

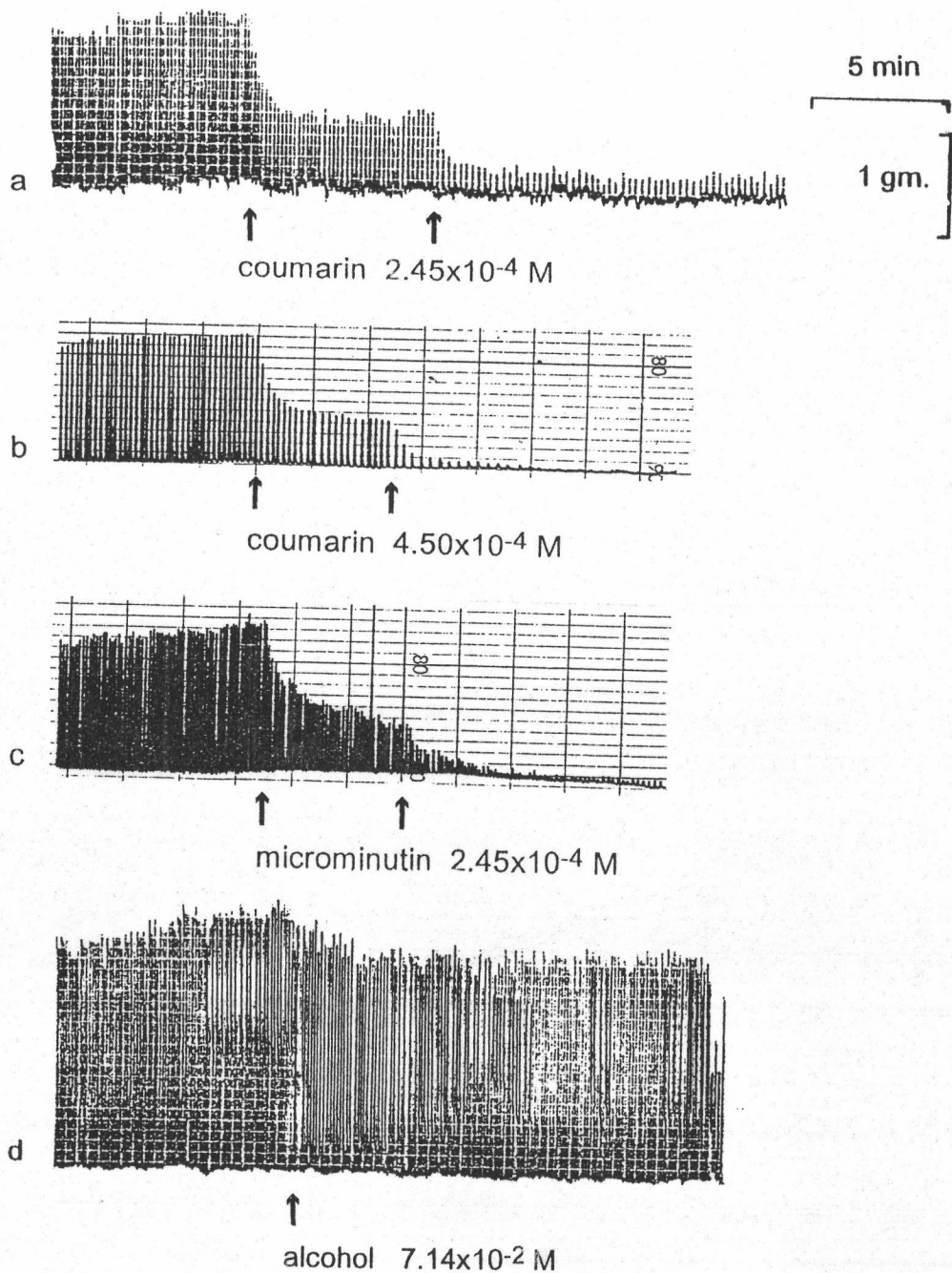
ผลการวิจัย

1. ผลเบื้องต้นต่อการหดเกร็งของลำไส้เล็ก (jejunum) กระจ่าย

1.1 ผลต่อ spontaneous contraction

จากการทดสอบเบื้องต้นถึงผลของ coumarin ต่อ spontaneous contraction ของลำไส้เล็กพบว่า coumarin สามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้กระจ่ายได้ตามขนาดของ coumarin ที่ลำไส้ได้รับ ดังแสดงในรูป 8 coumarin 2.4×10^{-4} M ลดแรงหดเกร็งของลำไส้ได้ทันทีหลังให้สารละลาย และเมื่อให้ coumarin ขนาดเดิมซ้ำอีก พบว่าสามารถลดแรงหดเกร็งได้มากขึ้น (รูป 8a) coumarin 4.5×10^{-4} M ลดแรงหดเกร็งของลำไส้ได้มาก และในขนาดเดิมเมื่อให้ซ้ำอีกครั้ง ลำไส้จะลดแรงหดเกร็งลงจนเกือบเป็นศูนย์ (รูป 8b) แต่เมื่อดำรงลำไส้ด้วยสารละลาย Tyrode หลาย ๆ ครั้ง ฤทธิ์ของสารละลาย coumarin จะลดลงจนเกือบหมดประมาณ 30-45 นาที ลำไส้จะมี spontaneous contraction เกือบเท่าเดิม

ผลการทดสอบเบื้องต้นของ microminutin ต่อ spontaneous contraction ของลำไส้เล็กกระจ่ายพบว่า microminutin สามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้กระจ่ายได้เช่นเดียวกับ coumarin คือ microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M ลดแรงหดเกร็งของลำไส้กระจ่าย ได้ทันทีหลังจากลำไส้ได้รับสารละลาย microminutin และเมื่อให้ซ้ำอีกครั้งในขนาดเดิม พบว่าสามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้ กระจ่ายได้เกือบเป็นศูนย์ (รูป 8c)



รูปที่ 8

แสดงผลของสารละลายคูมารินและ alcohol ต่อ spontaneous contraction

- a ผลของ coumarin 2.45×10^{-4} M
- b ผลของ coumarin 4.50×10^{-4} M
- c ผลของ microminutin 2.45×10^{-4} M
- d ผลของ alcohol 7.14×10^{-2} M

ได้ทดลองให้ ethanol 83.33 % ในปริมาณที่เท่ากับ coumarin และ microminutin (0.1 ml.) มีผลต่อการหดเกร็งของลำไส้เล็กน้อย (รูป 8d)

1.2 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine

coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine ได้และสามารถยับยั้งการหดเกร็งเมื่อใช้ acetylcholine ขนาด 10^{-7} M กระตุ้นลำไส้ครั้งหลัง (รูป 9a)

microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งของลำไส้ที่กระทำโดยที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine ขนาด 10^{-7} M และเมื่อกระตุ้นลำไส้เล็กกระทำด้วย acetylcholine ขนาด 10^{-7} M ซ้ำอีกครั้ง พบว่าแรงหดเกร็งของลำไส้เล็กกระทำเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยดังแสดงในรูป 9b

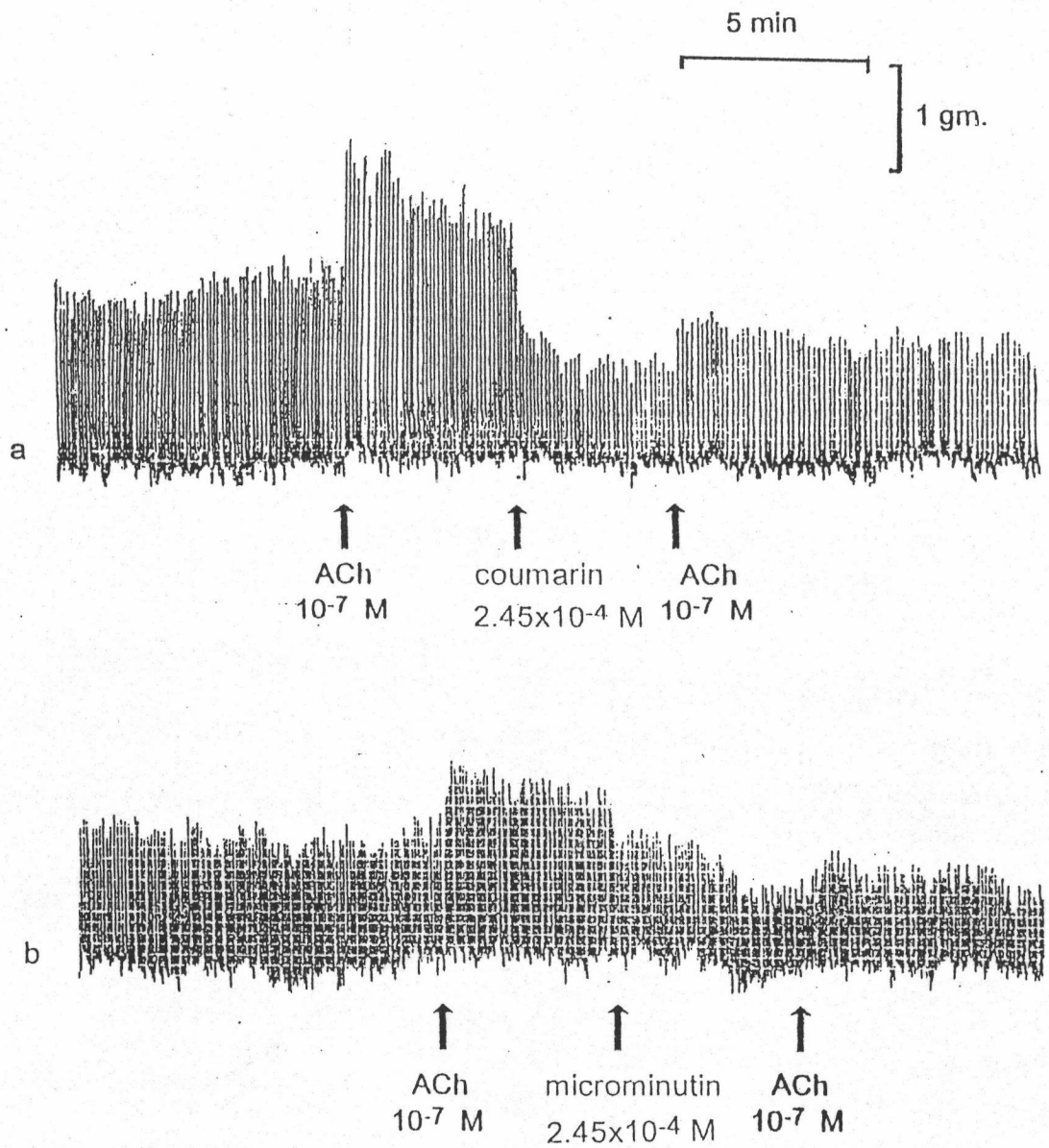
1.3 ผลต่อแรงหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-hydroxytryptamine

coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถยับยั้งฤทธิ์กระตุ้นการหดเกร็งของ 5-hydroxytryptamine (รูป 10a) microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถยับยั้งฤทธิ์กระตุ้นการหดเกร็งของ 5-hydroxytryptamine ได้เช่นกันดังแสดงในรูป 10b

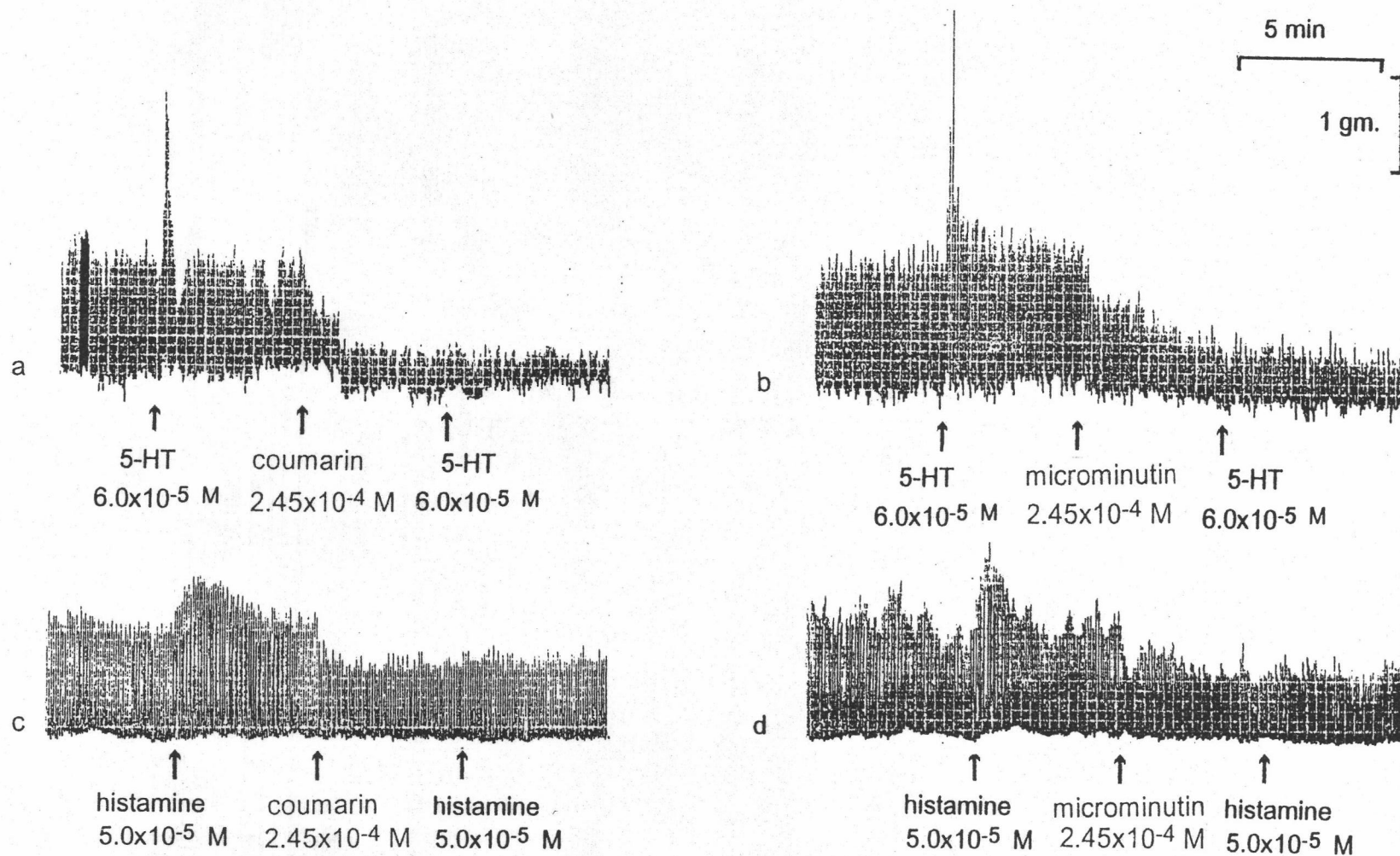
1.4 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine

coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine ขนาด 5×10^{-5} M และสามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ขนาด 5×10^{-5} M ดังแสดงในรูป 10c microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย histamine ขนาด 5×10^{-5} M ได้เช่นกันดังแสดงในรูป 10d





รูปที่ 9 ผลของสารละลายคูมารินต่อการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายที่เกิดจากกระตุ้นด้วย acetylcholine 10^{-7} M



รูปที่ 10 ผลของสารละลายคูมาริน ต่อการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT (10a, 10b) และ histamine (10c, 10d)

1.5 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย barium chloride

แรงหดเกร็งของลำไส้เล็กกระต่าย ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย barium chloride ขนาดความเข้มข้น 6.25×10^{-4} M พบว่า barium chloride เพิ่มแรงหดเกร็งของลำไส้อย่างเด่นชัด และจะคงอยู่เป็นระยะเวลาานกว่า 20 นาที ดังแสดงในรูป 11a coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดแรงหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย barium chloride ดังแสดงผลการทดลองในรูป 11b

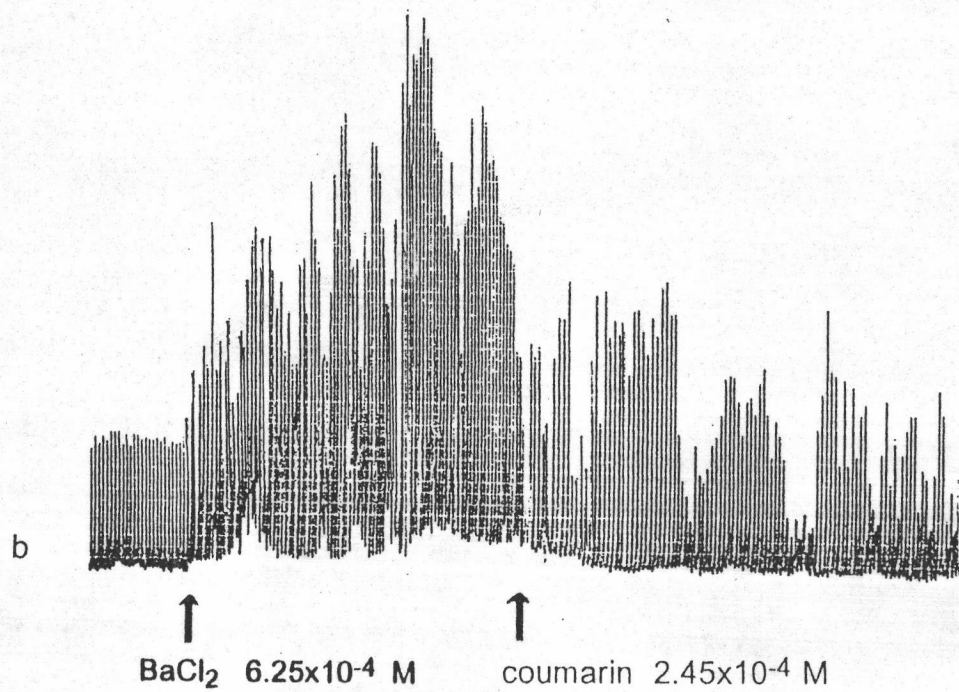
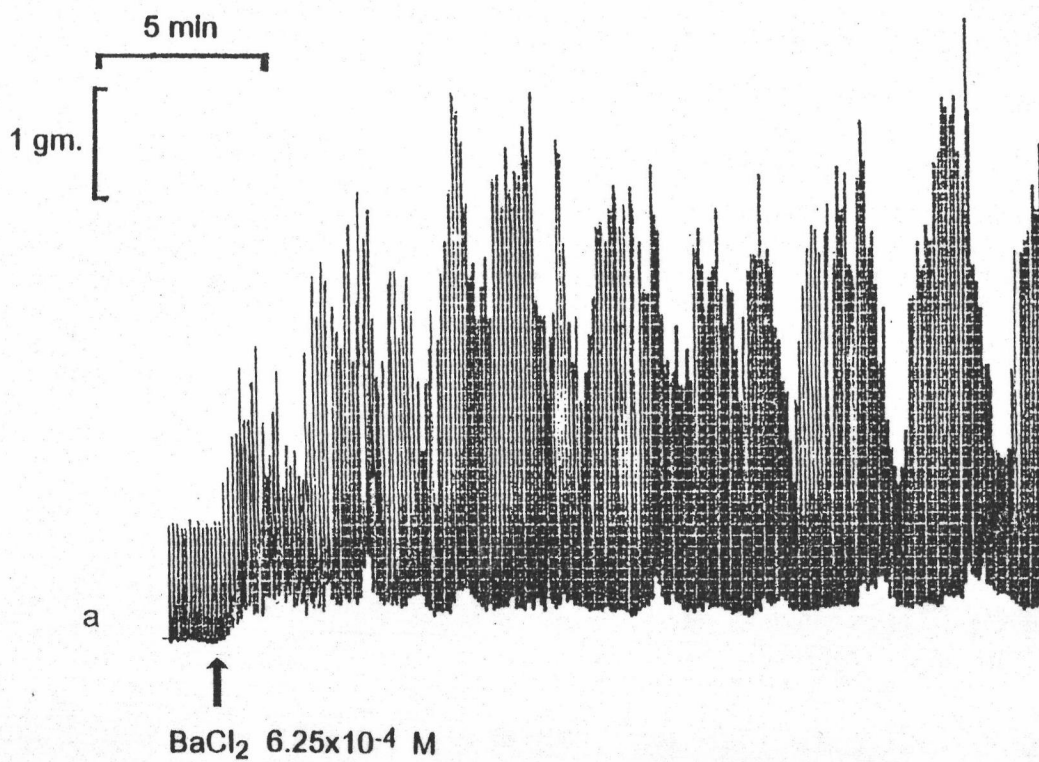
microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดแรงหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย barium chloride ได้เช่นเดียวกัน (ดังแสดงในรูป 12b)

