ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว

นายสิทธิกร เจริญสุข
นางสาวอัจฉราภรณ์ ทองเย็น

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2549

EFFECT OF CAPSICUM EXTRACT ON GASTRIC ACID SECRETION IN ISOLATED MOUSE WHOLE STOMACH

MR. SITTIKORN CHAREONSUK
MISS ACHARAPORN TONGYEN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ

เรื่อง ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักร ที่แยกจากตัว

.....

(นายสิทธิกร เจริญสุข)

.....

(นางสาวอัจฉราภรณ์ ทองเย็น)

.....

(รศ.อโนชา อุทัยพัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(รศ.วิสุดา สุวิทยาวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(รศ.สุวรรณ ธีระวรพันธ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว

สิทธิกร เจริญสุข, อัจฉราภรณ์ ทองเย็น

อาจารย์ที่ปรึกษา : อโนชา อุทัยพัฒน์*, วิสุดา สุวิทยาวัฒน์**, สุวรรณ ธีระวรพันธ์**

* ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : สารสกัดพริก, การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร

การศึกษาผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกจากตัวที่ถูกกระตุ้นด้วยฮีสตามีน และเบททาเนคอล โดยเก็บกรดที่หลั่งออกมาทุก 10 นาที หลังจากเก็บตัวอย่างแรกแล้ว จึงให้สารสกัดพริกลงในสารละลายทางด้านซีโรซัล หลังจากใส่สารสกัดพริก 20 นาที จึงให้ตัวกระตุ้น (ฮีสตามีน ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ หรือ เบททาเนคอล 100 ไมโครโมลาร์)

ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดพริกมีผลยับยั้งการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกจากตัวที่กระตุ้นด้วยฮีสตามีน โดยสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 และ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลลดอัตราการหลั่งกรดและลดปริมาณกรดรวมของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกจากตัวที่กระตุ้นด้วยฮีสตามีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลลดการหลั่งกรดมากที่สุด, ในการศึกษาการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกจากตัวที่กระตุ้นด้วยฮีสตามีน เมื่อมีอินโดเมทาซิน ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ พบว่า สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 ไมโคกรัม/มิลลิลิตร มีผลในการลดการหลั่งกรดที่กระตุ้นด้วยฮีสตามีนลดลง ส่วนการศึกษาการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกจากตัวที่กระตุ้นด้วยเบททาเนคอล พบว่า สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลลดการหลั่งกรดที่กระตุ้นด้วยเบททาเนคอล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลลดการหลั่งกรดที่กระตุ้นด้วยฮีสตามีน, โดยอาจมีผลบางส่วนผ่านการกระตุ้นพรอสตาแกลนดิน แต่ไม่มีผลลดการหลั่งกรดที่กระตุ้นด้วยเบททาเนคอล

Abstract

Effect of Capsicum Extract on gastric acid secretion in isolated mouse whole stomach

Sittikorn Chareonsuk, Atcharaporn Thongyen

Project advisor: Anocha Utaipat*, Wisuda Suvitayavat**, Suwan Thirawarapan**

*Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: Capsicum extract, Gastric acid secretion

The study of the effect of capsicum extract on gastric acid secretion induced by histamine and bethanechol, acid secretions were collected every 10 minutes. After collect the first collection, capsicum extract was applied to serosal solution in the organ bath. Then 20 minutes after applying capsicum extract, histamine 5 μM or bethanechol 100 μM was applied.

This study have found that capsicum extract could reduce gastric acid secretion induced by histamine. Capsicum extract concentration 8 and 16 μg/ml could significantly reduce gastric acid secretion and cummulative acid secretion. Capsicum extract concentration 8 μg/ml performs the greatest effect on reduction of acid secretion. The study the effect of capsicum extract on gastric acid secretion induced by histamine with presenting of indomethacin concentration 0.1 μM have found that capsicum extract concentration 8 μg/ml could reduce acid secretion. The study of the effect of capsicum extract concentration 8 μg/ml on gastric acid secretion that induced by bethanechol could not reduce acid secretion.

Those studies have shown that capsicum extract concentration 8 μg/ml could reduce gastric acid secretion induced by histamine, partially reduce secretion through prostaglandin but do not have effect on induction by bethanechol.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงตามความมุ่งหมายได้ด้วยความช่วยเหลือและคำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ได้แก่ รศ. อโนชา อุทัยพัฒน์, รศ. วิสุดา สุวิทยาวัฒน์ และ รศ. สุวรรณ ธีระวรพันธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลองตลอดจนการเรียบเรียงข้อมูลและตรวจสอบความถูกต้องของรายงาน จนทำให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย และได้รับความช่วยเหลือจากนางสาวดวงเมท จันทรังสิกุล ที่สอนวิธีการเตรียมสัตว์ทดลอง เอื้อเฟื้อจัดหาอุปกรณ์และให้คำปรึกษาในการทดลอง ภาควิชาสรีรวิทยา สำหรับสถานที่, อุปกรณ์, เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ตลอดการทดลอง ภาควิชาเภสัชวิทยา สำหรับสถานที่และเครื่อง pH meter ตลอดการทดลอง ห้องวิจัยกลาง สำหรับเครื่อง analytical balance และนายมานะ ทาบโลหะ ที่อำนวยความสะดวกในเรื่องการดูแลสัตว์ทดลองตลอดการทดลอง

ข้าพเจ้าในฐานะผู้ดำเนินการวิจัย จึงขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและแนะนำเป็นอย่างดีมา ณ โอกาสนี้

นศภ. สิทธิกร เจริญสุข

นศภ. อัจฉราภรณ์ ทองเย็น

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ซ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
บทนำ	1
ทบทวนวรรณกรรม	2
วัสดุและวิธีการวิจัย	14
ผลการวิจัย	22
วิจารณ์ผลการวิจัย	60
ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ	63
เอกสารอ้างอิง	64

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	23
2	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และใส่สารสกัดพริก (2 μg/ml) ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที	24
3	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที	25
4	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และใส่สารสกัดพริก (16 μg/ml) ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที	26
5	ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	27
6	ผลของสารสกัดพริกต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine 5 μM	29
7	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL	32
8	ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	33
9	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL	35
10	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (100 μM)	38

ตารางที่		หน้า
11	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (1.0 μM)	39
12	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.5 μM)	40
13	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.2 μM)	41
14	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.1 μM)	42
15	ผลของ indomethacin ในขนาดต่าง ๆ (100, 1.0, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	43
16	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.1 μM)	45
17	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที เมื่อมี indomethacin (0.1 μM)	48
18	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 μM)	49
19	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 μM)	51
20	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM)	54
21	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM) และใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที	55

ตารางที่		หน้า
22	ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)	56
23	ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)	58

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	พริก	4
2	โครงสร้างของ capsaicin	4
3	การควบคุมการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร	7
4	กลไกการหลั่งกรดไฮโดรคลอริก	13
5	ผลของสารสกัดพริก ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	28
6	ผลของสารสกัดพริก ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	30
7	ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)	34
8	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL	36
9	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ indomethacin ในขนาดต่าง ๆ (100, 1.0, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM)	44
10	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.1 μM)	46
11	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 μM)	50
12	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 μM)	52

รูปที่		หน้า
13	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM)	57
14	ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM)	59

สัญลักษณ์ และ คำย่อ

มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
AUC	=	area under the curve
min.	=	นาที
N	=	normal
n	=	จำนวนตัวอย่าง
nEq	=	nanoequivalence
PEG	=	Polyethylene glycol
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
µg/kg	=	ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม
µg/ml	=	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
µl	=	ไมโครลิตร
µM	=	ไมโครโมลาร์

บทนำ

ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจเรื่องสุขภาพกันมากขึ้น พืชสมุนไพรใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้รับความนิยมมากรวมทั้งพริก พริกเป็นเครื่องเทศที่คนไทยรู้จักและคุ้นเคย เพราะพริกช่วยเพิ่มรสชาติเผ็ดร้อนให้อาหาร โดยเฉพาะคนไทยในภาคใต้และภาคอีสาน นิยมรับประทานอาหารรสเผ็ดมาก

พริกเป็นพืชวงศ์ solanaceae พริกมีหลายชนิด เช่น พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกกะเหรี่ยง พริกหยวก พริกหวาน เป็นต้น สารสำคัญในพริกที่ให้รสเผ็ดร้อน คือ สาร capsaicinoid ที่ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ capsaicin ซึ่งเป็น parent compound ของ vanillyl fatty acid amides ที่พบได้ในพริกทุกชนิด (1) รวมทั้งพริกไทยและขิง ในปริมาณที่แตกต่างกัน capsaicin เป็นอัลคาลอยด์ที่มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{18}H_{27}NO_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 305.46 มีการศึกษาถึงสรรพคุณพริกที่ใช้ภายนอกสามารถบรรเทาปวดเส้นประสาทของโรคงูสวัด (herpatic pain) ปวดจากข้ออักเสบ (ข้ออักเสบรูมาตอยด์ ข้อเสื่อม) รวมทั้งปวดจากเส้นประสาทถูกทำลายในโรคเบาหวาน (diabetic neuropathy) ทั้งนี้เพราะ capsaicin สามารถลด substance P ในเซลล์ประสาทซึ่งเป็นสารสื่อที่นำความปวดของเส้นประสาทส่วนปลายไปยังสมอง (2) โดยการศึกษาถึงผลของ capsaicin ในพริกเกี่ยวกับผลต่อการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารนั้นยังมีผลที่ไม่ชัดเจน จึงเป็นที่มาของโครงการนี้ที่ศึกษาเพื่อประเมินผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารโดยใช้กระเพาะอาหารของหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเป็นรูปแบบของการประเมิน ทั้งนี้เพื่อนำผลที่ได้จากการศึกษามาใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้พริกในรูปผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือเครื่องเทศในการช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานดีขึ้นหากสารสกัดพริกมีผลเพิ่มการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร หรือใช้เป็นข้อมูลสนับสุนนการใช้พริกในการป้องกันหรือรักษาแผลในกระเพาะอาหารหากสารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร

ทบทวนวรรณกรรม

1. สารสกัดพริก

พริกเป็นพืชวงศ์ Solanaceae มีมากกว่า 15 สกุลที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย เช่น พริกขี้หนู (bird chilli, chilli, cayenne pepper ชื่อทางพฤษศาสตร์ *Capsicum frutescens* L.) ส่วนที่ใช้ประโยชน์ คือ ใบและผล และพริกชี้ฟ้า (chilli, Thai dragon chile, spur pepper มีชื่อทางพฤษศาสตร์ *Capsicum annuum*) ส่วนที่ใช้ประโยชน์ คือ ผล เป็นต้น (3)

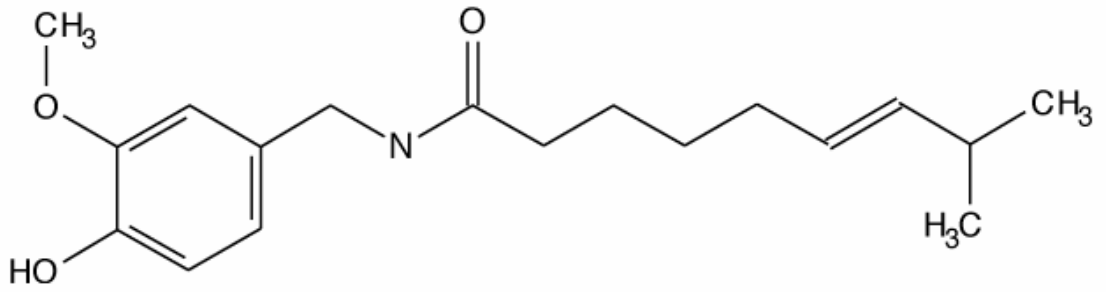
Capsicum extract เป็นสารสกัดที่ได้จากพริก โดยสารในพริกที่ให้รสเผ็ดร้อน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoid) ซึ่งประกอบด้วยสารสำคัญ คือ แคปเซอิซิน (capsaicin) ที่ทำให้พริกมีรสเผ็ดร้อน โดยสารนี้มีมากที่สุดที่เยื่อแกนกลางของพริก สาร capsaicin เป็น parent compound ของ vanillyl fatty acid amides พบได้ในพริกทุกชนิด (1) และสารแคปแซนทีน (capsanthin) ที่ทำให้พริกมีสีส้มแดง นอกจากนี้พริกยังอุดมด้วยวิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย โปรตีน แร่ธาตุ น้ำมันหอมระเหยและสารอัลคาลอยด์ได้แก่ โซลานีน (solanine) และโซลานิดีน (solanidine) (3)

Capsaicin เป็นอัลคาลอยด์ชนิดหนึ่ง สูตรโมเลกุลคือ $C_{18}H_{27}NO_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 305.46 มีจุดหลอมเหลว 65 องศาเซลเซียส (1) ประโยชน์ของ capsaicin ในพริกมีมากมาย พบว่า capsaicin มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา บรรเทาปวด, ลดการอักเสบ มีรายงานการวิจัยว่ามีการใช้ capsaicin ในการรักษาอาการปวดต่าง ๆ เช่น อาการปวดหรือคันที่ผิวจากการผ่าตัด, บาดเจ็บ, ความผิดปกติของระบบประสาทจากเนื้องอก, การอักเสบของทางเดินหายใจหรือทางเดินปัสสาวะ (4), ข้อเสื่อม (osteoarthritis) (5), ข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) (6), ปลายประสาทอักเสบจากเบาหวาน (diabetic neuropathy) (7-9), อาการปวดจากการผ่าตัดเต้านม (10), ใช้ในรูปแบบสเปรย์พ่นทางจมูกในการรักษาผู้ป่วยที่มีอาการปวดศีรษะ (11,12) และบรรเทาอาการคัดจมูกน้ำมูกไหลเรื้อรัง (13)

จากการวิจัยถึงผลของ capsaicin ในสารสกัดพริกต่อการทำงานของทางเดินอาหาร พบว่า มีทั้งการวิจัยที่ทำในสัตว์ทดลองและมนุษย์ โดยรายงายการวิจัยที่ทำในสัตว์ทดลอง เช่น จากการวิจัยของ Syunji Horie โดยทำการทดลองในกระเพาะอาหารของหนูถีบจักรที่แยกจากตัว พบว่า capsaicin มีฤทธิ์ยับยั้งการกระตุ้นการหลั่งกรด โดยทำงานผ่าน peripheral TRPV1 (transient receptor potential vanilloid-1) หรือ capsaicin receptor (14), รายงานจากการ

ทดลองในกระเพาะของ pylorus-ligated rats พบว่า capsaicin และ สาร analogue คือ resiniferatoxin มีฤทธิ์ลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (15-17), จากการวิจัยของ Limlomwongse L, Chaitauchawong C, Tongyai S. ซึ่งทำการทดลองโดยการให้ capsaicin ช่วงขนาด 50-2000 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เข้าสู่กระเพาะอาหารโดยตรง ในหนูขาวที่ถูกทำให้สลบแล้วเก็บ gastric content ทุก ๆ 15 นาที พบว่า capsaicin (เพิ่มขนาดได้ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของหนูขาว) มีผลเพิ่มการหลั่งกรดของกระเพาะ (18), จากการวิจัยของ JY Kang, CH Teng และ FC Chen โดยทำการศึกษาผลการรักษาแผลในกระเพาะในหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะโดยกรดอะซิติก พบว่า การให้ capsaicin โดยการให้เข้าไปในกระเพาะโดยตรง ไม่มีผลต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูขาว (19), จากการวิจัยของ María Salvatella และคณะ ถึงผลของ NSAIDs ต่อการหลั่งกรดของ isolated gastric gland จากกระต่าย พบว่า indomethacin ขนาด 3-300 μM ไม่มีผลต่อการหลั่งกรดของ basal secretion แต่ indomethacin ขนาด 3-100 μM มีผลเพิ่มการหลั่งกรดเล็กน้อยแต่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อกระตุ้น gastric gland ด้วย histamine (ประมาณร้อยละ 10-20 เมื่อเปรียบเทียบกับการกระตุ้นด้วย histamine 100 μM เพียงอย่างเดียว) โดยหากใช้ indomethacin ที่มีความเข้มข้นมากกว่านี้จะแสดงผลยับยั้งการหลั่งกรดที่กระตุ้นโดย histamine 100 μM (20) ส่วนรายงานการวิจัยที่ทำในมนุษย์ เช่น การศึกษาฤทธิ์ป้องกันกระเพาะอาหารของ capsaicin โดยการให้ capsaicin ขนาดต่าง ๆ คือ 100, 200, 400 และ 800 μg ละลายใน saline solution เข้าไปในกระเพาะของกลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพแข็งแรง โดยผลที่ได้คือ capsaicin มีผลลดกรด (basal acid secretion) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (21), จากการวิจัยถึงผลของ capsaicin ขนาดต่ำ (100-800 ไมโครกรัม) ที่ให้โดยตรงทางกระเพาะอาหารต่อปริมาณ gastric basal acid ที่หลั่ง พบว่า capsaicin มีผลลดการหลั่ง gastric acid secretion โดยมีลักษณะแปรผันตามขนาด และมีค่า ID_{50} ในการลดการหลั่งกรดที่ 400 ไมโครกรัมของ capsaicin โดยออกฤทธิ์ยับยั้งผ่านการกระตุ้นเส้นประสาทรับความรู้สึก (22)

