บทที่ 1
บทนำ

สรีรวิทยาของท่อนำอสุจิ (physiology of vas deferences)

ท่อนำอสุจิ (vas deferens) เป็นส่วนต่อมาจาก testis ตั้งแต่ส่วนของ epididymis ถึง prostatic urethra แบ่งตามลักษณะทางกายวิภาค ได้ 2 ส่วน คือ prostatic และ epididymal part ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 โดยแต่ละส่วนตอบสนองต่อการกระตุ้นของ agonists ต่าง ๆ ได้มากน้อยต่างกัน ท่อนำอสุจิมีเส้นประสาท hypogastric (sympathetic postganglionic fibers) มาเลี้ยง มี receptor หลายชนิดแต่ที่เด่นคือ adrenergic receptors การศึกษา in vivo ไม่พบว่ามี spontaneous contraction (normally quiescent) แต่จะหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นผ่านทางประสาท sympathetic ท่อนำอสุจิมี action potential เป็นแบบชนิดยอดแหลม (spike-type)

ผลของสารต่าง ๆ ต่อการหดตัวของท่อนำอสุจิ

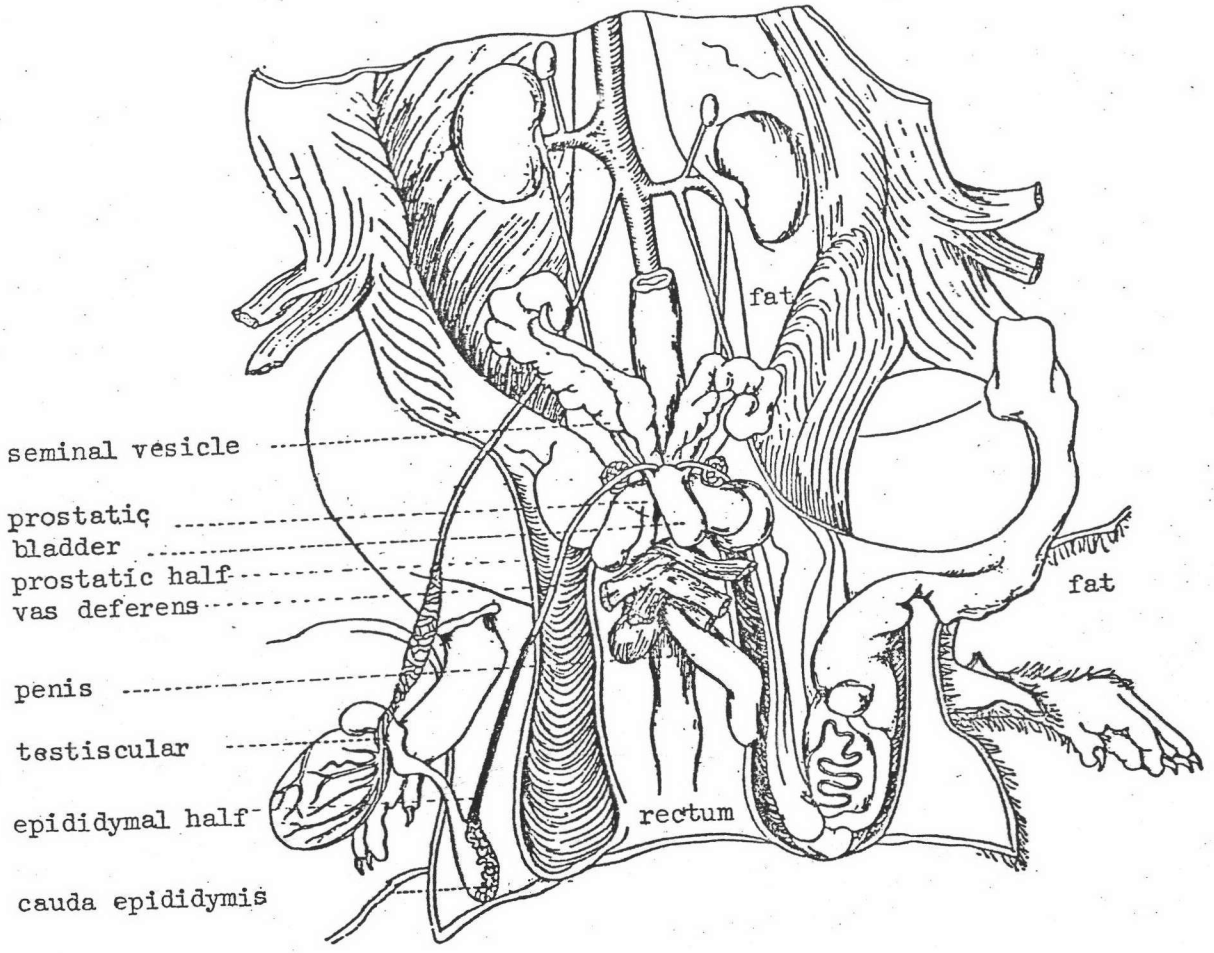
1. ผลของ KCl ต่อท่อนำอสุจิ

เมื่อกระตุ้นท่อนำอสุจิด้วย KCl จะให้การตอบสนองที่ประกอบด้วย phasic และ tonic contraction ความเร็วในการเกิด phasic ของ prostatic part จะสูงกว่า epididymal part (Hay และ Wadsworth, 1983a)

2. ผลของ $BaCl_2$ ต่อท่อนำอสุจิ

เป็นที่ทราบกันว่า Ba^{2+} สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลายชนิดที่แยกออกมาจากตัวโดยกลไกเกิดจาก membrane depolarization การศึกษาในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียม แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก Ba^{2+} น่าจะเกิดจากการหลั่งของแคลเซียมภายในเซลล์ (Northover, 1968; Jurkiewicz และคณะ, 1975)

ส่วน Ba^{2+} นั้นก็พบว่าเหนี่ยวนำให้เกิดทั้ง phasic และ rhythmic contraction ของท่อนำอสุจิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลาย ๆ ชนิดเช่นกันโดยที่ไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัด



รูปที่ 1 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ในหนูขาว

3. ผลของ 5-Hydroxytryptamine (5-HT) ต่อท่อนำอสุจิ

ท่อนำอสุจิของหนูขาว และหนูตะเภาสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย 5-hydroxytryptamine (5-HT) ซึ่งประกอบด้วย phasic แล้วตามด้วย rhythmic contraction (Thoa และ Maengwyn-Davies, 1968; Nishino และคณะ, 1970; Ozawa และ Katsuragi,1974) การศึกษาทางเคมีของเซลล์และชีวเคมีพบว่าในสภาวะที่เหมาะสม exogenous 5-HT สะสมอยู่ใน neuronal noradrenaline store ของท่อนำอสุจิ (Jaim-Etcheverry และ Zieher, 1969; Thoa และคณะ 1969) เพราะฉะนั้นเป็นไปได้ว่าส่วนหนึ่งของ contractile response ต่อ 5-HT mediated โดยการหลั่งของ endogenous noradrenaline

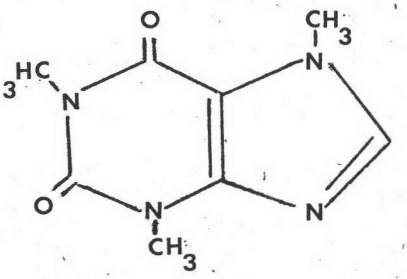
4. ฤทธิ์ของ Catecholamine ต่อท่อนำอสุจิ

สำหรับในท่อนำอสุจิการกระตุ้น alpha-1-receptors โดย exogenous catecholamines ในขนาดต่ำ ๆ ทำให้มีการหดตัวโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง membrane potential หรือเปลี่ยนน้อยมาก ที่ขนาดสูง ๆ ทำให้เกิด depolarization และ discharge ของ action potentials Depolarization น่าจะเกิดจากการลด K-Conductance ของเยื่อหุ้มเซลล์ การกระตุ้นเส้นประสาททำให้มีการหลั่ง NE และ ATP ซึ่งสารทั้งสองทำให้เกิดการหดตัวด้วยกลไกที่แตกต่างกัน Exitatory junction potentials (ejp) พบว่าต้านต่อสารพวก adrenoceptor blocking agents ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจาก ATP เมื่อ ejp ถึง threshold ทำให้เกิด action potentials ซึ่งนำไปสู่ phase แรกของการหดตัว (initial fast component) กลไกการออกฤทธิ์ของ NE หลังจากหลั่งออกมาจากปลายประสาท นั้นยังไม่ทราบแน่นอน อาจเป็นไปได้ว่า NE จับกับ extrajunctional receptors แล้วทำให้เกิด depolarization เป็นผลให้มี slow component ของ contraction ซึ่งถูกทำลายโดย adrenoceptor blocking agents และ Ca-channel blockers; การหดตัวที่เกิดจาก exogenous norepinephrine ส่วนหนึ่งเป็นผลจากการหลั่งของแคลเซียมภายในเซลล์ เพราะว่า initial rapid phase นี้ ต้านต่อ Ca-channel blockers (Hay และ Wadsworth, 1983b) อย่างไรก็ตามการกระจายของแคลเซียมภายในเซลล์ที่หลั่งมาทำให้เกิดการหดตัวนั้นพบว่าที่ท่อนำอสุจิมีปริมาณน้อยกว่าในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเพราะว่าถูกทำลายอย่างรวดเร็วเมื่อปราศจากแคลเซียม

คุณสมบัติทางชีวเคมีของคาเฟอีน

คาเฟอีนเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม methylaxanthine ซึ่งนิยมเรียกว่า xanthine derivatives, methylxanthines หรือ xanthines

Xanthine เองเป็น dioxypurine ซึ่งมีโครงสร้างที่สัมพันธ์กับ uric acid คาเฟอีนคือ 1,3,7 trimethylxanthine ซึ่งมีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 2



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของคาเฟอีน (1, 3, 7 trimethylxanthine)

Methylxanthines ละลายน้ำไม่ดี จึงต้องรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ปกติ 1:1) ได้แก่การ form เป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ double salts เช่น คาเฟอีน กับ sodium benzoate หรือ true salts เช่น choline theophyllinate กับ oxtriphylline

พิษวิทยาของคาเฟอีน

อาการพิษที่เกิดจากการบริโภคคาเฟอีนนั้นพบน้อยมากถึงแม้ว่าการให้คาเฟอีนเกินขนาดทำให้อาเจียน และชักได้ แต่มีรายงานว่าไม่ปรากฏอาการทั้งสองอย่างในรายที่เสียชีวิตเพราะบริโภคคาเฟอีน ความเข้มข้นของคาเฟอีนในเลือดของคนเสียชีวิตประมาณ 80 ug/ml ถึง 1 mg/ml สำหรับในผู้ใหญ่แล้วปริมาณของคาเฟอีนที่ทำให้เสียชีวิตทันทีคือ 5-10 กรัม แต่เมื่อบริโภค 1 กรัม ก็จะปรากฏอาการแล้ว (การบริโภค 15 mg/kg B.W.จะทำให้มี : plasma concentration มากกว่า 30 ug/ml) อาการต่าง ๆ หมายถึงอาการทางระบบประสาทส่วนกลางและระบบไหลเวียน (Curatolo และ Roberton, 1983)

การศึกษา in vitro ถึงผลของคาเฟอีนต่อกล้ามเนื้อ

1. ผลต่อกล้ามเนื้อลาย

คาเฟอีนที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (1-4 mM) จะเพิ่ม twitch tension ในกล้ามเนื้อลายของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ในขณะที่ความเข้มข้นสูง ๆ (5-10 mM) ทำให้เกิด contracture (Sandow, 1965) โดย contracture นั้นไม่เกี่ยวข้องกับ membrane depolarization (Axelsson และ Thesleff, 1958) นอกจากนี้ผลของคาเฟอีนต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังและแมลงพบว่าไปลด mechanical threshold (Sandow, 1965; Huddart, 1969; Huddart และ Abram, 1969) กระตุ้น ^{45}Ca efflux จาก intracellular compartment (Bianchi, 1961; Isaccson และ Sandow, 1967; Chen และคณะ, 1972; Huddart และ Syson, 1975) และยับยั้ง intracellular calcium binding โดย sarcoplasmic reticulum (Herz และ Weber, 1965; Carvalho, 1968; Huddart และ Willams, 1974)

2. ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบ

2.1 ลำไส้

Satoru และ Miyazaki ได้ศึกษา teania-coli ของหนูตะเภา (1978) พบว่าคาเฟอีนก่อให้เกิดการกระตุ้นในระยะแรกและตามมาด้วยการยับยั้ง ลักษณะของการยับยั้งพบว่ามีการสูญเสียของ spontaneous spike activity ในขณะที่ไม่มีผลต่อ evoked action potentials นอกจากนี้คาเฟอีนยังมีผลลด

K-contracture ของทั้ง teatia-coli ของหนูตะเภา (Sunano และ Miyazaki, 1973) และ ileum ของหนูขาว (Syson และ Huddart 1976) โดยคาเฟอีนมีผลลด membrane permeability ต่อแคลเซียม

2.2 Myometrium

คาเฟอีนที่ความเข้มข้น 2-20 mM จะลด spontaneous contraction ของ myometrium ของหนูถีบจักร ก่อให้เกิด hyperpolarization เพิ่ม membrane conductance และลด spontaneous spike activity โดยอาจเนื่องจากกลไกที่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้แคลเซียมเข้าไปสู่เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane site) มากขึ้น (Osa, 1973)

2.3 ท่อไต

Burdyga และ Magura ได้ศึกษาผลของคาเฟอีนต่อกล้ามเนื้อเรียบท่อไตของหนูตะเภา (Burdyga และ Magura, 1986) ในสภาวะที่ไม่ได้ treated ด้วยอะไร คาเฟอีนจะมี ฤทธิ์ยับยั้ง (inhibitory action) ต่อท่อไต ยับยั้ง evoked action potentials และ phasic contraction รวมทั้ง k-contracture คาเฟอีนลด low-Na contracture ของ Na-loaded ของกล้ามเนื้อเรียบท่อไตแสดงว่า Na-loaded tissue สามารถเกิด contracture จากผลของคาเฟอีนที่อุณหภูมิ 37°ซ Caffeine contracture สามารถเกิดได้ภายใต้สภาวะที่ปราศจากแคลเซียมอย่างสิ้นเชิงและเมื่อมี Ca-channel blockers(nifedipine, diltiazem, Mn^{2+}) ที่ความเข้มข้นสูง ๆ โดยที่การยับยั้งนั้นสามารถย้อนกลับได้โดย tetracaine, procaine และ benzocaine. Caffeine contracture ยังสามารถเกิดได้เมื่อกล้ามเนื้อเรียบท่อไตอยู่ใน isotonic K-solution

2.4 กระเพาะปัสสาวะ

Huddart และคณะ (1983) รายงานว่าคาเฟอีนและ theophylline (0.1-5-0 mM) จะยับยั้ง K-induced contracture ของกระเพาะปัสสาวะของหนูขาว

2.5 ท่อน้ำอสุจิ

คาเฟอีนและ theophylline (0.1-5.0 mM) จะยับยั้ง K-induced contracture ของท่อน้ำอสุจิหนูขาว ฤทธิ์ยับยั้งนี้อาจเกิดจากการยับยั้ง Ca^{2+}-influx พร้อมกับการกระตุ้น intra-cellular binding (Huddart และคณะ, 1983)

2.6 หลอดเลือด

คาเฟอีนทำให้เกิดเฉพาะ transient contraction ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแม้ในสารละลายที่มีแคลเซี่ยม (Saida และ Van Breemen, 1984;Karaki และคณะ,1984; Ito และคณะ,1986) Caffeine-induced transient contraction ใน aorta ของกระต่ายถูกยับยั้งโดยสารที่ไปยับยั้ง Calcium-Induced Calcium Release (CCR) คือ Procaine แต่ไม่ยับยั้งโดย lidocaine (Karaki และคณะ, 1987) ดังนั้น Caffeined-induced transient contraction อาจเกิดจากการกระตุ้น CCR อย่างไรก็ตามเนื่องจากการหดตัวที่เกิดจาก high-K^+ และ NE นั้นต้านทานต่อ procaine ในความเข้มข้นที่ใช้ยับยั้ง caffeine-induced contraction ดังนั้น CCR จึงอาจไม่มีบทบาทสำคัญต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด aorta ของกระต่าย นอกจากนี้การให้คาเฟอีนระหว่างK-induced contraction ทำให้เกิด transient contraction อย่างไรก็ตามคาเฟอีนไม่ทำให้เกิด transient contraction เมื่อให้ในระหว่างที่เกิด sustained contraction จาก norepinephrine (Karaki และคณะ, 1987) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับความคิดเห็นของ Karaki และคณะ, 1979 ที่ว่า high-K-induced depolarization ไม่ได้ทำให้แคลเซียมหลั่งออกมาจากแหล่งเก็บแคลเซียม แต่ norepinephrine ทั้งกระตุ้นการหลั่งของแคลเซียมและยับยั้งการเก็บกลับคืนแคลเซียม (Refilling) ของแหล่งเก็บแคลเซียม

กลไกการหลั่งแคลเซียมของกล้ามเนื้อเรียบ

สำหรับในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่ศึกษาในตัวสัตว์ทดลอง (intact smooth muscle cells) นั้นเป็นการยากที่จะประเมินผลของยาหรือสารต่างๆ ว่ามีผลโดยตรงต่อแหล่งเก็บแคลเซียม เนื่องจากมี membrane barrier อย่างไรก็ตามก็มีวิธีการที่ช่วยเพิ่ม permeability ของกล้ามเนื้อเรียบด้วย saponin (Endo และคณะ, 1977; Saida และ Nonomura,1978) โดยวิธีการนี้ทั้ง sarcoplasmic reticulum และ contractiles filaments ยังทำงานได้ตามปกติ ซึ่งทำให้มีการศึกษาการหลั่งของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบเพิ่มมากขึ้น

Calcium-Induced Calcium Release (CCR)

ใน skinned fiber ของกล้ามเนื้อลายพบว่ามีแคลเซียมสะสมที่ sarcoplasmic reticulum เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมใน medium มีมากขึ้นอย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมถึง 10^{-4} M จะเพิ่มการหลั่งของแคลเซียม จาก sarcoplasmic reticulum กลไกนี้เรียกว่า Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release (CCR) (Endo และคณะ, 1977; Ford และ Poddsky, 1970) CCR ถูกยับยั้งแบบจำเพาะเจาะจงโดยแมกนีเซียม เมื่อความเข้มข้นของแมกนีเซียมต่ำกว่าระดับปกติทางสรีรวิทยา (0.9 mM ถึง 0.05 mM) แล้ว CCR จะเกิดได้แม้ความเข้มข้นของแคลเซียมน้อยกว่า 10^{-5} M. ยาชาเฉพาะที่บางชนิด เช่น procaine ยับยั้ง CCR แต่บางชนิด เช่น lidocaine ไม่ยับยั้ง ดูเหมือน CCR ไม่มีบทบาททางสรีรวิทยาต่อกล้ามเนื้อลาย เพราะว่าความเข้มข้นของแคลเซียมที่ต้องการให้เกิด CCR นั้นสูง (10^{-4} M) และตัวยับยั้ง CCR ไม่ได้ยับยั้ง contractile responses ในกล้ามเนื้อลายที่อยู่ในตัว (Endo, 1977).

CCR พบทั้งใน skinned fibers ของกล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อเรียบ ด้วย สำหรับในกล้ามเนื้อหัวใจ CCR เกิดได้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าในกล้ามเนื้อลาย (Fabiato และ Fabiato, 1977) ใน skinned fiber ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดง mesentric นั้น CCR ถูกกระตุ้นให้เกิดโดยแคลเซียมที่ความเข้มข้นอย่างต่ำที่สุด 3×10^{-7} M และมีแมกนีเซียมที่มีความเข้มข้นต่ำมาก ๆ (ในแมกนีเซียม 5 mM และ Na_2 ATP 5 mM) ใน skinned taenia caeci ของหนูตะเภากระตุ้นให้เกิดโดยแคลเซียมที่ความเข้มข้นมากกว่า 10^{-6} M (ไม่มีแมกนีเซียม) หรือ 10^{-5} M (มีแมกนีเซียม 10 mM) การเกิด CCR ในกล้ามเนื้อเรียบคล้ายคลึงกับในกล้ามเนื้อลายแต่ใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมต่ำกว่ากล้ามเนื้อลาย CCR ในกล้ามเนื้อเรียบถูกยับยั้งโดย procaine (Saida และ Van breeman, 1984)

Caffeine - Induced Calcium Release

ใน skinned smooth muscle นั้นคาเฟอีนจะกระตุ้นแคลเซียมออกมาจาก sarcoplasmic reticulum เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมต่ำมาก ๆ (น้อยกว่า 10^{-8} M) (Itoh และคณะ, 1981; Saida, 1982; Stout และ Diecke, 1983) ผลของ

คาเฟอีนถูกยับยั้งโดย procaine ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าคาเฟอีนกระตุ้น CCR ในกล้ามเนื้อเรียบด้วย

Depolarization Induced Calcium Release

Endo (1977) รายงานว่าใน skinned fiber ของกล้ามเนื้อลาย (Endo, 1977) เมื่อให้คลอไรด์แทน propionate (มี permeability ต่ำกว่าคลอไรด์) พบว่าเกิด depolarization ที่เยื่อหุ้มของ sarcoplasmic reticulum และทำให้แคลเซียมหลั่งออกมา Depolarization induced Ca^{2+}release ไม่ถูกยับยั้งโดยสารที่ไปยับยั้งของ CCR ซึ่งได้แก่แมกนีเซียมและ procaine

ส่วนใน skinned fiber ของกล้ามเนื้อเรียบนั้น depolarization ของ sarcoplasmic reticulum ทำให้แคลเซียมออกมาจากแหล่งเก็บแคลเซียมเช่นกัน (Itoh และคณะ, 1981; Saida, 1982)

Inositol Triphosphate-Induced Calcium Release

Inositol-1, 4, 5-triphosphate (IP_3) เป็นผลิตผลของ membrane phosphoinositides ในเนื้อเยื่อทั้งกล้ามเนื้อเรียบ (Akhtar และ Abdel-Latif, 1984; Suomatsu และคณะ 1984; Fox และคณะ, 1985; Legan และคณะ, 1985; Campbell และคณะ 1985) และไม่ใช่กล้ามเนื้อเรียบ (Michell, 1975; Berridge, 1984; Rasmussen และ Barrett, 1984) นั้นมีสมมุติฐานว่าลำดับการเกิด "Exitation-Contraction Coupling" นั้นเกี่ยวข้องกับการสลายของ phosphoinositides ได้ผลิตผลคือ IP_3 (ออกมาในไซโตปลาสซึม) และ diacylglycerol (DG) ใน skinned fiber ของกล้ามเนื้อเรียบนั้น IP_3 จะปล่อยแคลเซียมออกจาก sarcoplasmic reticulum (Somlyo และคณะ, 1985; Hashimoto และคณะ, 1986) โดยที่ IP_3-induced Ca^{2+} release นี้ไม่ถูกยับยั้งโดยแมกนีเซียม (Somlyo และคณะ, 1985)

จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นว่ามีการศึกษาถึงผลของคาเฟอีนต่อกล้ามเนื้อเรียบชนิดต่าง ๆ มากพอสมควรทั้งในแง่กระตุ้นด้วยไฟฟ้า พลังงานกล หรือสารเคมี แต่การศึกษาผลของคาเฟอีนต่อท่อนำอสุจิยังมีน้อยมาก การวิจัยครั้งนี้จะช่วยชี้ถึงบทบาททางสรีรวิทยาของคาเฟอีนที่มีต่อท่อนำอสุจิได้โดยตรง เพราะการที่ทราบกลไกของสารสื่อประสาทแต่ละชนิดในท่อนำอสุจิอาจทำให้ทราบกลไกของคาเฟอีนที่มีต่อท่อนำอสุจิได้ และเป็นการศึกษาเบื้องต้น ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ขั้นต่อไปสำหรับการศึกษา in vivo ถึงผลของคาเฟอีนต่อระบบสืบพันธ์เพศชาย

สำหรับการศึกษา in vitro ของท่อนำอสุจิไม่พบว่ามี spontaneous contraction ดังนั้นในการศึกษากลไกการหดตัวของท่อนำอสุจิจึงกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่ KCl, noradrenaline (NE), serotonin (5-HT) และ $BaCl_2$