2. ผลเบื้องต้นต่อการหดเกร็งของลำไส้เล็ก (ileum) หนูตะเภา

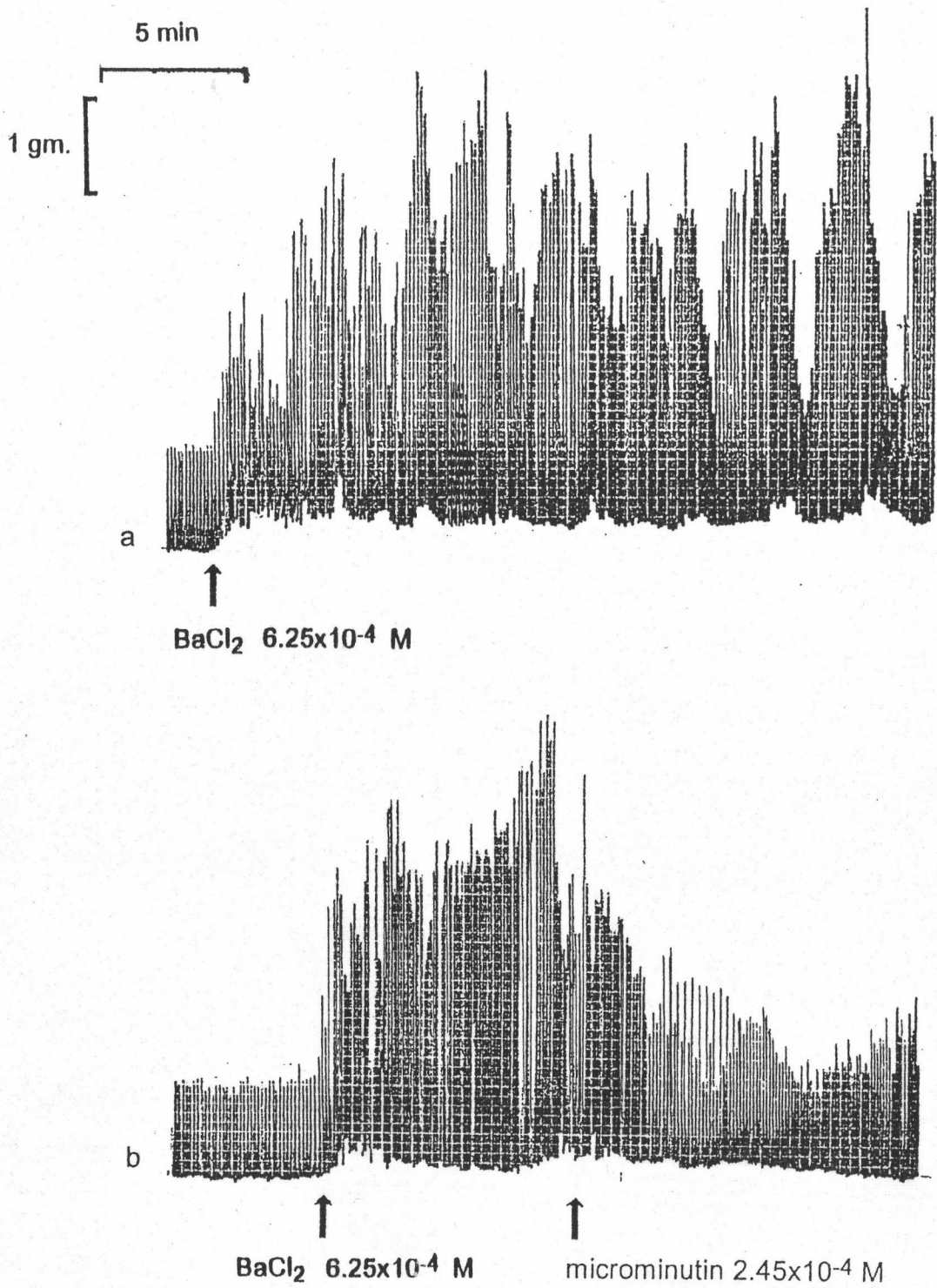
2.1 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine

เมื่อกระตุ้นลำไส้หนูตะเภาด้วย acetylcholine ขนาดความเข้มข้น 10^{-7} M พบว่า tone จะเพิ่มขึ้นทีละจะลดลงช้า ๆ จนเกือบถึง base line ภายในเวลาประมาณ 3-5 นาที และเมื่อกระตุ้นลำไส้ด้วย acetylcholine ขนาดความเข้มข้น 10^{-7} M อีกครั้ง ซึ่งห่างจากการกระตุ้นครั้งแรกประมาณ 15 นาที พบการตอบสนองเช่นเดียวกับเมื่อกระตุ้นครั้งแรก (รูป 13a)

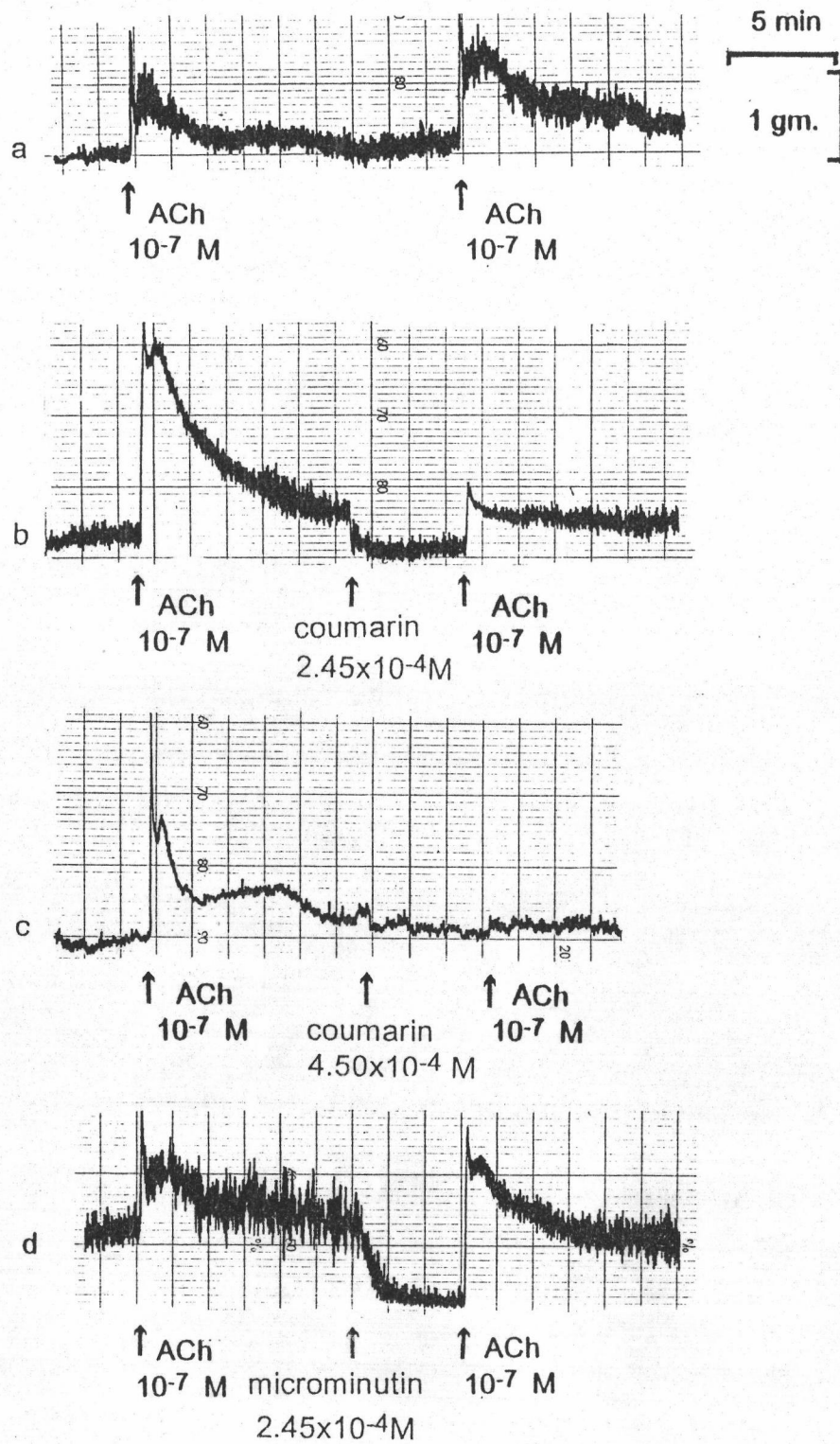
จากการทดลองหลังจากกระตุ้นลำไส้ด้วย acetylcholine ขนาดความเข้มข้น 10^{-7} M เมื่อให้ coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M พบว่า tone จะลดลงต่ำกว่า base line หลังจากกระตุ้นลำไส้ด้วย acetylcholine ขนาดความเข้มข้น 10^{-7} M อีกครั้ง พบว่า tone จะเพิ่มขึ้นแต่ไม่เท่ากับ tone ที่เกิดเนื่องจากการกระตุ้นครั้งแรก (รูป 13b) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น coumarin เป็น 4.5×10^{-4} M พบว่าสามารถยับยั้ง acetylcholine 10^{-7} M (รูป 13c) (n=3)



รูปที่ 11 ผลของสารละลาย coumarin 2.45x10⁻⁴ M ต่อการหดเกร็งของลำไส้กระต่าย
ที่เกิดจากกระตุ้นด้วย BaCl₂ 6.25x10⁻⁴ M



รูปที่ 12 ผลของสารละลาย microminutin $2.45 \times 10^{-4} \ \text{M}$ ต่อการหดเกร็งของลำไส้กระต่าย ที่เกิดจากกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 \ 6.25 \times 10^{-4} \ \text{M}$



รูปที่ 13 ผลของสารละลายคูมาริน ต่อการหดเกร็งของลำไส้หนูตะเภาที่เกิดจากกระตุ้นด้วย acetylcholine

microminutin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลด tone ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine ขนาด 10^{-7} M ได้เช่นกัน แต่เมื่อกระตุ้นลำไส้ ด้วย acetylcholine ขนาด 10^{-7} M อีกครั้ง พบว่า tone จะเพิ่มขึ้นมากกว่าการกระตุ้น ครั้งแรก (รูป 13d) (n=3)

2.2 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย barium chloride

กระตุ้นการหดเกร็งของลำไส้ด้วย barium chloride ขนาดความเข้มข้น 6.25×10^{-4} M การหดเกร็งจะเป็น rhythmic contraction นานกว่า 20 นาที (รูป 14a) พบว่า coumarin ขนาดความเข้มข้น 2.45×10^{-4} M สามารถลดความถี่ของ rhythmic contraction แต่ความสูง (amplitude) จะเพิ่มขึ้นดังแสดงในรูป 14b (n=3)

microminutin 2.45×10^{-4} M ลดความสูงของ rhythmic contraction ในระยะ 5 นาทีแรกหลังให้ แต่หลังจากนั้นความสูงจะเพิ่มขึ้น ดังแสดงใน รูป 14c และรูป 15 (n=4)

ได้ทดลองให้ alcohol 7.14×10^{-2} M พบว่ามีผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 6.25×10^{-4} M น้อยมาก (รูป 14d) (n=2)

3. ผลต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) หนูขาว

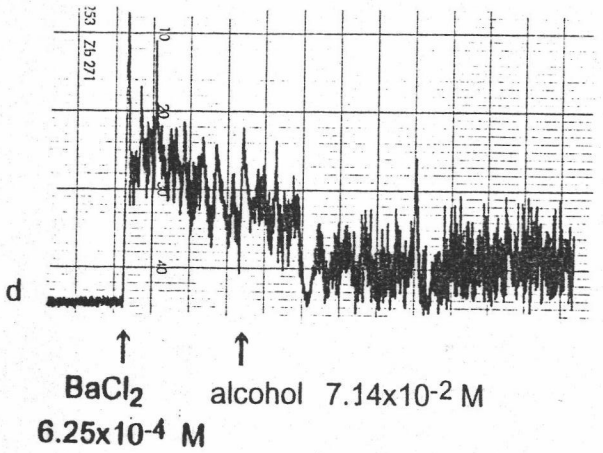
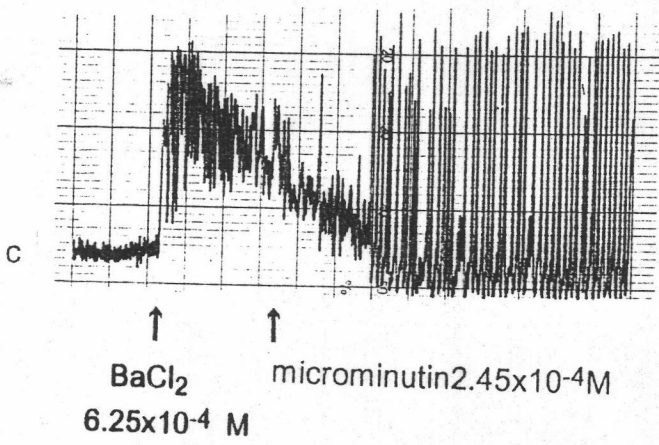
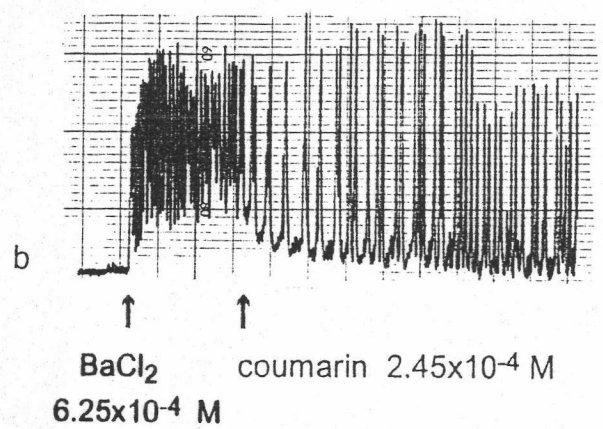
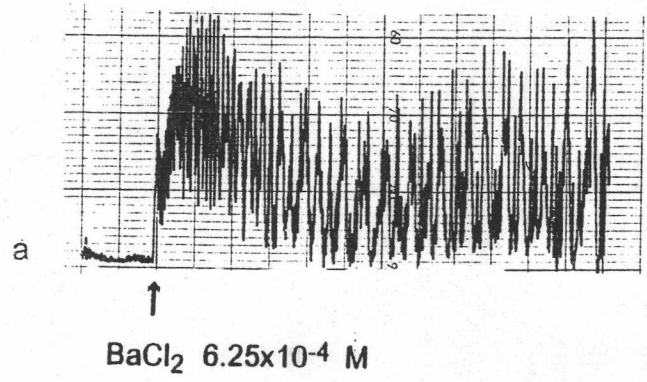
3.1 ผลต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่มีเยื่อบุหลอดเลือด (with endothelium)

เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดให้เกิดการหดเกร็งด้วย PE 10^{-6} M พบว่า หลอดเลือดจะหดเกร็งสูงสุด (maximum contraction) เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 10 นาที และจะยังคงอยู่ประมาณ 10 นาที แล้วจะลดลงเล็กน้อย ดังแสดงในรูป 16a เมื่อให้ acetylcholine 10^{-7} M ในขณะที่ผลการหดเกร็งเนื่องจาก PE ยังคงอยู่ พบว่า

acetylcholine สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้ทันทีหลังให้ และเมื่อให้ acetylcholine 10^{-5} M อีก พบว่าลดการหดเกร็งได้มากขึ้น ถ้าทิ้งไว้สักครู่จะพบว่า แรงหดเกร็งจะเพิ่มขึ้นช้า ๆ จนเกือบถึง maximum contraction (รูป 16b) coumarin 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M โดยจะลดลงช้า ๆ และเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที การหดเกร็งจะกลับขึ้นไปอีกจนเกือบถึง maximum contraction (รูป 17a) coumarin 2.45×10^{-4} M ลดการหดเกร็งได้มากที่สุดที่เวลาประมาณ 6 นาที โดยลดลง ได้ 12.38 % พบว่าฤทธิ์ลดการหดเกร็งของ coumarin 2.45×10^{-4} M ไม่สามารถ ยับยั้งด้วย atropine 10^{-5} M และเมื่อใช้วิธีทางสถิติ (paired t-test) ทดสอบพบว่า coumarin 2.45×10^{-4} M ลด maximum contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และลดการหดเกร็งได้ไม่แตกต่างกับเมื่อให้ atropine ร่วมด้วย (รูป 19)

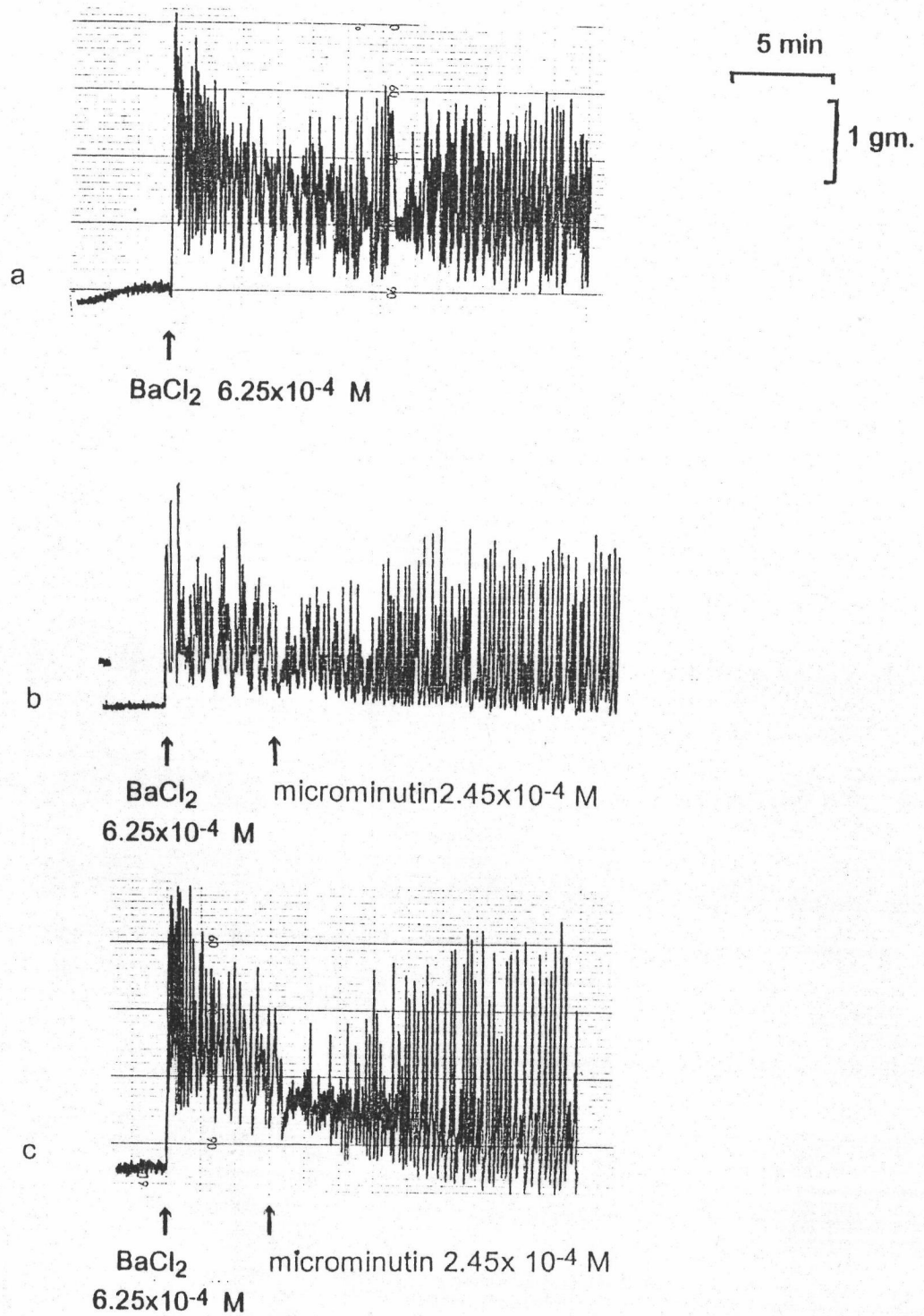
coumarin 4.5×10^{-4} M ลดแรงหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิด จากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M ได้อย่างรวดเร็ว โดยลดลงได้มากที่สุดที่เวลาประมาณ 3 นาที หลังให้ คือลดได้ 30.73 % แต่เมื่อเวลาผ่านไป การหดเกร็งก็จะกลับขึ้นช้า ๆ จนเกือบถึง maximum contraction (รูป 17b) และเมื่อให้ atropine 10^{-5} M ไปก่อน พบว่าไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์การหดเกร็งของ coumarin 4.5×10^{-4} M ได้ เมื่อเวลาผ่านไปการหดเกร็งจะกลับขึ้นไปอีกเพียงเล็กน้อย เมื่อคำนวณทางสถิติ (unpaired t-test) พบว่าลดการหดเกร็งได้ ไม่แตกต่างกันระหว่างให้ และไม่ให้อtrophine 10^{-5} M ร่วมด้วย (รูป 20) และจากการทดลองให้ acetylcholine 10^{-7} M ก่อนการให้ coumarin 4.5×10^{-4} M (ให้ atropine 10^{-5} M ก่อนการกระตุ้น) พบว่าลักษณะการลดการหดเกร็งเหมือนกับการให้ coumarin 4.5×10^{-5} M โดยลำพัง (รูป 20)

microminutin 2.45×10^{-4} M ลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิด จากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M โดยลักษณะการลดการหดเกร็งจะลดลงช้า ๆ และไม่กลับขึ้นไปสู่ maximum contraction (รูป 17c) เวลาที่ลดการหดเกร็งได้สูงสุดคือประมาณ 6 นาที โดยลดได้ 34.32% พบว่า atropine 10^{-5} M ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ลดการหดเกร็งของ microminutin โดยการลดการหดเกร็งไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการให้ microminutin



5 min
1 gm.

รูปที่ 14 ผลของสารละลายคูมาริน ต่อการหดเกร็งของลำไส้หนูตะเภาที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl₂ 6.25x10⁻⁴ M



รูปที่ 15 แสดงการให้ microminutin 2.45×10^{-4} M ลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูตะเภา ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 6.25×10^{-4} M

(a) control (b,c) การทดสอบให้ microminutin

2.45×10^{-4} M เพียงลำพังกับการให้ atropine 10^{-5} M ร่วมด้วย (รูป 21)

3.2 ผลต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ไม่มีเยื่อหลอดเลือด
(without endothelium)

acetylcholine 10^{-7} M ไม่สามารถลดการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นหลอดเลือดที่ไม่มีเยื่อ ด้วย PE 10^{-6} M เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ acetylcholine เป็น 10^{-5} M ไม่สามารถลดการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE ได้เช่นกัน (รูป 18b)

coumarin 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M (รูป 18c) ซึ่งการลดการหดเกร็งจะลดได้มากกว่าการทดสอบเมื่อมีเยื่อหลอดเลือด คือ ลดได้สูงสุดที่เวลาประมาณ 3 นาที (15.37 %) จนถึง 10 นาที หลังให้ coumarin แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูป 24) และ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ coumarin เป็น 4.5×10^{-4} M พบว่าการหดเกร็งของ หลอดเลือดได้มากขึ้น โดยลักษณะการลดการหดเกร็งจะลดลงช้า ๆ เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที จะคงที่ไม่กลับขึ้นไปสู่ maximum contraction อีกเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบ ในหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดอยู่ พบว่า coumarin 4.5×10^{-4} M ลดการหดเกร็งได้แตกต่างกัน ($p < 0.05$) เพียงจุดเวลาเดียวคือที่เวลา 10 นาที หลังให้ coumarin (รูป 25)

microminutin 2.45×10^{-4} M ลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่ไม่มีเยื่อหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M โดยลักษณะการลดการหดเกร็ง พบว่าจะลดลงช้า ๆ หลังให้ microminutin เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที จะคงที่เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบขณะมีเยื่อหลอดเลือด พบว่าการทดสอบในหลอดเลือดที่ไม่มีเยื่อหลอดเลือดลดการหดเกร็งได้น้อยกว่า โดยลดลงได้มากที่เวลาประมาณ 8 นาที คือลดได้ 30.32 % และเมื่อใช้วิธีทางสถิติทดสอบพบว่า (unpaired t-test) การลดการหดเกร็งของหลอดเลือดไม่แตกต่างกัน ระหว่างหลอดเลือดที่มีกับไม่มีเยื่อหลอดเลือด

3.3 ผลการยับยั้งฤทธิ์แคลเซียม

จากการทำ dose-response curve ของ CaCl_2 เริ่มต้นโดยใช้ขนาดของ CaCl_2 10^{-5} M และขนาดที่ทำให้ได้การหดเกร็งสูงสุด (maximum contraction) คือ 10^{-2} M (รูป 27a)

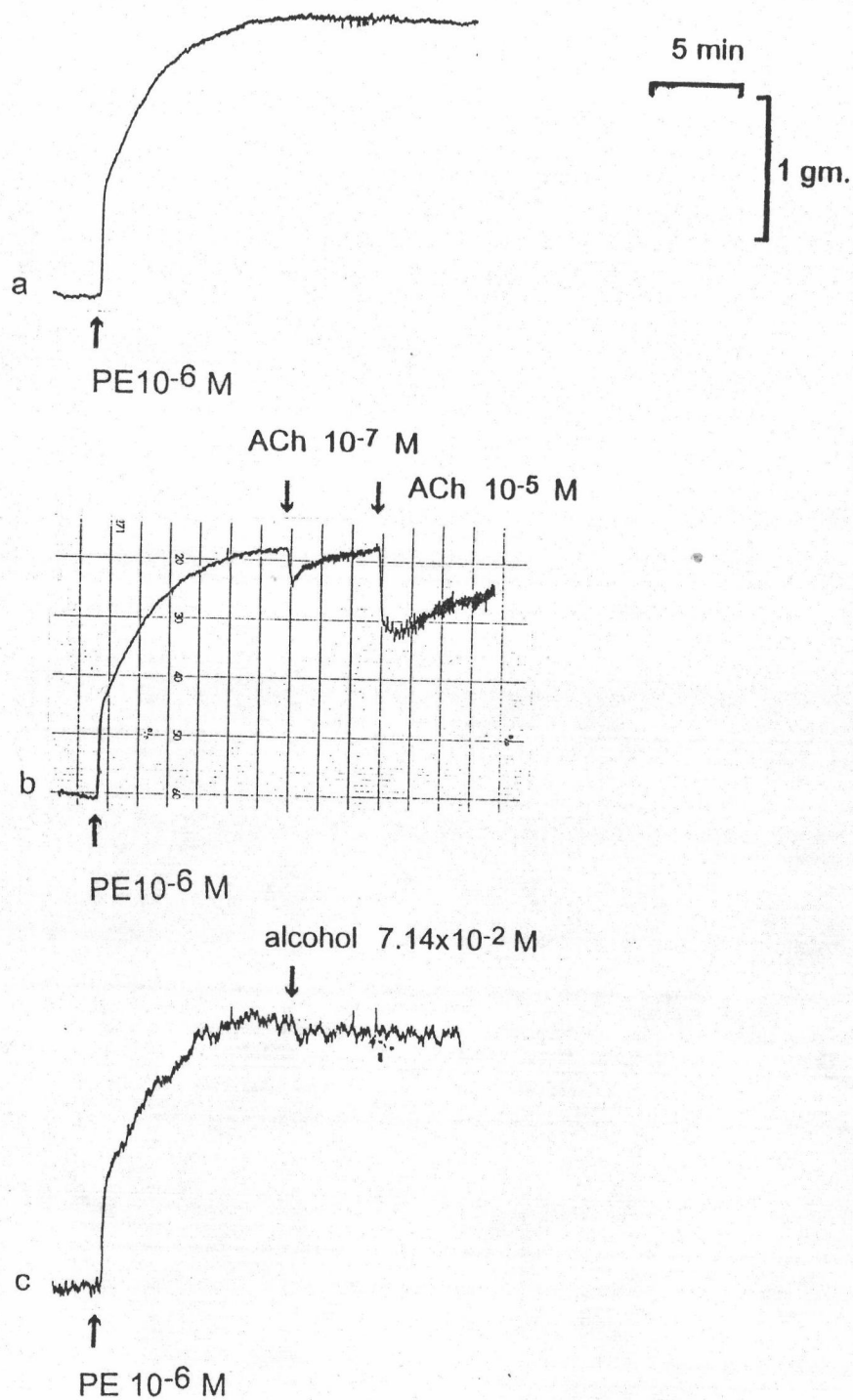
coumarin 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งสูงสุดลงได้ 7.91 % และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 4.5×10^{-4} M จะสามารถลดการหดเกร็งสูงสุดลงได้ 15.71 % (รูป 28)

microminutin 2.45×10^{-4} M สามารถลดการหดเกร็งสูงสุดได้ 20.41 % การทดลองใช้ verapamil 2.4×10^{-8} M เพื่อต้านฤทธิ์ CaCl_2 พบว่าหลังจากให้ verapamil ไปหลอดเลือดจะ relax ลง (รูป 27b) ซึ่งลักษณะการเกิดเช่นนี้ เหมือนกับการให้ coumarin 4.5×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ CaCl_2 verapamil ลดการหดเกร็งสูงสุดลงได้ 8.55 % เมื่อทดสอบผลทางสถิติพบว่า dose-response curve หลังให้ยาแต่ละตัวมีความแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ได้แสดงในรูป 28 ได้คำนวณเปรียบเทียบ potencies ของสารละลายคูมาริน, verapamil โดยเปรียบเทียบค่า PD_2 ดังแสดงในตาราง 2

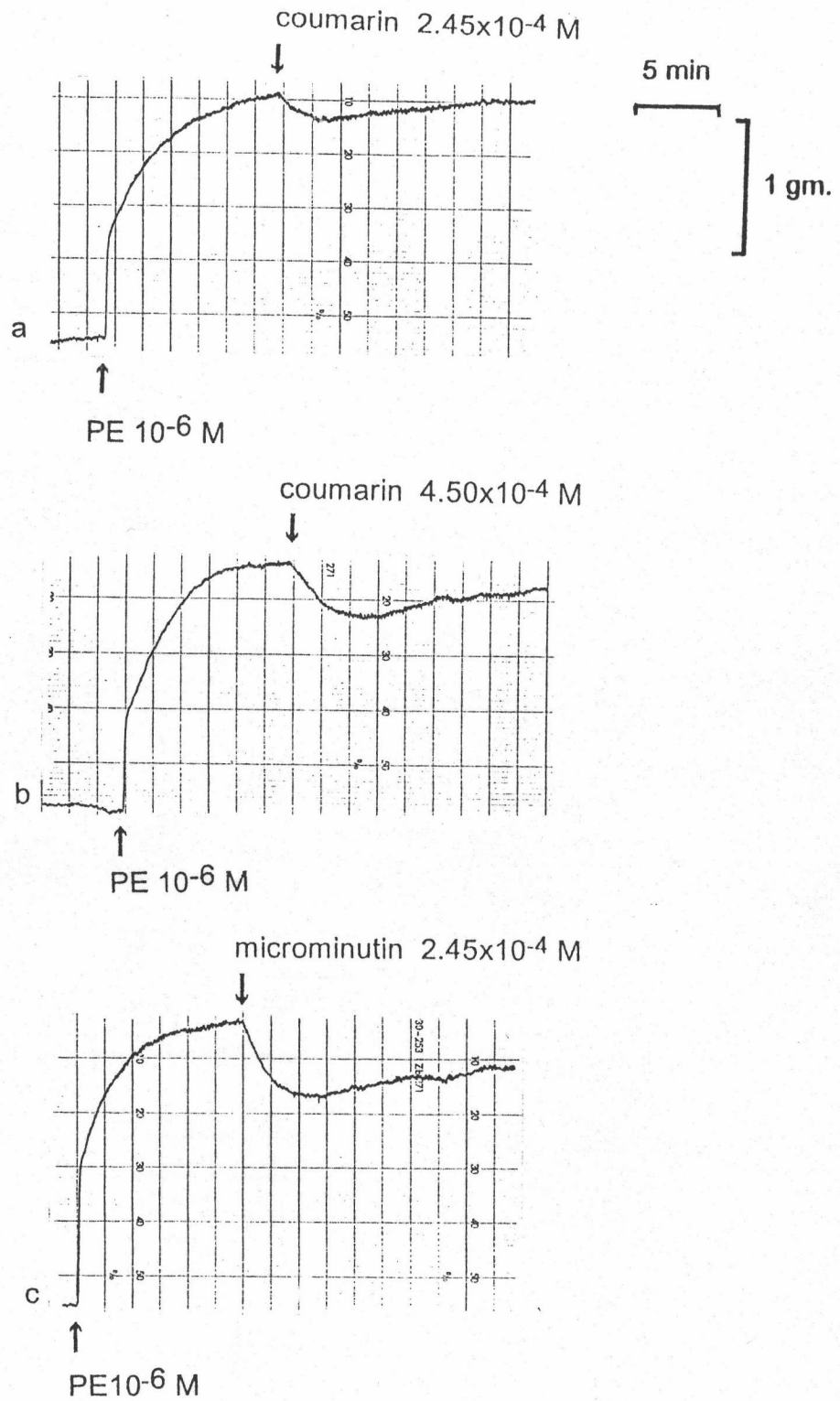
4. ผลต่อการหดเกร็งของท่อนำสุจิ (vas deferens) ที่แยกจากหนูขาว

4.1 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย KCl

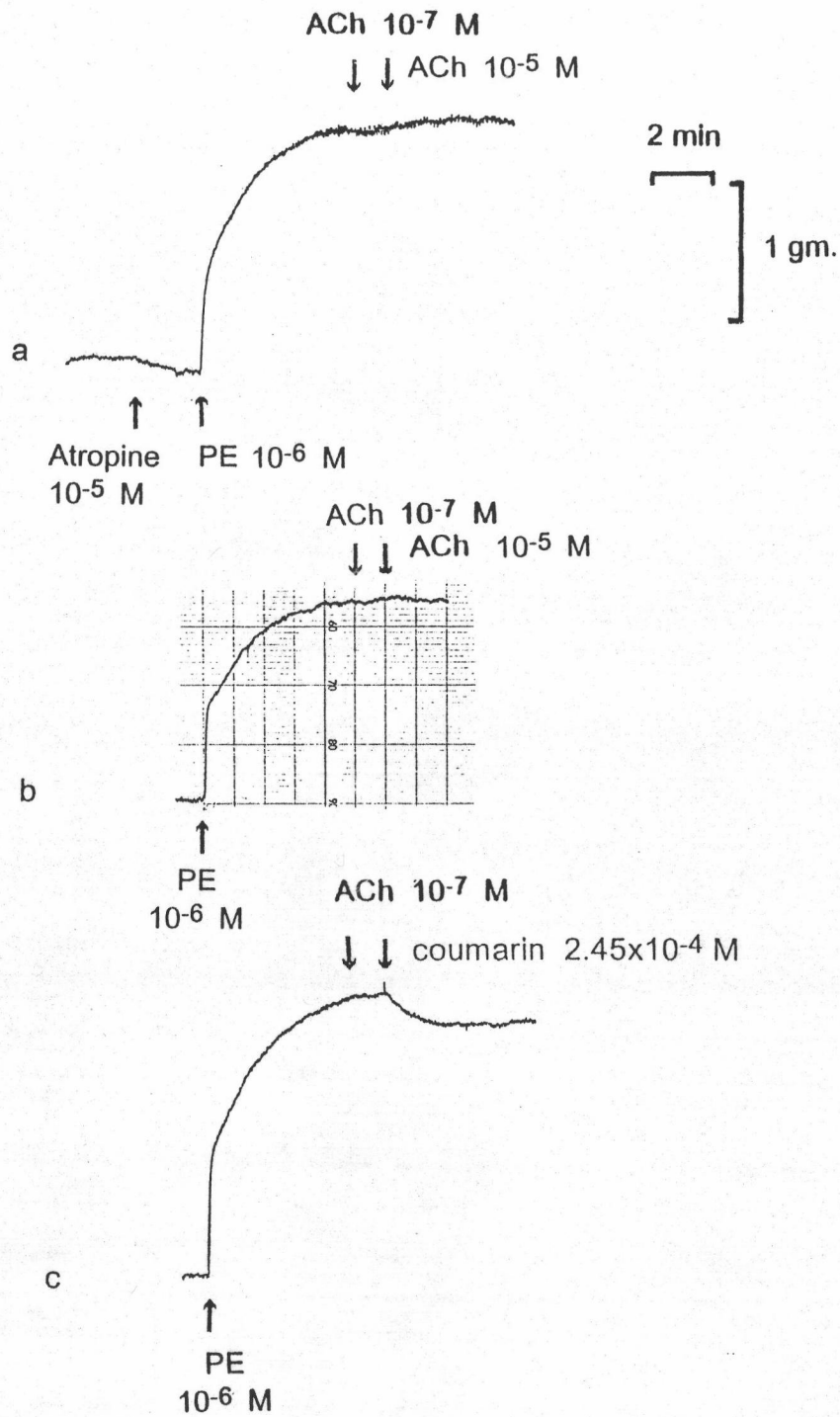
เมื่อกระตุ้นท่อนำสุจิด้วย KCl 40 mM พบว่าการหดเกร็งของท่อนำสุจิจะเป็น phasic contraction ตามด้วย tonic contraction ซึ่งลักษณะ tone ของ tonic contraction จะลดลงช้า ๆ และ คงที่อยู่ระยะเวลาหนึ่ง (ประมาณ 2-3 นาที) จากนั้น tone จะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย แล้วจึง คงที่ไว้ coumarin 2.45×10^{-4} M ไปก่อนประมาณ 5 นาที แล้วกระตุ้นท่อนำสุจิด้วย KCl 40 mM พบว่า สามารถลด phasic



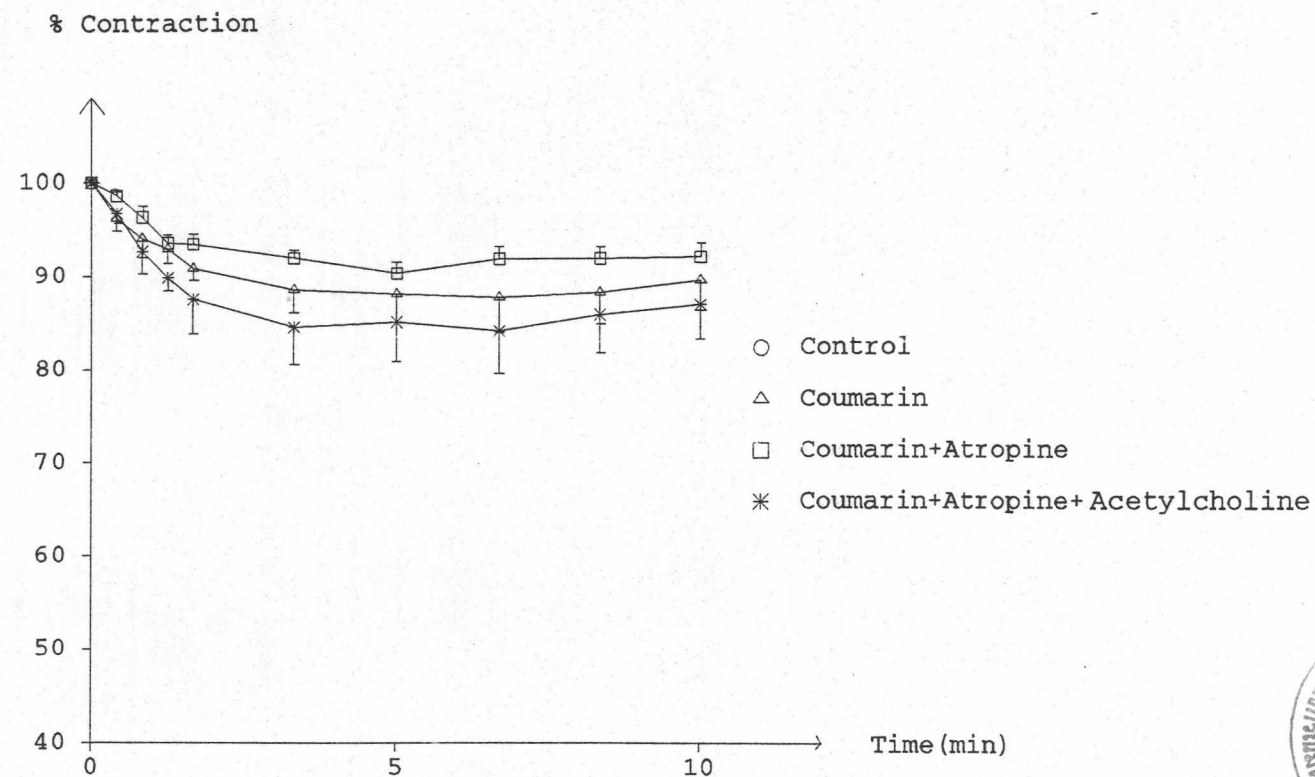
- รูปที่ 16 a แสดงลักษณะการหดเกร็งของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย phenylephrine 10^{-6} M
 b ผลของ acetylcholine ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย phenylephrine 10^{-6} M
 c ผลของ alcohol ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย phenylephrine 10^{-6} M



รูปที่ 17 ผลของสารละลายคูมาริน ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ (ที่ยังมีเยื่อหลอดเลือด) ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย phenylephrine 10^{-6} M

