บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ในการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือด จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ที่เพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์นี้อาจเกิดได้จาก

1. การเกิดสภาวะ depolarization ซึ่งอาจเกิดจาก

   1.1 การให้ outward current หรือ

   1.2 โดยการให้สารละลายที่มีโปแตสเซียมสูง (high K^+-depolarizing solution) หรือได้รับสารละลายที่มีส่วนประกอบเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ (variation of bathing solution composition)

2. การที่ตัวกระตุ้น (agonist) จับกับตัวรับ (receptors) ที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด แล้วส่งผลให้

   2.1 Receptor operated calcium channels (ROC) เปิดออก เกิดการเคลื่อนของ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ เข้าสู่ภายในเซลล์

   2.2 เกิดการกระตุ้นแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ ทำให้ Ca^{2+} ถูกปลดปล่อยออกมาภายในเซลล์

จากสาเหตุ 2 ประการข้างต้น ทำให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดเพิ่มขึ้นและส่งผลให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว [Bolton, 1979a; Karaki และคณะ, 1988]

ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการกระตุ้นให้หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไตที่แยกจากสุกรหดตัว โดยให้สารกระตุ้นที่สามารถจับกับ receptor อันได้แก่ NE, Ach, 5-HT และ histamine, ให้ $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing และให้ $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^- - free Krebs Henseleit ซึ่งสามารถอธิบายผลที่เกิดขึ้นและผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจอันเกิดจากการกระตุ้นชนิดต่าง ๆ ได้ดังต่อไปนี้

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับการกระตุ้นโดย NE

เมื่อให้ NE แบบสะสมแก่หลอดเลือดไตจะทำให้หลอดเลือดไตตอบสนองโดยการหดตัว ซึ่งการหดตัวนี้จะเพิ่มมากขึ้นตามขนาดของ NE ที่ให้ ผลที่เกิดขึ้นนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมาคือ NE ทำให้หลอดเลือดไตเกิดการหดตัว [อรชร อิงคานุวัฒน์, 2535; Ferguson, Johnson, และ Price, 1985] นอกจากนี้หลอดเลือดอื่น ๆ เช่น หลอดเลือดแดงใหญ่ช่วงอก (thoracic aorta) ของหนูขาว [Chiu, McCall, and Timmermans, 1986; Chiu, McCall Thoolen และคณะ; 1986; Scarborough และ Carrier, 1984] และหลอดเลือดแดงใหญ่ช่วงอกของกระต่าย [Hudgins และ Weiss, 1968] ก็ตอบสนองต่อ NE โดยการหดตัวเช่นกัน แต่ที่หลอดเลือดหัวใจ (coronary artery) ของสุกรจะตอบสนองต่อ NE โดยการคลายตัว [Bayer, Mentz และ Foster, 1974] การที่หลอดเลือดบริเวณต่าง ๆ ตอบสนองต่อการกระตุ้นโดย NE ได้ต่างกันนั้น เนื่องจากหลอดเลือดแต่ละบริเวณของร่างกายมีปริมาณและชนิดของ adrenergic receptors กระจายอยู่แตกต่างกัน จากข้อมูลที่เชื่อกันในปัจจุบันนี้ สามารถแบ่ง adrenergic receptors ออกได้เป็น 2 ชนิด คือ α-adrenergic receptor และ β-adrenergic receptor และ α-adrenergic receptor ยังแบ่งออกเป็น α_1- และ α_2- subtype ส่วน β-adrenergic receptor แบ่งออกเป็น β_1- และ β_2-subtype [Lefkowitz, Hoffman, and Taylor, 1990] โดยจะพบ α_1-adrenergic receptor ที่หลอดเลือดที่ผิวหนัง [Lee and Stitzel, 1994], หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว [Chiu, McCall, Thoolen, และคณะ 1986], และหลอดเลือดที่ไต (สุกร) [Ferguson และคณะ, 1985] การกระตุ้น α_1-adrenergic receptor โดย NE จะส่งผลให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว [Lee และคณะ, 1994] ส่วน β_2-adrenergic receptor พบได้ที่

