บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการที่เซลล์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นที่แตกต่างกัน เป็นเพราะเซลล์ที่มีอยู่ในแต่ละอวัยวะมีชนิดและปริมาณ receptor ที่แตกต่างกัน (Bulloring and Tomito,1987) ดังเช่นหลอดเลือดสายสะดือมีการตอบสนองได้แตกต่างกับหลอดเลือดชนิดอื่น เพราะ หลอดเลือดสายสะดือเป็นกล้ามเนื้อเรียบที่ไม่มีเส้นประสาทหรือมีเส้นประสาทมาเลี้ยงน้อยมาก (Monuzko et al,.1989) โดยจะตอบสนองต่อสาร autacoid เช่น serotonin และ histamine ได้มากกว่า norepinephine และ acetylcholine (Aluura et al.,1972) กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบ่งออกเป็น 2 ชั้น คือ ชั้นนอกมีการเรียงตัวแบบ circular ส่วนชั้นในจัดเรียงแบบ longitudinal ดังนั้นเมื่อนำออกมาตัดแบบเป็นเกลียวจะตอบสนองได้ดีกว่าแบบตัดเป็นแบบ longitudinal เมื่อใช้หลอดเลือดเดียวกัน แต่จากการศึกษาในครั้งนี้หลอดเลือดแดงสายสะดือมีขนาดเล็กมากจึงยากในการนำมาตัดเพราะจะเสี่ยงต่อการฉีกขาด และกล้ามเนื้อเรียบถูกทำลาย ส่วนหลอดเลือดดำสายสะดือนำมาตัดเป็นแบบวง (ring) เพื่อหลีกเลี่ยงการตัดทำลายกล้ามเนื้อทั้งสองชั้น การที่หลอดเลือดตอบสนองต่อสารกระตุ้นทำให้เกิดการคลายตัวหรือการหดตัว ขึ้นอยู่กับปริมาณแคลเซี่ยมอิสระที่มีอยู่ในเซลล์ (Wylam et al.,1993)

CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 เป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาโดยมีสูตรโครงสร้างหลักเป็น acylamino pyridine ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากเท่าที่ควร ดังนั้นจึงมีควรมีการศึกษาผลของสารทั้งสองตัวนี้ต่อกล้ามเนื้อเรียบส่วนหนึ่งที่ได้จากมนุษย์คือ หลอดเลือดสายสะดือ เพื่อที่จะได้เปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะที่แยกจากสัตว์ทดลองที่ได้จากการศึกษาที่ผ่านมา ทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับตำแหน่งและกลไกการออกฤทธิ์ของสารทั้งสองตัวนี้ได้มากยิ่งขึ้น

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมีความสัมพันธ์กับปริมาณแคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ซึ่งแคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหดตัวนั้นอาจมาจากแคลเซี่ยมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง หรืออาจมาจากแคลเซี่ยมที่ปลดปล่อยออกมาจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซี่ยมภายในเซลล์ (Rang and Dale,1995:Horowitz,et al,1996.)กลไกที่ทำให้แคลเซี่ยมเข้าสู่ภายในเซลล์โดยอาศัยการกระตุ้นในกล้ามเนื้อเรียบโดยมีกลไกการกระตุ้นที่แตกต่างกันพบว่าแคลเซี่ยมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ 2 ทาง คือผ่านทาง VOC และ ROC

ปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหดตัวนั้น เพิ่มจาก 2แหล่ง (Horowitz,et al,1996) คือ

1. แคลเซี่ยมนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรง ผ่าน ion channel หรือแลกเปลี่ยนกับ ไอออนอื่น (ion exchanger)
2. แคลเซี่ยมที่ปล่อยออกจากแหล่งสะสมแคลเซี่ยมภายในเซลล์

แคลเซี่ยมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ มีดังนี้คือ(Karaki ,et al,1997)

1.แคลเซี่ยมผ่านเข้าเซลล์ทาง L-type calcium channel ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบทั่ว ๆ ไป จะพบ calcium channel เป็นชนิด L-type (Vogalis .F,et al.,1991) ซึ่ง L-type calcium channel จะถูกกระตุ้นโดยเกิด membrane depolarization และสามารถยับยั้งด้วย calcium channel blocker (Godfraind.T.,er al.,1986) สารกระตุ้นตัวรับ (agonist) สามารถเปิด channel นี้ได้โดยกระตุ้น nonselective cation channel ทำให้เกิด membrane depolarization มีผลทำให้แคลเซี่ยมเคลื่อนที่ผ่านเข้าทาง L-type calcium channel หรือสารกระตุ้นตัวรับทำให้เกิดการปิดของ K^+ channel หรือไปกระตุ้นการเปิดของ Cl^- channel (Pacaud .P.and Bolton,T.B.,1991)

