

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

(ข้อมูลดิบ ดูได้จากภาคผนวก)

1. ผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl

กล้ามเนื้อท่อนอสุจิของหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดความเข้มข้น 100 mM จะเกิดการหดเกร็ง โดยพบว่า การหดเกร็งที่เกิดขึ้นมีสองลักษณะ คือ การเพิ่ม tension ของกล้ามเนื้ออย่างแรงและรวดเร็ว และลดลงอย่างรวดเร็ว เรียกว่าการหดเกร็งแบบ phasic ตามด้วย การหดเกร็งแบบ tonic ซึ่งเป็นความตึงตัวหรือ tension หรือ tone ของกล้ามเนื้อซึ่งจะคงที่อยู่ที่ค่าหนึ่งตลอดเวลาจนกว่าจะล้างสารกระตุ้นออก

ในการศึกษาผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิของหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย KCl นั้น ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 6, 7 และ 8 พบว่า ทั้ง  $AC_2$  และ verapamil สามารถยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้ทั้งแบบ phasic และ tonic โดยที่ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose-dependent) และพบว่า  $AC_2$  ทั้ง 3 ขนาดที่ใช้คือ  $1 \times 10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M และ  $1 \times 10^{-4}$  M ลดการหดเกร็งแบบ phasic ได้มากกว่าการหดเกร็งแบบ tonic (รูปที่ 7) เช่นเดียวกันกับ verapamil (รูปที่ 8) โดยพิจารณาจากกราฟและค่า  $ID_{50}$  จากการทดลองซึ่งคำนวณได้จากสมการของเส้นถดถอยเชิงเส้นตรง (ตารางที่ 2) ค่า  $ID_{50}$  ของ  $AC_2$  มีค่า  $5.12 \times 10^{-5}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ phasic และ  $9.98 \times 10^{-5}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ tonic ส่วนค่า  $ID_{50}$  ของ verapamil มีค่า  $1.2 \times 10^{-5}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ phasic และ  $1.43 \times 10^{-6}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ tonic จากค่า  $ID_{50}$  แสดงให้เห็นว่าความแรงของ verapamil ในการลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิมากกว่า  $AC_2$  ประมาณ 42 เท่าสำหรับการหดเกร็งแบบ phasic และประมาณ 70 เท่าสำหรับการหดเกร็งแบบ tonic

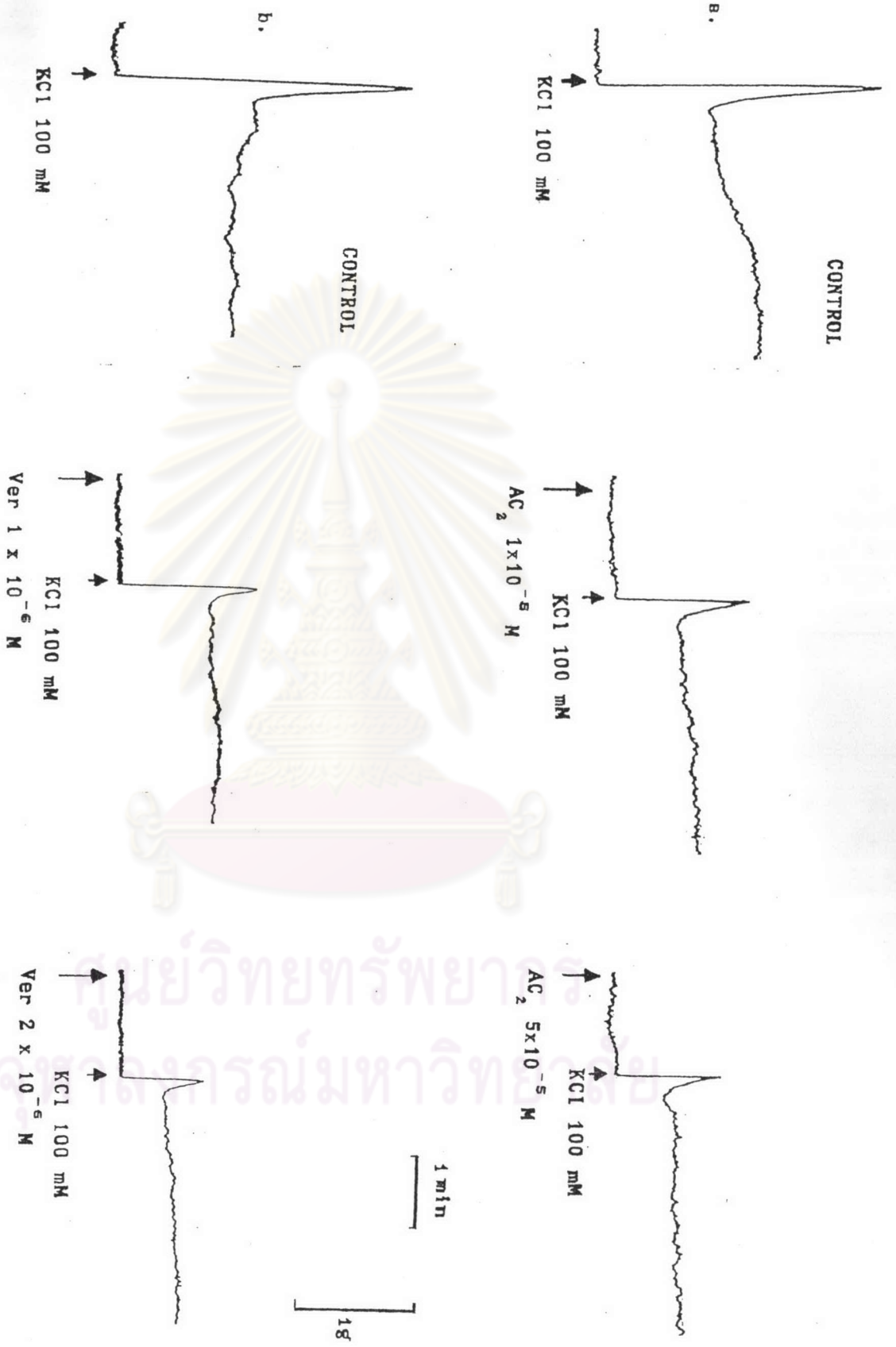
รูปที่ 6

แสดงผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของท่ออสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อใช้ KCl 100 mM เป็นตัวกระตุ้น

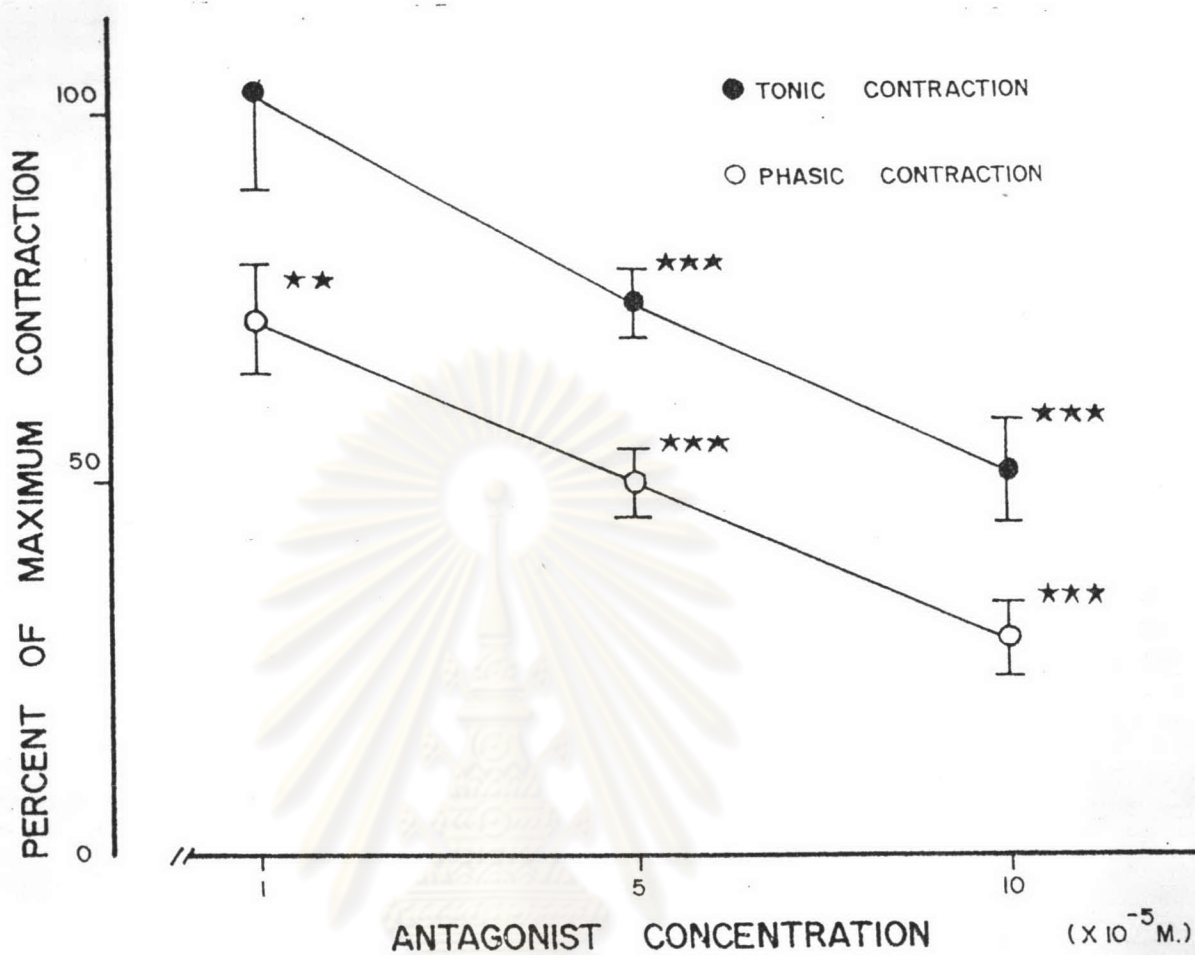
- a. เมื่อให้  $AC_2$   $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M ก่อนให้ KCl
  - b. เมื่อให้ verapamil  $1 \times 10^{-6}$  M และ  $2 \times 10^{-6}$  M ก่อนให้ KCl
- เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งเป็นกรัม



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



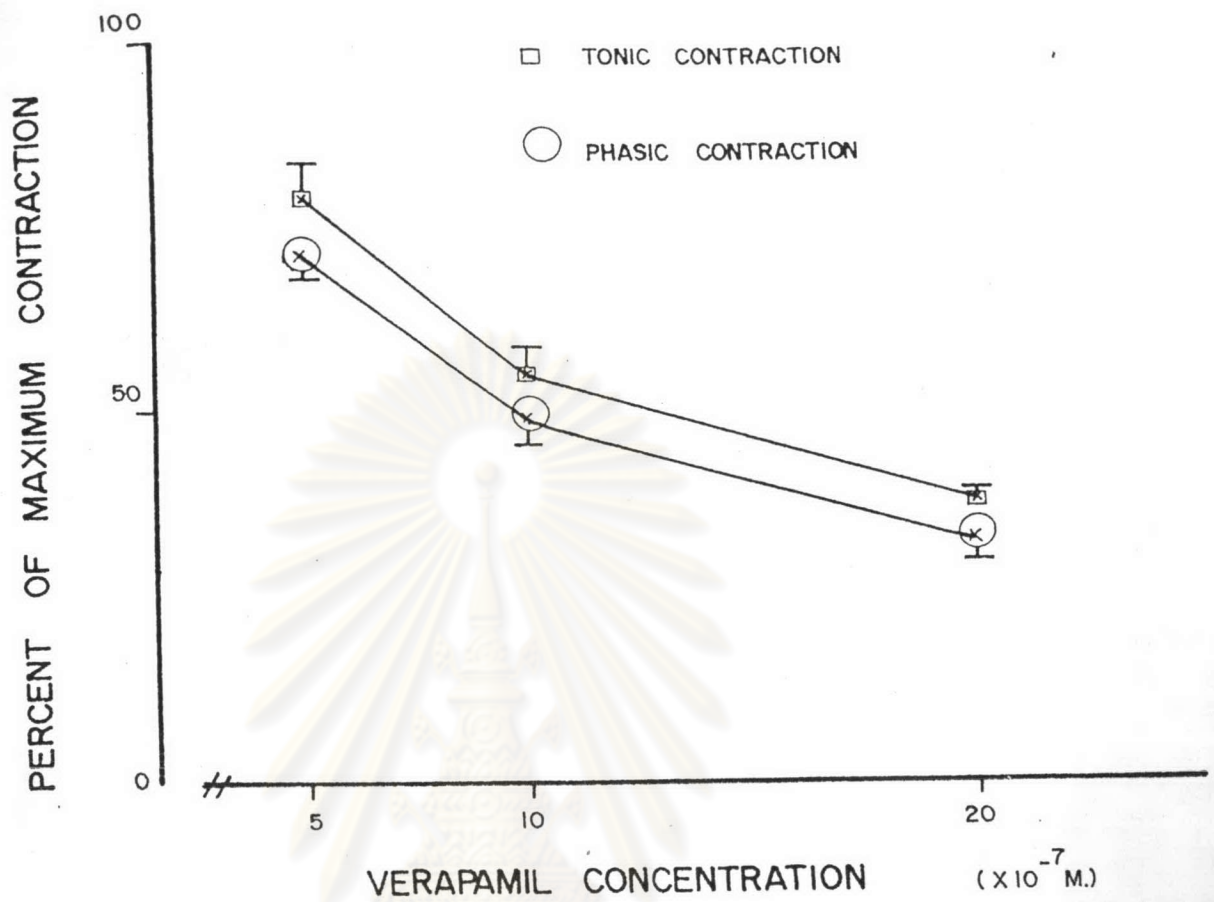
รูปที่ 6



รูปที่ 7 แสดงผลของ  $AC_2$  ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $KCl$  100 mM ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 6 แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm SEM$ ,  $n = 6$

★★ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.025$ )

★★★ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ )



รูปที่ 8 แสดงผลของ verapamil ต่อการหดเกร็งของท่ออสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย KCl 100 mM ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 6 แต่ละจุดในกราฟ แสดงค่า  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  ,  $n = 6$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนสุจิเมื่อใช้ NA เป็นตัวกระตุ้น

การตอบสนองของกล้ามเนื้อท่อนสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย NA ขนาดความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M เกิดการหดเกร็งแบ่งเป็น 2 แบบคือ การหดเกร็งแบบ phasic ซึ่งเกิดขึ้นอย่างชัดเจน ตามด้วยการหดเกร็งแบบ rhythmic ซึ่งมี frequency และ tone ของกล้ามเนื้อสูงในช่วงแรกเมื่อได้รับตัวกระตุ้นและค่อย ๆ ลดลง จนเวลาประมาณ 3 นาที หลังจากถูกกระตุ้น ทั้ง frequency และ tone ของกล้ามเนื้อจะเข้าสู่สภาวะคงที่ ดังแสดงในรูปที่ 9

การศึกษาผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย NA  $3 \times 10^{-5}$  M แสดงในรูปที่ 9, 10 และ 11 พบว่าทั้ง  $AC_2$  และ verapamil มีผลยับยั้งการหดเกร็งแบบ rhythmic ได้มากกว่าการหดเกร็งแบบ phasic ในรูปที่ 9 นั้น แสดงให้เห็นว่า  $AC_2$  และ verapamil นอกจากจะลด frequency ของการหดเกร็งแบบ rhythmic แล้ว ยังลด amplitude และลดระยะเวลาที่ tone ของกล้ามเนื้อเข้าสู่สภาวะคงที่ภายหลังจากถูกกระตุ้นได้ด้วย

ค่า  $ID_{50}$  ของ  $AC_2$  และ verapamil จากการทดลอง ซึ่งคำนวณจากสมการถดถอยเชิงเส้นตรง แสดงในตารางที่ 2 พบว่าค่า  $ID_{50}$  ของ  $AC_2$  มีค่า  $6.72 \times 10^{-5}$  M และ  $4.59 \times 10^{-5}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ phasic และ rhythmic ตามลำดับ สำหรับ  $ID_{50}$  ของ verapamil มีค่า  $4.99 \times 10^{-7}$  M และ  $1.26 \times 10^{-7}$  M สำหรับการหดเกร็งแบบ phasic และ rhythmic ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า  $AC_2$  มีความแรงน้อยกว่า verapamil ในการยับยั้งการหดเกร็งแบบ phasic และ rhythmic ประมาณ 134 และ 360 เท่า ตามลำดับ และผลการทดลองที่ได้ดังกล่าวนี้ แสดงให้เห็นว่า รูปแบบในการลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนสุจิเมื่อกระตุ้นด้วย NA  $3 \times 10^{-5}$  M ของ  $AC_2$  เหมือนกับ verapamil ต่างกันที่ความแรงเท่านั้น

รูปที่ 9

แสดงผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจ  
เมื่อกระตุ้นด้วย NA  $3 \times 10^{-5}$  M

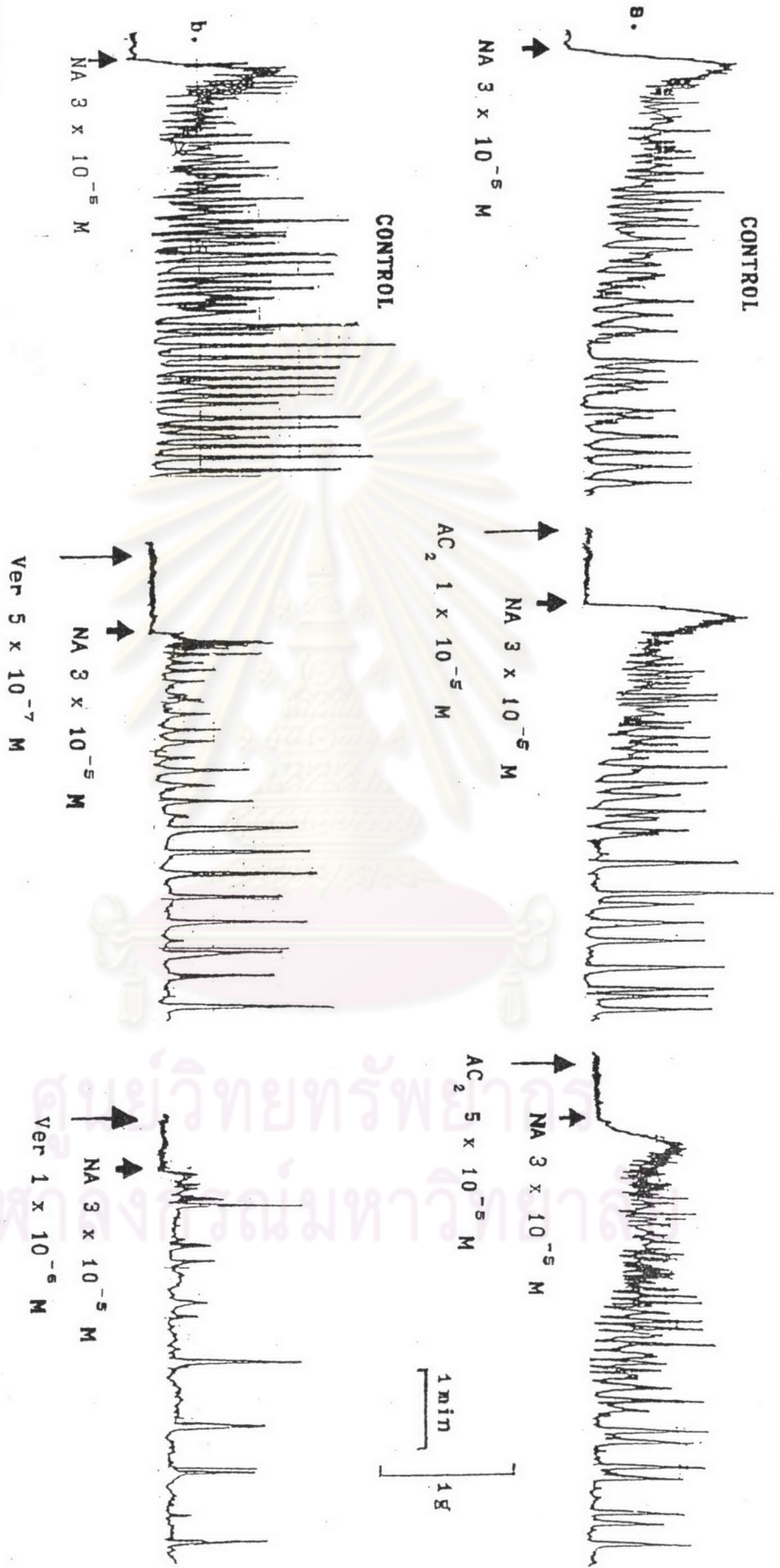
a. เมื่อให้  $AC_2$   $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M ก่อนให้ NA

b. เมื่อให้ verapamil  $5 \times 10^{-7}$  M และ  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อนให้ NA

เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรง  
ของการหดเกร็งเป็นกรัม

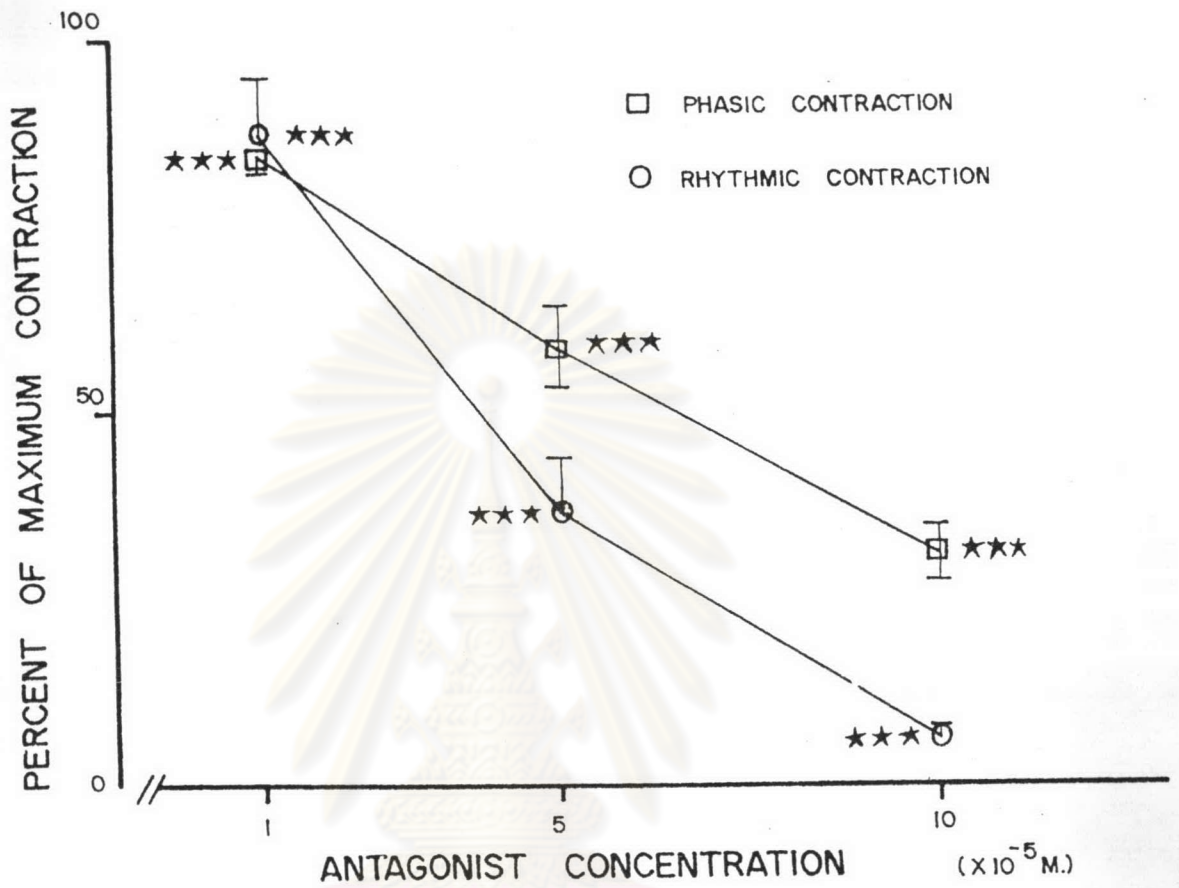


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

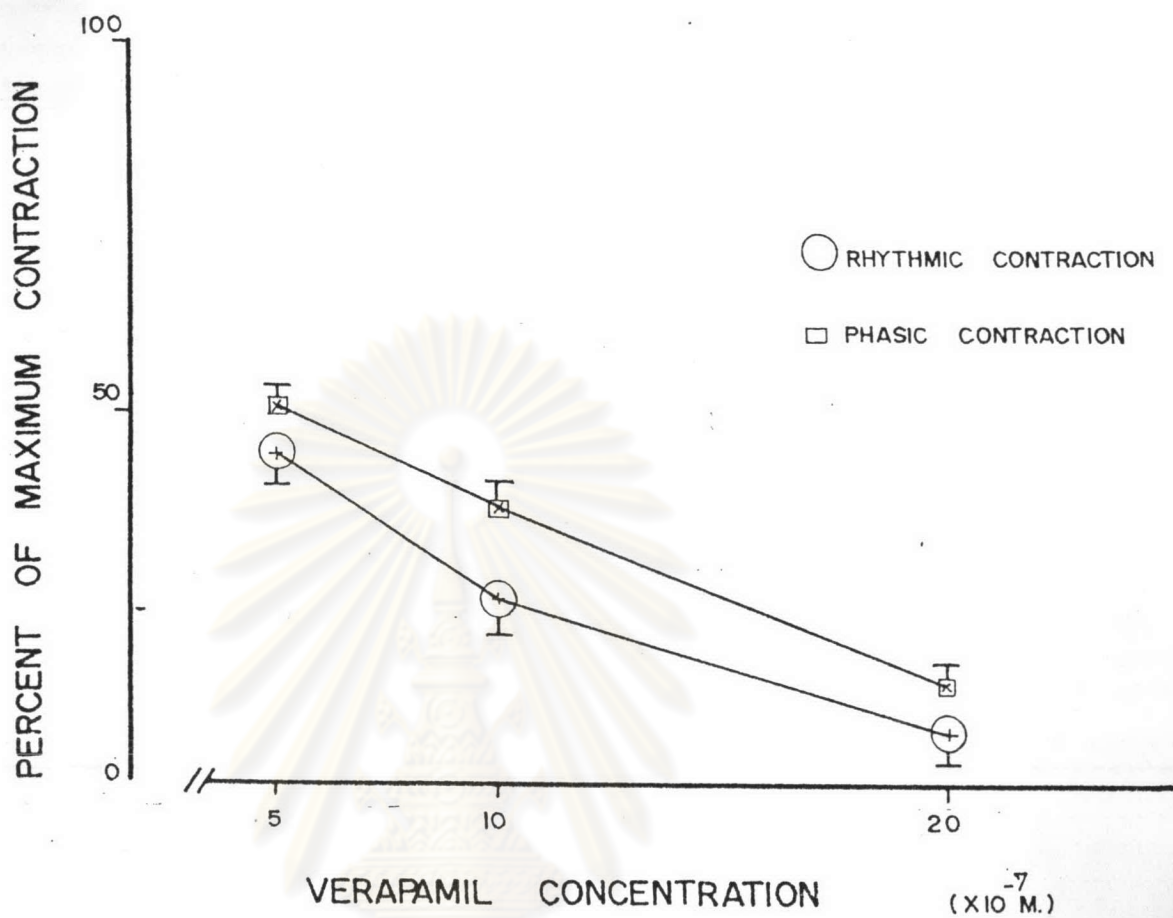


รูปที่ 9





รูปที่ 10 แสดงผลของ  $AC_2$  ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่ออสุจิที่แยกจากหนุขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $NA$   $3 \times 10^{-5}$  M ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 9 แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm SEM$ ,  $n = 6$   
 \*\*\* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ  
 ( $P < 0.001$ )



รูปที่ 11 แสดงผลของ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย NA  $3 \times 10^{-5}$  M ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 9 แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  ,  
 $n = 6$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อทอสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$

การตอบสนองของกล้ามเนื้อทอสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  ขนาดความเข้มข้น 1 mM เกิดการหดเกร็งได้ 2 แบบคือ การหดเกร็งแบบ phasic ซึ่งเกิดอย่างรวดเร็วและลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 1 นาที ตามด้วยการหดเกร็งแบบ rhythmic ซึ่งเกิดอย่างชัดเจน มี frequency และ amplitude สูงกว่า การหดเกร็งแบบ rhythmic ที่กระตุ้นด้วย NA ในหลายการทดลองพบว่าการหดเกร็งของทอสุจิที่กระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  1 mM มีลักษณะการหดเกร็งตัวที่ปรากฏในรูปที่ 14 พบว่ามีลักษณะของการหดเกร็งแบบ phasic ปรากฏเป็นระยะระหว่างการหดเกร็งแบบ rhythmic จึงเป็นการยากที่จะวัดค่าของการหดเกร็งแบบ rhythmic ออกมาได้ ในการทดลองนี้จึงวัดค่าและเปรียบเทียบค่าทางสถิติเฉพาะการหดเกร็งแบบ phasic เท่านั้น ส่วนการหดเกร็งแบบ rhythmic นั้น พิจารณาเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จาก tracing

การศึกษาผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อทอสุจิ เมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  1 mM พบว่า  $AC_2$  และ verapamil มีผลยับยั้งการหดเกร็งแบบ phasic ได้อย่างชัดเจน โดยที่ฤทธิ์ในการยับยั้งขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose dependent) ดังแสดงในรูปที่ 12, 13 และ 15 สำหรับการหดเกร็งแบบ rhythmic นั้น ผลที่ได้ไม่แน่นอน รูปที่ 12 พบว่า  $AC_2$  ในขนาดความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M ไม่มีผลลดทั้ง frequency และ amplitude ของการหดเกร็งแบบ rhythmic ในทางกลับกันกลับมีผลเพิ่ม frequency ได้เล็กน้อย และมีการเพิ่ม amplitude อย่างชัดเจน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น  $1 \times 10^{-4}$  M มีผลลด frequency ได้ชัดเจนโดยที่ amplitude เพิ่มสูงขึ้น

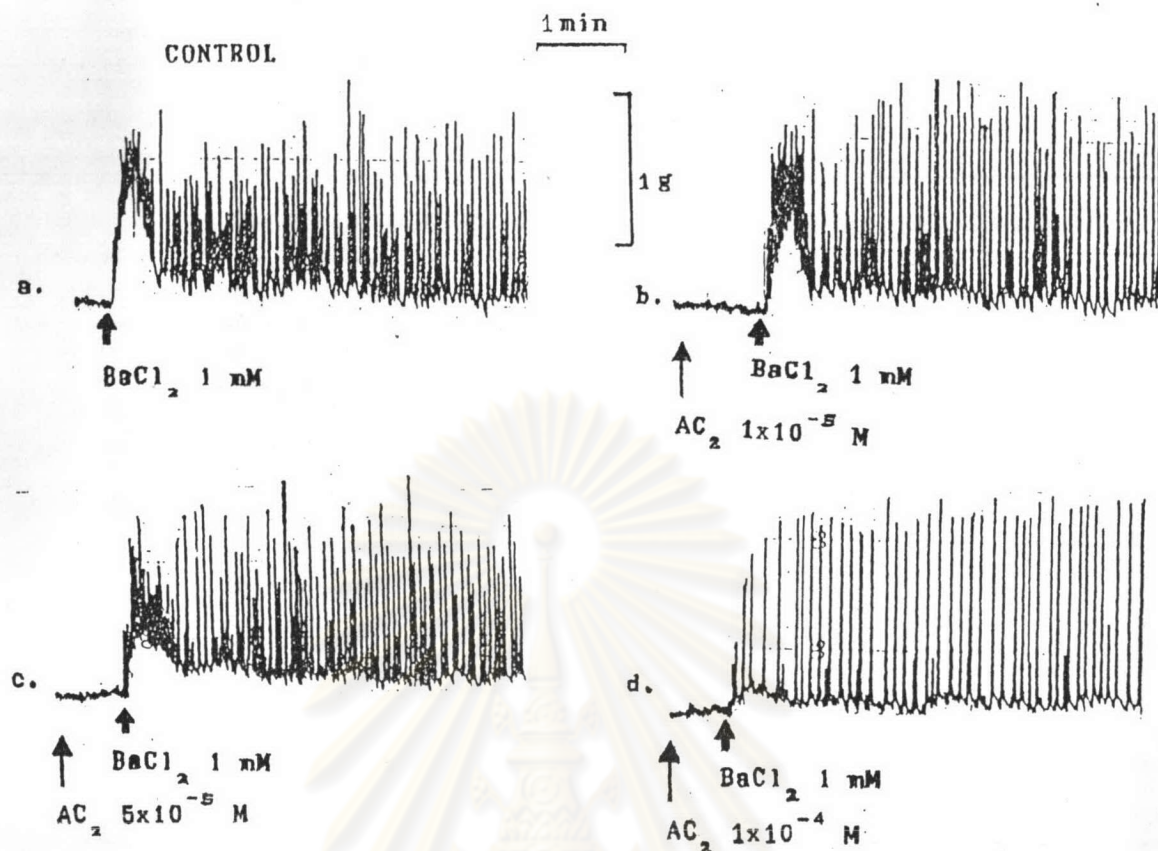
verapamil มีผลยับยั้งการหดเกร็งแบบ phasic ได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 13 พบว่า ในขนาดความเข้มข้น  $5 \times 10^{-6}$  M นั้น verapamil มีผลยับยั้งการหดเกร็งแบบ phasic ได้ทั้งหมด สำหรับผลต่อการหดเกร็งแบบ rhythmic นั้นแตกต่างกันไป โดยพบว่าในขนาดความเข้มข้นต่ำ ( $5 \times 10^{-7}$  M ถึง  $2 \times 10^{-6}$  M) verapamil ไม่มีผลลดการหดเกร็งแบบ rhythmic แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น  $5 \times 10^{-6}$  M

verapamil มีผลลด frequency ได้อย่างชัดเจน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นไปเป็น  $5 \times 10^{-5}$  M พบว่า verapamil มีผลยับยั้งการหดเกร็งได้ทั้งหมด

ในการทดลองที่ใช้ verapamil เป็นตัวยับยั้งการหดเกร็งนี้ พบว่า ในหลาย ๆ ตัวอย่างมีลักษณะของการหดเกร็งแบบ spike เกิดขึ้น ดังแสดงในรูป 13 d, 13 e และ 13 f

ค่า  $ID_{50}$  ของการหดเกร็งแบบ phasic ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  1 mM สำหรับ  $AC_2$  และ verapamil มีค่า  $8.8 \times 10^{-5}$  M และ  $5.20 \times 10^{-7}$  M ตามลำดับ (จากตารางที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า  $AC_2$  มีความแรงน้อยกว่า verapamil ในการยับยั้งการหดเกร็งแบบ phasic เมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  ประมาณ 170 เท่า และจากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบในการลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนสุจิเมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  1 mM ของ  $AC_2$  เหมือนกับ verapamil แต่มีความแรงต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 แสดงผลของ  $\text{AC}_2$  ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM a. เป็น control b., c., และ d. เมื่อให้  $\text{AC}_2$  ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M และ  $1 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับ

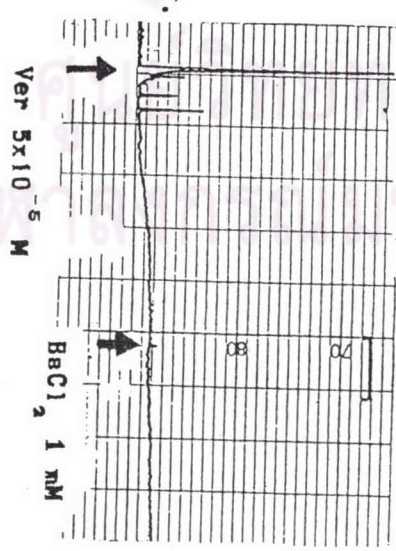
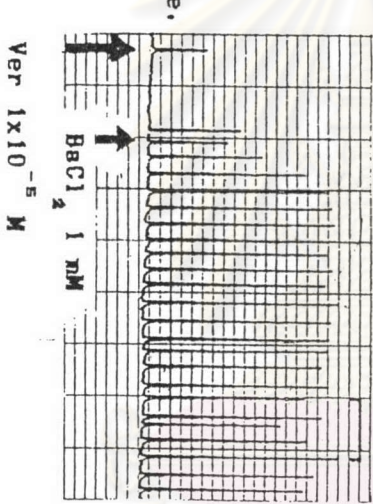
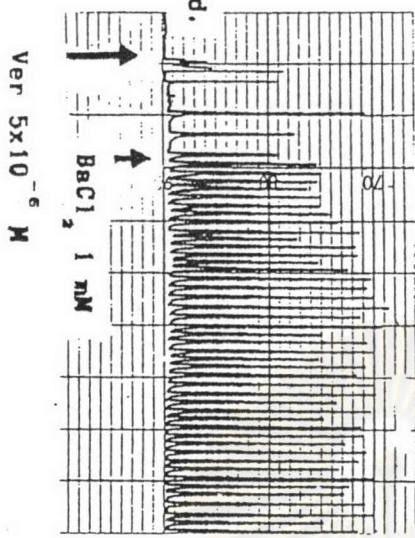
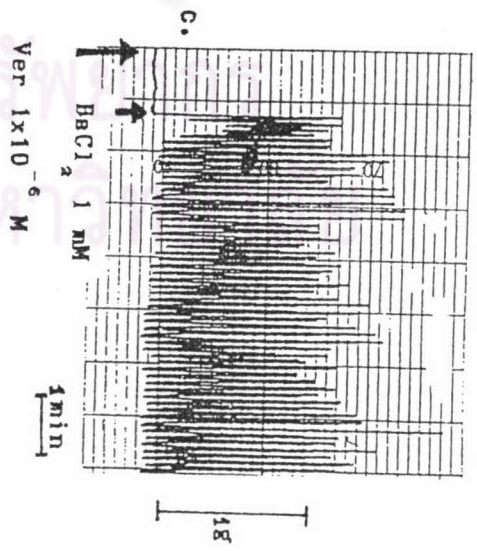
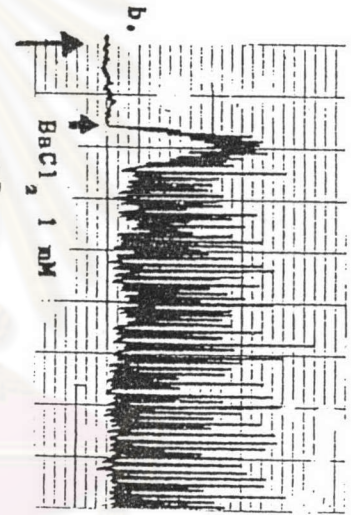
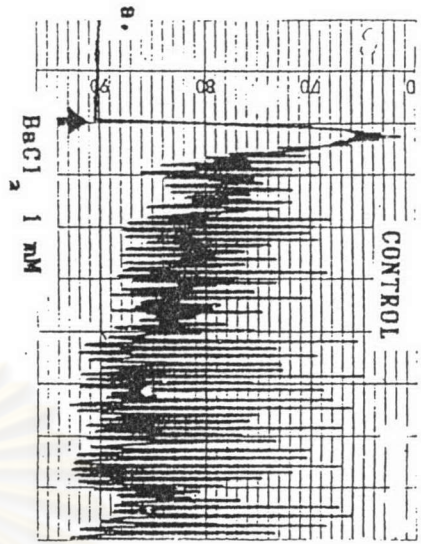
เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