รูปที่ 1 พริก



รูปที่ 2 โครงสร้างของ capsaicin

2. การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร

การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารโดย parietal cell ถูกควบคุมโดย 3 ระบบ ได้แก่ paracrine, endocrine และระบบประสาท (23-25) ซึ่งเซลล์ paracrine ที่สำคัญ ได้แก่ enterochromaffin-like cell (ECL), gastrin หรือ G cell และ somatostatin หรือ D cell การทำงานของเซลล์ทั้ง 3 ชนิดนี้ จะเป็นปัจจัยควบคุมระดับการกระตุ้น parietal cell (24) parietal cells จะพบได้ในส่วนของ gastric gland ในกระเพาะอาหาร ทำหน้าที่หลั่งกรดเกลือ ซึ่งถูกควบคุมการกระตุ้นการหลั่งกรดอย่างต่อเนื่อง ผ่าน endocrine และระบบประสาท นอกจากนั้นยังถูกควบคุมโดย enterochromaffin-like cell ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นการหลั่งกรดโดยการหลั่ง histamine อีกด้วย (23)

การหลั่งกรดเกิดขึ้นโดยกลไก ligand-receptor binding ที่ตัวรับที่อยู่บน basolateral membrane ซึ่งทำให้เกิดการแลกเปลี่ยน H^+, Cl^- และ H_2O ผ่าน apical plasma membrane ของ parietal cell สารกระตุ้นการหลั่งกรด ได้แก่ acetylcholine, gastrin และสารที่สำคัญอย่างยิ่ง คือ histamine การกระตุ้นการหลั่งกรด เกิดจากการเพิ่มระดับของ Ca^{2+} และ cAMP ในเซลล์ผ่านทางการกระตุ้น protein kinase ซึ่งเกิดจากการแลกเปลี่ยนประจุของ H^+ ผ่าน H^+,K^+-ATPase เข้าสู่ด้าน apical plasma membrane ของ parietal call (25)

1. หน้าที่และกายวิภาคของกระเพาะอาหาร

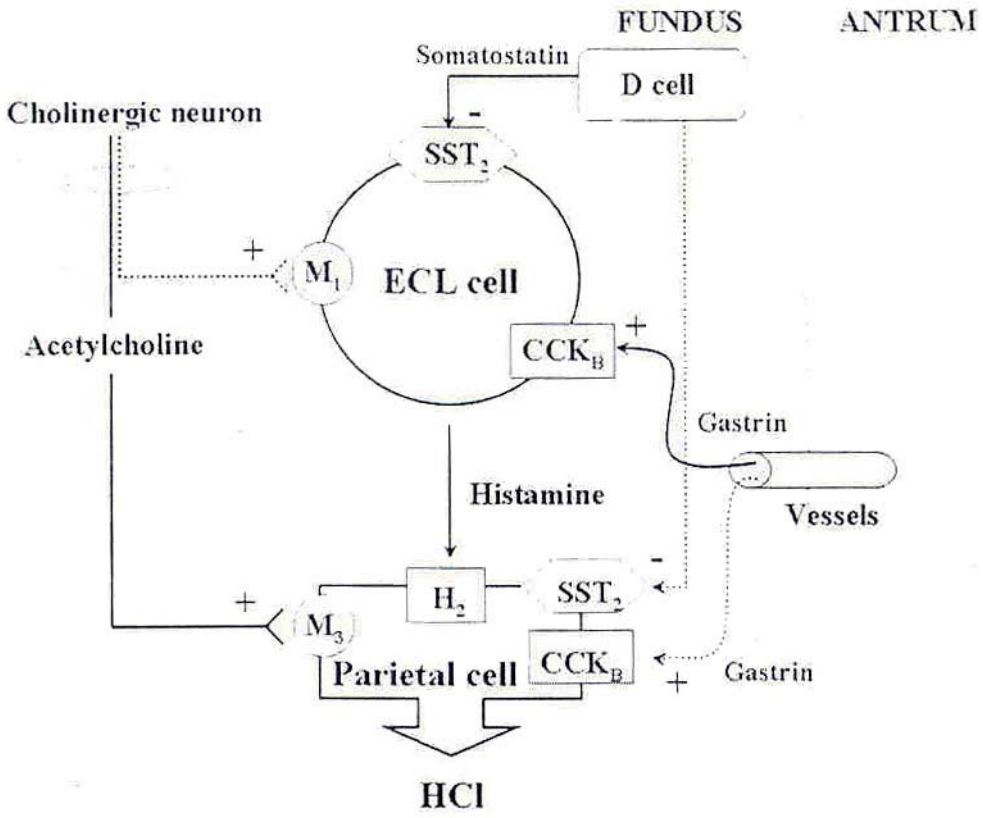
การแบ่งกระเพาะอาหารมนุษย์ตามกายวิภาค แบ่งได้เป็น 3 ส่วนได้แก่ fundus, antrum และ body โดยส่วน fundus เป็นส่วนกักเก็บอาหารที่จะย่อย, ส่วน body เป็นส่วนต้นในการเกิด peristalsis, ส่วน antropyrolic region เป็นส่วนที่เกิดการคลุกเคล้าอาหารกับน้ำย่อย โดยหากแบ่งส่วนของกระเพาะอาหารหนูตามหน้าที่ จะสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนหลัก ๆ คือส่วน exocrine หรือ glandular ซึ่งจะอยู่ที่ fundus และ body และส่วน endocrine ซึ่งจะอยู่ที่เยื่อบุ antral

ส่วนเยื่อบุของส่วน exocrine ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะเป็น columnar epithelial ที่บุด้านช่องว่างในกระเพาะ ซึ่งเซลล์นี้ ทำหน้าที่ในการหลั่งเมือกและสารด่างเพื่อปกป้องเซลล์กระเพาะจากกรดเกลือ ส่วนผิวของ mucosal ประกอบด้วย gastric pit ซึ่งกินพื้นที่ประมาณร้อยละ 50 ของพื้นที่ด้านช่องว่างในกระเพาะทั้งหมด ทำหน้าที่เก็บสารหลั่งจาก oxyntic gastric gland ใน gastric pit ส่วนหนึ่งของ gland สามารถแบ่งได้เป็น 2 บริเวณ คือ ส่วนบริเวณคอของ oxyntic gland ที่จะประกอบด้วย parietal cells และ mucous neck cells, และอีกส่วนหนึ่งประกอบด้วย goblet cells และ secreting mucous

ส่วนบริเวณด้านบนของ gastric pit เป็นส่วนที่มีการเพิ่มจำนวน, การเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์อย่างมาก ซึ่งทำให้ส่วนผิวสูงขึ้น ต่อมาจะมีการย้ายตำแหน่งของ cells บางส่วนลงมายังส่วนฐาน โดยเซลล์ด้านบนจะมีการเจริญเต็มที่และมีเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นมาแทนที่เซลล์เก่าด้วย turn over rate ที่สูง ประมาณหลายวันถึงหลายสัปดาห์ ที่ส่วนฐานของ gastric pit ประกอบด้วย chief cells, parietal cells และ mucous neck cells นอกจากนี้ oxyntic gland ยังประกอบด้วย endocrine-type cells กระจายตัวอยู่ระหว่าง chief cells และ parietal cells เพื่อทำหน้าที่ควบคุมการหลั่งกรดอีกด้วย (26)

เซลล์แต่ละเซลล์มีหน้าที่ต่างกัน parietal cells ทำหน้าที่ในการสร้างและหลั่งกรด (23, 25, 26), chief cells สร้างและหลั่ง pepsinogen ซึ่งจะถูกเปลี่ยนให้เป็นรูปที่ออกฤทธิ์ คือ pepsin โดยกรดเกลือ (26,27), mucous cells สร้างเมือกที่จำเป็นในการหล่อลื่นและป้องกันเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร และทำหน้าหลั่ง bicarbonate ที่บริเวณผิวและใน gastric pit และ enterochromaffin-like cells ที่อยู่ท่ามกลางเซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่หลั่ง bioactive amines และ peptides ที่จะทำหน้าที่ควบคุม oxyntic cells เหล่านั้นอีกที (26)

ECL cells ซึ่งเป็นต่อมไร้ท่อที่ทำหน้าที่บรรจุและหลั่ง histamine (24, 28) ซึ่งพบที่ epithelial gland (23, 26, 27) ซึ่ง ECL cells มีเอนไซม์ histidine decarboxylase (HDC) ที่ใช้ในการสร้าง histamine (23, 24, 27) ขึ้นมาเมื่อจำเป็น (27, 29) อัตราในการสร้างและหลั่ง HCl จาก parietal cells แปรผันโดยตรงต่อปริมาณ histamine ที่หลั่งจาก ECL cells (23, 27)



รูปที่ 3 การควบคุมการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร : แสดงความสัมพันธ์ของ acetylcholine, histamine, somatostatin และ gastrin ต่อกระบวนการในการควบคุมการหลั่งกรด โดยจากรูปมีตัวรับของ acetylcholine (M), histamine (H), somatostatin (SST) และ gastrin (CCK) ซึ่ง + หมายถึงการกระตุ้น และ – หมายถึงการยับยั้ง (ดัดแปลงจาก Lindstrom E., 2001)

2. การควบคุมการหลั่งกรด

Acetylcholine, histamine และ gastrin เป็นตัวกระตุ้นการหลั่งกรด (23-25, 30-31) โดยตัวกระตุ้นทั้งสามมีการจับกับตัวรับที่ต่างกันบน plasma membrane ของ parietal cell และมีผลกระตุ้นการหลั่งของ HCl (30) ดังรูปที่ 3, acetylcholine หลั่งจากปลายประสาท cholinergic ซึ่งอยู่ใกล้กับ parietal cells, gastrin เป็นฮอร์โมนที่ถูกสร้างโดย G cells ซึ่งอยู่ในเยื่อบุของ atrum และ duodenum ซึ่งจะมาทางกระแสเลือดเพื่อกระตุ้น parietal cell, histamine เป็นสารกระตุ้น paracrine ที่ถูกหลั่งจากเซลล์ในกระเพาะอาหารแล้วแพร่ไปยัง parietal cells (23, 30) ดังนั้นการควบคุมการหลั่ง HCl มาจากการควบคุมโดย 3 ระบบได้แก่ neurocrine, endocrine และ paracrine (24,30,32) ซึ่งควบคุมการหลั่งสารในระบบทางเดินอาหารด้วย (30)

ตัวรับของ acetylcholine, gastrin และ histamine บนเซลล์เมมเบรนของ parietal cells เป็น intracellular second messenger ซึ่งสารทั้ง 3 ตัวจะเสริมฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งกรดของกันและกัน histamine เป็นสารหลักในการกระตุ้นการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (30, 32, 33) histamine ถูกสังเคราะห์จาก histidine โดยใช้เอนไซม์ HCD พร้องทั้งถูกเก็บไว้ใน enterochromaffin-like cells (27,30,33-38) ซึ่งเซลล์ดังกล่าวพบใน oxyntic mucosa ของหนูขาวและหนูถีบจักร (27, 30, 33) เมื่อเกิดการกระตุ้นการหลั่งกรดโดย acetylcholine หรือ gastrin ECL cells จะหลั่ง histamine แล้วแพร่ไปยัง parietal cells เพื่อกระตุ้นการหลั่งกรด (30) gastrin กระตุ้นการสร้างและหลั่ง histamine ของ ECL cells ผ่านตัวรับ CCK_B โดย histamine ที่หลั่งจะกระตุ้นการหลั่งกรดของ parietal cells ผ่านตัวรับ H_2 (24, 27, 33, 38-44) นอกจากนี้การกระตุ้น ECL cells โดย acetylcholine นอกจากจะกระตุ้นการหลั่ง histamine ยังมีผลเปลี่ยนแปลงระดับของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ด้วย อย่างไรก็ดี ถึงแม้ว่า ECL cells ทุกเซลล์จะตอบสนองต่อ gastrin แต่มีเพียงร้อยละ 10-30 เท่านั้นที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นโดย acetylcholine (24)

Parietal cell มีตัวรับการกระตุ้นบน basolateral membrane อย่างน้อย 3 ชนิด คือ histamine H_2, acetylcholine M_3, gastrin CCK_B โดยการกระตุ้นการหลั่งกรดของ gastrin และ acetylcholine จะอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ของ endogenous histamine ซึ่ง histamine จะจับกับตัวรับ H_2 ซึ่งจับคู่อยู่กับโปรตีน Gs แล้วเกิดการกระตุ้น adenylate cyclase (ACase) ให้สร้าง adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP) ซึ่งจะไปกระตุ้น cAMP-dependent protein kinase (PKA) ในขณะที่ตัวรับ M_3 และ CCK_B จะจับคู่อยู่กับโปรตีน nonGs/Gi (ซึ่งน่าจะเป็นโปรตีน Gq) แล้วเกิดการกระตุ้น phospholipase C (PLC) สร้าง Inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3) ทำให้เกิดการปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บในเซลล์ และ diacylglycerol กระตุ้น protein kinase C (PKC) ขั้นตอนสุดท้ายในการสร้างกรด HCl คือ การทำงานของ H^+,K^+-ATPase ซึ่งเป็น

enzyme ที่ประกอบด้วย catalytic •-subunit ที่มีขนาดโมเลกุลประมาณ 100 kDa และ highly glycosylated •-subunit เอนไซม์นี้ใช้พลังงานจาก ATP ในการทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนอิออนของ H^+ กับ K^+ การทำงานของเอนไซม์นี้จะถูกควบคุมโดย 2 กลไกควบคู่กันในระยะพักของ parietal cell คือ เอนไซม์ดังกล่าวจะอยู่ใน cytoplasmic vesicles ที่เรียกว่า tubulovesicles ซึ่งเยื่อหุ้มมีความสามารถในการซึมผ่านอย่างจำกัดของ KCl เป็นตัวจำกัดการทำงานของเอนไซม์ แม้ว่าขณะนั้นจะมี ATP อยู่มากก็ตาม การหลั่งกรดนั้นจะเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงการทำงาน 2 อย่าง คือ ประการแรก tubulovesicles จะรวมกับ apical secretory membrane ซึ่งจะทำให้ pump แผ่บนผิวของ microvillar และประการที่ 2 apical membrane จะมีการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการซึมผ่านอย่างจำกัดของ KCl อีกนัยหนึ่งคือ โมเลกุลของ pump ไม่ได้ถูกกระตุ้นในขณะที่มีการกระตุ้นการหลั่งกรด ต้องมีการนำสัญญาณภายในเพื่อกระตุ้นการทำงานของตัวพา K^+ และ Cl^- ให้ทำงานก่อน (45)

Acetylcholine จะจับและกระตุ้นตัวรับ M_3 บน parietal cells ส่งผลให้เกิดการหลั่งกรด (46) โดยกลไก คือ acetylcholine จะจับกับตัวรับ muscarinic M_3 แล้วเปิดช่อง Ca^{2+} ใน apical membrane อีกทั้ง acetylcholine ยังเพิ่ม Ca^{2+} ภายในเซลล์ โดยการเพิ่มการปลดปล่อย Ca^{2+} จากที่เก็บภายในเซลล์ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ Ca^{2+} ในเซลล์จะเพิ่มการหลั่งกรดโดยกระตุ้นช่อง K^+ ที่ด้าน basolateral โดยเพิ่มโมเลกุลของ H^+,K^+-ATPase และช่อง Cl^- ทางด้าน apical plasma membrane (30)

3. สารยับยั้งการหลั่งกรด

Somatostatin, prostagrandin E (30, 46) และ prostagrandin I (30, 47) และ epidermal growth factor (EGF) มีกลไกการยับยั้งการหลั่ง HCl ของ parietal cell (30, 33) โดยการยับยั้ง adenylyl cyclase และลดความเข้มข้นของ cAMP, somatostatin ถูกปลดปล่อยจาก D cell ที่อยู่บริเวณใกล้ ๆ ส่วนฐานของ gastric glands, ซึ่งเป็นไปได้ว่าถือเป็นส่วนที่ควบคุมการหลั่งกรดของ parietal cells โดยอาจลดการหลั่ง histamine ของ ECL cells (30)

Somatostatin เป็นเปปไตด์ที่สำคัญในการควบคุมการหลั่งกรด (24, 31, 44, 48-49) โดยจะจับกับตัวรับ somatostatin-2 subtype ซึ่งจะยับยั้งทั้งการหลั่ง histamine และ การส่งสัญญาณโดย Ca^{2+} จาก ECL cell ซึ่ง somatostatin นั้นจะพบได้ใน D cells ในส่วนของ fundus และ antrum ซึ่งถูกกระตุ้นได้ต่างกัน ใน antrum ภาวะความเป็นกรดใน antral luminal จะเป็นตัวกระตุ้นการปล่อย somatostatin และยับยั้งการปล่อย gastrin จาก G cell ส่วนใน fundus D cells จะถูกกระตุ้นโดย gastrin, CCK-A และ acetylcholine (เช่นเดียวกับสารสื่อประสาทตัวอื่น) โดย somatostain มีผลลดการทำงานของ ECL cell (24)

4. การควบคุมอัตราการหลั่งกรดในตัวสิ่งมีชีวิต

ในขณะที่กระเพาะอาหารว่าง กรด HCl ที่หลั่งออกมาจะอยู่ใน base rate นั่นคือมีค่าประมาณร้อยละ 10 ของระดับกรดที่หลั่งออกมาสูงสุด หลังจากรับประทานอาหาร กระเพาะอาหารจะมีการหลั่งกรดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยแบ่งการให้อาหารออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ระยะ cephalic (ก่อนที่อาหารจะเข้าสู่กระเพาะ), ระยะ gastric (เมื่ออาหารอยู่ในกระเพาะอาหาร) และระยะ intestinal (เมื่ออาหารเข้าสู่ลำไส้ส่วน duodenum และ jejunum ส่วนต้น)

ระยะ cephalic การหลั่งกรดจะถูกกระตุ้นได้โดยการมองเห็น, กลิ่น และรสชาติของอาหาร ซึ่งจะทำงานผ่านเส้นประสาท vagus ในระบบ cholinergic เมื่อเส้นประสาทนี้ถูกกระตุ้นจะเกิดการหลั่ง acetylcholine ไปกระตุ้น การหลั่งกรดทั้งทางตรง คือ กระตุ้น parietal cell และทางอ้อม คือ กระตุ้นการหลั่ง gastrin จาก G cell ใน antrum และ duodenum และกระตุ้นการหลั่ง histamine จาก ECL cell ใน gastric mucosa

pH ในกระเพาะส่วน antrum ที่ต่ำลง จะยับยั้งการหลั่งกรดโดยการยับยั้ง parietal cell และ reflex ของเส้นประสาท ในระยะ cephalic นั้น pH ในกระเพาะอาหารจะลดลงอย่างรวดเร็วมาก เมื่อเทียบกับ pH ในกระเพาะขณะท้องว่าง โดยอัตราการหลั่งกรดในระยะ cephalic นี้อาจมีค่าถึง 40 % ของอัตราการหลั่งกรดสูงสุด แต่ด้วยกลไกการยับยั้งการหลั่งกรดในขณะที่ใน antrum มีค่า pH ต่ำ จึงทำให้มีการหลั่งกรดออกมาน้อย

นอกจากนี้พบว่า สมองยังมีผลต่อการหลั่งกรดของกระเพาอาหารอีกด้วย เช่น ในขณะที่ระดับน้ำตาลในเลือดที่ผ่านไปยังสมองต่ำ (ซึ่งอาจเกิดได้จากการใช้อินซูลิน) จะกระตุ้นการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร หรือสาร neuropeptides ในสมอง ที่นำมาฉีดเข้าน้ำไขสันหลังเพื่อใช้ในการกระตุ้นหรือยับยั้งการหลั่งกรดจากกระเพาะอาการ เป็นต้น

ระยะ gastric หรือระยะที่มีอาหารอยู่ในกระเพาะอาหาร การหลั่งกรดจะถูกกระตุ้นโดยกระเพาะอาหารที่ขยายตัวขึ้น และกรดอะมิโนและเปปไตด์ที่ได้จากการทำงานของ pepsin โดยในระยะ gastric นี้จะมีระดับการหลั่งกรดจากกระเพาะอาหารสูงที่สุด (30)

การขยายตัวของทั้งส่วน body และ antrum ของกระเพาะอาหาร จะกระตุ้น mechanoreceptor ที่อยู่ที่ผนังกระเพาะอาหาร โดยตัวรับนี้เป็นตัวรับทั้งของ reflex ส่วนกลางและส่วนปลายที่อยู่ในระบบประสาท cholinergic reflex ส่วนกลางนั้นมีทั้งเส้นประสาทสำหรับรับและส่งสัญญาณประสาทเข้าสู่เส้นประสาท vagus จึงเรียก reflex นี้ว่า vagovagal reflexes การกระตุ้นของทั้ง reflex ส่วนกลางและส่วนปลายจะทำให้เกิดการหลั่ง acetylcholine ไปสู่

parietal cell เพื่อกระตุ้นการหลั่งกรด และไปสู่ G cells เพื่อกระตุ้นการหลั่ง gastrin (23,30,50) และเพื่อให้มีการกระตุ้นการเคลื่อนไหวและการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร(51)

กรดอะมิโนและเปปไตด์ในกระเพาะอาหารส่วน antrum กระตุ้นการหลั่งกรดโดยการกระตุ้น G cells ให้หลั่ง gastrin และยังมีสารอื่น ๆ ที่สามารถกระตุ้นการหลั่งกรดได้ เช่น Ca^{2+}, คาเฟอีน และแอลกอฮอล์ นอกจากนี้การขยายตัวของกระเพาะอาหารยังสามารถเพิ่มผลของการกระตุ้นการหลั่งกรดโดยตัวกระตุ้นทางเคมีอีกด้วย

การหลั่งกรดถูกควบคุมด้วยกลไกหลายอย่าง เช่น เมื่อนำ mucosal surface มาแช่ในสารละลายที่ pH 2 หรือน้อยกว่า การหลั่งกรดจะถูกยับยั้งได้ เมื่อ buffering capacity ของอาหารในกระเพาะถึงจุดอิ่มตัว pH ในกระเพาะอาหารจะลดลงอย่างรวดเร็วและมีผลยับยั้งการหลั่งกรดที่หลั่งต่อมา ดังนั้น ความเป็นกรดของอาหารจะเป็นตัวควบคุมการหลั่งกรดของกระเพาะ กลไกของการควบคุมด้วยตัวเองนี้จะเกิดที่ส่วน antrum หาก pH ที่ส่วนของ antrum ต่ำ จะลดการหลั่งกรดจาก parietal cell ด้วยการกระตุ้น local inhibitory reflex โดยยับยั้งการหลั่งกรดจาก parietal cell โดยตรง และยับยั้งการปลดปล่อย gastrin จาก G cell

5. กลไกการทำงานทางเคมีของการสร้างกรดไฮโดรคลอริก

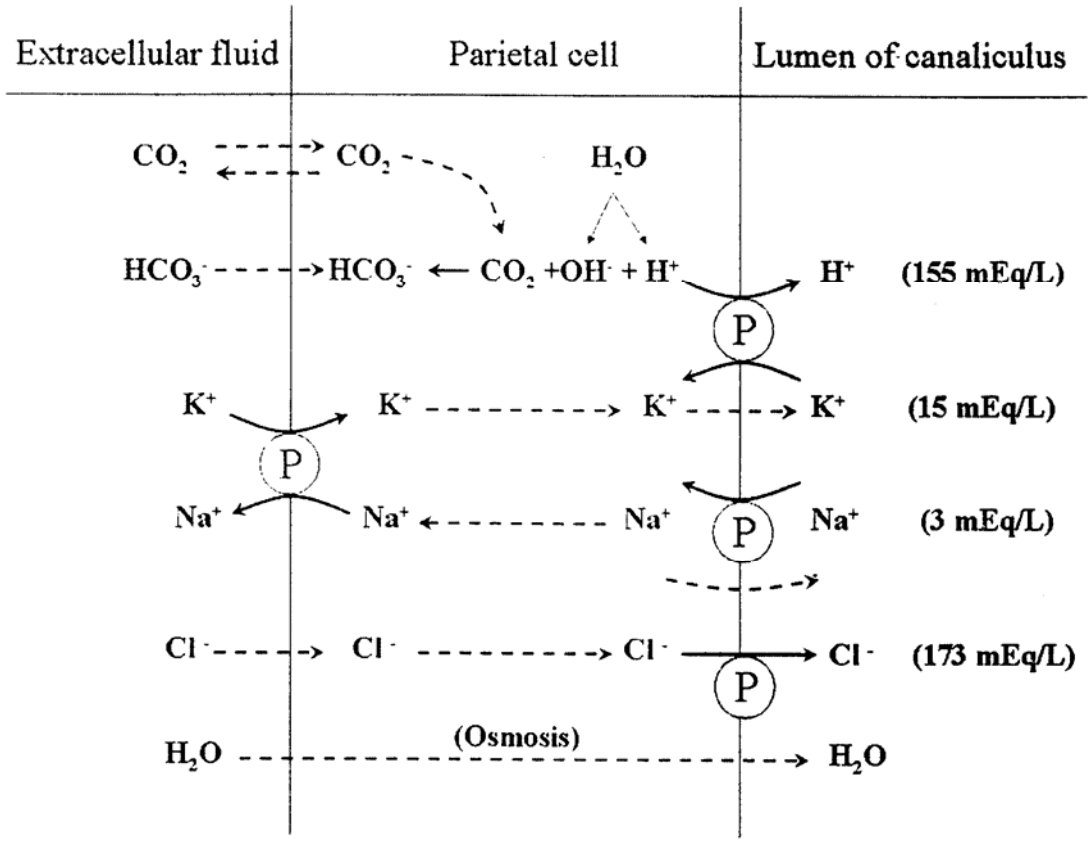
กลไกการทำงานทางเคมีของการสร้างกรดที่ได้มีการนำเสนอมีมากมาย ในที่นี้จะแสดงตามรูปที่ 4 ซึ่งประกอบด้วย 4 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 อิออน Cl^- จะถูกส่งจาก cytoplasm ของ parietal cell เข้าสู่ lumen ของ canaliculus และ อิออน Na^+ จะถูกขนส่งออกนอก lumen ทั้ง 2 กลไก จะส่งให้เกิดศักย์ -40 ถึง -70 mV ใน canaliculus ซึ่งจะเป็นภาวะที่ทำให้เกิดการแพร่ผ่านเข้ามาของอิออน K^+ และ Na^+ ปริมาณเล็กน้อยจาก cytoplasm

ขั้นตอนที่ 2 น้ำจะแตกตัวเป็น H^+ และ OH^- ใน cytoplasm ซึ่ง H^+ จะถูกหลั่งเข้าไปใน canaliculus เพื่อแลกเปลี่ยนกับ K^+ โดยการแลกเปลี่ยนนนี้เกิดโดยการกระตุ้นของ H^+,K^+-ATPase นอกจากนี้ Na^+ จะถูกดูดกลับโดย sodium pump ดังนั้น Na^+ และ K^+ ที่แพร่เข้าไปยัง canaliculus เกือบทั้งหมดจะถูกดูดกลับมายัง cytoplasm ส่วน H^+ ที่อยู่ใน canaliculus จะทำให้เกิดสารละลายของกรดแก่ไฮโดรคลอริกใน canaliculus ซึ่งจะถูกหลั่งออกยังด้านเปิดของ canaliculus สู่ lumen ของ gland

ขั้นตอนที่ 3 น้ำจะถูกนำเข้าสู่ canaliculus โดย osmosis จากการที่มีอิออนถูกหลั่งเข้าสู่ canaliculus ดังนั้น ท้ายที่สุด กรดไฮโดรคลอริกที่หลั่งจาก canaliculus จะประกอบด้วย HCl ความเข้มข้น 150-160 mEq/L, KCl ความเข้มข้น 15 mEq/L และ NaCl เล็กน้อย

ขั้นตอนที่ 4 คาร์บอนไดออกไซด์ ที่สร้างขึ้นระหว่างการเมตาบอลิสมในเซลล์ หรือเข้าเซลล์จากเลือด จะรวมกับ OH^- โดย carbonic anhydrase ได้เป็น ไบคาร์บอนเนตอิออน (รวมกันด้วย 2 ขั้นตอนขณะที่น้ำแตกตัวเป็นอิออน) ซึ่งจะแพร่ออกจาก cytoplasm เข้าสู่ของเหลวนอกเซลล์เพื่อแลกเปลี่ยนกับ Cl^- ซึ่งจะเข้าสู่เซลล์แล้วถูกหลั่งเข้า canaliculus ภายหลัง (23)



รูปที่ 4 กลไกการหลั่งกรดไฮโดรคลอริก : จากรูป P แสดงถึง active pump และเส้นประ แสดงถึงการแพร่อย่างอิสระ และการออสโมซิส (Guyton AC., 2000)

วัสดุและวิธีการวิจัย

1. สารสกัดพริก

ใช้สารสกัดพริกที่ผลิตโดยองค์การเภสัชกรรม ซึ่งประกอบด้วย Capsacinoid 2.37%

เลขที่ผลิตภัณฑ์ 110401790101

Lot No. U480058

2. สัตว์ทดลอง

ใช้หนูถีบจักร ICR ตัวผู้ (*Mus muscurus*) น้ำหนักช่วง 25-35 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ศาลายา, มหาวิทยาลัยมหิดล เลี้ยงในกรง กรงละ 10 ตัวที่ห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ใช้อาหารของสัตว์ทดลอง (C.P. mice feed; SWT. Co., Ltd.) โดยไม่มีการจำกัดการกินอาหารและน้ำของสัตว์ทดลอง โดยการทดลองนี้ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการกำกับและดูแลการใช้สัตว์ (Institutional Animal Care and Use Committee) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 18 มกราคม พ.ศ. 2549

สัตว์ทดลองจะถูกเลี้ยงไว้ 1 สัปดาห์ก่อนทำการทดลอง สลบสัตว์ทดลอง โดยฉีด urethane ขนาด 180 มก./กก. เข้าช่องท้อง จากนั้นเปิดหน้าท้องโดยผ่าตาม mid line โดยตัดถึงใต้ระดับ xiphoid cartilage แล้วหากระเพาะอาหาร จากนั้นผูกที่รอยต่อระหว่าง pyrolus กับลำไส้เล็กส่วนต้น และที่หลอดอาหาร แล้วตัดเปิดรูตรงส่วน aglandular (ส่วนที่ไม่มีการหลั่งกรด) จากนั้นล้าง content ในกระเพาะอาหารด้วย mucosal solution 20-30 มล. สอดท่อ 2 ชั้น (ภายในเป็นท่อ silicone เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มม. ท่อภายนอกเป็น polyethylene เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม.) เข้าไปในรูที่เปิดไว้ แล้วผูกท่อเก็บกรดให้แน่น จากนั้นตัดตรงใต้ส่วนที่ผูกหลอดอาหาร และส่วนที่ผูกที่ลำไส้เล็ก เพื่อแยกกระเพาะอาหารออกจากตัวสัตว์ทดลอง แล้วนำกระเพาะอาหารใส่ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มี serosal solution 30 มล. อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส ให้อากาศที่มีส่วนประกอบของ ออกซิเจน 95% และ คาร์บอนไดออกไซด์ 5% แล้วหล่อเลี้ยงช่องภายในกระเพาะอาหารด้วย mucosal solution ที่ควบคุมอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส ผ่านท่อเล็กชั้นในโดยควบคุมอัตราการหล่อเลี้ยงที่ 1.0 มล./นาที และเก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะซึ่งจะไหลมาตามท่อชั้นนอกลงในหลอดทดลอง ซึ่งปลายท่อทางออกอยู่สูงกว่ากระเพาะอาหาร 20 ซม.ทำการเก็บตัวอย่างกรดทุก 10 นาที นาน 2 ชม.หลังจากให้ตัวกระตุ้นการหลั่งกรด

3. สารเคมี

Calcium chloride dihydrate (Merck)

Glucose (Merck)

Histamine dihydrochloride (Sigma)

Hydrochloric acid (Merck)

Magnesium sulphate heptahydrate (Merck)

Potassium chloride (Fluka)

Potassium dihydrogenphosphate (Merck)

Sodium chloride (Univar)

Sodium hydrogencarbonate (Unilab)

Sodium hydroxide (Carlo erba)

Urethane (Merck)

Indomethacin (China National)

Bethanechol chloride (ICN Biomedical)

Buffer solution ready for use pH 4.00 ± 0.02 (Merck)

Buffer solution (phosphate) pH 7.00 ± 0.02 (Merck)

3.1 เตรียม Physiological solution

3.1.1 Mucosal solution

ส่วนประกอบของ mucosal solution ได้แก่ 143 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 1.18 mM $MgSO_4$, 1.3 mM $CaCl_2$, และ 30 mM Glucose แล้วปรับ pH ด้วย 0.1 N HCl ให้ได้ pH 5.0

3.1.2 Serosal solution

ส่วนประกอบของ serosal solution ได้แก่ 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.18 mM $MgSO_4$, 1.3 mM $CaCl_2$, 1.15 mM KH_2PO_4, 25 mM $NaHCO_3$ และ 30 mM Glucose

4. เครื่องมือที่ใช้

Beaker ขนาด 250, 500 มล.

สำลี

หลอดฉีดยา ขนาด 1, 50 มล.

ท่อ 2 ชั้น (ภายในเป็นท่อ silicone เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มม.
ท่อภายนอกเป็น polyethylene เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม.)

เครื่องเก็บตัวอย่าง DC-1200 (Eyela)

อากาศที่มีส่วนประกอบของ ออกซิเจน 95% และ คาร์บอนไดออกไซด์ 5%

Magnetic stirrer

Micropipette

อ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ

pH electrode (Orion)

เครื่องวัด pH (Model Orion 420 A+)

เครื่อง Automatic titrater (Tim 850 Titration manager)

ท่อพลาสติก

ปั๊ม (Masterflex)

ปรอทวัดอุณหภูมิ

อ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ

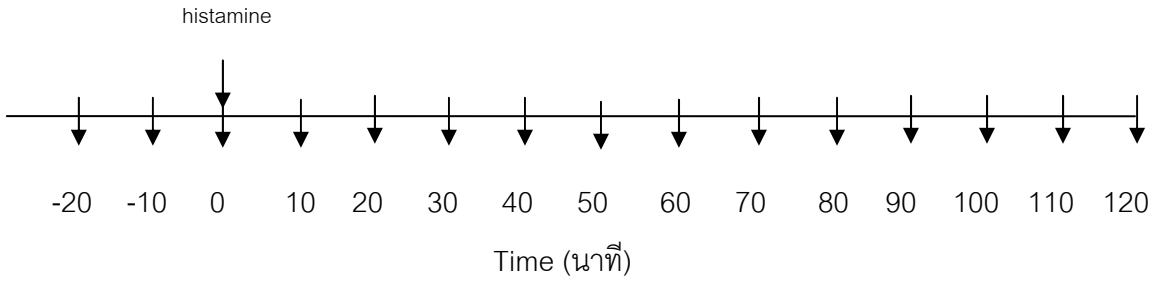
สายยาง

5. การทดลอง

5.1 ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

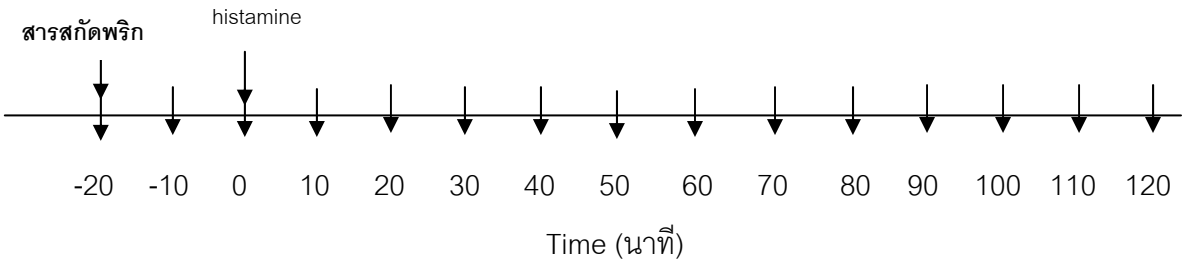
5.1.1 กลุ่มควบคุม

เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที 3 ตัวอย่าง (นาทีที่ -20, -10 และ 0) โดยให้หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วเติม histamine ให้ได้ความเข้มข้น 5.0 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที



5.1.2 กลุ่มทดลอง

เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที หลอดแรก (นาทีที่ -20) เป็น basal secretion แล้วใส่สารสกัดพริกความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 2, 8 หรือ 16 μg/ml ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ เก็บตัวอย่างที่เวลา -10 และ 0 นาที (ให้เวลา incubate 20 นาที) แล้วเติม histamine ให้ได้ความเข้มข้น 5.0 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที

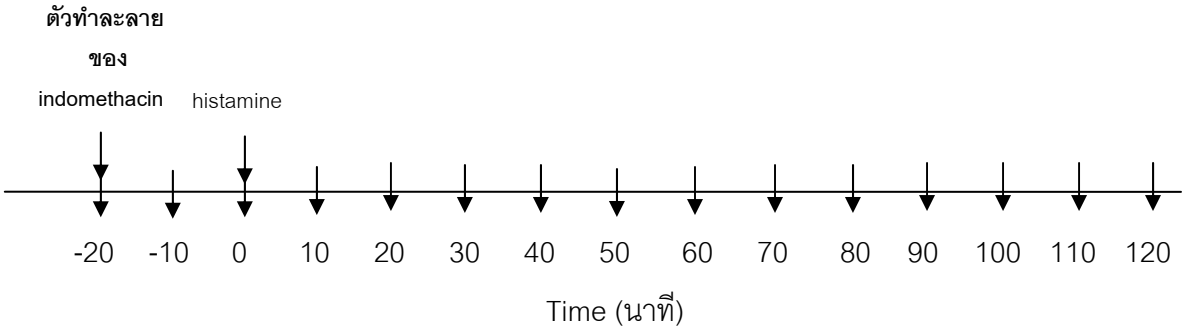


5.2 ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ indomethacin

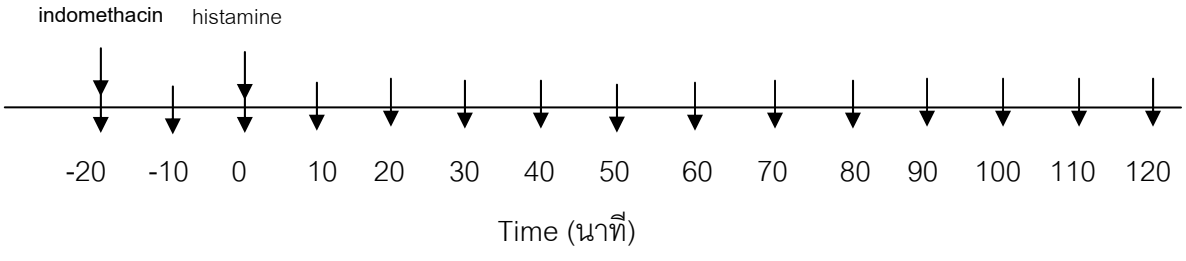
5.2.1 กลุ่มควบคุม

5.2.1.1 ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ซึ่งประกอบด้วย 50%v/v PEG 400 ปริมาตร 30 μL ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ เก็บตัวอย่างที่เวลา -10 และ 0 นาที (ให้เวลา incubate 20 นาที) แล้วเติม histamine ให้ได้ความเข้มข้น 5.0 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที

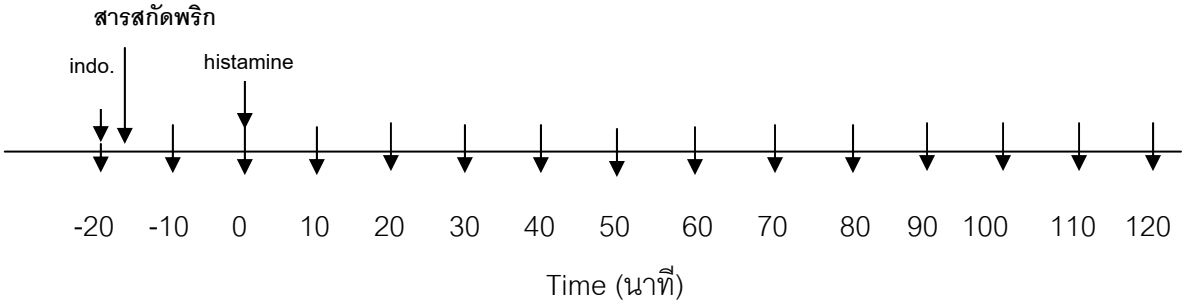


5.2.1.2 เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วใส่ indomethacin (100, 1, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM) ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ เก็บตัวอย่างที่เวลา -10 และ 0 นาที (ให้เวลา incubate 20 นาที) แล้วเติม histamine ให้ได้ความเข้มข้น 5.0 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที



5.2.2 กลุ่มทดลอง

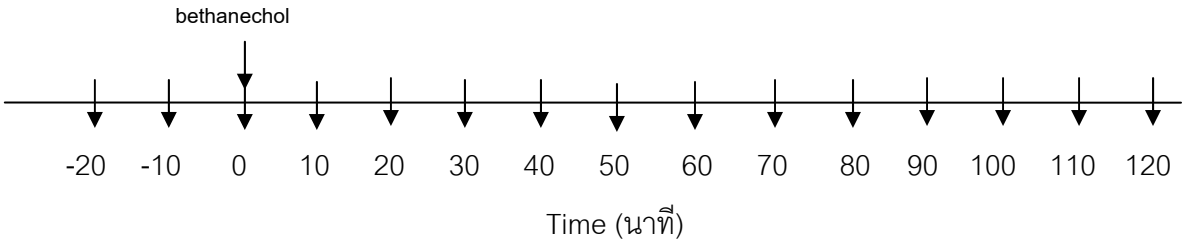
เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วใส่ indomethacin (0.1 μM) ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทิ้งไว้ 2 นาที แล้วจึงใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) ตามลงไป เก็บตัวอย่างที่เวลา -10 และ 0 นาที (ให้เวลา incubate 18 นาที) แล้วเติม histamine ให้ได้ความเข้มข้น 5.0 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที



5.3 ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM)

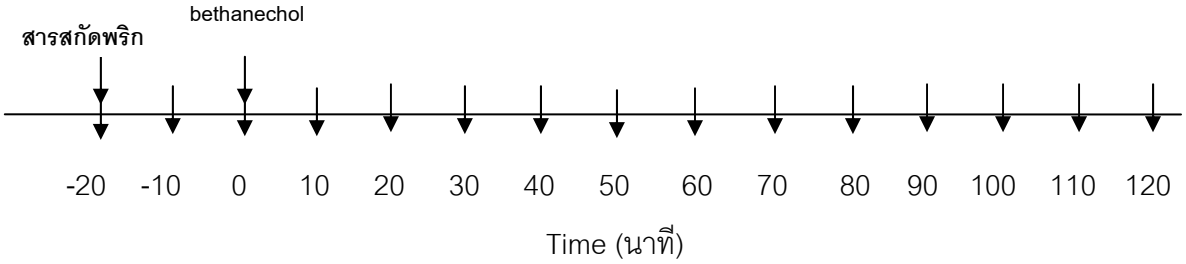
5.3.1 กลุ่มควบคุม

เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที 3 ตัวอย่าง (นาทีที่ -20, -10 และ 0) โดยให้หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วเติม bethanechol ให้ได้ความเข้มข้น 100 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างต่อไปอีกจนครบ 120 นาที



5.3.2 กลุ่มทดลอง

เก็บกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหารทุก 10 นาที หลอดแรกเป็น basal secretion แล้วใส่สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 μg/ml ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ เก็บตัวอย่างที่เวลา -10 และ 0 นาที (ให้เวลา incubate 20 นาที) จากนั้น จึงใส่ bethanechol ให้ได้ความเข้มข้น 100 μM ในอ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วเก็บตัวอย่างต่อจนครบ 120 นาที



6. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่หลั่งจากกระเพาะอาหาร

นำตัวอย่างกรดที่ได้มา titrate ด้วย 2 mM NaOH ให้ได้ end point ที่ pH 5.0 ด้วยเครื่อง automatic titrater คำนวณปริมาณกรดที่หลั่งออกมาเป็น nEq HCl/10 นาที เมื่อนำปริมาณกรดที่ได้ มาลบด้วย basal secretion จะได้เป็นปริมาณกรดที่หลั่งเพิ่มขึ้น นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟดังนี้

6.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดที่หลั่งออกมา (nEq HCl/10 นาที) กับเวลา (นาที)

6.2 กราฟแท่งแสดงพื้นที่ใต้กราฟของปริมาณกรดรวมทั้งหมดที่หลั่งออกมา (nEq HCl)

7. การวิเคราะห์และแปรผลข้อมูล

ผลที่ได้แสดงในรูปของ ค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error of mean (SEM)) อัตราการหลั่งกรดคำนวณจากคำนวณปริมาณกรดที่หลั่งออกมาเป็น nEq HCl/10 นาที เมื่อนำปริมาณกรดที่ได้ มาลบด้วย basal secretion จะได้เป็นปริมาณกรดที่หลั่งเพิ่มขึ้นโดย จะใช้ Independent-sample T-test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มทดลอง และใช้ One way analysis of variance (ANOVA) ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองที่มากกว่า 2 กลุ่มขึ้นไป และใช้ Tukey's Honesty Significant Difference (HSD) test ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มทดลองเพื่อดูว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพิจารณาว่า p-value น้อยกว่า 0.05 ($p<0.05$) ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

8. สรุปผลและวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้รับ

ผลการวิจัย

ส่วนที่ 1 ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

1. การศึกษาผลของการตอบสนองของสารสกัดพริกขนาดต่าง ๆ ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

ผลของการกระตุ้นการหลั่งกรดด้วย histamine (5 μM) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว ที่มีความดันภายในกระเพาะ 20 เซนติเมตรน้ำ โดยกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่เก็บหลอดแรกเป็น basal secretion (ที่เวลา – 20 นาที) การใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ทำให้อัตราการหลั่งกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงมากที่สุดที่ 30 นาที แล้วค่อย ๆ ลดลงจนครบ 120 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 1) ในกลุ่มทดลองนั้น ใส่สารสกัดพริก (2 μg/ml, 8 μg/ml หรือ 16 μg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที โดยให้เวลา incubate 20 นาทีแล้วจึงใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ผลที่ได้คือ สารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) แสดงผลในตารางที่ 2, 3 และ 4 โดยสารสกัดพริก (2 μg/ml) มีอัตราการหลั่งกรดที่เวลา 30 นาทีเท่านั้นที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มสารสกัดพริก (8 μg/ml) มีอัตราการหลั่งกรดที่เวลา 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100 และ 110 นาทีที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มสารสกัดพริก (16 μg/ml) มีอัตราการหลั่งกรดที่เวลา 10, 50, 70, 100 และ 110 นาทีที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลในตารางที่ 5 และรูปที่ 5 ผลของสารสกัดพริกต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) แสดงผลในตารางที่ 6 และรูปที่ 6 พบว่า ปริมาณกรดรวมที่หลั่งเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) ในกลุ่มสารสกัดพริก (2 μg/ml) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนสารสกัดพริก (8 μg/ml และ 16 μg/ml) มีปริมาณกรดรวมที่หลั่งเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดพริก (8 μg/ml) มีผลลดปริมาณกรดรวมได้ร้อยละ 59.45 และสารสกัดพริก (16 μg/ml) มีผลลดปริมาณกรดรวมได้ร้อยละ 45.15

ตารางที่ 1 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5.0 μM) (n=6)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)					
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว					
	1	2	3	4	5	6
-20	680	200	390	310	730	570
-10	490	490	380	320	460	720
0	710	470	370	320	590	690
10	1030	600	790	580	550	760
20	1190	830	780	1000	860	1050
30	1160	940	990	890	1340	1210
40	1450	750	670	950	1350	1300
50	1280	830	700	920	1480	1260
60	1230	690	560	730	1430	1190
70	1400	780	600	660	1220	1120
80	1170	580	450	660	1310	940
90	1060	520	460	330	1060	850
100	1110	580	350	320	1030	780
110	880	490	410	370	820	730
120	840	390	390	280	660	630

เก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 2 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีสารสกัดพริก (2 μg/ml) (n=6)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)					
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว					
	1	2	3	4	5	6
-20	710	500	400	290	300	540
-10	550	560	370	340	570	590
0	530	590	300	490	600	650
10	680	660	340	640	550	590
20	920	730	550	750	800	810
30	930	790	770	820	700	750
40	1040	730	840	780	630	850
50	980	770	880	750	670	830
60	900	740	870	690	650	770
70	880	680	860	670	530	770
80	930	720	820	650	480	720
90	870	620	720	540	440	670
100	910	590	630	490	370	640
110	860	590	580	340	330	590
120	800	690	630	310	290	520

ใส่สารสกัดพริก (2 μg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ตารางที่ 3 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีสารสกัดพริก (8 μg/ml) (n=6)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)					
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว					
	1	2	3	4	5	6
-20	460	190	490	350	630	350
-10	470	310	420	410	640	330
0	490	350	370	380	640	360
10	430	260	450	470	650	280
20	520	470	640	590	820	520
30	700	530	700	640	1030	690
40	600	600	650	570	1130	870
50	600	470	550	500	1190	820
60	630	480	510	470	1130	710
70	510	430	440	390	1000	660
80	480	300	380	390	940	550
90	590	290	360	370	870	430
100	470	270	330	340	700	470
110	480	260	330	350	600	430
120	460	250	330	340	540	390

ใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ตารางที่ 4 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมีสารสกัดพริก (16 μg/ml) ในสารละลาย serosa ที่เวลา -10 นาที (n=6)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)					
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว					
	1	2	3	4	5	6
-20	550	310	350	300	250	800
-10	430	300	490	280	320	910
0	400	250	430	260	290	750
10	490	310	520	340	430	820
20	710	520	700	420	840	1380
30	820	550	910	790	850	1400
40	730	650	880	750	790	1470
50	670	610	710	580	750	1320
60	660	570	620	720	660	1210
70	620	510	510	540	580	1080
80	410	490	330	650	470	1060
90	390	420	320	370	340	980
100	320	390	350	430	310	810
110	380	330	390	300	250	810
120	320	290	320	320	310	770

ใส่สารสกัดพริก (16 μg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดพริก ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) (n=6)

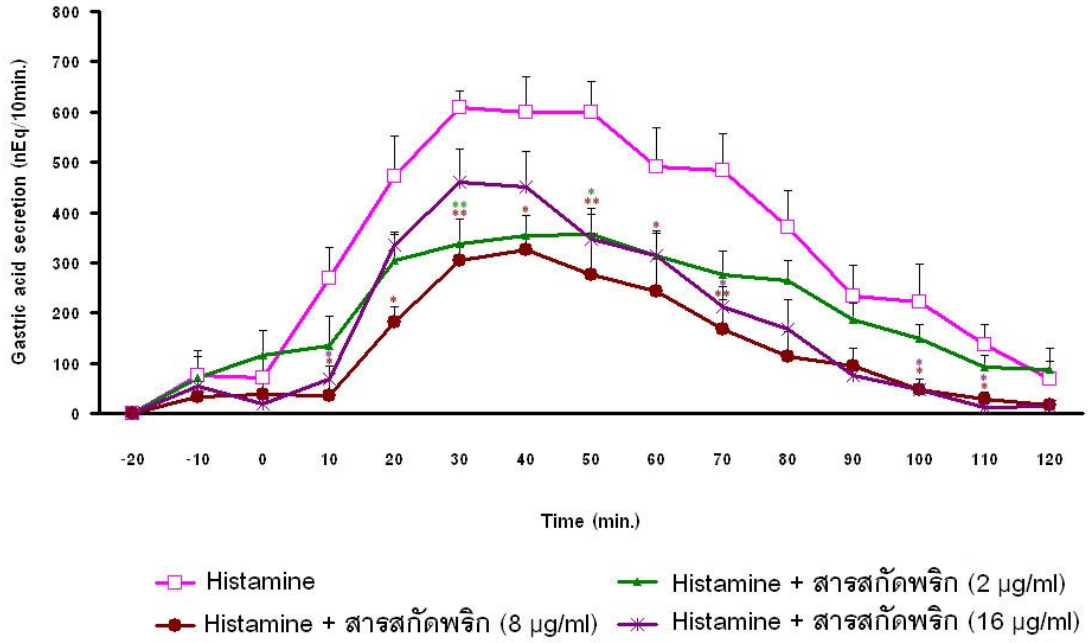
เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)			
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริก (μg/ml)		
		2	8	16
-20	0	0	0	0
-10	75 ± 49	72 ± 41	33 ± 19	53 ± 20
0	72 ± 44	117 ± 48	38 ± 25	20 ± 14
10	268 ± 63	135 ± 59	135 ± 59 *	68 ± 34 *
20	472 ± 81	303 ± 58	182 ± 31 *	335 ± 85
30	608 ± 34	337 ± 50 **	303 ± 29 **	460 ± 67
40	598 ± 71	355 ± 38	325 ± 70 *	452 ± 70
50	598 ± 62	357 ± 39	277 ± 82 **	347 ± 61 *
60	492 ± 76	313 ± 45	243 ± 71 *	313 ± 50
70	483 ± 74	275 ± 48	168 ± 58 **	213 ± 38 *
80	372 ± 72	263 ± 41	113 ± 49 *	168 ± 58
90	233 ± 61	187 ± 33	95 ± 35	75 ± 28
100	222 ± 75	148 ± 28	47 ± 21 *	47 ± 22 *
110	137 ± 41	92 ± 25	28 ± 15 *	12 ± 7 *
120	68 ± 35	88 ± 41	17 ± 11	13 ± 10

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริกขนาดต่าง ๆ หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ทุกกลุ่มให้ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

* $p<0.05$, ** $p<0.01$



รูปที่ 5 ผลของสารสกัดพริก ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) (n=6)

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริกขนาดต่าง ๆ หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ทุกกลุ่มให้ histamine (5 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

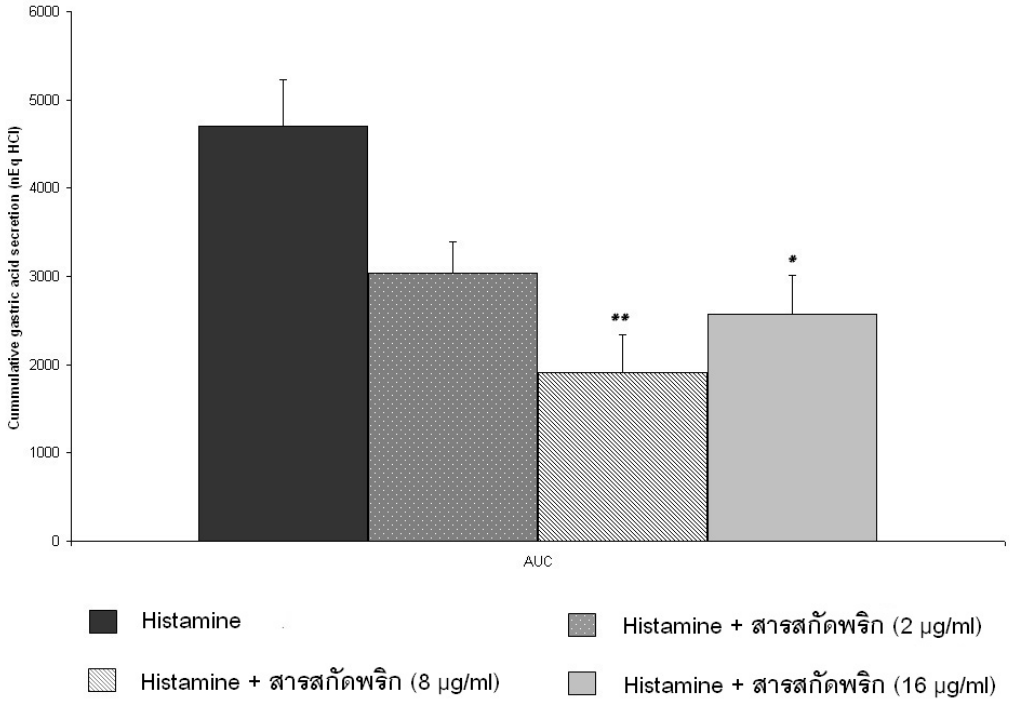
การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

* $p<0.05$, ** $p<0.01$

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดพริก ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine 5 μM (n=6)

	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl)			
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริก (μg/ml)		
		2	8	16
AUC	4,698 ± 535	3,042 ± 352	1,905 ± 430 **	2,577 ± 431*

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริกขนาดต่าง ๆ หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทุกกลุ่มให้ histamine 5 μM หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion
* $p<0.05$, ** $p<0.01$



รูปที่ 6 ผลของสารสกัดพริก ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) (n=6)

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริกขนาดต่าง ๆ หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ทุกกลุ่มให้ histamine 5 µM หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

* $p<0.05$, ** $p<0.01$

ส่วนที่ 2 ผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin

1. การศึกษาผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

เนื่องจาก indomethacin เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นจึงต้องใช้ตัวทำละลายอื่นในการละลาย indomethacin โดยเลือกใช้ 50%v/v PEG400 เป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้เพื่อเป็นการทดสอบว่า ตัวทำละลายของ indomethacin ที่ใช้ (50%v/v PEG400) มีผลต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) หรือไม่ จึงทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ใส่ตัวทำละลาย

กลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่เก็บหลอดแรกเป็น basal secretion (ที่เวลา – 20 นาที) การใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ทำให้อัตราการหลั่งกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงมากที่สุดที่ 20 นาที แล้วค่อย ๆ ลดลงจนครบ 120 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 1) ในกลุ่มทดลองนั้น ใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที โดยให้เวลา incubate 20 นาที แล้วจึงใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที (ตารางที่ 7) ผลที่ได้คือ ตัวทำละลายของ indomethacin ไม่มีผลต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) แสดงผลในตารางที่ 8 และรูปที่ 7 ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) พบว่า ปริมาณกรดรวมที่หลั่งเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) ในกลุ่มที่ใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงผลในตารางที่ 9 และรูปที่ 8

ตารางที่ 7 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL (n=4)

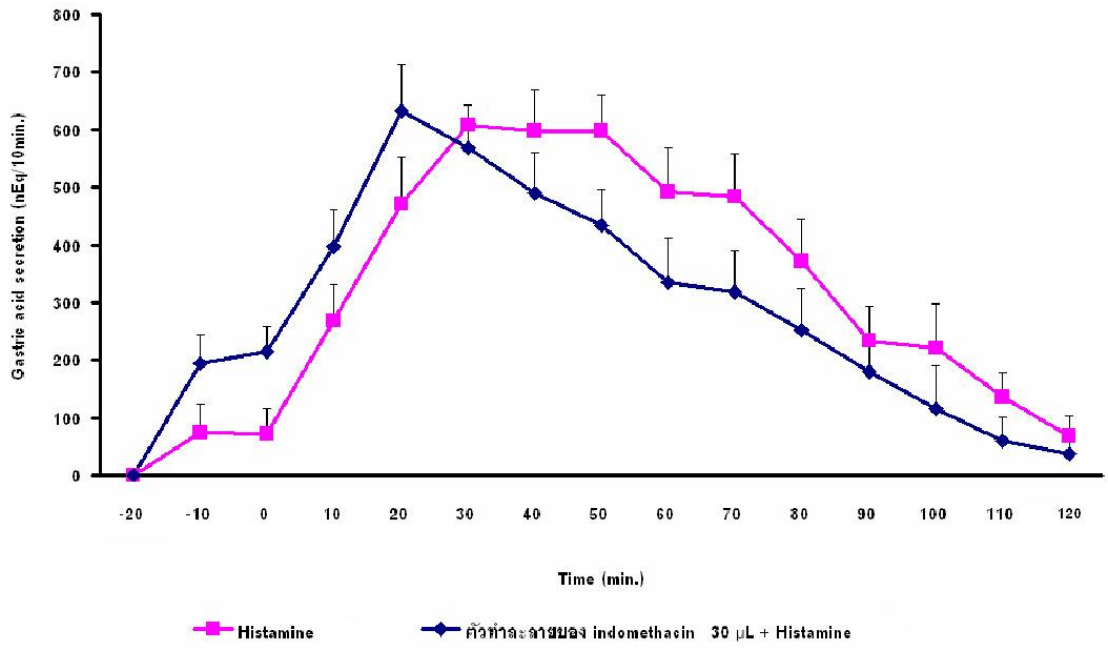
เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)			
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว			
	1	2	3	4
-20	520	390	820	670
-10	1050	480	980	640
0	860	690	1010	700
10	950	930	1030	1080
20	1110	1110	1400	1310
30	1060	1020	1290	1300
40	970	990	1150	1250
50	800	930	1210	1200
60	720	870	1030	1120
70	620	960	1010	180
80	570	930	970	940
90	620	780	890	830
100	540	780	870	640
110	480	600	790	700
120	510	540	770	670

ใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ตารางที่ 8 ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) (n=4)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)	
	กลุ่มควบคุม	ตัวทำละลายของ indomethacin 30 µL
-20	0	0
-10	75 ± 49	195 ± 116
0	72 ± 44	215 ± 69
10	268 ± 63	398 ± 69
20	472 ± 81	633 ± 32
30	608 ± 34	568 ± 39
40	598 ± 71	490 ± 63
50	598 ± 62	435 ± 62
60	492 ± 76	335 ± 75
70	483 ± 74	318 ± 106
80	372 ± 72	253 ± 106
90	233 ± 61	180 ± 72
100	222 ± 75	115 ± 92
110	137 ± 41	60 ± 51
120	68 ± 35	38 ± 38

ใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ใส่ histamine (5.0 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion



รูปที่ 7 ผลของตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) (n=4)

กลุ่มทดลองใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที ทั้งสองกลุ่มใส่ histamine (5.0 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

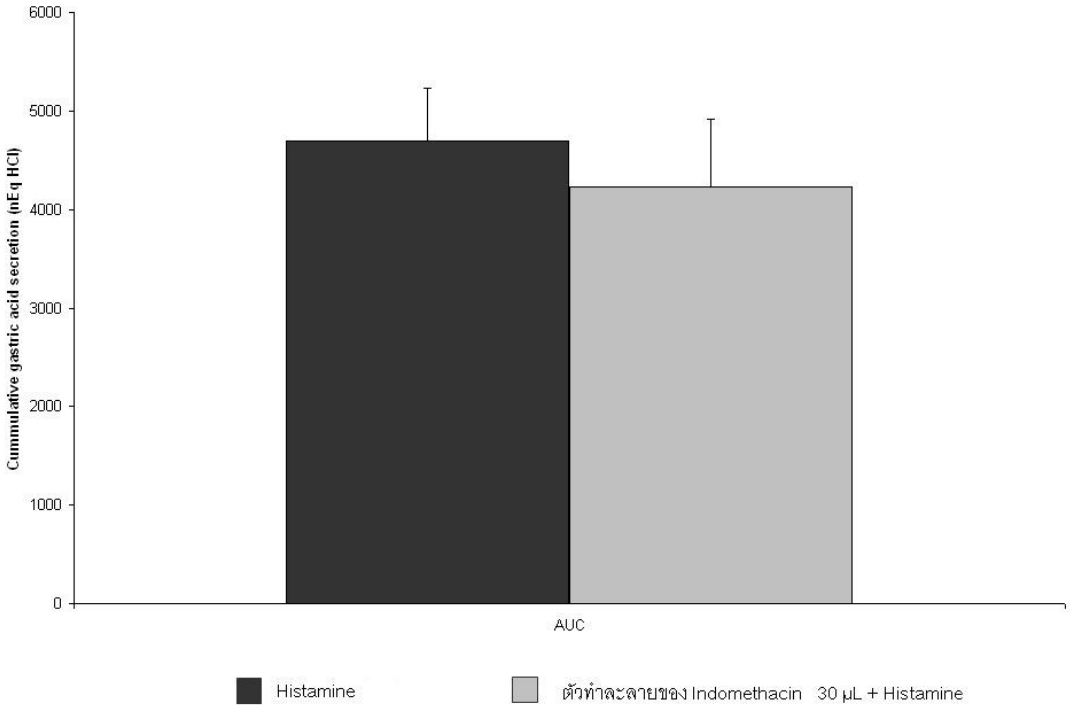
การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

ตารางที่ 9 ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL (n=4)

	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl)	
	กลุ่มตัวอย่าง	ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL
AUC	4,698 ± 535	4230 ± 681

กลุ่มทดลองใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที ทั้งสองกลุ่มใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion



รูปที่ 8 ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL (n=4)

กลุ่มทดลองใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 µL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที ทั้งสองกลุ่มใส่ histamine (5.0 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที

ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

2. **การศึกษาผลของ** indomethacin **(ขนาดที่ใช้** 100, 1, 0.5, 0.2 **และ** 0.1 μM**) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย** histamine (5 μM)

การทดลองนี้เพื่อหาขนาดที่เหมาะสมของ indomethacin ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้ง prostaglandin มาใช้ทดสอบกลไกการยับยั้งการหลั่งกรดของสารสกัดพริก เนื่องจาก prostaglandin มีผลยับยั้งการหลั่งกรด ถ้ายับยั้ง prostaglandin อาจมีผลเพิ่มการหลั่งกรดขึ้นกับสภาวะของระดับ prostaglandin ในขณะนั้น จากรายงานการศึกษาผลของ NSAIDs ต่อการหลั่งกรดของ isolated gastric gland จากกระต่าย ที่พบว่า indomethacin ขนาด 3-300 μM ไม่มีผลต่อการหลั่งกรดของ basal secretion แต่ indomethacin (3-100 μM) มีผลเพิ่มการหลั่งกรดเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อกระตุ้น gastric gland ด้วย histamine (ประมาณร้อยละ 10-20 เมื่อเปรียบเทียบกับการกระตุ้นด้วย histamine (100 μM) เพียงอย่างเดียว) โดยหากใช้ indomethacin ที่มีความเข้มข้นมากกว่านี้จะแสดงผลยับยั้งการหลั่งกรดที่กระตุ้นโดย histamine 100 μM (20) ทำให้การทดลองนี้ใช้ indomethacin ความเข้มข้น 100, 1, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM มาทำการทดลอง ดังนี้

กลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่เติมตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL ในสารละลาย serosa หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที การใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที จะทำให้อัตราการหลั่งกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงมากที่สุดที่ 20 นาที แล้วค่อย ๆ ลดลงจนครบ 120 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 7) ในกลุ่มทดลองนั้น ใส่ indomethacin (100, 1, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที โดยให้เวลา incubate 20 นาทีแล้วจึงใส่ histamine (5 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ผลที่ได้คือ indomethacin ความเข้มข้น 100, 1, 0.5 และ 0.2 μM มีผลยับยั้งการหลั่งกรด (ตารางที่ 10, 11, 12 และ 13 ตามลำดับ) ซึ่งเป็นผลตรงข้ามกับที่มีรายงานไว้ว่า indomethacin (3-100 μM) มีผลเพิ่มการหลั่งกรดเล็กน้อยแต่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อกระตุ้น gastric gland ด้วย histamine (20) จึงลดขนาดของ indomethacin เหลือ 0.1 μM (ตารางที่ 14) พบว่า indomethacin (0.1 μM) นี้ มีผลเพิ่มการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine 5 μM เพียงเล็กน้อย ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลรวมในตารางที่ 15 และรูปที่ 9 ผลของ indomethacin (0.1 μM) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) พบว่าปริมาณกรดรวมที่หลั่งเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) ในกลุ่มที่ใส่ indomethacin (0.1 μM) เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงผลในตารางที่ 16 และรูปที่ 10

ตารางที่ 10 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin ความเข้มข้น 100 μM (n=3)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)		
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว		
	1	2	3
-20	440	560	510
-10	430	520	510
0	440	540	510
10	400	580	600
20	470	800	720
30	550	860	870
40	650	780	810
50	640	760	750
60	630	680	720
70	630	620	690
80	580	610	660
90	520	530	600
100	540	520	630
110	520	500	630
120	470	500	600

ใส่ indomethacin (100 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 11 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin ความเข้มข้น 1.0 μM (n=2)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)	
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว	
	1	2
-20	110	440
-10	480	430
0	470	440
10	620	550
20	770	780
30	760	790
40	720	740
50	720	750
60	660	670
70	560	500
80	620	520
90	550	460
100	470	460
110	380	500
120	350	440

ใส่ indomethacin (1.0 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 12 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin ความเข้มข้น 0.5 μM (n=2)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)	
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว	
	1	2
-20	310	300
-10	280	400
0	340	440
10	430	660
20	730	700
30	800	670
40	760	630
50	710	570
60	620	500
70	650	430
80	600	400
90	570	410
100	460	370
110	440	350
120	480	320

ใส่ indomethacin (0.5 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 13 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin ความเข้มข้น 0.2 μM (n=3)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)		
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว		
	1	2	3
-20	700	880	930
-10	650	830	970
0	690	810	1040
10	940	860	1080
20	1000	1160	1120
30	1450	1270	1230
40	1270	1420	1200
50	1400	1260	1200
60	1040	1290	1210
70	1000	1230	1070
80	940	1200	980
90	920	1030	950
100	880	1050	900
110	800	1080	890
120	900	980	900

ใส่ indomethacin (0.2 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 14 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin ความเข้มข้น 0.1 μM (n=4)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)			
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว			
	1	2	3	4
-20	660	580	470	510
-10	710	680	480	580
0	860	670	520	690
10	920	920	540	810
20	1360	1140	900	1060
30	1440	1250	1070	1240
40	1420	1230	920	950
50	1410	1130	920	940
60	1400	1120	840	770
70	1260	1020	850	760
80	1400	1050	790	670
90	1110	1000	780	610
100	980	870	670	620
110	960	750	570	540
120	910	600	500	580

ใส่ indomethacin (0.1 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 15 ผลของ indomethacin ในขนาดต่าง ๆ (100, 1, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)					
	กลุ่มควบคุม [ก]	indomethacin				
		100 μM [ก]	1 μM [ข]	0.5 μM [ข]	0.2 μM [ก]	0.1 μM [ก]
-20	0	0	0	0	0	0
-10	195 ± 116	0 *	185	0	13 ± 13	57 ± 19
0	215 ± 69	0 **	180	85	37 ± 37 **	130 ± 36
10	398 ± 69	37 ± 27 **	310	240	50 ± 50 **	243 ± 60
20	633 ± 32	160 ± 66 *	500	410	257 ± 34	560 ± 55
30	568 ± 39	257 ± 75 *	500	430	480 ± 137	695 ± 39
40	490 ± 63	243 ± 28	455	390	460 ± 95	575 ± 78
50	435 ± 62	213 ± 13	460	335	450 ± 129	545 ± 73
60	335 ± 75	173 ± 27	390	255	343 ± 38	478 ± 105
70	318 ± 106	143 ± 42	255	235	263 ± 80	418 ± 73
80	253 ± 106	113 ± 32	295	195	203 ± 80	423 ±123
90	180 ± 72	57 ± 28	230	185	80 ± 70	320 ± 79
100	115 ± 92	73 ± 37	190	110	60 ± 60	230 ± 47
110	60 ± 51	0	165	90	0	80 ± 41
120	38 ± 38	0	120	95	0	30 ± 15

กลุ่มควบคุมใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

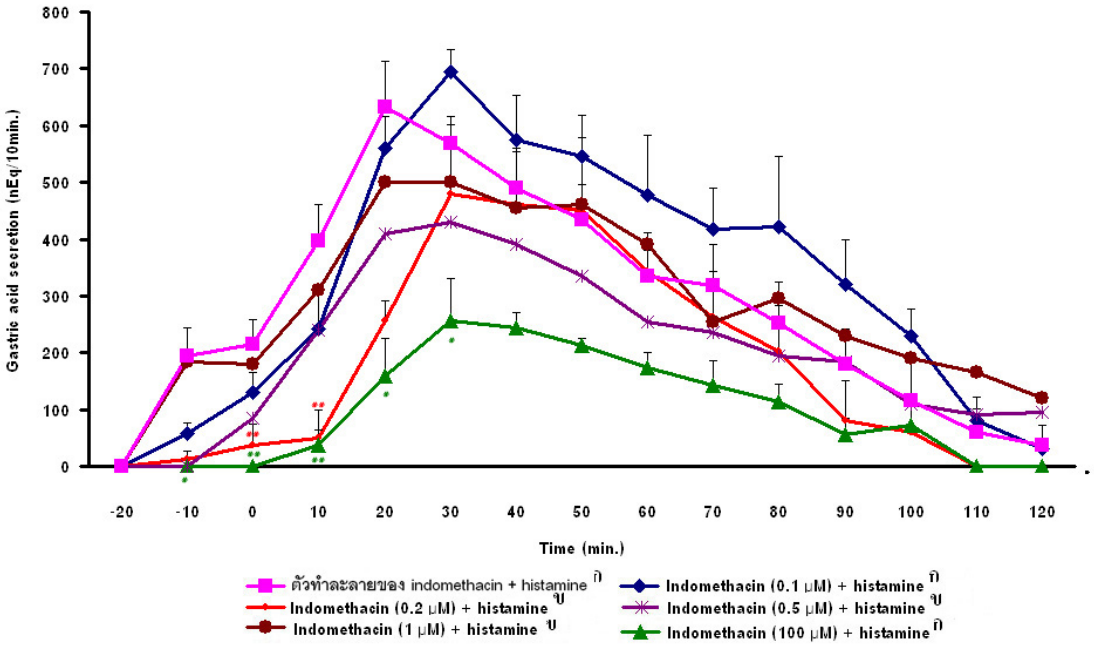
กลุ่มทดลองใส่ indomethacin หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ทุกกลุ่มใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

การหลั่งกรด [ก] แสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

การหลั่งกรด [ข] แสดงในรูป Mean หลังจากหักด้วย basal secretion

* $p<0.05$, ** $p<0.01$



รูปที่ 9 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อใส่ indomethacin ในขนาดต่าง ๆ (100, 1, 0.5, 0.2 หรือ 0.1 μM)

กลุ่มตัวอย่างใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

กลุ่มทดลองใส่ indomethacin หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ทุกกลุ่มใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

การหลั่งกรด ก แสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

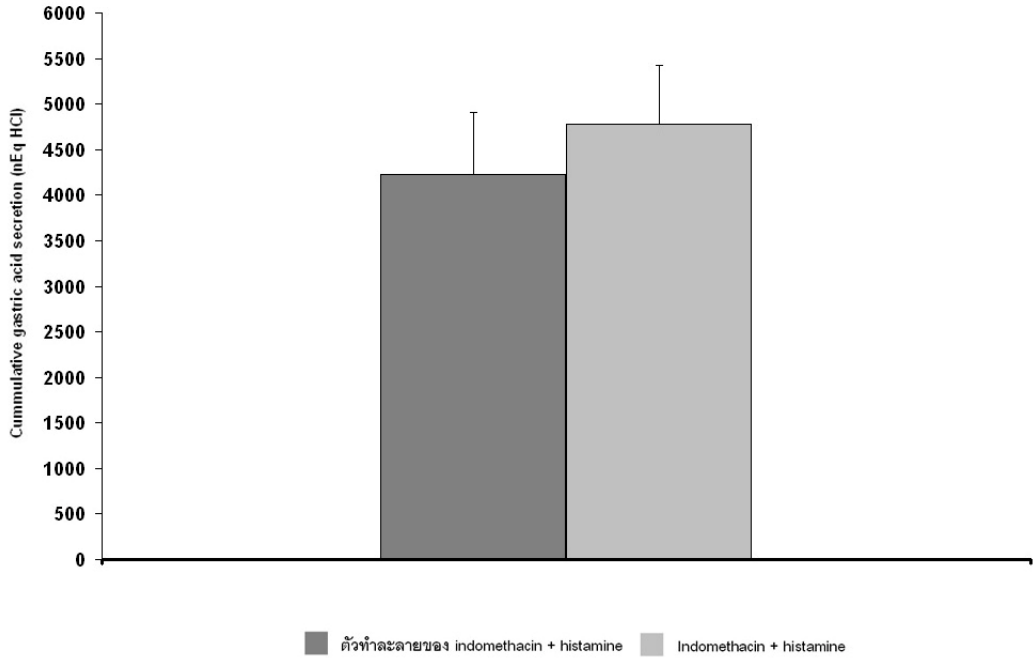
การหลั่งกรด ข แสดงในรูป Mean หลังจากหักด้วย basal secretion

* $p<0.05$, ** $p<0.01$

ตารางที่ 16 ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.1 μM) (n=4)

	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl)	
	กลุ่มควบคุม	indomethacin (0.1 μM)
AUC	4,230 ± 681	4,783 ± 643

กลุ่มตัวอย่างใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
กลุ่มทดลองใส่ indomethacin หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทุกกลุ่มใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที
ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion



รูปที่ 10 ปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) เมื่อมี indomethacin (0.1 μM) (n=4)

กลุ่มควบคุมใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ปริมาตร 30 μL หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
กลุ่มทดลองใส่ indomethacin หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทั้ง 2 กลุ่มใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที
ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

3. ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 µM)

กลุ่ม indomethacin + สารสกัดพริก (ตารางที่ 17) เทียบกับกลุ่ม indomethacin พบว่า เมื่อมี indomethacin สารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 0, 10 และ 30 นาที แสดงผลในตารางที่ 18 และรูปที่ 11 ส่วนผลต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) ของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า กลุ่ม indomethacin + สารสกัดพริก มีปริมาณกรดรวมต่ำกว่ากลุ่ม indomethacin ที่ไม่ใส่สารสกัดพริก แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลในตารางที่ 19 และรูปที่ 12

กลุ่ม สารสกัดพริก เทียบกับกลุ่ม สารสกัดพริก + indomethacin พบว่า กลุ่มที่มี indomethacin มีการหลั่งกรดที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 2 จุด คือ ที่เวลา 30 และ 100 นาที แสดงผลในตารางที่ 18 และรูปที่ 11 ส่วนผลต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) ของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า กลุ่มสารสกัดพริกที่มี indomethacin มีปริมาณกรดรวมมากกว่ากลุ่มที่ไม่มี indomethacin แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลในตารางที่ 19 และรูปที่ 12

ตารางที่ 17 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) ในสารละลาย serosa ที่เวลา -10 นาที เมื่อมี indomethacin (0.1 μM) (n=4)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)			
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว			
	1	2	3	4
-20	660	580	470	510
-10	710	680	480	580
0	860	670	520	690
10	920	920	540	810
20	1360	1140	900	1060
30	1440	1250	1070	1240
40	1420	1230	920	950
50	1410	1130	920	940
60	1400	1120	840	770
70	1260	1020	850	760
80	1400	1050	790	670
90	1110	1000	780	610
100	980	870	670	620
110	960	750	570	540
120	910	600	500	580

ใส่ indomethacin (0.1 μM) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) หลังใส่ indomethacin 2 นาที

ใส่ histamine (5.0 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

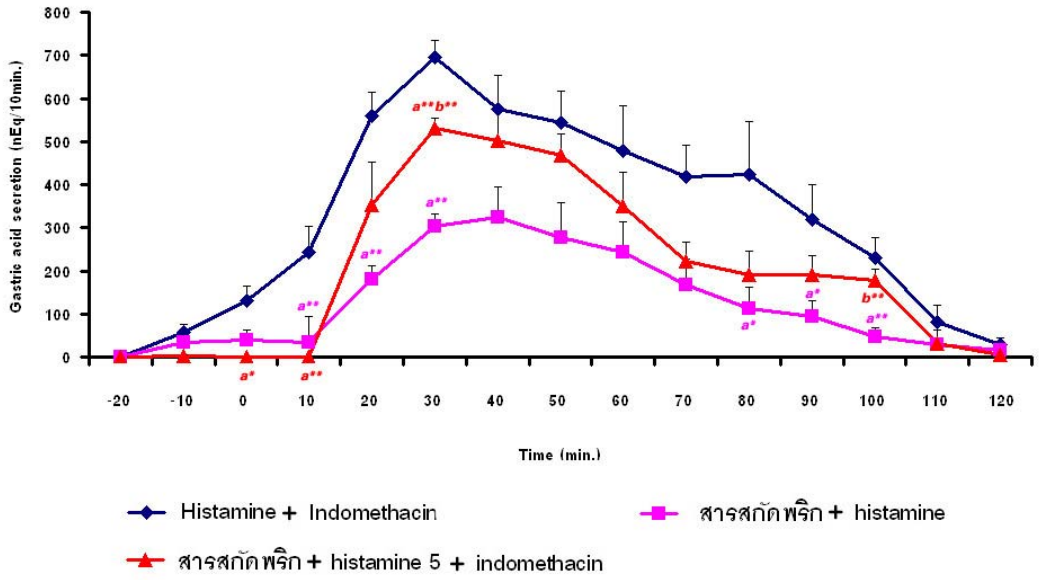
ตารางที่ 18 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 µM)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)		
	histamine + Indomethacin (n=4)	สารสกัดพริก + histamine (n=6)	สารสกัดพริก + histamine + indomethacin (n=4)
-20	0	0	0
-10	57 ± 19	33 ± 19	2.5 ± 2.5
0	130 ± 36	38 ± 25	0 [a*]
10	243 ± 60	135 ± 59 [a**]	0 [a**]
20	560 ± 55	182 ± 31 [a**]	353 ± 99
30	695 ± 39	303 ± 29 [a**]	530 ± 25 [a* b**]
40	575 ± 78	325 ± 70	503 ± 73
50	545 ± 73	277 ± 82	488 ± 49
60	478 ± 105	243 ± 71	410 ± 80
70	418 ± 73	168 ± 58	310 ± 85
80	423 ±123	113 ± 49 [a*]	255 ± 55
90	320 ± 79	95 ± 35 [a*]	260 ± 46
100	230 ± 47	47 ± 21 [a**]	235 ± 27 [b**]
110	80 ± 41	28 ± 15	53 ± 30
120	30 ± 15	17 ± 11	18 ± 12

การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

[a]* $p<0.05$, [a]** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม histamine (5 µM) เมื่อมี Indomethacin (0.1 µM) ที่เวลาเดียวกัน

[b]* $p<0.05$, [b]** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มสารสกัดพริก (8 µg/ml) และ histamine (5 µM) ที่เวลาเดียวกัน



รูปที่ 11 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 µM)

การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

[a]* $p<0.05$, [a]** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม histamine (5 µM) เมื่อมี Indomethacin (0.1 µM) ที่เวลาเดียวกัน

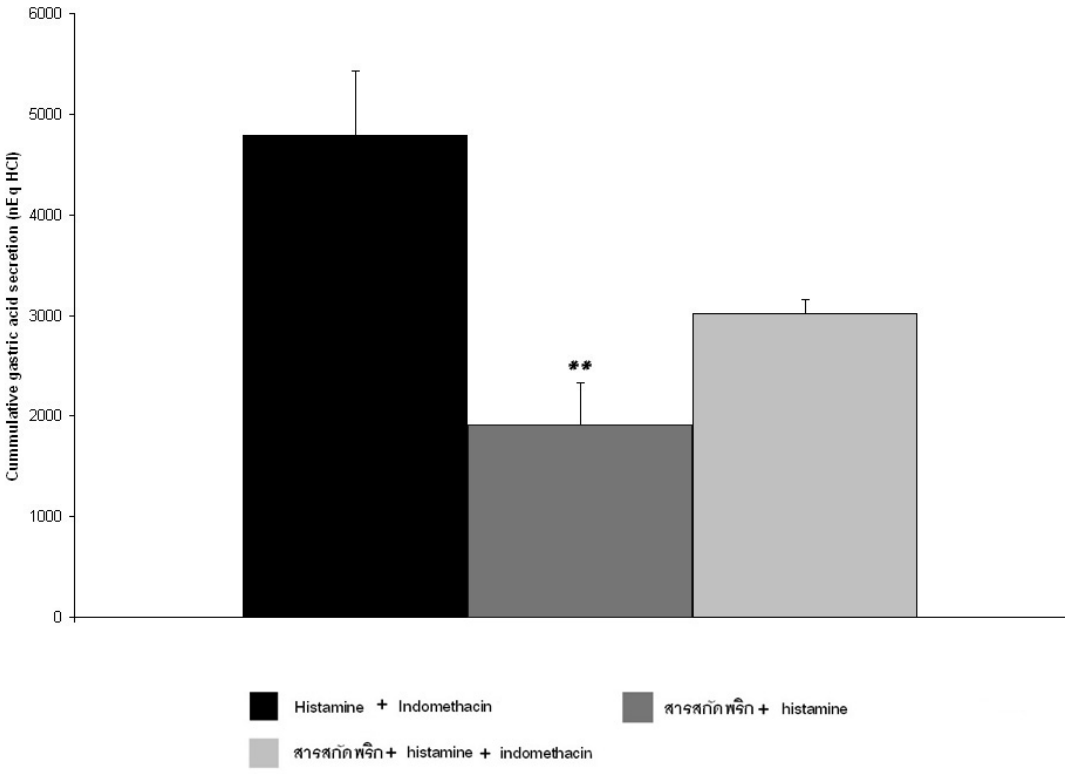
[b]* $p<0.05$, [b]** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มสารสกัดพริก (8 µg/ml) และ histamine (5 µM) ที่เวลาเดียวกัน

ตารางที่ 19 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 µM)

	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl)		
	Histamine + Indomethacin (n=4)	สารสกัดพริก + histamine (n=6)	สารสกัดพริก + histamine + indomethacin (n=4)
AUC	4,783 ± 643	1,905 ± 430 **	3,023 ± 132

ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมี Indomethacin (0.1 µM)



รูปที่ 12 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมีและไม่มี indomethacin (0.1 µM)

การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

** $p<0.01$: ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine (5 µM) เมื่อมี Indomethacin (0.1 µM)

ส่วนที่ 3 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)

การทดลองนี้ทำเพื่อทดสอบว่า สารสกัดพริก (8 µg/ml) ออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดที่กระตุ้นผ่าน acetylcholine หรือไม่ โดยเลือกใช้ bethanechol (100 µM) เป็นตัวกระตุ้นการหลั่งกรดที่ผ่านทาง acetylcholine

ผลของการกระตุ้นการหลั่งกรดด้วย bethanechol (100 µM) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว ที่มีความดันภายในกระเพาะ 20 เซนติเมตรน้ำ โดยกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่เก็บหลอดแรกเป็น basal secretion (ที่เวลา –20 นาที) การใส่ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ทำให้อัตราการหลั่งกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงมากที่สุดที่ 30 นาที แล้วค่อย ๆ ลดลงจนครบ 120 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 20) ในกลุ่มทดลองนั้น ใส่สารสกัดพริก (8 µg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา -20 นาที โดยให้เวลา incubate 20 นาทีจึงใส่ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที ผลที่ได้คือ สารสกัดพริก (8 µg/ml) มีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM) (ตารางที่ 21) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงผลในตารางที่ 22 และรูปที่ 13 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM) แสดงผลในตารางที่ 23 และรูปที่ 14 พบว่า ปริมาณกรดรวมที่หลั่งเมื่อกระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM) ในกลุ่มสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่ำกว่าเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 20 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM) (n=5)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)				
	ลำดับของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว				
	1	2	3	4	5
-20	410	420	500	560	420
-10	480	370	520	580	420
0	470	430	570	610	490
10	660	540	720	700	600
20	1020	1000	1010	1120	700
30	780	1050	1150	1060	930
40	780	810	1040	950	500
50	650	780	960	1050	540
60	530	750	860	760	440
70	520	690	820	780	460
80	430	650	740	740	580
90	440	620	680	770	520
100	510	640	640	680	420
110	350	640	610	600	430
120	350	680	600	590	530

ใส่ bethanechol (100 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 21 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM) เมื่อมีสารสกัดพริก (8 μg/ml) (n=4)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)			
	จำนวนของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว			
	1	2	3	4
-20	440	960	720	800
-10	570	1010	760	840
0	540	1040	640	920
10	550	1060	820	920
20	800	1020	1130	1270
30	830	1420	1110	1080
40	830	1310	1120	1040
50	760	1280	1080	1000
60	690	1280	990	1060
70	610	1060	950	900
80	540	1040	930	850
90	490	880	860	840
100	500	860	690	800
110	430	840	590	690
120	370	880	630	690

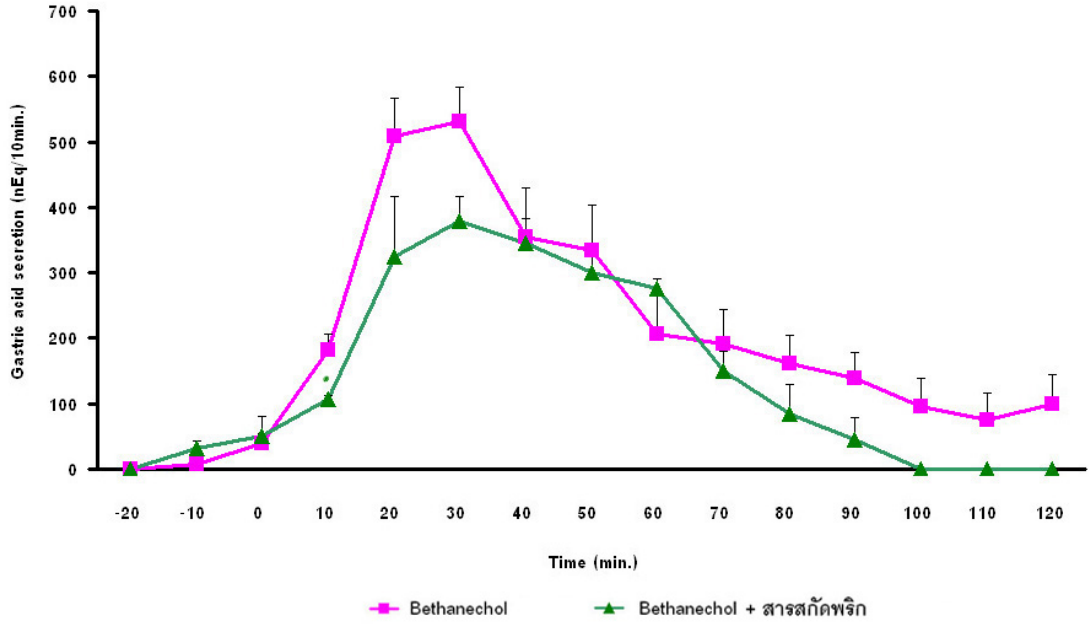
ใส่สารสกัดพริก (8 μg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที

ใส่ bethanechol (100 μM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่ 0 นาที

ตารางที่ 22 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM) (n=4)

เวลา (นาที)	การหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl/10 นาที)	
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริก (8 µg/ml)
-20	0	0
-10	8 ± 5	33 ± 11
0	40 ± 15	50 ± 30
10	182 ± 24	108 ± 5 *
20	508 ± 59	325 ± 91
30	532 ± 51	380 ± 37
40	354 ± 75	345 ± 37
50	334 ± 69	300 ± 35
60	206 ± 64	275 ± 16
70	192 ± 52	150 ± 31
80	162 ± 43	85 ± 45
90	138 ± 40	45 ± 33
100	96 ± 43	0
110	76 ±41	0
120	100 ± 45	0

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริก (8 µg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทั้ง 2 กลุ่มให้ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion
* $p<0.05$



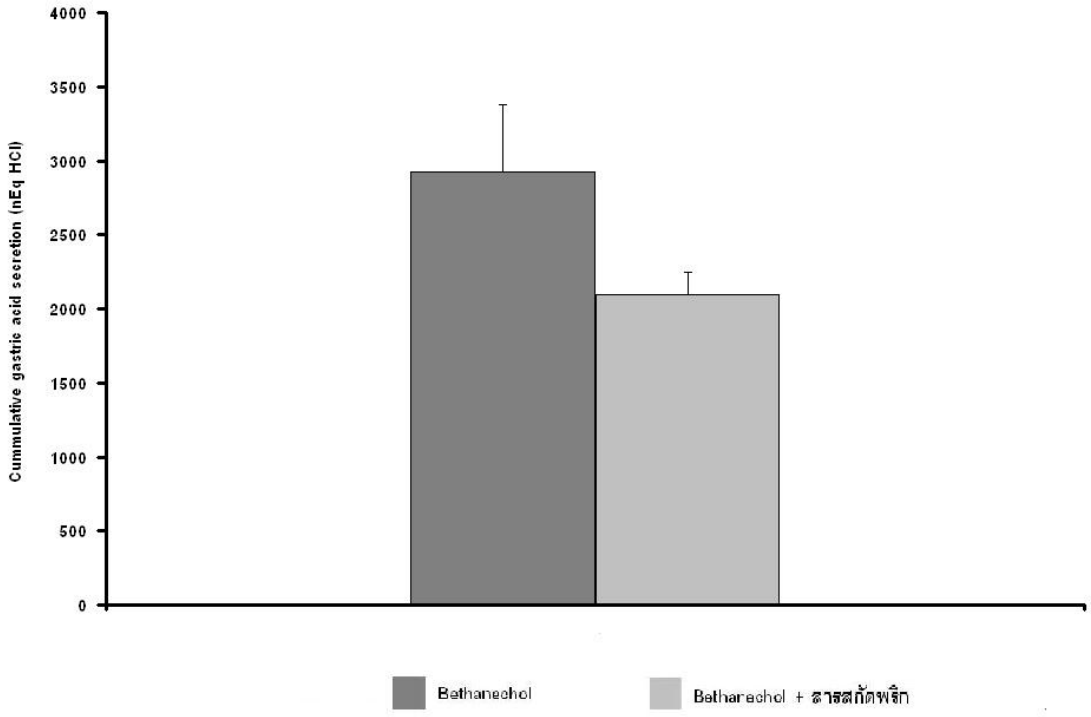
รูปที่ 13 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริก (8 µg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทั้ง 2 กลุ่มให้ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
การหลั่งกรดแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion
* $p<0.05$

ตารางที่ 23 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)

	ปริมาณกรดรวมที่หลั่งกรดของกระเพาะอาหาร (nEq HCl)	
	กลุ่มตัวอย่าง	สารสกัดพริก ขนาด 8 µg/ml
AUC	2,928 ± 454	2,095 ± 153

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริก (8 µg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทั้ง 2 กลุ่มให้ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion



รูปที่ 14 ผลของสารสกัดพริก (8 µg/ml) ต่อปริมาณกรดรวมที่หลั่งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 µM)

กลุ่มทดลองใส่สารสกัดพริก (8 µg/ml) หลังจากเก็บ basal secretion ที่เวลา –20 นาที
ทั้ง 2 กลุ่มให้ bethanechol (100 µM) หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 นาที
ปริมาณกรดรวมแสดงในรูป Mean ± SEM หลังจากหักด้วย basal secretion

วิจารณ์ผลการวิจัย

การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารจะหลั่งด้วยเซลล์ชนิดเดียว คือ parietal cell (23) ซึ่งจะถูกควบคุมด้วยระบบต่อมมีท่อ ต่อมไร้ท่อ และระบบประสาท (23-25) โดยการควบคุมดังกล่าวเกิดจากการจับกันของ ligand และ receptor โดยตรงที่เซลล์ที่มีหน้าที่สร้างกรดและหลั่งกรดบน parietal cell (23,25,26) และ โดยทางอ้อมผ่าน ECL cell และเซลล์ต่อมไร้ท่อที่สามารถหลั่ง histamine (26,28) histamine และ acetylcholine (ACh) เป็นสารกระตุ้นการหลั่งกรด (23-25,30-31) ซึ่งตัวกระตุ้นแต่ละตัวจะจับกับตัวรับเฉพาะที่บน parietal cell (23,30)

รูปแบบการหลั่งกรดเมื่อกระตุ้นด้วย histamine และ bethanechol มีความคล้ายคลึงกัน โดยจะต่างกันที่ bethanechol มีแนวโน้มที่การหลั่งกรดจะถึงจุดสูงสุดเร็วกว่า (รูปที่ 5 และรูปที่ 13) histamine เป็นตัวกระตุ้นการหลั่งกรดที่สำคัญของร่างกาย (30,32-34) ซึ่งจะกระตุ้นผ่านตัวรับ H_2 บน parietal cell (24,27,33,38-44) เช่นเดียวกับ ACh ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นอีกตัวหนึ่งที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งกรดโดยจับกับตัวรับ muscarinic บน ECL cell และ parietal cell (32,46)

สารสกัดพริก 3 ความเข้มข้น (2, 8 และ 16 µg/ml) มีผลลดการหลั่งกรดโดยสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml มีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine ขนาด 5 µM ที่เวลาเดียวกัน และลดปริมาณกรดรวมได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยสามารถลดปริมาณกรดรวมได้ร้อยละ 59.45 ส่วนสารสกัดพริกความเข้มข้น 2 µg/ml มีผลลดการหลั่งกรดที่เวลาเดียวกันและลดปริมาณกรดรวม ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine ขนาดเดียวกัน (5 µM) ส่วนสารสกัดพริกความเข้มข้น 16 µg/ml มีผลลดการหลั่งกรดที่เวลาเดียวกันได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 0, 40, 60, 90 และ 100 นาที และลดปริมาณกรดรวมได้ร้อยละ 45.15 ดังนั้นสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml น่าจะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำมาหากลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งกรด

ในการวิเคราะห์หากลไกอื่นในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดของสารสกัดพริก ได้ทดลองโดยใช้ตัวกระตุ้นอีก 2 ชนิด คือ indomethacin และ bethanechol แล้วยับยั้งการหลั่งกรดด้วยสารสกัดพริก ความเข้มข้น 8 µg/ml

Indomethacin เป็นสารที่ยับยั้ง prostaglandin ซึ่ง prostaglandin มีผลยับยั้งการหลั่งกรด ดังนั้นการยับยั้ง prostaglandin อาจมีผลเพิ่มการหลั่งกรดขึ้นกับสภาวะของระดับ prostaglandin ในขณะนั้น โดยในการหาความเข้มข้นของ indomethacin ในการกระตุ้นการหลั่งกรดที่เหมาะสม จากที่มีการรายงานว่า indomethacin (3-100 μM) มีผลเพิ่มการหลั่งกรดเล็กน้อยแต่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อกระตุ้น gastric gland ด้วย histamine (ประมาณร้อยละ 10-20 เมื่อเปรียบเทียบกับการกระตุ้นด้วย histamine (100 μM) เพียงอย่างเดียว) (20) จากการทดลอง พบว่า ผลต่อการหลั่งกรดที่เวลาเดียวกันและปริมาณการหลั่งกรดรวมของตัวทำละลายของ indomethacin ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine เพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 8 รูปที่ 7 และตารางที่ 9 รูปที่ 8) เมื่อทำการทดลองหาความเข้มข้นของ indomethacin ที่เหมาะสม พบว่า indomethacin ความเข้มข้น 100, 1, 0.5, และ 0.2 μM มีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวเมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) ซึ่งเป็นผลตรงข้ามกับที่มีรายงานไว้ อาจเนื่องมาจาก indomethacin ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปมีฤทธิ์ทำลาย tight junction ของ parietal call จึงทำให้มีการหลั่งกรดน้อยลง ซึ่งใช้ไม่ได้กับการทดลองที่ออกแบบไว้ คือ ต้องการความเข้มข้นที่เพิ่มการหลั่งกรดเมื่อกระตุ้นด้วย histamine จึงทำการลดความเข้มข้นของ indomethacin ที่ใช้ เหลือ 0.1 μM ซึ่งผลที่ได้คือ มีฤทธิ์เพิ่มการหลั่งกรดเพียงเล็กน้อย และไม่แตกต่างจากกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine ที่ใส่ตัวทำละลายของ indomethacin ผลดังกล่าวไม่เป็นไปตามที่มีรายงานไว้ แม้จะลดความเข้มข้นของ indomethacin ให้น้อยกว่าที่มีรายงานไว้มากแล้ว ก็ยังไม่เกิดผลเพิ่มการหลั่งกรดให้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมได้ อาจเนื่องมาจากผลในการยับยั้ง prostaglandin ของ indomethacin นั้นขึ้นอยู่กับปริมาณ prostaglandin ที่มีอยู่ที่กระเพาะอาหารในขณะนั้นด้วย ซึ่งในการทดลอง กระเพาะอาหารของหนูถีบจักรที่แยกจากตัวมานั้น อาจมีปริมาณ prostaglandin อยู่น้อย จึงทำให้เห็นผลในการเพิ่มการหลั่งกรดที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

เมื่อนำ indomethacin ความเข้มข้นดังกล่าว (0.1 μM) มาทดสอบฤทธิ์ลดการหลั่งกรดของสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 μg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) โดยเทียบกับอีก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม indomethacin เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) และกลุ่มสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 μg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (5 μM) ผลที่ได้คือ กลุ่ม indomethacin + สารสกัดพริก เทียบกับกลุ่ม indomethacin พบว่า สารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 3 จุด คือ ที่เวลา 0, 10 และ 30 นาที แสดงผลในตารางที่ 18 และรูปที่ 11 ส่วนผลต่อปริมาณกรดรวมของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า กลุ่ม indomethacin + สารสกัดพริก มีปริมาณกรดรวมต่ำ

กว่ากลุ่ม indomethacin แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลในตารางที่ 19 และรูปที่ 12 กลุ่มสารสกัดพริกที่ไม่ใส่ indomethacin เทียบกับกลุ่ม สารสกัดพริก + indomethacin พบว่า กลุ่มที่มี indomethacin มีการหลั่งกรดที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 30 และ 100 นาที แสดงผลในตารางที่ 18 และรูปที่ 11 ส่วนผลต่อปริมาณกรดรวมของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า กลุ่มสารสกัดพริกที่มี indomethacin มีปริมาณกรดรวมมากกว่ากลุ่มสารสกัดพริกที่ไม่มี indomethacin แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลในตารางที่ 19 และรูปที่ 12 จากผลที่ได้จะเห็นว่า indomethacin มีผลลดฤทธิ์การยับยั้งการหลั่งกรดของสารสกัดพริก แสดงว่าสารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดโดยมีกลไกบางส่วนผ่านทาง prostaglandin

Bethanechol เป็นอนุพันธ์ของ acetylcholine ซึ่งกระตุ้นการหลั่งกรดโดย 2 กระบวนการ คือ ผลทางตรงต่อตัวรับ M3 ใน parietal cell และทางอ้อมผ่านตัวรับ M1ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่ง histamine จาก ECL cell (32) bethanechol ความเข้มข้น 100 μM จะกระตุ้นการหลั่งกรดทั้งทางตรงและทางอ้อม (48) จากการทดลองพบว่า ผลของสารสกัดพริก (8 μg/ml) ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol (100 μM) ที่เวลาเดียวกันและปริมาณกรดรวมที่หลั่งไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 22 รูปที่ 13 และตารางที่ 23 รูปที่ 14)

ในการทดลองผลของสารสกัดพริกต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว พบว่า สารสกัดพริกมีผลลดการหลั่งกรดเมื่อกระตุ้นด้วย histamine ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ทำในตัวหนูขาว ที่พบว่า สารสกัดพริกมีผลเพิ่มการหลั่งกรด (18) อาจเนื่องมาจากในตัวสัตว์ทดลองมีสารอีกหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการหลั่งกรด เช่น gastrin (41,42,44), galanin (43,44) และ Pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) (44,46) ซึ่งกระตุ้นการหลั่งกรด หรือ somatostatin (43,44,46,48,49,52), prostaglandin (44,46,53), cholecystokinin (54,55) และ secretin (49) เป็นต้น ซึ่งยับยั้งการหลั่งกรด โดยการทดลองในสัตว์ทดลองจะได้รับผลจากสารเหล่านี้ร่วมด้วย และยังมีผลจากการควบคุมการหลั่งกรดผ่านทางระบบประสาทและ/หรือ การตอบสนองกลับของ paracrine cell

ดังนั้นหากมีอาการแสบ ระคายเคือง ไม่สบายท้องจากการที่มีการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารมากเกินไป อาจจะนำสารสกัดพริกมาใช้ในการลดอาการไม่สบายท้องนั้นได้ เพราะผลจากการศึกษาที่พบว่า สารสกัดพริกสามารถลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัว หากใช้ในปริมาณที่เหมาะสมซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมก่อนนำไปใช้ในอนาคต

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 และ 16 µg/ml มีผลลดอัตราการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย histamine โดยสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml ลดการหลั่งกรดได้มากที่สุด

2. Indomethacin มีผลลดการยับยั้งการหลั่งกรดของสารสกัดพริก แสดงว่า สารสกัดพริกมีผลบางส่วนในการลดการหลั่งกรดผ่านทาง prostaglandin

3. สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml ไม่มีผลลดการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกจากตัวที่กระตุ้นด้วย bethanechol

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดพริกเพิ่มเติมเพื่อหาลักษณะการตอบสนองของสารสกัดพริกความเข้มข้นขนาดต่าง ๆ ต่อการหลั่งกรดของกระเพาะอาหารที่กระตุ้นด้วย histamine และ bethanechol

กลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine เนื่องจากการศึกษาใช้สารสกัดพริก 3 ขนาด (2, 8 และ 16 µg/ml) และพบว่าสารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml ลดการหลั่งกรดได้มากที่สุด ทั้งนี้จึงควรมีการทดลองโดยใช้สารสกัดพริกความเข้มข้นขนาดต่าง ๆ ให้มากขึ้น

กลุ่มที่กระตุ้นด้วย bethanechol ในการทดลองนั้น กลุ่มที่ใส่สารสกัดพริกความเข้มข้น 8 µg/ml ยังเห็นผลในการลดการหลั่งกรดที่ไม่ชัดเจน จึงควรเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพริกที่ใช้ให้มากขึ้น เช่น 16 หรือ 32 µg/ml ซึ่งอาจทำให้เห็นผลในการลดการหลั่งกรดที่ชัดเจนขึ้น

2. เมื่อได้ความเข้มข้นของสารสกัดพริกที่สามารถยับยั้งการหลั่งกรดที่กระตุ้นด้วย bethanechol ที่เห็นผลได้อย่างชัดเจนแล้ว ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดพริกในขณะที่มี indomethacin ด้วย เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบความแตกต่างกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย histamine เมื่อมี indomethacin

เอกสารอ้างอิง

1. อโนชา อุทัยพัฒน์, พริก...มีประโยชน์ต่อสุขภาพ. [บทความพิเศษ] คลังข้อมูลยา 2548; 26:5-7.
2. Cordell GA, Araujo OE. Capsaicin: identification, nomenclature, and pharmacotherapy. Ann Pharmacother 1993; 27:380-6.
3. อุบลรัตน์ ประดิษฐ์กุล, ประโยชน์ทางยาของสมุนไพรพริก. [บทความพิเศษ] วารสารเภสัชกรรมโรงพยาบาล 2545; 1:50-7.
4. Hautkappe M, et al. Review of the effectiveness of capsaicin for painful cutaneous disorders and neural dysfunction. Clin J Pain 1998; 14:97-106.
5. McCarthy G, McCarty D. Effect of topical capsaicin on osteoarthritis of the hands. J Rheumatol 1992; 19:604-7.
6. Deal CL, Schnitzer TJ, Lipstein E, Seibold JR, Levy MD, Albert D, et al. Treatment of arthritis with topical capsaicin: a double-blind trial. Clin Ther 1991; 13:383-95.
7. Donofrio PD, Walker F, Hunt V, Tanda R, Fries T, Lewis G, et al. Treatment of painful diabetic neuropathy with topical capsaicin:A multicenter, double-blind, vehicle-controlled study. Arch Intern Med 1991; 151:2225-9.
8. Tandan R, Lewis TA, Krusinski PB, Badger GB, Fries TJ. Topical 0.075% capsaicin in painful diabetic neuropathy. I:A controlled study with long-term follow-up. Diabetes Care 1992; 15:15-8.
9. Dailey GE. Effect of treatment with capsaicin on daily activites of patients with diabetic neuropathy. Diabetes Care 1992; 15:159-65.
10. Watson CPN, Evans RJ, Watt VR. The post mastectomy pain syndrome and the effect of topical capsaicin. Pain 1989; 38:177-86.
11. Sicuteri F, Fusco BM, Marabini S, Campagndo V, Maggia CA, Geppetti P, et al. Beneficial effect of capsaicin application to the nasal mucosa in cluster headache. Clin J Pain 1989; 5:49-53.

12. Marks DR, Rapoport A, Padla D, Weeks R, Rosum R, Sheftell F, Arrowsmith F. A double-blind placebo-controlled trial of intranasal capsaicin for cluster headache. Cephalalgia 1993; 13:114-6.
13. Blom HM, Van Rijswijk JB, Garrelds IM, Mulder PG, Timmermans T, Gerth van Wijk R. Intranasal capsaicin is efficacious in non-allergic, non-infectious perennial rhinitis. A placebo-controlled study. Clin Exp Allergy 1997; 27:796-801.
14. Syunji Horie. Effects of spices on gastrointestinal and respiratory systems through capsaicin receptor TRPV1, The Japan Food Chemical Research Foundation. [online] 2005; 11(22): [1 screen]. Available from: URL: http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/a51581124d6d1b6b49256823001c8dfc/86a540779542ddfc492571a300223595?OpenDocument [Accessed 2006 Aug 13].
15. Abdel-Salam OM, Szolcsányi J, Mozsik G, Capsaicin and its analogue resiniferatoxin inhibit gastric acid secretion in pylorus-ligated rats, Pharmacol Res 1995; 341–5.
16. Abdel-Salam OM, Szolcsányi J, Mozsik G, Effect of resiniferatoxin on stimulated gastric acid secretory responses in the rat, J Physiol Paris 1995; 353–8.
17. Abdel-Salam OM, Szolcsányi J, Barthó L, Mozsik G. Sensory nerve-mediated mechanisms, gastric mucosal damage and its protection: A critical overview, Gastroprotection 1994; 4–12.
18. Limlomwongse L, Chaitauchawong C, Tongyai S. Effect of capsaicin on gastric acid secretion and mucosal blood flow in the rat. J Nutr 1979; 109:773-7.
19. Kang JY, Teng CH, Chen FC. Effect of capsaicin and cimetidine on the healing of acetic acid induced gastric ulceration in the rat. Gut 1996; 832-6.
20. Salvatella M, Rossi I, Del Valle JC, Gutiérrez Y,Pereda C, Samper B, Felíu JE. Inhibition of acid secretion by the nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and piroxicam in isolated gastric glands: analysis of a multifocal mechanism. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004; 286:G711–21.

21. Mozsik G, Szolcsányi J, Rácz I. Gastroprotection induced by capsaicin in healthy human subjects. World J Gastroenterol 2005; 11:5180-84.
22. Mozsik G, Debreceni A, Abdel-Salam OM, Szabo I, Figler M, Ludany A, Juricskay I, Szolcsanyi J. Small doses of capsaicin given intragastrically inhibit gastric basal acid secretion in healthy human subjects. J Physiol Paris 1999; 93:433-6.
23. Guyton AC. Hall JE. Textbook of medical physiology. 10th ed. Philadelphia, 2000:742-3.
24. Sachs G, Zeng N, Priz C. Physiology of isolated gastric endocrine cells. Annu Rev Physiol 1997; 59:243-56.
25. Yao X, Forte JG. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. Annu Rev Physiol 2003; 65:103-31.
26. Chang EB, Sitrin MD, Blade DD. Gastrointestinal Hepatobiliary and Nutritional Physiology. Lippincottt-Raven, Philadelphia, 1996: 53-4.
27. Lindstrom E, Chen D, Norlen P, Andersonsson K, Hakason R. Control of gastric acid secretion: the gastrin-ECL cell-parietal cell axis. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2001; 128:505-14.
28. Kamoshida S, Saito E, Fukuda S, Kato K, Iwasaki A, Arakawa Y. Anatomical location of enterochromaffin-like (ECL) cells, parietal cells and chief cells in the stomach demonstrated by immunocytochemistry and electron microscopy. J Gastroenterol 1999; 34:315-20.
29. Ohtsu H, Watanabe T. New function of histamine found in histidine decarboxylase gene knockout mice. Biochem Biophys Res Commun 2003; 305:443-7.
30. Berne RM, Levy MN. Physiology. 4th ed. St Louis, 1998:622-32.
31. Kolivas S, Shulkes A. Regulation of expression of the receptors controlling gastric acidity. Regul Pept 2004; 121:1-9.
32. Barocelli E, Ballabeni V. Histamine in the control of gastric acid secretion: a topic review. Pharmacol Res 2003; 47:299-304.

33. Chen D, Zhao CM, Lindstrom E, Hakason R. Rat stomach ECL cells. Up-date of biology and physiology. Gen pharmacol 1999; 32:413-22.
34. Valle JD, Gantz I. Novel insights into histamine H_2 receptor biology. Am J Physiol 1997; 273:G987-96.
35. Prinz C, Kajimura M, Scott DR, Mercier F, Helander HF. Sachs G. Histamine secretion from rat enterochromaffin-like cells. Gastroenterol 1993; 105:449-61.
36. Aihara T, Nakamura E, Amagase K, Tomita K, Fujishita T, Okabe S. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and the future. Pharmacol Ther 2003; 98:109-27.
37. Zhao CM, Chen D, Yamada H, Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Persson L, Hakason R. Rat stomach ECL cells: mode of activation of histidine decarboxylase. Regul Pept 2003; 114:21-7.
38. Prinz C, Zanner R, Gerhard M, Mahr S, Neumayer N, Zell BH, Gratzi M. The mechanism of histamine secretion from gastric enterochromaffin-like cells. Am J Physiol Cell Physiol 1999; 277:C845-55.
39. Hill SJ, Ganellin CR, Timmerman H, et al. International union of pharmacology. XII. Classification of histamine receptors. Pharmacol Rev 1997; 49:253-77.
40. Hakason R, Ding XQ, Norlen P, Lindstrom E. CCK_2 receptor antagonist: pharmacological tools to study the gastrin-ECL cell-parietal cell axis. Regul Pept 1999; 80:1-12.
41. Koh TJ, Chen D. Gastrin as a growth factor in the gastrointestinal tract. Regul Pept 2000; 93:37-44.
42. Dockray GJ. Gastrin. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2004; 18:555-68.
43. Lindstrom E, Bjorkqvist M, Boketoft A, et al. Neurohormonal regulation of histamine and pancreastatin secretion from isolated rat stomach ECL cells. Regul Pept 1997; 71:73-86.
44. Lindstrom E, Hakason R. Neurohormonal regulation of secretion from isolated rat stomach ECL cells: acritical reappraisal. Regul Pept 2001; 97:169-80.

45. Urushidani T, Forte JG. Signal transduction and activation of acid secretion in the parietal cell. J Membrane Biol 1997; 159:99-111.
46. Li P, Chang TM, Coy D, Chey WY. Inhibition of gastric acid secretion in rat stomach by PACAP is mediated by secretin, somatostatin, and PGE2. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000; 278:G121-7.
47. Mozsik G, Karadi O, Kiraly A, et al. The key role of vagal nerve and adrenals in the cytoprotection and general gastric mucosal integrity. J Physiol Paris 2001; 95:229-37.
48. Komasaka M, Horie S, Watanabe K, Murayama T. Antisecretory effect of somatostatin on gastric acid via inhibition of histamine release in isolated mouse stomach. Eur J Pharmacol 2002; 452:235-43.
49. Bolkent S, Yilazer S, Kaya F, Ozturk M. Effect of acid inhibition on somatostatin-producing cells in the rat gastric fundus. Acta Histochem 2001; 103:413-22.
50. Weigert N, Li YY, Schick RR, Coy DH, Classen M, Schusdziarra. Role of vagal fibers and bombasin/gastrin-releasing peptide-neurons in distension-induced gastrin release in rats. Regul Pept 1997; 63:33-40.
51. Wynsberghe DV, Noback CR, Carola R. Human Anatomy and Physiology. 3rd ed. 1995:810-7.
52. Yu PL, Fujimura M, Hayashi N, Nakamura T, Fujimiya M. Mechanisms in regulating the release of serotonin fro the perfused rat stomach. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001; 280:G1099-105.
53. Kunikata T, Araki H, Takeeda M, Kato S, Takeuchi. Prostaglandin E prevents indomethacin-induced gastric and intestinal damage through different EP receptor subtypes. J Physiol Paris 2001; 95:157-63.
54. Rehfeld JF. Cholecystokinin. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2004; 18:569-86.
55. Bengtsson P, Azer L, Lundqyist G, Nilsson G, Mardh S. Effect of cholecystokinin on acid formation in glands and cells isolated from rabbit and rat gastric mucosa. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2000; 126:77-84.