

ผลของไดออกซอรีนต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ

ในสมองน้อยของหนูแรท

โดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตพอเรซิส

นางสาวศิริวรรณ นิลเนตร



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาสารีวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-155-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

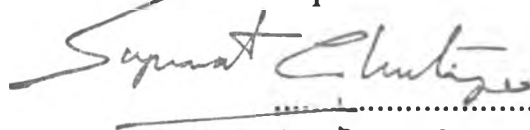
EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT CEREBELLAR
PURKINJE CELLS ACTIVITIES
USING MICROIONTOPHORETIC TECHNIQUE

Miss Siriwan Nilnate

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Inter-department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic year 1996
ISBN 974-636-155-4

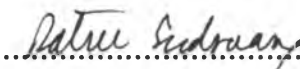
Thesis Title Effects of Dioscorine on Rat Cerebellar Purkinje
 Cells Activities Using Microiontophoretic
 Technique
By Miss Siriwan Nilnate
Inter-department Physiology
Thesis Advisor Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.
Thesis Co-advisor Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirments for the Master's degree.




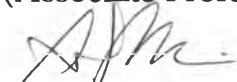
.....Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

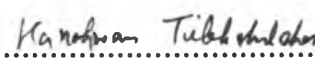
Thesis Committee

.....Chairman
(Professor Ratee Sudsuang, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

.....Member
(Assistant Professor Anan Srikiatkhachorn,
M.D.)

.....Member
(Assistant Professor Kanokwan Tilokskulchai,
Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



ศิริวรรณ นิลเนตร : ผลของไดออสคอร์นต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในสมอง
น้อยของหนูแรทโดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตโฟเรซิส (EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT
CEREBELLAR PURKINJE CELLS ACTIVITIES USING MICROIONTOPHORETIC
TECHNIQUE) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ภาวิศ ทองโรจน์. อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร.
บุญยงค์ ตันติสิระ. 56 หน้า. ISBN 974-636-155-4

การวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของไดออสคอร์นต่อการทำงานของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในสมอง
น้อยของหนูแรท โดยใช้เทคนิคไมโครไอออนโตโฟเรซิส พบว่า ไดออสคอร์นออกฤทธิ์เพิ่มอัตราการปลด
ปล่อยกระแสประสาทของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ เมื่อให้ไดออสคอร์นร่วมกับสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง
ได้แก่ GABA, glycine, taurine, 5-hydroxytryptamine, และ noradrenaline พบว่า
ไดออสคอร์นออกฤทธิ์ต้านการยับยั้งของสารสื่อประสาทดังกล่าวทุกตัว ขณะที่ไดออสคอร์นไม่มีผลต่อการออก
ฤทธิ์ของสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น ได้แก่ glutamate และ aspartate เลย

ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ไดออสคอร์นอาจออกฤทธิ์ผ่านกลไกช่องทางผ่านของไอออนที่เป็นเหตุ
ของฤทธิ์ยับยั้งของสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง ได้แก่ ช่องโปแตสเซียม หรือ ช่องคลดไรด์ หรือทั้งสองช่อง

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา.....
สาขาวิชา สรีรวิทยา.....
ปีการศึกษา 2539.....

ลายมือชื่อนิสิต Sirinon Nilnote.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Boonyong Tanpsirak.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Boonyong Tanpsirak.....

C745749 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: dioscorine / cerebellar Purkinje cell / microiontophoresis

SIRIWAN NILNATE : EFFECTS OF DIOSCORINE ON RAT CEREBELLAR PURKINJE
CELLS ACTIVITIES USING MICROIONTOPHORETIC TECHNIQUE. THESIS ADVISOR
: ASSO. PROF. PAVICH TONGROACH, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSO.
PROF. BOONYONG TANTISIRA, Ph.D. 56pp. ISBN 974-636-155-4

Effects of dioscorine (DCR) were tested on rat cerebellar Purkinje cells by means of microiontophoresis. It was observed that DCR consistently excited spontaneous firing of Purkinje cells. When tested against responses of Purkinje cells to inhibitory putative neurotransmitters, namely, GABA, glycine, taurine, 5-hydroxytryptamine, and noradrenaline, it was observed that DCR produced blockade of depressant actions of all these neurotransmitters, while the actions of excitatory putative neurotransmitters, glutamate and aspartate, remained unaffected.

It is suggested that DCR may act on Purkinje cells via ion channel mechanism which is common to all inhibitory neurotransmitters, namely, potassium channels, or chloride channels, or both.

ภาควิชา..... สหสาขาสรวิทยา.....

สาขาวิชา..... สรวิทยา.....

ปีการศึกษา..... 2539.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *Sirwan Nilnote*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Pavich Tongroach*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *Boonyong Tantisira*

Acknowledgements

I would like to express my gratitude to my advisor, Assoc. Prof. Dr. Pavich Tongroach, and co-advisor, Assoc. Prof. Dr. Boonyong Tantisira, for their kind advice, guidance, and constant encouragement throughout the preparation of this study.

My thanks are also due to Assist. Prof. Dr. Chamnan Patarapanich for preparation of dioscorine HCl. Special thanks are due to Heads of Departments of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences and Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for their helpful advice and allowing me to carry out this work in their departments.

Similarly, I am indebted to all staff members of the Department of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, for their valuable helps.

I would like to extend my grateful thanks to the Graduate School, Chulalongkorn University for the financial support in conducting this study.

Last, but not least, my grateful thanks are extended to my parents whose support, patience and encouragement, made everything possible.

Contents

	Page
Abstract (Thai).....	iv
Abstract (English).....	v
Acknowledgements.....	vi
Contents.....	vii
List of Tables.....	viii
List of Figures.....	ix
List of Abbreviations.....	xii
Chapter	
I Introduction.....	1
II General Method.....	12
III Results.....	25
IV Discussion and Conclusion.....	40
References.....	45
Curriculum Vitae.....	56

List of Tables

Table	Page
1. Substances used in microiontophoretic study.....	16
2. Summary of microiontophoretic study of DCR on cortical neurons of the cerebellum.....	26

List of Figures

Figure	Page
1. Chemical Structure of Dioscorine.....	10
2. Schematic view of a single cerebellar folium.....	10
3. Basic neuronal circuitry and putative neurotransmitters in the cerebellum.....	11
4. Diagrammatic representation of experimental arrangments routinely employed in experiments involving electrophysiological investigation and microiontophoresis.....	23
5. Maintained discharge of a Purkinje cell, recorded extracellularly, showing its two different spike potentials.....	24
6. Effect of microiontophoretic application of DCR in dose dependent manner on spontaneous firing rate of Purkinje cells.....	31
7. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (30 nA) and GLY (45 nA) on neuronal firing of Purkinje cells.....	32
8. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 40 nA) superimposed	

- on the depressant actions of GABA (45 nA) and TAU (80 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 33
9. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and NA (70 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 34
10. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and 5-HT (90nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 35
11. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR; 30 nA) superimposed on the excitant actions of GLU (50 nA) and ASP (70nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 36
12. Effect of continuous microiontophoretic application of DCR in current dose (DCR: 30 nA) superimposed on the depressant action of GABA (10 nA) and the excitant actions of GLU (10 nA) and ASP (20 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 37
13. Effect of continuous microiontophoretic application of BMC (30 nA) and DCR (30 nA) superimposed on the depressant actions of GABA (10 nA) and GLY (70 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 38
14. Effect of continuous microiontophoretic application of STRY (30 nA) and DCR (30 nA) superimposed on

the depressant actions of GABA (20 nA) and GLY
(50 nA) on neuronal firing of Purkinje cells..... 39

List of Abbreviations

γ	=	gamma
μV	=	microvolt
%	=	percentage
$^{\circ}\text{C}$	=	degree celsius
$\text{M}\Omega$	=	megaohm
ACh	=	acetylcholine
CNS	=	Central Nervous System
D.C.	=	direct (electrical) current
EEG	=	electroencephalogram
et al.	=	et alii (and other)
g	=	gram
HCl	=	hydrochloric acid; hydrochloride
kg	=	kilogram
LD_{50}	=	median lethal dose
M	=	molar
mM	=	millimolar
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
mm	=	millimetre
nA	=	nanoampere
NaCl	=	sodium chloride

NaOH = sodium hydroxide

sec = second