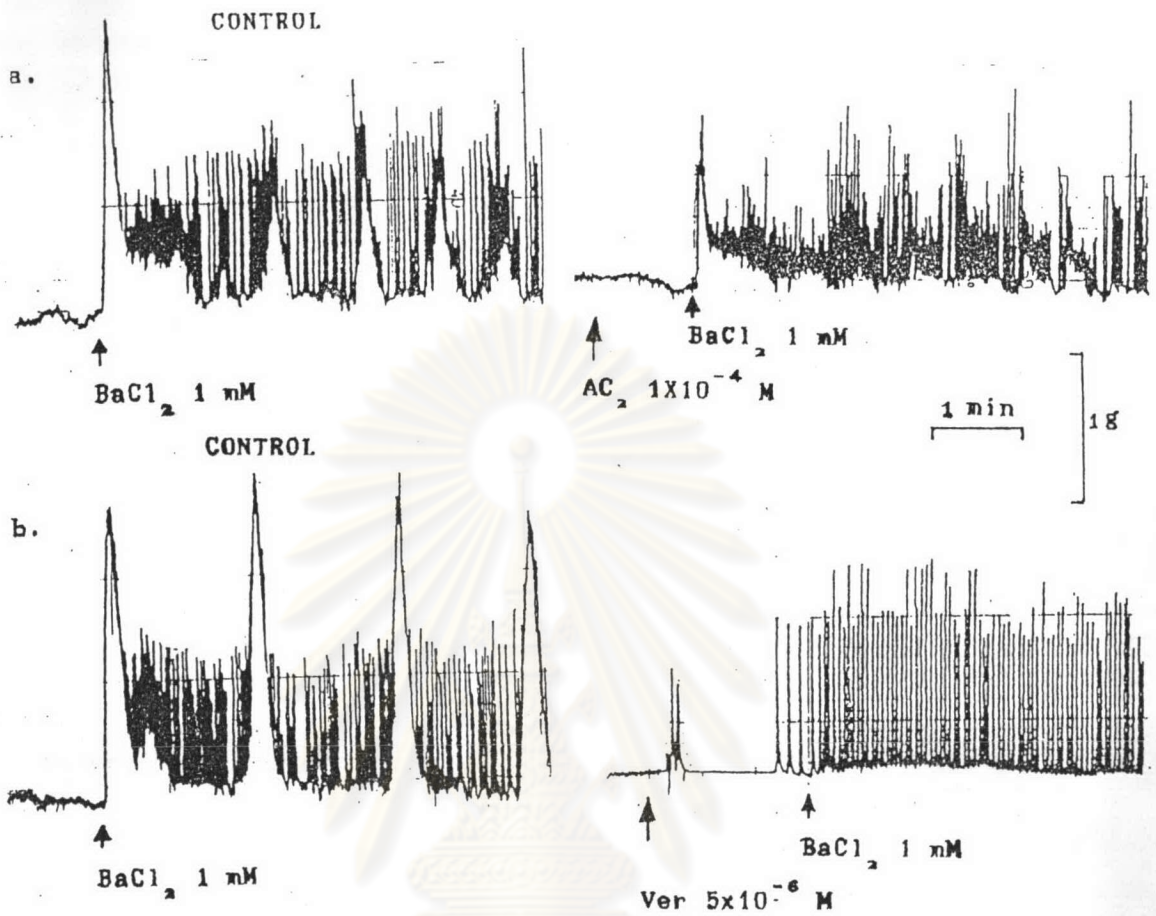
รูปที่ 13 แสดงผลของ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ภาพ a. เป็น control ภาพ b. c., d., e., และ f. เมื่อให้ verapamil  $5 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-6}$  M,  $5 \times 10^{-6}$  M,  $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M ตามลำดับ เส้นในแนวนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



31/11/13



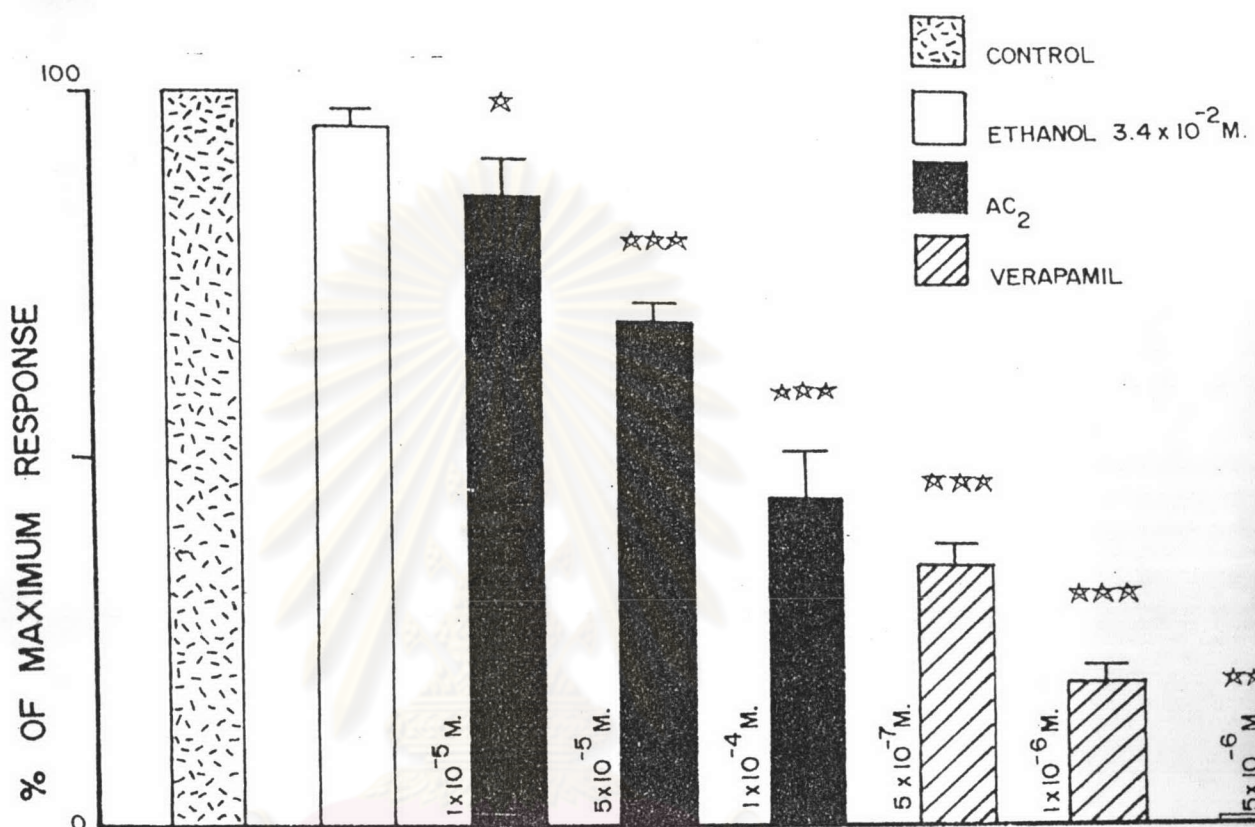
รูปที่ 14 แสดงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจที่แยกจากหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM

a. เมื่อให้  $\text{AC}_2$   $1 \times 10^{-4}$  M

b. เมื่อให้ verapamil  $5 \times 10^{-6}$  M

เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม





รูปที่ 15 แสดงผลของ AC<sub>2</sub>, verapamil และ ethanol ต่อการหดเกร็งแบบ phasic ของกล้ามเนื้อท่อน้ำดีที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl<sub>2</sub> 1 mM ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 12 และ 13 แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ , n = 6

☆ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

(P < 0.05)

☆☆☆ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

(P < 0.001)

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเข้มข้นของ  $AC_2$  และ verapamil ในหน่วยโมลาร์ที่ยับยั้งการหดเกร็งได้ 50% ของการหดเกร็งสูงสุด เมื่อกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นต่าง ๆ ( $ID_{50}$ ) ค่า  $ID_{50}$  นี้คำนวณจากสมการของเส้นถดถอยเชิงเส้นตรง

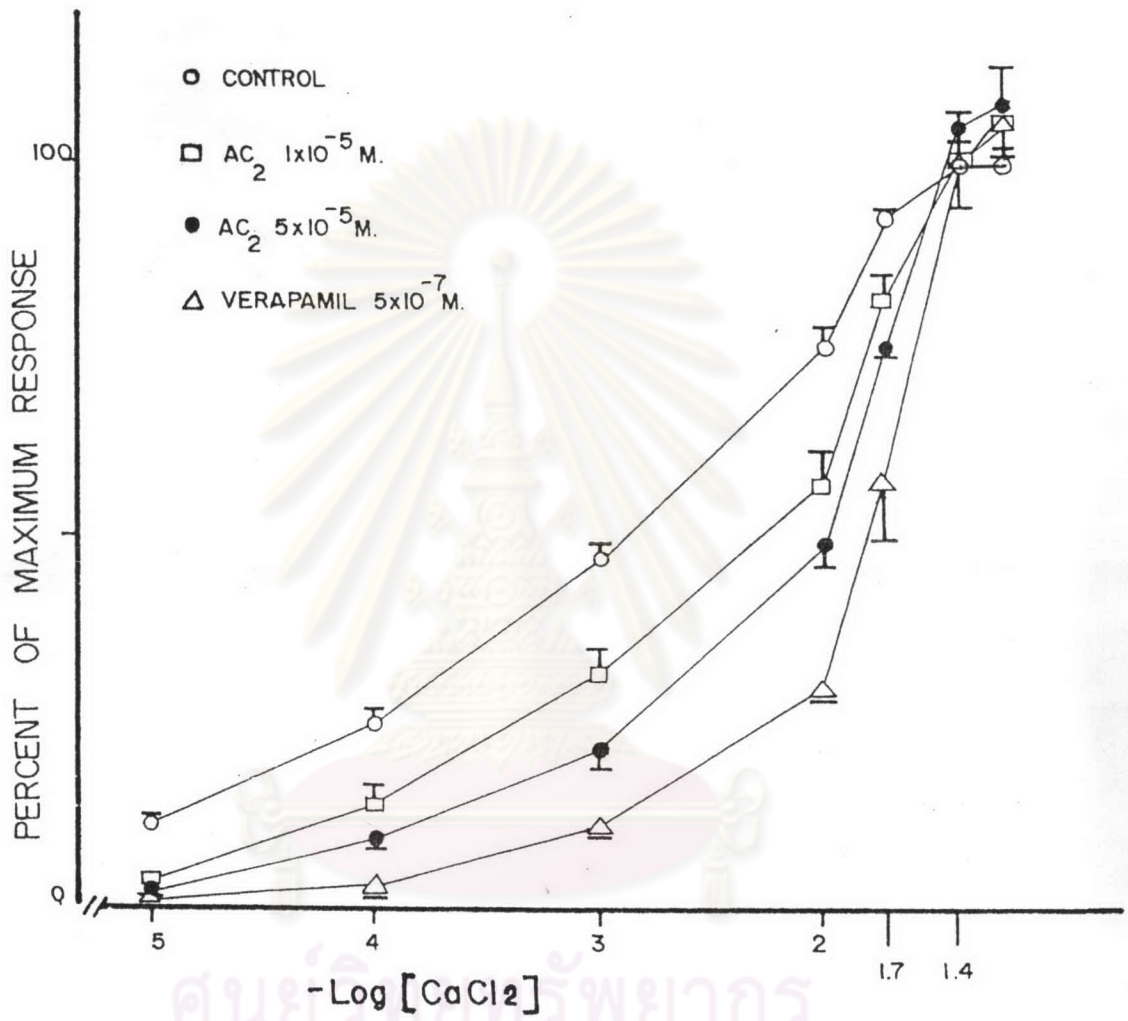
| agonist  | component | $ID_{50}$ (M)         |                       |
|----------|-----------|-----------------------|-----------------------|
|          |           | $AC_2$                | verapamil             |
| KCl      | phasic    | $5.12 \times 10^{-5}$ | $1.20 \times 10^{-6}$ |
|          | tonic     | $9.98 \times 10^{-5}$ | $1.43 \times 10^{-6}$ |
| NA       | phasic    | $6.72 \times 10^{-5}$ | $4.99 \times 10^{-7}$ |
|          | rhythmic  | $4.59 \times 10^{-5}$ | $1.26 \times 10^{-7}$ |
| $BaCl_2$ | phasic    | $8.86 \times 10^{-5}$ | $5.20 \times 10^{-7}$ |

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

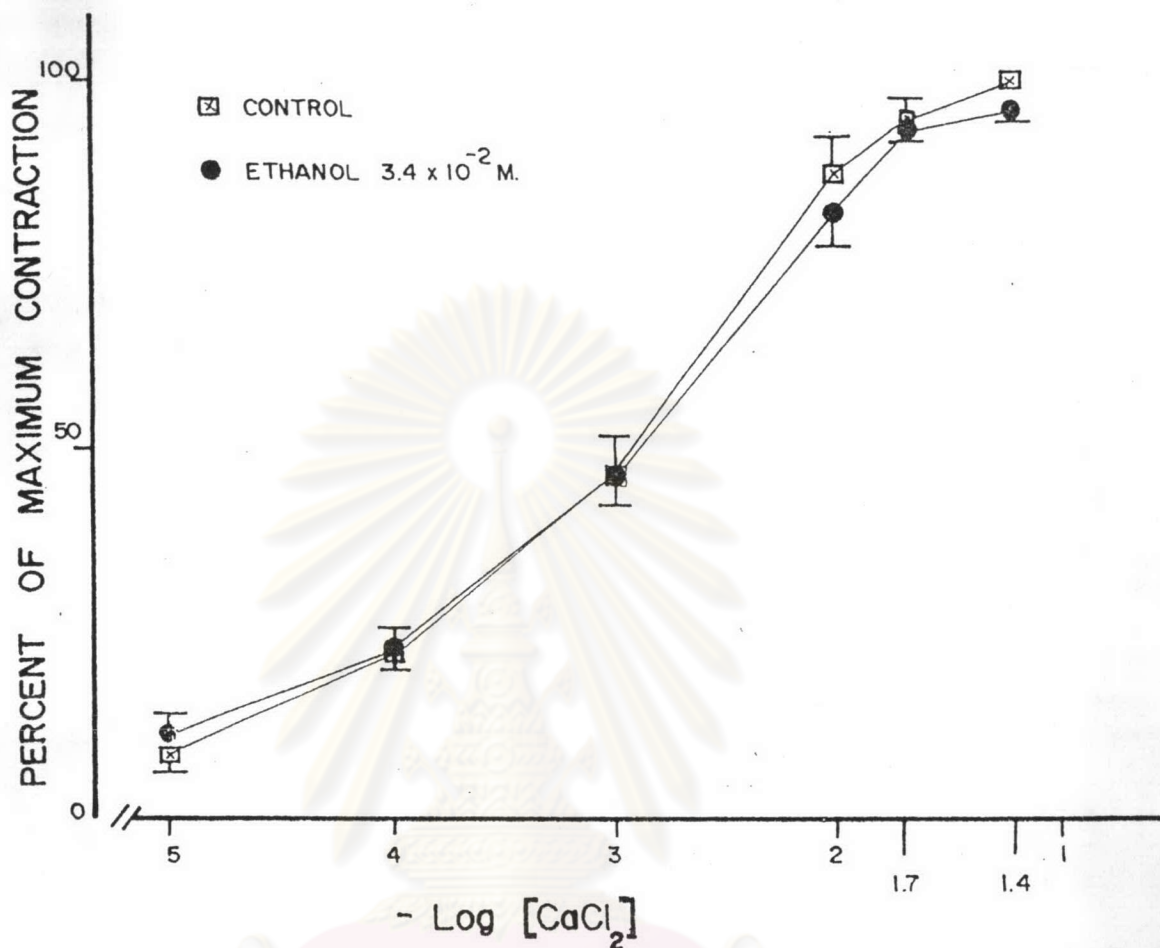
#### 4. ผลของ $AC_2$ และ verapamil ต่อ cumulative dose response curve

ในการทดลองนี้ใช้  $CaCl_2$  เป็นตัวกระตุ้น โดยทำการทดลองในสารละลายที่มี  $K^+$  ในความเข้มข้นสูง ในสภาวะนี้เยื่อหุ้มเซลล์จะถูก depolarized เป็นผลให้ potential operated calcium channel (POC) เปิด เมื่อให้  $CaCl_2$  จึงสามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ และทำให้เกิดการหดเกร็งได้ เมื่อหาค่า cumulative dose-response curve ของ  $CaCl_2$  พบว่า  $CaCl_2$  ในขนาดความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M จะทำให้กล้ามเนื้อเริ่มหดเกร็งได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ  $CaCl_2$  จะทำให้การหดเกร็งของกล้ามเนื้อสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนความเข้มข้น  $6 \times 10^{-2}$  M ( $1 \times 10^{-1.4}$  M) กล้ามเนื้อจะมีการหดเกร็งสูงสุด (maximum contraction)

ในการทดสอบฤทธิ์ของ  $AC_2$  โดยเปรียบเทียบกับสารยับยั้ง verapamil และผลของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำลายสาร  $AC_2$  ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ เมื่อใช้  $CaCl_2$  เป็นสารกระตุ้นนั้นผลการทดลองแสดงด้วยกราฟรูปที่ 16 พบว่า  $AC_2$  มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อออสจิจิที่กระตุ้นด้วย  $CaCl_2$  ได้ โดยที่ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose-dependent) ฤทธิ์การยับยั้งจะเห็นชัดเมื่อใช้  $CaCl_2$  ในความเข้มข้นน้อย ๆ ( $1 \times 10^{-4}$  M ถึง  $1 \times 10^{-2}$  M) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ  $CaCl_2$  ขึ้นไปอีก ( $1 \times 10^{-1.4}$  M) พบว่า  $AC_2$  ในความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M ไม่สามารถยับยั้งการหดเกร็งได้ ค่าเฉลี่ยในการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ  $AC_2$  จะสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดย  $AC_2$  ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M จะทำให้  $CaCl_2$  ขนาด  $1 \times 10^{-1.4}$  M กระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อออสจิจิได้สูงถึงร้อยละ  $101.85 \pm 2.12$  และ  $105.33 \pm 2.26$  ของกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ  $AC_2$  เช่นนี้จะเป็นแบบ competitive antagonism รูปที่ 16 แสดงถึงผลเปรียบเทียบกับ verapamil ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-7}$  M พบว่า verapamil ให้ผลการยับยั้งการหดเกร็งเป็นแบบ competitive antagonism เช่นเดียวกัน จากข้อมูลได้นำไปคำนวณค่า  $PA_2$  ของ  $AC_2$  ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M และ  $5 \times 10^{-5}$  M มีค่าเท่ากับ  $5.28 \pm 0.11$  และ  $5.11 \pm 0.17$  ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วน  $PA_2$  ของ verapamil ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-7}$  M มีค่า  $7.58 \pm 0.08$  สำหรับผลของ ethanol ที่ใช้เป็นตัวทำลายสาร  $AC_2$  ขนาด  $3.4 \times 10^{-2}$  M นั้น พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อออสจิจิดังแสดงในรูปที่ 17



รูปที่ 16 แสดงผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อ cumulative dose-response curve ของ  $CaCl_2$  ที่กระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิที่แยกจากหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm SEM$  ,  $n = 5$



รูปที่ 17 แสดงผลของ ethanol  $3.4 \times 10^{-2}$  M ต่อ cumulative dose-response curve ของ  $\text{CaCl}_2$  ที่กระตุ้นการหดเกร็งของท่ออสุจิที่แยกจากหนูขาวแต่ละจุดในกราฟแสดงค่า  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ,  $n = 5$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิเมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  ในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียม

กล้ามเนื้อท่อนอสุจิของหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียม จะเกิดการหดเกร็งแบบ phasic เพียงอย่างเดียว และกล้ามเนื้อจะกลับเข้าสู่สภาพเดิมเหมือนก่อนการกระตุ้น และการหดเกร็งแบบ phasic ที่เกิดขึ้นนี้จะเกิดเพียงร้อยละ 30 ของการหดเกร็งที่กระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  (1 mM) ในสารละลาย Krebs Henseleis (มีแคลเซียม 2.5 mM) ดังแสดงในรูปที่ 17 พบว่า เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียมไปครั้งหนึ่งแล้ว (รูป 17 b) เมื่อดำและ incubate กล้ามเนื้อในสารละลาย Krebs Henseleit นาน 30 นาที แล้วกระตุ้นกล้ามเนื้อในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียมเช่นเดิมซ้ำอีกครั้งหนึ่ง (รูป 17 c) พบว่า การหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างจากการกระตุ้นครั้งแรก และเมื่อดำกล้ามเนื้อแล้วกระตุ้นกล้ามเนื้อ ในสารละลาย Krebs Henseleit อีก (รูป 17 d) พบว่าการหดเกร็งจะกลับคืนมาเช่นเดียวกับการกระตุ้นครั้งแรก (รูป 17 a)

ในการทดสอบผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของท่อนอสุจิที่กระตุ้นด้วย  $BaCl_2$  (1 mM) ในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียมได้ผลแสดงในรูปที่ 18 และ 19 พบว่า ทั้ง  $AC_2$  ( $5 \times 10^{-5}$  M) และ verapamil ( $5 \times 10^{-7}$  M) สามารถยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิได้อย่างชัดเจน โดยการหดเกร็งของกล้ามเนื้อจะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) verapamil ขนาดความเข้มข้น  $5 \times 10^{-7}$  M สามารถลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้มากกว่า  $AC_2$  ขนาดความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M (กราฟรูปที่ 20)

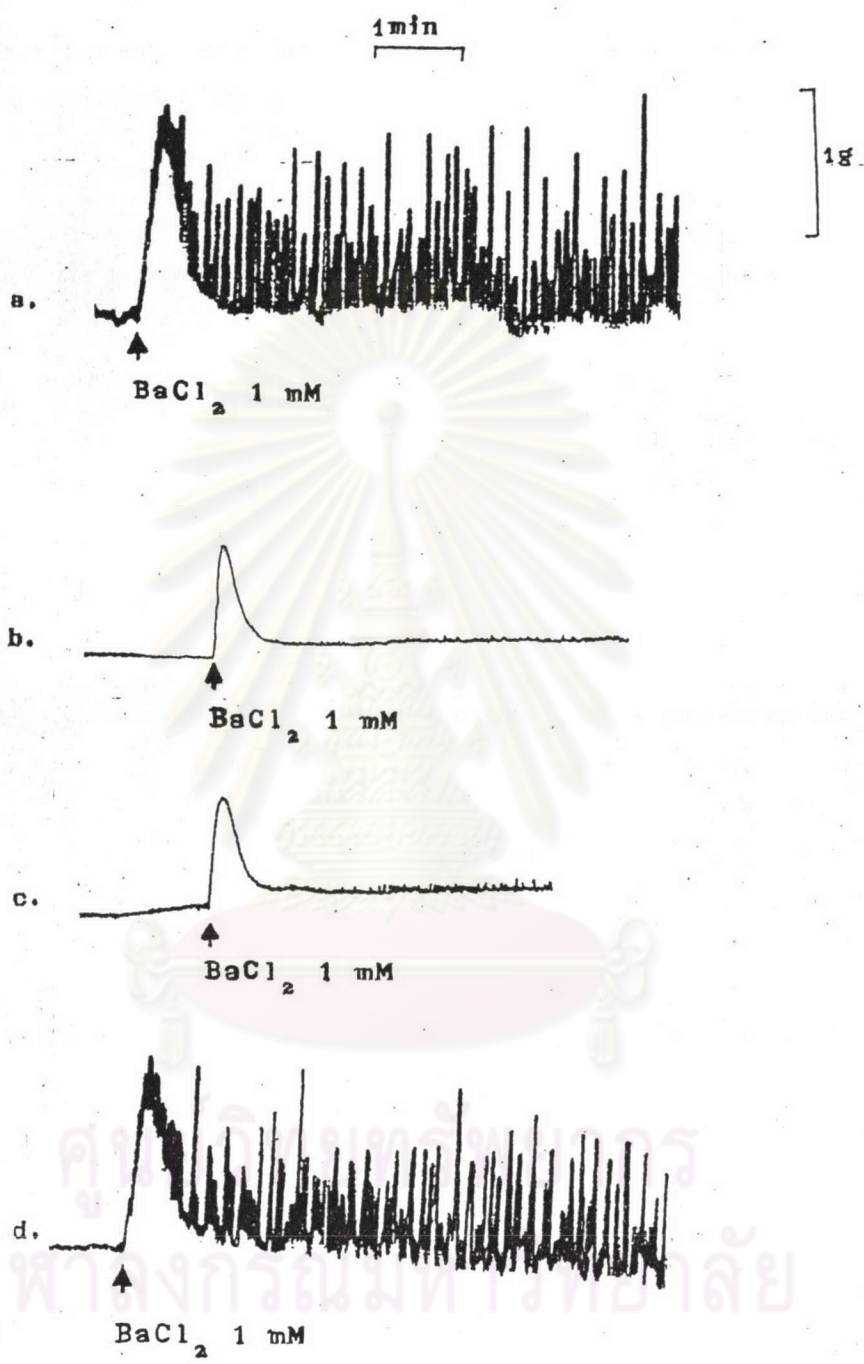
รูปที่ 18

แสดงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่ออกสัจจ เมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ตามลำดับดังนี้

- a. กระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit
- b. กระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียม
- c. กระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียม หลังจากล้างและ incubate ในสารละลาย Krebs Henseleit นาน 30 นาที
- d. กระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit

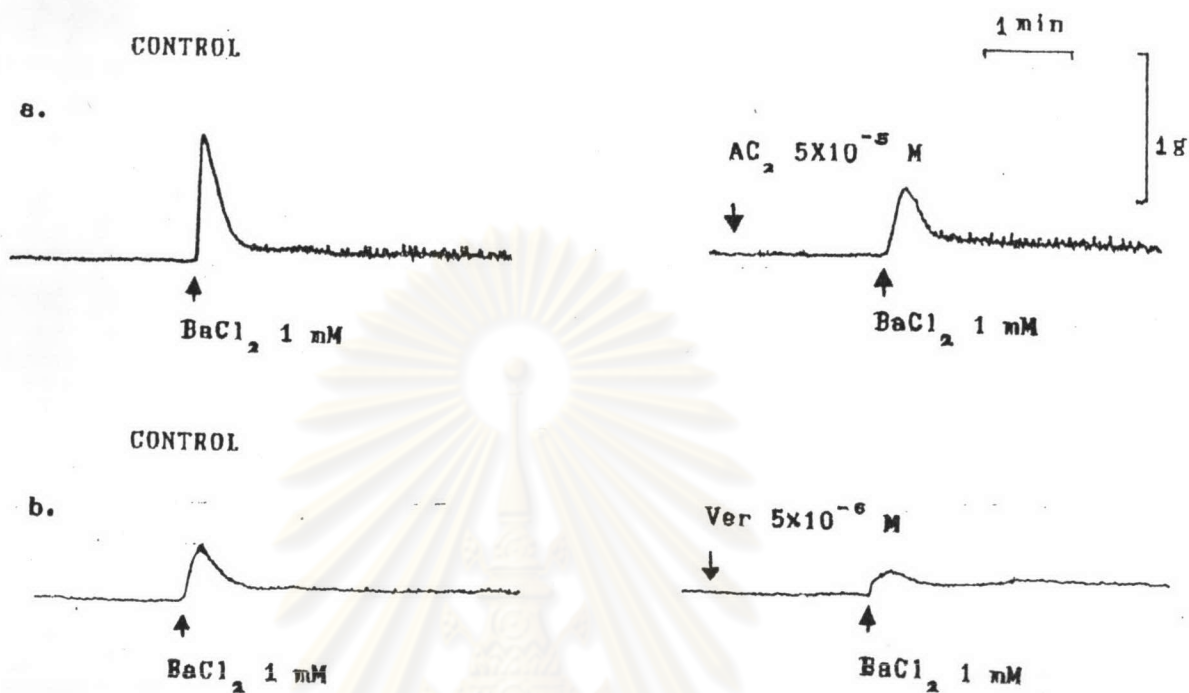
เส้นในแนวนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



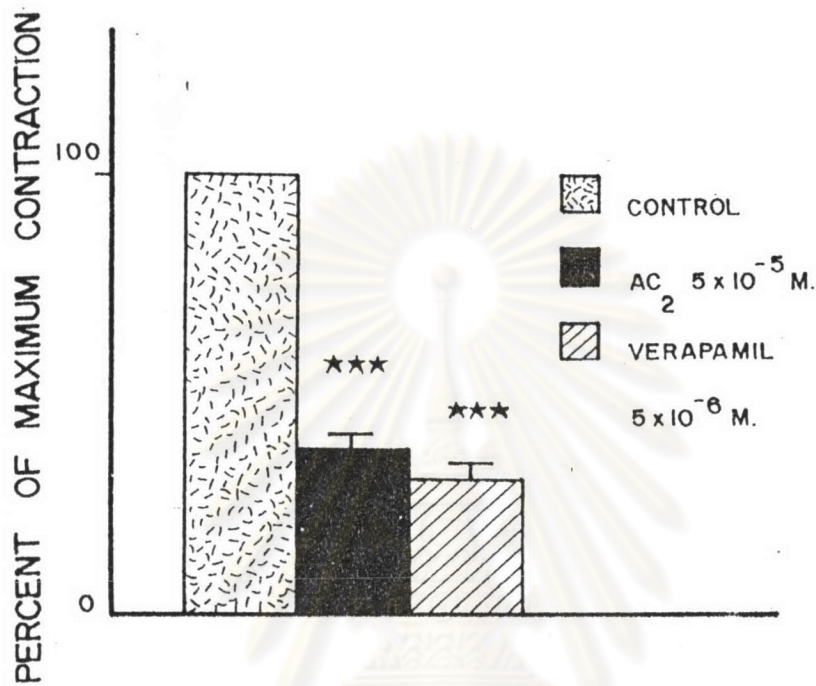
รูปที่ 18





รูปที่ 19 แสดงผลของ  $\text{AC}_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อทอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{BaCl}_2$  1 mM ในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียม (มี EGTA 0.1 mM) เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม

ศูนย์ศึกษาคหวิทยาการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 20 แสดงผลของ AC<sub>2</sub> และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อทอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl<sub>2</sub> 1 mM ในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียม ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 19 กราฟแต่ละแท่งแสดงค่า  $\bar{x} \pm$  SEM, n = 6

★★ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.001)

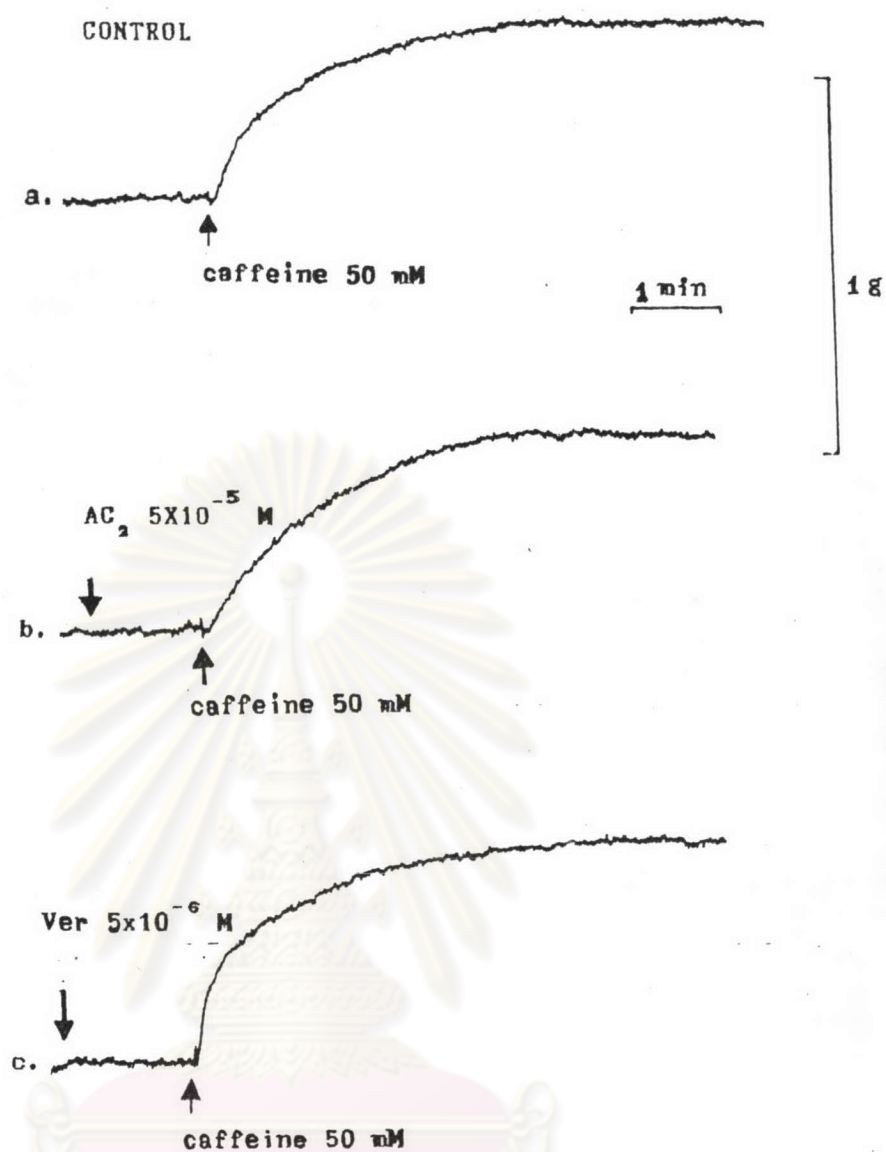
ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ผลของ  $AC_2$  และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิเมื่อใช้ caffeine เป็นตัวกระตุ้น

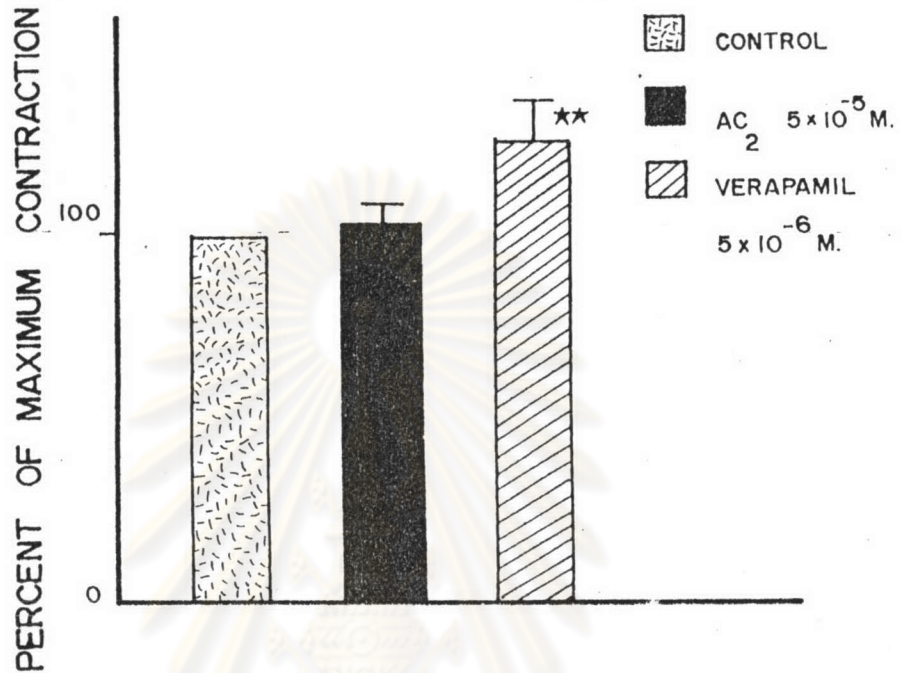
ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของ  $AC_2$  ต่อการหลังแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ ดังนั้นจึงทำการทดลองในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียมเมื่อกล้ามเนื้อท่อนอสุจิถูกกระตุ้นด้วย caffeine ในขนาดความเข้มข้น 50 mM พบว่า ความตึงตัวหรือ tone ของกล้ามเนื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนถึงจุดสูงสุดภายในเวลา 5 นาที และความตึงตัวของกล้ามเนื้อจะคงที่จนกระทั่งล้างตัวกระตุ้นออกไป ดังแสดงในรูปที่ 21

ผลของ  $AC_2$  ( $5 \times 10^{-5}$  M) และ verapamil ( $5 \times 10^{-6}$  M) ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิเมื่อกระตุ้นด้วย caffeine แสดงในรูปที่ 22 พบว่า  $AC_2$  และ verapamil ไม่สามารถลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้ ในทางตรงกันข้าม  $AC_2$  ในบางการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้ และค่าเฉลี่ยของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อมีค่าร้อยละ  $103.75 \pm 5.74$  ของกลุ่มควบคุม สำหรับ verapamil สามารถเพิ่มการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ และค่าเฉลี่ยของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นร้อยละ  $126.31 \pm 8.30$  ของกลุ่มควบคุม และมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.025$ )

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21 แสดงผลของ AC<sub>2</sub> และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่ออกสู่ใจที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ภาพ a. แสดงค่า control b. และ c. เมื่อให้ AC<sub>2</sub> 5 × 10<sup>-5</sup> M และ verapamil 5 × 10<sup>-6</sup> M ตามลำดับ  
เส้นในแนวอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเป็นกรัม



รูปที่ 22 แสดงผลของ AC<sub>2</sub> และ verapamil ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่อนอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ตามการทดลองที่แสดงในรูปที่ 21 กราฟแต่ละแท่งแสดงค่า  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ , n = 6

★ ★ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.025)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย