

Abstract

Project Code : PDF/29/2544

Project Title : Roles of opioid and their opioid receptors on the neuromodulation of intestinal secretory host defense mechanism

Investigator : Assistant Professor Sutthasinee Poonyachoti, Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

E-mail Address : sutthasinee.p@chula.ac.th

Project Period : 1 July 2001 – 30 June 2003

Abstract: Opioids have been shown to inhibit the neuronal release of prosecretory enteric neurotransmitters via the specific opioid receptors (ORs). The main objective of this project was to study the roles of opioid and their receptors on the neuromodulation of intestinal secretory host defense mechanism. The porcine ileal mucosa obtained as the model for human bowel were isolated from the growing pigs and characterized for the type of opioid receptors on the submucosal plexuses of enteric neurons using the immunohistochemistry techniques. *Delta*-opioid receptors (δ -OR) appear to be predominant OR in neurons and nerve fibers throughout the porcine enteric nervous system (ENS). In contrast, *kappa*-opioid receptors (κ -OR) mu-opioid receptors (μ -OR) were not expressed in either the nerve fibers or neurons of submucosal plexuses in porcine ileum. In the submucosal plexus, most populations of the neurons containing the vanilloid type I receptor (VR-1) or calcitonin gene related peptides (CGRP) but some substance P (SP) which are members of intrinsic primary afferent neurons (IPANs) coexpressed with δ -OR immunoreactivities. Most of secretory motor neurons indicated by the immunoreactivities of choline acetyl transferase (ChAT) coimmunoreacted with δ -OR antibody. In contrast, only 2% of the motor neurons containing vasoactive intestinal peptides or nitric oxide synthase coexpressed with δ -OR immunoreactivity. In addition, neurons expressed both ChAT and VR-1 were mostly coexpressed with immunoreactivity of δ -OR antibody suggesting the important in enteric neural reflex. Roles of δ -opioids on the active ion secretion evoked by enteric neural reflex were examined in the ileal mucosal using Ussing chamber apparatus. The stripped-ileal mucosa were mounted in Ussing chambers and the voltage-clamp amplifier was used to measure short circuit current (Isc) and transepithelial potential difference. Substance P (1 μ M), CGRP (1 μ M), carbachol (10 μ M) or mast cell degranulator compound 48/80 (10 ng/ml) but capsaicin (10 μ M) produced a rapid increase in Isc which sensitized to saxitoxin (1 μ M) or furosemide (1 μ M). DOR agonist, [D-Pen², D-Pen⁵]-enkephalin (DPDPE, 0.1 μ M) inhibited CGRP-, SP- or compound 48/80-evoked anion secretion by 30%, 75% or 50%, respectively. DPDPE could not reveal an inhibitory effects on cch-stimulated ion secretion. The present study indicates that DOR expressed on IPANs plays an inhibitory functions on the active anion secretion-evoked by neurogenic stimulation or degranulated mast cells. The evidences may suggest the functional roles of neuronal DOR on the intestinal defense mechanism (i.e. motility, immune function) regulated by IPANs.

Keywords : Opioid receptor, ENS, active ion secretion, defense mechanism

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : PDF/29/2544

ชื่อโครงการ : บทบาทของสาร Opioid และ Opioid receptors ต่อการเปลี่ยนแปลงระบบป้องกันของทางเดินอาหารที่ควบคุมโดยระบบประสาท

ชื่อนักวิจัย : ผศ. สพ.ญ.ดร. สุทธาสินี ปุญญโชติ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : sutthasinee.p@chula.ac.th