หลอดเลือดหัวใจ การกระตุ้น β_2-adrenergic receptor โดย NE จะส่งผลให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว [Bayer และคณะ, 1974] จากผลการทดลองที่ได้ NE ทำให้หลอดเลือดที่แยกจากไตของสุกรเกิดการหดตัว สามารถอธิบายได้คือ NE น่าจะออกฤทธิ์โดยจับและกระตุ้น α_1-adrenergic receptor ที่เซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดไต เพราะการกระตุ้นหลอดเลือดไตให้หดตัวโดย NE สามารถถูกยับยั้งได้โดย prazosin [Ferguson และคณะ, 1985] โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลคือ เมื่อ α_1-adrenergic receptor ซึ่ง couple อยู่กับ G-protein และ phospholipase C (PLC) ตามลำดับ ถูกกระตุ้น (โดย NE) จะส่งผลให้เกิดการกระตุ้น PLC โดยผ่าน G-portein และ PLC จะ hydrolyze phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate (PIP_2) ได้ second messenger 2 ตัวคือ diacylglycerol (DAG) และ inositol-1,4,5-trisphosphate (IP_3) ซึ่ง IP_3 นี้จะไปกระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ IP_3 สามารถถูก phosphorylated เกิดเป็น inositol-1,3,4,5-tetrabisphosphate (IP_4) ซึ่งจะไปกระตุ้นให้ Ca^{2+} channels ที่เยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดเปิดออก ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด [Lee และคณะ, 1994; Lefkowitz และคณะ, 1990; Wingard และคณะ 1991] ซึ่งจากการศึกษาโดยให้ NE กระตุ้นที่หลอดเลือดแดงใหญ่ช่วงอกของหนูขาว [Chiu, McCall, Thollen และคณะ, 1986; Peter และคณะ, 1988; Scarborough และคณะ, 1984], หลอดเลือดแดงใหญ่ช่วงอกของกระต่าย [Hudgins และคณะ, 1968] และหลอดเลือดแดงที่ไตของกระต่าย [Hester, 1989] ให้เกิดการหดตัว พบว่าต้องใช้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ด้วย จากที่กล่าวมาทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า NE ทำให้หลอดเลือดไตที่แยกจากสุกรหดตัวได้ โดยกระตุ้นที่ α_1-adrenoceptor และจากผลการทดลอง terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดไตได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบ noncompetitive antagonism ดังแสดงในรูปที่ 9 ซึ่งการที่ terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดไต เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย NE ได้นั้น น่าจะเกิดจากการที่ terfenadine ออกฤทธิ์ต่อขบวนการหดตัวขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือหลายขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อได้รับการกระตุ้นโดย 5-HT

เมื่อให้ 5-HT แบบสะสมแก่หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจ จะทำให้หลอดเลือดทั้งสองชนิดตอบสนองโดยการหดตัว ซึ่งการหดตัวนี้จะเพิ่มมากขึ้นตามขนาดของ 5-HT ที่ให้ และผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมาคือ 5-HT ทำให้หลอดเลือดแดงที่ไตของสุกร [Ferguson และคณะ, 1985], หลอดเลือดแดงที่ไตของกระต่าย [Hester, 1989], หลอดเหลือหัวใจของสุกร [Cushing และ Cohen, 1992; Cushing และ Cohen, 1993], หลอดเลือหัวใจของมนุษย์ [Connor, Feniuk, และHumphrey,1989; Kaumann และคณะ, 1994] เกิดการหดตัว นอกจากนี้จากการศึกษาของ Hester [1989] และ Ratz และ Flam [1985] พบว่า ในการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกจากไต, หลอดเลือดแดงช่วงอกของกระต่ายและหลอดเลือดหัวใจของวัว ที่ได้รับการกระตุ้นโดย 5-HT ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เป็นองค์ประกอบหนึ่งด้วย ในขณะนี้เป็นที่ยอมรับกันดีว่า 5-HT สามารถแสดงฤทธิ์ได้โดยจับกับ 5-HT receptor ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดใหญ่ ๆ คือ 5-HT_1, 5-HT_2, 5-HT_3, และ 5-HT_4-receptor โดย serotonin receptors แต่ละชนิดจะมีการกระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ และมีบทบาทในการให้ผลตอบสนองที่แตกต่างกันไป สำหรับที่หลอดเลือดจะพบทั้ง 5-HT_1 และ 5-HT_2 -receptor ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของหลอดเลือด [Gothert และ Schlicker, 1987; Hoyer และคณะ, 1994] โดยจะพบ 5-HT_2 receptor ที่หลอดเลือดหัวใจของมนุษย์, หลอดเลือดหัวใจของสุกร, หลอดเลือดแดงช่วงอกของกระต่าย, และหลอดเลือดไตของสุกร [อรชร อิงคานุวัฒน์, 2535; Christie, Harper, และ Smith, 1992; Cushing และคณะ, 1993; Kaumann และคณะ, 1994] การกระตุ้นที่ 5-HT_2 receptor จะทำให้หลอดเลือดดังกล่าวนี้เกิดการหดตัว [Hoyer และคณะ 1994; Zifa และ Fillion, 1992] พบ 5-HT_1 receptor ที่หลอดเลือดดำบริเวณขาของสุนัขและแมว ซึ่งการกระตุ้น 5-HT_1 receptor จะทำให้หลอดเลือดดำบริเวณขาของสุนัขเกิดการหดตัว แต่หลอดเลือดดำบริเวณขาของแมวจะเกิดการคลายตัว [Gothert และคณะ, 1987] จะเห็นได้ว่า ผลของ 5-HT ต่อหลอดเลือดนั้นจะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของหลอดเลือดและสัตว์ทดลอง นอกเหนือจากการที่ 5-HT ทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยกระตุ้นที่ 5-HT_2 receptor แล้ว 5-HT ยังสามารถทำให้หลอดเลือดหดตัวได้โดยกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง NE จากปลายประสาท adrenergic (adrenergic nerve terminal) และ/หรือ

กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง endothelium-derived constricting factor (EDCF) จากเยื่อบุผิวหลอดเลือด ซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว [Vanhoutte, 1987] ดังนั้น จากการศึกษาในครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่า 5-HT ทำให้หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจหดตัวโดยกลไกดังกล่าวข้างต้น และออกฤทธิ์โดยกระตุ้นที่ 5-HT_2 receptor เพราะจากการศึกษาของ อรชร อิงคานุวัฒน์ [2535] และ Cushing และคณะ [1992] แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจของสุกรอันเกิดจาก 5-HT สามารถถูกยับยั้งได้โดย ketanserine ซึ่งการกระตุ้นที่ 5-HT_2 receptor นี้ ทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยผ่านการกระตุ้น PLC ซึ่ง couple อยู่กับ 5-HT_2 receptor และก่อให้เกิด IP_3 ส่งผลทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นนี้นอกจากจะเกิดจากกระบวนการดังกล่าวแล้วยังเกิดจาก Ca^{2+} ภายนอกเคลื่อนที่ผ่าน ROC ด้วย [Hoyer และคณะ 1994] จากผลการทดลอง terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจของสุกรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบ noncompetitive antagonism ซึ่งการยับยั้งนี้อาจเกิดขึ้นที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดหรือเกิดต่อหลายขั้นตอนก็ได้

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อได้รับการกระตุ้นโดย Ach

เมื่อให้ Ach แบบสะสมแก่หลอดเลือดหัวใจ จะทำให้หลอดเลือดตอบสนองโดยการหดตัว ซึ่งการหดตัวนี้จะเพิ่มขึ้นตามขนาดของ Ach ที่เพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาคือ Ach ทำให้หลอดเลือดหัวใจของสุกรหดตัว [อรชร อิงคานุวัฒน์, 2535; Katsuyama และคณะ, 1991; Smith, 1950], Ach ทำให้หลอดเลือดหัวใจของมนุษย์หดตัว [Smith, 1950; Toda, 1983] และ Ach ทำให้หลอดเลือดหัวใจของวัวหดตัว [Ratz และคณะ, 1985] นอกจากนี้ยังพบว่าในการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจอันเกิดจากการกระตุ้นโดย Ach ดังกล่าว ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เป็นองค์ประกอบหนึ่งด้วย [Katsuyama และคณะ 1991; Richelson และ EL-Fakahany, 1981] Ach ออกฤทธิ์ได้ โดยกระตุ้นที่ cholinergic receptors อันได้แก่ nicotinic และ muscarinic receptor โดย receptor ที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจนี้ได้แก่ muscarinic receptor เพราะการหดตัวของหลอดเลือดอันเกิดจาก Ach สามารถถูกยับยั้งได้โดย atropine [อรชร อิงคานุวัฒน์, 2535; Furchgott, 1955]

ปัจจุบันสามารถแบ่ง muscarinic receptor ออกได้เป็น 5 subtype ได้แก่ M_1, M_2, M_3, M_4 และ M_5 suptype โดย M_1-subtype จะพบที่เซลล์ประสาท, M_2-suptype พบที่หัวใจและ cerebellum, M_3-subtype พบที่กล้ามเนื้อเรียบและต่อมต่าง ๆ, M_4 และ M_5-subtype พบที่สมองของหนูขาว [Richards, 1991] สำหรับ muscarinic M_2 และ M_4 receptor จะควบคู่ (coupled) อยู่กับ G-protein ชนิดที่ไวต่อ pertussis toxin นั่นคือ การ กระตุ้นที่ M_2 และ M_4 receptor จะส่งผลให้เกิดการยับยั้ง adenylyl cyclase ส่วน muscarinic M_1, M_3, และ M_5 receptor จะควบคู่อยู่กับ G-protein ชนิดที่ไม่ไวต่อ pertussis toxin นั่นคือ การกระตุ้นที่ M_1, M_3 และ M_5 จะทำให้เกิดการกระตุ้น PLC เกิดการ hydrolyze PIP_2 ส่งผลให้เกิด IP_3 เพิ่มขึ้น [Eglen และคณะ, 1994; Hoover, 1994; Wess, 1993] ดังนั้นการที่ Ach สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้ เกิดจากกลไกคือ Ach ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ ทาง ROC และทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ (โดยผ่านทาง IP_3) [Bolton, 1979b; Eglen และคณะ, 1994; Harden และคณะ, 1986] จากผลการทดลองที่ได้อาจกล่าวได้ว่า Ach ทำให้หลอดเลือดหัวใจเกิดการหดตัว โดยกระตุ้นที่ muscarinic receptor ซึ่งน่าจะเป็น M_3-subtype และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลในลักษณะดังกล่าวข้างต้น เมื่อได้รับ terfenadine จะทำให้หลอดเลือดหัวใจมีการหดตัวได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจโดย terfenadine นี้เป็นแบบ noncompetitive antagonism โดยการยับยั้งนี้น่าจะเกิดจาก terfenadine ไปออกฤทธิ์ยับยั้งกลไกใดกลไกหนึ่งหรือหลายกลไกของกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดดังกล่าวข้างต้น

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อได้รับการกระตุ้นโดย histamine

เมื่อให้ histamine แบบสะสมแก่หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไต จะทำให้หลอดเลือดตอบสนองโดยการหดตัว ซึ่งการหดตัวนี้จะเพิ่มขึ้นตามขนาดของ histamine ที่เพิ่มขึ้น ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา คือ histamine ทำให้หลอด

เลือดหัวใจของสุกรเกิดการหดตัว [Aoki และคณะ,1994; Hirano และคณะ, 1991; Obi, Mitsumoto, และ Nishio, 1991], ทำให้หลอดเลือดหัวใจของมนุษย์เกิดการหดตัว [Smith, 1950], และทำให้หลอดเลือดแดงช่วงอกและหลอดเลือดที่ไตของกระต่ายเกิดการหดตัว [Hester, 1989] นอกจากนี้ยังพบว่าในการหดตัวของหลอดเลือดดังกล่าวอันเกิดจากการกระตุ้นโดย histamine ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เป็นองค์ประกอบหนึ่งด้วย [Aoki และคณะ; 1994; Hester, 1989; Hirano และคณะ, 1991; Mori, Yanakisawa, และ Taira, 1990] histamine สามารถแสดงฤทธิ์ได้โดยจับกับ histamine receptors ซึ่งในปัจจุบันสามารถแบ่ง histamine receptors ออกเป็น 3 ชนิด คือ H_1, H_2, และ H_3-receptor โดยจะพบ H_1-receptor ที่หลอดเลือด, หลอดลมและลำไส้เล็ก ส่วน ilium [Dyke, 1982; Mori และคณะ, 1990] พบ H_2-receptor ที่กล้ามเนื้อหัวใจ, กระเพาะอาหาร (เกี่ยวข้องกับการหลั่งกรด), และมดลูก [Dyke, 1982] ส่วน H_3-receptor จะพบที่presynaptic ในสมองของหนูขาว [Mitsuhashi และ Payan, 1989] การกระตุ้น H_1-receptor (โดย histamine) จะทำให้เกิด

1) Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ เคลื่อนสู่ภายในเซลล์ โดยผ่านทาง ROC ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น [Mori และคณะ, 1990]

2) เกิดการ hydrolyze phosphatidylinositol เกิดเป็น IP_3 และ DAG ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย Ca^{2+} ออกมาจากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น [Arias-Montano, Berger, และ Young, 1994; Mitsuhashi และคณะ, 1989; Mori และคณะ, 1990]

ดังนั้น การที่ histamine ทำให้หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไตเกิดการหดตัว น่าจะเกิดจากการที่ histamine ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นที่ H_1-receptor ส่งผลให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้น ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นและเกิดการหดตัวในที่สุด และจากผลการทดลอง เมื่อให้ terfenadine แก่หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไต ก่อน 1 ชั่วโมง พบว่า terfenadine สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดทั้งสองชนิดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบ noncompetitive antagonism การที่ terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวหลอดเลือดหัวใจ และหลอดเลือดไตได้เนื่องจาก terfenadine เป็น

ยาในกลุ่ม antihistamine ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง histamine ที่ H_1-receptor อย่างจำเพาะเจาะจง [Mc Tavish และคณะ, 1990; Woodward และ Munro, 1982] ทำให้หลอดเลือดถูกระตุ้นโดย histamine ได้ลดลง นอกจากนี้ terfenadine อาจออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการใดกระบวนการหนึ่งในการหดตัวของกล้ามเนื้ออีกก็ได้

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย calcium ion ในสภาวะ depolarization ด้วยสารละลาย high potassium

ดังได้กล่าวในตอนต้นว่า ในการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ และกลไกหนึ่งในหลาย ๆ กลไกที่ทำให้ปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น คือ การเกิดการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยเกิด depolarization ซึ่งสภาวะนี้จะกระตุ้นให้ POC (หรือ VOC) เปิดออก ทำให้ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ โดยผ่านทาง POC ส่งผลให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น และเกิดการหดตัวของหลอดเลือด [Bolton, 1979a; Karaki และคณะ 1988] สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ทำให้เกิดสภาวะ depolarization ที่เซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดหัวใจและไต โดยใช้สารละลาย high potassium depolarizing (100 mM K^+) [Hof และ Vuorela, 1983; Hudgins และคณะ, 1968] ดังนั้น จากผลการทดลองเมื่อให้ $CaCl_2$ แบบสะสมแก่หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไต ซึ่ง incubate อยู่ในสารละลาย high potassium depolarizing จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว ซึ่งการหดตัวนี้จะเพิ่มขึ้นตามขนาดของ $CaCl_2$ ที่ให้ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า Ca^{2+} ที่ให้เข้าไป จะเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์โดยผ่านทาง POC ซึ่งเปิดอยู่เนื่องจากการ depolarization โดย K^+ ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อให้ terfenadine ก่อน แล้วให้ $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing พบว่า terfenadine สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไตของสุกรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเป็นการยับยั้งแบบ noncompetitive antagonism เมื่อเปรียบเทียบกับ verapamil ซึ่งเป็น calcium antagonist พบว่า verapamil สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดทั้งสองชนิดดังกล่าวได้ แต่เป็นแบบ competitive

antagonism จากที่กล่าวมาอาจสรุปได้ว่า การที่ terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไตของสุกรที่ได้รับการกระตุ้นโดย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing ได้ อาจเกิดจาก terfenadine สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านทาง POC หรืออาจเกิดจาก terfenadine ออกฤทธิ์ยับยั้งขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดก็ได้

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดที่ได้รับการกระตุ้นให้หดตัวโดย barium ion (Ba^{2+})