2.แคลเซี่ยมผ่านเข้าเซลล์ทาง nonselective cation channel จากการศึกษาพบว่า ATP สามารถเปิด nonselective cation channel ทำให้แคลเซี่ยมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ส่งผลให้แคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์สูงขึ้น (Benham,C.D.,and Tsien,R.W.,1987) อย่างไรก็ตามพบว่า ATP ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบน้อยมาก

3.แคลเซี่ยมผ่านเข้าเซลล์ทาง sodium- calcium (Na^+/Ca^{2+}) exchanger การแลกเปลี่ยนของโซเดียมและแคลเซี่ยม เป็นทางที่ทำให้แคลเซี่ยมเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ แต่ถ้าภายในเซลล์มีแคลเซี่ยมปริมาณมาก ก็จะมีการขับแคลเซี่ยมออกทางนี้

กลไกเกี่ยวข้องในการเพิ่มแคลเซี่ยมภายในเซลล์ มีดังนี้

1.calcium -induce calcium release (CICR) เกิดจากแคลเซี่ยมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้าภายในเซลล์แล้วกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซี่ยมจากแหล่งสะสมแคลเซี่ยมภายในเซลล์(Karaki,et al1997, ;Zucchi,et al,1997) CICR นี้สามารถถูกกระตุ้นได้โดย caffeine และถูกยับยั้งด้วย ryanodine

2.inositol triphosphate-induce calcium release (IICR) เกิดจากการกระตุ้นตัวรับแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีทำให้ IP_3 มากขึ้นมีผลไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซี่ยมจากแหล่งสะสมแคลเซี่ยมภายในเซล(Mikoshiba,1993) โดย IICR นี้จะถูกควบคุมโดยแคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์และ IP_3 ถ้าแคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์ต่ำ(<300nM) จะกระตุ้น IICR แต่ถ้าสูงกว่านี้จะยับยั้ง IICR (Iino and Endo,1992)

1.ผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04ต่อการหดตัวที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT ,Ach, NE และ TEA

จากผลการให้ 5-HT ทั้งในหลอดเลือดแดงและดำ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดทั้งสองได้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา (อัจนา,2539:วิดารัตน์,2539: ศิริจุฬาฤทธิ์,2540.) แสดงว่าหลอดเลือดสายสะดือมี 5-HT receptor อยู่ซึ่ง receptor ของ 5-HT ในปัจจุบันมีหลายชนิดตามที่กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ พบว่าสาร ketanserin (5-HT_2 receptor antagonist) สามารถยับยั้งการหดตัวเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT (McGrath et al.,1985) ซึ่งเป็นผลยืนยันได้ว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์ที่นำมาทำการทดลองครั้งนี้มี 5-HT_2 receptor อยู่ด้วย ใน 5-HT_2 receptor แบ่งย่อยได้ 2 subtypes คือ 5-HT_{2A} receptor พบที่ platelets,smooth muscle ,cerebral cortex ส่วน 5-HT_{2F} receptor พบที่ stomach fundus และ กลไกการหดตัวโดย 5-HT ทำให้หลอดเลือดหดตัว (Vanhoutte,1987) โดย

- 5-HT ออกฤทธิ์จับกับ 5-HT_2 receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด
- เพิ่มฤทธิ์สารอื่นที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว อาทิเช่น noradrenaline,histamine,$PGF_{2\alpha}$ angiotensin II
- กระตุ้นให้มีการหลั่ง noradrenaline จาก adrenergic nerve terminals
- กระตุ้น α-receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด
- กระตุ้นที่เยื่อบุหลอดเลือด ให้มีการหลั่งสาร endothelium derived contracting factors(EDCF)

และเมื่อ 5-HT จับกับ 5-HT_2 receptor ซึ่ง couple อยู่กับ G-protein ทำให้มีการกระตุ้น phospholipase C (PLC) ทำให้เกิดการ hydrolysis ของ PIP_2 เกิด IP_3 และ DAG ซึ่ง IP_3นี้จะไปกระตุ้นให้เกิดการปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บแคลเซียมภายในเซลล์ (Wang et al.,1991) ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์สูงขึ้น จึงทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ นอกจากนี้การออกฤทธิ์ของ 5-HT_2 receptor เป็นการออกฤทธิ์โดยตรงของ 5-HT โดย 5-HT ทำให้เกิด membrane depolarization โดยมีกลไกเกี่ยวข้องคือ ปิดประตู K^+ ทำให้แคลเซียมเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ และเมื่อเกิด hyperpolarization แล้วจะถูกควบคุมโดย Ca^{2+} regulated potassium channel (Zifa and Fillion,1992) ซึ่งกลไกโดยละเอียดยังไม่มีการศึกษา

จากผลการทดลองเมื่อให้ CU 763-15-13 แล้วให้ 5-HT พบว่ามีผลทำให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือหดตัวลดลง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองที่ผ่านมา ซึ่ง CU 763-15-13 มีผลลดการหดตัว ของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะอื่น เช่นกระเพาะหนูขาว ,หลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย , หลอดเลือดแดงหนูขาว และท่อนำอสุจิ (กุลยา,2541:คณิตา,2542)

จากการทดลองที่ให้ CU 763-16-04 แล้วให้ 5-HT พบว่า CU 763-16-04 มีผลทำให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือหดตัวได้เพิ่มขึ้น ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับการทดลองที่ผ่านมาที่ CU 763-16-04 มีผลเพิ่มการหดตัว ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย (คณิตา,2542) หลอดเลือดทั้งสองชนิดอาจมี receptor ที่เหมือนกัน ซึ่งแตกต่างกับการทดลองกับกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะอื่น เช่นกระเพาะหนูขาว,หลอดเลือดแดงหนูขาว และท่อนำอสุจิ ที่มีผลในการลดการหดตัว (คณิตา,2542) ซึ่งการหดตัวที่เพิ่มขึ้นภายหลังที่ให้ CU 763-16-04 (ดังแสดงในตารางที่ 5.) จากการศึกษาของอัญชิษฐา(2543.) พบว่า CU 763-16-04 ยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} เข้าไปในไมโตคอนเดรียทำให้มี Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น อาจกล่าวได้ว่า CU 763-16-04 มีผลต่อกลไกอย่างใดอย่างหนึ่งดังกล่าวข้างต้นที่ทำให้มีการหดตัวเพิ่มขึ้นทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์

จากการให้ Histamine ทั้งในหลอดเลือดแดงและดำ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดทั้งสองได้ตามการศึกษาที่ผ่านมา(อัจนา,2539:วิดารัตน์,2539: ศิริจุฬาฤทธิ์,2540.) จึงแน่นอนว่าหลอดเลือดสายสะดือมี receptor อยู่ซึ่ง receptor ของ histamine ในปัจจุบันมีหลายชนิดตามที่กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2. สำหรับลักษณะการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Histamine จะออกฤทธิ์โดยจับกับ receptor ที่ผนังเซลล์ แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ receptor operated Ca^{2+} channel ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้มากขึ้น (Bolton,1979) เมื่อให้ Histamine ไปจับกับ receptor แล้วกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) ทำให้เกิด hydrolysis ของ PIP_2ทำให้เกิด second messenger คือ IP_3 การเพิ่ม IP_3 จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) (Carsten and Miller,1985:Hashimoto et al.,1985:Hill,1990) แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำพบว่า เมื่อเปรียบเทียบการหดตัวของและ 5-HT จะพบว่า 5-HT มีการหดตัวได้แรงและดีกว่า Histamine (วิดารัตน์,2539) การที่ให้ chlorpheniramine (H_1 receptor antagonist) สามารถยับยั้งการหดตัวเมื่อกระตุ้นด้วย Histamine จากการทดลองที่ให้ CU 763-15-13 แล้วให้ Histamine พบว่าCU 763-15-13 มีผลทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า CU 763-15-13 น่าจะออกฤทธิ์ยับยั้งผ่านกลไกทาง ROC ทำให้ระดับแคลเซี่ยมภายในเซลล์ลดลง แต่จากการทดลองที่ให้ CU 763-16-04 แล้วให้ Histamine พบว่า CU 763-16-04 มีผลทำให้เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือด ซึ่งการหดตัวที่เพิ่มขึ้นภายหลังที่ให้CU 763-16-04 ทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เชื่อว่าเป็นผลเกี่ยวเนื่องจากการศึกษาของอัญชิษฐา(2543.) พบว่า CU 763-16-04 ยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} เข้าไปในไมโตคอนเดรียทำให้มี Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น อาจกล่าวได้ว่า CU 763-16-04 มีผลต่อกลไกอย่างใด