ระยะเวลาของโครงการ : 1 กรกฎาคม 2544 – 30 มิถุนายน 2546

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการปรากฏและบทบาทของตัวรับโอปิออยด์บนเซลล์ประสาทชนิดตัวรับ (Intrinsic primary afferent neurons, IPANs) ซึ่งอาจเป็นเซลล์ประสาทที่ควบคุมการหลั่งสารน้ำและอิเล็กโตรไลต์จากเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารภายใต้สภาวะที่ Mast cells แดกตัวเพื่อใช้เป็นกลไกการป้องกันของระบบทางเดินอาหาร จากการศึกษาการปรากฏของตัวรับโอปิออยด์ (Opioid receptors) ด้วยวิธี Immunohistochemistry ของ Anti-opioid receptor antibody ร่วมกับ Antibody ของตัวรับ Vanilloid receptor type I (VR-I) หรือเอ็นไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารสื่อประสาทชนิด substance P (SP), calcitonin gene-related peptides (CGRP), vasoactive intestinal peptides (VIP), Nitric oxide (NO) หรือ cholinergic neurons ของเยื่อบุทางเดินอาหารของสุกรส่วนอเล็กซ์พบว่า เซลล์ประสาทของ Submucosal plexuses ส่วนนอก (Outer submucosal plexus; OSP) และส่วนใน (Inner submucosal plexus; ISP) มีการปรากฏของ opioid receptor ชนิด delta (DOR) เท่านั้นโดยไม่พบการปรากฏตัวรับโอปิออยด์ชนิดอื่น นอกจากนี้พบว่าเซลล์ประสาทที่มีตัวรับ DOR ส่วนใหญ่ใน ISP นั้นจะเป็นเซลล์ประสาทชนิดที่มี VR-I หรือ CGRP ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มักพบอยู่ในเซลล์ประสาทชนิด IPANs และเซลล์ประสาทที่มีตัวรับ DOR ส่วนใหญ่ให้ปฏิกิริยาเป็นผลบวกกับแอนติบอดีเซลล์ประสาทต่อ Choline acetyltransferase (ChAT) ซึ่งเป็นตัวบ่งถึงการเป็นเซลล์ประสาทสั่งการชนิด Cholinergic แต่อย่างไรก็ตามมีเซลล์ประสาทที่มีตัวรับ DOR จำนวนเล็กน้อยที่เป็นเซลล์ประสาท IPANs ชนิดที่มี SP หรือเซลล์ประสาทสั่งการชนิดที่มี NO หรือ VIP จากการศึกษาบทบาทของ DOR ในการยับยั้งการหลั่งสารน้ำและอิเล็กโตรไลต์จากเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารภายใต้การกระตุ้นผ่านกลไกของ IPANs หรือจากการที่ Mast cells แดกตัวด้วยอุปกรณ์ Ussing chambers ที่เชื่อมต่อกับเครื่อง voltage clamp พบว่าการขับหลั่งไอออนของเยื่อบุส่วนอเล็กซ์ไม่สามารถถูกกระตุ้นได้ด้วย capsaicin (1-10 mM) ซึ่งเป็น VR-1 agonist แต่ถูกกระตุ้นได้ด้วยสาร CGRP, Substance P หรือสาร Compound 48/80 ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ Mast cell แดกตัวและการกระตุ้นดังกล่าวสามารถยับยั้งประมาณ 30-70% ได้ด้วยสาร DOR-agonist, [D-Pen², D-Pen⁵]-enkephalin (DPDPE, 10 μ M) ผลจากการวิจัยแสดงให้เห็นว่า DOR ที่ปรากฏบนเซลล์ประสาทชนิด IPANs โดยมีบทบาทในการยับยั้งระบบการขับหลั่งที่มีการควบคุมผ่านสารสื่อประสาทที่พบในระบบ IPANs และการแตกตัวของ Mast cells ดังนั้น DOR ที่พบในเซลล์ประสาทของส่วนทางเดินอาหารอาจมีบทบาทในการควบคุมการทำงานของระบบปกป้องชนิดอื่นๆของเดินอาหาร เช่น ระบบภูมิคุ้มกัน หรือระบบการเคลื่อนไหว ที่อยู่ภายใต้การกระตุ้นหรือควบคุมจากกลไกของเซลล์ประสาทในระบบ IPANs

คำหลัก: ตัวรับโอปิออยด์, ระบบประสาทของทางเดินอาหาร, การขับหลั่งไอออน, กลไกป้องกันชนิดไม่เฉพาะเจาะจง