

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผล

จากการทดลองเมื่อตัดหลอดเลือดดำ แบบ helical strips จะมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้น ได้ดีกว่าเมื่อตัดแบบ longitudinal strips ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Altura และคณะ (1972) พบว่าหลอดเลือดที่ตัดแบบ helical strips จะสามารถตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้ดีกว่าหลอดเลือดที่ตัดแบบ longitudinal strips โดยให้เหตุผลว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์จะประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น ได้แก่ชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อเรียบชนิดวงกลม สำหรับชั้นในเป็นกล้ามเนื้อเรียบชนิดตามยาว จากการตรวจทางเนื้อเยื่อ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบชนิดวงกลมจะมีปริมาณของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ มากกว่ากล้ามเนื้อเรียบชนิดตามยาว เป็นไปได้ว่าเมื่อมีเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมากกว่าปริมาณของ receptors ต่างๆก็จะมีปริมาณมากตามไปด้วย จึงส่งผลให้มีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้ดีกว่า

1. ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ของ 5-HT, histamine, ACh, NE ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือมนุษย์

1.1 ผลของ 5-HT ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือ

จากการทดลองเมื่อให้ 5-HT ขนาด 2×10^{-6} M แบบ single dose ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ พบว่า หลอดเลือดมีการหดตัวได้อย่างชัดเจน ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา คือ การหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT มีลักษณะเป็น dose dependent และมีฤทธิ์ที่แรงได้ (Gokhale et al., 1966; Altura et al., 1972; McGrath, MacLennan, และ Stuart-Smith, 1985; MacLennan, Whitte, และ McGrath, 1989; Dogan et al., 1991; Yoshikawa และ Chiba, 1991) โดยการออกฤทธิ์ผ่าน 5-HT receptors เมื่อให้ ketanserin ขนาด 2×10^{-6} M ซึ่งเป็น Selective S_2 -antagonist สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ได้ (McGrath et al., 1985) ซึ่งผลที่ได้เป็นการยืนยันได้ว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์ที่แยกออกมาทดลองนี้ มี 5-HT₂-receptors อยู่ด้วย

ปัจจุบันนี้เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า 5-HT มีบทบาทสำคัญทำหน้าที่เป็น neurotransmitter ตัวหนึ่ง ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านจิตใจ อารมณ์ และพฤติกรรม นอกเหนือในอวัยวะอื่นอาจมีบทบาทในการควบคุมการหลั่งน้ำย่อย การเคลื่อนไหวของลำไส้ การทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด และยังเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคของหลอดเลือด เช่น atherosclerosis, โรคความดันโลหิตสูง (Houston และ Vanhoutte, 1986) และจากการศึกษา ในสัตว์ทดลองพบว่าปริมาณของ 5-HT ของหนูถีบจักร และหนูขาว เพิ่มขึ้น ในระหว่างตั้งครรภ์ (Robson และ Senior, 1964; Fahim, Robson, และ Senior, 1966) ซึ่งจะเห็นได้ว่า 5-HT ไม่เพียงแต่จะมีบทบาทที่สำคัญต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดเท่านั้น ยังมีความสำคัญต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารกในครรภ์อีกด้วย เมื่อ 5-HT กระตุ้นหลอดเลือดที่สายสะดือให้หดตัวก็จะมีผลต่อการไหลเวียนโลหิตจากมารดาไปสู่ทารก และจากทารกไปยังมารดาตลอดตามไปด้วย ในที่สุดอาจจะนำไปสู่ภาวะเสี่ยงต่อการเกิดภาวะทารกเจริญเติบโตช้าในครรภ์ การแท้งขึ้นได้ (McGrath et al., 1985)

ในปัจจุบันได้แบ่งชนิดของ 5-HT receptors ได้ 4 ชนิดดังนี้คือ 5HT₁-receptors (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}) เป็น G-protein couple receptors พบได้ในสมองและอวัยวะอื่น, 5-HT₂ - receptors (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}) เป็น G-protein couple receptors เช่นเดียวกัน พบในสมอง และอวัยวะอื่น เช่น กล้ามเนื้อเรียบ เกร็ดเลือด, 5-HT₃ - receptors เป็น ionic channal receptors พบที่สมอง และอวัยวะอื่นเช่น afferent nerves ของ baroreceptors และ chemoreceptors นอกจากนี้ยังพบได้ที่ปลายประสาททั่วทั้ง, 5-HT₄ - receptors เป็น G-protein couple receptors พบที่สมองเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวของระบบทางเดินอาหาร (Zifa และ Fillion, 1992) ซึ่งกลไกที่ 5-HT ทำให้หลอดเลือดหดตัวได้โดย (Vanhoutte, 1987)

- 5-HT ออกฤทธิ์จับกับ 5-HT₂ - receptors ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด
- เพิ่มฤทธิ์สารอื่นที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว อาทิเช่น noradrenaline, histamine, PGF_{2α}, angiotensin II
- กระตุ้นให้มีการหลั่ง noradrenaline จาก adrenergic nerve terminals
- กระตุ้น α - receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด
- กระตุ้นที่เยื่อหลอดเลือด ให้มีการหลั่งสาร endothelium derived contracting factors (EDCF)

1.2 ผลของ histamine ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือ

จากการทดลองเมื่อให้ histamine ขนาด 2×10^{-6} M แบบ single dose ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำพบว่าหลอดเลือดมีการหดตัวได้อย่างชัดเจน ซึ่งผลที่ได้นี้เป็นการสนับสนุนการศึกษาที่ผ่านมาว่า histamine สามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือได้ค่อนข้างแรงและมีการหดตัวได้ในลักษณะ dose dependent เช่นกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT แล้วจะมีฤทธิ์แรงน้อยกว่า (Altura et al., 1972; Yoshikawa และ Chiba, 1991) โดยการออกฤทธิ์ผ่าน H_1 - receptors เมื่อให้ Chlorpheniramine ขนาด 2×10^{-6} M ซึ่งเป็น H_1 -antagonist สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine ได้ผลการทดลองนี้ น่าจะกล่าวได้ว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์นี้มี receptors ชนิด H_1 อยู่ด้วย

จากการที่ histamine มีอยู่กระจุกกระจายตามส่วนต่างๆของร่างกายรวมทั้งในสมองจึงเชื่อว่ามียบทบาทเกี่ยวกับการหลังกรดในกระเพาะอาหาร การเจริญและการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อ การควบคุมสภาวะของโลหิต กระบวนการอักเสบ ซึ่งพยาธิสภาพที่เกี่ยวข้องกับ histamine เช่น การอักเสบ การแพ้ โรคแผลในระบบทางเดินอาหาร (Barnes , Chung, และ Page, 1988; Burkhalter, Julius, และ Flick, 1995) นอกจากนี้บทบาทของ histamine ต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารกในครรภ์ก็มีความสำคัญเช่นกันจากการศึกษาในหนูขาวพบว่า ระดับของ histamine เพิ่มขึ้นในระยะตั้งครรภ์ และมีจำนวนการตายของหนูขาวเพิ่มขึ้น เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยให้เหตุผลว่าการเพิ่มจำนวนการตายของหนูขาวอาจเนื่องมาจาก histamine มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดของสายสะดือ และรกของหนูขาวคลายตัวได้ (Kamswaran, Pennefather, และ West, 1962) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่ผู้วิจัยได้ทำการทดลองมา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าหลอดเลือดของสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษานั้นเป็นคนละสายพันธุ์ ตำแหน่งของหลอดเลือดที่ตัดมาต่างกัน ทำให้มีปริมาณของ receptor ต่างกัน นอกจากนี้สภาวะของการทำการศึกษายังแตกต่างกันด้วยโดยที่การศึกษาหนึ่งเป็นแบบ in vivo และอีกการศึกษาหนึ่งเป็นแบบ in vitro สำหรับผลการทดลองที่ผู้วิจัยได้ศึกษามาพบว่า histamine มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดที่สายสะดือหดตัวได้ค่อนข้างแรงเช่นเดียวกับ 5-HT และเป็นสารที่มีอยู่ และสร้างขึ้นได้เองในร่างกายจึงน่าจะมีผลต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารกในครรภ์ ได้เช่นกัน

ปัจจุบันได้แบ่งชนิดของ histamine - receptors ได้เป็น 3 ชนิด คือ

H_1 - receptors พบที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดลม หลอดเลือด และลำไส้

H_2 - receptors พบที่ parietal cells ของ กระเพาะอาหาร หัวใจห้องบน กล้ามเนื้อเรียบของมดลูก กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดบางชนิดและสมอง

H_3 - receptors พบที่หลอดลมของกระต่าย สมองหนูขาว ปอดของหนูตะเภา และในสมองคน ซึ่งกลไกที่ histamine ทำให้หลอดเลือดหดตัวได้โดย

(Barnes, Chung, และ Page, 1988; Rang, Dale, และ Ritter, 1995)

Histamine จะไปกระตุ้น H_1 - receptors แล้วจะ couple กับ G-protein และ phospholipase C ทำให้มีการสร้าง inositol - 1,4,5 triphosphate (IP_3) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ IP_3 มีผลไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมทำให้ระดับของแคลเซียมอิออนภายในเซลล์เพิ่มขึ้น

1.3 ผลของ ACh ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือ

จากการทดลองเมื่อให้ ACh ขนาด 2×10^{-6} M แบบ single dose ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำพบว่าหลอดเลือดหดตัวได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT และ histamine ซึ่งผลที่ได้ยืนยันกับการศึกษาที่ผ่านมาว่า ACh มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือ ได้แต่ค่อนข้างน้อย และมีลักษณะเป็น dose dependent (Gokhale et al., 1966; Altura et al., 1972; Yoshikawa and Chiba, 1991) และถูกยับยั้งได้โดย atropine (ไม่ได้นำผลมาแสดงไว้) แสดงว่าน่าจะมีการออกฤทธิ์ผ่าน muscarinic receptor การที่ ACh มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือได้ค่อนข้างน้อยอาจเนื่องมาจากการที่หลอดเลือดชนิดนี้ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยง (Spivack, 1946; Reily และ Russel, 1977) ยกเว้นในส่วนของหลอดเลือดที่อยู่ชิดติดกับตัวทารก (Kawano and Mori, 1989) ทำให้มี muscarinic receptors น้อย การตอบสนองของหลอดเลือดต่อสาร ACh จึงมีน้อยไปด้วย ซึ่งการที่เป็นเช่นนี้น่าจะเป็นผลดีต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารกในครรภ์ เพราะว่าถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของระบบประสาทซิมพาเธติก และพาราซิมพาเธติกเกิดขึ้นในร่างกายขณะตั้งครรภ์ ผลที่เกิดขึ้นต่อการไหลเวียนโลหิตของทารกในครรภ์ น่าจะได้รับผลกระทบน้อยด้วย ดังนั้น ผลการทดลองที่ได้จึงอาจกล่าวได้ว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมีปริมาณของ muscarinic receptor น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT-receptor และ histamine-receptor

ในปัจจุบัน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถแบ่ง muscarinic receptor ได้เป็น 5 subtype ได้แก่ M_1 - subtype ('Neural') พบส่วนใหญ่ที่ CNS, peripheral neurons และ gastric parietal cells เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร, M_2 - subtype ('Cardiac') พบที่หัวใจและ presynaptic terminals ของ peripheral และ central neurons เกี่ยวข้องกับการเพิ่ม K^+ -conductance และยับยั้ง calcium channel ลด cardiac rate และ force of contraction, M_3 -subtype ('Glandular/smooth muscle') พบที่กล้ามเนื้อเรียบและต่อมต่างๆมีผลกระตุ้นต่อมต่างๆให้หลั่งสารคัดหลั่ง เช่น ต่อมน้ำลาย หลอดลม ต่อมเหงื่อ เป็นต้น นอกจากนี้ยังทำให้กล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะภายในหดตัว กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว ซึ่งเป็นผลจากการหลั่ง NO จากเซลล์เยื่อหลอดเลือด (Bonner, 1989; Goyal, 1989) M_4 และ M_5 - subtype พบที่สมองหนูขาว (Richards, 1991)

กลไกการออกฤทธิ์ของ M_1 , M_3 และ M_5 - subtype เชื่อว่าออกฤทธิ์ผ่าน inositol phosphate pathway สำหรับ M_2 และ M_4 -subtype ออกฤทธิ์ได้ โดยยับยั้ง adenylate cyclase ทำให้ลด intracellular cAMP (Nathanson, 1987; Goyal, 1989) สำหรับในหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์ยังไม่ได้มีการศึกษาว่าเป็น muscarinic receptor subtype ชนิดใด กลไกในการออกฤทธิ์ของ ACh พบว่า กระตุ้น muscarinic receptor ซึ่งจะก่อให้เกิดผลดังนี้คือ (Rang, Dale, และ Ritter, 1995)

- activation of phospholipase C
- inhibition of adenylate cyclase
- activation of K^+ channels or inhibition of Ca^{2+} channels

สำหรับการศึกษาบทบาทของ ACh ในการกระตุ้นเยื่อหลอดเลือดให้หลั่งสาร endothelium derived relaxing factor (EDRF) นั้นได้มีการศึกษาของ Furchgott และ Zawadzki (1980) พบว่าเกิดการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh ได้ เชื่อว่ามีการหลั่งสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้จากเซลล์เยื่อหลอดเลือด ซึ่งในปัจจุบันทราบแล้วว่าสารดังกล่าวคือ EDRF หรือ nitric oxide (NO) นั่นเอง ในส่วนของเซลล์เยื่อหลอดเลือดที่สายสะดือก็พบว่าการหลั่ง EDRF ได้เช่นกัน (Luscher และ Vanhoutte, 1988) แต่พบว่า histamine, bradykinin และ A 23187 สามารถกระตุ้นให้เซลล์เยื่อหลอดเลือดหลั่งสาร EDRF ได้ ยกเว้น ACh ซึ่งไม่สามารถกระตุ้นเซลล์เยื่อหลอดเลือดให้หลั่งสาร EDRF ได้ เป็นไปได้ว่าเซลล์เยื่อหลอดเลือดที่สายสะดืออาจจะไม่มี muscarinic receptor (De Voorde, Vanderstichele, และ Leusen, 1987; Choudhuri et al., 1991) ส่วนการศึกษาของ Xie และ Triggle (1994) พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดสายสะดือ ไม่ได้เกี่ยวข้องกับ EDRF แต่อาจเกี่ยวข้องกับการหลั่งสาร muscle derived relaxing factor หรือ โดยการกระตุ้น Na^+ , K^+ - ATPase แล้วต่อมาก่อให้เกิด hyperpolarization ของกล้ามเนื้อเรียบจากการที่มีการเพิ่ม K^+ - efflux ซึ่งในส่วนของการทดลองของผู้วิจัยเองไม่ได้ทำการศึกษาถึงเยื่อหลอดเลือดของสายสะดือ แต่ผู้วิจัยเห็นว่าเป็นเรื่องที่น่าจะมีความศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์อย่างสูงต่อไป

1.4 ผลของ NE ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือ

จากการทดลองเพื่อให้ NE ขนาด 2×10^{-6} M แบบ single dose ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ พบว่าหลอดเลือดหดตัวได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT และ histamine ซึ่งผลที่ได้ สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาว่า NE มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT และ histamine (Gokhale et al., 1966; Altura et al., 1972; Yoshikawa และ Chiba, 1991) การศึกษาของ Gokhale และคณะ (1966) พบว่า NE สามารถ

กระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้หดตัวได้ และถูกยับยั้งได้โดย phentolamine ซึ่งเป็น α -antagonist แต่เมื่อกระตุ้นด้วย isoprenaline หลอดเลือดสายสะดือไม่มีการคลายตัว (Somlyo และ Woo , 1965) ผลที่ได้กล่าวได้ว่า หลอดเลือดที่สายสะดืออาจจะไม่มี β -adrenergic receptor อยู่แต่อาจมี α -receptor ก็ได้ และการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือเมื่อกระตุ้นด้วย NE ก็น่าจะเกิดจากการกระตุ้น α -adrenergic receptor ดังที่กล่าวแล้วว่าหลอดเลือดสายสะดือไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยงยกเว้นในส่วนที่อยู่ชิดกับด้านทารก พบว่ามี adrenergic nerve fiber (Kawano และ Mori, 1989) การที่หลอดเลือดสายสะดือตอบสนองได้เพียงเล็กน้อยต่อ NE ก็น่าจะเป็นผลดีต่อระบบไหลเวียนของทารกในครรภ์เช่นเดียวกับ ACh

ในปัจจุบัน ได้แบ่ง adrenergic receptors ออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ (Fuffolo, 1991)

1. α -receptors ซึ่งยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 subtypes คือ

- α_1 -receptors พบได้ที่กล้ามเนื้อเรียบ เช่น หลอดเลือด หลอดลม ทางเดินอาหาร มดลูก กระเพาะปัสสาวะ ม้าม ม่านตา เกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเหล่านี้

- α_2 -receptors พบที่ presynaptic nerve ending, postsynaptic ใน CNS เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง adenylate cyclase ยับยั้งการหลั่ง NE และ ACh

2. β -receptors สามารถแบ่งออกเป็น 3 subtypes คือ

- β_1 -receptors พบส่วนใหญ่ที่หัวใจมีผลทำให้เพิ่ม positive chronotropic effect และ positive inotropic effect และยังทำให้กล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหารคลายตัว

- β_2 -receptors พบที่กล้ามเนื้อเรียบมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลม หลอดเลือด และอวัยวะภายในคลายตัว

- β_3 -receptors พบได้ที่ fat cells มีผลทำให้เกิดการ lipolysis สำหรับกลไกในการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย NE โดยการจับกับ α -receptors ที่ couple กับ G-protein และ phospholipase C เกิดการ hydrolysis PIP_2 มีผลทำให้ระดับ IP_3 เพิ่มขึ้น ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Summers และ McMartin, 1993)

2. ผลของสารแอนโดรกราโฟไลด์ ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง และหลอดเลือดดำที่สายสะดือมนุษย์

จากการทดลองเมื่อให้ 5-HT และ histamine ขนาด 2×10^{-6} โมลาร์ เป็นกลุ่มควบคุมแล้วให้ alcohol 20 โมโครลิตร ก่อน 10 นาที แล้วจึงให้ 5-HT และ histamine ขนาดเท่าเดิมเปรียบเทียบผลการหดตัว พบว่า alcohol สามารถเสริมฤทธิ์การกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT และ histamine แต่หลอดเลือดมีการตอบสนองต่อ alcohol ได้มากน้อยไม่เท่ากัน ในแต่ละหลอดเลือด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลอดเลือดที่ได้มานั้นมีการตอบสนองที่แตกต่างกันไปได้ในแต่ละบุคคลได้โดยทั่วไปเชื่อว่า alcohol มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด มดลูก คลายตัวได้ (Ritchie, 1970) ในปัจจุบัน ethanol ยังเป็นสารที่ใช้ในการป้องกันการคลอดก่อนกำหนดจากการที่มีฤทธิ์ทำให้มดลูกคลายตัว (Lee และ Becker, 1995) มีบางการศึกษาพบว่าฤทธิ์ของ alcohol ออกฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดหดตัวหรือคลายตัวได้นั้นขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ alcohol (Nakano และ Kessinger, 1972; Fewings et al., 1966; Altura et al., 1976) ซึ่ง Nakano และ Kessinger (1972) ได้ศึกษาในสุนัข พบว่าระดับความเข้มข้นของ ethanol ที่ต่ำในพลาสมา ทำให้เพิ่มแรงดันของหลอดเลือดแดง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นสูง แรงดันของหลอดเลือดแดงน้อยกว่า แต่สำหรับหลอดเลือดที่สายสะดือ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเมื่อให้ alcohol ไปก่อน 10 นาที แล้วจึงให้ 5-HT และ histamine พบว่า alcohol สามารถเสริมฤทธิ์ กับ 5-HT และ histamine ทำให้เพิ่มการหดตัวของทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ซึ่งสนับสนุนกับการศึกษาของ Yang และคณะ (1986) พบว่าผลของ ethanol ต่อการหดตัวของทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำมีลักษณะเป็นแบบ dose dependent ถ้าเป็นเช่นนี้อาจอ้างอิงถึงผลของ alcohol ได้ว่าถ้าได้รับเข้าไปขณะกำลังตั้งครรภ์ อาจมีผลต่อทารกในครรภ์ได้ อาทิเช่น การเกิดภาวะเสี่ยงต่อ fetal alcohol syndrome, ภาวะเจริญเติบโตช้าในครรภ์, การแท้งขึ้นได้ (Cavallo et al., 1995; Karl et al., 1995) จากผลการทดลอง alcohol สามารถเสริมฤทธิ์กับ 5-HT และ histamine ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถสร้างขึ้นเองได้ในร่างกายถ้าสตรีตั้งครรภ์ได้รับ alcohol เข้าไปในระหว่างตั้งครรภ์จะยิ่งเป็นการเสริมฤทธิ์ให้หลอดเลือดสายสะดือมีการหดตัวมากยิ่งขึ้นอันจะก่อให้เกิดภาวะเสี่ยงต่างๆดังกล่าวข้างต้นได้

จากการทดลองเมื่อให้สารแอนโดรกราโฟไลด์ ขนาด 3×10^{-5} M แล้วจึงกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT ขนาด 2×10^{-6} M พบว่าไม่มีผลต่อการหดตัวของทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ เช่นเดียวกันเมื่อให้สารแอนโดรกราโฟไลด์ ขนาด 3×10^{-5} M แล้วจึงกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine ขนาด 2×10^{-6} M พบว่าหลอดเลือดแดงจะมีการตอบสนองต่อ histamine ได้ลดลง สำหรับหลอดเลือดดำตอบสนองได้

น้อยกว่าหลอดเลือดแดงเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแล้วพบว่าแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเพิ่มขนาดเป็น 3×10^{-4} M แล้วกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT และ histamine ในขนาดเท่าเดิม ทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำจะมีการตอบสนองต่อ 5-HT และ histamine ได้ลดลง สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าสารแอนโดรกราโฟไลด์ และสารประกอบ lactone ตัวอื่น มีผลลดการหดตัวของลำไส้ที่แยกออกมาจากกระต่าย หนูขาว หนูตะเภา ที่กระตุ้นด้วย ACh, NE, histamine, BaCl₂, CaCl₂ ในสารละลาย potassium-depolarizing รวมทั้งกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (ประสานธรรมอุปกรณ์ และคณะ, 2532) และยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูขาวและหนูถีบจักรเมื่อกระตุ้นด้วย ACh และ CaCl₂ ในสารละลาย potassium-depolarizing (วนิดา แสงอสังการ, 2532) ซึ่งจากการทดลองที่ผ่านมา อาจกล่าวได้ว่าสารแอนโดรกราโฟไลด์ และสารประกอบ lactones อื่นของสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ออกฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ และไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อ receptor คล้ายกับ calcium antagonist (ประสานธรรมอุปกรณ์ และคณะ, 2532; วนิดา แสงอสังการ, 2533) จากการที่สารแอนโดรกราโฟไลด์สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะอื่น ได้เมื่อกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ดังนั้น จึงเชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสารแอนโดรกราโฟไลด์ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine นั้น อาจจะไปรบกวนหรือยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ ผ่านเข้าเซลล์และไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อ receptor

3. ผลของสารไปเปอรินต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง และหลอดเลือดดำที่สายสะดือมนุษย์

จากการทดลองเมื่อให้สารไปเปอริน ขนาด 1.5×10^{-5} M แล้วจึงกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT ขนาด 2×10^{-6} M พบว่าไม่มีผลต่อการหดตัวของทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ขณะเดียวกันเมื่อให้สารไปเปอรินขนาด 1.5×10^{-5} M แล้วจึงกระตุ้นการหดตัวของ histamine ขนาด M โมลาร์ พบว่าทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำจะมีการตอบสนองต่อ histamine ได้ลดลง และเมื่อเพิ่มขนาดของสารไปเปอริน เป็น 3×10^{-5} M แล้วกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT และ histamine ในขนาดเท่าเดิม พบว่า ทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำมีการตอบสนองต่อ 5-HT และ histamine ได้ลดลงเช่นกัน สนับสนุนกับการศึกษาของ เบญจวรรณ นิกเว็น (2538) พบว่าไปเปอริน ขนาด 3×10^{-5} M สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจของสุกรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh, 5-HT แบบผสมในสภาวะที่มีเยื่อหลอดเลือด, ลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจและไตของสุกรเมื่อ

กระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบผสม ในสภาวะ depolarization ด้วย high K^+ - Ca^{2+} free depolarizing และสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจและไตของ สุนัข เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบผสมได้ โดย กล่าวว่าการออกฤทธิ์ ของไปเออรีน ไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อ receptor กลไกหลักที่ลดการหดตัว อาจเกิดจากการยับยั้ง การเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน VOC (voltage operated channels) ซึ่งขึ้นอยู่กับเยื่อหุ้ม หลอดเลือด (เบญจวรรณ นิกเว้น, 2538) จากการที่ไปเออรีน ขนาด 3×10^{-5} M สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ได้จึงเป็นไปได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสารไปเออรีน ในการยับยั้ง การหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือนั้นอาจเกิดจากการยับยั้งเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน VOC และไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อ receptor

4. ผลของสารโรฮิดูคีนต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือมนุษย์

จากการทดลองเมื่อให้สารโรฮิดูคีน ขนาด 3×10^{-5} M แล้วจึงกระตุ้น การหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ขนาด 2×10^{-6} M พบว่า โรฮิดูคีนมีแนวโน้มว่า เพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดได้ แต่เมื่อเพิ่มขนาดของโรฮิดูคีน เป็น 3.69×10^{-4} M แล้ว กระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine ขนาดเท่าเดิม พบว่า ทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำมีการตอบสนองต่อ 5-HT และ histamine ได้ลดลง การที่ใช้สารโรฮิดูคีนในขนาดที่ต่ำแล้วสามารถเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดได้นั้นยังไม่ สามารถหาเหตุผลมาอธิบายได้ แต่มีการศึกษาที่สนับสนุนผลการทดลองที่ได้นี้โดย การศึกษาของ ณรงค์ จันทรiley (2536) พบว่า สารโรฮิดูคีนในขนาดความเข้มข้นที่ ต่ำคือขนาด 1.23×10^{-4} M โดยสามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ ACh แบบผสมที่ ความเข้มข้นต่ำได้ (1.0×10^{-8} - 1.0×10^{-5} M) และที่ความเข้มข้นของ ACh สูง ขึ้นกลับ (3.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4}) มีแนวโน้มว่าสามารถเสริมฤทธิ์การกระตุ้นของ ACh แบบผสมโดยเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่แยกจากหนูขาวได้แต่ เมื่อเพิ่มขนาดของโรฮิดูคีน เป็น 3.69×10^{-4} M พบว่าสามารถต้านฤทธิ์การหดตัว ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่แยกจากหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย ACh ได้เพิ่มขึ้น และ จากผลการทดลองที่ได้ว่าเมื่อเพิ่มขนาดของสารโรฮิดูคีนให้สูงขึ้นเป็น 3.69×10^{-4} M พบว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้ลดลงนั้นสองคล้องกับ การศึกษาที่ผ่านมาว่าสารโรฮิดูคีนขนาดความเข้มข้น 4.9×10^{-5} - 4.9×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กของกระต่ายที่เกิดขึ้นเอง ลดการหดเกร็งของลำ ลำไส้เล็กของหนูตะเภาที่เกิดจากการกระตุ้นสารหดตัวด้วย ACh, histamine และ 5-HT ในลักษณะ dose dependent ลดการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่เกิด

จากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 และลดการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรในภาวะ depolarization จากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 (สมชาย แสงอำนาจเดช, 2534) ได้เสนอแนะว่ากลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารของสารโรฮิตุคีน คล้ายกับ papaverine แต่เมื่อเทียบฤทธิ์กับ papaverine แล้วจะมีฤทธิ์ที่อ่อนกว่า และอาจจะออกฤทธิ์คล้ายกับ calcium-antagonist โดยไปยับยั้งที่ calcium channel ซึ่งจากการศึกษาของจันทนา เลอมาพันธ์ (2534) พบว่าสารโรฮิตุคีน ในขนาด 0.05-0.50 มิลลิกรัมต่อหนึ่งตัวมีผลในการลดความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวของหนูขาวที่สลบ และลดการหดตัวของหลอดเลือด aorta ที่แยกจากหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย phenylephrine ได้อย่างชัดเจนทันทีเมื่อให้สารโรฮิตุคีน ขนาด 1.6×10^{-4} M มีลักษณะเป็นแบบ dose dependent และได้เสนอแนะว่าผลจากการคลายตัวของหลอดเลือดอาจเป็นปัจจัยอันหนึ่งในการลดความดันโลหิตในหนูขาวที่สลบ โดยอาจจะส่งผลไปยับยั้งการนำเข้าของ calcium ion เข้าสู่เซลล์เช่นเดียวกับสารโรฮิตุคีน ขนาดความเข้มข้น 1.23×10^{-4} - 3.68×10^{-4} M ยังสามารถยับยั้ง cumulative dose response เมื่อกระตุ้นด้วย ACh, 5-HT, BaCl_2 ในสารละลาย Krebs Henseleit และ BaCl_2 , CaCl_2 ในสารละลาย potassium-depolarizing ของหลอดลมหนูขาว และยับยั้ง cumulative dose response เมื่อกระตุ้นด้วย histamine และ TEA ของหลอดลมหนูตะเภา ซึ่งจากผลการทดลองของสารโรฮิตุคีนต่อ cumulative dose response curve เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย K^+ -depolarizing พบว่าโรฮิตุคีนสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมที่แยกจากหนูขาว ได้เช่นเดียวกับ verapamil โดยกล่าวว่าสารโรฮิตุคีนสามารถยับยั้งการผ่านของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์สู่ภายในเซลล์ทาง voltage dependent Ca^{2+} channel แต่ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างจาก verapamil เนื่องจากพบว่า TEA 8 mM สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมโดยสารโรฮิตุคีน เมื่อกระตุ้นด้วย ACh หรือ histamine แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ verapamil พบว่า TEA 8 mM ไม่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ verapamil เมื่อใช้ histamine เป็นสารกระตุ้นและสามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ verapamil ได้น้อยกว่าสารโรฮิตุคีน เมื่อกระตุ้นด้วย ACh (ณรงค์ จันทร์เลย, 2536) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาฤทธิ์ของสารโรฮิตุคีนต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงหัวใจและไตที่แยกจากสุกร พบว่าโรฮิตุคีนในขนาด 1.24×10^{-4} M สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงหัวใจเมื่อกระตุ้นด้วย ACh, 5-HT, TEA, BaCl_2 , และ CaCl_2 ในสารละลาย potassium depolarizing และยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ไตซึ่งกระตุ้นด้วย NE, 5-HT, TEA และ BaCl_2 โดยมีตำแหน่งการออกฤทธิ์ของสารโรฮิตุคีน ที่มีต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมไอออนจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์มีกลไกที่แตกต่างจาก Calcium antagonist เนื่องจาก TEA ซึ่งมีฤทธิ์เป็น non specific K^+ inhibitor สามารถต้านฤทธิ์การคลายตัวของหลอดเลือดหัวใจ

ใจที่เกิดจากสารโรฮิดูคีน แต่ TEA ไม่สามารถยับยั้งผลการคลายตัวที่เป็นผลมาจาก verapamil แต่เมื่อให้ glibenclamide ซึ่งมีฤทธิ์เป็น ATP-sensitive K^+ inhibitor พบว่า glibenclamide ไม่สามารถต้านฤทธิ์การคลายตัวของหลอดเลือดหัวใจที่เกิดจากทั้ง สารโรฮิดูคีน และ verapamil ทำให้เขาเสนอแนะว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารโรฮิดูคีนอาจจะมีส่วนในการเปิด K^+ channel แต่ไม่มีผลต่อ ATP-sensitive K^+ channel ซึ่งผลที่เกิดจากการเปิด K^+ channel อาจจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ได้ลดลง แล้วหลอดเลือดจึงเกิดการคลายตัวได้ (วีระ ดุลย์ชูประภา, 2537) จากการประมวลผลการศึกษาที่ผ่านมาของสารโรฮิดูคีนที่มีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบต่างๆดังกล่าวข้างต้น ก็เชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสารโรฮิดูคีนในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่สายสะดือ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine ก็น่าจะมีกลไกแบบไม่เฉพาะเจาะจงต่อ receptor และอาจเกิดจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ผ่านเข้าเซลล์ของแคลเซียมอ่อนเป็นกลไกสำคัญที่แตกต่างจาก calcium antagonist

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการออกฤทธิ์ของ 5-HT, histamine, ACh, NE ต่อหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือมนุษย์ พบว่า สารทั้ง 4 ชนิดสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้โดยที่ 5-HT และ histamine จะสามารถกระตุ้นการหดตัวได้มาก สำหรับ ACh และ NE กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับ 5-HT และ histamine เมื่อให้ ketanserin และ Chlorpheniramine แก่หลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวได้ ซึ่งผลที่เป็นเช่นนี้ กล่าวได้ว่าหลอดเลือดที่สายสะดือมนุษย์มี 5-HT₂ - receptors, histamine - receptors, muscarinic receptors และ adrenergic receptors แต่อาจจะมี muscarinic receptors และ adrenergic receptors น้อยกว่า ประกอบอยู่ด้วย ซึ่งการที่หลอดเลือดสายสะดือ ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยง และมีการตอบสนองต่อสาร ACh และ NE ได้น้อย จึงเป็นผลดีต่อทารก ในครรภ์ทำให้ไม่ไปรบกวนต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารก แต่สำหรับ 5-HT และ histamine อาจจะมีผลต่อระบบไหลเวียนโลหิตของทารกได้มากกว่า โดยที่ทำให้หลอดเลือดสายสะดือหดตัวได้ค่อนข้างมากทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตของทารกไม่ดี อาจนำไปสู่ภาวะเจริญเติบโตช้าในครรภ์ และการแท้งได้นอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่า alcohol ไปมีผลโดยการไปเสริมฤทธิ์กับ 5-HT และ histamine ในการกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้ ซึ่งถ้าในระหว่างตั้งครรภ์นั้น มารดาได้รับ alcohol เข้าไปอาจจะทำให้ไปเสริมฤทธิ์ของ 5-HT และ histamine ที่มีอยู่ภายในร่างกาย ก่อให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือด

สายสะดือได้ อาจนำไปสู่ภาวะเสี่ยงต่อการเกิด ภาวะ fetal alcohol syndrome ภาวะ
เจริญเติบโตช้าในครรภ์การแท้งขึ้นได้ และจากการศึกษาผลของสารแอนโดร
กราไฟไลด์ ไปเออริน และโรฮิดูคีน พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่
สายสะดือเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine โดยขึ้นอยู่กับขนาดที่ใช้และเชื่อว่า
กลไกในการออกฤทธิ์นั้นไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อ receptor การยับยั้งการหดตัวของ
หลอดเลือดที่สายสะดือได้น่าจะเกิดจากการยับยั้งหรือรบกวนการเคลื่อนที่ผ่านเข้า
เซลล์ของแคลเซียมไอออนอันเป็นกลไกสำคัญ

ดังนั้น จากการที่สารทั้ง 3 ชนิดซึ่งได้จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร พริกไทย
และดาเลื่อทุ่ง มีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือได้เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT
และ histamine การที่มารดาขณะตั้งครรภ์ ได้รับประทานสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด นี้เข้าไป
ก็น่าจะเป็นผลดี แต่ทั้งนี้ควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติม เช่น ศึกษาในร่างกาย (in vivo)
และความเป็นพิษก่อนที่จะนำไปเผยแพร่ เพื่อที่จะได้รับความปลอดภัยต่อชีวิตมนุษย์
ให้มากที่สุด