จากผลการทดลอง เมื่อให้ $BaCl_2$ แบบสะสม แก่หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดไตของสุกรในสารละลาย Ca^{2+},HCO_3^--free Krebs Henseleit จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวและการหดตัวจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของ $BaCl_2$ ที่ให้ เป็นที่ทราบกันดีว่า นอกจาก Ca^{2+} แล้ว Ba^{2+} ยังสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ทาง Ca^{2+} channel (ชนิด POC) ได้ จากการศึกษาของ Karaki, Satake และ Shibata [1986] พบว่า Ba^{2+} สามารถชักนำให้หลอดเลือดแดงช่วงอกของกระต่ายหดตัวได้ โดยกลไกที่ Ba^{2+} ทำให้หลอดเลือดหดตัวนั้น เกิดเนื่องจาก Ba^{2+} จะเป็นตัวทำให้เกิดการ depolarization ที่เยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือด ส่งผลให้ POC เปิดออก ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ และกระตุ้นให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยหลั่งมาจากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ หรือเมื่อ POC เปิดแล้วทำให้ Ba^{2+} เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ได้มากขึ้น ส่งผลกระตุ้นให้ Ca^{2+} หลั่งออกมาจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น หรือเกิดจาก Ba^{2+} เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ทาง POC แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว โดยไม่เกี่ยวข้องกับแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ เพราะ Ba^{2+} ทำให้หลอดเลือดของกระต่ายหดตัวโดยปราศจาก Ca^{2+} ภายนอก และแหล่งเก็บ Ca^{2+} ภายในเซลล์ซึ่งถูกกำจัดโดย caffeine หรือ NE จากผลการทดลองของการศึกษาครั้งนี้ การหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจของสุกร น่าจะเกิดจากการที่ Ba^{2+} เคลื่อนที่เข้าเซลล์ทาง POC และมี

ผลกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์สูงขึ้น หรือทำให้หลอดเลือดหดตัวจาก Ba^{2+} เอง terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบ noncompetitive antagonism ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่ terfenadine ออกฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ba^{2+} ผ่านทาง POC หรือ terfenadine อาจออกฤทธิ์ยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดอีกก็ได้

ผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อได้รับการชักนำให้หดตัวโดย KCl ในสารละลาย Ca^{2+}-free Krebs Henseleit

จากผลการทดลอง เมื่อให้ KCl แก่หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจในสารละลาย Ca^{2+}-free Krebs Henseleit จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวขึ้น ดังได้กล่าวแล้วในตอนต้นว่า ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ และกลไกหนึ่งที่ทำให้ระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น คือ การหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ โดยตัวกระตุ้น เช่น caffeine, NE, histamine เป็นต้น [Karaki และคณะ, 1988] นอกจากตัวกระตุ้นดังกล่าวแล้ว จากการศึกษาของ Kobayashi, Kanaide, และ Nakamura [1985] พบว่าการทำให้เกิดสภาวะ depolarization ที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของหนูขาว โดย K^{+} ทำให้เกิดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ และจากการศึกษาของ Mangel และคณะ [1982] พบว่าในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ K^{+} สามารถกระตุ้น กล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร, หลอดอาหาร, กระเพาะปัสสาวะ, มดลูก และเส้นเลือดดำ vena cava ของแมว ให้เกิดการ depolarization และเกิดการหดตัวได้ ดังนั้นจากผลการทดลองในครั้งนี้ การที่หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจสามารถหดตัวได้ เมื่อได้รับ KCl ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ อาจเกิดจาก KCl ทำให้เกิดการ depolarization ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และเกิดการหดตัวของหลอดเลือดในที่สุด เมื่อให้ terfenadine พบว่า หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจมีการหดตัวเพิ่ม

ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และจากการศึกษาของ Rampe และคณะ [1993] และ Woosley และคณะ [1993] พบว่า terfenadine มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ K^+ ออกจาก เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจของมนุษย์และกล้ามเนื้อหัวใจของแมวตามลำดับ ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้นี้อาจเป็นไปได้ที่ terfenadine แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ K^+ ออกนอกเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดหัวใจและเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดไตส่งผลทำให้เกิดสภาวะ depolarization ได้มากกว่าปกติ และเกิดการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์ได้มากขึ้น จึงทำให้หลอดเลือดดังกล่าวหดตัวได้มากขึ้น เมื่อได้รับ terfenadine หรืออาจเกิดจาก terfenadine ออกฤทธิ์กระตุ้นที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการหดตัวก็ได้

