

PL3 สารพิษต่อระบบประสาทที่อาจนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษา

รศ.ดร.จินตนา สัตยาชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ประวัติศาสตร์ของสารกลุ่ม neurotoxins หรือสารพิษต่อระบบประสาทรุนั้น มีมายาวนานควบคู่กับความเจริญก้าวหน้าของการแพทย์และ neuroscience ในปัจจุบัน neurotoxins จำนวนมากได้กลายมาเป็น experimental tools ที่สำคัญในการนำมาศึกษาเกี่ยวกับระบบประสาททั้งส่วนกลางและส่วนปลายทำให้เข้าใจถึงการทำงานในสภาพปกติและการเกิดความผิดปกติที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ อีกมากมาย นอกจากนี้ จากการที่เข้าใจถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ neurotoxins ยังทำให้สามารถนำ neurotoxins มาใช้ในทางคลินิกเพื่อรักษาอาการผิดปกติทางระบบประสาทบางชนิดได้อีกด้วย

สารกลุ่ม neurotoxins ที่รู้จักกันโดยทั่วไปจะมีอยู่มากมายหลายชนิดและมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามอาจแบ่งกลุ่มของ neurotoxins ตามแหล่งที่มาออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่

1. Intrinsic neurotoxins หมายถึง สารพิษต่อระบบประสาทที่โดยธรรมชาติแล้วจะมีอยู่ภายในระบบประสาทของมนุษย์ สำหรับ intrinsic neurotoxins ที่มีผู้ศึกษากันมากได้แก่ อนุมูลอิสระ (free radicals) และ excitatory amino acids (EAAs)

2. Extrinsic neurotoxins หมายถึง สารพิษต่อระบบประสาทที่ไม่พบในกายเรา ซึ่งในปัจจุบันนี้มีการรู้จัก neurotoxins ในกลุ่มนี้มากมายหลายชนิด ทั้งจากพืช จุลชีพ และสัตว์ รวมทั้งสารเคมีสังเคราะห์และกึ่งสังเคราะห์อีกด้วย

ในที่นี้จะขอกล่าวถึง neurotoxins เพียงบางชนิดที่มีนำมาใช้ประโยชน์ในทางคลินิกอย่างกว้างขวาง และที่มีความเป็นไปได้ที่จะมีประโยชน์ในทางคลินิกในอนาคตอันใกล้ อันได้แก่ glutamic acid (intrinsic neurotoxins) และ botulinum toxin (extrinsic neurotoxins)

Glutamic acid (GLU)

เป็นกรดอะมิโนซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหาร และเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางด้านเมแทบอลิซึมอีกหลายอย่าง ภายในสมองจะพบว่า glutamic acid เป็นกรดอะมิโนที่พบได้มากที่สุดและมีความสามารถในการกระตุ้นเซลล์ประสาทได้สูง ในปัจจุบันเป็นทราบกันดีแล้วว่า glutamic acid เป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น (excitatory neurotransmitter) ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังจัดเป็นสารพิษต่อระบบประสาท (neurotoxin) ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดโรคเสื่อมสลายของระบบประสาท (neurodegenerative diseases) อีกมากมาย

Glutamic acid จะทำให้เซลล์ประสาทเกิดการ depolarize โดยผ่านทางตัวรับซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็น ionotropic คือเชื่อมโยงกับไอออนชนิดต่าง ๆ และ metabotropic คือเชื่อมโยงกับระบบ protein G และสารอื่น ๆ ในกลุ่ม secondary messengers จากการที่ glutamic acid เป็นสารสื่อประสาทที่พบได้ในธรรมชาติ เป็นสารพิษต่อเซลล์ประสาท และยังเป็นสารแต่งรสในอาหารที่นิยมใช้โดยอยู่ในรูปของ monosodium glutamate ทำให้มีผู้นิยมนำ glutamic acid และอนุพันธ์มาใช้ในการศึกษาทางด้านประสาทวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก

จากการศึกษาโดยใช้เรตินาเป็น model พบว่า glutamic acid ซึ่งเป็น retinal transmitter ที่สำคัญตัวหนึ่ง สามารถทำลายเซลล์ประสาทในเรตินาได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังมีผลกระทบการเจริญเติบโตของลูกตาอีกด้วย โดยมีผลทำให้ลูกตามีขนาดโตกว่าข้างควบคุม เมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของ retinal protein พบว่าโปรตีนขนาดน้ำหนักโมเลกุล 42 kDa จะมีความไวต่อฤทธิ์ของ glutamic acid โดยจะเริ่มลดลงอย่างเด่นชัดในขนาดของ glutamic acid ที่ทำให้ลูกตาโตขึ้น จึงคาดว่าโปรตีนดังกล่าวน่าจะเป็น GLU-sensitive protein ตัวหนึ่ง (Sattayasai et al., 1995; 1996 a, c; 1997)

จากการตรวจสอบหาโปรตีน 42 kDa ในตัวอ่อนไก่ ทำให้ทราบว่าโปรตีนดังกล่าวจะเริ่มเห็นชัดตั้งแต่ตัวอ่อนไก่ อายุ 18 วัน (E18) และมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อตัวอ่อนมีอายุมากขึ้น จนกระทั่งออกจากไข่ (Sattayasai et al., 1996b) และเพิ่มถึงจุดสูงสุดประมาณอายุ 6 วัน หลังจากออกจากไข่ จากการที่โปรตีน 42 kDa นี้มีการสร้างมากในช่วงใกล้ออกจากไข่อย่างเห็นได้ชัด ทำให้เราเชื่อได้ว่าโปรตีน 42 kDa อาจเป็นโปรตีนที่ไวต่อแสง และอาจไวต่อฤทธิ์ของ GLU ด้วย ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าเราอาจจะสามารถศึกษาถึงการทำงานของ GLU ในสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยการติดตาม protein 42 kDa

กลุ่มวิจัยของเราได้ทำการกระตุ้น antibody ต่อ protein 42 kDa ซึ่ง antibody ที่ได้จะจับกับโปรตีน 42 kDa ได้อย่างเฉพาะเจาะจง เมื่อนำ antibody ที่ได้ไปตรวจสอบโดย immunocytochemistry ใน retinal cell culture ทำให้ทราบว่าโปรตีน 42 kDa จะพบได้มากที่ neural membrane ตรวจสอบเพิ่มเติมกับเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้งโดยวิธี Western immunoblotting และ immunohistochemistry ทำให้พบว่านอกจากเรตินาแล้วโปรตีน 42 kDa ยังสามารถพบได้ในเนื้อเยื่ออื่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สมองและตับ ส่วนที่กล้ามเนื้อหัวใจ, ตับ และไขมัน จะพบได้เล็กน้อย จึงเป็นที่น่าสนใจว่า GLU อาจมีฟังก์ชันต่อการทำงานของอวัยวะอื่น ๆ นอกเหนือจากระบบประสาทด้วย

เมื่อไม่นานมานี้ได้มีรายงานว่า glutamate สามารถลดความรุนแรงของการเกิด neuropathy ที่เกิดจากพิษของ chemotherapeutic agents หลายตัว เช่น vincristine (Boyle et al., 1996), cisplatin และ paclitaxel (Boyle et al., 1999) ทั้งที่ยาเหล่านี้ออกฤทธิ์ผ่านกลไกที่ต่างกัน และ glutamate ยังไม่มีผลรบกวนฤทธิ์ด้านมะเร็งของยาเหล่านี้อีกด้วย จากการที่กลุ่มวิจัยของเราได้ศึกษาถึง neuropathy ที่เกิดจาก pyridoxine ในขนาดสูง (Sattayasai et al., 2000) จึงทำการทดลองว่า glutamate จะสามารถลดความรุนแรงของการเกิด pyridoxine-induced

neuropathy ได้หรือไม่ ซึ่งจาก preliminary results แสดงว่า glutamate สามารถลดความรุนแรงของการเกิด pyridoxine-induced neuropathy ได้ด้วยเช่นกัน ทำให้ glutamate กลายเป็น neurotoxin อีกตัวหนึ่งที่น่าจะมีประโยชน์ในการนำมาใช้ลดความรุนแรงของ neuropathy อันเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ โดยเฉพาะที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งคือ diabetic neuropathy สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของ glutamate ในการที่มี protective effect นั้นยังไม่มีที่ทราบแน่ชัดนัก อย่างไรก็ตามได้มีรายงานมากมายเกี่ยวกับผลของ glutamate ที่มีต่อ microtubule formation โดยผ่านทาง glutamate receptor และ microtubule-associated protein (MAP)2 (Lopez et al., 1984; Bigot & Hunt, 1991; Rosenmund & Westbrook, 1993; Huang & Hampson, 2000) ผลของ glutamate ต่อ cytoskeletal proteins อาจมีผลช่วยในการทำให้เกิด balancing ของ monomeric, dimeric และ polymeric forms ของ actin และ tubulin และลดการเกิดการทำลายของ neurons ได้

Botulinum toxins (BTXs)

Botulinum toxins (BTXs) เป็นสารพิษต่อระบบประสาทที่สร้างจาก anaerobic gram positive bacterium *Clostridium botulinum* และ strain อื่น ๆ โดยสามารถทำให้เกิด neuromuscular syndrome ที่เรียกว่า "botulism" ได้ BTXs ที่ได้จะมี 7 serotypes ได้แก่ A, B, C, D, E, F และ G สำหรับ serotypes ที่พบว่ามีส่วนสัมพันธ์กับการเกิด food-borne botulism ในมนุษย์ได้แก่ A, B, E และ F โดยที่ BTX type A (BTX-A) จะทำให้เกิดอาการรุนแรงที่สุด มีผู้ศึกษามากที่สุด และเป็นตัวที่นำมาใช้ในการรักษาโรคอีกด้วย (Kessler & Benecke, 1997) โมเลกุลของ BTXs จะถูกสร้างขึ้นในรูป single chain จากนั้นจึงถูก cleaved เป็นโมเลกุลที่มี 2 chains เชื่อมต่อกันด้วย disulfide bridge สารพวก BTXs ทุกตัวจะมีผลยับยั้งการหลั่งของ acetylcholine (ACh) จากปลายประสาท โดยไม่มีผลต่อการสังเคราะห์หรือการเก็บ ทั้งนี้การออกฤทธิ์ของ BTX-A จะสามารถอธิบายได้โดย four-step model (Gracies & Simpson, 2000) ได้แก่

1. เชื่อมจับกับ high affinity ectoacceptors ซึ่งอยู่ที่ presynaptic membrane ของ cholinergic terminals โดยใช้ heavy chain เป็นตัวจับ จากการที่การจับของ BTX กับ ectoacceptors เป็นแบบ high affinity ทำให้เป็นเหตุผลที่ใช้อธิบายว่าเหตุใด BTX จึงเข้าสู่ systemic circulation ได้น้อยมากเมื่อนี้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ
2. เกิด internalization ซึ่งเกิดโดย acceptors ผ่าน presynaptic membrane โดยอาศัย lysosomal vesicle pathway ทั้งนี้กระบวนการดังกล่าวจะต้องอาศัยพลังงาน และเร่งเสริมได้โดยการกระตุ้นเส้นประสาท
3. เกิด pH-induced disulfide reduction และ translocation ทำให้ light chain เข้าสู่ cytosol และออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของ ACh

4. intracellular metalloendoprotease นั่นคือ N-terminal ของ light chain ร่วมกับ zinc ions จะมี proteolytic activity ทำให้เกิด cleavage ของ peptides ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการหลั่งของสารสื่อประสาทซึ่งเป็น calcium-dependent สำหรับ BTX-A จะมีผลเด่นชัดต่อ synaptosome-associated protein-25 (SNAP-25) นอกจากนี้ยังอาจมีผลต่อโปรตีนตัวอื่นได้อีกด้วย เช่น synaptobrevin, syntaxin และ synaptotagmin เป็นต้น (Montecucco & Schiavo, 1995; Raciborska & Charlton, 1999; Pelizzari et al., 1999)

การที่ BTX-A ยับยั้งการหลั่งของ ACh ที่ peripheral nervous system ทำให้พบว่า จะเกิดการยับยั้งการทำงานของกล้ามเนื้อไม่ว่าตัวกระตุ้นจะเป็นแบบ voluntary activation หรือ electrical nerve stimulation โดยปกติแล้วผลทางคลินิกจะเริ่มพบได้ประมาณ 24-72 ชั่วโมง หลังได้รับยา และ motor recovery จะเกิดขึ้นหลังจากมี sprouting ของ motor nerves และเกิดการสร้าง endplates ใหม่ การทดลองในหนูถีบจักรจะพบกระบวนการ sprouting เริ่มเกิดตั้งแต่ 48 ชั่วโมงหลังได้รับ BTX และดำเนินต่อไปเรื่อย ๆ ในช่วงหลายสัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

1. Bigot D, Hunt SP. The effects of quisqualate and nocodazole on the organization of MAP2 and neurofilaments in spinalcord neurons in vitro. *Neurosci Lett* 1991; 131: 21-26.
2. Boyle FM, Wheeler HR, Shenfield GM. Amelioration of experimental cisplatin and paclitaxel neuropathy with glutamate. *J Neurooncol* 1999; 41: 107-116.
3. Boyle FM, Wheeler HR, Shenfield GM. Glutamate ameliorates experimental vincristine neuropathy. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 279: 410-415.
4. Gracies J, Simpson DM. Botulinum toxin therapy. *Neurologist* 2000; 6: 98-115.
5. Huang XP, Hampson DR. Inhibition of microtubule formation by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem* 2000; 74: 104-113.
6. Kessler KR, Benecke R. Botulinum toxin : from poison to remedy. *Neurotoxicology* 1997; 18: 761-770.
7. Lopez-Colome AM, Casas A. Kainate reversibly aggregates brain tubulin in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 122: 925-931.
8. Montecucco C, Schiavo G. Structure and function of tetanus and botulinum neurotoxins. *Q Rev Biophys* 1995; 28: 423-472.
9. Pelizzari R, Rossetto O, Schiavo G, Montecucco C. Tetanus and botulinum neurotoxins : mechanism of action and therapeutic uses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354: 259-268.
10. Raciborska DA, Charlton MP. Retention of cleaved synaptosome-associated protein of 25 kDa (SNAP-25) in neuromuscular junctions : a new hypothesis to explain persistence of botulinum A poisoning. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77: 679-688.
11. Rosenmund C, Westbrook GL. Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron* 1993; 10: 805-814.
12. Sattayasai J, Puchongkavarin H, Sattayasai N. Abnormal growth in the glutamate-treated chick eyes. Fourteenth International Australasian Winter Conference on Brain Research. 26-30 August 1996, Queenstown, New Zealand, 26.
13. Sattayasai J, Puchongkavarin H, Sattayasai N. Study of retinal protein patterns in developing chick retina. 1st FAONS Congress, IBRO Regional Congress, 20-23 October 1996, Pattaya, Thailand, P. 203.
14. Sattayasai J, Sattayasai N, Puchongkavarin H. Visual deprivation and retinal changes in chick's eyes. XXXIII International Congress of Physiological Sciences, 30 June - 5 July 1997, St. Petersburg, Russia, P. 082.13.

15. Sattayasai J, Wattanathorn J, Tiamkao S. Ineffectiveness of primrose oil in correction of nerve conduction abnormalities in pyridoxine megadose-treated rats. 6th International Symposium on Pharmaceutical Sciences. 27-29 June 2000, Ankara, Turkey.
16. Sattayasai N, Puchongkavarin H, Sattayasai J. Glutamate-sensitive proteins in the chick retina. Fourteenth International Australasian Winter Conference on Brain Research. 26-30 August 1996, Queenstown, New Zealand, 27.
17. Sattayasai N, Suwanphaiboon Y, Sattayasai J. Sulfhydryl-containing proteins and abnormal eye growth. In, Biopolymers and Bioproducts : Structure, function and applications. (Svasti J, et al., eds.) 1995, Samakkhisan Public Company, Bangkok, PP. 443-447.