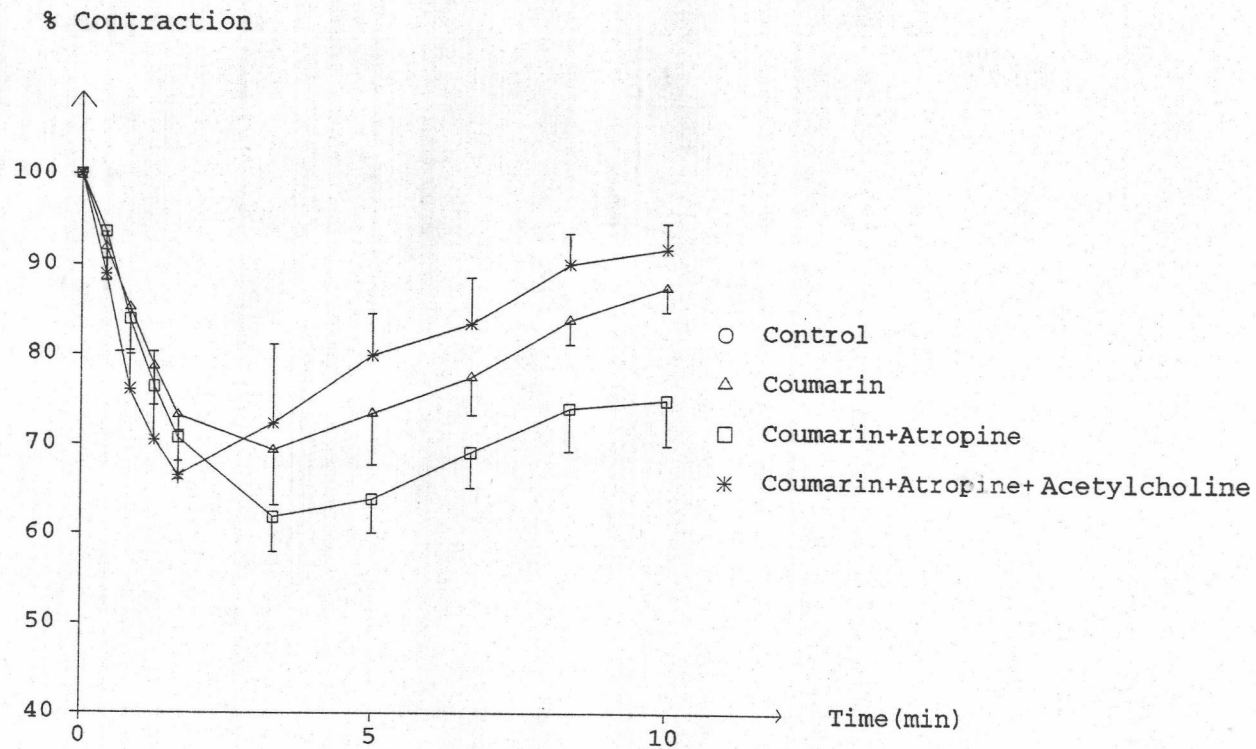


รูปที่ 18 a แสดงการใช้ atropine ยับยั้งฤทธิ์ลดการหดเกร็งของ acetylcholine
 b แสดงผลของ phenylephrine และ acetylcholine ต่อหลอดเลือดแดงใหญ่
 ที่ไม่มีเยื่อหลอดเลือด
 c แสดงการใช้ acetylcholine และ coumarin ลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่
 เกิดจากกระตุ้นด้วย phenylephrine 10^{-6} M

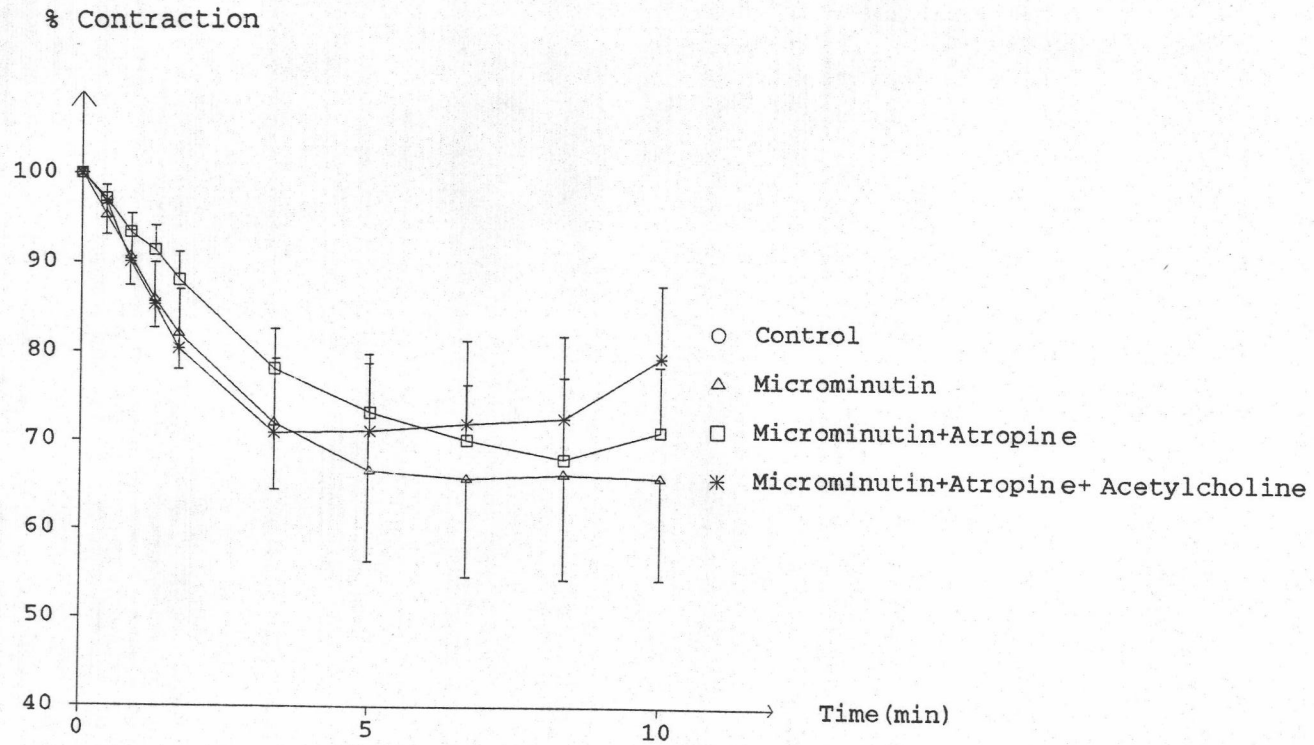


รูปที่ 19 แสดงผลของ coumarin 2.45×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือด ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M เปรียบเทียบเมื่อให้เฉพาะ coumarin และเมื่อให้ atropine, acetylcholine รวมด้วย (n=6)

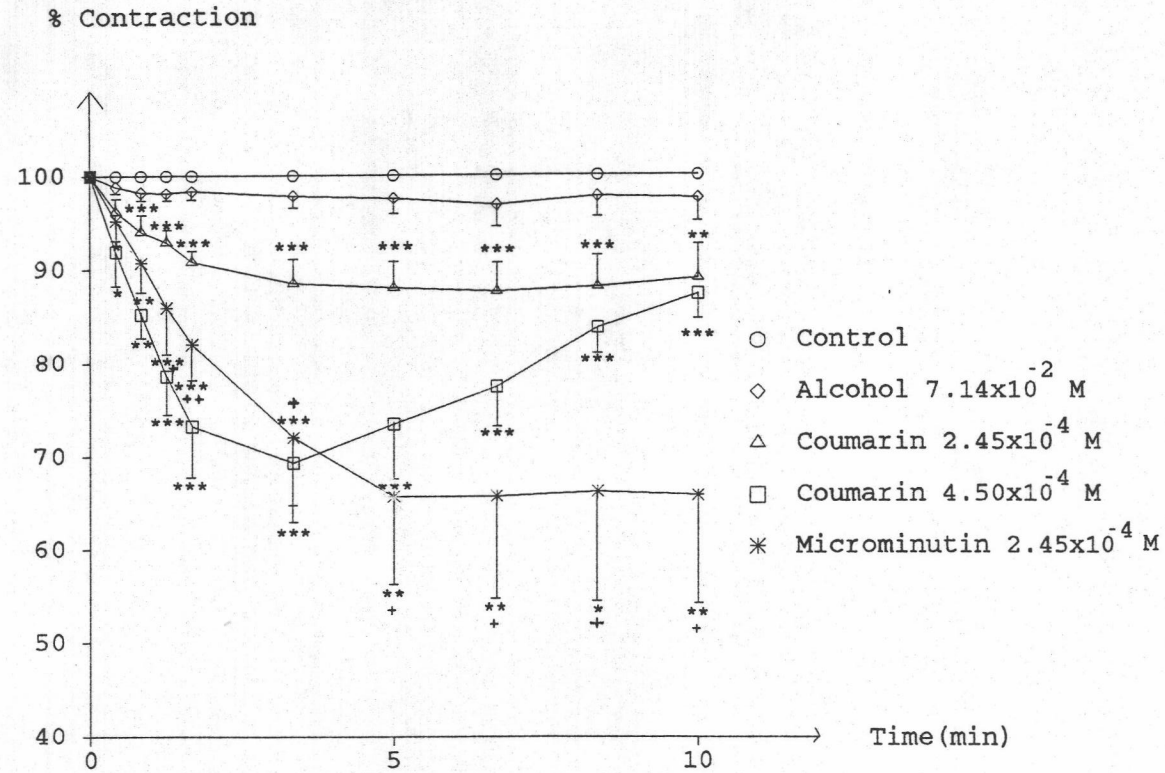




รูปที่ 20 แสดงผลของ coumarin 4.50×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือด ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M เปรียบเทียบเมื่อให้เฉพาะ coumarin และเมื่อให้ atropine, acetylcholine ร่วมด้วย (n=6)



รูปที่ 21 แสดงผลของ microminutin 2.45×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M เปรียบเทียบเมื่อให้เฉพาะ microminutin และเมื่อให้ atropine, acetylcholine ร่วมด้วย (n=6)

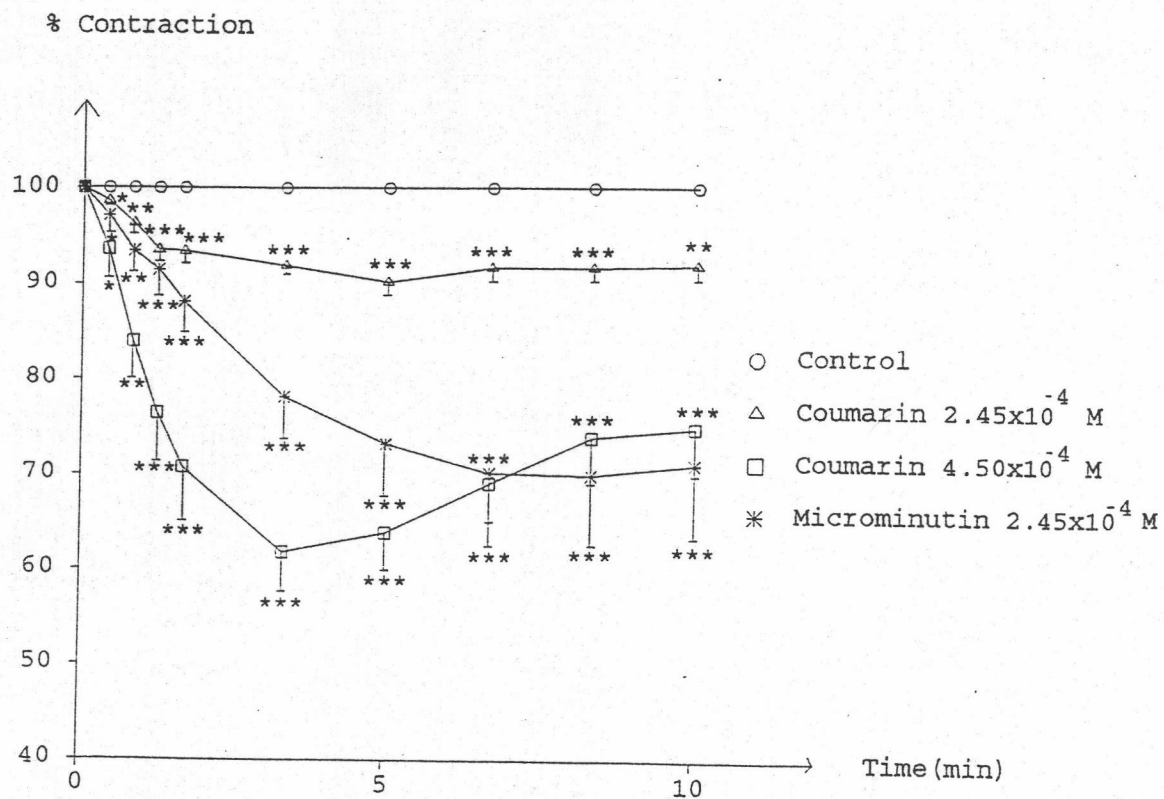


รูปที่ 22 แสดงผลของ coumarin 2.45×10^{-4} , 4.50×10^{-4} M และ microminutin 2.45×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือด (มี endothelium) ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M เปรียบเทียบกับ control (maximum contraction)

* p < 0.05 ** p < 0.025 *** p < 0.01

เปรียบเทียบ coumarin 2.45×10^{-4} M กับ microminutin 2.45×10^{-4} M

+ p < 0.05 ++ p < 0.01

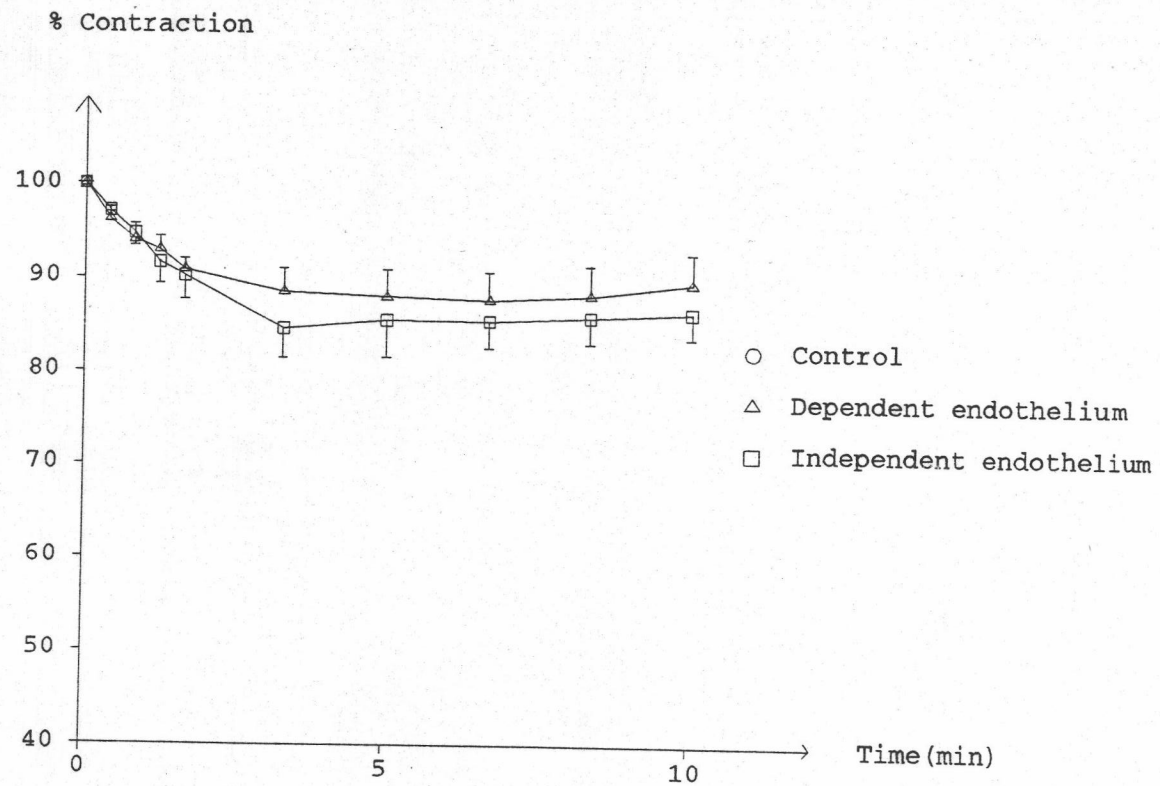


รูปที่ 23 แสดงผลของ coumarin 2.45×10^{-4} , 4.50×10^{-4} M และ microminutin 2.45×10^{-4} M เมื่อให้ร่วมกับ Atropine 10^{-5} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือด (มี endothelium) ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PE 10^{-6} M เปรียบเทียบกับ control (maximum contraction)

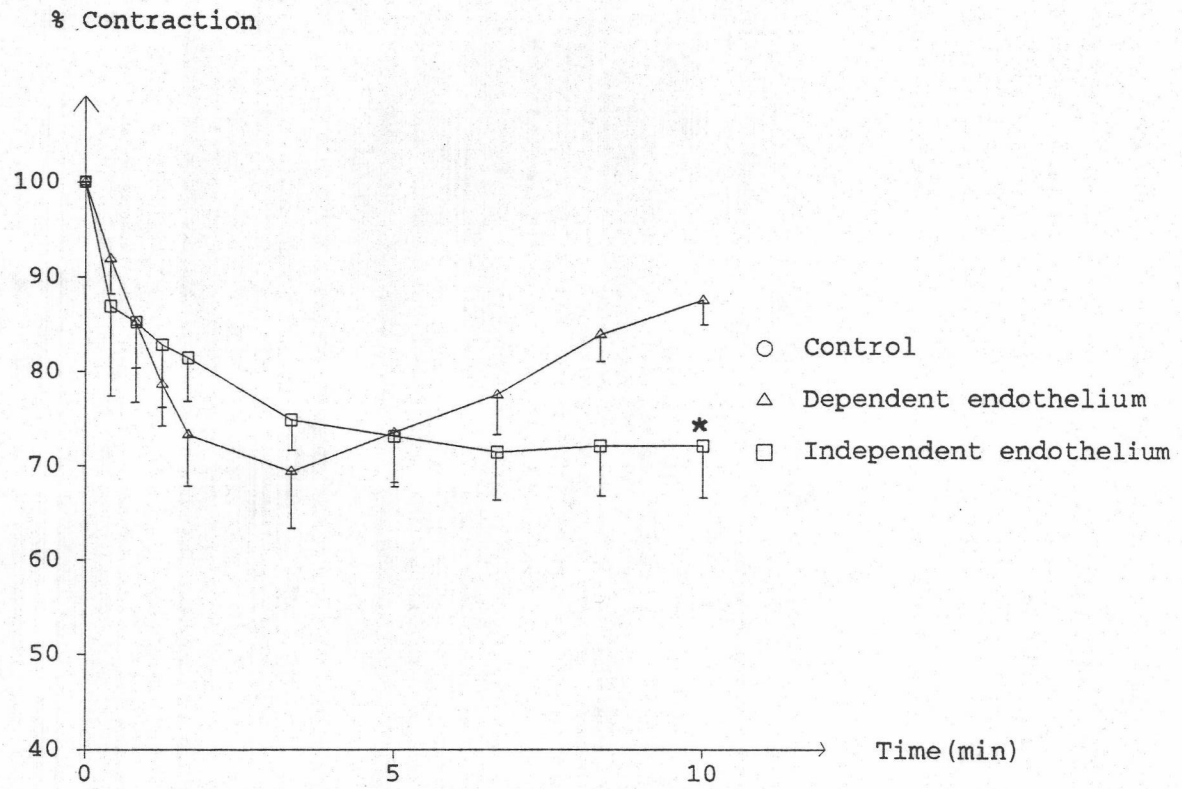
* $p < 0.05$

** $p < 0.025$

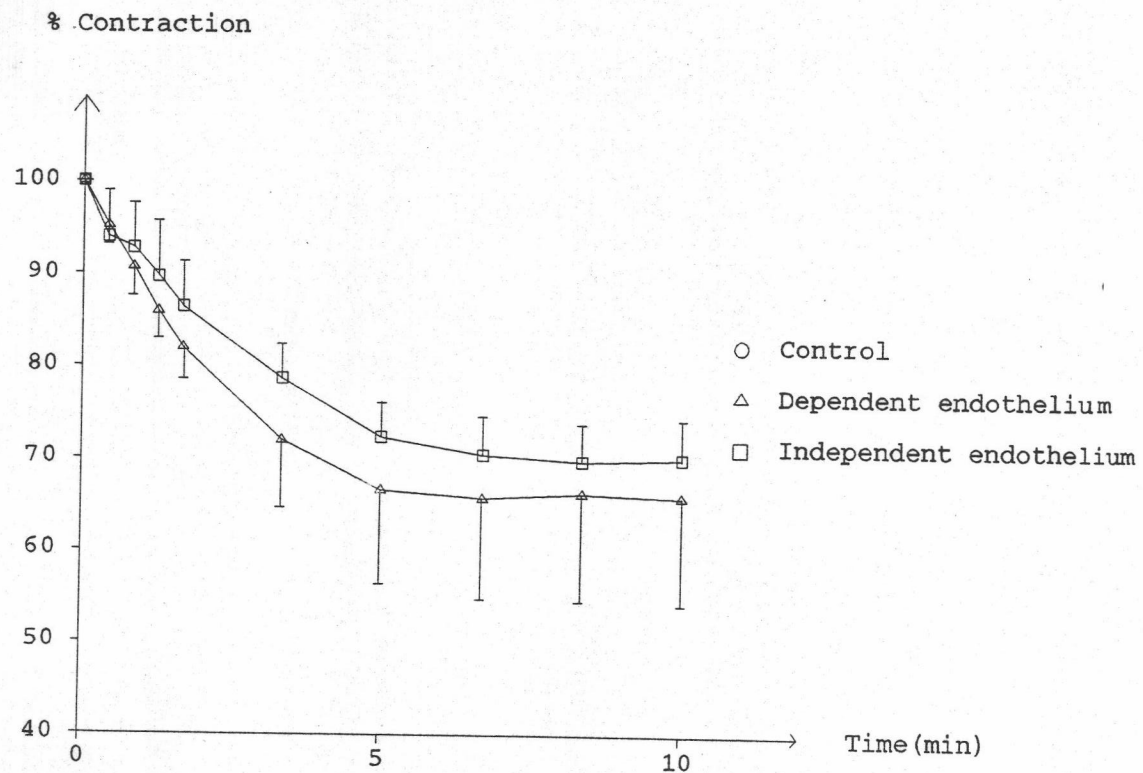
*** $p < 0.01$



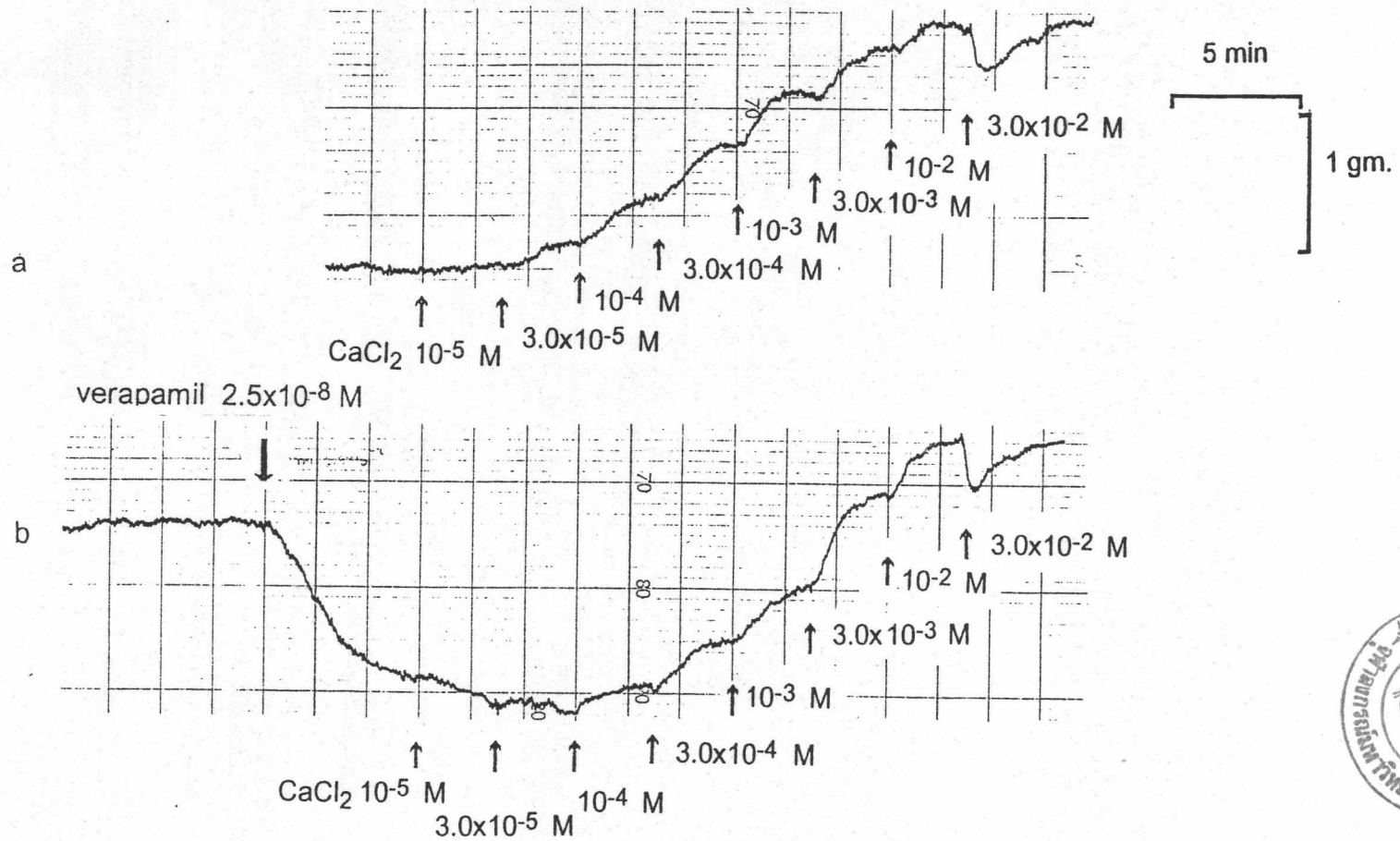
รูปที่ 24 แสดงผลของ coumarin 2.45×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดเปรียบเทียบ
 เมื่อมี และไม่มีเยื่อหลอดเลือด (endothelium) ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย
 $PE10^{-6}$ M (n=6)



รูปที่ 25 แสดงผลของ coumarin 4.50×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดเปรียบเทียบ
 เมื่อมี และไม่มีเยื่อหลอดเลือด (endothelium) ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย
 $PE10^{-6}$ M (n=6)
 * p < 0.05

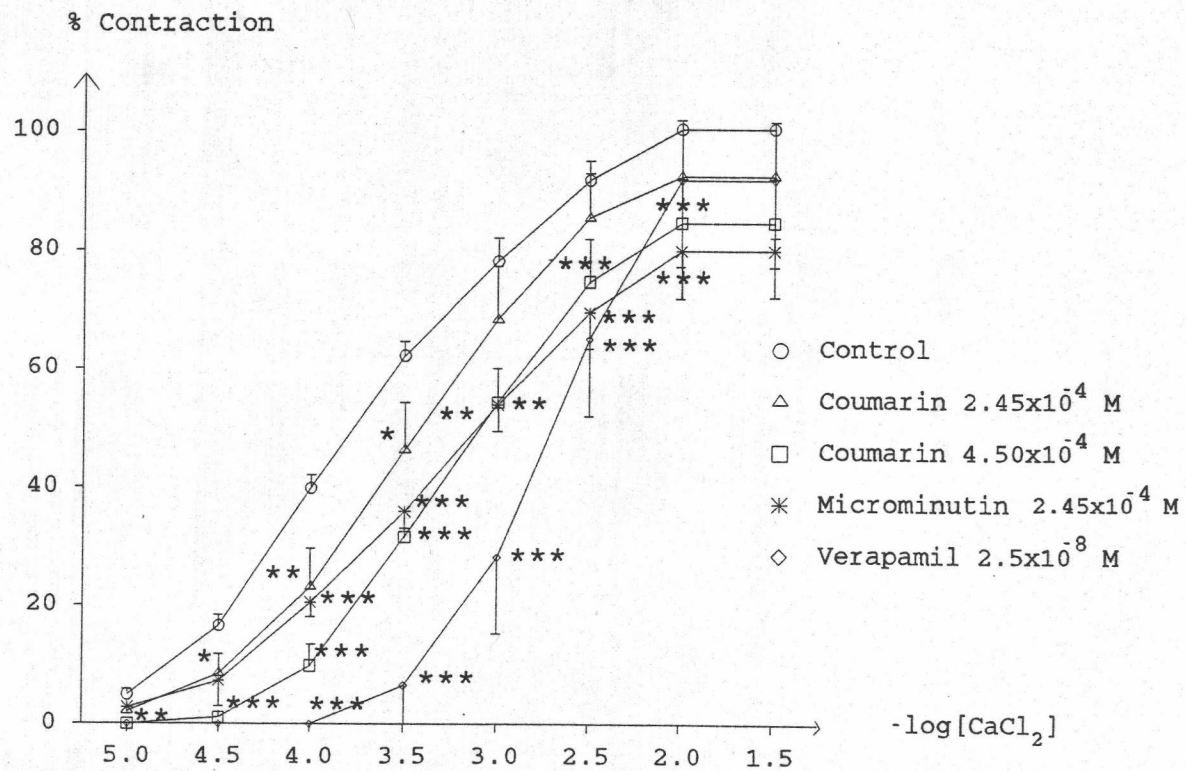


รูปที่ 26 แสดงผลของ microminutin 2.45×10^{-4} M ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดเปรียบเทียบ
 เมื่อมี และไม่มีเยื่อหลอดเลือด (endothelium) ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย
 $PE10^{-6}$ M (n=6)



รูปที่ 27 a. แสดงการกระตุ้นหลอดเลือดด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve
 b. แสดงการยับยั้ง CaCl_2 ที่กระตุ้นหลอดเลือดแบบ cumulative dose-response curve ของ verapamil 2.5×10^{-5} M





รูปที่ 28 แสดงผลของ coumarin 2.45×10^{-4} , 4.50×10^{-4} M, microminutin 2.45×10^{-4} M, verapamil 2.5×10^{-8} M ต่อ cumulative dose response ของ CaCl_2

* $p < 0.05$
 ** $p < 0.025$
 *** $p < 0.01$

ตารางที่ 2 แสดง PD'_2 values ของ coumarin และ microminutin คำนวณจาก cumulative log dose-response curve ซึ่งได้จากการกระตุ้นหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวด้วย $CaCl_2$

Antagonist	Log affinity of the antagonist
Coumarin 2.45×10^{-4} M	2.5449
Coumarin 4.50×10^{-4} M	2.4179
Microminutin 2.45×10^{-4} M	3.0199
Verapamil 2.50×10^{-8} M	7.6955

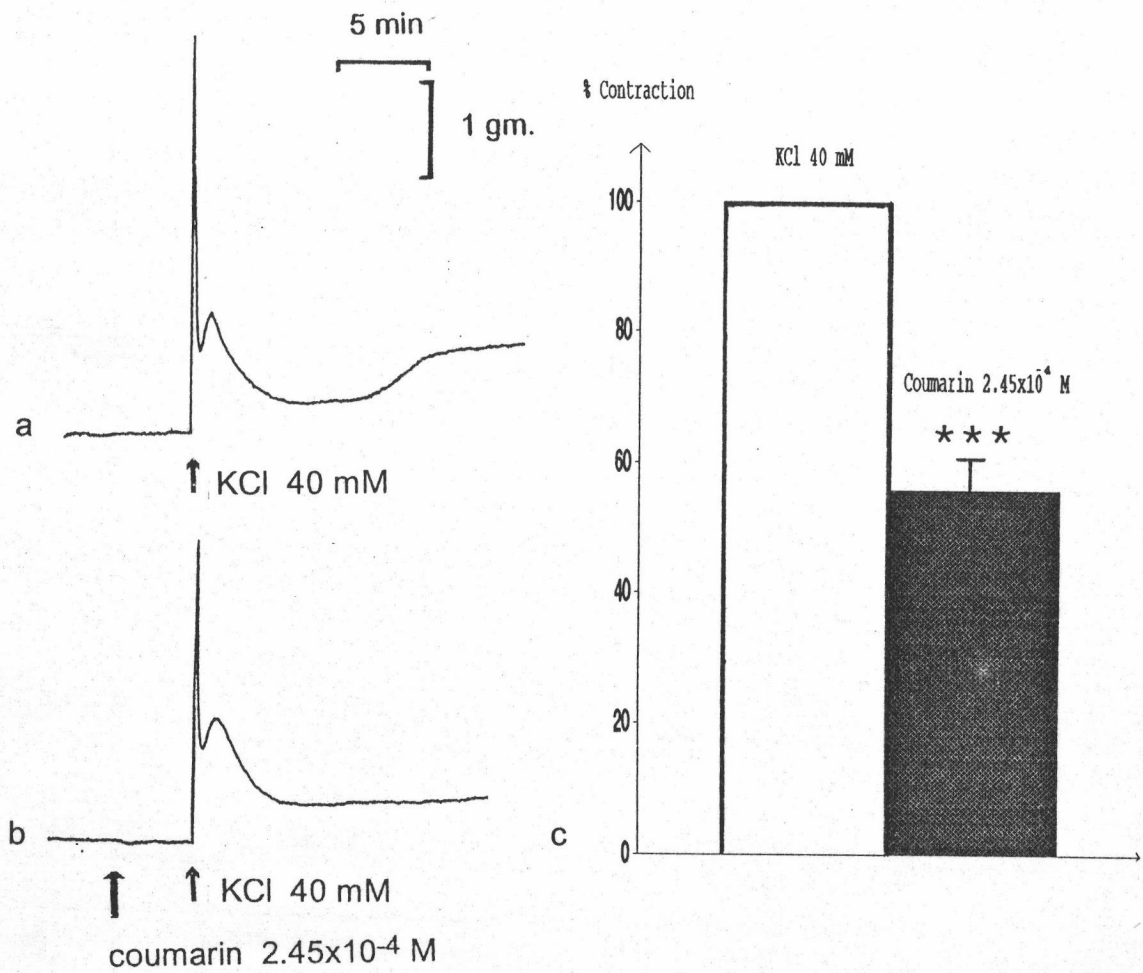
contraction ได้แต่ลด tonic contraction ได้น้อยมากในระยะแรก และเมื่อเวลาผ่านไป tone ของ tonic contraction จะไปเพิ่มขึ้นเหมือน control (รูป 29a, b) และได้รวบรวมผลการทดลอง นำมาเขียนกราฟแสดงในรูป 29c coumarin 2.45×10^{-4} M ลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) คือลดได้ 44.1 % coumarin 4.5×10^{-4} M สามารถลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยลดได้ 70.86 % (รูป 30c) ลด tonic contraction ได้เล็กน้อย ดังแสดงในรูป 30a, b

microminutin 2.45×10^{-4} M ลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยลดได้ 49.21 % และลด tonic contraction ได้เล็กน้อย ลักษณะการลดของ tonic contraction จะเหมือนกับการใช้ coumarin 2.45×10^{-4} M ทดสอบ (แสดงในรูป 31 b) ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติพบว่า coumarin 2.45×10^{-4} M และ microminutin 2.45×10^{-4} M สามารถลด phasic contraction เนื่องจาก การกระตุ้นด้วย KCl ได้ไม่แตกต่างกัน

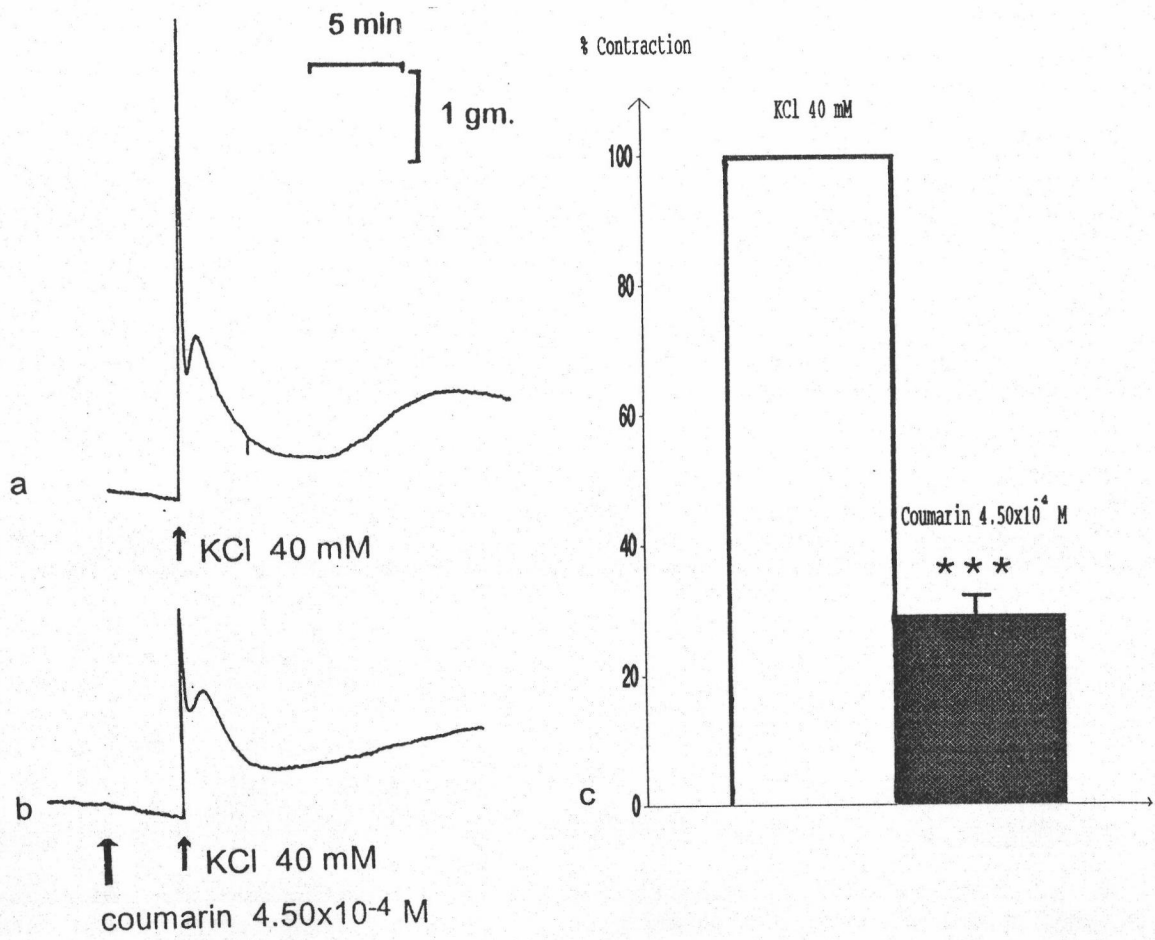
4.2 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$

กระตุ้นท่อนำสุจิด้วย $BaCl_2$ 2×10^{-5} M การหดเกร็งของท่อนำสุจิ พบเป็น phasic contraction ตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งจะคงอยู่นานกว่า 20 นาที เมื่อให้ coumarin 2.45×10^{-4} M ก่อนกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ พบว่าสามารถลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยลดได้ 18.32 % แต่ rhythmic contraction เปลี่ยนแปลงน้อยมาก (รูป 32)

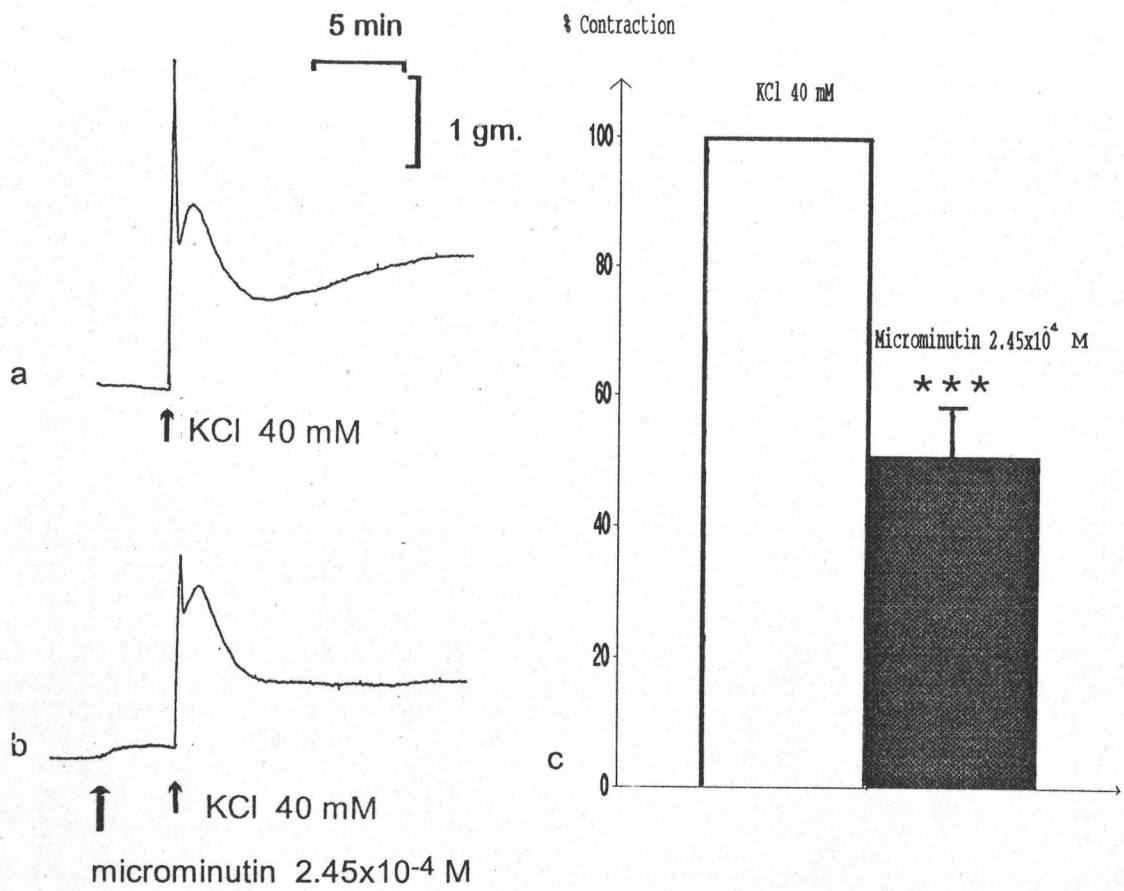
coumarin 4.5×10^{-4} M พบว่าสามารถลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยลดได้ 19.54 % ไม่ลด rhythmic contraction (รูป 33) microminutin 2.45×10^{-4} M ลด phasic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยลดได้ 17.09 % ไม่ลด rhythmic contraction ดัง แสดงผลในรูป 34 เมื่อเปรียบเทียบกับ coumarin 2.45×10^{-4} M



