าพบมากที่ epithelial cells และ kidney tubular cell ที่ตำแหน่ง basolateral membrane (Kinne *et al.*, 1971 ; Schmidt *et al.*, 1971) หรือที่หัวใจจะพบ Na^{+}-K^{+} ATPase ที่ plasma membrane ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจและที่ conduction tissue เช่น Purkinje fibers (Lingrel *et al.*, 1994; Zahler *et al.*, 1996) ส่วนที่ไตพบว่าที่ nephron มี Na^{+}-K^{+} ATPase ประมาณ 50 ล้าน pumps ต่อเซลล์ (EL Mernissi and Doucet, 1984) แต่ปริมาณของจำนวนของ Na^{+}-K^{+} ATPase ใน nephron ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน เช่นจากรายงานการศึกษาของ Katz *et al.* (1979) เกี่ยวกับจำนวนของ Na^{+}-K^{+} ATPase ใน nephron ของหนู rat, หนู mouse และ กระต่าย พบว่าในหนู rat มีจำนวนของ Na^{+}-K^{+} ATPase มากที่สุด รองลงมาคือ หนู mouse และ กระต่าย ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการกระจายของ Na^{+}-K^{+} ATPase ในแต่ละส่วนของ nephron พบว่ามีการกระจายที่แตกต่างกัน คือ จะพบเอนไซม์นี้มากที่สุดในส่วนของ distal convoluted tubule และ thick ascending limbs of Henle's loops รองลงมาคือ proximal convoluted tubule, collecting duct และมีน้อยที่สุดที่ thin ascending limbs of Henle's loops (Katz *et al.*, 1979 ; McDonough *et al.*, 1994 ; Feraille *et al.*, 2001) นอกจากนี้พบว่าในเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน Na^{+}-K^{+} ATPase ก็จะมี α, β หรือ γ subunit isoforms ที่แตกต่างกัน เช่น α_1 จัดเป็น ubiquitous และมีจำนวนมากที่สุด α_2 มีมากที่ หัวใจ กล้ามเนื้อลาย และ สมอง α_3 มีมากที่ เนื้อเยื่อประสาท และ ovary ส่วน α_4 มีมากที่ testis (Sweadner, 1989 ; Lingrel *et al.*, 1994 ; Woo *et al.*, 1999) ส่วน β_1 ก็จัดเป็น ubiquitous β_2 พบมากที่เนื้อเยื่อประสาท และ β_3 พบใน *Xenopus* สำหรับ γ subunit พบมากที่ ไต ตับอ่อน และ fetal liver (Lingrel *et al.*, 1994 ; Kim *et al.*, 1997; Therien and Blostein, 2000)

7.3 inhibitor ของ Na^{+}-K^{+} ATPase

7.3.1 vanadate ออกฤทธิ์ยับยั้ง ATPase ทุกตัว ในกลุ่ม P-type โดยจับที่ตำแหน่ง phosphorylation ของเอนไซม์

7.3.2 digitalis glycosides หรือ cardiac glycosides เช่น ouabain ออกฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ Na^{+}-K^{+} ATPase โดยจับที่ตำแหน่ง extracellular domain ของ α subunit นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง nongastric form ของ H^{+}-K^{+} ATPase การออกฤทธิ์ของสารกลุ่ม cardiac glycosides จะจับกับ α subunit ของ Na^{+}-K^{+} ATPase แต่ α subunit มี 4 isoforms ซึ่งการจับของ cardiac glycosides กับ α subunit ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ละชนิดจะมี affinity แตกต่างกันในแต่ละ isoforms เช่น ในหนู rat พบว่า α_3 มี affinity มากที่สุด รองลงมาคือ α_2, α_4 และ α_1 ตามลำดับ ส่วนในคนพบว่า $\alpha_1-\alpha_3$ มี affinity เท่ากัน (Crambert *et al.*, 2002) และจากการศึกษาเกี่ยวกับ affinity ของ Na^{+}-K^{+} ATPase กับสารกลุ่ม cardiac glycosides เช่น ouabain ในส่วนต่างๆ ของ nephron พบว่าจับได้มากที่สุดใน

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

ส่วน distal convoluted tubule และ medullary thick ascending limbs of Henle's loops รองลงมาคือ proximal convoluted tubule และจับได้น้อยที่สุดในส่วนของ cortical thick ascending limbs of Henle's loops และ collecting duct (EL Mernissi *et al.*, 1984)

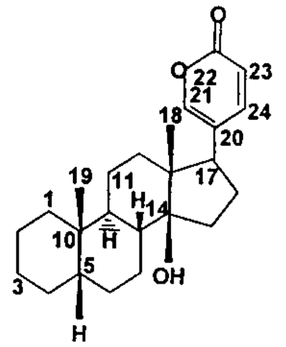
7.3.3 palytoxin นอกจากออกฤทธิ์ยับยั้ง Na^+-K^+ ATPase แล้วยังเปลี่ยน Na^+-K^+ATPase เป็น sodium channel

8. Cardenolide glycosides และการออกฤทธิ์ต่ออวัยวะต่างๆ ในร่างกาย

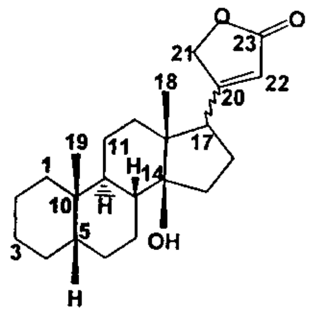
glycoside เป็นสารประกอบซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล การที่มีน้ำตาลมาเกาะนั้นทำให้สารนี้สามารถที่จะละลายน้ำได้ดีขึ้น ในส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสารพวกอินทรีย์เคมี เช่น steroid หรือ triterpene

cardenolide glycosides โครงสร้างหลักประกอบด้วย 2 ส่วนคือ aglycone และ น้ำตาล โดย aglycone เป็นส่วน steroid nucleus ที่มีตำแหน่ง 17 ต่อกับวงแหวน unsaturated lactone และที่ตำแหน่ง 3 ต่อกับส่วนของน้ำตาล สารแต่ละตัวจะแตกต่างกันที่หมู่ฟังก์ชันบน steroid nucleus และชนิดหรือจำนวนโมเลกุลของน้ำตาล cardenolide glycosides จัดเป็นสารในกลุ่ม cardiac glycosides ซึ่งมีอย่างน้อย 2 types คือ bufadienolides steroid nucleus มี carbon 24 ตัว (รูปที่ 1.8a) และ cardenolides ซึ่ง steroid nucleus มี carbon 23 ตัว (รูปที่ 1.8b)

a



b



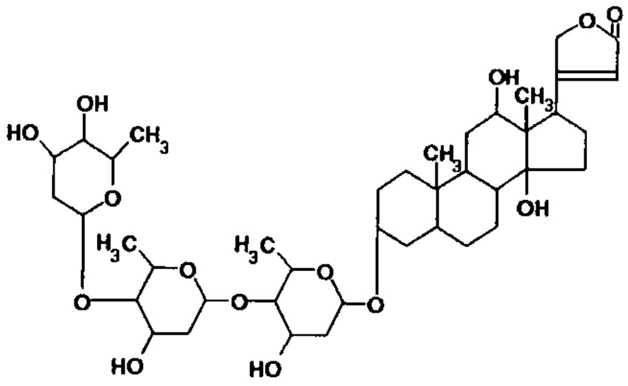
รูปที่ 1.8 แสดงโครงสร้างของสารในกลุ่ม cardiac glycosides a = bufadienolides และ b = cardenolides (ดัดแปลงจาก: http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/cardiacglyco.html)

ในปี ค.ศ 1785 William Withering ได้ค้นพบสาร cardenolide glycosides เป็นครั้งแรก (Hardman, 1996 ; Lisawhee and Lip, 1998 ; Hauptman and Kelly, 1999) โดยสารกลุ่มนี้สกัดจากใบของต้น *Digitalis purpurea* สารในกลุ่ม cardenolide glycosides มีหลายตัวเช่น digitoxin และ digoxin ที่สกัดได้จากใบของ *Digitalis purpurea* และ *Digitalis lanata* ตามลำดับ, ouabain สกัดได้จากเมล็ดของ *Strophanthus gratus* เป็นต้น (Hardman, 1996) กลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้

คือ ยับยั้งการทำงานของ Na^+-K^+ ATPase (Hardman,1996; Valdes *et al.*, 1998 ; Lisawhee and Lip, 1998 ; Hauptman and Kelly, 1999) ปัจจุบันสามารถนำสารกลุ่มนี้มาใช้รักษาโรคต่างๆ ได้มากมาย เช่น digoxin ใช้รักษาโรคหัวใจล้มเหลวและหัวใจเต้นผิดปกติ แต่มีฤทธิ์ทำให้หัวใจเต้นช้าลง หรืออาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Hardman, 1996)

8.1 โครงสร้างทางเคมีของ digoxin

digoxin มีมวลโมเลกุล (molecular weight, MW) 780.9 โครงสร้างหลักประกอบด้วย 2 ส่วน คือ aglycone และน้ำตาล โดยส่วน aglycone เป็นส่วนสเตอรอยด์นิวเคลียสที่มีตำแหน่งที่ 17 ต่อกับ unsaturated lactone และส่วนของน้ำตาลจะต่อที่ตำแหน่ง 3 ดังรูปที่ 1.9



รูปที่ 1.9 โครงสร้างของ digoxin (ดัดแปลงจาก Hardman, 1996)

8.2 การออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ digoxin ต่ออวัยวะต่างๆ

digoxin ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase โดยผ่าน α subunit ของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase ที่ผนังเซลล์ (Eisner and Smith, 1992) แล้วส่งผลให้ไม่สามารถขนส่ง Na^+ ออกนอกเซลล์ และขนส่ง K^+ เข้าเซลล์ได้ ทำให้เพิ่ม intracellular Na^+ concentration และ extracellular K^+ concentration

8.2.1 ผลของ digoxin ต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ มีดังนี้

1) ผลของ digoxin ต่อแรงในการบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจ

digoxin เพิ่ม contraction ของกล้ามเนื้อหัวใจมีผลเป็น positive inotropic ซึ่งมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของ digoxin พบว่ามีอย่างน้อย 3 กลไก คือ 1) digoxin ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase แล้วส่งผลให้ Na^+ ถูก pump ออกนอกเซลล์ไม่ได้ หรือ pump ออกได้น้อย ทำให้มี Na^+ ใน cysosol ของเซลล์เพิ่มขึ้นทำให้เพิ่มกระบวนการ Na^+-Ca^{2+} exchange ผลคือ Ca^{2+} ใน cysosol มากขึ้น มีผลเพิ่ม contraction ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (Smith, 1988; Medford, 1993; Hardman, 1996) 2) digoxin กระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR

โดยตรง (McGarry and Williams, 1993) และ 3) digoxin มีผลเพิ่ม transient inward Ca^{2+} current (Marban and Tsien, 1982)

ผลของ digoxin ต่ออัตราการเต้นของหัวใจในร่างกายพบว่ามีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจเป็น negative chronotropic โดยมีฤทธิ์เพิ่ม vagal tone (Mutschler *et al.*, 1995) และมีรายงานการศึกษาผลของ digoxin ขนาด 30 µM ต่อหัวใจส่วน atrium ขวาที่แยกออกจากตัวของหนูตะเภาพบว่ามีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจเช่นกันโดยออกฤทธิ์ยับยั้ง Na^+-K^+ ATPase แล้วทำให้เพิ่ม extracellular K^+ concentration (Kocic and Korolkiewicz, 1998)

2) ผลของ digoxin ต่อหลอดเลือด

มีผลทั้งทำให้หลอดเลือดหดตัวและคลายตัว เช่นทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยออกฤทธิ์ยับยั้ง Na^+-K^+ ATPase ที่ vascular smooth muscle หรือออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาทเป็นต้น ส่วนการออกฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว โดยออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาท เช่น กระตุ้นให้มีการหลั่ง acetylcholine จาก prejunctional adrenergic nerve terminal ใน vascular smooth muscle เป็นต้น ซึ่งสรุปไว้ดังตารางที่ 1.5

ตารางที่ 1.5 ผลของ digoxin ต่อ vasomoter (เรียบเรียงจาก Hardman, 1996)

EFFECT	SITE AND MECHANISM OF ACTION
Vasoconstriction	
Direct	Vascular smooth muscle: inhibition of Na^+-K^+ ATPase and increased Ca^{2+} entry by Na^+-Ca^{2+} exchange
Indirect	
CNS	Area postrema of brainstem: augmented sympathetic discharge, enhanced α-adrenergically mediated vasoconstrictor tone at higher or rapidly administered doses
Efferent neural	Sympathetic adrenergic neuroeffector junction: release and/or reduced reuptake of norepinephrine from nerve terminals
Vasodilation	
Withdrawal of elevated sympathetic vasoconstrictor tone accompanying congestive heart failure	Direct inotropic effect on cardiac muscle Enhanced baroreceptor sensitivity Reflex withdrawal of elevated sympathetic tone
Cholinergic modulation	Prejunctional adrenergic nerve terminal in vascular smooth muscle: inhibition by acetylcholine of norepinephrine release

3) ผลของ digoxin ต่อความดันเลือดและการทำงานของไต ดังตารางที่ 1.6

ตารางที่ 1.6 แสดงผลของ digoxin ต่อความดันเลือดและการทำงานของไต

	EFFECTS	REFERENCE
Blood pressure	- decrease (conscious hypertensive rat by chronic infusion of norepinephrine) - increase (conscious hypertensive rat by chronic infusion of angiotensin II) - no effect (conscious hypertensive rat by chronic infusion of vasopressin)	Yasujima *et al.*, 1990
	- no effect (*in vivo* in rat)	Kimura *et al.*, 2000
Renal function	- increase glomerular filtration rate and renal plasma flow rate (anesthetized rat)	Ogiso *et al.*, 1984
	- increase urine flow rate by inhibition of Na^{+}-K^{+} ATPase (anesthetized dog)	Allen *et al.*, 1971

9. cardenolide glycosides ที่สกัดจากต้นตีนเป็ดทะเล

9.1 ต้นตีนเป็ดทะเล (*Cerbera odollam*)

ลักษณะของลำต้น ใบ ดอก และผลของตีนเป็ดทะเล

ต้นตีนเป็ดทะเล *Cerbera odollam* GAERTN เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นสูงประมาณ 3-5 เมตร พบบริเวณป่าชายเลนที่มีอิทธิพลของน้ำกร่อยทั่วไป เรือนยอดแผ่กว้างเปลือกเรียบสีเทา มีรูหายใจยาวๆ ทั่วไป เปลือกชั้นในสีเหลืองอ่อน มีน้ำยางสีขาว ดังรูปที่ 1.10

(1)

(2)

(3)

(4)

รูปที่ 1.10 แสดงลักษณะของต้น (1) ใบ (2) ดอก (3) และ ผล (4) ของตีนเป็ดทะเล (*Cerbera odullam*) (ชวลิต, 2540)

ใบ มีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงเวียนสลับรอบกิ่ง แผ่นใบรูปหอกแกมไข่กลับยาวประมาณ 15-30 เซนติเมตร กว้าง 4-8 เซนติเมตร ผิวใบเกลี้ยงทั้งสองด้าน ปลายใบเป็นติ่งแหลม โคนใบแคบเข้าหาก้านใบ เส้นแขนงใบบาง ก้านใบยาว 2.3 เซนติเมตร ดังรูปที่ 1.10 (2)

ดอก สีขาวแต้มเหลืองกลางดอก กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดปากแตร ยาว 1.5-2 เซนติเมตร ปลายหลอดแยกเป็น 5 กลีบ ดังรูปที่ 1.10 (3)

ผล ค่อนข้างกลม เป็นสองพูตื้นๆ ผลแก่จัดสีเขียวอมม่วงถึงม่วงเข้ม ยาวประมาณ 7 เซนติเมตร กว้างประมาณ 6 เซนติเมตร ดังรูปที่ 1.10 (4)

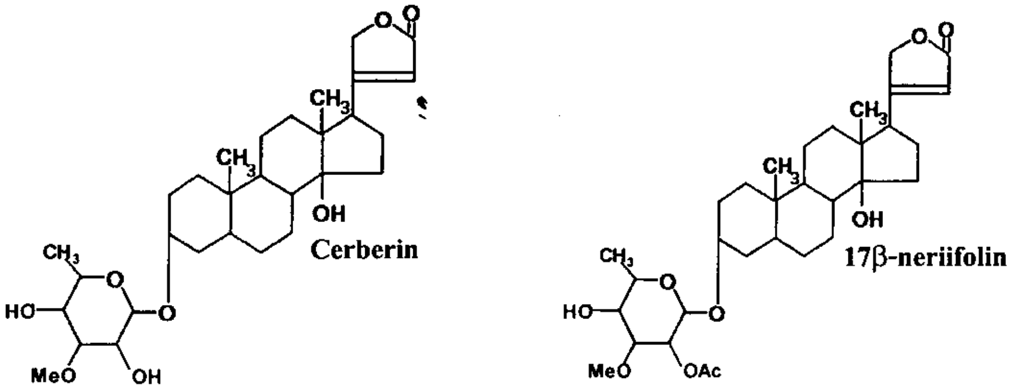
9.2 สรรพคุณทางยา

มีรายงานการใช้เปลือกของลำต้นของตีนเป็ดทะเล เป็นยาถ่าย แก้นิ่ว แก้ไข้ ส่วนแก่นใช้รักษาโรคอัมพฤกษ์ ดอก แก้ริดสีดวงทวาร ราก ใช้ขับเสมหะ ใบ ใช้รักษากลาก เกลื้อน แก้ไข้หวัด น้ำมันในกระพี้ ใช้แก้เกลื้อน เมล็ด รักษาหิด ใส่ผมแก้ผมหงอก เบื่อปลา (ลีนา, 2522; นันทวัน, 2541)

9.3 สาร cardenolide glycosides ที่สกัดได้จากตีนเป็ดทะเล

1) ลักษณะโครงสร้างของ cerberin และ 17β-neriifolin ซึ่งเป็นสาร cardenolide glycosides หลักที่สกัดได้จากตีนเป็ดทะเลแสดงดังรูปที่ 1.11

cerberin และ 17β-neriifolin มีมวลโมเลกุล 574 และ 534 ตามลำดับโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ hydroxyl จับที่ตำแหน่งที่ 14 ของสเตอรอยด์นิวเคลียส ส่วนของ aglycone ต่อกับน้ำตาลเพียง 1 โมเลกุล ซึ่งจะเห็นว่าส่วนของ aglycone คล้ายกับสูตรโครงสร้างของ digoxin (รูปที่1.9) ต่างกันที่ digoxin มี หมู่ hydroxyl จับที่ตำแหน่ง 12 อีกหมู่หนึ่ง และโครงสร้างของ digoxin ยังต่อกับน้ำตาล 3 โมเลกุลซึ่งลักษณะนี้ไม่พบใน cerberin และ 17β-neriifolin



รูปที่ 1.11 แสดงลักษณะโครงสร้างของ cerberin และ 17β-neriifolin (Laphookhieo *et al.*, 2004)

เนื่องจากมีรายงานการค้นพบสารกลุ่มคาร์ดิโนไลด์ไกลโคไซด์ หลายตัวจากส่วนต่างๆ ของพืชในวงศ์ Apocynaceae (Abe and Yamauchi, 1992) และมีรายงานผลทางชีวภาพของส่วนต่างๆ จากพืชในวงศ์นี้ด้วย เช่น เมล็ดของ *Cerbera dilatata* มี cardiotonic activity เมื่อทดสอบกับหนูตะเภา (*in vivo*) (Thorp, 1953) ใบของ *Cerbera manghas* มีผลลดความดันเมื่อทดสอบกับหนู rat (*in vivo*) (Norton *et al.*, 1973) และจากการศึกษาของ Laphookhieo *et al.* (2004) เกี่ยวกับ cytotoxic ของ cardenolide glycosides ที่สกัดจากเมล็ดสดของตีนเป็ดทะเลต่อ cancer cells ชนิดต่างๆ พบว่า 17β-neriifolin ออกฤทธิ์ได้ดีกว่า cerberin ผลแสดงในตารางที่ 1.7

ตารางที่ 1.7 แสดง cytotoxicity ของ cardenolide glycosides ที่สกัดจากเมล็ดสดของตีนเป็ดทะเลต่อ cancer cells (oral human epidermoid carcinoma (KB), human breast cancer cells (BC) และ human small cell lung cancer (NCI-H187)) (จาก Laphookhieo et al., 2004)

Sample	Cell lines (แสดงค่า ED_{50})		
	KB	BC	NCI-H187
1	7.56	4.62	7.42
2	Inactive	9.12	Inactive
3	0.078	0.049	0.032
4	0.017	0.048	0.076
5	1.92	1.63	1.24

หมายเหตุ ค่าที่แสดงคือ ED_{50} (μg ml^{-1})

1 (3β-O-(2'-O-acetyl-l-thevetosyl)-15(14→8)-abeo-5β-(8R)-14-oxo-card-20 (22)-enolide (2'-O-acetyl cerleaside A), 2 (cerleaside A), 3 (17α-neriifolin), 4 (17β-neriifolin) และ 5 (cerberin)

สารสกัดที่ได้จากต้นตีนเป็ดทะเลมีสูตรโครงสร้างหลักคล้ายกับ digoxin อีกทั้งมีสรรพคุณเป็นทั้งยารักษาโรคและยาพิษ การออกฤทธิ์ของสารสกัดน่าจะมีส่วนคล้ายคลึงกับ digoxin บ้าง ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาผลของสารสกัดที่ได้นี้ต่อการทำงานของระบบหัวใจ หลอดเลือด และการทำงานของไต การทำวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาผลของสารสกัดบริสุทธิ์ที่รู้โครงสร้างแล้วต่อการทำงานของหัวใจ ความดันเลือด และไต ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสารบริสุทธิ์ที่ได้จากพืชสมุนไพร ที่มีประโยชน์และสามารถใช้เป็นยารักษาโรคได้ และเป็นการใช้ประโยชน์จากพืชป่าชายเลน ซึ่งจะนำไปขยายพันธุ์ให้เป็นพืชเศรษฐกิจได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดคาร์ดิโนไลด์ไกลโคไซด์ (cerberin และ 17β-neriifolin) ต่อความแรงในการหดตัวและอัตราการเต้นของหัวใจห้องบน ที่แยกออกจากตัวของหนูแร็ทโดยเปรียบเทียบกับ digoxin
2. เพื่อศึกษาผลของ digoxin, ethanol และ 17β-neriifolin ต่อความดันเลือดแดงและการทำงานของไตในตัวหนูขาว ในแง่
    - 2.1 อัตราการไหลเวียนเลือดที่ไต (renal plasma flow)
    - 2.2 อัตราการกรอง (glomerular filtration rate)
    - 2.3 อัตราการขับทิ้งของโซเดียมและโพแตสเซียม (sodium and potassium excretion rate)
3. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ 17β-neriifolin ต่อการดูดกลับโซเดียมที่หลอดไตฝอยส่วน proximal