หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 4

การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จุดมุ่งหมายในการวิจัยเรื่องนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสิ่งที่สกัดได้จากเชื้อรา Ustilaginoidea virens ต่อความดันโลหิตของสัตว์ทดลอง โดยได้ทำการทดลองในหนูขาว เชื้อรา Ustilaginoidea virens นี้ปกติจะขึ้นตามธรรมชาติ และเป็นสาเหตุของโรคข้าวที่เรียกว่า โรคดอกกระถินของข้าว (false smut disease of rice) โดยเชื้อราจะเจริญอยู่บนเมล็ดข้าว เชื้อรานี้จะเกิดขึ้นกับเมล็ดของข้าวและพืชตระกูลหญ้าบางชนิดเท่านั้น การเพาะเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นกระทำได้ยาก ต้องใช้เวลานาน ปัจจุบันสามารถเพาะเชื้อรา Ustilaginoidea virens นี้ได้บนอาหารบางชนิด ซึ่งได้แก่ Bean pod agar, Corn meal agar, Czapeck's agar, Malt agar, Oat agar, Potato dextrose agar, Takahashi's medium B, V-8 juice agar, Saito's Soy agar อาหารแข็งของน้ำข้าวเปลือกและข้าวสารต้ม (Unhulled and hulled rice decoction agar) และข้าวนึ่ง[4] ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้ Potato dextrose agar (PDA) และ Potato dextrose broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens สามารถเจริญได้ดีกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น และวิธีการเตรียมและการเพาะเชื้อไม่ยุ่งยาก[4] การที่ใช้เชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่เพาะขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาทดลองเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้ เพื่อหลีกเลี่ยงความแปรผันที่อาจเกิดเนื่องจากตัวอย่างเชื้อราที่ได้มาจากธรรมชาติ กล่าวคือ เชื้อราที่ได้จากเมล็ดข้าวที่เป็นโรคดอกกระถินนั้นไม่บริสุทธิ์ จะมีส่วนของเมล็ดข้าวและจุลินทรีย์ชนิดอื่นติดปนมาด้วย นอกจากนี้แล้ว เชื้อราที่ได้จากเมล็ดข้าวต่างรวงกัน หรือเชื้อราที่ได้จากเมล็ดข้าวในท้องถิ่นต่าง ๆ กัน จะแสดงความรุนแรงของโรคดอกกระถินที่เกิดขึ้นไม่เท่ากันด้วย แต่อย่างไรก็ดีการทดลองนี้ได้ใช้เชื้อราที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมาศึกษาควบคู่ไปด้วย โดยได้ทำการทดลองเปรียบเทียบระหว่างฤทธิ์ที่เกิดจากการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่ได้จากการเพาะขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อกับฤทธิ์ที่เกิดจากการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่เกิดอยู่ตามธรรมชาติบนเมล็ดข้าวที่เป็นโรคดอกกระถิน การวิจัยจึงได้แบ่งวิธี

ดำเนินการทดลองเป็น 2 ภาค คือ ภาคแรกเป็นการเตรียมและสกัดเชื้อรา Ustilaginoidea virens ทั้งที่ได้จากธรรมชาติและที่เพาะขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง การทดลองในภาคหลังเป็นการนำสิ่งสกัดจากเชื้อราส่วนต่าง ๆ มาฉีดให้กับหนูขาวเพื่อดูผลต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจ อีกทั้งยังได้ทดลองเปรียบเทียบกับสารอ้างอิง และยาที่ใช้อ้างอิง (reference drug) เพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ (mechanism of action) ของสิ่งสกัดจากเชื้อราอย่างกว้าง ๆ

จากผลการฉีดเข้าเส้นโลหิตดำของสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T ส่วน B ส่วน M และส่วน S ในหนูขาวที่สลบด้วย Urethane ตามตารางที่ 1 ถึงตารางที่ 4 และรูปที่ 3 ถึงรูปที่ 6 ปรากฏว่า สิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S ซึ่งเป็นสิ่งสกัดที่ได้จากเมล็ดข้าวที่เป็นโรคดอกกระถินนั้นสามารถทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดต่ำลงจากระดับปกติได้ และอัตราการเต้นของหัวใจช้าลงและสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T ส่วน B และส่วน M ซึ่งเป็นสิ่งสกัดที่ได้จากส่วนของเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่เพาะขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อก็สามารถทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดต่ำลงจากระดับปกติและหัวใจเต้นช้าลงได้เช่นกัน การลดลงของความดันโลหิตอันเนื่องมาจากการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อราทั้ง 4 ส่วนนี้ จะมีลักษณะคล้ายกัน คือ การลดลงของความดันโลหิตจะเกิดขึ้นเป็น 2 ระยะ ระยะแรกความดันโลหิตจะลดต่ำลงมาก เป็นเวลาไม่เกิน 1 นาที จากนั้นความดันโลหิตจะสูงขึ้นเล็กน้อยและตามด้วยการลดต่ำลงอีกครั้งหนึ่งเป็นระยะที่ 2 ซึ่งในระยะหลังนี้ความดันโลหิตจะลดลงไม่เท่ากับระยะแรก แต่จะคงอยู่เป็นเวลานานและการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตจะสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจ กล่าวคือ เมื่ออัตราการเต้นของหัวใจลดลงอย่างมากความดันโลหิตก็จะต่ำลงมากด้วย ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับขณะที่ความดันโลหิตลดต่ำลงเพียงเล็กน้อยจะพบว่า อัตราการเต้นของหัวใจก็จะช้าลงเพียงเล็กน้อยเช่นกัน เนื่องจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่เพาะขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นได้มาจากการแยกเชื้อราที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติบนเมล็ดข้าว ดังนั้น จึงพอสรุปจากผลการทดลองได้ว่า การที่ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงภายหลังจากการฉีดสิ่งสกัดที่ได้จากเมล็ดข้าวที่เป็นโรคดอกกระถินนั้นเป็นผลมาจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่อยู่บนเมล็ดข้าว ในแง่ที่กลับกันการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่ได้จากการเพาะขึ้นบน

อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นยังคงมีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตเช่นเดียวกับ Ustilaginoidea virens ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ

การเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจตลอดจนระยะเวลาการออกฤทธิ์จะมีความสัมพันธ์กับขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้กับหนูขาว และการเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้นมากหรือน้อย จะขึ้นอยู่กับส่วนของสิ่งสกัดจากเชื้อราด้วย สิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้กับหนูขาวจะเริ่มมีผลทำให้ความดันโลหิตลดลง ตั้งแต่ขนาด 0.05 มล. ซึ่งเป็นขนาดต่ำสุดที่ให้ และการให้ในขนาดต่ำ จะทำให้การลดลงของความดันโลหิตเกิดขึ้นเพียงระยะเดียวเมื่อเพิ่มขนาดให้มากขึ้น การลดลงของความดันโลหิตจึงเกิดขึ้นเป็น 2 ระยะ เมื่อศึกษา Dose - response - characteristics ของสิ่งสกัดจากเชื้อราแต่ละส่วน (รูปที่ 15 ถึงรูปที่ 21) ได้ผลดังนี้ คือ

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้แก่หนูขาวกับเปอร์เซ็นต์การลดลงของความดันโลหิต ปรากฏว่า เมื่อเพิ่มขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราทั้ง 4 ส่วนจะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การลดลงของความดันโลหิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการลดลงของความดันโลหิตในระยะที่ 1 เปอร์เซ็นต์การลดลงจะมากที่สุด 63.37% ที่ขนาด 0.05 มล. ซึ่งเกิดจากการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T โดยเฉลี่ยแล้วสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S จะมีผลต่อการลดของความดันโลหิตมากกว่าสิ่งสกัดจากเชื้อราส่วนอื่น ๆ และที่มีผลรองลงมาคือ ส่วน T จากรูปที่ 15 จะเห็นว่า เส้นกราฟ (regression line) ของส่วน S และ ส่วน T จะขนานกันสำหรับการลดของความดันโลหิตในระยะที่ 2 สิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วนT จะมีผลต่อการลดของความดันโลหิตมากที่สุด ที่มีผลรองลงมาคือ ส่วน S และส่วน B จะมีผลต่อการลดของความดันโลหิตในระยะที่ 2 น้อยที่สุด

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้กับหนูขาวกับเปอร์เซ็นต์การลดลงของอัตราการเต้นของหัวใจ พบว่า เมื่อเพิ่มขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราทั้ง 4 ส่วนที่ฉีดให้กับหนูขาว จะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การลดของอัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ยกเว้นกรณีของเปอร์เซ็นต์การลดของอัตราการเต้นของหัวใจในระยะที่ 2 ซึ่งเกิดจากการฉีด ส่วนM และส่วน B จะเปลี่ยนตามขนาดที่ให้อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อัตราการเต้นของหัวใจจะลดลงมากที่สุดในระยะที่ 1 ที่ขนาด 0.05 มล.

ซึ่งเกิดจากการฉีด ส่วน S โดยทำให้เปอร์เซ็นต์ของอัตราการเต้นของหัวใจลดลงถึง 54.00% จากรูปที่ 17 และรูปที่ 18 จะสังเกตเห็นได้ว่าเส้นกราฟของสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S และส่วน T จะขนานกัน

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้แก่หนูขาวกับระยะเวลาที่ความดันโลหิตลดลง พบว่า เมื่อเพิ่มขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้แก่หนูขาว จะมีผลทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงเป็นระยะเวลานานมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) โดยที่สิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T จะออกฤทธิ์ทำให้ความดันโลหิตลดลงได้นานกว่าส่วนอื่น ๆ กล่าวคือเมื่อให้ ส่วน T ในขนาด 0.50 มล. จะทำให้ระยะเวลาที่ความดันโลหิตลดลง (Total Duration) มีค่ามากที่สุด = 658.87 วินาที (ประมาณ 11 นาที) และสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน B จะมีระยะเวลาการออกฤทธิ์ (ระยะเวลาทั้งหมดที่ความดันโลหิตลดลง) น้อยที่สุด

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้แก่หนูขาวกับอัตราการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัดจากเชื้อราดังกล่าวมาแล้วนี้ สรุปได้ว่า ขนาด (Dose) ของสิ่งสกัดจากเชื้อรา จะมีอิทธิพลต่อการสนองตอบซึ่งวัดในค่าของการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจ การเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต และระยะเวลาในการออกฤทธิ์ คือการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้จะแปรผันตามขนาดของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ฉีดให้กับหนูขาว และพบว่าสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วนT ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดได้จากเส้นใยของเชื้อรา Ustilaginoidea virens ที่เพาะขึ้นบนอาหารแข็ง จะมีผลต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจของหนูขาวใกล้เคียงกับสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S ซึ่งได้จากธรรมชาติมากที่สุด นอกจากนี้แล้ว ส่วน T ยังออกฤทธิ์ได้มากกว่า ส่วน M และส่วน B เมื่อเทียบในขนาดที่ให้เท่า ๆ กัน แสดงว่าสารสำคัญ (active ingredient) หรือสิ่งซึ่งมีผลต่อการออกฤทธิ์จะมีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T มากกว่า ส่วน M และส่วน B ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าสารสำคัญนี้คงจะอยู่ในส่วนเส้นใย (mycelium) ของเชื้อราหรือเชื้อราผลิตขึ้นมาแล้วไม่ได้ปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ (media) หมด มิฉะนั้นแล้วผลที่ได้จากการฉีด ส่วน B ซึ่งเป็นส่วนของอาหารเหลวที่เพาะเชื้อราไว้นาน 8 สัปดาห์ และได้แยกส่วนของเส้นใยของเชื้อราออกไปแล้ว ควรจะมีฤทธิ์มากกว่าส่วนอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามสารสำคัญที่ได้จากเชื้อรา Ustilaginoidea virens นี้ คงจะมีบางส่วนที่มาอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

และบางส่วนยังคงอยู่ในเส้นใยของเชื้อราเพราะทั้ง ส่วน B และส่วน M ยังคงมีผลต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจของหนูขาว

เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าการลดลงของความดันโลหิตของหนูขาวนั้นเป็นผลเนื่องมาจากสารสำคัญที่มีอยู่ในเชื้อรา Ustilaginoidea virens หรือที่เชื้อรานี้ผลิตขึ้นมา ไม่ได้เกิดจากสารอื่นที่มีอยู่ตัวทำละลาย (Vehicle) หรือไม่ได้เกิดจากผลโดยตรง (mechanical effect) ของการฉีดเข้าเส้นโลหิตดำ จึงได้ทำการทดลองฉีด Normal Saline Solution (NSS) และ Potato dextrose broth (PDB) ให้แก่หนูขาวอีก 2 กลุ่ม ซึ่งได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 5 รูปที่ 7 และตารางที่ 6 รูปที่ 8 แล้วนำผลมาวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับผลของการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ดังแสดงไว้ในตารางที่ 12 ถึงตารางที่ 15 ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้ คือ

การฉีด NSS แต่เพียงอย่างเดียวทำให้การเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตเกิดขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5) การเปลี่ยนแปลงที่อาจมองเห็นได้ในบางครั้ง (รูปที่ 7) อาจเนื่องมาจาก mechanical effect ที่เกิดจากแรงกระทำขณะฉีดสารละลายเข้าเส้นโลหิตดำ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T กับผลของการฉีด Normal Saline Solution (NSS) แล้ว ปรากฏว่า ทั้งเปอร์เซ็นต์การลดลงของความดันโลหิต เปอร์เซ็นต์การลดของอัตราการเต้นของหัวใจและระยะเวลาการออกฤทธิ์ที่เกิดจากการฉีด ส่วน T จะต่างจากผลของ NSS อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้ ควรเกิดจากสารสำคัญที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T

เมื่อเปรียบเทียบผลของการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน B กับผลของการฉีด Potato dextrose broth (PDB) ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของความโลหิตในระยะที่ 1 และระยะเวลาการออกฤทธิ์จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ดีผลอันเนื่องมาจาก PDB จะแตกต่างจากผลของ ส่วน B อย่างเห็นได้ชัด คือ ระยะเวลาการออกฤทธิ์ของ PDB สั้นมาก และการลดลงของความดันโลหิตจะไม่ปรากฏเป็น 2 ระยะ ในแง่ของผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ พบว่า การลดลงของอัตราการเต้นของหัวใจซึ่งเกิดจากการฉีดส่วน B จะต่างจากผลของ PDB อย่างไม่มีนัยสำคัญ การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากสารอื่นที่ปนอยู่ในส่วน B ร่วมออกฤทธิ์ด้วย ซึ่งอาจเป็นอิออน (ions) บางชนิดหรือสาร

ละลายอื่น ๆ ที่มีอยู่ในอาหารเหลว (potato dextrose broth) แต่ผลส่วนใหญ่จะเกิดจากสารสำคัญที่ได้จากเชื้อรา

เมื่อเปรียบเทียบผลของการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน M กับผลของการฉีด Normal Saline Solution (NSS) ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของความดันโลหิต เปอร์เซ็นต์การลดลงของอัตราการเต้นของหัวใจ และระยะเวลาการออกฤทธิ์ที่เกิดจากการฉีด ส่วน M จะต่างจากผลของ NSS อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่า การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้ควรเกิดจากสารสำคัญที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T

เมื่อเปรียบเทียบผลของการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S กับผลของการฉีด Normal Saline Solution (NSS) ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของความดันโลหิต เปอร์เซ็นต์การลดของอัตราการเต้นของหัวใจ และระยะเวลาการออกฤทธิ์ที่เกิดจากการฉีด ส่วน S จะต่างจากผลของ NSS อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้เกิดจากสารสำคัญที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน S

จากการหาปริมาณโปแตสเซี่ยมที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อราส่วนต่าง ๆ ปรากฏว่ามีปริมาณโปแตสเซี่ยมค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T ดังนั้นผลที่เกิดขึ้นต่อความดันโลหิตเมื่อฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรานี้อาจเนื่องมาจากโปแตสเซี่ยม เมื่อได้ทดลองฉีด Standard potassium solution (Std.K) ซึ่งเป็นสารละลายที่มีโปแตสเซี่ยมเท่ากับสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T (K = 96 mEq./L.) ให้แก่หนูขาว พบว่า Std.K สามารถทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดต่ำลงได้ แต่เป็นเวลาไม่ถึง 30 วินาที จากการวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบผลการฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T กับผลการฉีด Std.K (ตารางที่ 16) ปรากฏว่า เปอร์เซ็นต์การลดของความดันโลหิตในระยะที่ 1 และระยะเวลาที่ความดันโลหิตลดลงในระยะที่ 1 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่เมื่อให้ในขนาดสูง คือ 0.45 มล. และ 0.50 มล. ความแตกต่างระหว่างผลของ ส่วน T กับของ Std.K จะแสดงนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการออกฤทธิ์ทั้งหมด (Total duration) แล้วปรากฏว่า สิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T จะออกฤทธิ์ได้นานกว่า Std.K และระยะเวลาการออกฤทธิ์นี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการวิเคราะห์นี้ อาจสรุปได้ว่า การลดลงของความดันโลหิตในระยะที่ 1 ซึ่งเกิดจากการฉีด ส่วน T อาจมีส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากโปแตสเซี่ยมที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อรา แต่อย่างไรก็ดีคงต้องมีสารสำคัญ

ชนิดอื่นอีกที่มีผลทำให้ความดันโลหิตลดลง เนื่องจากการลดลงของความดันโลหิตที่เกิดจากการฉีด ส่วน T เกิดขึ้นเป็น 2 ระยะ ในขณะที่การฉีด Std.K ทำให้ความดันโลหิตลดลงเพียงระยะเดียว และเป็นระยะเวลาไม่นาน

เมื่อได้ทำการทดลองต่อไปโดยฉีดสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ได้แยกอิออนออกแล้วให้แก่หนูขาว ผลปรากฏว่า มีผลต่อความดันโลหิตน้อยมาก คือ ทำให้ความดันโลหิตลดลงเพียงเล็กน้อยเป็นเวลานานไม่ถึง 15 วินาที ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า หลังจากได้แยกเอาอิออนออกโดยการทำ dialysis แล้ว ฤทธิ์ของสิ่งสกัดจากเชื้อราที่มีต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจในหนูขาว จะสูญเสียไป ที่เป็นเช่นนี้อาจให้เหตุผลได้ว่า สารสำคัญที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจากเชื้อราอาจแพร่กระจาย (diffuse) ออกมาภายนอก dialysis tubing อีกกรณีหนึ่งซึ่งอาจจะเป็นไปได้ คือ สารสำคัญที่มีอยู่อาจหมดสภาพที่จะทรงคุณฤทธิ์ได้ดังเดิม เนื่องจากการทำ dialysis นั้นใช้เวลานานถึง 4 วัน สารสำคัญนั้นอาจจะแตกตัวหรือรวมตัวกับสารอื่นหรือถูกทำลายให้หมดฤทธิ์ได้

การที่สารใดสามารถทำให้ความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจลดลงได้นั้น กลไกในการออกฤทธิ์ของสารนั้นอาจมีได้ต่าง ๆ กัน ในการทดลองเพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัดจากเชื้อรานี้ ได้ตั้งความเป็นไปได้ไว้บางประการ กล่าวคือ การที่สารใดจะมีฤทธิ์เฉียบพลันทำให้ความดันโลหิตลดลงได้นั้น (1) สารนั้นอาจมีฤทธิ์คล้าย acetylcholine คือทำให้หัวใจเต้นช้าและอ่อนลง และทำให้หลอดเลือดขยายตัว (2) สารนั้นอาจลดอัตราการทำงานของหัวใจโดยยับยั้งการทำงานของ β - adrenergic receptors (3) สารนั้นอาจขยายหลอดโลหิตโดยยับยั้งการทำงานของ α - adrenergic receptors หรือ (4) สารนั้นอาจมีฤทธิ์โดยตรงโดยต้านการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจหรือกล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือด

จากผลการทดลองดังแสดงไว้ในรูปที่ 11 จะเห็นว่า atropine ซึ่งสามารถยับยั้งฤทธิ์ของ Acetylcholine ได้จะไม่มีผลต่อฤทธิ์ของสิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T ดังนั้นย่อมแสดงว่า การออกฤทธิ์ต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจ ของสารสำคัญในสิ่งสกัดไม่ได้อาศัยกลไกเช่นเดียวกันกับ Acetylcholine

ในทำนองเดียวกันการที่สิ่งสกัดส่วน T ไม่ทำให้ผลที่เกิดจากการฉีด adrenaline,

isoproterenol หรือ noradrenaline ต่างไปจากเดิม (ดูรูปที่ 12 รูปที่ 13 และรูปที่ 14) ย่อมแสดงว่า สิ่งสกัดจากเชื้อรา ส่วน T ไม่มีผลในการยับยั้งการทำงานของทั้ง β - adrenergic receptors และ α - adrenergic receptors ดังนั้น จึงไม่น่าจะเป็นไปได้ที่สารสำคัญที่มีอยู่ในสิ่งสกัดจะออกฤทธิ์โดยอาศัยกลไกตามข้อ (1) ข้อ (2) และข้อ (3) ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น อย่างไรก็ดีผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า สิ่งสกัดได้จากเชื้อราทำให้อัตราการเต้นของหัวใจของหนูขาวลดลง ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับผลจากการทดลองอื่นที่ผู้วิจัยได้กระทำในหัวใจห้องบนของหนูขาวที่ตัดออกมาจากตัว (Isolated auricle) และที่ศาสตราจารย์ พิสิทธิ์ สุทธิอารมณ์ และคณะได้กระทำในหัวใจของกระต่ายและหนูตะเภาที่ตัดออกมาจากตัวเช่นกัน[3] นอกจากนี้ ในการทดลองโดยใช้หัวใจของสัตว์ทดลองที่ตัดออกจากตัวดังกล่าวข้างต้น ยังพบอีกว่า สิ่งสกัดจากเชื้อราทำให้แรงกระตุกของกล้ามเนื้อหัวใจของสัตว์ทดลองลดลง แม้ผลการทดลองเท่าที่กล่าวมาแล้ว จะยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในสิ่งสกัดจากเชื้อรา Ustilaginoidea virens นั้นเป็นเช่นไร แต่ผลของสิ่งสกัดต่อการเต้นของหัวใจชี้แนะว่า การลดลงของทั้งอัตราเร็วและความแรงของการเต้นของหัวใจ ซึ่งเป็นผลให้ cardiac output ลดลง อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความดันโลหิตของสัตว์ทดลองลดลง

การวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา Ustilaginoidea virens สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องทดลอง และสิ่งสกัดจากเชื้อราที่ได้จากการเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลทำให้ความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจของหนูขาวลดลงได้เช่นเดียวกับสิ่งสกัดที่ได้จากเมล็ดข้าวที่เป็นโรคดอกกระถิน จากการศึกษาฤทธิ์ของส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากขบวนการเพาะเลี้ยง แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญ (active ingredient) ที่ทำให้ความดันโลหิตลดลง ส่วนใหญ่ควรจะมีอยู่ในเส้นใยของเชื้อรา หรืออาจถูกปลดปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อได้บ้างเป็นส่วนน้อย ผลในการทำให้ความดันโลหิตลดส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากโปแตสเซี่ยมที่มีอยู่ในเชื้อราหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ผลส่วนใหญ่น่าจะเนื่องมาจากสารอื่นที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา การทดลองเพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัดจากเชื้อรา ไม่พบว่าสิ่งสกัดมีฤทธิ์เป็น α - adrenergic blocking agent หรือ β - adrenergic blocking agent หรือออกฤทธิ์เป็น cholinergic แต่อย่างใด แต่น่าที่จะออกฤทธิ์โดยตรงโดยการลดอัตรา

การทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ

จากผลการวิจัยครั้งนี้ มีข้อเสนอแนะว่า ควรจะได้ทำการศึกษาในขั้นต่อไปเพื่อให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่นอนของสิ่งสกัดที่ได้จากเชื้อรานี้ เช่น ศึกษาว่าสิ่งสกัดที่ได้จากเชื้อรานี้ จะมีผลในการลดความต้านทานส่วนปลายของระบบไหลเวียนของโลหิตด้วยหรือไม่ นอกจากนี้แล้วควรจะได้ศึกษาหาวิธีสกัดและแยกสารที่มีอยู่ในเชื้อราเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ว่าเป็นสารเคมีประเภทใด และศึกษาต่อไปว่า สารสำคัญที่มีอยู่นั้นมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological effects) เป็นอย่างไรบ้าง