บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผล

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าการตอบสนองต่อสารกระตุ้นหรือ neurotransmitter ของหลอดเลือดและกล้ามเนื้ออื่น ๆ ในต่างอวัยวะต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและปริมาณของ receptor ที่อยู่ในอวัยวะนั้น ๆ (Bulloring and Tomita, 1987) จากการทดลองที่ผ่านมา พบว่าหลอดเลือดสายสะดือมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้ดีไม่เท่ากัน โดยจะตอบสนองต่อสาร autacoids เช่น serotonin และ histamine ได้มากกว่า nor-epinephine และ acetylcholine (Altura et al., 1972) อาจเป็นไปได้ว่า สายสะดือเป็นส่วนที่ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยง (Monuzko et al., 1989) จึงมีการตอบสนองแตกต่างจากอวัยวะอื่น ๆ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดออกเป็น 2 ชั้น คือ ชั้นนอกมีการเรียงตัวแบบ circular ส่วนชั้นในจัดเรียงแบบ longitudinal ดังนั้นเมื่อนำมาตัดแบบเกลียว จะตอบสนองต่อการกระตุ้นได้ดีกว่า ตัดแบบ longitudinal เมื่อใช้หลอดเลือดเดียวกัน(Altura et al., 1972) และจากการศึกษาในครั้งนี้ ได้ตัดหลอดเลือดดำเป็นวง (ring) โดยหลีกเลี่ยงการตัดกล้ามเนื้อทั้ง 2 ชั้น พบว่ามีการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการกระตุ้นจะดีกว่าการตัดแบบเกลียว เมื่อเปรียบเทียบในหลอดเลือดเดียวกัน แต่เนื่องจากการตัดหลอดเลือดเป็นเกลียวหรือเป็นวงทำได้เพียงหลอดเลือดดำ เนื่องจากมีขนาดใหญ่ ส่วนหลอดเลือดแดงมีขนาดเล็กมากจึงเป็นการยากที่จะนำมาตัดเป็นแบบเกลียว หรือแบบวง เพราะเสี่ยงต่อการฉีกขาด และกล้ามเนื้อเรียบถูกทำลาย ดังนั้น จึงอาจเป็นไปได้ว่า เมื่อใช้สารกระตุ้นในความเข้มข้นเดียวกัน จะพบการตอบสนองของหลอดเลือดดำมากกว่าหลอดเลือดแดง สารกระตุ้นที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ 5-HT หรือ serotonin และ histamine นอกจากนี้ยังพบว่า ในมารดาที่ตั้งครรภ์และมีภาวะแทรกซ้อนในเรื่องความดันโลหิตสูง มีการหลั่งสาร 5-HT มากขึ้น (Yang et al., 1990 ; Vanhoutte , 1991 ; Yuji, 1995) จึงเป็นการยากที่จะบอกได้ว่า ยาแก้ปวดที่ให้ในมารดาที่มีภาวะดังกล่าว จะมีผลส่งเสริมให้ 5-HT นี้กระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือทำให้หดตัวเพิ่มขึ้นหรือไม่ ซึ่งการที่หลอดเลือดจะเกิดการเปลี่ยนแปลง ไม่ว่าจะเป็นการหดตัวหรือคลายตัว ขึ้นอยู่กับปริมาณของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ และ membrane calcium permeability (Wylam et al., 1993) ซึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องได้กล่าวไว้โดยละเอียดในบทที่ 1

1. ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ของ 5-HT, Histamine ต่อหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงของสายสะดือมนุษย์

1.1 ผลของ 5-HT ต่อหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงของสายสะดือมนุษย์

จากการทดลองเมื่อให้ 5-HT ในขนาด 10^{-6} M แบบ single dose พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงสายสะดือได้ชัดเจน และให้ผลเป็นเวลานาน เช่นเดียวกับผลการทดลองอื่น ๆ (Somlyo et al., 1965; Altula et al., 1972; Nair and Dyer, 1973) จึงเป็นที่แน่นอนว่า หลอดเลือดสายสะดือน่าจะมี 5-HT receptor อยู่ ซึ่ง receptor ของ 5-HT ในปัจจุบันมีหลายชนิด ดังกล่าวแล้วข้างต้น แต่จากการทดลองที่ผ่านมากับหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง พบว่า ketanserin ขนาด 2×10^{-6} M (5-HT_2 receptor antagonist) เมื่อให้ในขณะที่ให้ 5-HT และหลอดเลือดมีการตอบสนองโดยการหดตัวสูงสุด สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่กระตุ้นโดย 5-HT ได้ทันที (MaGrath et al., 1985; วิดารัตน์ สุขกมลรัตน์, 2539) ซึ่งยืนยันได้ว่าหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่แยกมาทำการทดลองนี้มี 5-HT_2 receptor อยู่ด้วย จะพบลักษณะการหดตัวเป็นแบบ phasic response คือเป็นการหดตัวอย่างรวดเร็ว ในระยะแรกเนื่องจาก Ca^{2+} จากภายนอกเข้ามาภายในเซลล์ และเมื่อถึงจุดหนึ่งจะเป็นไปอย่างช้า ๆ เนื่องจากมีการใช้ Ca^{2+} จาก intracellular ซึ่งหลั่งจาก sarcoplasmic reticulum (SR) และพบว่าเมื่อเปลี่ยนสารละลายที่หล่อเลี้ยงอวัยวะจาก Krebs-Henseleit เป็น Ca^{2+}-free Krebs-Henseleit solution จะไม่พบการหดตัวแบบ phasic การหดตัวจะเป็นไปอย่างช้า ๆ และคงที่ เนื่องจากไม่มี extracellular Ca^{2+} (Wylam et al., 1993) ในปี 1993 Noguera และ D' Ocon ทำการทดลองในหลอดเลือด aorta ของหนูพบว่าใน Ca^{2+}-free Krebs-Henseleit สาร 5-HT จะกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้ลดน้อยลงแสดงว่า 5-HT ต้องขึ้นกับ extracellular calcium

1.2 ผลของ Histamine ต่อหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงของสายสะดือมนุษย์

จากการทดลองเมื่อให้ histamine ในขนาด 10^{-5} M แบบ single dose ต่อหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงของสายสะดือมนุษย์ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้ชัดเจน แต่พบว่าต้องให้ความเข้มข้นที่สูงกว่า 5-HT เมื่อเปรียบเทียบกัน โดยเมื่อใช้ histamine ขนาด 10^{-6} M ไม่สามารถกระตุ้นการหดตัวได้หรือกระตุ้นได้น้อยมาก (Altura et al., 1972 ; Yoshikawa

and Chiba, 1991) โดยออกฤทธิ์ผ่าน H_1- receptors จากการทดลองที่ผ่านมากับหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือ พบว่า chlorpheniramine ขนาด 2 X 10^{-6} M ซึ่งเป็น H_1- receptor antagonist สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine ได้ผล (วิดารัตน์, 2538) ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่า หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่แยกจากกายมาทำการทดลองนี้มี H_1- receptor อยู่ด้วย

2 . ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ของยา promethazine และ pentazocine ต่อหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือมนุษย์ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine

2.1 เมื่อให้ 5-HT แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ได้ ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น โดยการกระตุ้นต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เป็นองค์ประกอบหนึ่ง นอกจากนั้นยังเกี่ยวข้องกับ การกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง norepinephrine จากปลายประสาท adrenergic (adrenergic nerve terminal) หรือกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง endothelium - derived constricting factor (EDCF) จากเยื่อบุหลอดเลือด มีผลทำให้หลอดเลือดมีการหดตัว (Vanhouttle, 1987) และเกี่ยวข้องกับกระบวนการหดตัวโดยผ่าน receptor G-protein couple ที่ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น จากผลการทดลองเมื่อให้ pentazocine เข้าไปก่อน แล้วให้ 5-HT พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้มากยิ่งขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่หลอดเลือดดำ และ ($P < 0.005$) ที่หลอดเลือดแดง อาจแสดงได้ว่า pentazocine ไปกระตุ้นที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดหรืออาจเกิดขึ้นได้ในหลายขั้นตอน ซึ่งจะกล่าวต่อไป

2.2 เมื่อให้ histamine แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ได้ ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น จากการทดลองพบว่า หลังจากให้ pentazocine เข้าไปก่อน แล้วให้ histamine พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้มากยิ่งขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.025$) อาจแสดงได้ว่า pentazocine อาจไปกระตุ้นที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดจาก histamine หรืออาจจะเกิดได้ หลายขั้นตอน ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

2.3 เมื่อให้ promethazine เข้าไปก่อน แล้วจึงให้ 5-HT พบว่า promethazine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำ และหลอดเลือดแดงของสายสะดือ ด้วย 5-HT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P \leq 0.025$ ที่หลอดเลือดดำ และ $P \leq 0.01$ ที่หลอดเลือดแดง อาจแสดงได้ว่า promethazine ไปยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดโดย 5-HT โดยไปยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง หรืออาจยับยั้งในหลายขั้นตอนก็ได้ ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

2.4 เมื่อให้ promethazine เข้าไปก่อนแล้วจึงให้ histamine พบว่า promethazine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงของสายสะดือจาก histamine ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.005$) อาจแสดงได้ว่า promethazine ไปยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดโดย histamine ซึ่ง promethazine เป็นยาในกลุ่ม antihistamine ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งที่ H_1-receptor อย่างจำเพาะเจาะจง จึงทำให้หลอดเลือดตอบสนองต่อ histamine ได้น้อยลง และนอกจากนี้ promethazine ยังออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด โดย histamine ในด้านอื่นอีกก็ได้

2.5 เมื่อพบว่ายาทั้ง 2 ตัว คือ promethazine และ pentazocine มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์โดย pentazocine กระตุ้นการหดตัว เมื่อใช้ 5-HT และ histamine เป็นสารกระตุ้นเพิ่มมากขึ้น ส่วน promethazine เป็นตัวยับยั้งการหดตัว จึงน่าจะมีผลในทางตรงกันข้าม และอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่น่าสนใจว่า ในทางคลินิก ปัจจุบันนำมาใช้ร่วมกัน โดยนำมาฉีดเข้ากล้ามในหญิงมีครรภ์ใกล้คลอด ผู้วิจัยได้นำจุดนี้มาศึกษาว่า เมื่อให้ promethazine ร่วมกับ pentazocine ในปริมาณ 10^{-5} M เท่ากัน และใช้ 5-HT เป็นสารกระตุ้นการหดตัว พบว่าหลังจากให้ promethazine ร่วมกับ pentazocine แล้วให้ 5-HT กระตุ้น ไม่พบความแตกต่างของการหดตัวของหลอดเลือดก่อนและหลังจากการให้ promethazine และ pentazocine ร่วมกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่า ยาทั้ง 2 ตัวมีฤทธิ์หักล้างกัน จึงไม่ให้ผลในการกระตุ้นและยับยั้งฤทธิ์ของ 5-HT

3.ศึกษากลไกที่เกี่ยวข้อง

<u>ผลของ Pentazocine เมื่อให้ปริมาณที่เพิ่มขึ้นแก่หลอดเลือดสายสะดือ ในสารละลาย Krebs Henseleit เปรียบเทียบกับเมื่อใช้ Ca^{2+} free KHS</u>

เมื่อให้ pentazocine ในปริมาณที่สูงมากขึ้นถึง 6×10^{-5} M ในหลอดเลือดดำ และ 10^{-4} M ในหลอดเลือดแดง พบว่าตัวยา pentazocine สามารถกระตุ้นการหดตัวได้โดยตรง โดยการกระตุ้นเป็นแบบ dose-dependent เมื่อเปลี่ยนสารละลายที่ใช้เป็น Ca^{2+} free KHS โดย ในสารละลาย Ca^{2+} free

KHS จะมีสาร EGTA [ethyleneglycol-bis β - aminoethyl ether N,N -tetraacetic acid] ซึ่งเป็นตัวจับ Ca^{2+} ที่อยู่ภายนอกเซลล์ทั้งหมด รอจนกระทั่งมีการหดตัวเต็มที่และคลายตัวจนอยู่ในภาวะคงที่ จึงเปลี่ยนไปเป็นสารละลาย high K^+ depolarizing ในระยะแรกที่เปลี่ยนสารละลายจะพบว่า หลอดเลือดมีการหดตัวอย่างช้า ๆจนกระทั่งคงที่ เนื่องจากเกิดการ depolarization ที่ผนังเซลล์ โดย K^+ ในปริมาณสูง จะเข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้เกิดการหลั่ง Ca^{2+} ออกมาจาก sarcoplasmic reticulum และส่วนหนึ่งไปเปิดประตู Ca^{2+} จนกระทั่งผ่านไปประมาณ 45 นาที - 1 ชั่วโมง พบว่าการหดตัวกลับมาที่จุดเดิมคือที่จุดเริ่มต้น ไม่มีการหดตัวเกิดขึ้น แต่เมื่อใส่สาร pentazocine ในปริมาณที่สูง ทั้งในหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง ไม่สามารถกระตุ้นการหดตัวได้เหมือนกับในสารละลาย Krebs Henseleit และเมื่อให้ $CaCl_2$ ในขนาด 10^{-6} - 10^{-3} M แบบสะสมพบว่า หลอดเลือดสายสะดือมีการหดตัวได้ เป็นแบบ dose-dependent ดังนั้นกล่าวได้ว่า pentazocine จะกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดได้ จำเป็นต้องอาศัย Ca^{2+}จากภายนอกเซลล์เป็นส่วนหนึ่ง การที่ pentazocine เสริมฤทธิ์ของ 5-HT และ histamine ซึ่งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยสารทั้ง 2 เกี่ยวข้องกับ extracellular calcium โดยต้องมี Ca^{2+}ผ่านเข้ามาและน่าจะเป็นเหตุผลสนับสนุนกันได้ว่า การเพิ่มฤทธิ์ของ pentazocine เกี่ยวข้องกับการเพิ่มของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้ามาภายในเซลล์หรืออาจเกี่ยวข้องกับกลไกอื่น ๆ ด้วย

<u>ผลของ promethazine ในการต้านฤทธิ์การหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือ เมื่อกระตุ้นด้วย Calcium chloride ในสารละลาย Potassium depolarizing</u>

ในการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ และกลไกที่ทำให้ปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงมากขึ้น คือการที่มีการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยเกิดการ depolarization โดยสภาวะนี้จะกระตุ้นให้ POC เปิดออก ทำให้ Ca^{2+} ภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ จนเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ สำหรับในการทดลองครั้งนี้ เมื่อทำให้หลอดเลือดสายสะดือเกิดภาวะ depolarization โดยใช้สารละลาย high K^+ depolarizing (KCl 100 mM) และให้ $CaCl_2$ แบบสะสมเข้าไปแก่หลอดเลือดที่ incubate อยู่ในสารละลาย high K^+ depolarizing ให้หลอดเลือดหดตัวตามปริมาณของ $CaCl_2$ ที่ใช้ นั่นคือ $CaCl_2$ จะเข้าสู่ภายในเซลล์ ทาง POC และ ROC ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์สูงขึ้นทำให้เกิดการหดตัว และเมื่อให้ promethazine เข้าไปก่อน ในสภาวะเดียวกันแล้วจึงให้ $CaCl_2$ ในสารละลาย high K^+ depolarizing พบว่า promethazine สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.005$) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ ว่า promethazine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือ เมื่อได้รับการกระตุ้นโดย $CaCl_2$ในสารละลาย high K^+ depolarization

ได้อาจเนื่องมาจากว่า promethazine ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่ผ่านมาทาง POC หรืออาจออกฤทธิ์ยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการหดตัวได้จากผลการทดลองนี้จึงกล่าวได้ว่า promethazine ลดการหดเกร็งของ 5-HT และ histamine ได้เนื่องจากยับยั้งกลไกผ่านทาง ROC ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งของ 5-HT และ histamine ที่ต้องอาศัย calcium จากภายนอก และสนับสนุนผลที่แสดงว่า promethazine ลดฤทธิ์ของ pentazocine ได้ก็เกี่ยวข้องกับการยับยั้งผ่าน ROC เช่นกัน

ผลของ Pentazocine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่ลายละดิอ เมื่อได้รับการชักนำให้หดตัวด้วย Potassium chloride ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

จากผลการทดลอง จะเห็นว่าในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit คือในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเลยและให้ KCl แล้วทำให้หลอดเลือดมีการหดตัวเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากว่าการหดตัวของหลอดเลือดมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์โดยเกิดภาวะ depolarization ขึ้นและเกิดการหดตัวของหลอดเลือดขึ้นในที่สุด โดยพบว่ามีการหดตัวอย่างช้า ๆ เนื่องจากมีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR จนคงที่ และเมื่อให้ pentazocine เข้าไปก่อน แล้วจึงให้ KCl ในสภาวะเริ่มต้นเดียวกัน พบว่า ไม่มีความเปลี่ยนแปลง แสดงว่า pentazocine ไม่มีผลยับยั้งหรือกระตุ้นหรือเกี่ยวข้องกับปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ ที่เนื่องมาจากการเกิด depolarization จากผลการทดลองครั้งนี้ทำให้กล่าวได้ว่า pentazocine มีผลเด่นชัดต่อการผ่านเข้าออกของ calcium จากภายนอกมากกว่าผลการเปลี่ยนแปลงของ calcium จากภายในเซลล์

ผลของ promethazine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่ลายละดิอ เมื่อได้รับการชักนำให้หดตัวด้วย potassium chloride ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit

จากผลการทดลอง ในลักษณะเดียวกัน เมื่อให้ KCl แก่หลอดเลือดที่ incubate อยู่ในสารละลาย Ca^{2+} -free solution ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} ภายนอกเซลล์เลย KCl จะทำให้เกิด depolarization ที่ผนังหลอดเลือด กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง Ca^{2+} ที่สะสมอยู่ใน SR ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น เป็นผลให้หลอดเลือดมีการหดตัว ในสภาวะเดียวกันเมื่อให้ promethazine เข้าไปก่อน แล้วจึงให้ KCl เพื่อให้เกิดการ depolarization พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่า promethazine ไม่น่าจะมีผลยับยั้งหรือกระตุ้นการหดตัวเนื่องมาจาก Ca^{2+} จากภายใน SR

ผลของ pentazocine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือ เมื่อได้รับการชักนำให้หดตัวด้วย potassium chloride ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จากผลการทดลองเมื่อให้ KCl 100 mM แก่หลอดเลือดสายสะดือที่ incubate อยู่ในสารละลาย Krebs-Henseleit จะเกิดการ depolarization ขึ้นที่ผนังของหลอดเลือด ทำให้เกิดการกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จากภายใน SR ส่วนหนึ่ง และเกิดภาวะที่ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซล ทาง POC จะเห็นลักษณะการหดตัวอย่างรวดเร็วในระยะแรก เมื่อมีความเข้มข้นของ KCl ต่ำ ๆ อันเนื่องมาจาก Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ เรียกการหดตัวชนิดนี้ว่า phasic contraction จน Ca^{2+} เข้าเซลล์จนหมด ความเข้มข้นของ KCl เพิ่มมากขึ้น การหดตัวจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เรียกว่า tonic contraction เนื่องจากมีการกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} ออกมาจาก SR ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้เห็นการหดตัวจนกระทั่งคงที่และคลายตัวอย่างช้า ๆ (Bolton, 1979 ; Monuszko et al., 1989; Wyiam et al.,1993) และในกรณีที่ให้ pentazocine เข้าไปก่อนในสภาวะเริ่มต้นเดียวกัน หลังจากให้ KCl พบว่า มีความแตกต่างจากเดิมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นั่นแสดงว่า pentazocine ไม่ได้มีผลยับยั้งหรือกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จากภายในและภายนอกเซลล์ที่ผ่านทาง POC เลย จึงไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งแตกต่างจากผลของ 5-HT และ histamine ซึ่งถ้าจะพิจารณาการเพิ่มฤทธิ์ของ pentazocine อาจกล่าวได้ว่ามีผลต่อการผ่านเข้าออกของ Ca^{2+} จากภายนอกที่ไม่ใช่ผลจาก KCl

ผลของ promethazine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงที่สายสะดือ เมื่อได้รับการชักนำให้หดตัวด้วย potassium chloride ในสารละลาย Krebs-Henseleit

เช่นเดียวกัน จากผลการทดลองเมื่อให้ KCl 100 mM แก่หลอดเลือดสายสะดือที่ incubate อยู่ในสารละลาย Krebs-Henseleit จะเห็นผลการทดลองคล้ายกับที่กล่าวไว้ข้างต้น และเมื่อนำมาทดสอบในลักษณะเดียวกัน พบว่า หลังจากให้สาร promethazine เข้าไปก่อน แล้วจึงให้ KCl พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นั่นแสดงว่า promethazine ไม่มีผลยับยั้งการผ่านเข้าออกของ Ca^{2+} โดย KCl ซึ่งจะสนับสนุนผลของ pentazocine ที่ไม่ได้เพิ่มฤทธิ์ของ KCl ซึ่งเป็นกลไกที่แตกต่างจาก 5-HT และ histamine

ผลของ promethazine ต่อการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือ เมื่อกระตุ้นด้วย Barium chloride ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^- -free Krebs-Henseleit

เป็นที่ทราบกันดีถึงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ของหลอดเลือดที่กล่าวไว้ในบทที่ 1 Ba^{2+} เป็นสารตัวหนึ่งที่สามารถกระตุ้นการหดตัวได้ โดยกลไก 3 อย่างด้วยกันดังนี้

1. เมื่อ Ba^{2+} เข้าสู่เซลทาง Ca^{2+} channel ซึ่ง Ba^{2+} นั้นมี affinity ต่อ calcium channel ดีกว่า Ca^{2+} เอง (Spedding and Paoletti, 1992) โดย Ba^{2+} ทำให้เกิดการ depolarization ที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อหลอดเลือด โดยผ่านทาง VOC ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์ และ Ca^{2+} ภายในเซลล์หลั่งออกมาจาก SR เพิ่มมากขึ้น เป็นการเพิ่ม Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์

2. เมื่อ VOC เปิดออก ทำให้ Ba^{2+} เข้าสู่ภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้ Ca^{2+} หลั่งออกมาจาก SR มีผลให้ปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงเพิ่มมากขึ้น

3. Ba^{2+} เข้าสู่เซลทาง VOC แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดมีการหดตัว โดยไม่เกี่ยวข้องกับปริมาณ Ca^{2+} ภายนอกและภายในเซลล์ เป็นการหดตัวโดย Ba^{2+} เอง (Karaki, Satake , and shibata, 1986)

จากการทดลองเมื่อให้ $BaCl_2$ แบบสะสม แก่หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่ incubate อยู่ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^- -free Krebs-Henseleit จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวและการหดตัวเพิ่มขึ้นตามขนาดของ $BaCl_2$ ที่ให้ การหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือน่าจะเกิดจาก Ba^{2+} เข้าสู่เซลล์ทาง VOC และมีผลกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น หรือเกิดจากหลอดเลือดหดตัวโดย Ba^{2+} เอง หลังจากให้ promethazine เข้าไปก่อน แล้วจึงให้ $BaCl_2$ ในสภาวะเดียวกับก่อนทำการทดลองพบว่า promethazine สามารถยับยั้งการหดตัวได้มาก และต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.005$) การออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของ promethazine นี้ น่าจะมาจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ba^{2+} ผ่านทาง VOC ถ้า promethazine ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ แสดงว่า promethazine ยับยั้งกลไกของ Ba^{2+} ที่ผ่านเข้ามาทาง VOC ไม่เกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} จากภายนอกและไม่เกี่ยวข้องกับการเพิ่ม

ขึ้นของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ โดยเชื่อว่าการเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+}จากภายในโดย Ba^{2+}จะเหมือนกับ KCl

สรุปผลการทดลอง

pentazocine และ promethazine ยาทั้ง 2 ชนิด มีการใช้กันอย่างแพร่หลายกันมานานนับ 10 ปี ปัจจุบันได้นำมาใช้ร่วมกัน โดยให้กับมารดาที่ตั้งครรภ์ และมีอาการปวดท้องใกล้คลอด โดยมีข้อชี้บ่งของการใช้ว่า pentazocine จะให้ในขนาด 30 mg เข้ากล้ามเนื้อ เมื่อตรวจร่างกายและตรวจภายในโดยแพทย์แล้วแน่ใจว่า มารดาจะไม่คลอดบุตรภายใน 2 ชั่วโมง และปากมดลูกเปิดไม่เกิน 5 เซนติเมตร เนื่องจากเกรงว่า บุตรที่คลอดออกมาจะมีระดับ Apgar score ที่ค่อนข้างต่ำ Mowat and Garrey (1970) พบว่ามารดาที่ได้รับ pentazocine มีระดับ Apgar score ต่ำกว่า 7 ในระยะ 10 นาทีภายหลังคลอด และมักจะไม่ให้ซ้ำ ขนาดของยาที่ใช้จะไม่มาก เนื่องจากไม่มี antidote ที่จะแก้ผลข้างเคียงของยาที่สำคัญคือ respiratory depression ได้ หลังจากให้ยา มารดาจะทุเลาปวดท้องลง แต่มักพบกับอาการคลื่นไส้และอาเจียนจากผลของยา จึงนิยมใช้ร่วมกับ promethazine ในขนาด 25 mg เพื่อหวังผลในแง่ anti-emetic และ sedation โดยผสมในหลอดฉีดยาเดียวกัน จึงเป็นที่น่าสนใจว่ายาทั้งสองตัวจะมีผลต่อหลอดเลือดสายสะดือหรือไม่ จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้วทั้งหมด พบว่าตัวยา pentazocine จะเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือ ที่ได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine ส่วน promethazine จะลดการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine อย่างมีนัยสำคัญทั้งสิ้น แต่เมื่อนำทั้ง 2 ตัวมาผสมกัน แล้วกระตุ้นด้วย 5-HT พบว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเลย ดังนั้นยาทั้ง 2 ตัวจึงน่าจะมีกลไกบางอย่างที่สามารถหักล้างหรือตรงข้ามกันบ้าง จากผลข้างต้น พบว่า pentazocine สามารถกระตุ้นหลอดเลือดให้หดตัวได้เอง ในสารละลาย Krebs-Henseleit แต่ไม่ให้ผลในสารละลาย Ca^{2+}-free แสดงว่าการเพิ่มหรือลดการหดตัวของหลอดเลือดจาก pentazocine ขึ้นกับ Ca^{2+}จากภายนอกเข้ามาภายในเซลล์ นอกจากนี้ ยังไม่ให้ผลแตกต่างเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl ในสารละลาย Ca^{2+},-free Krebs-Henseleit ในปี 1992 Quijadda และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของ calcium antagonist ต่อการตอบสนองของ pentazocine พบว่ามีการ interaction กันระหว่าง calcium channel กับ pentazocine ในระบบ Central nervous system จึงน่าจะสรุปได้ว่า pentazocine น่าจะมีผลต่อปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ที่ทำให้เกิดการหดตัว โดยอาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณ Ca^{2+} channel ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์

ส่วน promethazineไม่มีผลคลายตัวเมื่อให้เดี่ยว ๆ แต่จะมีผลไปลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT และ histamine แต่ยา promethazine เป็นที่ทราบกันว่าเป็นยาในกลุ่ม H_1-receptor antagonist ออกฤทธิ์ block ที่ receptor โดยตรง ในการทดลองจึงนำสาร 5-HT มาเป็นตัวศึกษาถึงกลไกที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาพบว่า promethazine สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} อิสระจากภายนอกเข้าสู่ภายในภายในเซลล์ โดย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing ได้ นอกจากนี้ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ba^{2+} เข้าสู่เซลล์ในสารละลาย Ca^{2+},HCO_3^- free Krebs Henseleit ด้วย แต่ไม่มีผลแตกต่าง เมื่อใช้สารกระตุ้น KCl ทั้งในสารละลาย Ca^{2+}-free และ Krebs Henseleit เป็นเพราะว่ากลไกการผ่านเข้าเซลล์ของ Ca^{2+}จากภายนอก โดย KCl มีความแตกต่างจากกลไกที่ผ่านเข้าทาง ROC

ดังนั้นจะเห็นได้ว่า pentazocine เสริมฤทธิ์การหดตัวของ 5-HT และ histamine ใน normal physiological solution แต่ไม่มีผลต่อการหดตัวโดย KCl ทั้งใน normal และ Ca^{2+} free และ pentazocine จะไม่เกิดการหดตัวถ้าไม่มี Ca^{2+}จากภายนอกแสดงว่าการหดตัวของ pentazocine ต้องขึ้นกับ Ca^{2+}จากภายนอกและมีข้อสังเกตุว่า pentazocineเสริมฤทธิ์การหดตัวได้เฉพาะในกรณีที่การหดตัวนั้น ต้องขึ้นกับ Ca^{2+}จากภายนอกเป็นสำคัญ เช่น ผลของ 5-HT และ histamine เช่นเดียวกัน การยับยั้งของ promethazine จะยับยั้งได้เด่นชัดในกรณีที่การหดตัวนั้นต้องขึ้นกับการผ่านเข้าของ Ca^{2+}จากภายนอกและเป็นที่น่าสังเกตุว่า การผ่านเข้าของ Ca^{2+}จากภายนอกจะอาศัยการผ่านเข้าทาง Ca^{2+} channelคือ ROC และ VOC ไม่สามารถยับยั้งการผ่านเข้าโดยกลไกของการเกิด depolarization ด้วย high K^+นอกจากนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มฤทธิ์ของ pentazocine หรือการยับยั้งฤทธิ์ของ promethazineไม่ขึ้นกับกระบวนการของ Ca^{2+}จากภายในเซลล์แต่เป็นกระบวนการที่ผ่านเข้าของ Ca^{2+}จากภายนอกเซลล์ทาง ROC และ VOC

จากการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ทราบว่าของการใช้ยา 2 ชนิดร่วมกัน ว่ามีผลดีหรือผลเสียต่อทารกในครรภ์หรือไม่นอกจากผลทางคลินิกของแม่ ที่แพทย์ต้องการเมื่อให้ยาร่วมกัน จากผลการทดลองแสดงว่ากลไกของ pentazocine มีผลเสริมฤทธิ์ของ 5-HT และ histamine โดยทำให้ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงหดเกร็งมากขึ้นภายนอกร่างกาย ถ้าพิจารณาผลข้อนี้ย่อมมีผลเสียต่อการผ่านเข้าออกของเลือดไปสู่ทารกในครรภ์และจะอันตรายมากขึ้นถ้ามารดามีสาร 5-HT และ histamine มากขึ้นในขณะนั้น แต่การหดเกร็งของหลอดเลือดจะลดลงเกือบเป็นปรกติเมื่อให้ promethazine

ร่วมด้วย จากเหตุผลข้อนี้จึงเป็นข้อมูลที่สนับสนุนและแสดงให้เห็นว่าถ้าการตอบสนองของหลอดเลือดภายนอกร่างกายเป็นไปเช่นเดียวกับภายในร่างกายแล้ว การใช้ยาทั้ง 2 ชนิดร่วมกันนอกจากมีผลดีต่อมารดาแล้ว promethazine จะช่วยลดผลเสียหรืออันตรายที่เกิดจาก pentazocine ได้ ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ของยาทั้ง 2 ต่อหลอดเลือดสายสะดือพบว่าเกี่ยวกับกระบวนการของ Ca^{2+} ที่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ โดยกระบวนการของ ROC และ VOC ซึ่งขึ้นกับ extracellular calcium มากกว่า intracellular calcium อย่างไรก็ดีควรจะมีการศึกษาให้ละเอียดเพื่อให้ทราบถึงกลไกที่แท้จริงต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย