หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

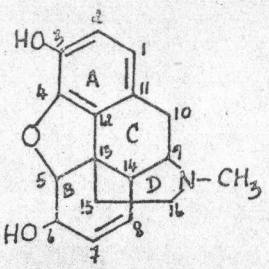
ปัจจุบันยาเสพติดเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย เพราะเยาวชนไทยติดยาเสพติดกันมาก จากรายงานสถิติเกี่ยวกับยาเสพติดของสำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด ประจำปี 2523 ได้แสดงให้เห็นว่า ในจำนวนผู้สมัครใจเข้ารับการรักษาจำนวน 33,565 ราย เมื่อจำแนกตามประเภทของยาเสพติดแล้ว เฮโรอีน (อนุพันธ์มอร์ฟีนในรูปอะเซติเลท) มีสูงสุดถึงร้อยละ 88.8 รองลงมาคือฝิ่น ร้อยละ 5.6 และกัญชาร้อยละ 1.43 ที่เหลือเป็นยาเสพติดชนิดอื่น ๆ จะเห็นได้ว่ายาเสพติดที่เป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบัน ส่วนใหญ่เป็นผลผลิตจากฝิ่น

สารอัลคาลอยด์ที่ได้จากฝิ่น แบ่งออกเป็น 2 พวก พวกแรกเป็น Phenanthrene derivative ซึ่งออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง และมีผลทำให้เกิดการเสพติดโดยตรงได้แก่ มอร์ฟีน, โคเดอีน และเทบีอีน อีกพวกหนึ่งเป็น Benzylisoquinoline derivative พวกนี้ไม่ถือเป็นยาเสพติด แต่มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหย่อนคลายตัว ได้แก่ ปาปาเวอรีน และ นอสคาปีน (สดใสและคณะ, 2520)

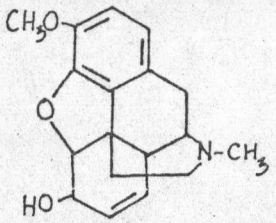
ในปี ค.ศ. 1803 นักเภสัชชาวเยอรมัน ชื่อ Friedrich Sertuner เป็นคนแรกซึ่งสกัดมอร์ฟีนได้จากฝิ่น โครงสร้างของโมเลกุลมอร์ฟีนมี Optical isomer และ ไอโซเมอร์ชนิด levo form เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการระงับปวด (analgesia) มอร์ฟีนเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น รสขม มีฤทธิ์สูงกว่าฝิ่น 8-10 เท่า มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์มีจุดหลอมเหลวประมาณ 200 องศาเซลเซียส ละลายในน้ำได้ดี (1 กรัม /17.5 มิลลิลิตรที่ 25 องศาเซลเซียส หรือ 1 กรัม /0.5 มิลลิลิตร ของน้ำเดือด)

<u>ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมอร์ฟีน</u> (Pharmacological activity) (สดใส และคณะ, 2520)

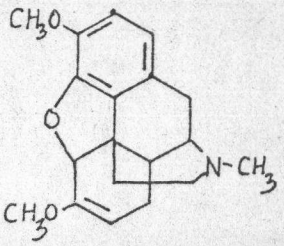
คุณสมบัติที่สำคัญอันหนึ่งของมอร์ฟีนคือ ความสามารถในการระงับปวด (analgesia) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทำให้เกิดความรู้สึกเคลิบเคลิ้มเพ้อฝันในทางเป็นสุข (Euphoria) ทำให้เกิดอาการอาเจียร (emetic) เป็นต้น มอร์ฟีนจะออกฤทธิ์ต่อระบบต่าง ๆ ในร่างกายคือ สมองส่วนกลาง (central nervous system) ศูนย์การหายใจ (Medullary center) ประสาทไขสันหลัง ระบบทางเดินอาหาร และ



Morphine

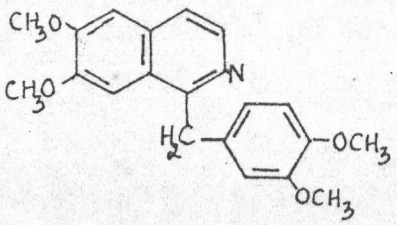


Codeine

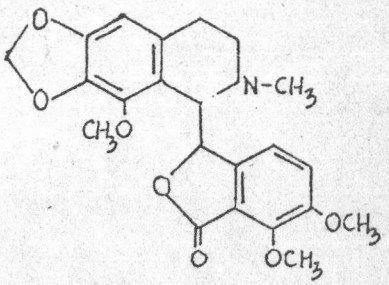


Thebaine

Phenanthrene alkaloid ซึ่งพบในฝิ่น



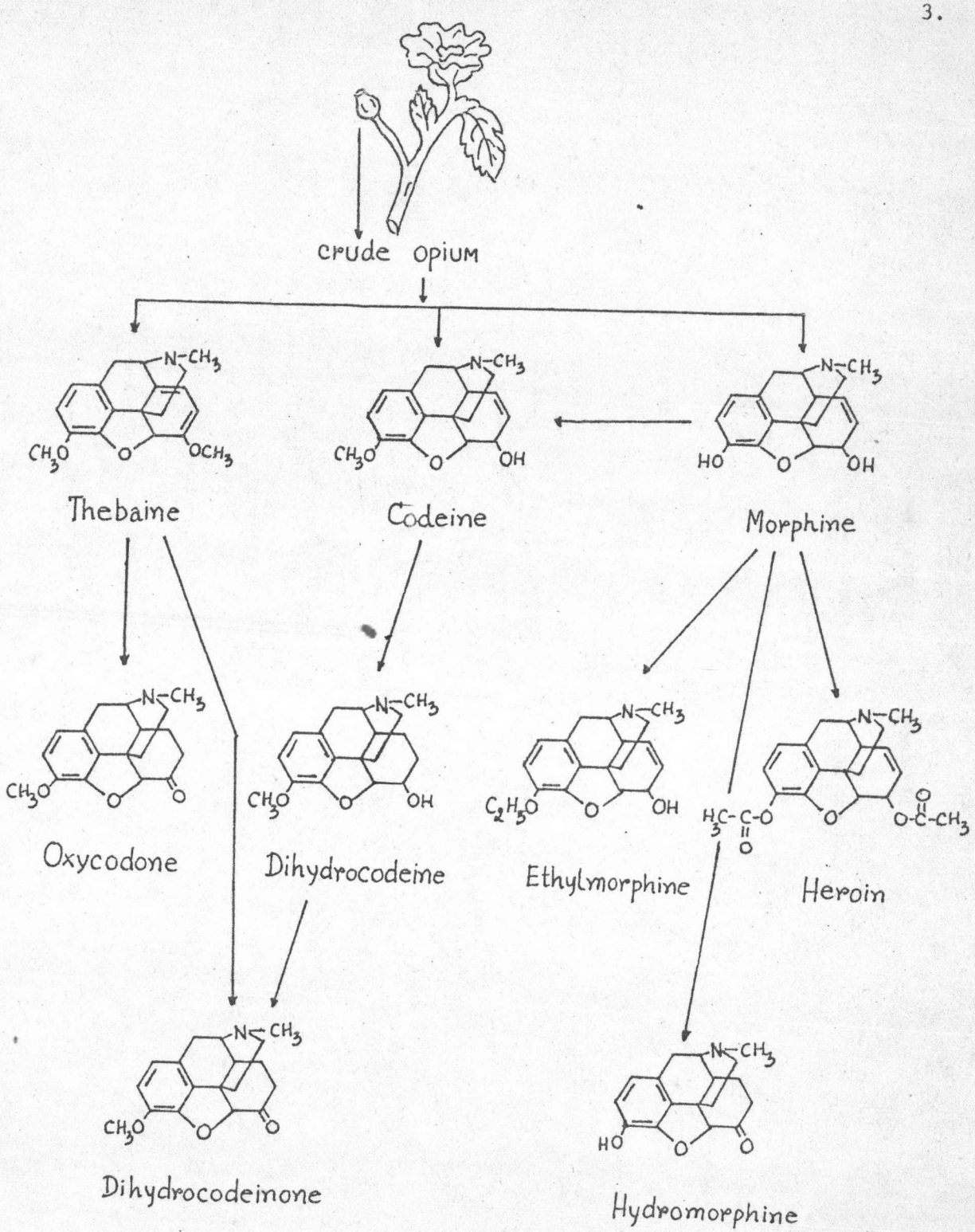
Papaverine



Noscapine

Benzylisoquinoline alkaloid ซึ่งพบในฝิ่น

รูปที่ 1



Opium, its phenanthrene alkaloids and some of their semisynthetic derivatives.

รูปที่ 2

ขับถ่าย ระบบหัวใจและเส้นเลือด (cardiovascular system) ระบบทางเดินหายใจ (respiratory system) ระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) ฯลฯ

เนื่องจากมอร์ฟีนเป็นสารแอมีนที่มีฤทธิ์เป็นด่าง (basic amine) เมื่อให้โดยวิธีรับประทาน จะแตกตัวเป็น ionized form นอกจากนี้ยังสามารถรวมกับกรดกลูคิวโรนิคในเซลเยื่อบุของลำไส้ และ ตับอย่างรวดเร็ว จนระดับมอร์ฟีนอิสระในพลาสมา ต่ำเกินกว่าที่จะออกฤทธิ์ระงับปวดได้ ดังนั้นจึงนิยมให้โดยการฉีด เข้าใต้ผิวหนัง เข้ากล้ามเนื้อ หรือฉีดเข้าเส้นเลือดโดยตรง โดยวิธีนี้จะออกฤทธิ์ได้เร็วกว่าการรับประทาน พบว่าประมาณ 60% ของมอร์ฟีน ที่ฉีดเข้าใต้ผิวหนังจะถูกดูดซึมภายใน 30 นาที หลังจากเข้าสู่ร่างกาย และจะกระจายไปทั่วร่างกายเข้าสู่เซล นอกจากนี้ยังพบว่ามอร์ฟีนสามารถผ่านเข้าสู่ทารกในครรภ์มารดาได้ มอร์ฟีนหลังฉีดเข้าในร่างกายแล้วจะเข้าไปรวมกับกรดกลูคิวโรนิค ในตับเป็นส่วนใหญ่ แล้วถูกขับถ่ายออกจากร่างกายในรูปของ 3-โมโนกลูคิวโรไนด์ และ 3,6-ไดกลูคิวโรไนด์ มีส่วนน้อย ซึ่งถูกดึง-เมธิลกรุปตรงอะตอมของไนโตรเจนได้เป็นนอร์มอร์ฟีน

มอร์ฟีนมีคุณสมบัติของยาเสพติด ซึ่งแสดงออกได้เป็น 3 ลักษณะ (Isbell และ Chruscial, 1970)

1. <u>การดื้อยา</u> (Tolerance)

เมื่อร่างกายได้รับยาขนาดหนึ่ง เป็นประจำทุกวัน จะเกิดการดื้อยา คือฤทธิ์ของยาจะลดลง ต้องเพิ่มขนาดของยาขึ้นจึงจะมีฤทธิ์เท่าเดิม

2. <u>ภาวะพึ่งยาทางกาย</u> (Physical dependence)

การที่ร่างกายคุ้นเคยต่อการออกฤทธิ์ของยา เมื่อหยุดยาจะเกิดอาการผิดปกติทางร่างกาย ซึ่งเรียกว่าอาการของการขาดยาหรืองดเสพ (Withdrawal Snydrome) อาการที่แสดงออกคือ หงุดหงิด ตื่นเต้นง่าย หาวนอน, ม่านตาขยายกว่าธรรมดา, น้ำหนักลด เป็นต้น

เมื่อให้หนูติดมอร์ฟีน และงดยาแล้วอาการแสดงออกจะต่างกับในคน ลิง หรือสุนัข สังเกตได้คือ จะร้องเสียงดังเมื่อโดนสัมผัส, (squealing when touched) ฟันกระทบกัน (chattering teeth) ท้องเสีย (diarrhea) มีความรู้สึกไวต่อเสียง (hypersensitivity to noise) เป็นต้น (Seevers and Deneau, 1963)

3. ภาวะพึ่งยาทางใจ (Psychic dependence) ความอยากหรือกระหายที่จะได้รับยาและรู้สึกสบายขึ้น เมื่อใช้ยาแล้ว

ยาเสพติดที่ออกฤทธิ์ระงับปวดได้ เรียกว่า agonist เช่น มอร์ฟีน ออกซีมอร์ฟีน (oxymorphine) ลีโวฟานอล (levophanol) ส่วนยาที่ออกฤทธิ์ตรงกันข้าม เรียกว่า antagonist ได้แก่ นาโลร์ฟีน (nalorphine) นาลอกโซน (Naloxone) และ ลีวอลโลร์แฟน (levallophan) เป็นต้น

การดื้อยามอร์ฟีน

ปรากฏการณ์ของการเกิดการดื้อยาได้รับการศึกษามาเกือบร้อยปีแล้ว ได้มีผู้ศึกษาถึงสาเหตุพื้นฐานทางชีวเคมี ของการพัฒนาการดื้อยา และการติดยาเสพติดกันอย่างมากมาย (Dole, 1970; Cachin, 1970 ; Martin, 1970 ; Shuster, 1970 ; Collier, 1968 ; Schulz and Goldstern, 1973) Smith และคณะ (1967) ได้ศึกษาพบว่า ระยะการเกิดการดื้อยา จะมี 2 ช่วง คือ ช่วงที่เป็นแบบเฉียบพลัน (acute tolerance) เกิดประมาณ 4-8 ชั่วโมง หลังจากการได้รับยาเสพติด ซึ่งมีฤทธิ์ระงับปวด ช่วงที่ 2 เป็นชนิดเรื้อรัง (chronic or long term tolerance) เกิดหลังจากได้รับยาเสพติด ครั้งที่ 2 หลังจากให้ยาครั้งแรก นาน 8-18 ชั่วโมง (Way และคณะ, 1968) ได้มีการศึกษาและตั้งสมมุติฐาน เพื่ออธิบายถึงกลไกของการดื้อยาเสพติด ในแง่ของความสามารถในการระงับปวด (Shauter และ Way, 1971 และ Way, 1969) ซึ่งสามารถจะสรุปออกได้เป็น 3 ลักษณะ คือ

1. ร่างกายมีปฏิกริยาตอบโต้ต่อยาเสพติด โดยการเพิ่มอัตราของการทำลาย หรือการสะเทินต่อยา อาจโดยการสร้างแอนติบอดี หรือโดย conjugate เข้ากับสารอื่น เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้ปริมาณยาเสพติดไปสู่ รีเซพเตอร์ของสมองได้น้อยลง (Cochin, 1970)

2. มีการปรับตัวทางสรีระของสมอง ซึ่งมีผลกระทบต่อการออกฤทธิ์ของยาเสพติดโดยตรง เช่น การเปลี่ยนแปลงของระดับ neurotransmitter ฮอร์โมน เป็นต้น (Loh และคณะ , 1969)

3. มีการปรับตัวของรีเซพเตอร์ ซึ่งทำหน้าที่จับกับยาเสพติด อาจจะโดยการเพิ่มระดับรีเซพเตอร์ หรือ เปลี่ยน แอฟฟินิตี ต่อยาทำให้ปริมาณยาที่ต้องใช้ในการจับกับรีเซพเตอร์อย่างสมบูรณ์เพิ่มมากขึ้น (Colier, 1968)

การทำให้หนูดื้อต่อมอร์ฟีน ทำได้โดยการฝังเม็ดมอร์ฟีน (pellet implantation) เข้าใต้ผิวหนัง ให้ค่อย ๆ ออกฤทธิ์ หรือโดยการฉีดมอร์ฟีนบ่อย ๆ แล้วติดตามวัดการดื้อยา โดยอาศัยคุณสมบัติการออกฤทธิ์ของมอร์ฟีน โดยทดสอบการระงับปวด การหายใจ และการขยายของม่านตาเป็นต้น ฯลฯ วิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง คือ วิธีทดสอบการระงับปวด (Banziger, 1964) D'Amour และ Smith (1941) ได้ใช้วิธีทดสอบด้วยความร้อนในการทดสอบความสามารถ ในการระงับปวดเมื่อหนูได้รับยามอร์ฟีน นอกจากนี้ยังมีผู้ใช้วิธีการทดสอบ การระงับปวดอื่น ๆ อีกหลายวิธี เช่น วิธีทางเคมี, ไฟฟ้า, ฟิสิกส์ (Benziger, 1964) แต่ไม่เป็นที่นิยมมากเท่ากับวิธีใช้ความร้อน เชื่อว่าการดื้อยาและสภาวะพึ่งยาทางกาย (physical dependence) จะเกิดขึ้นพร้อม ๆ กัน และภาวะทั้ง 2 จะถูกลบล้างไปด้วยกันเมื่อให้นาลอกโซน (Goldstain และ Goldstein,1968; Shuster, 1964 ; Jaffe และ Sharplers 1968) Way และคณะ ในปี 1969 พบว่าความดื้อยา ซึ่งเกิดขึ้นจากการฝังเม็ดมอร์ฟีน เมื่อให้หนูดื้อยาแบบเรื้อรังจะเกิดขึ้นหลังจากฝังเม็ดมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนังนาน 24 ชั่วโมง Patrick และคณะ (1975) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของมอร์ฟีนในสมองหนูปกติ ซึ่งได้รับยาอย่างเฉียบพลัน โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง แล้วติดตามความสามารถในการระงับปวด พบว่าจะมีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมอร์ฟีนที่วัดได้ในสมองกับความสามารถในการระงับปวด ทั้งในหนูและหนูไมซ์ หลังจากให้มอร์ฟีนเข้าไปในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน Way และคณะ (1969) ได้ทำการทดลองให้เห็นว่า หนูไมซ์จะเกิดภาวะพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีนหลังจากฝังเม็ดมอร์ฟีนได้ 3 ชั่วโมง และค่าองศาการดื้อยา กับภาวะพึ่งยาทางกายจะมีความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง Nojaki และคณะ (1975) ได้รายงานว่าหนูอายุ 7 สัปดาห์จะพัฒนาการดื้อยามอร์ฟีนได้เร็วกว่าหนู อายุ 12 สัปดาห์ และรูปแบบของการลดน้ำหนักหลังจากงดเสพมอร์ฟีนไม่แตกต่างกันด้วย Actinomycin D สามารถจะลดหรือห้ามการเกิดการดื้อยามอร์ฟีนในหนู และหนูไมซ์ได้ (Cox และคณะ ,1968 ; Cohen และคณะ , 1965) ยิ่งไปกว่านั้น Cycloheximide สามารถห้ามการเกิดการดื้อยา และการเกิดการพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีน ในหนูไมซ์ ได้เช่นกัน (Loh และคณะ , 1969)

Axelrod (1956) รายงานว่าหนูดื้อยาจะมีระดับของเอ็นไซม์ N-demethylase ในตับลดลง แต่ไม่มีผลกระทบต่อเอ็นไซม์ O-demethylase และขบวนการอื่น ๆ ระดับเอ็นไซม์ N-demethylase ในตับหนูจะลดลงมาก เมื่อทำให้หนูดื้อยามากขึ้น (Cochin และ Axelrod, 1959)

<u>รีเซพเตอร์ฝิ่น</u> (Opiate receptor)

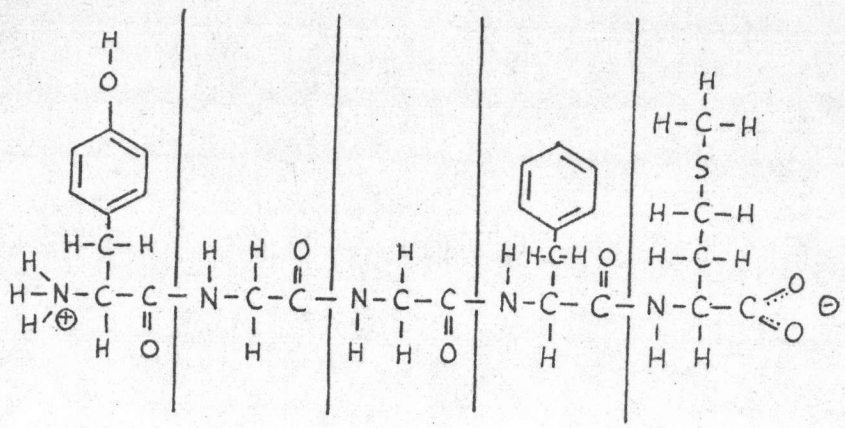
ในปี 1974, Pert และคณะ รายงานว่า พบรีเซพเตอร์ฝิ่นในเยื่อเซล ของเนื้อเยื่อจากสมอง ซึ่งสามารถจับกับอนุพันธ์ฝิ่น ได้ดีและมีความจำเพาะสูง เมื่อมีการจับกันของรีเซพเตอร์ และอนุพันธ์ฝิ่น จะมีผลโดยตรงกับการออกฤทธิ์ของสารอนุพันธ์ฝิ่นนั้น ๆ จากการศึกษาโดยใช้ autoradiography และวิธีทางชีวเคมี พบว่า บริเวณที่มีรีเซพเตอร์ฝิ่นสูง จะเป็นส่วนของสมองที่เรียกว่า Limbic system ในไขสันหลัง จะพบรีเซพเตอร์ส่วนใหญ่ที่ substantia gelatinosa ซึ่งเป็นบริเวณสำคัญเกี่ยวกับความเจ็บปวด ในสมองส่วนกลาง พบรีเซพเตอร์ฝิ่นมากในบริเวณ Solitary nuclei ซึ่งทำหน้าที่กดการไอและลดการหลั่งของกรด และพบรีเซพเตอร์ฝิ่น ในบริเวณ postrema ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการกระตุ้นให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียร (Snyder, 1977; Atweh และ Kuhar, 1977) และ Pert และ Snyder (1975) รายงานว่ามีรีเซพเตอร์สูงในสมองส่วน Striatum พบปานกลางใน Cortex และ Mid brain และพบในสมองส่วน Cerebellum น้อยมาก การจับกันระหว่างรีเซพเตอร์กับสารอนุพันธ์ฝิ่นเป็นแบบ Stereospecific (Goldstein, 1971) อิออนของโซเดียมและ ลิเธียม จะมีผลให้สาร agonist จับกับรีเซพเตอร์ได้น้อยลง แต่จะเพิ่มการจับของสารพวก antagonist กับรีเซพเตอร์ (Snyder 1979) แต่โปแตสเซียม, รูบีเลียมและซีเซียม ไม่มีผลกระทบต่อความสามารถในการจับกันระหว่างรีเซพเตอร์กับสาร agonist

<u>เอ็นเคฟาลิน</u> (Enkephalin)

ในปี ค.ศ. 1975 Hughes และคณะ ได้สกัดสารที่มีคุณสมบัติเป็น agonist คล้ายกับมอร์ฟีน ให้ชื่อว่า เอ็นเคฟาลิน ออกจากสมองหนู และเมื่อหาโครงสร้าง พบว่าเป็น pentapeptide ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ เมทไธโอนีน เอ็นเคฟาลิน และลูซีน เอ็นเคฟาลิน เขาได้ศึกษา amino acid sequence ของเปปไทด์ ทั้ง 2 นี้ และพบว่า ประกอบด้วย Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH และ Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH เหมือนกับส่วนปลายด้าน C-terminal ของ Pituitary hormone β lipotropin (βLPH) Terenius และ Wahlström (1975) รายงานว่าเอ็นเคฟาลิน สามารถจับกับรีเซพเตอร์ฝิ่นได้ Pasternak และคณะ (1975) ได้รายงานเพิ่มเติมว่า การจับกันระหว่างเอ็นเคฟาลินกับรีเซพเตอร์ฝิ่น จะลดลงเมื่อมีโซเดียมอิออน อยู่ด้วย

รูปแบบการกระจายของเอ็นเคฟาลินเหมือนกับรีเซพเตอร์ฝิ่น (Hughes, 1975; Pasternak และคณะ, 1975; Pasternak และคณะ, 1976 และ Simantov และคณะ, 1976) เมื่อศึกษาการกระจายในระดับ subcellular (subcellular) จะพบเอ็นเคฟาลินส่วนใหญ่ ในแฟรกชั่นของ synaptosome

TYR[1] GLY[2] GLY[3] PHE[4] MET[5]



รูปที่3 สูตรโครงสร้างของ Methionine Enkephalin

(Simantov และคณะ 1976; Gray และ Whittaker, 1969) นอกจากจะพบเอ็นเคฟาลินในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแล้ว ยังพบในอวัยวะส่วนอื่น ๆ อีกเช่น ต่อมใต้สมอง, กระเพาะอาหาร, ลำไส้เล็ก, ถุงน้ำดี, ตับอ่อน, ไต, น้ำนม, เลือด และน้ำไขสันหลังของคนด้วย (Pasternak และคณะ,1975; Pelak และคณะ, 1977) Bellujji และคณะ (1976) และ Buscher และคณะ (1976) พบว่าเมื่อฉีดเอ็นเคฟาลินเข้าไปในสมอง เอ็นเคฟาลิน ออกฤทธิ์ระงับปวดได้ และฤทธิ์การระงับปวดนี้ ถูกทำลายด้วย Naloxone เอ็นเคฟาลินสามารถแย่งที่สารอนุพันธ์ฝิ่นในการจับกับ รีเซพเตอร์ฝิ่น (Hughes และคณะ,1976; Simantov และ Snyder, 1976) ได้ดี เชื่อว่าระดับเอ็นเคฟาลินในสมองสามารถควบคุมได้ โดยการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์ที่สำคัญคือ อะมิโนเปปไทเดส (aminopeptidase) ซึ่งพบแอคติวิตีสูงเมื่อศึกษาในระดับซับเซลลูลาร์ จะพบในสมองของน้ำใสส่วนบน, synaptosome และส่วนของนิวเคลียส การทำงานของเอนไซม์ถูกยับยั้ง ด้วย Leucyl-β-naphthylamide และ Bacitracin เป็นต้น (Smyth และ Snell, 1977; Knight และ Klee (1978) ได้รายงานว่าเอนไซม์ อะมิโนเปปไตเดส จะไฮโดรไลซ์ เอ็นเคฟาลินซึ่งจับอยู่กับรีเซพเตอร์ ได้ดีกว่าเอ็นเคฟาลินอิสระ ถึง 4 เท่า นับว่าน่าสนใจที่จะศึกษาการทำงานของเอนไซม์อะมิโนเปปไตเดสต่อการจับของรีเซพเตอร์ และเอ็นเคฟาลินในสภาพธรรมชาติมาก

<u>การดื้อยามอร์ฟีนต่อระดับ เอ็นเคฟาลิน</u>

ในปี 1976 Simantov และ Snyder ได้ศึกษาอิทธิพลของการดื้อยาต่อระดับเอ็นเคฟาลิน และรายงานว่า หลังจากฉีดมอร์ฟีน 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ½, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง หรือฝังเม็ดมอร์ฟีน 75 มิลลิกรัม นาน 1 และ 5 วัน ระดับเอ็นเคฟาลินในสมองจะเพิ่มขึ้น

Childers และคณะ ในปี (1977) ศึกษาระดับเอ็นเคฟาลินในหนูซึ่งได้รับการฝังมอร์ฟีน 75 มิลลิกรัม 2 วัน และก่อนฆ่าให้เม็ดมอร์ฟีนขนาดเดิมอีก 2 เม็ด 3 วัน เขาพบว่าในหนูที่ติดมอร์ฟีนไม่พบการเปลี่ยนแปลงระดับเอ็นเคฟาลินในสมองส่วน Hypothalamus, Striatum และส่วนสมองทั้งหมดเลยไม่ว่าจะใช้วิธีวิเคราะห์มอร์ฟีน แบบเรดิโอรีเซพเตอร์ หรือ เรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Fratta และคณะ (1977), Wesche และคณะ (1977)

ในปี 1979 Bergstrom และ Terenius ได้ศึกษาระดับเอ็นเคฟาลินสมองส่วน Striatum ของหนู โดยให้หนูติดยามอร์ฟีน นาน 11 วัน โดยเริ่ม

ด้วยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว แล้วเพิ่มความเข้มข้นขึ้นวันละ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว จนครบ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว และฆ่าหนูหลังจากหยุดยา 2, 24 และ 48 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์หาระดับเอ็นเคฟาลิน โดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ ผลการทดลองปรากฏว่าไม่พบการเปลี่ยนระดับเอ็นเคฟาลินในหนูที่ฆ่าหลังหยุดยา 2 ชั่วโมง แต่ระดับเอ็นเคฟาลินจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญในหนูกลุ่มที่ฆ่าหลังหยุดยา 24 ชั่วโมง ในขณะที่พบการลดน้ำหนักเพียงเล็กน้อยในหนูที่ฆ่าหลังหยุดยา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้เขายังได้ทดลองฉีดมอร์ฟีนขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนัง แล้วฆ่าหลังจากฉีด 12 และ 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอ็นเคฟาลินจะไม่เปลี่ยนแปลง

Przewlocki และคณะ (1978) ได้ศึกษาระดับเอ็นเคฟาลินในสมองโดยการทำให้หนูติดยาด้วยการผังมอร์ฟีน 75 มิลลิกรัม วันที่ผัง 1 เม็ด (เม็ดละ 75 มิลลิกรัม) วันที่ 4 ผัง 2 เม็ด วันที่ 7 ผัง 3 เม็ด และผัง 3 เม็ดต่อไปอีกในวันที่ 11, 14, 18, 21, 25, 28 และ 32 แล้วฆ่าหนูวันที่ 36 ผลการทดลองโดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ พบว่าระดับเมทไธโอนีน เอ็นเคฟาลิน และลูซีน เอ็นเคฟาลิน ในสมองส่วน Corpus striatum และ Intermediate posterior pituitary lobes จะลดลงประมาณ 40 เปอร์เซนต์

ผลกระทบของการดื้อยามอร์ฟีนต่อระดับ Cyclic AMP, Adenylate Cyclase และ Phosphodiesterase

Cyclic AMP เป็นสื่อนำสัญญาน ภายในเซล ที่เป็นเป้าหมายของฮอร์โมนหลายชนิด ในสมองจะทำหน้าที่เป็น second messenger ของ biogenic amines ต่าง ๆ เช่น dopamine noradrenarine, serotonin และ histamine ซึ่งมีผลในการกระตุ้นการสร้างเอ็นไซม์ adenylate cyclase (Daly, 1976) มีรายงานว่ามอร์ฟีนมีผลกระทบต่อหน้าที่และเมตาบอลิสม ของ biogenic amine เหล่านี้ (Way และ Shen, 1971) เนื่องจากเอ็นไซม์ adenylate cyclase และ Phosphodiesterase ซึ่งทำหน้าที่สร้างและทำลาย cyclic AMP นั้น มีในสมองสูงกว่าบริเวณอื่น ดังนั้นการให้มอร์ฟีนจึงน่าจะมีผลต่อระดับ cyclic AMP

ในปี ค.ศ. 1973 Costa และคณะได้ศึกษาระดับ cyclic AMP โดยฉีดมอร์ฟีน 10-60 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนัง พบว่าหลังจากฉีด 30-60 นาที ระดับ cyclic AMP จะสูงสุดใน ส่วน Striatum, Pituitary, Adrenal cortex และ adrenal Medulla (Clouet และคณะ, 1975) ส่วน Mid brain, Cerebral Cortex และ Cerebellum

ระดับ cyclic AMP จะลดลง

ในปี 1971 Chou และคณะได้ศึกษาแอคติวิตีของ adenylate cyclase หลังจากฉีดมอร์ฟีนความเข้มข้น 20-200 ไมโครโมล/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าหนู หรือหนูไมซ์ นาน 15 ถึง 60 นาที พบว่าระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ในส่วน Cerebral cortex และไม่เปลี่ยนแปลงใน Cerebellum, Hypothalamus

Clouet และคณะ(1975)พบว่าในหนู หลังจากฉีดมอร์ฟีน 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว นาน 1-2 ชั่วโมง ระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ในส่วนของ Mid brain, Striatum และ Medulla เพิ่มขึ้น แต่ระดับของเอ็นไซม์ลดลงในบริเวณสมองส่วน Cerebellum ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับของเอ็นไซม์ในสมองส่วน Cortex และ Hypothalamus เมื่อทำให้หนูดื้อยาสูงขึ้น จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ในทุกบริเวณ เมื่อวัดหลังจากฉีดครั้งสุดท้าย นาน 18 ชั่วโมง แต่ถ้าวัดหลังจากฉีดครั้งสุดท้าย 2 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มระดับเอ็นไซม์ในบริเวณ Mid brain, Cortex และ Cerebellum

Puri และคณะ (1975) ศึกษาผลของการฉีดมอร์ฟีนต่อระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase และ phosphodiesterase ในสมองหนู ส่วน Corpus Striatum พบว่า เมื่อฉีดมอร์ฟีน ตั้งแต่ 7.5-30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เอ็นไซม์ adenylate cyclase จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อฉีดมอร์ฟีนความเข้มข้นถึง 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ส่วนระดับเอ็นไซม์ Phosphodiesterase จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อทำการวัดเอ็นไซม์ โดยใช้ความเข้มข้นของสับเสตรท (cyclic AMP) ในช่วง 3.33×10^{-5} - 3.33×10^{-7} โมลาร์ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสับเสตรท เป็น 3.33×10^{-3} โมลาร์ ระดับเอ็นไซม์ Phosphodiesterase จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ตามความเข้มข้นของมอร์ฟีนที่ให้

เสาวณีย์ กาญจนชุมพล (1979) ได้ศึกษาระดับ cyclic AMP ในบริเวณส่วนต่าง ๆ ในสมองหนู โดยพัฒนาให้หนูติดยามอร์ฟีนที่ค่าองศาการดื้อยาต่าง ๆ กัน คือ 5, 8.7, 16, 33 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าในกลุ่มหนูที่ดื้อยาด้วยค่าความเข้มข้นของมอร์ฟีน (AD_{50}) สูงกว่า 8.7 มิลลิกรัม /กิโลกรัมน้ำหนักตัว จะพบการลดลงของระดับ cyclic AMP ในบริเวณสมองส่วน Cortex, Thalamus & Hypothalamus, Mid brain และ Cerebellum ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ cyclic AMP ในส่วนของ Pons & Medulla และการเปลี่ยนแปลงของระดับ cyclic AMP ในสมองส่วนต่าง ๆ ที่องศาของความดื้อยาต่าง ๆ นี้จะสอดคล้องกับค่าการเปลี่ยนแปลงที่พบในกลุ่มหนูที่ได้รับยาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณมอร์ฟีนเท่ากัน ยกเว้นบริเวณสมองส่วน Pons & Medulla เท่านั้นที่ระดับ cyclic AMP จะเพิ่ม

เมื่อฉีดมอร์ฟีนแบบเฉียบพลันด้วยขนาด 5 และ 8.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว

ผลกระทบของการดื้อยามอร์ฟีนต่อระดับรีเซพเตอร์ฝิ่น

ในปี 1973 Pert และ Snyders พบว่าหลังจากฉีดมอร์ฟีนแบบเฉียบพลันหรือเรื้อรัง เข้าหนูเพียง 5 นาที จะมีการเพิ่มจำนวนรีเซพเตอร์ ถึง 100% Frederickson และคณะ (1974) ได้รายงานว่า มีการเพิ่มระดับ รีเซพเตอร์ฝิ่นสำหรับ ^{3}H-naloxone หรือ ^{3}H-dihydromorphine ในหนู ซึ่งดื้อยามอร์ฟีน แต่การเพิ่มระดับรีเซพเตอร์ จะเกิดหลังจากฉีดยานาน 25 ชั่วโมง Harris และ Kajmierowski (1975) ได้รายงานว่า หลังจากฉีดมอร์ฟีน 5 นาที จะมีการเพิ่มระดับรีเซพเตอร์ ในสมองหนูอย่างเห็นได้ชัด แต่จะลดลงเท่าเดิม ภายใน 2 ชั่วโมง และเมื่อฉีดต่อไปหลังจากนับอีกนาน 20 วัน จะไม่มีผลต่อระดับรีเซพเตอร์ Pert และ Snyder ในปี 1975 พบว่า ฉีดมอร์ฟีน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าหนูไมซ์ จะมีการเพิ่ม stereospecific binding ของ ^{3}H-dihydromorphine หรือ ^{3}H-naloxone 50-100 เปอร์เซนต์ ภายใน 5 นาที และเมื่อฝังมอร์ฟีน 75 มิลลิกรัมเข้าใต้ผิวหนัง หนูซึ่งหนัก 30-35 กรัม พบว่ามีการจับของ ^{3}H-dihydromorphine กับรีเซพเตอร์สูงถึง 30-100 เปอร์เซนต์ หลังจากฝัง 2 ชั่วโมง และจะไม่มีการเพิ่มอย่างชัดเจนหลังจากศึกษาต่อไป (2-108 ชั่วโมง) จึงได้ตั้งข้อสังเกตว่า การเพิ่มการจับกับรีเซพเตอร์นั้น น่าจะเป็นการเพิ่มระดับรีเซพเตอร์มากกว่า การเปลี่ยน affinity Davis และคณะ (1975) ได้ศึกษา โดยใช้ brain stem slice พบว่า เมื่อให้หนูติดยาแบบเรื้อรัง affinity ของ specific binding ของมอร์ฟีนจะลดลง แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง เมื่อใช้ brain stem homogenate

ในปี 1974 Klee และ Streaty กับ Höllt และคณะ (1975) รายงานว่า ไม่มีความแตกต่างในการจับระหว่างรีเซพเตอร์กับมอร์ฟีนใน brain homogenate ของหนูควบคุมและหนูดื้อยามอร์ฟีน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง Bonnet และคณะ ในปี 1976 แสดงให้เห็นว่าไม่มีการเปลี่ยนจำนวน Binding site หรือ affinity ของการจับของ ^{3}H-naloxone ในสมองส่วน Periventricular gray หรือ Medial Thalamus ของสมองหนูในระหว่างการพัฒนาการดื้อยา

Dum และคณะ (1977) ได้ศึกษาระดับมอร์ฟีนในสมองของหนูดื้อยา เมื่อให้ Naloxone เขาทำการทดลองโดยฝังเม็ดมอร์ฟีน 75 มิลลิกรัม ให้กับหนูไมซ์ (หนัก 25-30 กรัม) นาน 3 วัน ก่อนทำการทดลอง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนระดับมอร์ฟีนในสมองหนูปกติ หรือหนูติดยา หลังจากให้ naloxone 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว

ซึ่งผลการทดลองแตกต่างกับ Shen และ Way (1975), Way และ Loh (1976) ซึ่งพบว่ามีการลดลง ของระดับมอร์ฟีนในสมองหนูดื้อยา ซึ่งฉีด naloxone อย่างเห็นชัด

Davis (1979) ได้ทำการทดลองและยืนยันอีกครั้งหนึ่งว่า มีการจับของสารอนุพันธ์ฝิ่น (opiate)กับ brain stem slice ในหนูติดยามอร์ฟีน

จากการสำรวจเอกสาร เกี่ยวกับการศึกษากลไกของการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้น พอจะสรุปได้ว่าการพัฒนาการดื้อยาและภาวะพึ่งยาต่อมอร์ฟีนในหนู ซึ่งได้รับมอร์ฟีนบ่อย ๆ นั้น น่าจะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงกลไกของการทำงานบางอย่างในระบบสมองส่วนกลาง และมีความเป็นไปได้สูงที่ ภาวะการดื้อยาและภาวะพึ่งยาอาจเป็นผลสืบเนื่องมาจากยามอร์ฟีนที่ได้รับเข้าไป จะไปเปลี่ยน steady state level ของรีเซพเตอร์ฝิ่น ในด้านระดับของรีเซพเตอร์ หรือ affinity ของรีเซพเตอร์ อันเป็นผลเนื่องมาจาก repression หรือ derepression ก็ได้

เนื่องจาก เสาวณีย์ กาญจนชุมพล (1979) ได้พัฒนาวิธีวัดองศาความดื้อยามอร์ฟีน โดยอาศัยคุณสมบัติของ มอร์ฟีนในการระงับปวดขึ้นใหม่ ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายสะดวก และไม่สิ้นเปลือง นอกจากนี้ยังสามารถนำค่าองศาการดื้อยา ที่ได้นี้มาใช้เป็นความเข้มข้นของมอร์ฟีน ฉีดเข้าในหนู เพื่อพัฒนาการดื้อยา ขึ้นได้อย่างมีระบบ ทำให้สามารถพัฒนาความดื้อของหนูได้สูงถึง 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว วิธีพัฒนาความดื้อยาในหนูที่สร้างขึ้นใหม่นี้ ยังไม่เคยมีใครพัฒนาก่อน และไม่เคยมีผู้ใดพัฒนาให้หนูติดยาจนถึงความเข้มข้นของมอร์ฟีนสูงเพียงนี้เลย จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่จะใช้ประโยชน์จากวิธีที่สร้างขึ้นใหม่นี้ พัฒนาให้หนูดื้อต่อยามอร์ฟีนสูงขึ้นไปอีกและติดตามศึกษากลไกของการดื้อยาในหนูที่ติดยาด้วยความเข้มข้นของมอร์ฟีนสูงมาก ๆ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานถึงสภาวะเช่นนี้ในเอกสารใด ๆ เลย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษากลไกของการดื้อยานั้น ควรจะเป็นการศึกษาลึกลงไปถึงสมองส่วนใดส่วนหนึ่ง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ทางเภสัชของมอร์ฟีนในส่วนนั้น ๆ โดยตรง

ในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ ที่จะใช้วิธีของ เสาวณีย์ กาญจนชุมพล (1979) พัฒนาให้หนูติดยาด้วยค่าความเข้มข้นของมอร์ฟีนสูงขึ้น และติดตามศึกษากลไกของการดื้อยาและภาวะการพึ่งยา โดยจะเน้นถึงการเปลี่ยนแปลงระดับมอร์ฟีน และจะรวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ และระดับของรีเซพเตอร์ฝิ่นในแต่ละส่วนของสมองหนูดื้อยา ซึ่งได้รับการแบ่งออกเป็นส่วน ๆ ตามหน้าที่และตำแหน่ง ซึ่งมีขั้นตอนของการวิจัยดังต่อไปนี้

1. ศึกษาวิธีพัฒนาให้หนูติดยามอร์ฟีนด้วยองศาของการดื้อยาสูงขึ้น

2. ศึกษาวิธีวัดระดับมอร์ฟีนในสมองหนู โดยวิธี เรดิโออิมมิวโนแอสเสย์

3. วิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงของระดับของมอร์ฟีนใน แต่ละส่วนของสมองหนูปกติ และสมองหนูดื้อยา ซึ่งแบ่งเป็นส่วน ๆ ตามหน้าที่และตำแหน่ง

4. ศึกษาวิธีวัดระดับเมทไธโอนีน เอ็นเคฟาลิน โดยวิธีเรดิโอรีเซพเตอร์แอสเสย์ และวัดระดับเอ็นเคฟาลิน แต่ละส่วนของสมองหนูปกติ

5. ศึกษาวิธีวัดระดับรีเซพเตอร์ของ เมทไธโอนีน เอ็นเคฟาลิน และค่า dissociation constant (K_d) ของรีเซพเตอร์

6. วิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงของระดับรีเซพเตอร์ของ เมทไธโอนีน เอ็นเคฟาลิน และค่า K_dของรีเซพเตอร์ในแต่ละส่วนของสมองหนูปกติและหนูดื้อยา

7. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับมอร์ฟีน เมทไธโอนีนรีเซพเตอร์ และค่า K_d ของรีเซพเตอร์ เพื่อหาความสัมพันธ์กับองศาการดื้อยา