รูปที่ 29 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย KCl 40 mM
 b แสดงการใช้ coumarin 2.45x10⁻⁴ M ยับยั้งฤทธิ์ KCl 40 mM
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย KCl 40 mM เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 2.45x10⁻⁴ M (p < 0.01) (n=6)



- รูปที่ 30
- a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย KCl 40 mM
 - b แสดงการใช้ coumarin 4.50×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ KCl 40 mM
 - c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย KCl 40 mM เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 4.50×10^{-4} M ($p < 0.01$) ($n=6$)



- รูปที่ 31
- a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย KCl 40 mM
 - b แสดงการใช้ microminutin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ KCl 40 mM
 - c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย KCl 40 mM เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย microminutin 2.45×10^{-4} M ($p < 0.01$) ($n=6$)

พบว่า phasic contraction เนื่องจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 2×10^{-5} M ได้ไม่แตกต่างกัน

จากการทดลองให้ db-cAMP ไปยับยั้งฤทธิ์ของ BaCl_2 2×10^{-5} M พบว่า db-cAMP 10^{-5} M ไม่ลดทั้ง phasic contraction และ rhythmic contraction (รูป 35a, b) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 10^{-4} M พบว่าลด phasic contraction ได้ แต่ rhythmic contraction ไม่ลด (รูป 35c,d)

4.3 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Noradrenaline

4.3.1 ผลต่อการหดเกร็งเมื่อท่อน้ำอสุจิอยู่ในสารละลาย potassium depolarizing Tyrode

เมื่อใช้สารละลาย potassium-depolarizing Tyrode ที่ใส่ EGTA (ethyleneglycol-bis-(β -aminoethyl) N, N, N, N-tetraacetic acid) 0.1 M พบว่า noradrenaline 3×10^{-5} M ไม่สามารถกระตุ้นให้ท่อน้ำอสุจิหดเกร็งได้แต่เมื่อ incubate ท่อน้ำอสุจิในสารละลาย potassium-depolarizing Tyrode ที่มี EGTA ก่อนจน stable แล้วเปลี่ยนเป็นสารละลาย potassium-depolarizing Tyrode ที่ไม่มี EGTA จะพบการหดเกร็งของท่อน้ำอสุจิเมื่อกระตุ้นด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M โดยการหดเกร็งจะเป็นแบบ transient และเมื่อกระตุ้นซ้ำด้วย noradrenaline ขนาดเดิม พบว่าความสูงของ transient จะลดลง หรือไม่ (รูป 36a)

coumarin 2.45×10^{-4} M ลดความสูงของ transient contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยลดได้ 24.4 % (รูป 37)

coumarin 4.5×10^{-4} M ลดความสูงของ transient contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยลดได้ 42.0 % (รูป 38)

microminutin 2.45×10^{-4} M ลดความสูงของ transient contraction ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยลดได้ 49.82 % (รูป 39) เมื่อเปรียบเทียบกับ coumarin 2.45×10^{-4} M พบว่า microminutin 2.45×10^{-4} M สามารถลด transient contraction เนื่องจากกระตุ้นด้วย noradrenaline ในสารละลายสภาพ potassium-depolarizing Tyrode ได้มากกว่า coumarin 2.45×10^{-4} M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

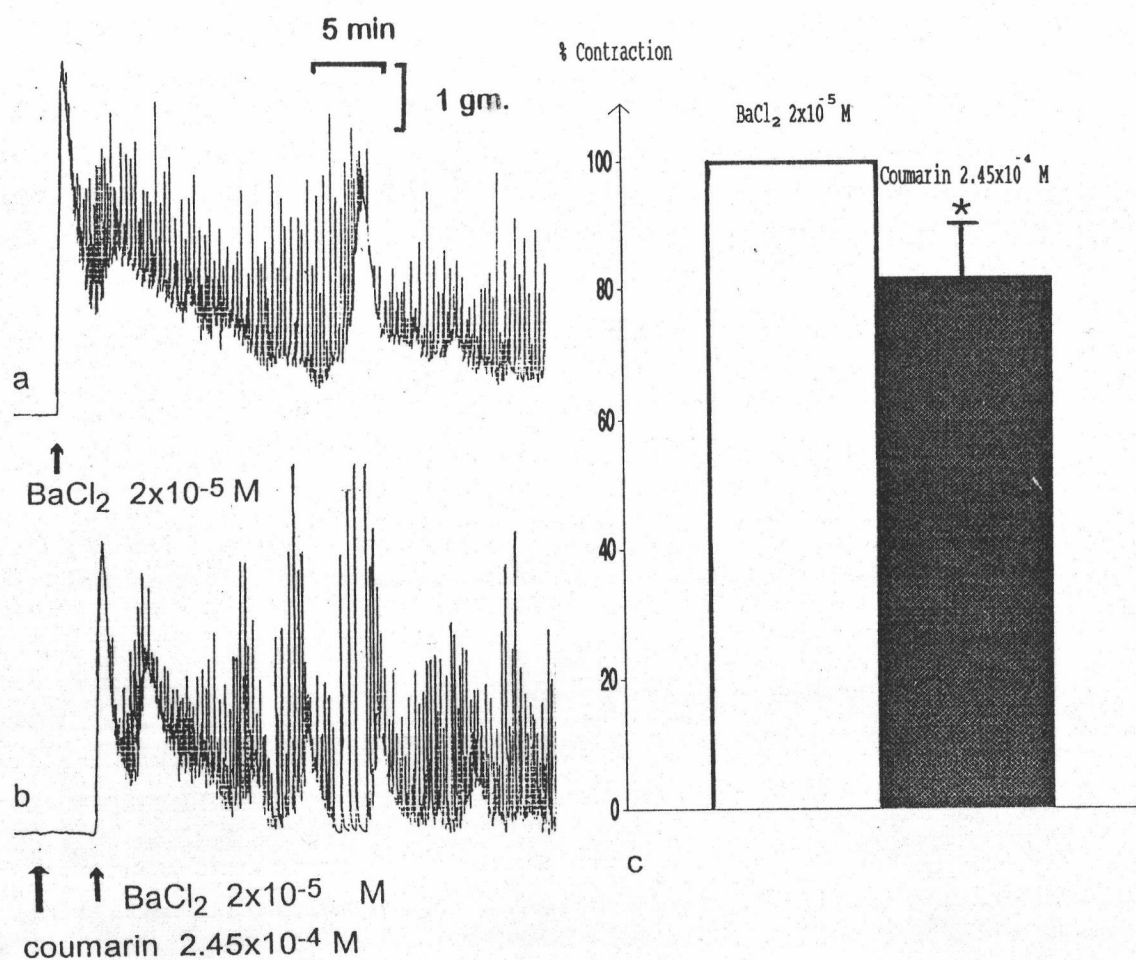
ได้ทดลองให้ verapamil 2.5×10^{-4} M พบว่ายับยั้งการเกิด transient contraction เมื่อกระตุ้นก่อนนำอสุจิด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M ได้ อย่างสมบูรณ์ (n=4) ดังรูป 36b

4.3.2 ผลต่อการหดเกร็งเมื่อก่อนนำอสุจิอยู่ในสารละลาย Krebs Henseleit

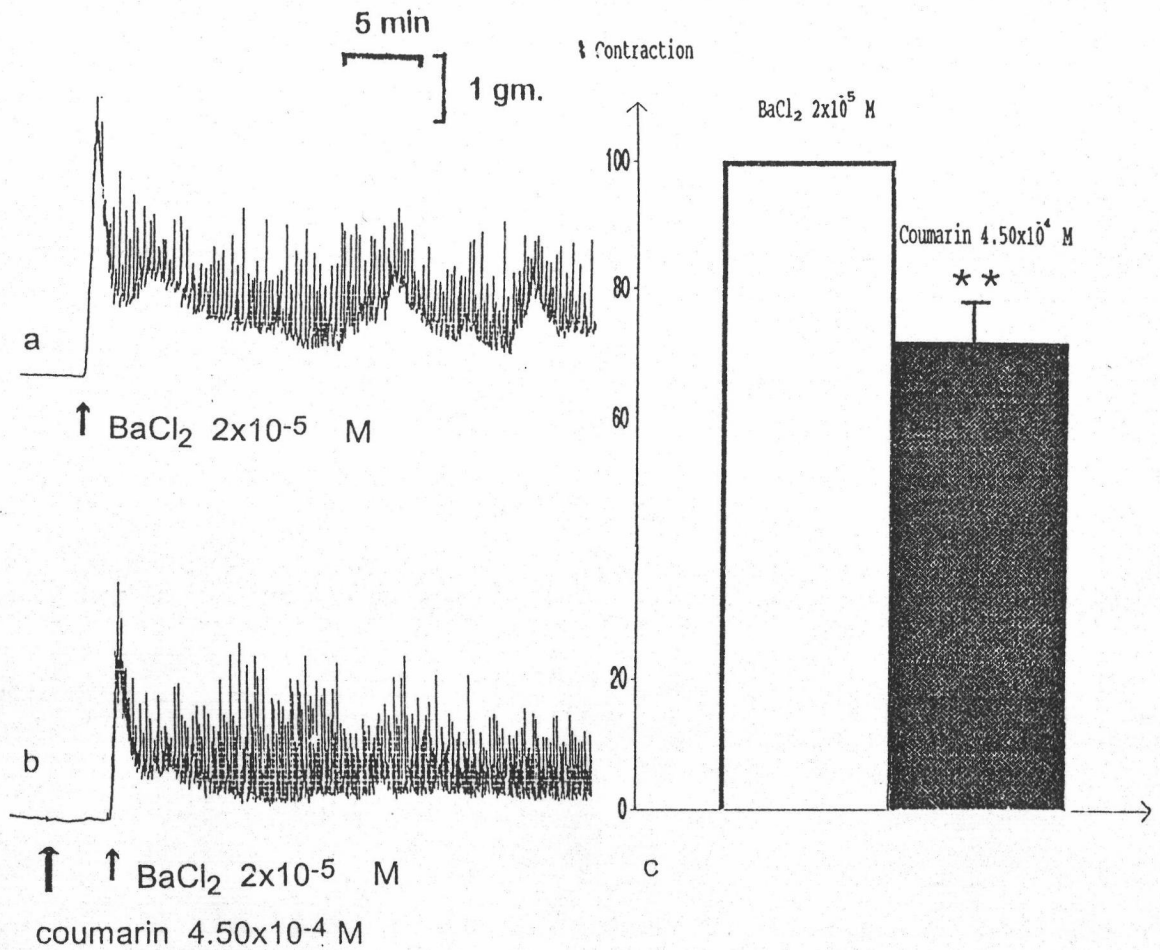
กระตุ้นก่อนนำอสุจิด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M การหดเกร็งของก่อนนำอสุจิจะเป็น phasic contraction ตามด้วย rhythmic contraction หลังการกระตุ้น ประมาณ 15-20 นาที rhythmic contraction จะหายไป พบว่า coumarin 2.45×10^{-4} M สามารถลด phasic contraction ได้เล็กน้อย คือลดได้ 6.91 % แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (รูป 40b) และลดความถี่ของ rhythmic contraction ได้ 39.32 % (รูป 43a)

coumarin 4.5×10^{-4} M สามารถลดทั้งความถี่และความสูงของ rhythmic contraction โดยลดความถี่ได้ 63.92 % (รูป 43b) ส่วน phasic contraction ลดลงได้แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติคือลดได้ 18.39 % (รูป 41c)

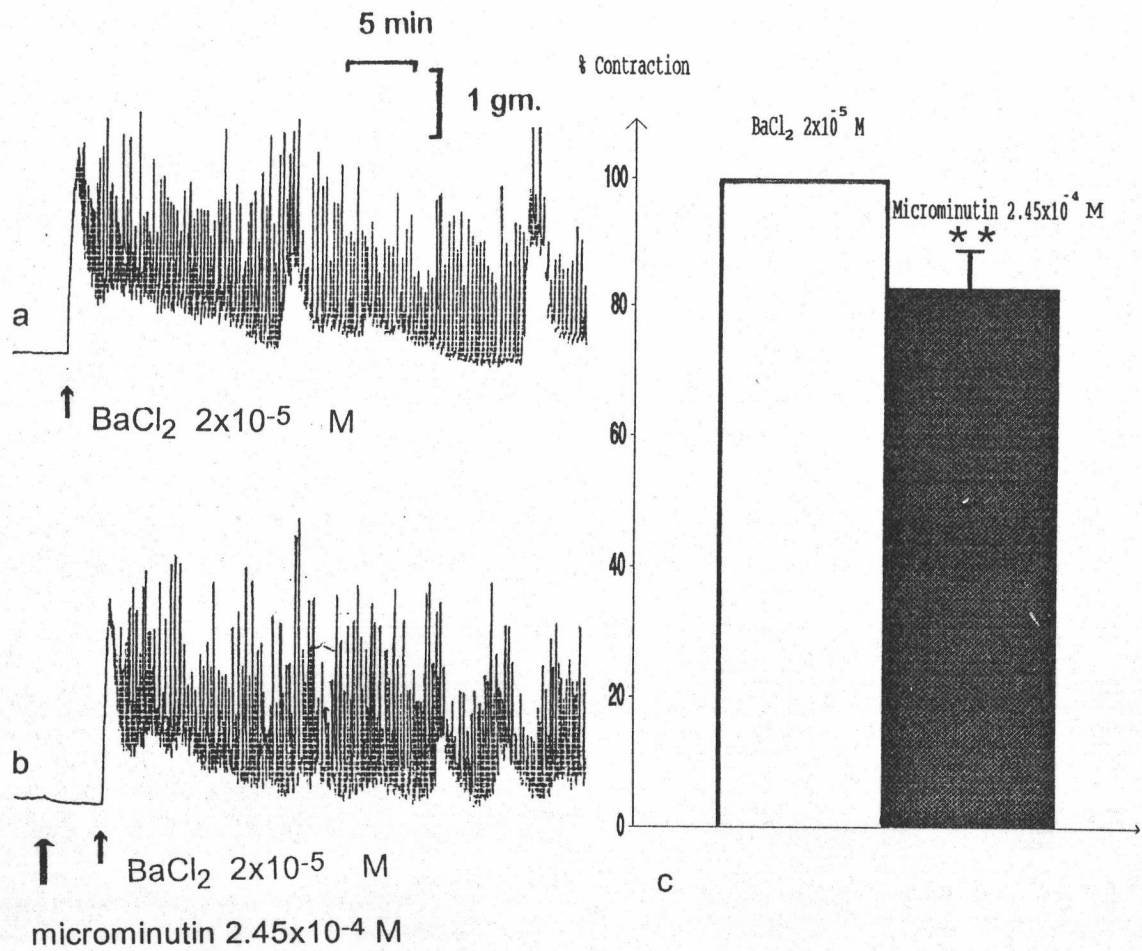
microminutin 2.45×10^{-4} M ให้ผลการทดสอบเหมือนกับ coumarin 2.45×10^{-4} M คือลด phasic contraction ได้แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยลดได้ 3.4 % (รูป 42c) และลดความถี่ของ rhythmic contraction ได้ 29.85 %



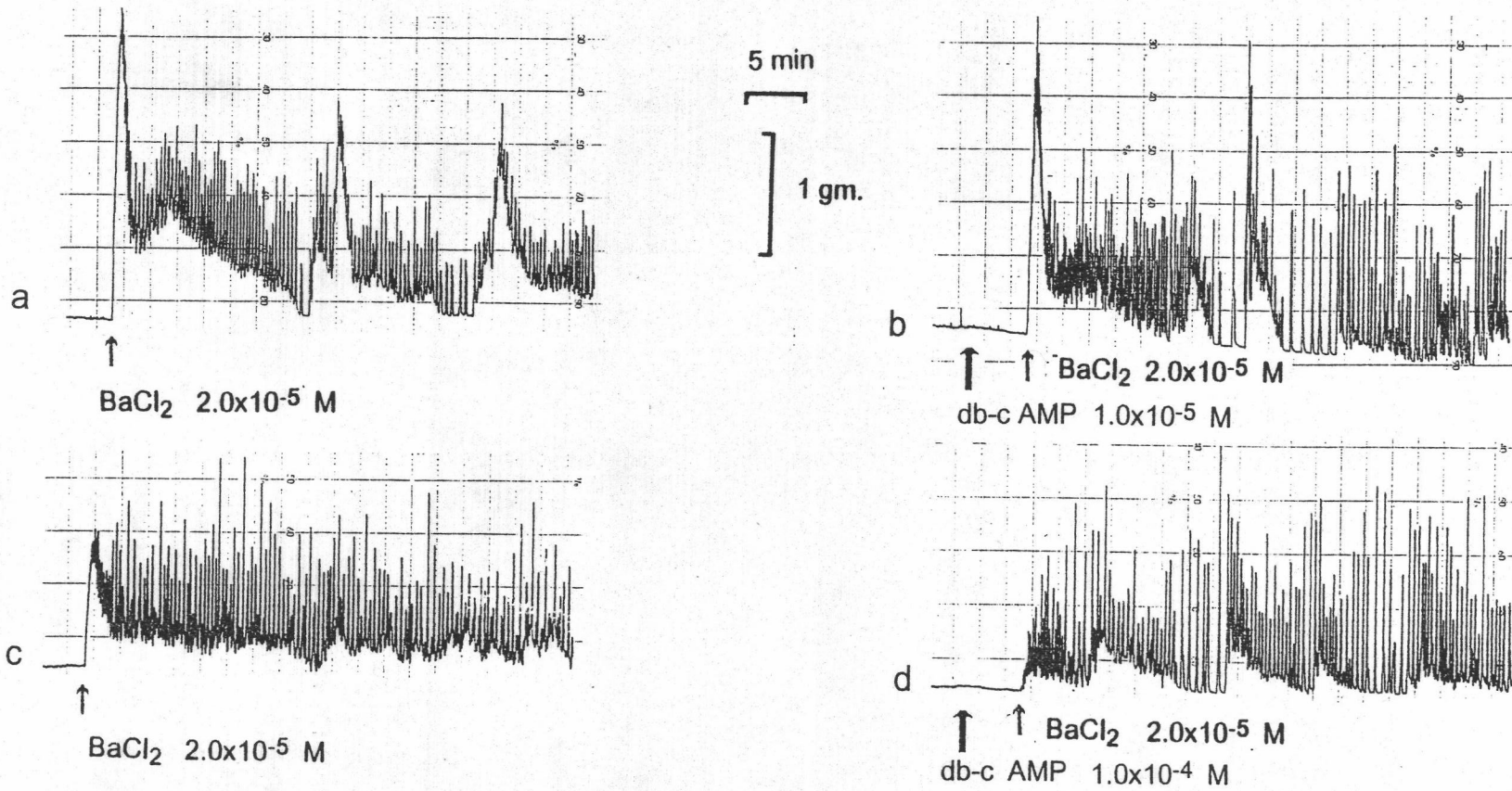
- รูปที่ 32 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย $\text{BaCl}_2 \ 2 \times 10^{-5} \ \text{M}$
 b แสดงการใช้ coumarin $2.45 \times 10^{-4} \ \text{M}$ ยับยั้งฤทธิ์ $\text{BaCl}_2 \ 2 \times 10^{-5} \ \text{M}$
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 \ 2 \times 10^{-5} \ \text{M}$ เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin $2.45 \times 10^{-4} \ \text{M}$ ($p < 0.05$) ($n=5$)



- รูปที่ 33 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย BaCl₂ 2x10⁻⁵ M
 b แสดงการใช้ coumarin 4.50x10⁻⁴ M ยับยั้งฤทธิ์ BaCl₂ 2x10⁻⁵ M
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl₂ 2x10⁻⁵ M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 4.50x10⁻⁴ M (p < 0.025) (n=5)