อย่างหนึ่งดังกล่าวข้างต้นที่ทำให้มีการหดตัวเพิ่มขึ้นทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์

จากการให้ ACh และ NE ทั้งในหลอดเลือดแดงและดำ พบว่าหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือหดตัวได้น้อยมากและส่วนใหญ่ไม่มีการหดตัว ทั้งนี้เป็นเพราะหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือไม่มีหรือมีเส้นประสาทมาเลี้ยงน้อยมาก (Spivack,1946; Reily and Russel,1977) เป็นการสนับสนุนการทดลองที่ผ่านมาว่าหลอดเลือดสายสะดือมี receptor ที่เกี่ยวกับ ACh และ NE น้อยมากและจากการที่ให้ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 แล้วให้ ACh หรือ NE พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน แสดงว่าทั้ง CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ไม่มีผลโดยตรงทำให้ contract หรือ relaxation เมื่อให้ร่วมกับ ACh หรือ NE

TEA เป็น non-selective K^+ channel inhibitor (Edwards and Weston,1994) ซึ่ง TEA ยับยั้งการเคลื่อนที่ของโปแตสเซี่ยมอิออนต่อ Voltage-dependent K^+ channel โดยลด outward K^+ currentจะทำให้ผลการยับยั้งการ repolarization phase หรือยับยั้งภาวะ hyperpolarization ที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของโปแตสเซี่ยมอิออน (Bolton,1979)จากการให้ TEA ทั้งในหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ พบว่าหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือไม่มีการหดตัว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ TEA ไม่มีผลต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือ และจากการที่ให้ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 แล้วให้ TEA พบว่าไม่มีการหดตัวเช่นกัน แสดงว่าทั้ง CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ร่วมกับ TEA

2.ผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อการหดตัวที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT, Histamine, KCl ในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS

เมื่อเปลี่ยนสารละลายที่ใช้เป็น Ca^{2+} Free KHS จะมีสาร EGTA[ethyleneglycol-bis β aminoethyl ether N,N-tetraacetic acid] ซึ่งเป็นตัวจับ Ca^{2+} ที่อยู่ภายนอกเซลล์ทั้งหมด เพื่อเป็นการศึกษาผลของสารที่ต้องการทดสอบว่ามีผลต่อ intracellular calcium หรือไม่ จากการทดลองทั้งในหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงสายสะดือ พบว่าสามารถหดตัวได้แต่ค่อนข้างช้าเมื่อเปรียบเทียบกับเมื่อให้ 5-HT ในสารละลาย KHS ในสภาพปกติ (อัจนา,2539; ศิริจุฬาฤทธิ์,2540.) ในภาวะสารละลายที่ไม่มี Ca^{2+} นี้เมื่อให้ CU 763-15-13 แล้วให้ 5-HT พบว่ามีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลดลง แสดงว่า CU 763-15-13 มีผลในการยับยั้งการหลั่งของ Ca^{2+} ภายในเซลล์เมื่อกระตุ้ยด้วย5-HTในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS แต่เมื่อให้ CU 763-16-04แล้วให้ 5-HT พบว่ามีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเพิ่มขึ้น ผลที่ได้แสดงว่า CU 763-16-04 อาจไปมีผลในกลไกใดกลไกหนึ่งที่กล่าวมาแล้วข้างต้นซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด

เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสภาวะที่ไม่มีแคลเซี่ยมภายนอกเซลล์ ผลการทดลองพบว่าหลอดเลือดไม่มีการหดตัว แสดงว่าการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine จำเป็นต้องอาศัย แคลเซี่ยมภายนอกเซลล์ (extracellular calcium) เป็นหลัก เพราะฉะนั้นในภาวะที่หลอดเลือดสายสะดืออยู่ในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS จะไม่มี Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ทำให้ histamine ไม่สามารถทำให้หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำหดตัวได้ (ศิริจุฬาฤทธิ์,2540.) และการที่ให้ CU 763-15-13และ CU 763-16-04 ไปแล้วให้ Histamine ในสารละลายที่ไม่มี Ca^{2+} นี้ก็ไม่สามรถกระตุ้นการหดตัวได้แสดงว่าสารทั้งสองตัวนี้ไม่มีผลต่อ Histamine receptor ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} ภายนอกเซลล์เป็นหลัก อาจกล่าวได้ว่าสาร CU 763-15-13 สามารถเข้าไปออกฤทธิ์ในเซลล์ได้ แต่การออกฤทธิ์ เกี่ยวข้องกับสารกระตุ้นจากภายนอก ตัวของสารเองไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากพอที่จะเห็นผล

