

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าอัลลิซินออกฤทธิ์ต่อความแรง (amplitude) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตรา (rate) และรูปลักษณ์ (form) ในกล้ามเนื้อมดลูกหนูแรทที่ตั้งท้อง

จากการศึกษาความแรงของการหดตัว (ตารางที่ 4) พบว่าอัลลิซินขนาด 0.44 และ 0.88 mM เพิ่มการหดตัวของมดลูกที่ตั้งท้องระยะ 14 และ 21 วัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนอัลลิซิน 0.22 mM ไม่มีผลเพิ่มการหดตัวของมดลูก ส่วนการหดตัวของมดลูกต่ออัลลิซินจะเพิ่มขึ้นตาม dose response เหมือนกับการศึกษาของ อันธิกา เพิ่มพิณทอง (2533) ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาของ Somboonwong (1992) โดยพบว่าอัลลิซินมีผลทั้งเพิ่มและลดการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกของคน (*in vitro*) ซึ่งอาจเกี่ยวกับชั้นกล้ามเนื้อซึ่งใช้ในการทดลอง และ species ที่ใช้ในการทดลอง

ในระยะแรกของการตั้งท้องมีอิทธิพลของฮอร์โมน progesterone โดยฮอร์โมน progesterone จำนวนมากนี้หลั่งมาจาก corpus luteum ของรังไข่ เป็นผลทำให้เกิดการหดตัวของมดลูกลดลงเพื่อให้ conceptus สามารถยึดเกาะกับ endometrium ของมดลูกได้ (Rhodes and Nathanielsz, 1990) หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 2 ของการตั้งท้อง (mid-term) มีปริมาณของฮอร์โมน estrogen มากกว่า progesterone (Csapo et al., 1982; Carsten and Miller, 1987) estrogen เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเคลื่อนไหวของมดลูกเพื่อให้มดลูกมีการขยายตัว จึงทำให้ทารกมีการเจริญเติบโตและป้องกันการคลอดก่อนกำหนด (Chow and Marshall, 1981; Legrand et al., 1987; Maltier, Petit and Legrand, 1989) สำหรับในระยะก่อนคลอดพบว่าปริมาณของ estrogen เพิ่มขึ้นและปริมาณ oxytocin เพิ่มขึ้นและ oxytocin receptor เพิ่มขึ้นมากขึ้น (Alexandrova and Soloff, 1980; Toth and Hertelendy, 1986; Soloff, 1979; Soloff et al., 1977) นอกจากนี้ยังพบว่า epinephrine ทำให้มีการเพิ่มของ PGs คือ  $PGE_2$  และ  $PGF_{2a}$  (Falkay, Herzeg and Kovact, 1978)

Noradrenaline เพิ่มขึ้นซึ่งไปกระตุ้น alpha-adrenoceptor ที่มีปริมาณมากในระยะใกล้คลอด (Marshall, 1970; Abdel-Aziz and Bakry, 1973; Osa and Kawarabayashi, 1977) นอกจากนี้ยังมีฮอร์โมน oxytocin ยังกระตุ้นให้มีการเหนี่ยวนำ PGs (Carsten and Miller, 1987) ซึ่ง PGs สามารถเหนี่ยวนำให้แคลเซียมเข้าเซลล์ได้ (Carsten and Miller, 1987) และ estrogen ยังกระตุ้นให้มีการสร้าง PGs อีกด้วย (Toth and Hertelendy, 1986)

จากการศึกษาพบว่าอัลลิซินสามารถเพิ่มการหดตัวของมดลูกหนูแรทที่ตั้งท้องได้ โดยมีสมมติฐานเนื่องมาจากอัลลิซินอาจจะกระตุ้น estrogen receptor หรือกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณของ estrogen (Alexandrova and Soloff, 1980; Toth and Hertelendy, 1986) อัลลิซินอาจจะกระตุ้น oxytocin receptor หรือกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณของ oxytocin (Alexandrova and Soloff, 1980; Soloff, 1979; Soloff et al., 1977) อัลลิซินอาจจะกระตุ้น PGs receptor หรือเพิ่มปริมาณของ PGs (Carsten and Miller, 1987; Molnar and Hertelendy, 1990) อัลลิซินอาจจะกระตุ้น alpha-adrenoceptor (Marshall, 1970; Abdel-Aziz and Bakry, 1973; Osa and Kawarabayashi, 1977) อัลลิซินอาจจะกระตุ้น PGs receptor เพื่อเหนี่ยวนำแคลเซียมเข้าเซลล์ (Carsten and Miller, 1987; Forman et al., 1982; Forman, Andersson and Maigaard, 1986; Rubanyi and Csapo, 1977) อัลลิซินอาจจะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน calcium channel (อันธิก้า เพิ่มพิณทอง, 2533; Somboonwong, 1992)

จากการศึกษาอัลลิซินทำให้หนูแรทตั้งท้องระยะ 14 และ 21 วัน (ตารางที่ 5) ปรากฏว่าเพิ่มการหดตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยในระยะ 14 วัน มีการหดตัวสูงสุด รองลงมาคือ 21 วัน เนื่องจากระยะท้องมีการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเช่น oxytocin และ estrogen จำนวน oxytocin receptor เพิ่มขึ้นระยะสุดท้ายของการตั้งท้องและสูงสุดในระยะคลอด (Soloff, 1979) จากนั้นจะลดลง (Alexandrova and Soloff, 1980) ส่วน estrogen สามารถเพิ่ม oxytocin receptor และเพิ่มความไวของมดลูกต่อ oxytocin (Fuchs et al., 1983; Fuchs et al., 1982; Soloff et al., 1977) ระยะแรกของการตั้งท้อง การเคลื่อนไหวของมดลูกลดลงเพื่อปรับตัวให้มีการยึดเกาะ (attachment) embryo ต่อ endometrium ซึ่งเป็นอิทธิพลของฮอร์โมน progesterone ที่สร้างมาจาก corpus luteum ที่มีปริมาณสูงมากในระยะนี้

(Rhodes and Nathanielsz, 1990) ส่วนในระยะ mid-term ของการตั้งท้องจนถึงระยะคลอด มีการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกเพิ่มมากขึ้น (Figuroa et al., 1987) ซึ่งเป็นอิทธิพลของฮอร์โมน estrogen, oxytocin และ prostaglandins (Fuchs et al., 1983; Fuchs et al., 1982; Soloff et al., 1977)

Garrett (1955) พบว่าสาร catecholamine คือ norepinephrine และ epinephrine มีผลต่อการหดตัวของมดลูก การกระตุ้น alpha-adrenoceptor ทำให้เกิดการหดตัว ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมอีก กระตุ้น alpha-1 adrenoceptor มีผลเพิ่มความถี่ (frequency) และความแรง (intensity) ของมดลูก โดยในระยะ mid-term ของการตั้งท้อง alpha-1 adrenoceptor จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นและกระจายตัวอยู่ที่กล้ามเนื้อ circular ทำให้เกิดการหดตัวเพื่อป้องกันมิให้ embryo คลอดก่อนกำหนด (Chow and Marshall, 1981; Legrand et al., 1987; Maltier, Petit and Legrand, 1989) ดังนั้นในระยะวันที่ 14 (Mid-term) ของการตั้งท้อง จากผลการศึกษา alpha adrenoceptor (ตารางที่ 7) พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกมากกว่าในระยะอื่น ๆ เมื่อกระตุ้นโดยให้อัลลีซินขนาดเดียวกัน อาจเนื่องจากการกระตุ้น alpha-1 adrenoceptor ซึ่งอยู่ในกล้ามเนื้อชั้น circular จึงมีการหดตัวสูงสุด

การกระตุ้น beta-adrenoceptor ทำให้เกิดการคลายตัว โดยเฉพาะ beta-2 adrenoceptor ทำให้เกิดการคลายตัว (Maltier and Legrand, 1988; Maltier, Benghan-Eyene and Legrand, 1989) กล้ามเนื้อมดลูกชั้น longitudinal มีการกระจายของ beta-1 และ beta-2 adrenoceptor ร่วมกัน ผลของการกระตุ้น beta-2 adrenoceptor มีการเพิ่มของ adenylate cyclase เพื่อลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อ longitudinal ทำให้มีการขยายตัวของมดลูกเพื่อทำให้การเจริญเติบโตของ embryo เพิ่มขึ้น จากการศึกษาเมื่อกระตุ้นด้วยอัลลีซินหนูแรทที่ตั้งท้องระยะ 14 วันมีการหดตัวสูงสุด (ตารางที่ 4) ส่วนในระยะคลอดจะมีการหดตัวของกล้ามเนื้อ longitudinal ทำให้ fetus เคลื่อนออกจากมดลูกทำให้เกิดการคลอด (Chow and Marshall, 1981; Nesheim, 1972) เกิดการคลอดในระยะนี้จะเกิดร่วมกับฮอร์โมนอื่น ๆ คือปริมาณ estrogen, ปริมาณของ oxytocin และ oxytocin receptor มีปริมาณสูงมากขึ้นในระยะคลอด (Alexandrova and Soloff, 1980) จากการศึกษาเมื่อกระตุ้นด้วยอัลลีซินหนูแรทที่ตั้งท้องระยะ 21 วัน พบว่าอัลลีซินเพิ่มการหดตัวของมดลูกได้ (ตารางที่ 4)

ในระหว่างมีการตั้งท้องของหนูแรทพบว่าปริมาณของ alpha-1 adrenoceptor เพิ่มขึ้น และปริมาณของ beta-2 adrenoceptor ลดลงจนกระทั่งก่อนการคลอด ในช่วง 6 ชั่วโมงก่อนคลอดมีการเพิ่มขึ้นของ alpha-1 adrenoceptor 70% และมีการลดลงของ beta-2 adrenoceptor (Legrand, Maltier and Benghan-Eyene, 1987) ได้มีการศึกษาทางด้านชีวเคมีและเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่ามี alpha-1 adrenoceptor ตอบสนองต่อมดลูกหนูแรทในระยะสุดท้ายของการตั้งท้อง (Marshall, 1970; Abdel-Aziz and Bakry, 1973; Osa and Kawarabayashi, 1977) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างฮอร์โมน estrogen และ progesterone ซึ่งสามารถควบคุมได้ทั้ง alpha- และ beta-adrenoceptor ฮอร์โมนจากรังไข่คือ estradiol ทำให้มีการเพิ่มของปฏิกิริยาของ adrenoceptor ในระยะสุดท้ายของการตั้งท้องซึ่งเป็นผลทำให้เกิดการกระตุ้นของ alpha-adrenoceptor (Abdel-Aziz and Bakry, 1973) และฮอร์โมน progesterone มีผลต่อการควบคุม beta-2 adrenoceptor ในกล้ามเนื้อมดลูกหนูแรทในระยะใกล้คลอด ส่วนกลไกของอัลลิซินอาจจะเกี่ยวกับ alpha-1 และ alpha-2 receptor (ตารางที่ 7 และ ตารางที่ 8) พบว่าอัลลิซินออกฤทธิ์ผ่าน alpha-1 receptor อย่างเดียวเท่านั้น เนื่องจากในช่วง 6 ชั่วโมงก่อนคลอดมีการเพิ่มขึ้นของ alpha-1 adrenoceptor 70% และมีการลดลงของ beta-2 adrenoceptor (Legrand, Maltier and Benghan-Eyene, 1987) Hoffman และ Lefkowitz (1980) Exton (1981) เสนอแนะว่า receptor ของ alpha-1 อยู่ที่ post-synaptic ซึ่งมีผลต่อกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ส่วน alpha-2 receptor อยู่บริเวณ pre-synaptic เป็นส่วนใหญ่ มีผลต่อการ feed-back โดยยับยั้ง NE ซึ่งหลั่งออกมาจาก adrenergic nerve ending โดยอัลลิซินอาจจะมีการผลต่อการหดตัวของมดลูกที่บริเวณ post-synaptic ของ alpha-1 receptor

จากการศึกษาพบว่า indomethacin  $10^{-5}$  M สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูก และเมื่อให้อัลลิซิน 0.44 mM ไม่สามารถหดตัวเพิ่มขึ้นได้อีก ทั้งนี้เนื่องจาก indomethacin เป็น cyclooxygenase inhibitor ของ PGs ใช้ในการยับยั้งการหดตัวของมดลูกและการคลอดก่อนกำหนดในสัตว์ทดลองและทางคลินิก (Belghmi et al., 1986; Caldwell and Gardner, 1986; Garrioch, 1978) ดังนั้นจึงใช้ indomethacin ในการทดลองครั้งนี้ Prostaglandins มีผลต่อระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะ  $PGE_2$  และ  $PGF_{2a}$  มีผลกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบ โดยเฉพาะมดลูกซึ่งใช้ทางด้านคลินิกในการเร่งคลอด และใช้ทาแท้ง (Carsten and Miller, 1987) ในระหว่างที่มีการคลอด (parturition) พบว่าฮอร์โมน และสาร

สื่อประสาทชนิดต่าง ๆ มีผลต่อการเพิ่ม PGs และในหญิงใกล้คลอดพบว่าการเพิ่มของ oxytocin receptor มีผลต่อการสร้าง (biosynthesis) PGs (Carsten and Miller, 1987) สาร norepinephrine และ PGs ทำหน้าที่ร่วมกันเพิ่มการหดตัวของมดลูก (Hoffman and Lefkowitz, 1980; Amy and Karim, 1974) จากการศึกษาของ Falkay, Herzeg and Kovacs (1978) ในเนื้อเยื่อของหญิงตั้งท้องในหลอดทดลอง (*in vitro*) แสดงให้เห็นว่า epinephrine มีผลต่อการเพิ่มของ PGE<sub>2</sub> และ PGF<sub>2a</sub> ที่บริเวณ microsome ภายในเซลล์ นอกจากนี้การเพิ่มของ PGs ใน amniotic fluid และ maternal plasma ในระหว่างการคลอด ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดการหดตัวของมดลูก ในระยะใกล้คลอดมีการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน คือฮอร์โมน estrogen และ oxytocin จะเพิ่มขึ้น (Giannopoulos et al., 1985) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่ม PGF<sub>2a</sub> ในกระแสเลือด ซึ่งหนูแรทที่ตั้งท้องได้ 18 วัน มีการลดลงของฮอร์โมน progesterone ทำให้เพิ่มขึ้นของ PGF<sub>2a</sub> ในกระแสเลือดและ PGE<sub>2</sub> ใน amniotic fluid ฮอร์โมน estradiol สูงสุดในวันที่ 21 เป็นผลจากการกระตุ้นของ PGs ที่อยู่ในกระแสเลือด (Ramwell, Leovey and Sintetos, 1977) ฮอร์โมน progesterone มีผลต่อการลดลงของ phospholipid ซึ่งเป็น precursor ของ arachidonic acid แต่ estradiol ทำให้มีการเพิ่มของ phospholipid (Toth and Hertelendy, 1986) ดังนั้น Molnar และ Hertelendy (1990) ได้สรุปว่า estradiol เพิ่ม PGs และทำให้การหดตัวของมดลูกเพิ่มขึ้น ในระยะคลอด สามารถพบ PGs ได้ทุกระยะของการตั้งท้อง (Dray and Frydman, 1976; Zuckerman et al., 1978) จากการศึกษาเนื้อเยื่อของหญิงตั้งท้องในระยะใกล้คลอดและระหว่างคลอดพบว่า PGE<sub>2</sub> และ PGF<sub>2a</sub> มีผลเพิ่มการหดตัวของมดลูกมากกว่าตัวอื่น ๆ (Hoffmann et al., 1983; Giannopoulos et al., 1985) นอกจากนี้ PGs ทำให้มีการปล่อยแคลเซียมที่บริเวณ microsome ซึ่งอยู่ภายในเซลล์จึงมีผลเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกในระยะคลอด (Vallani et al., 1974; Rubanyi and Csapo, 1977) อัลลิซินที่มีผลกระตุ้นการหดตัวของมดลูกในระยะคลอด (ตารางที่ 9) อาจจะผ่าน receptor ของ PGs receptor ซึ่งเป็นระยะที่ PGs receptor มีมากและตอบสนองต่อมดลูกได้ดี นอกจากนี้ยังมีรายงาน Fuchs et al. (1982) พบว่ากล้ามเนื้อมดลูกส่วน endometrium ของมดลูกหนูแรทที่ตั้งท้องและไม่ตั้งท้องมี oxytocin receptor และมี arachidonic acid (Fuchs, Fuchs and Husslein, 1981) oxytocin มีผลต่อการหดตัวของมดลูกโดยสร้าง PGs ใน endometrium โดยการแพร่ผ่าน (Diffusion) ของ PGs ซึ่งจากทดลองนี้ (ตารางที่ 9) อัลลิซินอาจมีผลต่อการหดตัวของมดลูกเนื่องจากมีปฏิกิริยาต่อ PGs ซึ่งมีมากในระยะใกล้คลอด endometrium ของมดลูก

ปริมาณของแคลเซียมมีผลต่อการหดตัวของมดลูกเหมือนกับกล้ามเนื้อชนิดอื่น ๆ คือเมื่อภายในเซลล์มีการเพิ่มของแคลเซียมปริมาณ  $5 \times 10^{-6} \text{ M}$  จะทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจมาจากภายในเซลล์หรือนอกเซลล์ก็ได้ ส่วนของกล้ามเนื้อเรียบมี organelle ที่เก็บแคลเซียมไว้คือบริเวณ sarcoplasmic reticulum เป็น organelle ขึ้นต้นในการเก็บแคลเซียมไว้ภายในเซลล์ (Carsten and Miller, 1987) แคลเซียมสามารถออกนอกเซลล์ได้โดย  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase และมี  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  exchange ภายในนอกเซลล์นั้นแคลเซียมสามารถเข้ามาในเซลล์ได้ (Craig and Stilze, 1990) ซึ่งมีอยู่ 2 channels คือ (Carsten and Miller, 1987) 1) potential-dependent channels ( $\text{PDC}_S$ ) โดยการเกิด depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เปลี่ยนมาอยู่ในภาวะ activated state 2) receptor-operated channels ( $\text{ROC}_S$ ) เกิด specific receptor จากการมีสารมากกระตุ้น (agonist) การกระตุ้นที่บริเวณ specific receptor แล้วทำให้เกิดการหดตัวของมดลูกหนูที่ตั้งท้องและไม่ตั้งท้องเป็นผลมาจากแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ สำหรับ calcium antagonist ที่พบในการขัดขวางการหดตัวของมดลูกหนูแรทและกล้ามเนื้อมดลูกของคน เช่น nifedipine, verapamil, cinnarizine, chlorpromazine (a putative calmodulin antagonist) (Ostergaard et al., 1980; Forman et al., 1982) สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกโดยมีความแรง (potency) จากการศึกษา (ตารางที่ 10, 11 และ 12) พบว่า nifedipine ออกฤทธิ์มากกว่า verapamil ส่วน verapamil ออกฤทธิ์มากกว่า chlorpromazine และ chlorpromazine ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของมดลูกน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับ antagonist ตัวอื่น ๆ ซึ่งเหมือนกับการศึกษาของ Ballejo, Calixto and Medeiros, 1986 สาร calcium antagonist โดยทั่วไปออกฤทธิ์ยับยั้งแคลเซียมเข้าสู่เซลล์โดยทาง  $\text{ROC}_S$  มากกว่า  $\text{PDC}_S$  (Braunwald, 1982; Saida and Vanbreeman, 1983) แต่การศึกษาโดย Fleckentein และ Fleckentein-Grun (1980) และ Fanta และ Drazen (1983) ได้ศึกษาเปรียบเทียบ nifedipine และ verapamil ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดพบว่า nifedipine ออกฤทธิ์ทาง  $\text{PDC}_S$  มากกว่า verapamil โดยที่แคลเซียมผ่าน  $\text{PDC}_S$  ซึ่งอาศัย high voltage activated gate channel ในกล้ามเนื้อเรียบโดยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ L (Long-lasting)-type และ T(transient)-type โดย L-type จะมีอิทธิพลต่อ dihydropyridine sensitive calcium channel เช่น nifedipine, verapamil, diltizem และอื่น ๆ (Tsien et al., 1988) จากตารางที่ 10, 11 และ 12 พบว่าอัลลิซินอาจจะออกฤทธิ์ผ่าน calcium channel L-type เนื่องจาก nifedipine



สามารถยับยั้งฤทธิ์ของอัลลีซินมากที่สุด รองลงมาคือ verapamil ส่วน chlorpromazine (calmodulin blocker) ออกฤทธิ์ยับยั้งน้อยที่สุด (Ballejo, Calixto and Medeiros, 1986) ซึ่งเหมือนการศึกษาของอันธิกา เพิ่มพิณฑทอง (2533) พบว่า verapamil สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นด้วยอัลลีซิน และ Somboonwong(1992) พบว่า nifedipine และ verapamil สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นด้วยอัลลีซิน และอัลลีซินออกฤทธิ์ต่อ calcium channel โดยอาจจะผ่าน  $PDC_S$  มากกว่า  $ROC_S$  จากการศึกษา(ตารางที่ 10, 11, 12) จึงทำให้ nifedipine สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นด้วยอัลลีซินมากกว่า verapamil (Fanta and Drazen, 1983; Fleckentein and Fleckentein-Grun, 1980) การที่กล้ามเนื้อมดลูกหดตัวเนื่องมาจากการเพิ่มของแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งได้รับการกระตุ้นจากปริมาณแคลเซียมจำนวนมากที่อยู่ภายนอกเซลล์ (Forman, Andersson and Maigaard, 1986) จากการศึกษา(ตารางที่ 13 และรูปที่ 22) เมื่อให้อัลลีซินใน extracellular fluid ที่มีปริมาณแคลเซียมสูง (2-0.5 mM) ทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกมากขึ้น เมื่อให้อัลลีซินใน extracellular fluid ขนาดต่ำ ๆ (0.1-0 mM) และให้ calcium chelator คือ EDTA แล้วไม่มีผลต่อการหดตัวของมดลูก เนื่องจากปริมาณแคลเซียมที่อยู่นอกเซลล์มีผลต่อการกระตุ้นหดตัวมากกว่าแคลเซียมภายในเซลล์คือ sarcoplasmic reticulum จึงทำให้มดลูกมีการหดตัวมากเมื่อมีปริมาณแคลเซียมมาก (Carsten and Miller, 1987) จากการศึกษา (ตารางที่ 13 และรูปที่ 21, 22) พบว่า calcium ใน extracellular fluid สูง ๆ ทำให้ อัลลีซินมีผลเพิ่มการหดตัวของมดลูกหนูแรทเพิ่มมากขึ้น