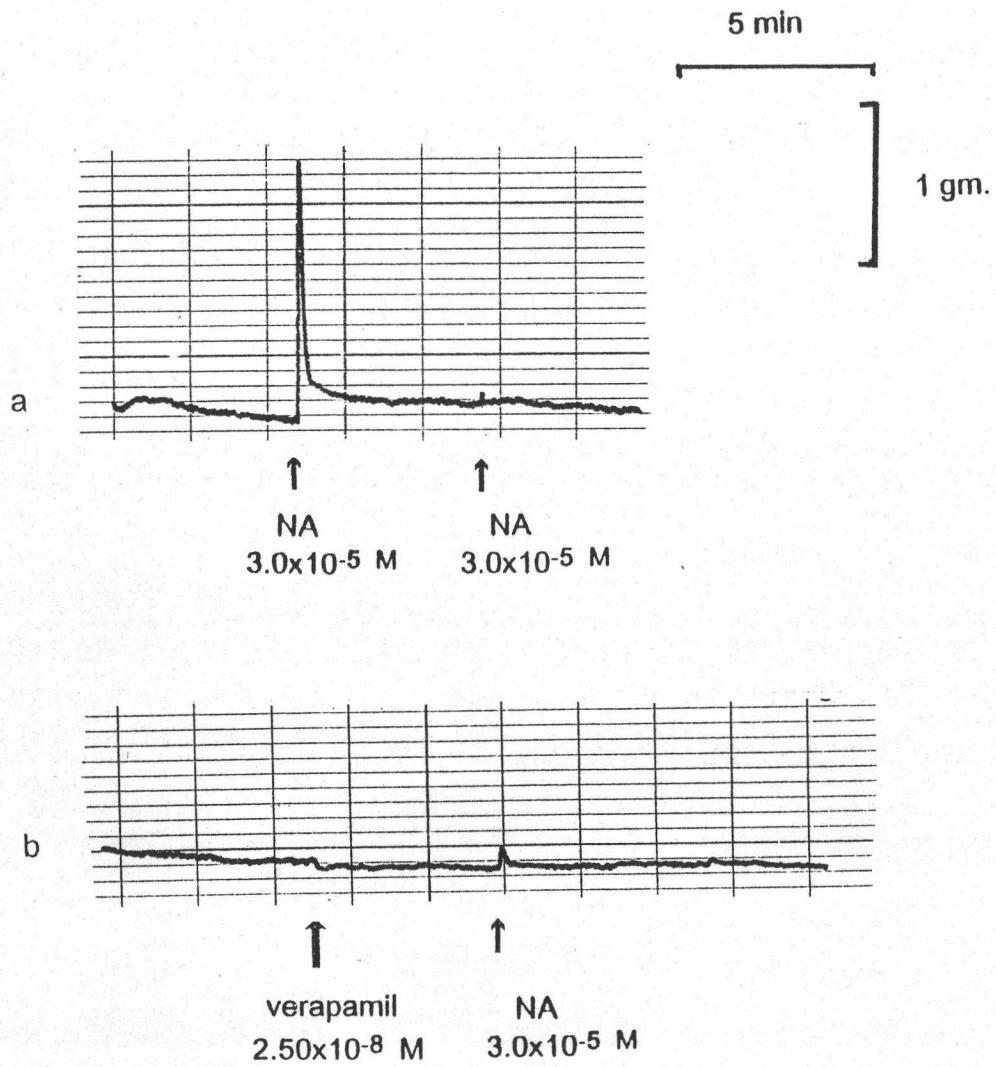


- รูปที่34 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ด้วย BaCl_2 2×10^{-5} M
 b แสดงการใช้ microminutin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ BaCl_2 2×10^{-5} M
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 2×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย microminutin 2.45×10^{-4} M ($p < 0.025$) ($n=5$)

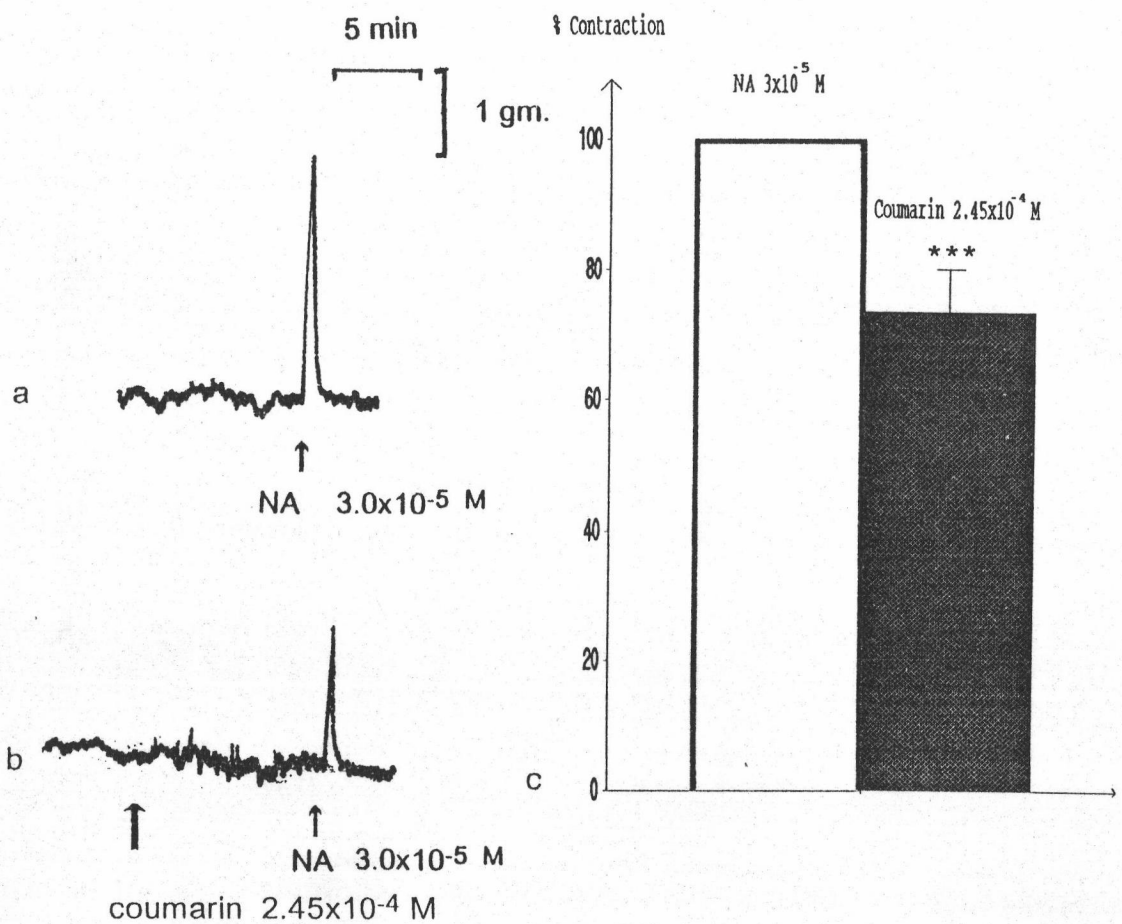


รูปที่ 35 แสดงการยับยั้งการหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl₂ 2.0x10⁻⁵ M ของ db-c AMP โดย

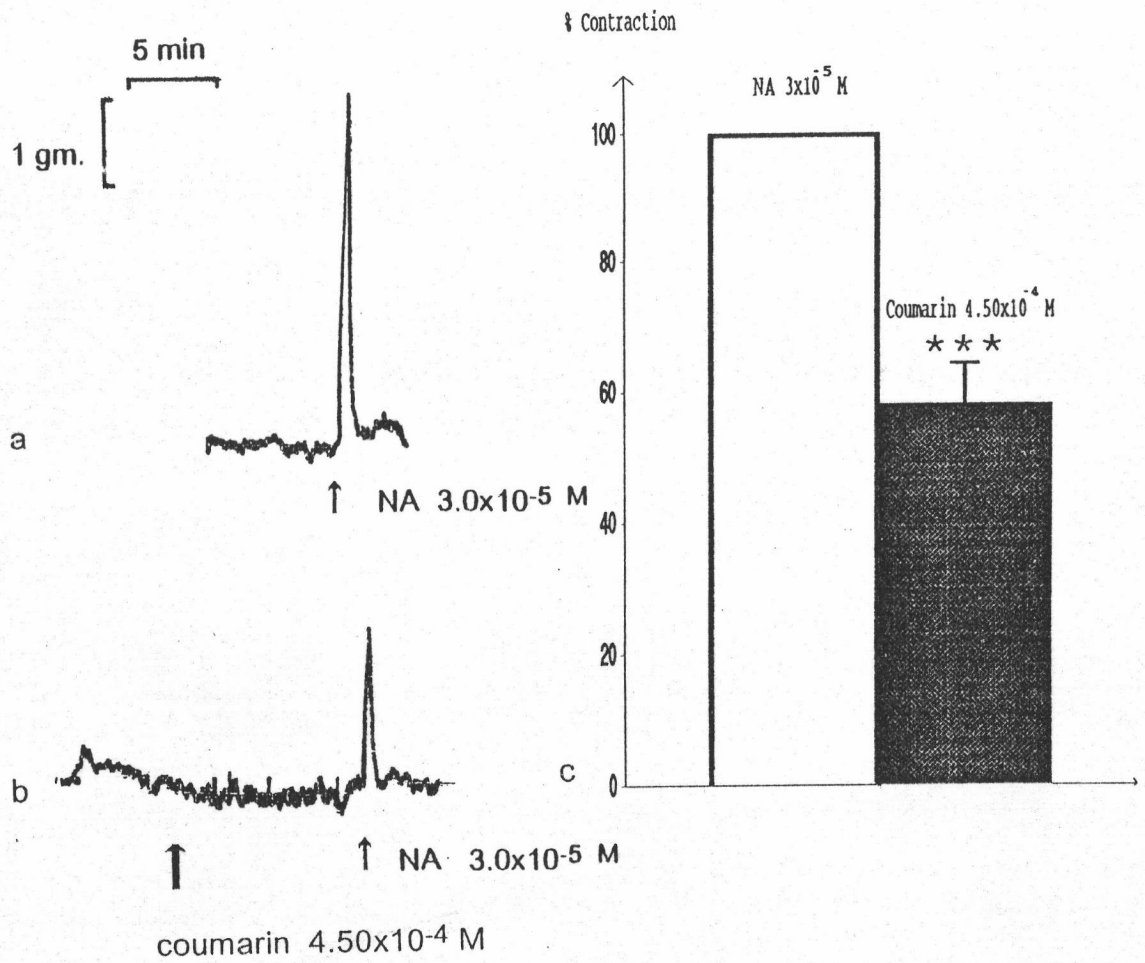
- a. เป็น control ของการใช้ db-c AMP 1.0x10⁻⁵ M ยับยั้งการหดเกร็ง
- b. การใช้ db-c AMP 1.0x10⁻⁵ M ยับยั้งการหดเกร็ง
- c. เป็น control ของการใช้ db-c AMP 1.0x10⁻⁴ M ยับยั้งการหดเกร็ง
- d. การใช้ db-c AMP 1.0x10⁻⁴ M ยับยั้งการหดเกร็ง



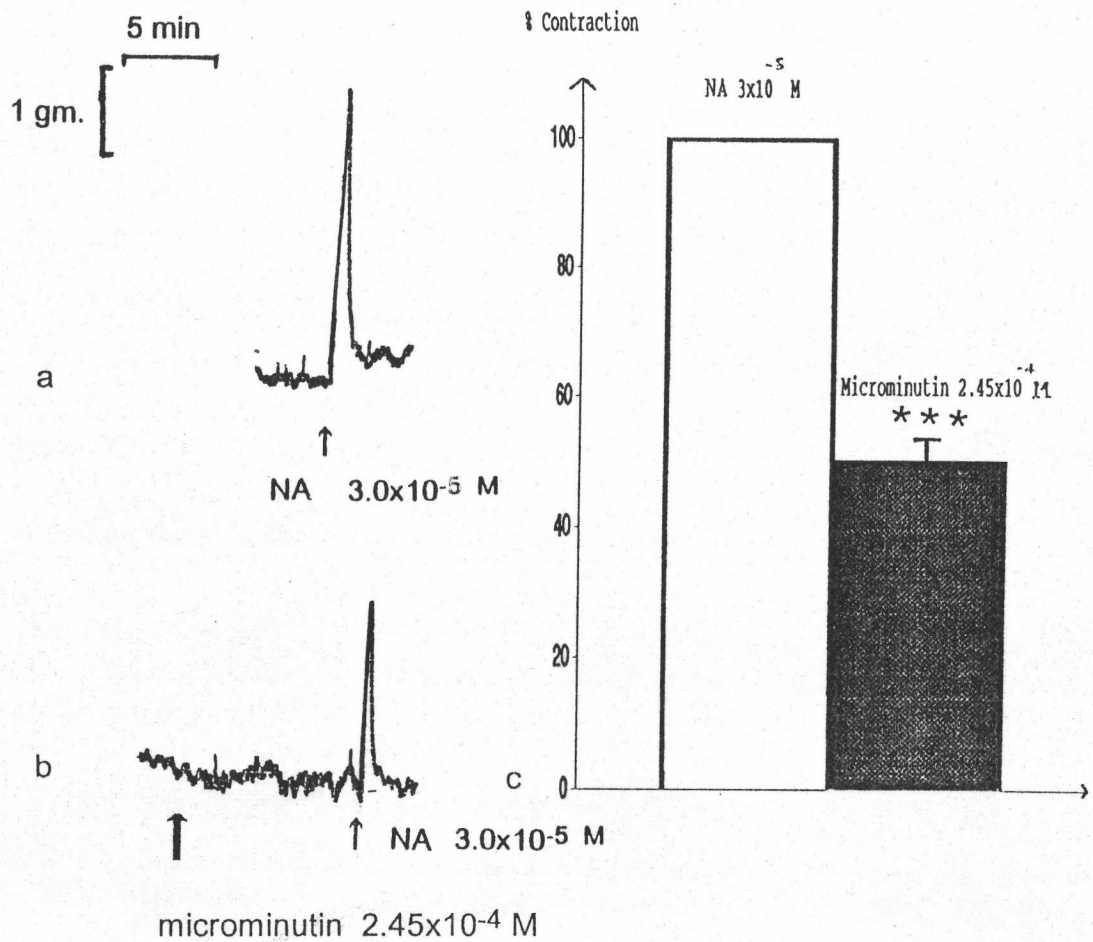
- รูปที่ 36 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ในสารละลายสภาพ high-potassium calcium-free depolarizing solution ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M ติดต่อกัน 2 ครั้ง
- b แสดงการยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M ในสารละลายสภาพ high-potassium calcium-free depolarizing solution ด้วย verapamil 2.5×10^{-8} M



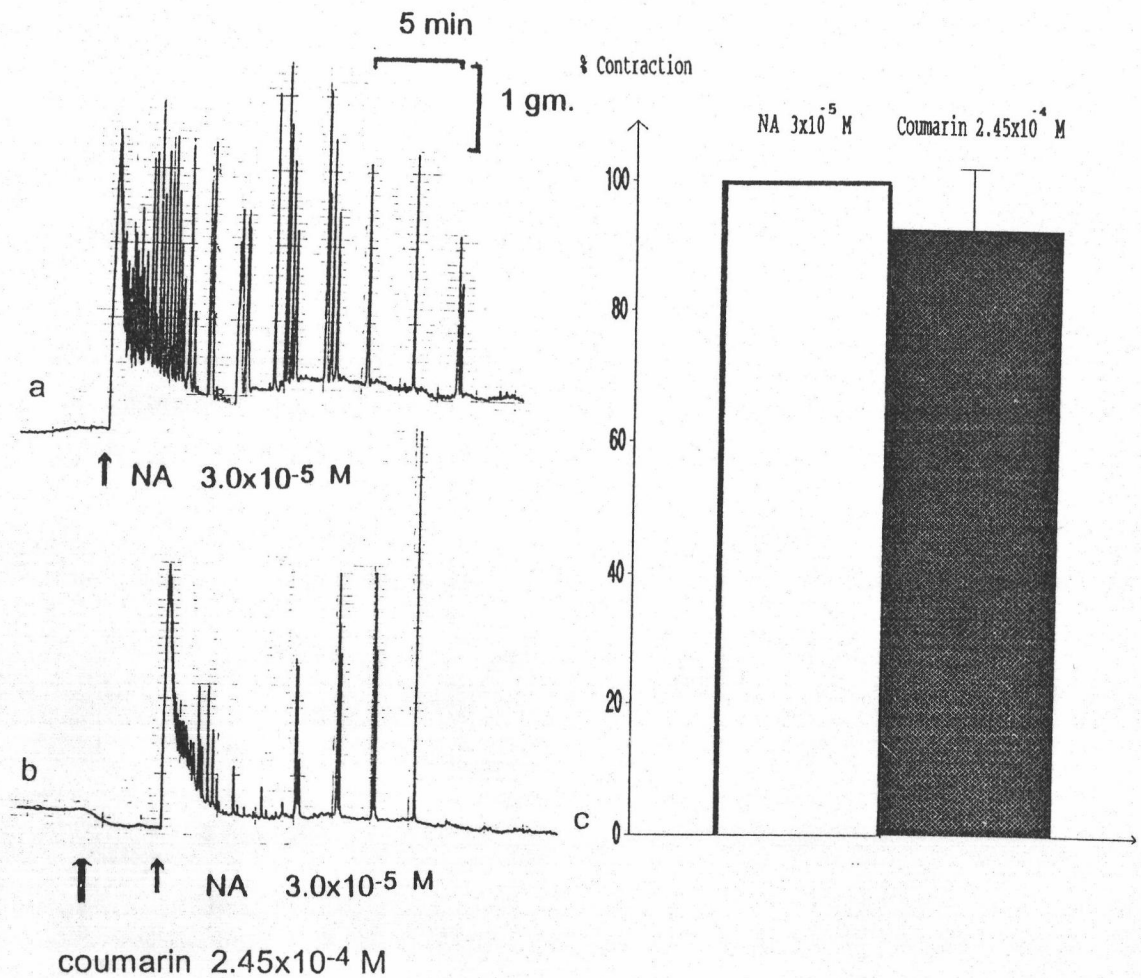
- รูปที่ 37 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลายสภาพ high potassium calcium-free depolarizing solution ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M
 b แสดงการใช้ coumarin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้น ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 2.45×10^{-4} M ($p < 0.01$) (n=6)



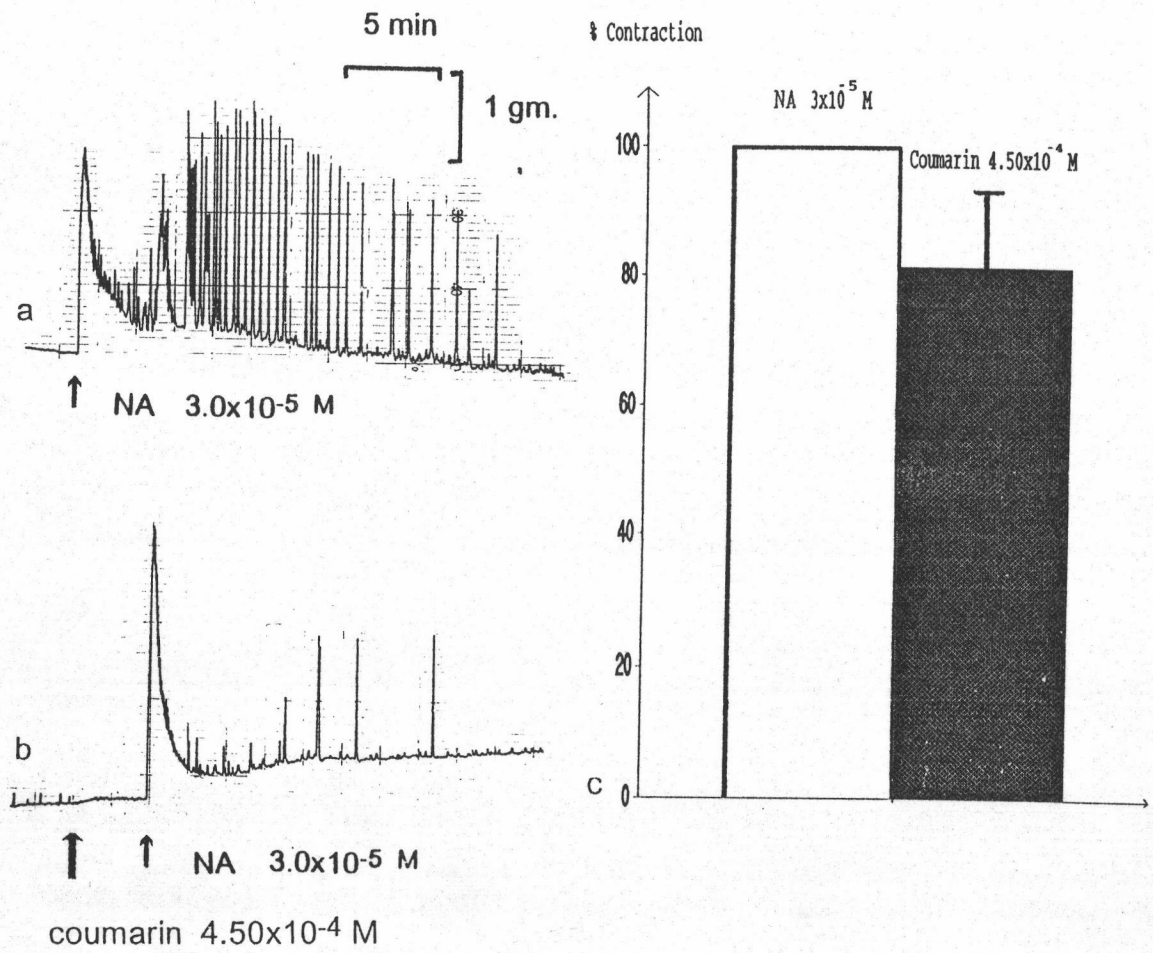
- รูปที่ 38 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลายสภาพ high potassium calcium-free depolarizing solution ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M
- b แสดงการใช้ coumarin 4.50×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M
- c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้น ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 4.50×10^{-4} M ($p < 0.01$) (n=6)



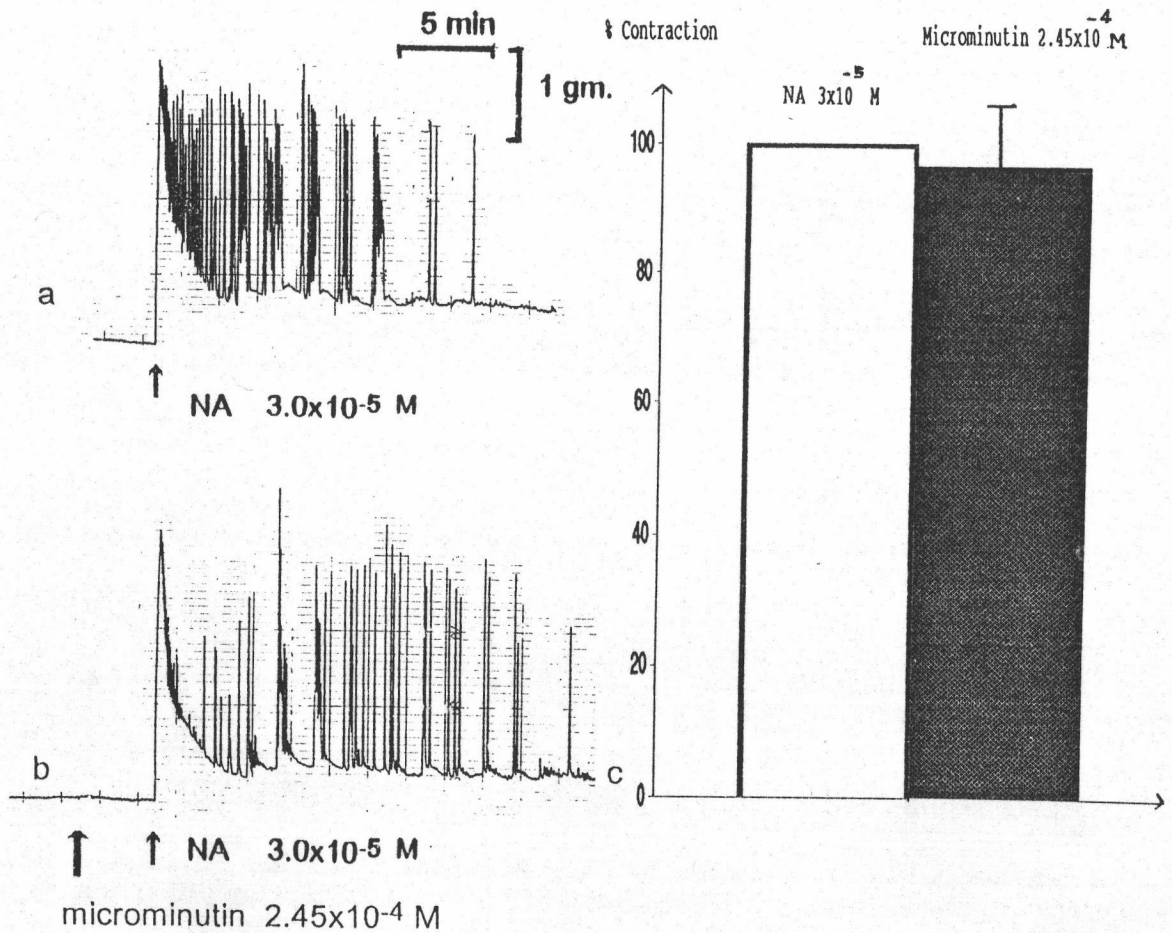
- รูปที่ 39 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลายสภาพ high potassium calcium-free depolarizing solution ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M
 b แสดงการใช้ microminutin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M
 c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้น ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย microminutin 2.45×10^{-4} M ($p < 0.01$) (n=6)



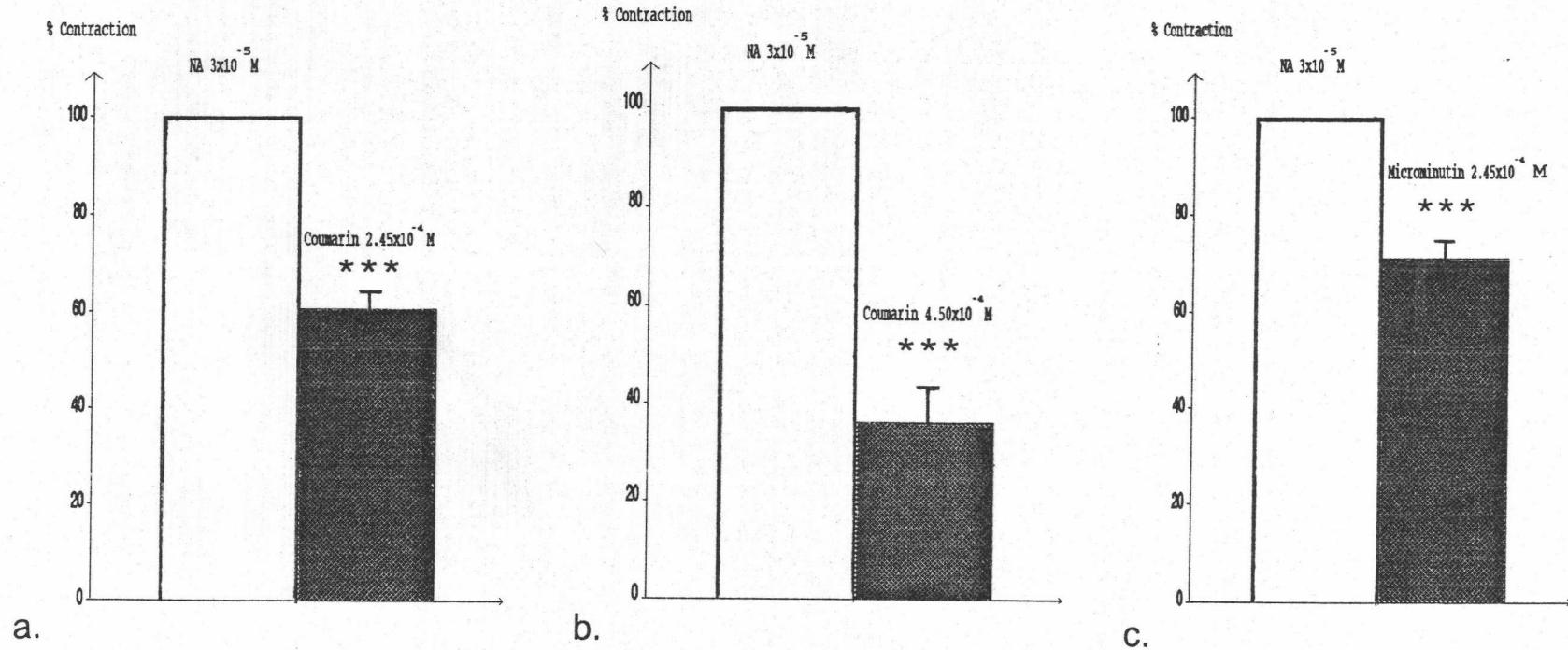
- รูปที่ 40 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลาย KHS ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M
- b แสดงการใช้ coumarin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M
- c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบphasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin 2.45×10^{-4} M (n=5)



- รูปที่ 41 a- แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลาย KHS ด้วย noradrenaline $3 \times 10^{-5} \text{ M}$
 b- แสดงการใช้ coumarin $4.50 \times 10^{-4} \text{ M}$ ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline $3 \times 10^{-5} \text{ M}$
 c- กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบphasic ของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย coumarin $4.50 \times 10^{-4} \text{ M}$ ($n=5$)

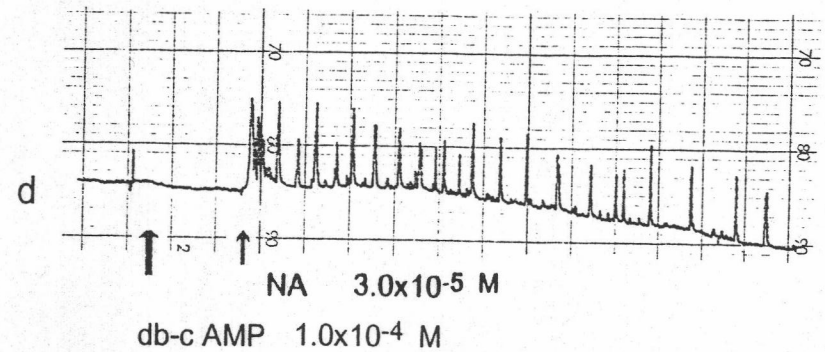
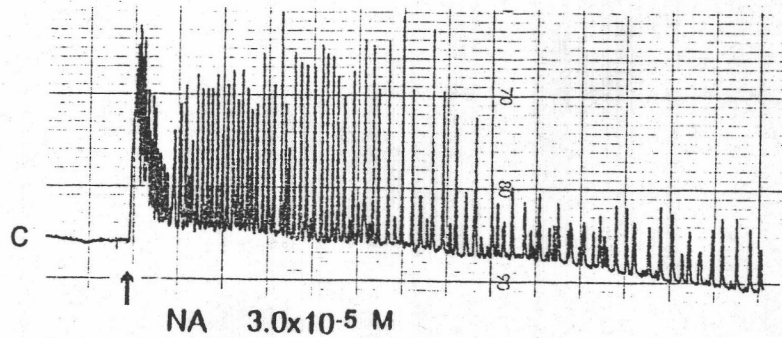
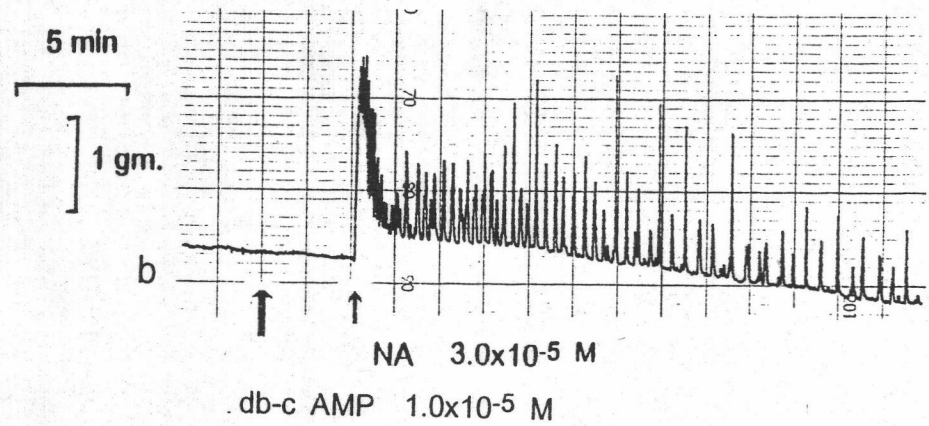
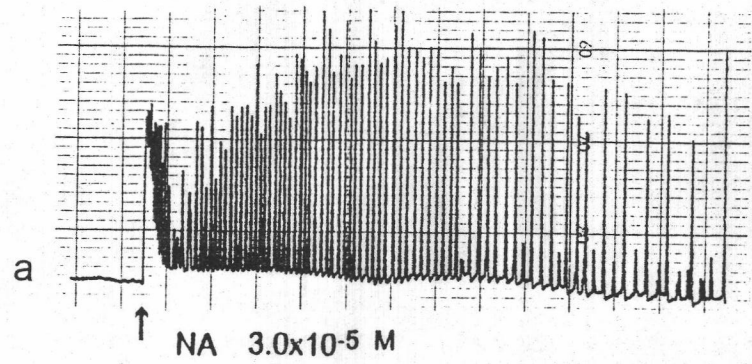


- รูปที่ 42 a แสดงการกระตุ้น vas deferens ซึ่งอยู่ในสารละลาย KHS ด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M
- b แสดงการใช้ microminutin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งฤทธิ์ noradrenaline 3×10^{-5} M
- c กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ phasic ของ Vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วย microminutin 2.45×10^{-4} M (n=5)



รูปที่ 43 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การหดเกร็งแบบ rhythmic ของ vas deferens ที่เกิดจากกระตุ้นด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M (ใน KHS) เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วยสารละลายคูมารินแต่ละชนิด (***, $p < 0.01$) ($n = 5$)

(a) coumarin 2.45×10^{-4} M, (b) coumarin 4.50×10^{-4} M, (c) microminutin 2.45×10^{-4} M



รูปที่ 44 แสดงการยับยั้งการหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline 3.0×10^{-5} M ของ db-c AMP โดย

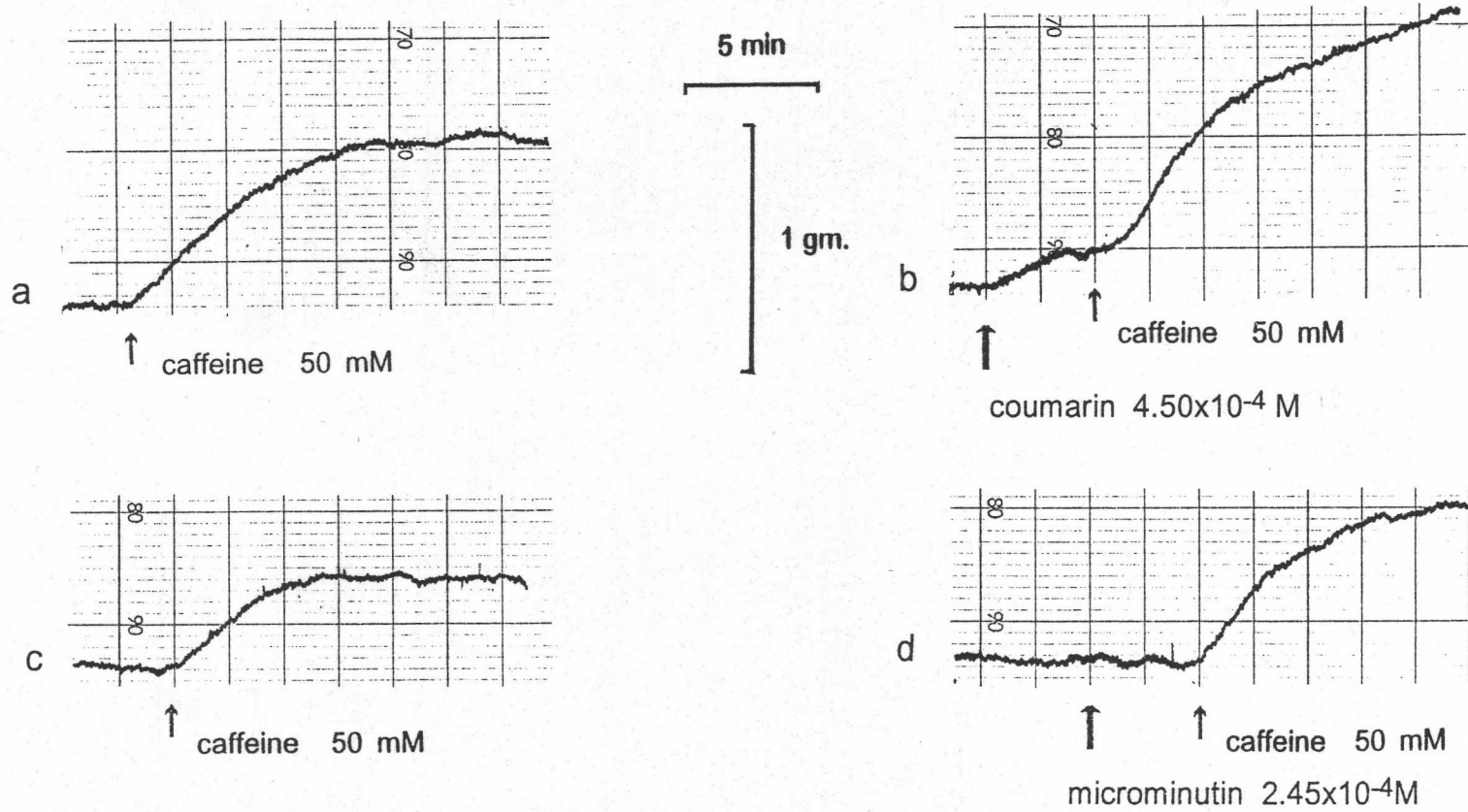
- เป็น control ของการใช้ db-c AMP 1.0×10^{-5} M ยับยั้งการหดเกร็ง
- การใช้ db-c AMP 1.0×10^{-5} M ยับยั้งการหดเกร็ง
- เป็น control ของการใช้ db-c AMP 1.0×10^{-4} M ยับยั้งการหดเกร็ง
- การใช้ db-c AMP 1.0×10^{-4} M ยับยั้งการหดเกร็ง

(รูป 43c)

ทดลองให้ db-cAMP 10^{-5} M ก่อนกระตุ้นก่อนนำอสุจิด้วย noradrenaline 3×10^{-5} M พบว่า phasic contraction ไม่เปลี่ยนแปลงแต่ความสูงของ rhythmic contraction ลดลง (n=3) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ db-cAMP เป็น 10^{-4} M สามารถลดได้ทั้ง phasic contraction และ rhythmic contraction (ความถี่ และความสูง) ดังแสดงในรูป 44

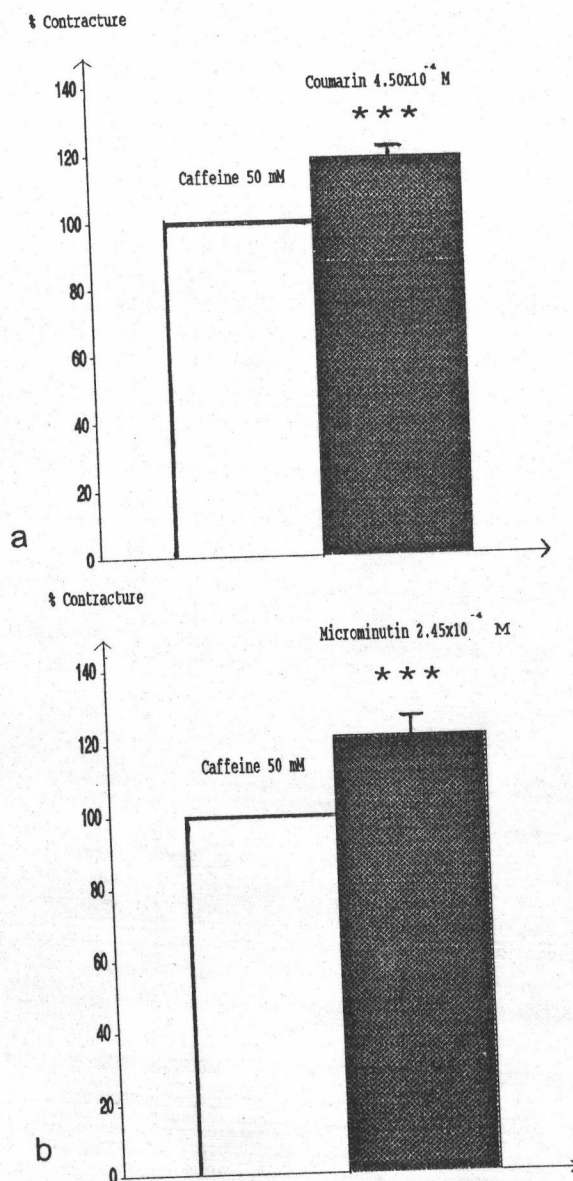
4.4 ผลต่อการหดเกร็งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย caffeine

ทั้ง coumarin 4.5×10^{-4} M และ microminutin 2.45×10^{-4} M ไม่สามารถลดหรือยับยั้งการเกิด contracture ที่เกิดจากการกระตุ้นก่อนนำอสุจิด้วย caffeine 50 mM ได้ดังแสดงผลในรูป 45 (n=4) แต่กลับพบว่า contracture นั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.025$) ดังแสดงในรูป 46



รูปที่ 45 แสดงการยับยั้งการหดเกร็งของ contracture ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM โดย

- เป็น control ของการใช้ coumarin 4.50×10^{-5} M ยับยั้งการ contracture
- การใช้ coumarin ยับยั้งการ contracture
- เป็น control ของการใช้ microminutin 2.45×10^{-4} M ยับยั้งการ contracture
- การใช้ microminutin ยับยั้งการ contracture



รูปที่ 46 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การ contracture ของ vas deferens ที่เกิดจากกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM เมื่อยับยั้งการหดเกร็งด้วยสารละลายคูมารินแต่ละชนิด (***, $p < 0.01$) ($n = 4$)

a. แสดงการยับยั้งด้วย coumarin 4.5×10^{-4} M

b. แสดงการยับยั้งด้วย microminutin 2.45×10^{-4} M