



การอภิปรายผลการวิจัย

จากการทดลองจะเห็นว่า การกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ภายยา phenylephrine จะมีผลต่างกันในตัวทดลองแต่ละ species กล่าวคือ จะทำให้หัวใจหนูขาว (isolated rat atria) และหัวใจหนูตะเภา (isolated guinea pig atria) เต้นเร็วขึ้น แต่ทำให้หัวใจสุนัขเตนช้าลง (รูปที่ 2 A,B และ 12) และยิ่งพบว่า phenylephrine จะทำให้หัวใจบีบตัวแรงขึ้น (positive inotropic effect) ก่อนที่จะเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ (positive chronotropic effect) ทั้งในหนูขาวและหนูตะเภา แสดงว่า การกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ภาย phenylephrine จะมีผลทำให้หัวใจบีบตัวแรงขึ้นโดยตรง ไม่ได้เป็นผลตามมาจากการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ นอกจากนี้ยังพบว่า phenylephrine สามารถกระตุ้นได้ทั้ง alpha - และ beta-adrenergic receptors ในหัวใจหนูขาวและหนูตะเภา เพราะเมื่อให้ phentolamine 10^{-6} M และ 10^{-5} M สามารถจะ block positive chronotropic effect ของ phenylephrine ที่ได้ในขนาดต่ำ ๆ ได้ แต่ลักษณะการ block ของ phentolamine ต่อการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของ phenylephrine ในหัวใจหนูขาวและหนูตะเภา แตกต่างกัน (รูปที่ 2A, 6A) กล่าวคือ phentolamine 10^{-6} M สามารถจะ shift LDR curve ของ positive chronotropic effect ของ phenylephrine ในหัวใจหนูตะเภาไปทางซ้าย (รูปที่ 6A) แต่ในหัวใจหนูขาวนั้น phentolamine 10^{-6} และ 10^{-5} M จะทำให้ slope ของ LDR curve เพิ่มขึ้น เพราะ phentolamine สามารถ block ฤทธิ์ของ phenylephrine ในขนาดต่ำ ๆ เท่านั้น แต่กลับไปเพิ่มฤทธิ์ของ phenylephrine ในขนาดสูง ๆ (รูปที่ 2A) แสดงว่า phentolamine อาจจะเพิ่ม affinity ของ beta-adrenergic receptors ที่หัวใจหนูขาวต่อ phenylephrine หรืออาจจะเพิ่มทั้ง affinity และ/หรือ intrinsic activity ของ alpha-adrenergic receptors ต่อ phenylephrine แต่ทว่าพบว่า เมื่อให้ beta-adrenergic blocker คือ

propranolol 10^{-5} M จะ block positive chronotropic effect ของ phenylephrine ในขนาดสูง ๆ ได้ แสดงว่า phenylephrine ในขนาดสูง ๆ จะกระตุ้นที่ beta-adrenergic receptors เป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้เพราะ propranolol ไม่สามารถ block ฤทธิ์ในการกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ของ phenylephrine ในขนาดต่ำ ๆ ได้

ฤทธิ์ในการกระตุ้นอัตราการเต้นของหัวใจด้วย phenylephrine นี้ มีผู้พบในสัตว์ทดลองหลายชนิด เช่น กระจ่าง (32, 36, 38, 54) หนูตะเภา (38, 55) หนูขาว (58) และสุนัข (42, 71) แต่ส่วนใหญ่เชื่อว่าเป็นผลจากการกระตุ้น beta-adrenergic receptors เพราะถูก block ได้ด้วย propranolol หรือ beta-blockers อื่น ๆ (pindolol, sotalol) เท่านั้น และจะไม่ถูก block ด้วย alpha-blockers ซึ่งตรงกันข้ามกับผลการทดลองข้างต้น แต่ Kunos et al. พบว่าการลดลงของน้ำยาที่ไหลเวียนเมื่อเย็นลงจาก $37 \rightarrow 20^{\circ}\text{C}$ จะทำให้ alpha-adrenergic receptors เพิ่มขึ้น (57) ในทำนองเกี่ยวกับการทำให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาวะ hypothyroid ก็จะมีผลในการทำงานของ alpha-adrenergic receptors ที่หัวใจเพิ่มขึ้นด้วย (31, 58) และ phenylephrine จะให้ผล positive chronotropic ซึ่งจะถูก block ได้ด้วย phentolamine หรือ alpha-blockers เท่านั้น (58) นอกจากนี้ Nakashima และคณะ (58) ยังพบว่า การให้ phenylephrine ในหนูขาวที่ได้รับ 6-propyl -2-thiouracil จะได้ positive chronotropic effect และช่วงแรก ๆ ของ LDR curve ซึ่งจะถูก block ได้ด้วย phentolamine แต่ช่วงหลังของ LDR curve จะถูก block ได้ด้วย propranolol เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการทดลองในหนูขาวปกติครั้งนี้ทุกประการ แสดงว่า ในสภาวะปกติ rat atria ก็มี alpha-adrenergic receptors ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นก็จะให้ผล positive chronotropic ส่วนในหัวใจหนูตะเภานั้นแม้ว่าการกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ด้วย phenylephrine จะให้ผล positive chronotropic และจะถูก block ได้ด้วย phentolamine เช่นเดียวกับที่พบในหนูขาว แต่ลักษณะการ block ของ phentolamine ต่างกัน เพราะ

phentolamine ไม่มีผลต่อ slope ของ LDR curve ของ phenylephrine ในหนูตะเภา นอกจากฤทธิ์ positive chronotropic ของ phenylephrine ในขนาด 5×10^{-5} และ 10^{-4} M ก็จะถูก block โดย propranolol 10^{-6} M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่า phenylephrine ในขนาดนี้มีผลกระตุ้นทั้ง alpha - และ beta-adrenergic receptors ที่หัวใจของหนูตะเภา ซึ่งได้รับการสนับสนุนจากผลงานของ Krell & Patil (55) ที่ว่า การให้ alpha - & beta-blockers รวมกันจะสามารถ block positive chronotropic effect ของ phenylephrine ได้ดีกว่าให้ alpha - หรือ beta - blocker เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งและเขาสรุปว่า alpha-adrenergic receptors ก็มีส่วนในการออกฤทธิ์ positive chronotropic ของ phenylephrine

การแปลผลการ block ของ phentolamine ในที่นี้จำเป็นต้องคำนึงถึงผลโดยตรงของ phentolamine ต่อหัวใจด้วย เพราะจากการทดลองให้ phentolamine 10^{-6} M เพียงอย่างเดียว จะทำให้อัตราการเต้นของหัวใจหนูขาวและหนูตะเภาลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (12.22 ± 2.37 และ 9.0 ± 3.19 beats/min) โดยไม่ทำให้ความแรงในการบีบตัวของหัวใจเปลี่ยนแปลง ยกเว้นใน driven left atria ของหนูตะเภา การที่ phentolamine ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลงอาจจะเป็นเพราะ phentolamine มีฤทธิ์กดที่ SA node โดยตรงก็ได้ ทั้งนี้เพราะการฉีด phentolamine (300 μ g) เข้าที่ sinus node artery ของสุนัขโดยตรง จะทำให้หัวใจเต้นช้าลงก่อนแล้วจึงเต้นเร็วขึ้น (73) และ Krell & Patil (55) ก็พบว่า phentolamine มีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจเช่นเดียวกับผลการทดลองที่ได้ ในทางตรงข้ามมีนักวิทยาศาสตร์จำนวนไม่น้อยที่พบว่า phentolamine มีฤทธิ์ทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น (73 - 76) บีบตัวแรงขึ้น (76 - 78) และมี conductivity เพิ่มขึ้น (79) ซึ่งฤทธิ์ในการกระตุ้นหัวใจเหล่านี้ เชื่อกันว่าอาจจะออกฤทธิ์ผ่าน beta-adrenergic receptors (74, 75, 78) หรือไปมีผลทำให้มีการหลั่ง histamine ออกมา (76) นอกจากนี้ Bertin และคณะ (77) ยังพบว่า

phentolamine สามารถ block beta-adrenergic receptors ที่หัวใจ
 หนูตะเภา (0.04 เท่าของ propranolol) และหัวใจสุนัข (0.75 - 3.9 เท่าของ
 propranolol) กาย ดังนั้นที่พบว่า phentolamine สามารถ block
 positive chronotropic effect ของ phenylephrine ในขนาด
 ค่า ๆ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจจะเป็นผลรวมจากฤทธิ์การกดหัวใจโดยตรงของ
 phentolamine และฤทธิ์ในการ block alpha-adrenergic receptors แต่
 phentolamine 10^{-6} M มีผลต่อ maximum response ของหัวใจหนูขาวและหนู-
 ตะเภาต่อ phenylephrine ตรงข้ามกัน กล่าวคือ จะทำให้ maximum positive
 chronotropic effect ของ phenylephrine ต่อหัวใจหนูขาวเพิ่มขึ้น ($81.67 \pm$
 8.4 V.S. 112.67 ± 8.9 beats/min) แต่กลับทำให้ maximum response
 ของหัวใจหนูตะเภาต่อ phenylephrine ลดลง (72.5 ± 3.5 V.S. 52.5 ± 7
 beats/min) แต่ถึงว่า phentolamine อาจจะมี block เฉพาะ alpha-
 adrenergic receptors ในหนูขาว แต่อาจจะ block ได้ทั้ง alpha - และ
 beta-adrenergic receptors ในหนูตะเภา (77) และการที่ maximum
 positive chronotropic effect ของ phenylephrine ในขณะที่มี
 phentolamine อยู่ด้วย ลดลงจากผลที่ได้ในกรณีที่ไม่มี phentolamine นั้น อาจ
 เป็นผลรวมของฤทธิ์ในการลดอัตราการเต้นของหัวใจโดยตรงร่วมกับฤทธิ์ในการ block
 alpha- & beta - adrenergic receptors ของ phentolamine ก็ได้

ผลการทดลองครั้งนี้ปรากฏว่า เราสามารถแยก positive inotropic และ
 positive chronotropic effect ของ phenylephrine ออกจากกันได้ เพราะ
 ถ้าให้ phenylephrine ในขนาดที่ต่ำพอ จะทำให้เกิด positive inotropic
 เพียงอย่างเดียว ทั้งในหัวใจหนูขาวและหนูตะเภา (right and left guinea pig
 atria) ซึ่งผลนี้หัวใจหนูขาวจะถูก block ได้ด้วย phentolamine 10^{-6} M
 แต่ block ไม่ได้ด้วย propranolol 10^{-6} M (รูปที่ 2C,D) นอกจากนี้จะเพิ่ม
 ความเข้มข้นของ propranolol เป็น 10^{-5} M จึงสามารถ shift LDR
 curve ของ phenylephrine ในหัวใจหนูขาวไปทางขวาแบบ non-competitive
 ได้ ซึ่งต่างกับการ block ของ phentolamine แม้จะเพิ่มความเข้มข้นของ

phentolamine เป็น 10^{-5} M ก็ไม่สามารถ block positive inotropic effect
 ของ phenylephrine ในขนาดสูง ๆ ได้ (รูปที่ 2 D) ลักษณะการ block ของ
 phentolamine ใน spontaneously beating rat atria และใน
 spontaneously beating guinea pig atria เหมือนกันทุกประการ ต่างกันเพียง
 ความเข้มข้นของ phentolamine ที่ใช้เท่านั้น คือ ในหัวใจหนูขาวจะคงใจความเข้ม-
 ข้นของ phentolamine สูงกว่าที่ใช้ในหัวใจหนูตะเภา (10^{-6} , 10^{-5} M v.s. 10^{-7} ,
 10^{-6} M) และ propranolol 10^{-7} และ 10^{-6} M ก็สามารถ block
 positive inotropic effect ของ phenylephrine ขนาดต่ำ ๆ ในหัวใจ
 หนูตะเภาได้ นอกจากนี้ยังพบว่า positive inotropic effect ของ phenylephrine
 ใน electrically driven left atria ของหนูตะเภา จะถูก block ได้ทั้ง
 phentolamine 10^{-6} M และ propranolol 10^{-6} M (รูปที่ 10 A, B)
 แสดงว่า positive inotropic effect ของ phenylephrine ในหนูขาว เป็น
 ผลจากการกระตุ้น alpha-adrenergic receptors เมื่อใช้ขนาดต่ำ ๆ แต่ในหัวใจหนู-
 ตะเภา (ทั้ง left & right atria) จะเป็นผลรวมของการกระตุ้นทั้ง alpha - และ
 beta-adrenergic receptors นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าหัวใจหนูตะเภาอยู่ในความควบคุม
 ของ SA node จะ sensitive ต่อการ block ด้วย alpha - และ
 beta-blockers มากกว่า electrically driven left atria การที่พบว่า
 phenylephrine ทำให้หัวใจบีบตัวแรงขึ้นนั้น มีรายงานสนับสนุนทั้งในหัวใจหนูตะเภา (28, 35)
 หัวใจกระต่าย (33, 37, 38, 50) หัวใจหนูขาว (rat ventricle) (27) แมว (80)
 และสุนัข (51) ซึ่งนักวิทยาศาสตร์แต่ละท่านก็แปลผลต่าง ๆ กัน บางทีว่าเป็นผลของการกระตุ้น
 alpha-adrenergic receptors เพราะ block ได้ด้วย phentolamine หรือ
 alpha-blockers อื่น ๆ (27, 28, 31, 35, 38, 80) บางทีว่าเป็นผลจากการกระตุ้น beta-
 adrenergic receptors เพราะถูก block ได้ด้วย propranolol หรือ beta-
 blockers อื่น ๆ (42, 48, 50, 51, 71) แต่ก็มีนักวิทยาศาสตร์บางท่านเชื่อว่าเป็นผล
 จากการกระตุ้น alpha - และ beta-adrenergic receptors ร่วมกัน เช่น

Srivastava และคณะ (1977)⁽³⁷⁾ พบว่า positive inotropic effect ของ phenylephrine ที่มีต่อ spontaneously beating reserpinised rabbit atria เป็นผลจากการกระตุ้นที่ alpha - และ beta₁-adrenergic receptors เพราะถูก block โดย alpha - หรือ beta-blocker เช่นเดียวกับที่เรพบใน spontaneously beating guinea-pig atria ทั้ง Srivastava และคณะ อธิบายว่า adrenergic receptors ที่หัวใจ ทั้ง alpha - และ beta₁ - adrenergic receptors อาจจะมีตำแหน่งหนึ่งที่มีลักษณะเหมือนกัน (common site) ซึ่งจะจับกับ phenylephrine และในอวัยวะกล้ามเนื้อหัวใจ แสดงว่า pacemaker cell และกล้ามเนื้อหัวใจ มีทั้ง alpha - และ beta-adrenergic receptors กระจายอยู่ นอกจากนี้ Benfey (1973)⁽³³⁾ ได้ตั้งสมมติฐานว่า alpha - adrenergic receptors จะไม่ response ต่อ phenylephrine ในขณะที่หัวใจอยู่ภายใต้ความควบคุมของ pacemaker ทั้งนี้เพราะ Yoo & Lee (1970)⁽⁵⁰⁾ พบว่า beta-blocker สามารถ block positive inotropic effect ของ phenylephrine ใน spontaneously beating rabbit atria ได้ แต่ alpha-blocker ไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของ phenylephrine อย่างไรก็ตาม ขอเสนอแนะที่ว่า positive inotropic effect ของ phenylephrine ในขนาดต่ำ ๆ จะกระตุ้นที่ alpha-adrenergic receptors แต่ทำให้ในขนาดสูง ๆ จะกระตุ้นที่ beta-adrenergic receptors ในหนูขาว ก็ได้รับการสนับสนุนจากนักวิทยาศาสตร์หลายท่าน (30-32, 34, 41, 81) ส่วนการที่ maximum developed tension ของ phenylephrine ในขณะที่ propranolol อยู่ด้วย ต่ำกว่าในขณะที่ไม่มี propranolol อาจเป็นผลจากฤทธิ์ในการลดกล้ามเนื้อหัวใจโดยตรงของ propranolol ร่วมกับฤทธิ์ในการ block beta-adrenergic receptors เพราะจากการทดลองในหนูขาวพบว่า propranolol 10⁻⁶ M จะลด resting tension จาก 527.5 ± 116.3 จงเหลือ 476.7 ± 117.7 มิลลิกรัม และถ้าเพิ่ม propranolol เป็น 10⁻⁵ M ก็ จะลด tension จาก 352 ± 37 จงเหลือ 311.1 ± 59 มิลลิกรัม ในทำนองเดียวกัน propranolol ก็สามารถลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจหนูตะเภาได้

โดยตรง (จาก 449.99 ± 161.53 เหลือ 355.66 ± 147.65 มิลลิกรัม เมื่อให้ propranolol 10^{-5} M) ดังนั้น maximum developed tension จากการให้ phenylephrine ในขณะที่มี propranolol อยู่ด้วย จึงต่ำกว่าขณะที่ไม่มี propranolol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในทางตรงกันข้าม การกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ด้วยการใช้ phenylephrine ในสุนัข จะทำให้หัวใจเต้นช้าลง ซึ่งพบว่าเป็นผลจาก vagal reflex เพราะ phenylephrine ยังสามารถทำให้หัวใจเต้นช้าลงได้ แม้จะให้ phenylephrine หลังจากให้ C_6 , atropine, หรือในสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้วก็ตาม และผล negative chronotropic ที่เหลือนี้จะถูก block ได้ด้วย phentolamine แต่จากการทดลองพบว่า C_6 เองก็สามารถที่จะลดอัตราการเต้นของหัวใจได้ ทั้งในสุนัขปกติ (จาก 161.88 ± 23.71 เหลือ 127.5 ± 25.98 beats/min.) และสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้ว (จาก 183.57 ± 32.04 เหลือ 150 ± 24.64 beats/min.) ดังนั้น negative chronotropic effect ของ phenylephrine ที่หัวใจ หลังจากให้ C_6 แล้วยังคงเหลืออยู่ น่าจะเป็นผลของการกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ซึ่งอาจจะเห็นผลชัดเจนกว่า ถ้า C_6 ไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจสุนัขโดยตรง (รูปที่ 12 A) และการที่พบว่า phentolamine สามารถ block negative chronotropic effect ของ phenylephrine ได้ ในสุนัขปกติหลังจากให้ C_6 และหลังจากให้ atropine (รูปที่ 12 A, C) แสดงว่า negative chronotropic effect ของ phenylephrine ที่เห็นหลังจากให้ C_6 และ atropine เป็นผลจากการกระตุ้น alpha-adrenergic receptors เพียงอย่างเดียว แต่เมื่อทดลองให้ C_6 ในสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกทั้ง ๒ ข้าง ปรากฏว่า C_6 เอง ก็จะมีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจ นอกจากนี้ยังสามารถ block negative chronotropic effect ของ phenylephrine ได้ส่วนหนึ่งด้วย จึงกล่าวได้ว่า C_6 อาจมีผล block alpha-adrenergic receptors ได้ด้วย (รูปที่ 12 B) การที่พบว่า alpha-adrenergic receptors ที่หัวใจสุนัข

ฤกษ์กระตุณแล้วจะใหญ่ค negative chronotropic ใ้รับการสนับสนุนจากรายงานของ
 Jame และคณะ (1968)⁽⁵²⁾ ซึ่งใ้ methoxamine เป็นตัวกระตุณ แนวาไม
 สามารถจะแสดงผลนี้ให้เห็นโดยใ้ phenylephrine ก็ตาม (Jame et al 1962)⁽⁸²⁾
 ต่อมา Hashimoto et al 1971⁽⁵³⁾ ใ้ phenylephrine เข้าไปใ้ sinus
 node artery ของสุนัขโดยตรง พบว่ามีผลทั้ง positive และ negative
 chronotropic และอธิบายว่า negative chronotropic effect นี้เป็น
 ผลจากการกระตุณ alpha-adrenergic receptors ใ้ปลาย cholinergic nerve
 (vagus nerve) โดยตรง ทำให้ใ้ acetylcholine ออกมา เพราะเขาพบว่า
 ผล negative chronotropic ของ phenylephrine จะถูก block ใ้โดย
 atropine, C₆, phentolamine และ phenoxybenzamine แต่ใ้ค
 ทดลองใ้ Hashimoto et al ใ้ ฤกษ์ค vagus nerve ออกแล้วทั้ง ๒ ข้าง ดังนั้น
 phenylephrine จึงไม่ว่าจะออกฤกษ์ตาม pathway ดังกล่าว นอกจากนี้ผลการ
 ทดลองข้างคน ยังแสดงให้เห็นว่า phenylephrine มีผลทำให้หัวใจสุนัขที่ค vagus
 nerve ออกแล้วเต้นช้าลงใ้ และ atropine ก็ไม่ว่าสามารถ block ผล
 negative chronotropic ของ phenylephrine ใ้โดยสมบูรณ์ แสดงว่า
 ผล negative chronotropic ของ phenylephrine ไม่น่าเป็นผลจากการกระ-
 ตุณ vagus nerve ใ้โดยใ้ตาม ความแตกต่างระหว่างผลการทดลองครั้งนี้ และ
 ของ Hashimoto et al (1971)⁽⁵³⁾ และ Chiba (1977)⁽⁴²⁾ อาจเป็นเพราะ
 Chiba ใ้ isolated atria และ ventricle ของสุนัข แล้ว perfused
 ด้วยเลือด แต่การทดลองครั้งนี้เป็นแบบ in situ preparation และใ้ยาทาง
 femoral vein ซึ่งอาจจะบผลต่างกับการใ้ยาเขาทาง sinus node artery
 เพราะการใ้ยาแบบนี้ อาจจะบผลคที่ SA node โดยตรงใ้ แม้จะใ้ใ้ปริมาณคน้อย ๆ
 ก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่า phentolamine เอง ก็สามารถทำให้หัวใจเต้นใ้ในอัตราที่
 เร็วขึ้นจากเดิมทั้งใ้ในสุนัขปกติ (23.13 ± 7.65 beats/min) หรือสุนัขใ้ถูก
 atropinized (45 ± 10.28 beats/min) หรือสุนัขใ้ค vagus nerve ออกแล้ว

(39.19 ± 4.32 beats/min) ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลจากการกระตุ้น beta - adrenergic receptors (74,75) หรือ sympathetic nerve (73) ของ phentolamine เพราะการตัด vagus nerve หรือการให้ vagolytic drug สามารถเพิ่ม positive chronotropic effect ของ phentolamine ได้ ดังนั้นการที่ phentolamine block negative chronotropic effect ของ phenylephrine ก็อาจเป็นผลของการ block alpha - adrenergic receptors และการกระตุ้น beta-adrenergic receptors พรอมกัน ซึ่งถ้าเป็นเช่นนั้นจริง การให้ phenylephrine หลังจากให้ phentolamine แล้ว น่าจะเห็นผลของการกระตุ้น beta-adrenergic receptors ได้ ค่อนข้าง แต่จากการทดลองพบว่า phenylephrine ไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ เมื่อให้หลังจาก pretreated สัตว์ทดลองด้วย phentolamine แล้ว นอกจากนี้ ยังพบว่า beta-blockers (metoprolol และ propranolol) ก็สามารถ block การออกฤทธิ์ของ phenylephrine ได้ เช่นเดียวกับ phentolamine ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่า phentolamine block ทั้ง alpha - และ beta-adrenergic receptors (77) จึงทำให้ผล positive chronotropic จากการกระตุ้น beta-adrenergic receptors ของ phenylephrine หลังจากให้ phentolamine ถูก block ไปด้วย แต่การทดลองครั้งนี้ไม่ได้เพิ่ม dose ของ phenylephrine ในมากพอที่จะเอาชนะการ block ของ phentolamine ได้ ดังนั้นการให้ beta-blockers หลังจากให้ phentolamine จึงมีผลต่อการออกฤทธิ์ของ phenylephrine ในขนาดที่ใช้ไม่ต่างจาก phentolamine เลย

phenylephrine ในขนาดที่ให้ผล negative chronotropic นี้ จะ มีผล positive inotropic รวมด้วย และ positive inotropic effect ของ phenylephrine จะไม่ถูก block ไปด้วย C₆ หรือการตัด vagus nerves ออก แต่การตัด vagus nerve กลับมีผลทำให้ positive inotropic effect ของ phenylephrine คีขึ้น (เพิ่มจาก 16.25 ± 3.22 เป็น 26.91 ± 4.36 mmHg เมื่อให้ phenylephrine $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ b.w.) แสดงให้เห็นถึงความ

สำคัญของ vagus nerve ที่จะคอยควบคุมไม่ให้หัวใจทำงานมากเกินไป แต่เมื่อลองให้ atropine ในสุนัขปกติ กลับพบว่า atropine สามารถ block positive inotropic effect ของ phenylephrine ได้ แทนที่จะทำให้ phenylephrine ออกฤทธิ์ขึ้น เหมือนกับสุนัขที่ตัด vagus nerve ออก แสดงว่า atropine ในขนาดที่ใช้ (10 mg/kg) อาจจะมีผลกดที่กล้ามเนื้อหัวใจโดยตรง เพราะหัวใจจะบีบตัวอ่อนลงมากหลังจากที่สุนัขได้รับ atropine นอกจากนี้ยังพบว่า atropine สามารถที่จะลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้วได้อีกด้วย แสดงว่า atropine ในขนาดนี้จะแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างอื่น ๆ นอกเหนือจากไปห้ามการทำงานของ parasympathetic nervous system และฤทธิ์ลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจของ atropine นี้ ก็เปรียบเสมือนเป็น physiological antagonist ของ phenylephrine อย่างไรก็ตามฤทธิ์ positive inotropic effect ของ phenylephrine นี้ จะถูก block ได้เกือบหมด เมื่อ pretreated สุนัขทดลองด้วย phentolamine ทั้งในสุนัขปกติ, สุนัขที่ตัด vagus nerve และในสุนัขที่ได้รับ atropine (รูปที่ 14) แสดงว่า การกระตุ้น alpha-adrenergic receptors ด้วย phenylephrine จะให้ผล negative chronotropic และ positive inotropic ในสุนัข ต่างกับผลการทดลองที่ได้ในหัวใจหนูขาวและหนูตะเภา ซึ่งเป็นการทดลองแบบ in vitro นอกจากนี้ยังพบว่า metoprolol และ propranolol สามารถกด positive inotropic effect ของ phenylephrine ในขนาดสูง ๆ ได้มากกว่า เมื่อให้ในขนาดต่ำ ๆ ทั้งในสุนัขปกติและสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้ว ซึ่งอาจแสดงว่า positive inotropic effect ของ phenylephrine ขนาดสูง ๆ เป็นผลรวมจากการกระตุ้นทั้ง alpha - และ beta-adrenergic receptors เช่นเดียวกับผลการทดลองที่ได้ในหนูขาวและหนูตะเภา นอกจากนี้ยังพบว่า cardioselective beta-blocker (metoprolol) จะ block ฤทธิ์ของ phenylephrine ได้ดีกว่า non-specific beta-blocker (propranolol) เล็กน้อย (รูปที่ 14) แต่ผล positive inotropic ของ phenylephrine ในสุนัขที่มีรายงานตามวารสารต่าง ๆ เป็นผล

จากการทดลองใน isolated heart และส่วนใหญ่เชื่อว่าเป็นผลจากการกระตุ้น beta-adrenergic receptors เพราะจะถูก block โดย beta-blocker เท่านั้น (42,51,71)

สำหรับการกระตุ้น beta-adrenergic receptors โดย isoprenaline นั้นจะให้ผล positive inotropic และ positive chronotropic ในสัตว์ทดลองทั้ง 3 species ที่ใช้ คือ หนูขาว หนูตะเภา และสุนัข ผล positive chronotropic ของ isoprenaline ต่อหัวใจหนูขาว จะถูก block โดย propranolol 10^{-6} M แต่จะไม่ถูก block โดย phentolamine 10^{-5} M ต่างกับผลที่ได้ในหนูตะเภาคือ phentolamine เพียง 10^{-6} M ก็สามารถ block positive chronotropic effect ของ isoprenaline ได้พอ ๆ กับ propranolol 10^{-5} M แสดงว่า phentolamine สามารถ block beta-adrenergic receptors ที่หัวใจหนูตะเภาได้เช่นเดียวกับที่ Bertin และคณะ (77) ได้รายงานไว้ แต่จากการทดลองทำ cumulative dose response curve ของ isoprenaline 3 ครั้ง (รูปที่ 24) ปรากฏว่า slope ของ LDR curve ของ isoprenaline ไม่แตกต่างกันดังที่ Lumley & Broadley 1977 (25) รายงานไว้ แต่กลับพบว่า sensitivity ของ guinea pig atria ต่อ isoprenaline จะลดลง ดังจะเห็นได้จาก LDR curve ที่ 3 ของ isoprenaline จะ shift ไปทางขวา ดังนั้น การแปลผล block ของ alpha- และ beta-blockers ควรจะคำนึงถึง sensitivity ของ tissue ที่ลดลงตามระยะเวลาที่ทดลองด้วย

ในทำนองเดียวกัน positive inotropic effect ของ isoprenaline ในหนูขาวก็จะถูก block โดย propranolol (รูปที่ 4 c) และถ้าให้ propranolol 10^{-5} M จะทำให้ maximum developed tension ของ isoprenaline ลดลง ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่ propranolol ลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจ (ลดลง 46.67 ± 11.04 มิลลิกรัม เมื่อให้ propranolol 10^{-6} M)

ส่วน phentolamine จะไม่มีผลต่อ positive inotropic และ maximum developed tension ของ isoprenaline อย่างไรก็ตามผลการทดลองปรากฏว่า ในขณะที่ propranolol และ phentolamine อยู่ด้วย isoprenaline จะทำให้หัวใจหนูขาวบีบตัวแรงขึ้น (maximum response) มากกว่าเมื่อหัวใจแช่อยู่ในน้ำยา Krebs' s อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการที่ basal resting tension ลดลงอย่างมากหลังจากให้ isoprenaline เพื่อหา LDR curve (ลดลง 223.57 ± 9.03 มิลลิกรัม) หรืออาจเป็นเพราะว่า ขณะที่ phentolamine และ propranolol อยู่ด้วย จะทำให้ affinity และ/หรือ intrinsic activity ของ beta-adrenergic receptors หัวใจต่อ isoprenaline เปลี่ยนแปลงไปก็ได้ (รูปที่ 4C,D) นอกจากนี้ยังพบว่า ผล positive inotropic ของ isoprenaline ที่ไปต่อหัวใจหนูตะเภาทั้งข้างซ้ายและขวา จะถูก block ได้ด้วยทั้ง propranolol และ phentolamine ลักษณะการ block ของ phentolamine ในหัวใจข้างซ้ายและข้างขวาดูคล้ายกันมากต่างกับที่ phentolamine เองไม่มีผลต่อความแรงในการบีบตัวของหัวใจข้างขวา แต่จะทำให้ driven atria ที่มีตัวอ่อนลงได้ (phentolamine 10^{-6} M จะลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจลง 75.43 ± 29.4 มิลลิกรัม) การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะ phentolamine ไปลดอัตราการเต้นของ spontaneously beating atria โดยทำให้ refractory period ยาวนานขึ้น หัวใจจึงมีระยะพักยาวขึ้นหรืออยู่ใน active state นาน จึงบีบตัวได้แรงขึ้น ทำให้ไม่เห็นผลของการลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจใน spontaneously beating atria ดังเช่นที่พบในหัวใจที่กระตุ้นด้วยอัตราการที่ (driven atria) และถึงแม้ว่า phentolamine จะทำให้หัวใจข้างซ้ายมีตัวอ่อนลงก็ตาม isoprenaline (ในขนาดที่สูงพอ) ก็ยังสามารถกระตุ้นให้หัวใจบีบตัวได้แรงขึ้นเท่า ๆ กับเมื่อไม่มี phentolamine อยู่ด้วย (รูปที่ 10 C) แสดงว่าลักษณะการ block ผล positive inotropic ของ isoprenaline ด้วย phentolamine เป็นแบบ competitive ส่วน propranolol จะ block positive inotropic effect ของ isoprenaline ต่างกันในหัวใจข้างซ้าย

และชาว กลาวคือ propranolol 10^{-5} M จะ shift LDR curve ของ isoprenaline to right atria ไปทางขวาได้ โดยไม่ทำให้ slope และ maximum developed tension เปลี่ยน (รูปที่ 8 C) แต่ propranolol ในความเข้มข้นเดียวกันนี้ นอกจากจะ shift LDR curve ของ isoprenaline to left atria ไปทางซ้ายแล้ว ยังทำให้ slope เพิ่มขึ้น และ maximum developed tension เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย (รูปที่ 10 D) ส่วนการที่ isoprenaline ทำให้ right atrium บีบตัวได้แรงขึ้น (Δ maximum) ในขณะที่มี propranolol อาจเป็นผลจากการที่ propranolol ทำให้ resting tension ลดลง จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงไกซัคเจน โดยการทดลองนี้ช่วยสนับสนุนข้อเสนอนี้ว่า phentolamine จะไป block beta-adrenergic receptors ในหนูตะเภา แต่จะไม่ฤทธิ์ในหนูขาว

ส่วนการกระตุ้น beta - adrenergic receptors ด้วย isoprenaline ที่หัวใจสุนัขจะทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้นและบีบตัวแรงขึ้น เช่นเดียวกับที่พบในหัวใจหนูขาวและหนูตะเภา และจากการทดลองตัด vagus nerve ออกทั้ง ๒ ข้าง ปรากฏว่า ทำให้สุนัข response ต่อ isoprenaline ได้มากขึ้น แต่เมื่อ block การทำงานของ vagus nerve ด้วย atropine กลับปรากฏว่า หัวใจ response ต่อ positive chronotropic effect ของ isoprenaline ตามปกติ และการให้ atropine หรือการตัด vagus nerve ออกทั้ง 2 ข้าง ก็ไม่ผลทำให้เกิดการเต้นของหัวใจเปลี่ยนแปลง ซึ่งต่างกับการทดลองในคน (72) ซึ่งพบว่า การตัด vagus nerves หรือให้ atropine จะทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า การ block autonomic ganglia ด้วย C_6 ในสุนัขปกติ อาจ ทำให้ positive chronotropic effect ของ isoprenaline เพิ่มขึ้น และ ไม่เป็นผลต่อการออกฤทธิ์ของ isoprenaline ในสุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้ว แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของ vagal reflex แต่การทดลองในสุนัขที่ได้รับ atropine กลับปรากฏว่า positive chronotropic effect ของ isoprenaline ไม่มากกว่าที่พบในสุนัขที่ยังไม่ได้รับ atropine ถึงที่ควรจะเป็น ซึ่งยากที่จะอธิบายได้ แต่สิ่งที่

จะล้มเสียมิได้คือ variation ของสัตว์ทดลองที่ใช้ เพราะเราไม่สามารถใช้สัตว์ทดลอง strain เดียวกันได้ตลอด อย่างไรก็ตามการใช้ alpha - blocker (phentolamine) ไม่สามารถ block positive chronotropic effect ของ isoprenaline ในสุนัขปกติ แต่กลับมีผลฤทธิ์ของ isoprenaline ใน vagotomised และ atropinized dogs ซึ่งอาจเป็นผลจากฤทธิ์ block ทั้ง alpha - & beta - adrenergic receptors ของ phentolamine และเมื่อให้ β - blockers ทั้ง 2 ชนิด คือ metoprolol และ propranolol ก็สามารถที่จะลด positive chronotropic effect ของ isoprenaline ลงได้ (รูปที่ 16)

ในทำนองเดียวกัน positive inotropic effect ของ isoprenaline ซึ่งถูกเพิ่มขึ้นหลังจากตัด vagus nerve แล้ว (รูปที่ 17 A,B) ก็ไม่อาจสรุปได้ เนื่องจาก atropine ไม่มีผลต่อ positive inotropic ของ isoprenaline (รูปที่ 17 C) และการตัด vagus nerve หรือให้ atropine ก็ไม่ทำให้การบีบตัวของหัวใจเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม positive inotropic effect ของ isoprenaline นี้ จะไม่ถูก block ภาย C_6 หรือ phentolamine ทั้งในสุนัขปกติ สุนัขที่ตัด vagus nerve ออกแล้ว และสุนัขที่ได้รับ atropine แต่จะถูก block ใกล้เคียงสมบูรณ์ด้วย beta-blockers (รูปที่ 17) นอกจากนี้ metoprolol เองก็มีผลทำให้หัวใจบีบตัวลดลง ซึ่งอาจเป็นส่วนหนึ่งของการฤทธิ์ positive inotropic ของ isoprenaline อีกทางหนึ่งด้วย ส่วนการใช้ propranolol หลังจากที่ได้รับ metoprolol แล้ว ปรากฏว่า propranolol ไม่เป็นลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจลงอีกด้วย แสดงว่าฤทธิ์ในการ block beta-adrenergic receptors ของ metoprolol ยังคงมีอยู่ และ propranolol ซึ่งเป็น non-selective beta - blocker และสามารถลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจหนูขาว และหนูตะเภา จะออกฤทธิ์ต่อต้านฤทธิ์ของ isoprenaline โดยกลวิธีเดียวกับ metoprolol

จากผลการทดลองนี้ positive inotropic effect อาจเป็นผลจากการกระตุ้น beta - adrenergic receptors เพียงอย่างเดียว แต่ positive chronotropic effect อาจจะเป็นผลจากการกระตุ้นทั้ง alpha - และ beta - adrenergic receptors ร่วมกันก็ได้

ส่วนการกระตุ้น alpha - และ beta - adrenergic receptors ที่หลอดเลือดที่นั่น ทดลองโดยเปรียบเทียบ peripheral resistance ของหลอดเลือดในขาหลังของสุนัขก่อนและหลังให้ alpha - และ beta-agonists ผลปรากฏว่า alpha-agonists คือ phenylephrine และ norepinephrine จะเพิ่ม peripheral resistance ซึ่งผลนี้จะถูก block ไปด้วย phentolamine ในทางตรงข้ามฤทธิ์ของ phenylephrine และ norepinephrine ต่อ peripheral resistance มีแนวโน้มว่าจะเพิ่มมากขึ้น หลังจากที่ได้รับ beta-blocker คือ propranolol (รูปที่ 21 A,B) และยังมีผลทำให้ phenylephrine แสดงฤทธิ์โดยยาวนานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 22 A,B) ต่างกับ metoprolol ซึ่งไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์และระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของ phenylephrine และ norepinephrine แสดงว่า การ block beta₂- adrenergic receptors จะมีผลต่อ vascular response มากกว่าการ block beta₁- adrenergic receptors ซึ่งเชื่อกันว่ามีผลต่อหลอดเลือดที่น้อยมาก (11-12, 64, 70) และการกระตุ้น beta-adrenergic receptors ด้วย isoprenaline มีผลทำให้ peripheral resistance ลดลง ซึ่งจะถูก block ไปด้วย phentolamine และ propranolol แต่ propranolol จะ block ฤทธิ์ของ isoprenaline ต่อหลอดเลือดที่มากกว่า phentolamine ส่วน metoprolol มีผลต่อการออกฤทธิ์ของ isoprenaline เพียงเล็กน้อย (รูปที่ 21 C) นอกจากนี้ ยังพบว่า phentolamine และ propranolol จะทำให้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของ isoprenaline สั้นลงด้วย (รูปที่ 22 C) แสดงว่า beta-adrenergic receptors ที่หลอดเลือดบริเวณขาหลังของสุนัขเป็นชนิด beta₂ มากกว่าที่จะเป็น beta₁ แต่ผล

การทดลองนี้ก็ไม่อาจจะบอกได้ว่าไม่มี β_1 -adrenergic receptors อยู่ที่หลอดเลือด-
 หิตบริเวณนี้เลย ทั้งนี้เพราะ β_1 -blocker (metoprolol) ก็มีผลลดฤทธิ์ของ
 isoprenaline ต่อ peripheral resistance ไปบางส่วน โดยเฉพาะ
 อย่างยิ่งถ้าดูจากการเปลี่ยนแปลงของ mean pressure (รูปที่ 23) จึงอาจกล่าว
 ได้ว่าหลอดเลือดนี้จะมี β -adrenergic receptors อยู่ทั้ง 2 ชนิด แต่ β_2 -
 β -adrenergic receptors มากกว่า β_1 -adrenergic receptors ผลการ
 ทดลองนี้คล้ายกับผลการทดลองของ Hainsworth และคณะ 1974 (64) ซึ่งพบว่า
 practolol ซึ่งเป็น β_1 -blocker ไม่ค่อยมีผล block vascular
 response ต่อหัวใจของสุนัข แต่ propranolol จะ block response
 ไปอย่างสมบูรณ์ ต่างกันที่ Hainsworth และคณะ ให้ isoprenaline แบบ
 infused เข้าทางหลอดเลือดดำ แต่การทดลองของเรา ให้ isoprenaline เข้า
 หลอดเลือดแดงที่ขาข้างของสุนัขโดยตรง และการที่ Singh et al 1975 (83) พบ
 ว่า propranolol สามารถจะ block peripheral vascular receptors
 ในสุนัขได้มากกว่า cardiac β -adrenergic receptor 3 เท่า ในขณะที่ ICI
 66082 ก็จะสามารถ block β -adrenergic receptors ที่หัวใจได้มากกว่าที่
 peripheral vessel 17-21 เท่า อาจสนับสนุนข้อเสนอดังกล่าวที่ว่า β -
 β -adrenergic receptors ที่ peripheral vessel ประกอบด้วย subtype
 ทั้ง 2 ชนิด แต่ β_2 - มากกว่า β_1 - adrenergic receptors อย่าง-
 ไรก็ตามมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านเชื่อว่า β - adrenergic receptors
 ที่ peripheral vessel เป็นชนิด β_2 (11-12, 64-70, 87-88) แต่ที่
 coronary artery เป็นชนิด β_1 เช่นเดียวกับที่กล้ามเนื้อหัวใจ (61-63, 84-86)
 ทั้งนี้เพราะ Baron et al 1972 (61) พบว่า หลอดโลหิตที่ไปเลี้ยง skeletal muscle
 และกล้ามเนื้อหัวใจ คือ coronary artery จะ response ต่อ catechola-
 mines ต่างกัน กล่าวคือ เมื่อกระตุ้น β -adrenergic receptors หลอดโลหิต
 coronary จะขยายตัวได้เร็วกว่าหลอดโลหิตที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อและคงทนต่อการ
 กระตุ้นด้วย catecholamines เป็นเวลานานกว่า นอกจากนี้ยังถูก block ไปด้วย

β_1 -blocker (practolol) คั้งนี้ อาจสรุปได้ว่า β -adrenergic
 receptors ที่หลอดเลือดจะมีทั้ง β_1 - และ β_2 -adrenergic receptors
 แต่การกระจายตัวของ β_1 และ β_2 อาจจะแตกต่างกันตามตำแหน่งหรือ
 อวัยวะที่หลอดเลือดไปเลี้ยง เช่น หลอดโลหิต coronary ที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ
 อาจจะมี β_1 อยู่มากกว่า β_2 ส่วนหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อลาย
 จะมี β_2 มากกว่า β_1 แต่การที่จะสรุปถึงนี้ ยังต้องการ direct
 evidence มาช่วยสนับสนุนอีกมาก