KCl เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบด้วย KCl จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวโดยการเกิด membrane depolarization กระตุ้นให้มีการเปิดออกของ voltage-operated calcium channel (VOC) ทำให้เพิ่ม permeable ต่อ (Szeleres and Papp,1994) ส่งผลให้แคลเซี่ยมจากภายนอกที่มีความเข้มข้นที่สูงกว่าเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ นอกจากนี้แล้ว KCl ยังทำให้มีการปลดปล่อยแคลเซี่ยมจากเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีผลทำให้แคลเซี่ยมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Hamilton,T.C.,et al., 1968) แคลเซี่ยมอิสระที่สูงขึ้นจะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซี่ยมออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ทำให้เกิดการหดตัวได้ ในการกระตุ้นท่อนำอสุจิในหนูขาว KCl จะกระตุ้นให้ท่อนำอสุจิในหนูขาวหดตัว โดยเกิดการตอบสนองเป็น 2แบบ เริ่มต้นด้วยการหดตัวอย่างรวดเร็วเป็นแบบ phasic contraction ซึ่งการหดตัวแบบ phasic contraction นี้จะขึ้นกับ intracellular calcium (Rapoport,1987) ตามด้วยการหดตัวแบบ tonic contraction ซึ่งการหดตัวแบบ tonic contraction นั้นจะขึ้นกับ extracellular calcium (Nishimura,Ota and Ito,1991) การที่ KCl ทำให้เกิด phasic contraction และ tonic contraction นั้นอธิบายได้ว่า VOC ที่เปิดในขณะที่เกิด membrane depolarization โดย high K^+ นั้นแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ fast channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดเร็วส่งผลให้เกิดการหดเกร็งใน phasic phase และ slow channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดช้าส่งผลให้เกิดการหดเกร็งใน tonic phase และเชื่อกันว่า fast channel มีความไวต่อมากกว่า slow channel (Langton and Huddert,1987) และเมื่อทดสอบในภาวะที่ Ca^{2+}free พบว่าเมื่อให้ CU 763-15-13 แล้วให้ KClพบว่ากล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดสายสะดือหดตัวลดลงแสดงว่ามีผลต่อ VOC แต่เมื่อให้ CU 763-16-04 แล้วให้ KCl พบว่าทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำหดตัวเพิ่มขึ้น CU 763-16-04 แต่สาร CU 763-16-04 มีผลในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว (ดังแสดงในตารางที่ 5)อาจมีผลในกลไกอื่นที่สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดสายสะดือได้

3.ผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อการหดตัวที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย Potassium depolarizing

ในสารละลาย Potassium depolarizing ทำให้หลอดเลือดสายสะดือเกิดการหดตัวได้โดยการเกิด action potential ที่ผนังเซลล์เกิด membrane depolarization และการให้ $CaCl_2$จะเข้าเซลล์ทาง VOC การหดตัวนี้จะเป็นแบบ dose dependent (Mangel et al.,1982) จากการทดลองพบว่าเมื่อให้ CU 763-15-13 มีผลในการลดการหดตัวทั้งในหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำผลที่ได้คล้ายกับการลดการหดตัวของกระเพาะอาหารหนูขาว(คณิตา,2542) แต่ CU 763-16-04 มีผลในการเพิ่มการหดตัวทั้งในหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำผลที่ได้แตกต่างกับการลดการหดตัวของกระเพาะอาหารหนูขาว(คณิตา,2542)

4.ผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อการหดตัวที่ เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ในสารละลาย HCO_3^- และ Ca^{2+} Free KHS

เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วย $BaCl_2$ ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวดังกลไกที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 2. ซึ่งในภาวะสารละลาย HCO_3^- และ Ca^{2+} Free KHS ไม่มีผลในการหดตัวซึ่งจะดูผลของ $BaCl_2$ ผลที่ได้เมื่อให้ $BaCl_2$ เป็นแบบ cumulative dose จากผลการให้ $BaCl_2$ ร่วมกับ CU 763-15-13 พบว่ามีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ แสดงว่า CU 763-15-13 มีผลในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทางกลไก VOC ได้แต่ CU 763-16-04 มีผลในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดซึ่งกลไกนี้อาจเกี่ยวข้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของอัญชิษฐา พบว่า CU 763-16-04 ยับยั้งการเข้าของแคลเซี่ยมทำให้มี Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นส่งผลไปรบกวนกลไกภายในเซลล์ทำให้เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์

จากการทดลองอาจกล่าวได้ว่าสาร CU 763-15-13 มีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงสายสะดือมนุษย์ได้ เมื่อให้ร่วมกับสารกระตุ้นที่ผ่าน ROC และ VOC และพบว่าสามารถลดการหดเกร็งได้โดยไม่ขึ้นกับ extracellular calcium แสดงว่า CU 763-15-13 คาดว่ามีผลยับยั้งการผ่านเข้าของ calcium ion จากภายนอกเข้าภายในเซลล์ และมีผลอย่างอื่นที่ไม่สามารถอธิบายการลดการหดตัวที่เกิดจากกลไกภายในเซลล์ได้ การที่ CU 763-16-04 เพิ่มฤทธิ์การหดเกร็งของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่กระตุ้นผ่าน ROC และ VOC ยังไม่อาจสรุปผลได้ แต่จากผลการศึกษาของ อัญชิญฐา (2543.)ที่พบว่า CU 763-16-04 ยับยั้งการเข้าของ Ca^{2+} ไปเก็บในไมโตคอนเดรีย อาจส่งผลทำให้มี Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น มีส่งไปเพิ่มการหดเกร็งของหลอดเลือดที่ถูกชักนำด้วยสารกระตุ้น อย่างไรก็ตามกลไกดังกล่าวยังไม่สามารถอธิบายได้ในขณะนี้ จำเป็นต้องทำการศึกษาต่อไป

จากผลการศึกษาเบื้องต้นของสารทั้ง 2 ตัวนี้ทำให้ได้ข้อมูลทางเภสัชวิทยาที่เพื่อขึ้น แต่น่าจะมีการทดลองศึกษาต่อไปเพื่อที่จะได้ทราบกลไกที่แน่นอนว่ามีผลต่อ receptor ใดบ้าง โดยการทดลองเปรียบเทียบกับสารที่กระตุ้นและยับยั้ง และการทดลองในอวัยวะอื่น ๆ หรือใช้วิธี receptor ligand bliding และต้องศึกษาผล Toxic dose ก่อนที่จะนำมาพัฒนาในทางการรักษาต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารกระตุ้นการหดตัว	5-HT	Histamine	ACh	NE	TEA	5-HT (Ca^{2+} free)	Histamine (Ca^{2+} free)	KCl (Ca^{2+} free)	$BaCl_2$ (HCO_3^- and Ca^{2+} free)	$CaCl_2$ (high K^+)	$BaCl_2$ (high K^+)	$BaCl_2$ (Ca^{2+} free)
หลอดเลือดแดงลายสะดือมนุษย์												
CU 763-15-13	↓	↓	↔	↔	↔	↓	↔	↓	↓	↓	-	-
CU 763-16-04	↑	↑	↔	↔	↔	↑	↔	↑	↑	↑	-	-
หลอดเลือดดำลายสะดือมนุษย์												
CU 763-15-13	↓	↓	↔	↔	↔	↓	↔	↓	↓	↓	-	-
CU 763-16-04	↑	↑	↔	↔	↔	↑	↔	↑	↑	↑	-	-
หลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย												
CU 763-10-01	↑	-	-	↔	-	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-15-13	↓	-	-	↔	-	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-16-04	↑	-	-	↑	-	-	-	-	-	-	-	-
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว												
CU 763-10-01	↓	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-15-13	↓	-	-	↓	↓	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-16-04	↓	-	-	↔	↓	-	-	-	-	-	-	-
กระเพาะอาหารหนูขาว												
CU 763-15-13	↓	-	↓	-	↓	-	-	-	-	↓	↓	-
CU 763-16-04	↓	-	↓	-	↓	-	-	-	-	↓	↓	↓
Papaverine	↓	-	↓	-	-	-	-	-	-	↓	↓	-
minoxidil	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-
ท่อนำอสุจิหนูขาว												
CU 763-10-01	↓	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-15-13	↓	-	-	↔	-	-	-	-	-	-	-	-
CU 763-16-04	↓	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 5 แสดงผลของ CU 763.-10-01,CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบชนิดต่างๆ เมื่อกระตุ้นด้วยสารต่างชนิดกัน ในสารละลายที่แตกต่างกัน