สรุปผลการทดลอง

จากที่กล่าวมาทั้งหมด จะเห็นว่า terfenadine สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดไตที่แยกจากสุกรที่ได้รับการกระตุ้นโดย NE, 5-HT, histamine, $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing, และ $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^- - free Krebs Henseleit และสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจที่แยกจากสุกรที่ได้รับการกระตุ้นโดย Ach, 5-HT, histamine, $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing และ $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^--free Krebs Henseleit ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยความแรงในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจะขึ้นอยู่กับขนาดของ terfenadine และเป็นการยับยั้งแบบ noncompetitive antagonism อาจกล่าวได้ว่า terfenadine ขนาด $2x10^{-5}$ M สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้เป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง (nonspecific) ต่อ receptor โดยกลไกหนึ่งของ terfenadine ในการลดการหดตัวของหลอดเลือด นอกจากการต้านฤทธิ์ของ histamine ที่ H_1-receptor แล้ว คือ ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} อิสระจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ทาง POC เพราะ terfenadine สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดอันเนื่องจากการกระตุ้นโดย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing ได้ และจากการศึกษาของ Zhang และคณะ [1993] พบว่า terfenadine สามารถแทนที่การจับของ nitrendipine กับ calcium

channel ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเปลือกสมองใหญ่ (cerebral cortex membrane)ของหนูขาวได้ นอกจากนี้อีกกลไกหนึ่งของ terfenadine ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่อาจเป็นไปได้ คือ ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} เข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง ROC เพราะการกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวโดย NE, Ach, 5-HT, และ histamine ล้วนแล้วแต่เป็นการกระตุ้นให้ ROC เปิดออก และส่งผลให้ Ca^{2+} เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ และจากการศึกษาของ Itoh และคณะ [1987] พบว่า flunarizine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม calcium channel blockers และมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับ terfenadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ลำไส้ (mesenteric artery) ของกระต่ายที่ได้รับการกระตุ้น โดย NE โดยมีกลไกการยับยั้งที่ ROC และ POV ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่ terfenadine อาจออกฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์ทาง ROC อีกหนึ่งกลไก นอกจากนี้ terfenadine ยังสามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจที่ได้รับการชักนำให้หดตัวโดย KCl ในสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอก มีการหดตัวเพิ่มขึ้น ซึ่งกลไกหนึ่งที่อาจเป็นไปได้คือ terfenadine อาจยับยั้งการเคลื่อนที่ของ K^{+} ออกสู่ภายนอกเซลล์ ทำให้เกิดสภาวะ depolarization ได้มากกว่าปกติ เกิดการกระตุ้นให้มีการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม Ca^{2+} ภายในเซลล์มากขึ้น หลอดเลือดจึงมีการหดตัวได้มากขึ้น หรืออาจเกิดจากกลไกอื่นอีกก็ได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพียงขั้นต้นถึงผลของ terfenadine ต่อการหดตัวของหลอดเลือด ซึ่งกลไกที่ชัดเจนควรจะต้องมีการศึกษากันต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้ terfenadine ขนาด $2x10^{-5}$ M สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดไตและหลอดเลือดหัวใจได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และจากที่กล่าวไว้แล้วในตอนต้นขนาดใช้ยาปกติของ terfenadine คือ 60-180 มิลลิกรัม/วัน โดยการรับประทาน ซึ่งจะทำให้เกิดระดับยาในพลาสมาเท่ากับ $0.74x10^{-6}$ M - $2.23x10^{-6}$ M [Okerholm และคณะ 1981] จะเห็นว่าความเข้มข้นของ terfenadine ที่สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้นั้นจะมากกว่าความเข้มข้นของ terfenadine ในขนาดใช้ยาปกติประมาณ 10 เท่า ดังนั้น หากจะใช้ terfenadine เพื่อประโยชน์ในการขยายหลอดเลือดก็อาจจะต้องเพิ่มขนาดรับประทานของ terfenadine ให้มากกว่าขนาดใช้ยาปกติ แต่ทั้งนี้การเพิ่มขนาดของ terfenadine ไม่ควรเพิ่ม

จนถึงขนาดที่ทำให้เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ หรืออาการพิษขึ้น ซึ่งจำเป็นต้องทำการศึกษาในร่างกันต่อไป อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาครั้งนี้สามารถเสนอแนะได้ว่า terfenadine ในขนาดปกติ สามารถใช้ได้ในผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง และผู้ป่วยโรคปวดหัวใจเค้นอก (angina pectoris) ได้อย่างปลอดภัย โดยไม่มีผลเสีย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย