

เภสัชวิทยาของ GABA RECEPTOR

นลิน พยัคฆชาติ* และ จุฬามณี สุทธิสีสังข์**

*ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

**ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

GABA หรือ Gamma-aminobutyric acid เป็นสารสื่อประสาทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง [inhibitory neurotransmitter] ตัวสำคัญตัวหนึ่งในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของระบบประสาทหลายอย่างเช่น โรคลมชัก [epilepsy] ภาวะการติดแอลกอฮอล์ [alcoholism] ภาวะนอนไม่หลับ [sleep disorder] และ Huntington's disease เป็นต้น

GABA พบกระจายอยู่ทั่วไปในสมอง สร้างจาก L-glutamic acid โดยใช้เอนไซม์ glutamic acid decarboxylase ซึ่งเอนไซม์นี้พบอยู่ใน presynaptic terminal หลังจากนั้น GABA จะถูกนำไปเก็บไว้ใน synaptic vesicle ของปลายประสาท การหลั่งของ GABA จะเกิดขึ้นต่อเมื่อเกิด depolarization ของปลายประสาทโดย action potential เมื่อมีการกระตุ้นปลายประสาท synaptic vesicle ซึ่งมี GABA บรรจุอยู่จะมาเชื่อมรวมกับ presynaptic membrane และมีการหลั่ง GABA ออกมา [exocytosis] สู่ synaptic cleft ทำให้ GABA สามารถ

ไปจับกับ receptor ของมันได้ ซึ่ง receptor ของ GABA จะพบอยู่ทั้งที่ pre- และ postsynaptic membrane

เมื่อ GABA ถูกหลั่งออกมาแล้ว จะมีกระบวนการกำจัด⁽¹⁾ GABA ให้หมดไปจาก synaptic cleft อยู่ 2 กระบวนการ กระบวนการแรกคือการทำลาย GABA โดยใช้เอนไซม์ GABA transaminase ซึ่งพบอยู่ในบริเวณ synaptic cleft โดยจะเปลี่ยน GABA ไปเป็น succinic semialdehyde และกระบวนการที่สองคือ การเก็บ GABA กลับ (reuptake) ไปยัง presynaptic terminal จากการศึกษ⁽²⁾ พบว่า GABA จะมีตัวพา [GABA carrier] เพื่อกลับสู่ presynaptic nerve โดยที่ทราบถึงองค์ประกอบแล้วอย่างน้อย 1 ตัว

ในปัจจุบัน receptor ของ GABA มี 2 ชนิด คือ GABA_A receptor และ GABA_B receptor โดยแบ่งออกตาม (1) rank order of potency (2) ชนิดของ effector system หรือ signal transduction และ (3) tissue specificity (ตารางที่ 1)

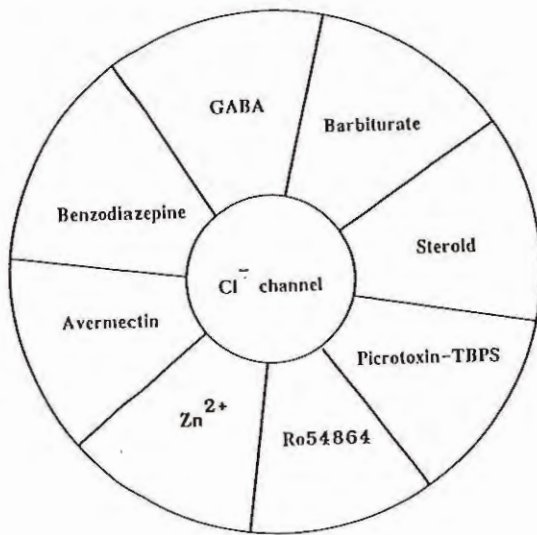
ตารางที่ 1 การแบ่งชนิดของ GABA receptors

GABA RECEPTORS		
	GABA _A	GABA _B
- Rank order of potency	Muscimol>GABA> Bicuculline>Baclofen	Baclofen>GABA> Bicuculline>Muscimol
- Receptor structure	7 transmembrane domains	4 transmembrane domains
- Predominant effectors	Chloride ions	cAMP ↓ K ⁺ conductance ↑ Ca ²⁺ conductance ↓
- Tissue specificity ⁽³⁾	- lamina molecularis of olfactory bulb - granule cell layer of the cerebellum - uniformly distributed throughout the dorsal and ventral horns	- interpeduncular nucleus - molecular cell layer of the cerebellum - distributed with high densities in laminae I-IV in spinal cord

เภสัชวิทยาของ GABA_A receptor

GABA_A receptor เป็น receptor subtype ที่มีความสำคัญทางเภสัชวิทยา ในปัจจุบันมีหลายตัวที่ออกฤทธิ์ผ่าน GABA_A receptor โดย GABA_A receptor จะเป็น GABA receptor ที่พบใน Benzodiazepine-GABA-Chloride ionophore complex ทั้งนี้เนื่องจาก benzodiazepine มี allosteric binding site อยู่บนโมเลกุลของ GABA_A receptor นั้นหมายถึง benzodiazepine receptor เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของ GABA_A

receptor เช่นเดียวกับ neurosteroids และ barbiturates ซึ่งมี allosteric binding site อยู่บนโมเลกุลของ GABA_A receptor เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ ที่มี allosteric binding site อยู่บน GABA_A receptor เช่น picrotoxin-TBPS, avermectin เป็นต้น และ GABA_A receptor subunit จะเรียงตัวกันในลักษณะที่เป็น channel ให้ Chloride ions ผ่านเข้าออกเซลล์อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 1⁽⁴⁾



รูปที่ 1 Allosteric binding sites ของ GABA_A receptors ซึ่งอาจมี binding sites ของ propofol, clomethiazole และ methanol และ methanol บนโมเลกุลของ GABA_A receptors อีกด้วย⁽⁴⁾ [TBPS : t-butylbicyclophosphorothionate]

GABA_A receptor เป็น receptor ที่จัดอยู่ใน superfamily ของ ligand-gated ion channels อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ receptor จะประกอบไปด้วย 5 subunit⁽⁵⁾ ซึ่งเรียงตัวกันทำให้มีช่องตรงกลางไว้เป็นทางผ่านของ Chloride ions ในแต่ละ subunit จะประกอบด้วย α -helical membrane-spanning domains 4 อัน (รูปที่ 2) จากการศึกษโดยใช้เทคนิคทาง molecular cloning⁽⁶⁾ ทำให้แบ่งชนิดของ subunit ออกเป็นอย่างน้อย 5 ชนิด ได้แก่ α -, β -, γ -, δ - และ ρ - subunit และในแต่ละชนิดยังสามารถแบ่งออกได้เป็นอีกหลาย subtypes ดังต่อไปนี้คือ α มี 6 subtypes, β มี 4 subtypes, γ มี 3 subtypes, ρ มี 2 subtypes ส่วน δ มีเพียง 1 subtype ส่วน δ มีเพียง 1 subtype ซึ่งลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของ subunit (รูปที่ 3)⁽⁴⁾ พบว่าสิ่งที่เหมือนกัน คือ ด้านของ N- และ C-terminal

จะอยู่ใน extracellular space ส่วนใน intracellular space จะมี cytosolic loop ขนาดใหญ่อยู่ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เกิด phosphorylation ของ receptor⁽⁷⁾

ความแตกต่างของ subunit แต่ละชนิดคือ ลำดับของ amino acid นั้นเอง และแต่ละ subtype จะมี homology ระหว่าง peptide sequences ดังรูปที่ 4

ดังที่กล่าวมาแล้วว่า GABA_A receptor จะต้องประกอบไปด้วย 5 subunits ซึ่งอาจจะเป็นการรวมกันของ subunits ได้กี่ก็ได้ ตัวอย่างเช่น $\alpha_1 \alpha_2 \gamma_2 \beta_1 \delta$ หรือ $\alpha_3 \alpha_5 \beta_2 \beta_3 \gamma_1$ เป็นต้น ซึ่งอาจมีมากกว่า 1000 combinations ความหลากหลายในการประกอบเป็น GABA_A receptor นี้เรียกว่า heterogeneity ซึ่งทำให้แต่ละ combination ของ GABA_A receptor มีความแตกต่างกันในฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วย แต่ในขณะนี้ยังไม่ทราบองค์ประกอบของ GABA_A receptor ที่มีทั้งหมดพบว่า⁽⁸⁾ แต่ละ subunit จะมีหน้าที่แตกต่างกันไป เช่น α -subunit ดูเหมือนว่าจะเป็นส่วนประกอบในทุก combination ที่พบ และยังเป็นตำแหน่งที่มี recognition ของ benzodiazepine ligands อีกด้วย ส่วน β -subunit เป็น recognition site ของ GABA และ γ -subunit นั้นเป็นส่วนสำคัญในการจับของ benzodiazepine ต่อ benzodiazepine binding site

ยาในกลุ่ม benzodiazepines ส่วนใหญ่จะมี high affinity ต่อทุก combinations ของ GABA_A receptor (ตารางที่ 2)⁽⁹⁾ ทำให้เกิดผลข้างเคียง [side effect] หลายอย่างเช่น ฤทธิ์คล้ายกล้ามเนื้อ, sedative effect ยา zolpidem ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม imidazopyridine derivative แต่จับกับ benzodiazepine binding site เช่นกัน จะมีความเจาะจงในการจับกับ combinations ที่ไม่มี α_5 -subunit เป็นส่วนประกอบ⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ และผลทางคลินิกของการใช้ยา zolpidem พบว่ายานี้ไม่มีฤทธิ์คล้ายกล้ามเนื้อ จากข้อมูลนี้เป็นเหตุผลช่วยสนับสนุน

ตารางที่ 3 ค่า EC_{50} และ IC_{50} ของ agonists และ antagonists ของ $GABA_B$ receptors ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งของ GABA, glutamate และ somatostatin จาก rat cerebral cortex synaptosomes⁽¹⁹⁾

Transmitter	Agonist [EC_{50} (μM)]		Antagonist [IC_{50} (μM)]		
	GABA	L-Baclofen	Phaclofen	CGP35348	CGP52432
GABA	1.28	1.17	79.2	>300	0.087
Glutamate	2.80	1.51	>1000	4.21	9.60
Somatostatin	1.93	1.33	62.6	3.63	3.38

ตารางที่ 4 ค่า EC_{50} และ IC_{50} ของ agonists และ antagonists ของ $GABA_B$ autoreceptors ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งของ GABA ใน rat cerebral cortex และ spinal cord⁽¹⁹⁾

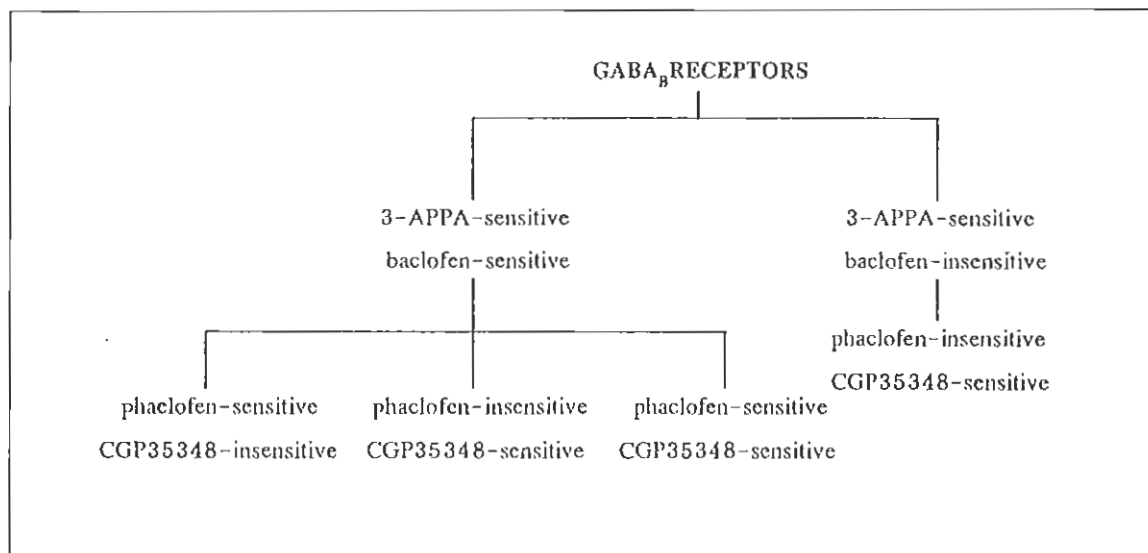
Receptor location	Agonist [EC_{50} (μM)]		Antagonist [IC_{50} (μM)]		
	GABA	L-Baclofen	3-APPA	Phaclofen	CGP35348
Cortex	1.23	1.37	0.095	47.9	>300
Spinal	1.01	425	0.078	>1000	1.07

ได้มีการศึกษาถึงบทบาทของ $GABA_B$ receptor ในการควบคุมการหลั่งของสารสื่อประสาท 3 ชนิดคือ GABA, glutamate และ somatostatin ในสมองส่วนต่างๆ (ตารางที่ 3) ผลการทดลอง⁽¹⁹⁾ พบว่า GABA และ L-baclofen สามารถยับยั้งการหลั่งของ GABA, glutamate และ somatostatin ได้ในความแรงที่ใกล้เคียงกัน ในทางตรงข้าม ผลของการใช้ $GABA_B$ receptor antagonists ได้แก่ phaclofen, CGP35348 และ CGP52432 กลับมีความแตกต่างในการต้านฤทธิ์ของ L-baclofen ในการยับยั้งการหลั่งของสารทั้ง 3 ชนิด เมื่อพิจารณาถึงผลที่ cortical autoreceptor ซึ่งควบคุมการหลั่ง GABA พบว่า phaclofen มีความแรงน้อยกว่า

CGP52432 ประมาณ 1000 เท่า ส่วน CGP35348 มีความแรงน้อยกว่า CGP52432 ถึง 3500 เท่า ผลที่มีต่อการหลั่ง glutamate พบว่า $GABA_B$ heteroreceptor ไม่ไวต่อ phaclofen แต่ไวต่อ CGP 35348 นอกจากนี้ผลที่มีต่อการหลั่ง somatostatin พบว่า $GABA_B$ receptor antagonists ทั้งสามสามารถยับยั้งผลของ L-baclofen ได้ แต่ phaclofen มีความแรงน้อยกว่า CGP35348 และ CGP52432 ประมาณ 20 เท่า จากผลการศึกษาพอสรุปได้ว่า $GABA_B$ receptor อาจแบ่งออกเป็นอีก 3 subtypes โดยแบ่งตามการออกฤทธิ์ของยาที่ anatomical location ต่างๆ

นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างทางเภสัชวิทยาที่ presynaptic GABA autoreceptor ใน cortex และ spinal cord อีกด้วย (ตารางที่ 4) ผลการทดลองพบว่า GABA และ 3-APPA [GABA_B receptor agonist] จะมีผลต่อการยับยั้งการหลั่งของ GABA ของทั้งสองบริเวณในความแรงที่ใกล้เคียงกัน

ส่วน L-baclofen จะเป็น agonist ที่อ่อนมากใน spinal cord แม้ว่าจะสามารถทำหน้าที่เหมือน GABA ใน cortex ก็ตาม ส่วนผลของ antagonists แสดงถึงความแตกต่างของ spinal cord autoreceptor พบว่า spinal cord autoreceptor ไม่ไวต่อ phaclofen แต่ไวมากต่อ CGP35348



รูปที่ 7 Schematic representation of multiple GABA_B receptors⁽¹⁹⁾

จากผลการศึกษาดังได้กล่าวมาแล้วทำให้สามารถแบ่ง GABA_B receptor subtype ออกได้เป็น 2 กลุ่ม จากความแตกต่างของ affinity ต่อ baclofen (รูปที่ 7) ในกลุ่มที่เป็น baclofen-sensitive receptors ยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) phaclofen-sensitive, CGP35348-insensitive receptors (เช่นที่ cortical autoreceptor), (2) phaclofen-insensitive, CGP35348-sensitive receptors (เช่นที่ heteroreceptor ที่พบอยู่บน glutamate terminals) และ (3) phaclofen- และ CGP35348-sensitive receptor (เช่น heteroreceptors ที่พบอยู่บน somatostatin terminals) ส่วนตัวอย่างของ L-baclofen-insensitive receptor ได้แก่ autoreceptor ที่ spinal cord

การวิจัยทางเภสัชวิทยาเพื่อค้นคว้าหายาที่ออกฤทธิ์ผ่าน GABA_B receptor จะเน้นในเรื่องของ GABA_B receptor antagonists โดยศึกษาถึงประโยชน์ในโรคลมชัก, cognitive deficit และ depression⁽²⁰⁾ ในแง่ของโรคลมชักพบว่า GABA_B receptor antagonists จะมี positive effect ใน absence epilepsy ส่วนใน cognitive deficit นั้น GABA_B receptor antagonists จะช่วยในการเพิ่มการหลั่งสารสื่อประสาทบางชนิดที่เพิ่ม cognitive และช่วยในการกระตุ้นเซลล์ประสาท ซึ่งผลดังกล่าวจะมีส่วนช่วยในกระบวนการส่งกระแสประสาทในสมอง และสุดท้ายในโรคซึมเศร้า [depression] พบว่า การใช้ยา antidepressant เป็นระยะเวลานานจะสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มของ GABA_B receptor

ในบางส่วนของ cerebral cortex เช่นกัน จึงอาจจะเป็นประโยชน์ในการศึกษา GABA_B receptor antagonist เพื่อใช้เป็น antidepressant ต่อไป

ส่วน GABA receptor ที่ได้รับการค้นพบใหม่ได้แก่ GABA_C receptor⁽²¹⁾ receptor นี้จะไม่ไวต่อ baclofen และ bicuculline จึงคาดว่า เป็นคนละ receptor กับ GABA_A และ GABA_B receptor อีกทั้งยังพบว่า barbiturates และ benzodiazepines ไม่มีผลต่อ receptor นี้ การศึกษาถึงลำดับของโมเลกุลของ receptor พบว่าจะคล้ายกับ GABA_A receptor และพบว่ามี ρ_1 -subunit เป็นส่วนประกอบ ในปัจจุบันพบ GABA_C receptor ใน central visual pathway ในส่วนของ retina

จากที่ได้กล่าวมาแล้วทั้งหมดเป็นข้อมูลและแนวโน้มในการพัฒนาาใหม่ ๆ โดยมุ่งเน้นการสังเคราะห์ยาใหม่ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ GABA receptor subtype ที่ต้องการให้ยาไปออกฤทธิ์เพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษา รวมทั้งลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นเพื่อประโยชน์สูงสุดในการรักษา

เอกสารอ้างอิง

1. Squires RF. GABA and benzodiazepine receptors. Boca Raton, Fla. CRC Press, 1988. Vol. I p 3-4.
2. Bowery NG. GABA transporter protein cloned from rat brain. *Trends Pharmacol Sci.* 1990; 11 : 435-436.
3. Bowery NG, Price GW, Hudson AL, Hill DR, Wilkin GP, Turnbull MJ. GABA receptor multiplicity : Visualization of different receptor types in the mammalian CNS. *Neuropharmacol* 1984; 23(2B) : 219-231.
4. Sieghart W. GABA_A receptors : ligand-gated Cl⁻ ion channels modulated by multiple drug-binding sites. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13 : 446-450.
5. Olsen RW, Tobin AJ. Molecular biology of GABA_A receptors. *FASEB J* 1990; 4: 1469-1480.
6. Dobli A, Martin IL. Multiple benzodiazepine receptor : no reason for anxiety. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13 : 76-81.
7. Leidenheimen NJ, Browning MD, Harris RA. GABA_A receptor phosphorylation : multiple sites, actions and artifacts. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12 : 84-86.
8. Luddens H, Wisden W. Function and pharmacology of multiple GABA_A receptor subunits. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 49-51.
9. Hadingham KL, Wingrove PB, Wafford KA et al. Role of the β -subunit in determining the pharmacology of human γ -Aminobutyric acid type A receptors. *Mol Pharmacol* 1993; 44 : 1211-1218.
10. Wafford KA, Whiting PJ, Kemp JA. Differences in affinity and efficacy of benzodiazepine receptor ligands at recombinant γ -aminobutyric acid_A receptor subtypes. *Mol Pharmacol* 1992; 43 : 240-244.
11. Biggio G, Concas A, Corda MG, Serra M. Enhancement of GABAergic transmission by zolpidem, an imidazopyridine

- with preferential affinity for type I benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol* 1989; 161 : 173-180.
12. Mertens S, Benke D, Mohler H. GABA_A receptor populations with novel subunit combinations and drug binding profiles identified in brain by $\alpha 5$ - and δ -subunit-specific immunopurification. *J Biol Chem* 1993; 268(8) : 5965-5973.
 13. Ducic I, Puia G, Vicini S, Costa E. Triazolam is more efficacious than diazepam in a broad spectrum of recombinant GABA_A receptors. *Eur J Pharmacol* 1993; 244 : 29-35.
 14. Langtry HD, Benfield P. Zolpidem : A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drugs* 1990; 40(2) : 291-313.
 15. Squires RF, GABA and benzodiazepine receptors. Boca Raton, Fla. CRC Press, 1988 Vol.II p 108.
 16. Lullmann H, Mohr K, Ziegler A, Bieger D. Color Atlas of Pharmacology, 1993. p 49.
 17. Bowery NG. GABA_B receptor and their significance in mammalian pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 401-407.
 18. Bormann J. Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends Neurosci* 1988; 11(3) : 112-116.
 19. Bonanno G, Raiteri M. Multiple GABA_B receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 259-261.
 20. Bittiger H, Froestl W, Mickel SJ, Olpe H. GABA_B receptor antagonists : from synthesis to therapeutic applications. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14 : 391-393.
 21. Shimada S, Cutting G, Uhl GR. γ -aminobutyric acid A or C receptor ? γ -aminobutyric acid $\rho 1$ receptor RNA induces bicuculline-, barbiturate-, and benzodiazepine-insensitive γ -aminobutyric acid responses in *Xenopus Oocytes*. *Mol Pharmacol* 1992; 41 : 683-687.