

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากการทดลองที่ผ่านมาจะพบว่า หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์จะมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นการหดตัวเช่น 5-HT, histamine ได้ดีกว่า norepinephrine และ acetylcholine (Altura et al., 1972) เนื่องจาก หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยง การไหลเวียนเลือดจะขึ้นอยู่กับสาร autacoids (Dawes, 1968) และนอกจากนี้ยังพบว่า หลอดเลือดดำของสายสะดือมนุษย์จะมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นการหดตัว และตอบสนองต่อสารที่นำมาทดลองได้ดีกว่าหลอดเลือดแดง อาจจะเป็นเนื่องจาก ความแตกต่างของการตัดหลอดเลือดที่นำมาทดลอง โดยหลอดเลือดดำจะตัดเป็นวง (ring) แล้วนำมาต่อกันจำนวน 2 ชั้น ส่วนหลอดเลือดแดงตัดแบบ longitudinal เนื่องจาก เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงมีขนาดเล็กเป็นการยากที่จะนำมาตัดแบบเป็นวงหรือแบบเกลียว (spiral) ดังนั้นการตัดหลอดเลือดแบบวงจึงสามารถทำได้เฉพาะในหลอดเลือดดำ เนื่องจากมีเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่กว่า หลอดเลือดจะมีกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น ชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อเรียบตัวแบบวงกลม (circular) ส่วนชั้นในจะเรียงตัวตามยาว (longitudinal) การตัดหลอดเลือดดำแบบเป็นวงจะเป็นการหลีกเลี่ยงการตัดกล้ามเนื้อทั้ง 2 ชั้น และพบว่าจะมีการตอบสนองต่อการหดตัวได้ดีกว่าการตัดหลอดเลือดแบบเกลียวหรือตามยาว (Altura et al., 1972)

1. ผลของสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT, histamine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

1.1 ผลของ 5-HT ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

5-HT เป็น endogenous neurotransmitters ที่มีผลต่อการเกิดพยาธิสภาพของโรคต่างๆที่เกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อเรียบ เช่น hypertension, migraine, Raynaud's phenomenon, vasospasm of the coronary, cerebral vasculature, gut motility disorder และ dysfunction of genitourinary (Hall and Hill, 1988) 5-HT เป็น vasoconstrictor ที่เชื่อว่ามีส่วนต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบว่าในมารดาที่ตั้งครรภ์และมีความดันโลหิตสูงขณะตั้งครรภ์ จะมีการหลั่ง 5-HT เพิ่มขึ้นกว่ามารดาที่ตั้งครรภ์ปกติ ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดความดันโลหิตสูงได้ (Taniguchi, 1944)

จากการทดลอง เมื่อให้ 5-HT ขนาด 1×10^{-6} M จะทำให้หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์มีการหดตัวเห็นได้ชัดเจน และคงอยู่เป็นระยะเวลาานาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา (Altura et al., 1972; อัจฉนา แทนชา, 2539) แสดงว่าที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์น่าจะมี

5-HT receptor อยู่ เนื่องจากการออกฤทธิ์ของ 5-HT ในการทำให้หลอดเลือดหดตัว จะต้องออกฤทธิ์ผ่าน 5-HT receptor ที่อยู่บนผนังหลอดเลือด และชนิดของ 5-HT receptor ก็สามารถจำแนกออกได้เป็น 7 ชนิด ดังที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 1 นอกจากนี้ เมื่อให้ ketanserin ซึ่งเป็น selective 5-HT₂ antagonist ในขณะที่หลอดเลือดเกิดการหดตัวสูงสุดอันเป็นผลมาจาก การกระตุ้น ด้วย 5-HT สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก 5-HT ได้ (อรชร อิงคานุวัฒน์, 2535; วิจารณ์ สุขกมลรัตน์, 2539) แสดงว่า ที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์มี 5-HT₂ receptor อยู่ด้วย

สำหรับลักษณะการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT จะมีการหดตัวอย่างรวดเร็วในระยะแรก (phasic phase) เนื่องมาจากการกระตุ้นที่ 5-HT₂ receptor ที่อยู่บนผนังเซลล์ เป็น G-protein couple receptors โดยจับกับ PLC แล้วเกิด phosphorylated เปลี่ยน phosphatidylinositol (Ptdins4,5P₂) ไปเป็น Ins1,4,5P₄ ไปเปิด Ca²⁺ channel ทำให้ Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้ามาภายในเซลล์ ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Charles and Robert, 1994) และเมื่อถึงระยะหนึ่งการหดตัวจะค่อยๆ ช้าลง จนกระทั่งมีการหดตัวอย่างคงที่ (tonic phase) และการหดตัวจะยังคงอยู่เป็นระยะเวลาานเนื่องมาจาก อีก pathway หนึ่งจะเกิดการ hydrolysis ของ membrane phosphoinositides มาเป็น IP₃ แล้ว IP₃ จะส่งผลกระตุ้นการหลั่งออกของ Ca²⁺ จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) (Burkhalter, Julius and Frick, 1995; Kamm and Stull, 1985; Rang and Dale, 1991) และนอกจากนี้ Ca²⁺ ที่เข้ามาภายในเซลล์จะมีส่วนกระตุ้นการหลั่งออกของ Ca²⁺ ออกจาก SR ด้วย ดังนั้น การหดตัวของหลอดเลือดในระยะ tonic phase น่าจะขึ้นอยู่กับ intracellular calcium เป็นส่วนใหญ่

1.2 ผลของ histamine ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

จากการทดลอง เมื่อให้ histamine ขนาด 1×10^{-5} M พบว่า หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์จะมีการหดตัวอย่างชัดเจน ลักษณะการหดตัวจะเป็นเช่นเดียวกับการทดลองด้วย 5-HT และสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา (Altura et al., 1972; อัจฉา แทนขำ, 2539) แต่ขนาดความเข้มข้นของ histamine ที่ใช้ในการทดลองนี้จะมากกว่า 5-HT เนื่องจากเมื่อให้ histamine ขนาด 1×10^{-6} M (เท่ากับปริมาณความเข้มข้นของ 5-HT) หลอดเลือดมีการหดตัวได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับที่หดตัวที่เกิดจาก 5-HT เนื่องจาก ในสตรีตั้งครรภ์ หลอดเลือดสายสะดือจะมีความไว (sensitivity) ต่อ 5-HT มากกว่าคนปกติ (Taniguchi, 1944) ดังนั้นจึงเพิ่มขนาดความเข้มข้นของ histamine เป็น 1×10^{-5} M พบว่า หลอดเลือดจะมีการหดตัวได้ดีพอๆกับการให้ 5-HT ขนาด 1×10^{-6} M จึงใช้ความเข้มข้นนี้เพื่อให้ได้มีการหดตัวได้ใกล้เคียงกัน และพบว่า การให้ H₁ antagonist เช่น chlorpheniramine จะมีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ แสดงว่ามีการออกฤทธิ์ผ่าน H₁ receptor (วิจารณ์ สุขกมลรัตน์, 2539) ดังนั้น จึงแสดงว่าที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์มี H₁ receptor อยู่ด้วย

สำหรับลักษณะการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine จะออกฤทธิ์โดยจับกับ receptor ที่ผนังเซลล์ แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ receptor operated Ca^{2+} channel ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น (Bolton, 1979b) เมื่อให้ histamine ไปจับกับ receptor แล้วกระตุ้นการทำงานของ PLC ให้เกิด hydrolysis ของ inositol phospholipids ทำให้เกิด second messenger 2 ชนิดคือ DAG และ IP_3 การเพิ่มขึ้นของ IP_3 จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่งออกของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) (Carsten and Miller, 1985; Hashimoto et al., 1985; Hill, 1990)

2. ผลของ magnesium sulphate ที่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

2.1 ผลของ magnesium sulphate ต่อการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ด้วยสารกระตุ้นการหดตัว 5-HT และ histamine

2.1.1 เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

เมื่อให้ 5-HT แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ได้ ดังกลไกที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้ กลไกการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT ยังมีกลไกอื่น ๆ ได้อีกดังต่อไปนี้ (Page and McCubbin, 1953)

- กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง norepinephrine จากปลายประสาท adrenergic nerve terminals ซึ่งสามารถพบได้จากการทดลองในหัวใจและหลอดเลือด aortic ในหนูขาว (Vanhoutte, Verbeuren and Webb; 1981)

- กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง endothelium-derived constricting factors (EDCF) จากเยื่อหลอดเลือด มีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว (Luscher and Vanhoutte; 1986)

เมื่อ 5-HT จับกับ $5-HT_2$ receptor ที่อยู่บนผนังหลอดเลือด จะส่งผลทำให้ IP_3 เพิ่มขึ้น โดยเกิดผ่านการกระตุ้น PLC ส่งผลทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Hill, 1990; Timmerman, 1990) เมื่อให้ magnesium sulphate ขนาด $1 \times 10^{-2} M$ ลงไปในขณะที่หลอดเลือดเกิดการหดตัวสูงสุดคงที่ พบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัว โดยเป็นไปในลักษณะอย่างช้า ๆ แต่เมื่อเพิ่มขนาดของ magnesium sulphate เป็น $2 \times 10^{-2} M$ พบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวมากขึ้น (dose dependent) และเป็นไปในลักษณะอย่างช้า ๆ มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) การที่ magnesium sulphate สามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดสายสะดือเกิดการคลายตัวได้ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT ได้นั้น โดยกลไกที่อาจจะเป็นไปได้คือ เกิดจากการที่ magnesium sulphate ออกฤทธิ์ยับยั้งผ่าน receptor operated Ca^{2+} channel (ROC) ซึ่งสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์ทาง Ca^{2+} channel ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Alomaka et al. (1995) พบว่า magnesium sulphate สามารถยับยั้งการหดตัวของ

หลอดเลือด aortic ในหนูขาวได้เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย phenylephrine ดังนั้น magnesium sulphate จึงน่าจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเข้าของ Ca^{2+} หรืออาจจะมีผลต่อการหลั่งออกของ Ca^{2+} จาก SR ทำให้ระดับของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลง ซึ่งจะอธิบายต่อไป

2.1.2 เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

เมื่อให้ histamine แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ได้ ดังกลไกที่กล่าวมาแล้วข้างต้นเนื่องจากเมื่อ histamine จับกับ H_1 receptor ที่อยู่บนผนังเซลล์ ซึ่งจะ link กับ phosphatidylinositol pathway ทำให้ระดับ IP_3 เพิ่มขึ้น ส่งผลให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Arrang et al., 1987; Timmerman, 1990; Hill, 1990) เมื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์เกิดการหดตัวสูงสุดแล้วให้ magnesium sulphate ขนาด $1 \times 10^{-2} M$ ลงไป พบว่า หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์จะเกิดการคลายตัว โดยเป็นไปในลักษณะอย่างช้าๆ และจะคลายตัวคงที่ในระยะเวลาต่อมา แต่เมื่อเพิ่มขนาดของ magnesium sulphate เป็นขนาด $2 \times 10^{-2} M$ พบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวได้เร็วและมากกว่า โดยกลไกที่อาจจะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะไปมีผลออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการหดตัวที่ H_1 receptor โดยไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่อยู่ภายนอกเซลล์ หรืออีกกลไกหนึ่งที่จะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะไปมีผลยับยั้งการหลั่งออกของ Ca^{2+} ที่เก็บอยู่ใน SR ก็ได้

ในการทดลองนี้พบว่า เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ด้วย histamine แล้วให้ magnesium sulphate หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้เร็วและคลายตัวได้มากกว่าการกระตุ้นด้วย 5-HT จึงอาจเป็นไปได้ว่า magnesium sulphate จะมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine ได้ดีกว่า 5-HT

2.2 ผลของ magnesium sulphate ต่อการต้านการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ในสารละลาย Krebs-Henseleit solution

2.2.1 เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไปก่อนประมาณ 5 นาที หลอดเลือดจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ และเมื่อกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดด้วย 5-HT พบว่าทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงจะมีการตอบสนองต่อ 5-HT ได้ลดลง โดยการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก 5-HT หลังการให้ magnesium sulphate จะลดลงตามขนาดของ magnesium sulphate ที่ให้ คือเมื่อให้ magnesium sulphate ขนาด $1 \times 10^{-2} M$ แล้วกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT หลอดเลือดจะหดตัวได้ลดลง (เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม) และเมื่อ

ให้ magnesium sulphate เพิ่มเป็นขนาด $2 \times 10^{-2} M$ หลอดเลือดจะหดตัวได้ลดลงน้อยกว่าการให้ magnesium sulphate ขนาด $1 \times 10^{-2} M$ และลักษณะการหดตัวของหลอดเลือด จะมีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 16) ดังนี้คือ เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไปก่อน แล้วกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT หลอดเลือดจะมีการหดตัวในระยะ phasic phase แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมคือหลอดเลือดจะมีการหดตัวอย่างรวดเร็วเป็นระยะเวลาหนึ่ง (ลักษณะกราฟจะเป็น sharp curve) แล้วการหดตัวจะค่อย ๆ ลดลง (ลักษณะกราฟจะโค้งมน) และหดตัวคงที่ในระยะเวลาต่อมา โดยกลไกของ magnesium sulphate ที่อาจจะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะไปยับยั้งการเข้าของแคลเซียมออกจากภายนอกเซลล์ที่ผ่านเข้ามาทาง ROC ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์ได้น้อย หลอดเลือดจึงเกิดการหดตัวได้ลดลง และการหดตัวจะเกิดได้ค่อนข้างช้า หรืออาจจะไปมีผลยับยั้งการหลั่งออกของแคลเซียมที่เก็บสะสมภายในเซลล์ ทำให้ intracellular calcium ลดลง ซึ่งจะอธิบายในการทดลองต่อไป

2.2.2 เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไปก่อนประมาณ 5 นาที แล้วกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือด้วย histamine พบว่า ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงจะมีการตอบสนองต่อ histamine ได้ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการหดตัวด้วย histamine อย่างเดียว และการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก histamine ภายหลังจากให้ magnesium sulphate จะลดลงตามขนาดของ magnesium sulphate ที่ให้ โดยกลไกที่อาจจะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะไปมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมที่ผ่านทาง ROC ทำให้หลอดเลือดไม่สามารถหดตัวได้ดังเดิม ซึ่งกลไกดังกล่าวน่าจะคล้ายคลึงกับการกระตุ้นด้วย 5-HT

2.3 ผลของ magnesium sulphate ต่อการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

2.3.1 เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution เป็นสภาวะที่ไม่มีปริมาณของแคลเซียมภายนอกเซลล์ และมีสาร ethyleneglycol-bis β -aminoethyl ether N,N-tetraacetic acid (EGTA) เป็นตัวจับแคลเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์ทั้งหมด การหดตัวของหลอดเลือดจึงน่าจะกล่าวได้ว่า เป็นผลมาจากอิทธิพลของแคลเซียมที่หลั่งออกจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ จากการทดลอง เมื่อให้ 5-HT ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ จะพบว่า หลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงจะค่อย ๆ หดตัวอย่างช้าในระยะแรก (รูปที่ 22,23) และต่อมากจะมีการหดตัวอย่างคง

ที่แต่เป็นระยะเวลาสั้น ๆ หลังจากนั้น หลอดเลือดจะค่อย ๆ คลายตัวลงได้เอง ซึ่งต่างไปจากการหดตัวของหลอดเลือดในสารละลาย Krebs-Henseleit solution แสดงว่า การหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ในระยะ phasic phase จำเป็นต้องอาศัยปริมาณแคลเซียมภายนอกเซลล์เป็นส่วนหนึ่ง (อัจฉนา แทนขำ, 2539) ส่วนการหดตัวในระยะ tonic phase จะต้องอาศัยแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เก็บสะสมอยู่ใน SR (Wylam et al., 1993) แต่ในการทดลองนี้ การหดตัวของหลอดเลือดในระยะ tonic phase จะค่อย ๆ ลดลง อาจจะเป็นเนื่องจากไม่มีปริมาณของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ เข้าไปกระตุ้นการหลั่งออกของแคลเซียมที่เก็บสะสมภายในเซลล์ แคลเซียมที่หลั่งออกมาจาก SR จึงมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะคงสภาพการหดตัวของหลอดเลือดได้ดังเดิม ดังนั้นในการทดลองนี้จึงให้ magnesium sulphate เข้าไปก่อนแล้วจึงกระตุ้นด้วย 5-HT

เมื่อให้ magnesium sulphate ขนาด $1 \times 10^{-2} M$ ลงไปก่อนประมาณ 5 นาที แล้วให้ 5-HT ลงไปขนาดเท่าเดิม ผลการทดลองพบว่า เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไปหลอดเลือดยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ แต่เมื่อให้ 5-HT ลงไป ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง จะมีการหดตัวได้ลดลง (เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม) แสดงว่า มีการตอบสนองต่อ 5-HT receptor ได้ลดลง และเมื่อทดลองให้ magnesium sulphate ในปริมาณที่มากขึ้นคือ $2 \times 10^{-2} M$ ผลการทดลองก็เป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT หลอดเลือดจะหดตัวได้ลดลงกว่าเดิม ดังนั้นกลไกที่อาจจะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะมีผลยับยั้งการหลั่งออกของ Ca^{2+} จาก SR ก็ได้ ซึ่งจากการทดลองนี้ น่าจะกล่าวได้ว่า magnesium sulphate มีผลต่อ $[Ca^{2+}]_i$ โดยตรง

2.3.2 เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

ในสภาวะที่ไม่มีปริมาณของแคลเซียมภายนอกเซลล์ เมื่อให้ histamine ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ทุกการทดลอง ผลการทดลองพบว่า หลอดเลือดจะไม่มีอาการหดตัวเกิดขึ้น แสดงว่า การหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine จำเป็นต้องอาศัยปริมาณของแคลเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์เป็นหลัก โดยการออกฤทธิ์ของ histamine จะเกิดขึ้นโดยการกระตุ้นที่ H_1 receptor แล้วเกิดการ hydrolysis ของ membrane phosphoinositides เปลี่ยนเป็น IP_3 แล้ว IP_3 ที่เกิดขึ้นจะส่งผลไปกระตุ้นการหลั่งออกของแคลเซียมที่เก็บไว้ภายในเซลล์ (Bolton, 1979b; Hill, 1990)

จากผลการทดลอง histamine ไม่มีผลทำให้หลอดเลือดหดตัวในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution จึงไม่ได้ทำการทดลองกับ magnesium sulphate

2.4 ผลของ magnesium sulphate ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ให้หดตัวด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium depolarizing

ในสภาวะสารละลาย potassium depolarizing จะมีโปแตสเซียมไอออนในปริมาณที่สูง และปราศจากแคลเซียมอิสระ (high K^+ - Ca^{2+} free solution) ดังนั้น หลอดเลือดที่อยู่ในสารละลายนี้จะเกิด action potential ได้ เพราะเกิดการเคลื่อนที่ของโปแตสเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์ เข้าสู่เซลล์ตลอดเวลา ทำให้เกิด membrane depolarizing แล้วมีผลกระตุ้นให้ VOC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ จนเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ และเมื่อให้ $CaCl_2$ แบบสะสมเข้าไปแก่หลอดเลือดจะพบว่า ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงจะมีการหดตัวตามปริมาณของ $CaCl_2$ ที่ใช้คือมีลักษณะเป็น dose dependent ซึ่งการหดตัวของหลอดเลือด น่าจะกล่าวได้ว่า เกิดจากการเคลื่อนที่ของแคลเซียม ($CaCl_2$) จากภายนอกเซลล์โดยผ่านทาง VOC ทำให้ระดับของแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ชักนำไปเกิดการหดตัวของหลอดเลือด (Mangel et al., 1982)

และเมื่อให้ magnesium sulphate ลงไปก่อน 5 นาที แล้วจึงให้ $CaCl_2$ ในปริมาณเท่าเดิม พบว่า magnesium sulphate สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า magnesium sulphate สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing ได้ อาจจะเป็นเนื่องจาก magnesium sulphate ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่ผ่านมาจาก VOC

และข้อสังเกตหนึ่งที่ได้จากการทดลองนี้ เมื่อ incubate หลอดเลือดในสารละลาย high potassium depolarizing แล้วให้ magnesium sulphate ลงไป จะพบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวลงได้เอง อาจจะเป็นไปได้ว่า ในขณะที่หลอดเลือดอยู่ในสภาวะ high K^+ - Ca^{2+} free solution ที่ผนังเซลล์จะเกิด membrane depolarization มีผลทำให้ Ca^{2+} channel เปิดออกได้มากขึ้น เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไป Mg^{2+} จึงเคลื่อนที่ผ่านเข้าเซลล์โดยทาง VOC แล้วอาจจะไปมีผลต่อแคลเซียมที่อยู่ภายในเซลล์ก็ได้ โดยอาจจะไปมีผลต่อการยับยั้งการหลั่งออกของ Ca^{2+} ที่เก็บอยู่ใน SR ก็ได้

2.5 ผลของ magnesium sulphate ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ให้หดตัวด้วย KCl ในสารละลาย Krebs-Henseleit solution

KCl สามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดสายสะดือเกิดการหดตัวได้โดยเกิด action potential ที่ผนังเซลล์ เนื่องจาก การเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเซลล์โดยผ่านทาง K^+ channel ทำให้ปริมาณของ K^+ ภายในเซลล์สูงขึ้น เป็นผลให้ความต่างศักย์ของเซลล์มีค่าลดลง เกิด membrane depolarization ส่งผลทำให้ Ca^{2+} เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์โดยทาง VOC ผลจาก Ca^{2+} เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์จะไปเหนี่ยวนำให้เกิด calmodulin และ myosin light chain phosphorylation ผลคือ เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ดังนั้น ลักษณะการหดตัวของหลอดเลือดในระยะแรก จะมีการหดตัวอย่างรวดเร็ว (phasic phase) เนื่องจาก แคลเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์เคลื่อนที่

เข้าสู่ภายในเซลล์โดยผ่านทาง VOC แล้วเกิดการหดตัวเป็นระยะเวลานาน (tonic phase) เนื่องจาก แคลเซียมที่เข้าไปมีส่วนกระตุ้นการหลั่งออกของแคลเซียมที่อยู่ภายใน SR ทำให้ปริมาณของแคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้น (Bolton, 1979b)

เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไป พบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวลงได้เพียงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ แสดงว่า เมื่อผนังหลอดเลือดเกิด depolarization แล้ว VOC เปิดออก แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จะเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว และแคลเซียมอาจจะไปมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Mg^{2+} ที่ผ่านเข้ามาทาง VOC ก็ได้ ทำให้ Ca^{2+} และ Mg^{2+} แย่งกันเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ทาง VOC แต่ Mg^{2+} เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้น้อยกว่า Ca^{2+} จึงอาจกล่าวได้ว่า Ca^{2+} และ Mg^{2+} เป็น competitive กัน (Peter, Anne and Wiggo, 1994) ดังนั้น magnesium sulphate จึงไม่ได้มีผลต่อ VOC เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl ซึ่งแตกต่างจากผลของ 5-HT และ histamine

2.6 ผลของ magnesium sulphate ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ให้หดตัวด้วย KCl ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

ในสภาวะที่ไม่มีปริมาณแคลเซียมภายนอกเซลล์ เมื่อให้ KCl หลอดเลือดจะมีการหดตัว โดยในระยะแรกการหดตัวจะค่อยๆ เป็นไปอย่างช้าๆ เนื่องจากมีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR และมีการหดตัวคงที่และคงอยู่เป็นระยะเวลานาน เนื่องจาก การหดตัวของหลอดเลือดมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแคลเซียมที่อยู่ภายในเซลล์ (Mangel et al., 1982) โดยเกิด membrane depolarization กระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมที่เก็บสะสมใน SR เมื่อให้ magnesium sulphate ลงไป ผลการทดลองพบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวลงได้เล็กน้อย และไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่า magnesium sulphate ไม่มีผลต่อการยับยั้งการหลั่งออกของแคลเซียมที่อยู่ใน SR หรือเกี่ยวข้องกับปริมาณของ Ca^{2+} ที่อยู่ใน SR ที่เนื่องมาจากการเกิด depolarization น่าจะกล่าวได้ว่า magnesium sulphate น่าจะมีผลต่อการเข้า-ออกของแคลเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์มากกว่า

2.7 ผลของ magnesium sulphate ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ให้หดตัวด้วย $BaCl_2$ ในสารละลาย HCO_3^- และ Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้ จากกลไกที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 1 นอกจากนี้ $BaCl_2$ ยังเป็นสารตัวหนึ่ง ที่สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดได้ โดยมีกลไกดังนี้คือ

1. $BaCl_2$ จะออกฤทธิ์ผ่าน Ca^{2+} channel โดยตรง มี affinity ต่อ Ca^{2+} channel ได้ดีกว่า Ca^{2+} (Spedding and Paoletti, 1992) จึงเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่า Ca^{2+} และนอกจากนี้

Ba^{2+} ยังสามารถชักนำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวได้ด้วยตัวมันเอง โดยไม่เกี่ยวกับ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ และอาจจะไม่เกี่ยวกับการหลั่งของ Ca^{2+} จาก SR (Karaki, Satake and Shibata, 1986)

2. Ba^{2+} ทำให้แคลเซียมที่อยู่นอกเซลล์ เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้นโดยผ่าน VOC ทำให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น (Karaki, Satake and Shibata, 1986)

3. นอกจากนี้ Ba^{2+} ยังมีผลกระตุ้นให้แคลเซียมหลั่งออกมาจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (Antonio, Silva and Yashuda, 1973)

จากการทดลอง เมื่อให้ $BaCl_2$ แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์แบบสะสม หลอดเลือดจะเกิดการหดตัว และหดตัวเพิ่มขึ้นตามขนาดของ $BaCl_2$ ที่ได้ การหดตัวของหลอดเลือดน่าจะเกิดจาก Ba^{2+} โดยตรง หรือเกิดจาก Ba^{2+} เข้าสู่เซลล์ทาง VOC และมีผลกระตุ้นการหลั่งของ Ca^{2+} จาก SR ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์สูงขึ้น เมื่อหลอดเลือดเกิดการหดตัวสูงสุดคงที่แล้วให้ magnesium sulphate ลงไป พบว่า หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวลงอย่างรวดเร็วจนเกือบถึง base line กลไกที่อาจจะเป็นไปได้คือ magnesium sulphate อาจจะไปเร่งการขับออกของ Ca^{2+} ที่อยู่ภายในเซลล์ก็ได้ ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดน้อยลง หลอดเลือดจึงเกิดการคลายตัว หรืออาจจะไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ba^{2+} ที่ผ่านทาง VOC

สรุปผลการทดลอง

magnesium sulphate เป็นยาตัวหนึ่งที่ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคทางสูติกรรม โดยได้นำมาใช้ในคนไข้ที่มีภาวะความดันโลหิตสูงในขณะตั้งครรภ์ ซึ่งในคนไข้ที่มีภาวะดังกล่าว จะประกอบด้วยอาการความดันโลหิตสูงเป็นหลักในขณะตั้งครรภ์ ซึ่งมักจะเป็นในระยะไตรมาสที่ 3 ของการตั้งครรภ์ และเมื่อเกิดความดันโลหิตสูงมากๆ จะส่งผลทำให้เกิดอาการชักได้ (eclampsia) ในขณะตั้งครรภ์ ซึ่งจะทำให้เกิดอันตรายต่อทั้งมารดาและทารกในครรภ์ ดังนั้นในคนไข้ดังกล่าว ยาลดความดันโลหิตจึงเป็นยาที่จำเป็นต้องใช้เพื่อนำมาใช้ลดความดันโลหิตให้อยู่ในภาวะปกติ แต่ยังไม่สามารถป้องกันและระงับอาการชักได้ ต่อมาจึงได้มีการนำเอา magnesium sulphate มาใช้เพื่อจุดประสงค์ดังกล่าว โดยฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ และผสมในน้ำเกลือ 5%D/W หยดเข้าทางหลอดเลือดดำจนกว่าคนไข้จะคลอด ผลพบว่า ในคนไข้ที่มีความดันโลหิตสูงขณะตั้งครรภ์ เมื่อให้ magnesium sulphate ไปแล้ว ยังพบว่าความดันโลหิตของคนไข้ที่เคยสูงก็ลดลง จึงเป็นที่น่าสนใจว่า magnesium sulphate มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดอย่างไร และมีกลไกใดที่น่าจะเป็นไปได้ในการออกฤทธิ์ของ magnesium sulphate

จากการทดลองดังกล่าว พบว่า magnesium sulphate สามารถทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวลงได้ อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ทั้งในสารละลาย Krebs-Henseleit solution และ Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution และกลไกการยับยั้งการหดตัวนี้ น่าจะผ่านทาง receptor ของสารกระตุ้นแต่ละชนิด หรือไม่ก็น่าจะมีผลต่อระดับ intracellular mediators ทำให้ระดับของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลง นอกจากนี้ magnesium sulphate ยังไม่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl ทั้งในสารละลาย Krebs-Henseleit solution และ Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution แสดงว่า กลไกการออกฤทธิ์ของ magnesium sulphate อาจจะไม่ได้มีผลต่อแคลเซียมทั้งภายในและภายนอกเซลล์ที่ผ่านเข้ามาทาง VOC อันมาจากการกระตุ้นด้วย KCl ดังนั้น การออกฤทธิ์ของ magnesium sulphate จึงออกฤทธิ์ได้ไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์

นอกจากนี้ จากการศึกษายังพบอีกว่า magnesium sulphate สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} อีสาระจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย high potassium depolarizing ได้ และยังสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ba^{2+} เข้าสู่เซลล์ที่ผ่านทาง VOC หรืออาจจะมีผลต่อการเร่งขับออกของ Ca^{2+} ที่อยู่ภายในเซลล์ ในสารละลาย HCO_3^- และ Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ได้ แต่ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่กระตุ้นด้วย KCl เนื่องจากกลไกการผ่านเข้า-ออกของเซลล์ของแคลเซียมไอออนแตกต่างกัน

และจากการทดลองยังพบว่า เมื่อให้ปริมาณ magnesium sulphate ที่เพิ่มขึ้น การคลายตัวของหลอดเลือดก็จะเกิดการคลายตัวเพิ่มมากขึ้นตามขนาดที่ให้ ก็เป็นจุดที่น่าสังเกตว่าการใช้ magnesium sulphate ในคนไข้จะต้องมีความระมัดระวังในการใช้ยา เนื่องจากเมื่อให้ขนาดที่สูงมากเกินไป หลอดเลือดจะเกิดการคลายตัวได้มาก อาจจะทำให้เกิดภาวะ hypovolemic shock หรือ hypotonic ได้ จึงต้องมีการเตรียมยาไว้ป้องกันด้วย ซึ่งจากการทดลอง เมื่อให้ CaCl_2 ภายหลังการให้ magnesium sulphate ในสารละลาย high potassium depolarizing หลอดเลือดจะสามารถหดตัวได้ตามขนาดของ CaCl_2 ที่ให้ แต่ไม่เท่ากับหลอดเลือดที่ให้ CaCl_2 อย่างเดียว ดังนั้น การใช้ CaCl_2 เป็นยาป้องกันและแก้พิษของการใช้ magnesium sulphate ในขนาดที่สูงก็น่าจะเป็นไปได้ ดังนั้น จึงน่าจะสรุปได้ว่า กลไกการออกฤทธิ์ของ magnesium sulphate ที่น่าจะเป็นไปได้คือ

- ยับยั้งและลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดสายสะดือได้ ไม่ว่าจะกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT หรือ histamine ทั้งใน Krebs-Henseleit solution และใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution แสดงว่า magnesium sulphate น่าจะมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกที่ผ่านทาง ROC และอาจจะมีผลต่อ แคลเซียมที่อยู่ภายในเซลล์

- ยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกที่ผ่านทาง VOC เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย CaCl_2 ในสารละลาย K^+ depolarizing

- ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมทั้งจากภายในและภายนอกเซลล์ เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl ทั้งในสารละลาย Krebs-Henseleit solution และใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

- ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดสายสะดือได้ เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 อาจจะทำให้ได้ว่า magnesium sulphate อาจจะมีผลต่อการยับยั้งการเข้าของ Ba^{2+} หรืออาจจะมีผลต่อการยับยั้งการหลั่งออกของแคลเซียมจาก SR หรืออาจจะไปมีผลเร่งการขับออกของแคลเซียมที่อยู่ภายในเซลล์

แต่อย่างไรก็ตาม ควรจะมีการศึกษาให้ละเอียดเพื่อให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย