ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงต่อการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับสารที่มีผลต่อหลอดเลือด ในหนูที่เป็นความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์
ผู้เขียน	นางสาวจรัญญา ตาละลักษมณ์
สาขาวิชา	สรีรวิทยา

คณะกรรมการที่ปรึกษา	คณะกรรมการสอบ
..........ประธานกรรมการ	..........ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ประดับ ประสาทแก้ว)	(รองศาสตราจารย์ประดับ ประสาทแก้ว)
..........กรรมการ	..........กรรมการ
(รองศาสตราจารย์วีระนุช นิลนนท์)	(รองศาสตราจารย์วีระนุช นิลนนท์)
..........กรรมการ	..........กรรมการ
(ดร. อลิสา สุวัณณปุระ)	(ดร. อลิสา สุวัณณปุระ)
	..........กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีย์ วิบูลลักษณากุล)
	..........กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อัญชลี มหัทธนตระกูล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสรีรวิทยา

....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปิติ ทฤษฎิคุณ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

หอสมุด คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่
ได้รับจาก
บัณฑิตวิทยาลัย มอ.
วันที่____เดือน 1 1 ก.ย. 2544

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงต่อการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับสารที่มีผลต่อหลอดเลือด ในหนูที่เป็นความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์
ผู้เขียน	นางสาวจรัญญา ตาละลักษมณ์
สาขาวิชา	สรีรวิทยา
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดเมื่อได้รับ acetylcholine norepinephrine และ phenylephrine ในหนูปกติและหนูที่เป็นความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ ในการทดลองใช้หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Wistar อายุ 7 สัปดาห์ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่ม DOCA และกลุ่ม DOCA-HC คือหนู Wistar ที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงจากการฉีด Deoxycorticosterone acetate (DOCA) ที่ละลายใน olive oil เข้าชั้นใต้ผิวหนังสัปดาห์ละ 2 ครั้งร่วมกับดื่ม NaCl 0.9% แทนน้ำ ขณะที่กลุ่ม Placebo และ กลุ่ม Placebo-HC ฉีด olive oil แทน DOCA ในขนาดที่เท่ากัน กลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA ได้รับอาหารปกติที่มีแคลเซียม 1.4% ส่วนกลุ่ม Placebo-HC และกลุ่ม DOCA-HC ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง 3.5% เลี้ยงสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มเป็นเวลา 6 สัปดาห์ วัด systolic blood pressure ที่หางสัปดาห์ละครั้ง เมื่อครบ 6 สัปดาห์ นำมาสลบและศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดต่อ acetylcholine norepinephrine และ phenylephrine ผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC มี systolic blood pressure ขณะไม่สลบต่ำกว่ากลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (155±5 มม.ปรอท, n=16 และ 181±8 มม.ปรอท, n=16 ตามลำดับ P<0.001) ขณะที่การกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงไม่มีผลต่อความดันเลือดของหนูปกติ การศึกษานี้พบว่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยของหนูกลุ่ม DOCA สูงกว่าของกลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC ทั้งก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion (ก่อนปิดกั้น autonomic ganglion กลุ่ม DOCA 151±4 มม.ปรอท, n=20; กลุ่ม Placebo 125±3 มม.ปรอท, n=19 และกลุ่ม DOCA-HC 123±4 มม.ปรอท, n=19; หลังปิดกั้น autonomic ganglion กลุ่ม DOCA 91±4 มม.ปรอท; กลุ่ม Placebo 69±3 มม.ปรอท และกลุ่ม DOCA-HC 72±3 มม.ปรอท, P<0.05) ขณะที่อัตราการเต้นของหัวใจของหนูทุกกลุ่มไม่ต่างกัน ในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองพบว่า น้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม DOCA สูงกว่าของกลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC และหนูกลุ่ม DOCA-HC

มีน้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวสูงกว่าของกลุ่ม Placebo (กลุ่ม DOCA 3.06 มก./ก., n=18; กลุ่ม Placebo 2.34 มก./ก., n=19 และกลุ่ม DOCA-HC 2.70 มก./ก., n=14, $P<0.05$) total calcium และ ionized calcium ใน serum ของหนู DOCA-HC มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่ม DOCA ในขณะที่ sodium ion ใน serum ของหนูทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน การทดลองนี้พบว่าทั้งก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion มีการตอบสนองของความดันเลือดต่อการได้รับ acetylcholine ของสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA น้อยกว่ากลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC แต่ไม่พบความแตกต่างในสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo-HC เมื่อเทียบกับกลุ่ม Placebo และยังพบว่าทั้งก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion กลุ่ม DOCA มีการตอบสนองของความดันเลือดต่อการได้รับ norepinephrine และ phenylephrine มากกว่ากลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ความดันเลือดของหนูกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC ตอบสนองต่อ norepinephrine และ phenylephrine ไม่แตกต่างกัน จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ได้ โดยพบว่ากลุ่ม DOCA-HC ความดันเลือดมีการตอบสนองต่อ acetylcholine ได้มากกว่าและตอบสนองต่อ norepinephrine และ phenylephrine ได้น้อยกว่าหนูที่ความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ที่กินอาหารปกติ

Thesis Title	Effect of High Calcium Diet on Blood Pressure Responses to Vasoactive Agents in Mineralocorticoid Hypertensive Rats
Author	Miss Charanya Talalak
Major Program	Physiology
Academic Year	2000

Abstract

This study investigates the effect of a high calcium diet on blood pressure responses to acetylcholine, norepinephrine and phenylephrine in normotensive and mineralocorticoid hypertensive rats. Seven week-old male Wistar rats were divided into 4 groups. The DOCA and DOCA-HC groups were injected subcutaneously with deoxycorticosterone acetate (DOCA) 20 mg/kg in olive oil twice a week and NaCl 0.9% was given as drinking water *ad libitum*, whereas the Placebo and Placebo-HC groups received equal volumes of olive oil instead of DOCA, and tap water. The Placebo and DOCA groups were fed with normal diet (1.4% calcium) and Placebo-HC and DOCA-HC groups were fed with high calcium diet (3.5% calcium). The systolic blood pressure was measured weekly by the tail cuff method. Six weeks later, animals were anesthetized and measured the blood pressure responses to acetylcholine, norepinephrine and phenylephrine. It was found that, in conscious rats, systolic blood pressure of the DOCA-HC group was significantly lower than the DOCA group (155±5 mmHg, n=16 versus 181±8 mmHg, n=16, $P<0.001$), while systolic blood pressure of the Placebo-HC was the same as those of the Placebo group. This study showed that mean blood pressure (MBP) values either before or after autonomic ganglionic blockade of the DOCA group were significantly higher than the Placebo and the DOCA-HC groups (before autonomic ganglionic blockade DOCA 151±4 mmHg, n=20; Placebo 125±3 mmHg, n=19 and DOCA-HC 123±4 mmHg, n=19, after autonomic ganglionic blockade DOCA 91±4 mmHg; Placebo 69±3 mmHg and DOCA-HC 72±3 mmHg, $P<0.05$) , but no significant change in heart rate among the 4 groups was found. At the end of the six-

week period, the ventricle / body weight ratio (V/BW) of the DOCA group was higher than the V/BW of the Placebo and DOCA-HC groups. The DOCA-HC group had higher V/BW than the Placebo group. (DOCA 3.06 mg/g, n=18; Placebo 2.34 mg/g, n=19; DOCA-HC 2.70 mg/g, n=14, $P<0.05$). Concentrations of total calcium (tCa) and ionized calcium (iCa) in serum of the DOCA-HC group tend to be higher than the DOCA group, while all four groups were not significantly different in serum Na^+ concentration. Before and after ganglionic blockade , blood pressure responses to acetylcholine of the DOCA group were lower than those of the Placebo and DOCA-HC groups, and the responses were not different between the Placebo and Placebo-HC groups. The results also showed that blood pressure responses to norepinephrine and phenylephrine of the DOCA group were greater than those of the Placebo and DOCA-HC groups, either before or after autonomic ganglionic blockade, while the responses to norepinephrine and phenylephrine between Placebo and Placebo-HC groups were not significantly different. In conclusion, high calcium diet can attenuate mineralocorticoid hypertension in rats by improving blood pressure responses to acetylcholine and attenuating blood pressure responses to norepinephrine and phenylephrine.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ รศ. ประดับ ประสาทแก้ว ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจ และสอนเทคนิคในการทำวิจัย การเขียน รวมทั้ง แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ. วีระนุช นิลนนท์ และ ดร. อลิสา สุวัณณปุระ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุนีย์ วิบูลย์ลักษณากุล กรรมการสอบ จากภาควิชาสรีรวิทยา และ ขอขอบพระคุณ ผศ. อัญชลี มหัทธนตระกูล กรรมการสอบจากบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาแก้ไขและปรับปรุงจนวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ ดร. ศิริพันธุ์ หิรัญญะชาติธาดา ที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์และ ให้กำลังใจในการทำวิจัยมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณ ผศ. จำนงค์ สุภัทราวิวัฒน์ ที่ช่วยปรับปรุง เครื่องมือจนใช้งานได้สะดวกยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณอาจารย์ นงเยาว์ กิจเจริญนิรุตม์ ที่กรุณาช่วย เหลือเกี่ยวกับการใช้คอมพิวเตอร์ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง ที่กรุณาให้ใช้ เครื่องมือผสมอาหาร ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยาทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้ให้เงินสนับสนุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ คุณรัชวรรณ ลิ้มวิวัฒน์กุล ที่ให้ความช่วยเหลือทุกสิ่งทุกอย่างอย่างดียิ่ง ขอขอบคุณ คุณเพทาย หิรัญพันธุ์ ที่ให้คำแนะนำในทุกเรื่องที่สงสัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ภาควิชา สรีรวิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกด้านเอกสาร ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง สุดท้ายขอขอบพระคุณครอบครัวของ ข้าพเจ้าที่สนับสนุนและให้กำลังใจมาตลอดจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

จรัญญา ตาละลักษมณ์

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(11)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	25
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	26
วัสดุ	26
อุปกรณ์	27
วิธีการ	28
3. ผลการทดลอง	33
4. วิจารณ์	49
5. สรุป	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	65
ประวัติผู้เขียน	74

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ความดันเลือดแดงเฉลี่ยและอัตราการเต้นของหัวใจก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion	35
3.2	อัตราส่วนของน้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ต่อน้ำหนักตัวของหนูทั้งสี่กลุ่ม	37

ตารางภาคผนวก

1.1	การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด acetylcholine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC	65
1.2	การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด acetylcholine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม DOCA และ DOCA-HC	66
2.1	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC	67
2.2	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม DOCA และ DOCA-HC	68
3.1	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC	69
3.2	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ของกลุ่ม DOCA และ DOCA-HC	70
4	ค่า serum electrolytes ของกลุ่ม Placebo, Placebo-HC, DOCA และ DOCA-HC	71
5	ความดันเลือด systolic ที่วัดโดยทางอ้อมที่หางหนูในระยะตั้งแต่อายุ 7 สัปดาห์ ถึง 13 สัปดาห์	72
6	ปริมาณแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของอาหารหนูสำเร็จรูป	73

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1.1	กลไกการบีบตัวของหลอดเลือดจากตัวกระตุ้น NAd	5
1.2	การควบคุมทางสรีรวิทยาของการสร้าง NO	7
1.3	กลไกเกี่ยวกับความดันเลือดสูงที่เกิดจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์	18
3.1	ความดันเลือดที่วัดโดยทางอ้อมที่หางหนูในระยะทำการทดลอง 6 สัปดาห์	34
3.2	น้ำหนักตัวของแต่ละกลุ่มในระยะเลี้ยง 6 สัปดาห์	37
3.3	ค่า total calcium และ ionized calcium ในซีรัมของหนูทั้งสี่กลุ่ม	39
3.4	ค่า ionized sodium ในซีรัมของหนูทั้งสี่กลุ่ม	40
3.5	ตัวอย่างการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจต่อ acetylcholine	41
3.6	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ acetylcholine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	42
3.7	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ acetylcholine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	43
3.8	ตัวอย่างการตอบสนองของความดันเลือดอัตราการเต้นของหัวใจต่อ norepinephrine	44
3.9	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	45
3.10	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	46
3.11	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	47
3.12	การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ	48

ตัวย่อและสัญลักษณ์

มก./ก.	=	มิลลิกรัม/กรัม
มม.ปรอท	=	มิลลิเมตรปรอท
AC	=	adenylyl cyclase
Ach	=	acetylchloline
α	=	Alpha
ANP	=	atrial natriuretic peptide
ANS	=	autonomic nervous system
ATP	=	adenosine triphosphate
AV	=	atrioventricular
β	=	Beta
Ca^{2+}	=	calcium ion
$CaCO_3$	=	calcium carbonate
CBG	=	corticosteroid-binding-globulin
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate
cGMP	=	cyclic guanosine monophosphate
CO	=	cardiac output
CO_2	=	carbondioxide
DAG	=	diacylglycerol
DOC	=	deoxycorticosterone
DOCA	=	deoxycorticosterone acetate
E	=	epinephrine
ECF	=	extracellular fluid
ECFV	=	extracellular fluid volume
EDHF	=	endothelium-derived hyperpolarizing factor
ET	=	endothelin
GC	=	guanylyl cyclase
G Proteins	=	GTP binding proteins
GTP	=	gaunosine triphosphate

H^+	=	hydrogen ion
HC	=	high calcium
HR	=	heart rate
iCa	=	Ionized Calcium
I.P.	=	intra-peritoneal
IP_3	=	inositol triphosphate
K^+	=	potassium ion
Kg	=	kilogram
LSD	=	least significant different
MAP	=	mean arterial pressure
MBP	=	mean blood pressure
µg	=	microgram
mg	=	milligram
MLCK	=	myosin light chain kinase
mm	=	millimeter
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
n	=	number
Na^+	=	sodium ion
NaCl	=	sodium chloride
NAd	=	noradrenaline
Na^+-K^+ ATPase	=	sodium potassium ATPase
NANC	=	non-adrenergic, non cholinergic
NE	=	norepinephrine
NO	=	nitric oxide
NOS	=	nitric oxide synthase
O_2	=	oxygen
P.E.	=	polyethylene
Phe	=	phenylephrine
PHF	=	parathyroid hypertensive factor

PIP_2	=	phosphatidyl inositol bisphosphate
PKG	=	protein kinase G
PLC	=	phospholipase C
PTH	=	parathyroid hormone
ROC	=	receptor operated cation
SA	=	sinoatrial
SEM	=	standard error of mean value
SHR	=	spontaneous hypertensive rats
tCa	=	total Calcium
TPR	=	total periphral resistance
VIP	=	vasoactive intestinal peptide
W	=	week
WKY	=	Wistar-Kyoto rat

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ภาวะความดันเลือดสูงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มีอัตราการตายเป็นอันดับต้น ๆ ในประเทศไทย (กองสถิติสาธารณสุข, 2533-2534) และประเทศทางตะวันตก เช่น อเมริกา แคนาดา (No authors listed,1994) ความดันเลือดสูงแบ่งเป็นสองชนิดใหญ่ ๆ คือ ความดันเลือดสูงชนิดที่ไม่ทราบสาเหตุเรียกว่าความดันเลือดสูงชนิดเกิดเอง (essential hypertension) ซึ่งพบประมาณ 95 % ของผู้ป่วยความดันเลือดสูงและความดันเลือดสูงชนิดทราบสาเหตุ เรียกว่าความดันเลือดสูงชนิดเกิดตาม (secondary hypertension) พบประมาณ 5% ของผู้ป่วยความดันเลือดสูง (Rushmer,1976) ถึงแม้ว่าบางครั้งความดันเลือดสูงไม่รุนแรงจนถึงขั้นทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต แต่ก็พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่มีอัตราการตายสูง ได้แก่ โรคหัวใจวายแบบมีเลือดคั่ง (congestive heart failure) ไตวาย (renal failure) โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) หลอดเลือดในสมองแตก (stroke) โรคหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral vascular disease) และหลอดเลือดแดงใหญ่โป่งพอง (aortic aneurysm) เป็นต้น (Douglas,1993)

จากข้อมูลพื้นฐานทางสรีรวิทยาพบว่า แคลเซียมมีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของเซลล์ในร่างกายและรวมถึงระบบไหลเวียนเลือดและหลอดเลือด (McCarron *et al.*, 1982) และพบว่าปริมาณแคลเซียมในอาหารมีความสัมพันธ์กับระดับความดันเลือดด้วย (Ayachi, 1979 ; McCarron *et al.*, 1982 ; McCarron *et al.*, 1984 ; Kageyama,1987 ; Hatton, 1989 ; Hatton and McCarron., 1994 ; McCarron, 1995 ; Cappuccio *et al.*, 1995 ; Allender *et al.*, 1996 ; Bucher *et al.*, 1996 ; Buassi, 1998) โดยมีรายงานที่เกี่ยวกับผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงต่อการลดความดันเลือดในภาวะความดันเลือดสูงทั้งในคนและสัตว์ทดลอง แต่ในขณะนี้ยังไม่ทราบกลไกการลดความดันเลือดที่แน่ชัด

เนื่องจากร่างกายมีการผลิตและหลั่งสารทั้งชนิดที่ขยายหลอดเลือด เช่น acetylcholine, bradykinin, substance P, atrial natriuretic peptide (ANP), nitric oxide (NO) และชนิดที่บีบหลอดเลือด เช่น norepinephrine, epinephrine, angiotensin II, endothelins สารเหล่านี้มีส่วนร่วมในการควบคุมขนาดของหลอดเลือด และความต้านทานต่อการไหลของเลือด ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดด้วย การศึกษานี้จึงต้องการทราบว่าหนูขาวที่มีความดันเลือดปกติ

และมีความดันเลือดสูงที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงนั้นเมื่อได้รับสารขยายหลอดเลือดและสารบีบหลอดเลือด จะมีการตอบสนองของความดันเลือดแตกต่างจากหนูขาวที่กินอาหารที่มีแคลเซียมน้อยกว่าหรือไม่ ซึ่งอาจช่วยอธิบายกลไกการลดความรุนแรงของภาวะความดันเลือดสูงเมื่อได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงได้

การตรวจเอกสาร

ความดันเลือด

ความดันเลือดเป็นผลจากแรงดันของเลือดกระทำกับผนังหลอดเลือด ในผู้ใหญ่ขณะพักมีค่าความดันเลือดปกติประมาณ 120/70 มิลลิเมตรปรอท (Ganong, 1999)

เนื่องจากความดันในหลอดเลือดแดง (arterial blood pressure หรือ BP) ขึ้นอยู่กับคาร์ดิแอกเอาท์พุท (Cardiac Output หรือ CO) และความต้านทานส่วนปลายทั้งหมด (Total Peripheral Resistance หรือ TPR) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงคาร์ดิแอก เอาท์พุท หรือความต้านทานส่วนปลายทั้งหมดอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่าง จะมีผลทำให้ความดันเลือดเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Ganong, 1999)

การควบคุมความดันเลือด

การควบคุมความดันเลือดเกิดจากการทำงานของอวัยวะหลักๆดังนี้

1. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของหลอดเลือด
2. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของหัวใจ
3. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของไต

1. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของหลอดเลือด

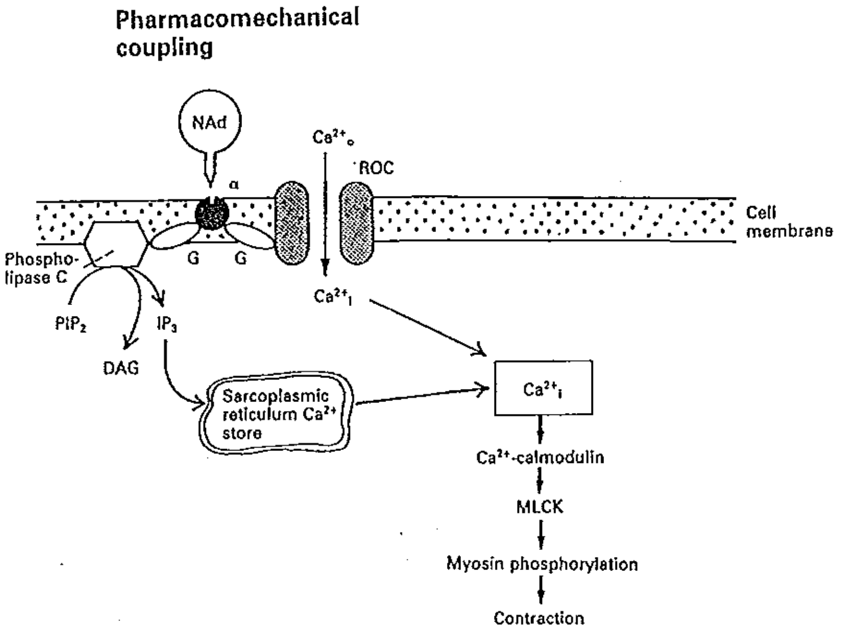
เนื่องจากหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small arteries) และ arterioles เป็นหลอดเลือดที่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็ก ทำให้มีความต้านทานต่อการไหลมาก นอกจากนี้ arterioles ยังมีผนังหนาและที่ผนังมีกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนประกอบมากกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังจะทำให้หลอดเลือดบีบตัว (vasoconstriction) ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดเล็กลง เพิ่มความต้านทานต่อการไหล ทำให้ความดันในหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังหลอดเลือดจะทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vasodilation) เพิ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดทำให้ความต้านทานต่อการไหลของเลือดลดลง มีผลให้ความดันในหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่หรือความดันเลือดแดงลดลง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือดแดงขนาดเล็กและโดยเฉพาะอย่างยิ่งของ arterioles จึงมีผลทำให้ความดันเลือดเปลี่ยนแปลง การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดเหล่านี้มีหลายวิธี คือ

1.1 ควบคุมโดยระบบประสาท (Neural Control)

หลอดเลือดจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system) ซึ่งประกอบด้วยระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system) และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nervous system) ระบบประสาทซิมพาเทติกมีใยประสาทไปเลี้ยงหลอดเลือด 2 ชนิด ได้แก่ ใยประสาทแอดรีเนอร์จิก (sympathetic adrenergic fibers) ปลายประสาทหลั่ง norepinephrine (หรือ noradrenaline) และใยประสาทโคลิเนอร์จิก (sympathetic cholinergic fibers) ปลายประสาทหลั่ง acetylcholine (Smith and Kampine.,1990) หลอดเลือดส่วนใหญ่ของร่างกายถูกควบคุมโดยใยประสาทแอดรีเนอร์จิกซึ่งทำงานอยู่ตลอดเวลา (tonically active) norepinephrine ที่ถูกหลั่งจากปลายประสาทจะจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดอัลฟา 1 (α_1-adrenergic receptor) ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดทำให้หลอดเลือดบีบตัว (Ganong, 1999)

กลไกการออกฤทธิ์ของ norepinephrine ที่หลอดเลือด เป็นดังนี้ คือ เมื่อ norepinephrine จับกับตัวรับ α_1-adrenergic ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ทำให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นได้ 2 ทาง ทางแรกคือทำให้ Ca^{2+} channel ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเปิด แคลเซียมจากภายนอกจึงเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้น ส่วนอีกทางหนึ่งคือกระตุ้นเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ผ่าน G Proteins เปลี่ยน phosphatidyl inositol bisphosphate (PIP_2) ไปเป็น inositol trisphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DAG) IP_3 ทำให้ sarcoplasmic reticulum ปล่อย Ca^{2+} ออกมามากขึ้น ภาวะที่ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น Ca^{2+} จะจับกับ calmodulin กระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin (Levick,1995) ทำให้เกิดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Guyton, 1996) ดังรูปที่ 1.1

ส่วนใยประสาทซิมพาเทติกโคลิเนอร์จิก (sympathetic cholinergic fiber) พบที่ arterioles ในกล้ามเนื้อลายของสัตว์บาง species (เช่น แมว สุนัข หมู) และใยประสาทชนิดนี้จะทำงานในบางภาวะของร่างกาย เช่น ภาวะ "สู้ หรือ หนี" (Smith and Kampine., 1990) ปัจจุบันพบว่าใยประสาทพวกซิมพาเทติกโคลิเนอร์จิก สามารถหลั่งสารสื่อประสาทอื่นด้วย เรียกสารพวกนี้ว่า non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) เช่น vasoactive intestinal peptide (VIP) และ substance P เป็นต้น (Levick, 1995)



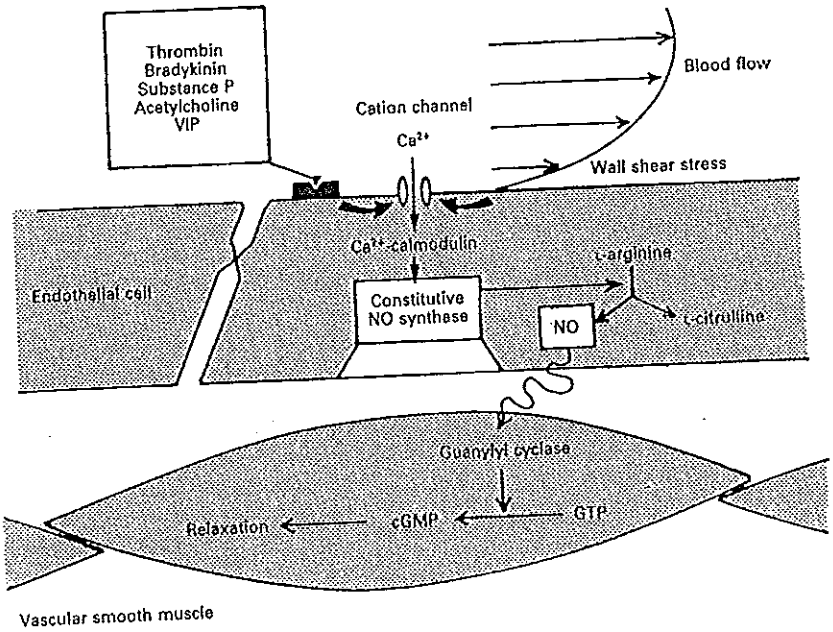
รูปที่ 1.1 กลไกการบีบตัวของหลอดเลือดจากตัวกระตุ้น NAd=noradrenaline หรือ norepinephrine, G=GTP binding protein, ROC=Receptor-Operated Cation Channel PIP_2=Phosphatidyl Inositol Bisphosphate, IP_3=Inositol trisphosphate, DAG=Diacylglycerol MLCK=Myosin Light Chain Kinase, α=alpha receptors (ดัดแปลงจาก : Levick; 1995)

สำหรับระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่ไปยังหลอดเลือด พบว่ามีใยประสาทไปยังหลอดเลือดของบางอวัยวะเท่านั้น ได้แก่ ต่อมน้ำลาย, ตับอ่อนส่วน exocrine, gastrointestinal mucosa, อวัยวะเพศชาย (genital erectile tissue), หลอดเลือดสมองและหลอดเลือดหัวใจ (Levick, 1995) ปลายประสาทหลั่ง acetylcholine เช่นเดียวกับใยประสาทซิมพาเทติกโคลิเนอร์จิก ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงคลายตัวและหลอดเลือดขยายตัว

กลไกการออกฤทธิ์ของ acetylcholine ที่หลอดเลือดนั้น ปัจจุบันพบว่ามีอย่างน้อย 2 กลไก กลไกแรก คือ acetylcholine จับกับตัวรับ muscarinic ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดมีผลให้ K^+ ผ่านผนังเซลล์ได้ดีขึ้น (เพิ่ม K^+ permeability) เกิด hyperpolarization ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Levick, 1995) ต่อมา Nishikawa และคณะ (1999) รายงานว่า acetylcholine กระตุ้นให้มีการหลั่ง endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) จาก endothelial cell ของหลอดเลือดโดยเฉพาะที่ arterioles EDHF เปิด K^+ channel ที่ membrane ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ทำให้เกิด hyperpolarization Ca^{2+} เข้าเซลล์ได้ลดลง ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบและหลอดเลือดขยายตัว อย่างไรก็ตามกลไกการหลั่งและการทำงานของ EDHF ยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน อีกกลไกหนึ่ง acetylcholine จับกับ muscarinic receptor ที่ผนังของ endothelial cell ในหลอดเลือด มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ phospholipase C (PLC) เปลี่ยน phosphatidyl inositol bisphosphate (PIP_2) ไปเป็น inositol trisphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DAG) ปัจจุบันเชื่อว่า DAG ทำให้ Ca^{2+} channel เปิด ซึ่งมีผลทำให้ Ca^{2+} ในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่ง Ca^{2+} ทำหน้าที่เป็น cofactor สำหรับเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) เปลี่ยน L-arginine ให้เป็น L-cittrulline และ nitric oxide (NO) แล้ว NO จะแพร่เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดไปกระตุ้นเอนไซม์ guanylyl cyclase (GC) เปลี่ยน GTP ไปเป็น cGMP ซึ่ง cGMP ไปกระตุ้น protein kinase G (PKG) ทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin ยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Rang and Dale., 1991 ; Levick,1995 ; Katzung, 1998) การผลิต NO แสดงดังรูปที่ 1.2

1.2 ควบคุมโดยสารในเลือด (Humoral Control)

ในกระแสเลือดมีสารที่มีผลต่อหลอดเลือดหลายชนิด เช่น epinephrine, norepinephrine และ angiotensin II เป็นต้น สารเหล่านี้ทำให้หลอดเลือดส่วนใหญ่ของร่างกายบีบตัวยกเว้น epinephrine ที่ทำให้หลอดเลือดในกล้ามเนื้อลาย หัวใจ และตับขยายตัว



รูปที่ 1.2 การควบคุมทางสรีรวิทยาของการสร้าง NO โดย endothelial cell
(ที่มา : Levick, 1995)

และยังมีสารที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวด้วย เช่น substance P, histamine, atrial natriuretic peptide (ANP) และ VIP เป็นต้น (Ganong, 1999) การเพิ่มปริมาณสารที่ทำให้หลอดเลือดบีบตัวหรือการลดปริมาณสารที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวจะมีผลทำให้เกิดความดันเลือดสูงได้ (Brenner and Stein.,1981)

การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดโดยระบบประสาทและสารในหลอดเลือด ดังได้กล่าวไปแล้วจะมีผลต่อการทำงานของหลอดเลือดในร่างกายอย่างกว้างขวาง และมีผลต่อ TPR และความดันเลือดด้วย

1.3 การควบคุมหลอดเลือดเฉพาะที่ (local control)

หลอดเลือดนอกจากถูกควบคุมโดยระบบประสาทและสารในหลอดเลือดแล้ว ยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารบางชนิดในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะยังมีผลต่อหลอดเลือดในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะนั้นด้วย (local control) เช่นการลดปริมาณ O_2 , การเพิ่มปริมาณ CO_2 , H^+

และ K^+ ทำให้หลอดเลือดส่วน arterioles และ precapillary sphincter บริเวณนั้นขยายตัว (Ganong, 1999) หรือ autocoids บางชนิด เช่น histamine, bradykinin, serotonin, prostaglandins สารเหล่านี้มีผลต่อการเปลี่ยนขนาดของหลอดเลือดบริเวณที่เกิดสารเหล่านี้เท่านั้น (Levick, 1995) หรือแม้แต่การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เช่นอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นทำให้หลอดเลือดที่ผิวหนังขยายตัว และเมื่ออุณหภูมิลดลงทำให้หลอดเลือดบีบตัวเป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า หลอดเลือดในบางอวัยวะ เช่น ไต และ กล้ามเนื้อลาย มีความสามารถปรับขนาดให้เหมาะสมได้ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความดันภายในหลอดเลือดนั้น เพื่อให้อวัยวะนั้นๆได้รับเลือดมาเลี้ยงค่อนข้างคงที่ (autoregulation of blood flow) (Ganong, 1997) อย่างไรก็ตาม การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดที่เกิดเฉพาะที่นี้มีผลต่อหลอดเลือดในบริเวณจำกัด ดังนั้นในขณะพักจึงมักไม่มีผลต่อ TPR และความดันเลือดแดง แต่จะมีผลต่ออัตราการไหลของเลือดในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่เฉพาะเจาะจงเท่านั้น

2. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของหัวใจ

เนื่องจากหัวใจทำหน้าที่หดตัว คลายตัว ปั๊มเลือดเข้าสู่หลอดเลือดเป็นจังหวะตลอดเวลา การหดตัวของหัวใจทำให้เกิดแรงดันเลือดเข้าสู่หลอดเลือด และเกิดความดันในหลอดเลือดด้วย ดังนั้นอัตราการหดตัวและความแรงในการหดตัวแต่ละครั้ง จึงมีผลต่อความดันเลือดในหลอดเลือดด้วย ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ ได้แก่

2.1 การควบคุมการทำงานของหัวใจโดยระบบประสาท

หัวใจมีเส้นประสาทจากระบบประสาทอัตโนมัติมาเลี้ยง ซึ่งประกอบด้วยระบบประสาทซิมพาเทติก และ ระบบประสาทพาราซิมพาเทติก แขนงของเส้นประสาทซิมพาเทติก มีอยู่ทั่วๆไปในหัวใจ ส่วนเส้นประสาทพาราซิมพาเทติกนั้น ส่วนใหญ่จะมาเลี้ยงที่ SA node (sinoatrial node) และ AV node (atrioventricular node) มีส่วนน้อยที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อใน atrium และไม่พบ เส้นประสาทนี้ใน ventricle (Berne and Levy,1996) ดังนั้นระบบประสาทพาราซิมพาเทติกจึงมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของหัวใจโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่ออัตราการเต้นของหัวใจ ระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่มายังหัวใจ คือ vagus nerve เมื่อถูกกระตุ้นจะหลั่ง acetylcholine จากปลายประสาท ซึ่งจะมีผลต่อหัวใจดังนี้ คือ ลดอัตราการสร้างสัญญาณไฟฟ้าของ SA node และลดอัตราเร็วในการส่งผ่านสัญญาณไฟฟ้าที่ AV node ทำให้ระยะเวลาในการนำสัญญาณไฟฟ้าจาก atrium ไปยัง ventricle นานขึ้นซึ่งผลโดยรวมทำให้ลดอัตราการเต้นของหัวใจ (Berne and levy,1996) ส่วนผลของการกระตุ้นเส้นประสาทซิมพาเทติก

ต่ออัตราการเต้นของหัวใจและการนำสัญญาณไฟฟ้า จะทำให้เกิดผลดังนี้ คือ เพิ่มอัตราการสร้างสัญญาณไฟฟ้าของ SA node และเพิ่มความเร็วในการนำสัญญาณไฟฟ้าในทุกๆส่วนของหัวใจ มีผลให้เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ นอกจากนี้การกระตุ้นเส้นประสาทซิมพาเทติกยังทำให้เพิ่มความแรงในการบีบตัวของหัวใจทั้งที่ atrium และ ventricle ด้วย (Levick,1995) โดยเมื่อ norepinephrine จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดเบต้า 1 (β_1-adrenergic receptor) จะทำให้เกิดการกระตุ้น adenylyl cyclase (AC) ให้ทำงานเปลี่ยน ATP ไปเป็น cyclic AMP (cAMP) การเพิ่มขึ้นของ cAMP มีผลกระตุ้นการทำงานของ protein kinase A ให้เกิด phosphorylation ของ Ca^{2+} channel proteins และเปิด Ca^{2+} channel ทำให้แคลเซียมเข้าเซลล์เพิ่มขึ้นและกระตุ้น pacemaker current ทำให้โซเดียมในเซลล์เพิ่มขึ้นด้วย ทำให้อัตราการเกิด action potential ของ SA node เพิ่มขึ้น (chronotropic effect) การนำไฟฟ้าผ่าน AV node เร็วขึ้น แคลเซียมในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในระยะ plateau (L type calcium channel) ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจบีบตัวแรงขึ้น (inotropic effect) และมีผลเพิ่มการทำงานของ calcium pump เพื่อดึงแคลเซียมกลับเข้า sarcoplasmic reticulum ทำให้ Ca^{2+} ใน cytoplasm ต่ำลง กล้ามเนื้อหัวใจจึงคลายตัวเร็วขึ้นด้วย (Levick, 1995)

2.2. การควบคุมการทำงานของหัวใจโดยสารในเลือด

สารเคมีบางอย่างในร่างกายมีผลต่อ อัตราการเต้นของหัวใจ และความแรงในการบีบตัวของหัวใจ ตัวอย่างเช่น epinephrine และ norepinephrine ที่หลั่งจากต่อมหมวกไตชั้นใน (adrenal medulla) มีผลทำให้ SA node เพิ่มอัตราการสร้าง action potential ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเร็วขึ้น และมีผลต่อเซลล์ที่ทำหน้าที่หดตัวของหัวใจทำให้ความแรงในการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเพิ่มขึ้น

การเพิ่มโพแตสเซียมไอออน (K^+) ใน extracellular fluid (ECF) จะมีผลลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจ เนื่องจาก K^+ ใน ECF ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ศักย์ไฟฟ้าขณะพักที่ผนังเซลล์ลดลง (เข้าใกล้ศูนย์มากขึ้น) หรือเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization) ทำให้ Na^+ เข้าเซลล์ในระยะ rapid depolarization ได้ลดลง เกิด action potential ขนาดเล็ก Ca^{2+} จึงเข้าเซลล์ได้ลดลง นอกจากนี้ยังทำให้การนำสัญญาณไฟฟ้าช้าลง โดยมีผลเด่นชัดที่ AV node จนทำให้เกิดขัดข้องในการส่งสัญญาณไฟฟ้าผ่าน AV node ได้ ทำให้จังหวะการเต้นของหัวใจผิดปกติ (arrhythmia) จนอาจเกิด fibrillation ได้ ส่วนการเพิ่ม Na^+ ใน ECF นั้น Na^+ จะแย่ง Ca^{2+} เข้าเซลล์ ทำให้การบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจลดลง

การเพิ่มแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ใน ECF จะทำให้ อัตราการเต้นของหัวใจ และ ความแรงในการบีบตัวของหัวใจเพิ่มขึ้นเนื่องจาก Ca^{2+} เข้าเซลล์เพิ่มขึ้น (Levick, 1995)

3. การควบคุมความดันเลือดโดยการทำงานของไต

การทำงานของไตในการรักษาปริมาตรของ ECF และปริมาตรเลือดให้อยู่ในระดับปกติ มีความสำคัญต่อการควบคุมความดันเลือดมาก เช่นเมื่อร่างกายมี ECF เพิ่มขึ้นจะทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น การเพิ่มความดันเลือดมีผลโดยตรงทำให้ไตเพิ่มอัตราการกรอง จึงเพิ่มการขับน้ำทางปัสสาวะมากกว่าปกติ (pressure diuresis) หรือถ้ามีเกลือโซเดียมในเลือดมากกว่าปกติด้วยไตจะขับทิ้งเกลือและน้ำมากกว่าปกติ (pressure natriuresis) จนกว่าความดันเลือดจะกลับสู่ค่าปกติ นอกจากนี้ระบบประสาทและฮอร์โมนยังมีผลต่อการทำงานของไตในการควบคุมความดันเลือดด้วยเช่น การเพิ่ม ECF ทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น cardiovascular reflex ถูกกระตุ้นเพิ่มขึ้น มีผลยับยั้งการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก ทำให้หลอดเลือดคลายตัวรวมทั้งหลอดเลือดแดงที่ไตด้วย ทำให้ไตเพิ่มอัตราการกรองจึงเพิ่มการขับน้ำทางปัสสาวะ และการที่ osmolality ของ ECF ลดลงจะยับยั้งการหลั่ง antidiuretic hormone จาก hypothalamic-posterior pituitary gland ทำให้การดูดน้ำกลับที่ collecting duct ลดลงด้วย เพื่อช่วยให้มี ECF และปริมาตรเลือดปกติ และมีความดันเลือดปกติ นอกจากนี้ยังมี renin-angiotensin system ที่ช่วยรักษาความดันเลือดให้คงที่โดย renin ซึ่งเป็น enzyme หลั่งจาก juxtaglomerular cell ที่ afferent arteriole ของไต renin จะถูกหลั่งมากขึ้นในภาวะที่มีความดันเลือดต่ำ หรือเกิดการเสียเลือด (hemorrhage) หรือเสียน้ำ (dehydration) หรือร่างกายขาดโซเดียม (Ganong,1999) renin ที่ถูกหลั่งออกมาจะเปลี่ยน angiotensinogen ในเลือดให้เป็น angiotensin I และถูกเปลี่ยนต่อไปโดย angiotensin converting enzyme ให้เป็น angiotensin II ซึ่ง angiotensin II มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดบีบตัว ลดการไหลของเลือดผ่านไต ทำให้อัตราการกรองที่ glomerulus (GFR) ลดลง และ angiotensin II กระตุ้นการหลั่ง aldosterone จาก adrenal cortex ซึ่งฮอร์โมนนี้ทำให้เซลล์ที่ distal tubule และ collecting duct ดูดกลับน้ำและโซเดียมไว้ในร่างกายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ angiotensin II ยังเกี่ยวข้องกับการกระหายน้ำด้วย ซึ่งผลของ renin-angiotensin system ดังกล่าวจะช่วยให้ ECF และปริมาตรเลือดกลับสู่ปกติ และมีผลให้ความดันเลือดกลับเป็นปกติด้วย (Guyton, 1996)

ความดันเลือดสูง (Hypertension)

1. ความหมาย พยาธิสภาพ และปัจจัยเสี่ยง

ความดันเลือดสูงหมายถึงความดันเลือดแดงที่สูงกว่าระดับความดันปกติอยู่เป็นระยะเวลานานหรือสูงกว่าปกติตลอดเวลา ค่าความดันเลือดที่น้อยที่สุดที่ถือว่าเริ่มเข้าสู่ภาวะความดันเลือดสูงไม่สามารถกำหนดแน่นอนได้ เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ค่าความดันเลือดแปรปรวนได้มาก แต่เป็นที่ยอมรับว่า ในผู้ใหญ่อายุ 18-49 ปี ที่มีความดันเลือดขณะพักมากกว่า 140/90 มม.ปรอท และในผู้ใหญ่อายุ 50 ปีขึ้นไป ที่มีความดันเลือดขณะพักมากกว่า 160/95 มม.ปรอท ถือว่ามีความดันเลือดสูง (Smith and Kampine., 1990)

การเกิดความดันเลือดสูงนาน ๆ เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคอื่นที่มีอัตราการตายสูง เช่นหัวใจวายเฉียบพลัน หลอดเลือดในสมองแตก โรคหลอดเลือดส่วนปลาย และไตวาย เป็นต้น (Kannel *et al*, 1984 ; Edward and Frohlich, 1999) หลังจากเกิดความดันเลือดสูงมักพบความผิดปกติโดยเฉพาะที่หลอดเลือดและหัวใจด้วย (Douglas ,1993)

มีรายงานว่าภาวะความดันเลือดสูงทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีขนาดใหญ่ขึ้น (vascular hypertrophy) เชื่อว่าเกิดจากสารที่มีผลต่อหลอดเลือด ได้แก่ norepinephrine (NE) , angiotensin II และ endothelin (ET) (Owen, 1989 ; Kobayashi and Uesugi., 1995) หรือเกิดจากปัจจัยทางกล ได้แก่ แรงที่กระทำต่อผนังกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (Owen, 1989) Simon และคณะ (1998) เชื่อว่า vascular hypertrophy เกิดจากการทำงานของ Angiotensin II และการได้รับเกลือโซเดียมร่วมด้วยจะยิ่งทำให้การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น และมีบางรายงานเชื่อว่าฮอร์โมน endothelin -1 ทำให้เกิด vascular hypertrophy ในหนูความดันเลือดสูงจาก deoxycorticosterone acetate - salt (DOCA - salt) (Schleiffer *et.al.*, 1994; Schiffrin *et.al.*, 1995; Schiffrin, 1999), ในหนู spontaneous hypertensive rats (SHR) ร่วมกับการให้ DOCA-salt, SHR - stroke prone, Dahl salt – sensitive และ 1-kidney 1-clip Goldblatt (Schiffrin, 1999) นอกจากนี้การมีความดันเลือดสูงยังทำให้เกิดหลอดเลือดแข็งและผนังหนาขึ้น เรียกว่า arteriosclerosis (Agabiti and Muiesan, 1995)

ผลของการเกิด vascular hypertrophy ทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดเล็กลงจะทำให้เลือดไหลไปสู่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะลดลง ส่วนผลของ arteriosclerosis ทำให้ผนังหลอดเลือดไม่แข็งแรงและแตกง่าย หากเกิด hypertrophy หรือ arteriosclerosis ที่หลอดเลือด coronary ซึ่งทำหน้าที่ส่งเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจจะทำให้เลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจลดลงก่อให้เกิดกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (ischemic myocardia) และหัวใจวาย (heart failure)

(Strauer, 1991) Agabiti และ Muiesan (1995) รายงานว่า vascular hypertrophy ที่หลอดเลือดของ retina ก่อให้เกิดโรคเรตินา (retinopathy) ส่วนที่หลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงไตหากเกิด arteriosclerosis จะทำให้ไตขาดเลือด เนื้อไตถูกทำลาย ก่อให้เกิดไตวาย (renal failure) หรือหากไม่รุนแรงมากอาจก่อให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของไต และหากหลอดเลือดที่สมองเกิด arteriosclerosis จะก่อให้เกิด Stroke ได้

สำหรับผลของความดันเลือดสูงต่อหัวใจได้มีรายงานการศึกษาในคนที่เป็น essential hypertension (Kannel *et al.*, 1984) ในหนู SHR (Anderson *et al.*, 1999) และ หนูความดันเลือดสูงจาก DOCA-salt (Brown *et al.*, 2000) พบว่าเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายโตขึ้น (left ventricular hypertrophy) Kannel และคณะ (1984) เชื่อว่า growth factors และสารพวก neurohumoral เช่น norepinephrine กระตุ้นตัวรับ β_1-adrenergic ที่กล้ามเนื้อหัวใจเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและเป็นผลโดยตรงจากการเพิ่มการทำงานของหัวใจห้องล่างซ้าย เนื่องจากหลอดเลือดทั่วไปมีความต้านทานต่อการไหลเพิ่มขึ้นทำให้เพิ่ม afterload ของหัวใจ (No authors listed,1986 ; No authors listed,1991) เมื่อหัวใจห้องล่างซ้ายโตขึ้น ทำให้เลือดที่มาเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจไม่เพียงพอ จึงทำให้เกิดการขาดเลือด และเกิดหัวใจล้มเหลวในที่สุด

2. สาเหตุที่ทำให้เกิดความดันเลือดสูง

2.1 ความดันเลือดสูงชนิดเกิดตาม (secondary hypertension) หมายถึงความดันเลือดสูงที่ทราบสาเหตุของการเกิดโรค สาเหตุใหญ่ๆที่ทำให้เกิดความดันเลือดสูงชนิดเกิดตาม ได้แก่

2.1.1 ความดันเลือดสูงเนื่องจากต่อมไร้ท่อ (endocrine hypertension) ภาวะที่ต่อมไร้ท่อบางต่อมทำงานผิดปกติ อาจทำให้เกิดความดันเลือดสูงได้ เช่น ความผิดปกติที่ชั้นใน (medulla) หรือชั้นนอก (cortex) ของต่อมหมวกไตทำให้หลั่งฮอร์โมนออกมามาก มีผลให้ความดันเลือดสูงได้

ชั้นในของต่อมหมวกไตมีเซลล์โครมาฟฟิน (chromaffin cell) ที่หลั่งสารพวกแคทีคอลามีนส์ (catecholamines) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง epinephrine และ norepinephrine การเจริญและแบ่งเซลล์ที่รวดเร็วผิดปกติของเซลล์โครมาฟฟิน จนเกิดเป็นเนื้องอกเรียก ฟีโอโครโมไซโตมา (pheochromocytoma) จะหลั่งสารแคทิคอลามีนส์ปริมาณมากเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ความต้านทานส่วนปลายทั้งหมด และคาร์ดิแอก เอาท์พุท เพิ่มขึ้น มีผลให้ความดันเลือดสูงขึ้น (Rushmer, 1976) ความผิดปกติของต่อมหมวกไตชั้นนอก เช่น การเกิดเนื้องอก (adrenal cortical tumor) ทำให้มีการหลั่งฮอร์โมนของต่อมนี้ เช่น cortisol ออกมามาก ทำให้เกิด Cushing's syndrome ฮอร์โมนกลุ่มนี้เกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย

จึงทำให้มีการสะสมน้ำและเกลือแร่ในร่างกายเพิ่มขึ้น มีผลเพิ่มปริมาณเลือดในร่างกาย ทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น (Whitworth *et.al.*,1995)

2.1.2 ความดันเลือดสูงเนื่องจากไต (renal hypertension) การเกิดความผิดปกติที่หลอดเลือดที่มาเลี้ยงไต เช่น การตีบของหลอดเลือด (renal stenosis) ทำให้เลือดมาที่ไตลดลง กระตุ้นการหลั่ง renin จาก juxtaglomerular cell ทำให้ Angiotensin II เพิ่มขึ้นในระบบไหลเวียนเลือด ผลของ Angiotensin II จะทำให้หลอดเลือดทั่วร่างกายบีบตัว ทำให้ความต้านทานต่อการไหลของหลอดเลือดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ดังนั้นความดันเลือดจึงสูงขึ้น นอกจากนี้ Angiotensin II ยังกระตุ้นการหลั่ง aldosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำให้มีการดูดกลับโซเดียมบริเวณ collecting duct และ distal tubule เข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น จึงทำให้มีโซเดียมและน้ำคั่งในหลอดเลือด มีผลให้ปริมาณเลือดมากขึ้น และมีความดันเลือดสูงขึ้น (Macgregor and Cade.,1975 ; Cottler,1975) หรือเมื่อมีความผิดปกติที่เนื้อไต เช่น ไต และ กรวยไตอักเสบ (pyelonephritis) จะทำให้เกิดความดันเลือดสูงได้ คาดว่าเกิดจากไตได้รับเลือดมาเลี้ยงน้อยลงและทำให้มีการหลั่ง renin, angiotensin และ aldosterone เพิ่มขึ้น (Boquinhas,1991)

2.1.3 ความดันเลือดสูงเนื่องจากหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular hypertension) เช่น มีไขมันสะสมในผนังหลอดเลือด (atherosclerosis) หรือเกิดการตีบคอดของ aorta (coarctation of aorta) ทำให้หลอดเลือดมีความต้านทานต่อการไหลสูงขึ้น ความดันเลือดจึงสูงขึ้น (Rushmer,1976 ; Guyton, 1996)

2.1.4 ความดันเลือดสูงเนื่องจากระบบประสาท (neurogenic hypertension) การบาดเจ็บที่สมอง (head injury) ก้อนเนื้องอกในสมอง (brain tumors) หรือความผิดปกติทางจิต (psychiatric disturbrance) หรือมีบางส่วนในระบบประสาทส่วนกลางทำงานมากเกินไป เช่น เมื่อมีการกระตุ้นสมองส่วนไดเอนเซฟาลอน (diencephalon) จะทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น หน้าแดง มือเท้าเย็นและซีด หัวใจเต้นเร็ว เป็นต้น. สำหรับการบาดเจ็บที่สมองหรือมีก้อนเนื้องอกในสมองนั้น พบว่าความดันในสมองจะสูงขึ้น ศูนย์ควบคุมการทำงานของหัวใจและศูนย์ควบคุมขนาดของหลอดเลือดในสมองจะถูกกดและขาดเลือดมาเลี้ยง มีผลทำให้ระบบประสาทซิมพาเทติกถูกกระตุ้น ทำให้หลอดเลือดโดยทั่วไปบีบตัว ความต้านทานต่อการไหลของเลือดเพิ่มขึ้น จึงทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น (Rushmer, 1976)

2.2 ความดันเลือดสูงชนิดเกิดเอง (essential hypertension)

คนไข้ความดันเลือดสูงส่วนใหญ่ (ประมาณ 95%) จะเป็นความดันเลือดสูงชนิดที่ไม่ทราบสาเหตุ ดังนั้นจึงไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ปัจจุบันมีการรักษาเพื่อควบคุมความดัน

เลือดไม่ให้สูงเกินปกติ โดยการใช้ยากลุ่มต่างๆ เช่น ยากลุ่มที่ปิดกั้นการทำงานของตัวรับ α และ β-adrenergic,กลุ่มที่ปิดกั้น calcium channel หรือกลุ่มที่ยับยั้งการสร้าง Angiotensin II (angiotensin-converting enzyme inhibitors) เป็นต้น (Ganong, 1999)

ในการศึกษาความดันเลือดสูงนั้นมีหลายรูปแบบ เช่น การศึกษาในคนที่เป็นความดันเลือดสูงชนิดเกิดเอง (essential hypertension) การศึกษาในสัตว์ทดลอง ได้แก่ การศึกษาในหนู SHR การศึกษาในหนู Dahl-salt sensitive การศึกษาในหนูที่ชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ การทำให้เกิดการตีบของหลอดเลือดที่ไต (Goldblatt Kidney) การทำให้หนูเป็นความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ (mineralocorticoid hypertensive rats) เป็นต้น (Brenner and Stein ,1981 ; Douglas,1993) สำหรับวิทยานิพนธ์นี้ทำให้สัตว์ทดลองเกิดความดันเลือดสูงจาก Deoxycorticosterone Acetate ซึ่งเป็นสารพวกมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ ดังนั้นจะกล่าวถึงสารในกลุ่มนี้ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดความดันเลือดสูงดังนี้

ฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ (mineralocorticoids)

1. กลไกการทำงานของฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์

ฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์แพร่เข้าสู่กระแสเลือด โดยสร้างและหลั่งจากต่อมหมวกไตชั้นนอก (adrenal cortex) ฮอร์โมนกลุ่มนี้มีผลเด่นเกี่ยวกับการควบคุมปริมาณ Na^+ และ K^+ มิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ตัวที่สำคัญได้แก่ aldosterone และ deoxycorticosterone (DOC) นอกจากนี้ฮอร์โมนพวก glucocorticoids เช่น cortisol และ corticosterone ก็มีฤทธิ์เป็นมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ด้วย (Ganong, 1999) aldosterone สร้างที่ชั้น zona glomerulosa ของต่อมหมวกไตชั้นนอกเป็นส่วนใหญ่และ DOC สร้างในชั้น zona fasciculata aldosterone และ DOC ถูกควบคุมการสร้างโดย renin angiotensin system เป็นหลัก นอกจากนี้ยังถูกควบคุมโดยระดับของโซเดียม โพแตสเซียม adrenocorticotrophin การกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก และการกระตุ้นตัวรับโดพามิเนอร์จิก (dopaminergic receptors) ด้วย ฮอร์โมนที่เป็นมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์มีอิทธิพลกับเซลล์ทุกชนิดที่มี Na^+-K^+ ATPase (Don *et al.*,1997) เมื่อมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ผ่านเซลล์เมมเบรนเข้าไปจับกับตัวรับมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ (intracellular cytosol mineralocorticoid receptors) จากนั้นสเตอรอยด์รีเซบเตอร์คอมเพล็กซ์ (steroid-receptor complex) จะเคลื่อนเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์เป้าหมายและทำให้เกิด transcription mRNA และสร้างโปรตีนออกมาทำหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนที่ของโซเดียมนอกเซลล์ โดยโปรตีนเหล่านี้ก่อให้เกิดผลเปลี่ยนแปลงที่ epithelial cell ของ collecting duct และ distal tubule 3 ประการ คือ

1) เพิ่มความสามารถในการซึมผ่าน (permeability) ของโซเดียมด้าน luminal membrane 2) เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase (sodium pump) ของด้าน basolateral เพื่อปั๊มโซเดียมจากด้าน basolateral ไปสู่ ECF 3) ทำให้มีการเพิ่มการทำงานของ enzyme ต่างๆใน Kreb's cycle ภายใน mitochondria ทำให้มี ATP เพิ่มขึ้น พอเพียงสำหรับการทำงานของ Na^+-K^+ ATPase ที่เพิ่มขึ้น (Valtin and Schafer.,1995 ; Berne and Levy., 1998)

aldosterone ส่วนใหญ่จะจับอยู่กับ albumin และจับอยู่กับ corticosteriod-binding-globulin (CGB) อย่างอ่อน ๆ ซึ่งตรงข้ามกับ DOC aldosterone ส่วนที่เป็นฮอร์โมนอิสระจะมีอยู่ประมาณ 30-50% ของทั้งหมดในพลาสมา ในขณะที่ DOC จะมีส่วนที่เป็นฮอร์โมนอิสระอยู่ประมาณ 5-10% ของความเข้มข้นทั้งหมด นอกจากนี้ aldosterone ยังมีช่วงชีวิตที่ค่อนข้างสั้นประมาณ 15-20 นาที (Don *et al.*, 1997) ฮอร์โมนที่จะจับกับตัวรับนั้นจะต้องอยู่ในรูปอิสระเท่านั้น ด้วยเหตุนี้การออกฤทธิ์ของมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์จะต้องอยู่ในรูปอิสระและยังต้องมีความสามารถในการจับกับตัวรับ (affinity) ด้วย สำหรับ aldosterone และ DOC ที่ปริมาณเท่ากันจะมี affinity ต่อตัวรับสูงพอ ๆ กัน การกระจายในระบบไหลเวียนเลือดก็มีความเข้มข้นเท่า ๆ กัน แต่เนื่องจาก aldosterone จะอยู่ในรูปของฮอร์โมนอิสระมากกว่าดังนั้นจึงเป็นมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ที่สำคัญกว่า DOC สำหรับ cortisol จะมี affinity ประมาณ 1 ใน 10 เท่าของ aldosterone แต่มีปริมาณสูงกว่า aldosterone 1000 เท่า ในระบบไหลเวียนเลือด ด้วยเหตุนี้ cortisol จึงจับกับตัวรับในเนื้อเยื่อมากมาย เช่น ที่ pituitary gland และ หัวใจ แต่อย่างไรก็ตามในระดับที่ปกตินี้ cortisol ไม่ใช่เป็นมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ที่ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของโซเดียมกับโพแตสเซียมที่เซลล์เป้าหมาย (ไต, ลำไส้, ต่อมน้ำลาย) เนื่องจาก cortisol จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูป cortisone จากการทำงานของเอนไซม์ 11β-hydroxysteroid dehydrogenase ที่เซลล์เป้าหมาย และ cortisol จะทำให้เกิดความดันเลือดสูงได้ ถ้าการทำงานของเอนไซม์นี้ถูกยับยั้ง (Brenner and Stein, 1981 ; Don *et al.*, 1997)

2. ความดันเลือดสูงที่เกิดจากฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ (Mineralocorticoid Hypertension)

ฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ ทำให้เกิดความดันเลือดสูงได้ โดยพบว่าเมื่อมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์จับกับตัวรับใน epithelial cell ของไตส่วน collecting duct และ distal tubule (kidney mineralocorticoid receptors) จะมีผลให้จำนวน Na^+ channel ที่ apical membrane เปิดมากขึ้นและเพิ่มจำนวนโมเลกุลของ Na^+-K^+ ATPase ที่ basal membrane ทำให้มีการขนส่งโซเดียมออกจากเซลล์เข้าสู่ ECF เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างโซเดียมกับ

โพแตสเซียม ทำให้เกิดการเก็บกักโซเดียมและน้ำในร่างกาย ขณะเดียวกันก็เกิดการขับทิ้งโพแตสเซียมเพิ่มขึ้น การเพิ่มโซเดียมและน้ำทำให้ปริมาตรของ ECF เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาตรเลือดเพิ่มขึ้น ความดันเลือดจึงสูงขึ้น (Miller *et al.*, 1979 ; Komanicky and Melby., 1982 ; Ganong, 1999) นอกจากนี้ร่างกายยังตอบสนองโดยการหลั่งฮอร์โมน Atrial Natriuretic Peptide (ANP) มากขึ้นด้วย ซึ่งมีผลลดการดูดกลับน้ำและโซเดียมที่ท่อไต โดยยับยั้งการทำงานของโซเดียมโพแตสเซียมปั๊ม ทำให้มีโซเดียมคงอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมากขึ้น และลดการออกจากเซลล์ของแคลเซียม เนื่องจากเกิดการยับยั้ง Na^+-Ca^+ exchange ที่ผนังเซลล์ ทำให้มีแคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้น หลอดเลือดจึงหดตัวเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความต้านทานส่วนปลายทั้งหมดเพิ่มขึ้น ความดันเลือดจึงสูงขึ้น (Don *et al.*,1997) ดังรูปที่ 1.3

นอกจากนี้การทำงานของฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์กับตัวรับฮอร์โมนที่หลอดเลือด (vasculature mineralocorticoid receptors) จะทำให้ตัวรับ α-adrenergic ที่หลอดเลือดเพิ่มความไว (sensitivity) ต่อ norepinephrine และ phenylephrine นอกจากนี้ยังเพิ่มความไวต่อ Angiotensin II (Hagen and Webb.,1984 ; Bruner,1992 ; White *et al.*,1996 ; Ullian *et al.*,1997) และต่อ endothelin ด้วย (Schffrin *et al.*,1995 ; Matsumura *et al.*, 1999) ดังนั้นฮอร์โมนกลุ่มมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์จึงมีผลเพิ่มความต้านทานส่วนปลายทั้งหมด นอกจากนี้ยังมีการทดลองที่แสดงว่าหนูที่เกิดความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ มีการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกเพิ่มขึ้นด้วย (Eid and Champlain., 1988 ; Longhurst *et al.*, 1988 ; Fink *et al.*,2000)

ปัจจุบันมีคนเป็นจำนวนมากที่เกิดความดันเลือดสูงโดยไม่ทราบสาเหตุ (essential hypertension) ซึ่งมีการใช้ยาหลายกลุ่มเพื่อช่วยลดความดันเลือดดังได้กล่าวแล้ว และพบว่ายาที่ใช้มักจะทำให้เกิดผลข้างเคียง (Douglas,1993) จึงได้มีความสนใจที่จะใช้วิธีการอื่นเพื่อช่วยลดความดันเลือด เช่น การออกกำลังกาย การลดอาหารบางชนิดหรือการเพิ่มอาหารบางชนิดเป็นต้น และได้มีความสนใจเพิ่มขึ้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของสารอาหารบางชนิดกับความดันเลือดสูงโดยอาศัยข้อมูลจากการศึกษาทางระบาดวิทยา สำหรับสารอาหารที่ได้รับความสนใจส่วนใหญ่จะเป็นสารที่เกี่ยวข้องและควบคุมการทำงานของเซลล์ในร่างกาย เช่น โซเดียม คลอไรด์ โพแตสเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และแคลเซียม เป็นต้น (Douglas,1993) แต่เมื่อเทียบกับแคลเซียมแล้วพบว่าสารตัวอื่นได้รับความสนใจน้อยกว่าถึงแม้ว่าสารนั้นจะมีอิทธิพลต่อ calcium metabolism ก็ตาม (Karanja *et al.*, 1989 อ้างโดย Hatton and McCarron.,1994)

แคลเซียม

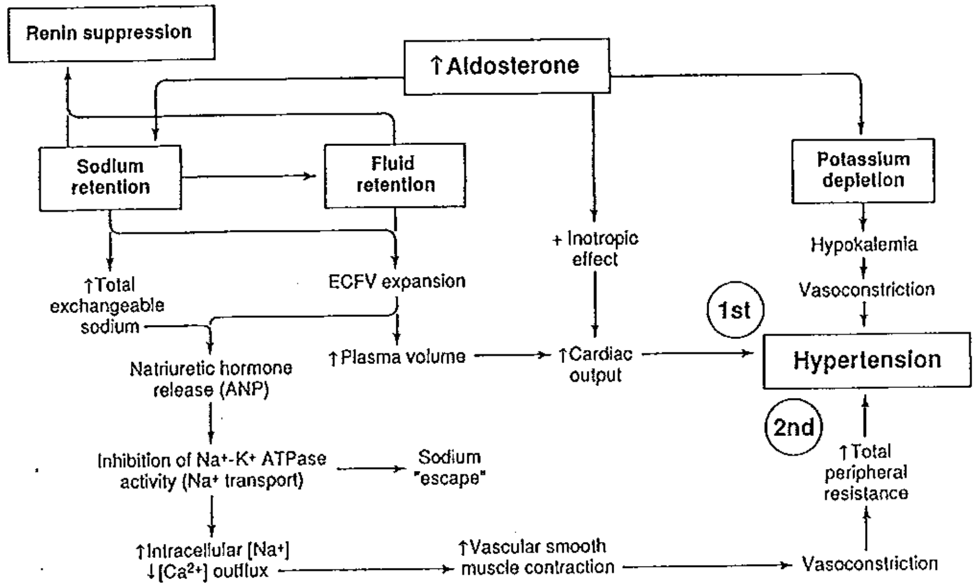
1. ความสำคัญของแคลเซียมต่อร่างกาย

แคลเซียมมีบทบาทอย่างกว้างขวางในการทำงานของเซลล์ แคลเซียมภายในเซลล์จะควบคุมการทำงานของเอนไซม์และควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ที่สำคัญ เช่น การหดตัวของกล้ามเนื้อ การหลั่งสารต่าง ๆ การแบ่งเซลล์ นอกจากนี้แคลเซียมกับ calmodulin ทำหน้าที่เป็นสื่อภายในเซลล์ (intracellular mediator) ในการทำงานของฮอร์โมน และแคลเซียมยังควบคุมกระบวนการแข็งตัวของเลือดด้วย ส่วนที่อยู่ในรูปเกลือแคลเซียมจะทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของกระดูกและฟัน เนื่องจากแคลเซียมมีบทบาทมากมายในเซลล์ทุกชนิด ร่างกายจึงมีกลไกในการควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดให้ค่อนข้างคงที่ การควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดเป็นผลมาจากการออกฤทธิ์ร่วมของฮอร์โมนหลายชนิดในร่างกาย (Goodman,1998)

2. ปริมาณของแคลเซียมในร่างกาย

ในร่างกายเรามีแคลเซียมอยู่ประมาณ 1000 กรัม 99% ของแคลเซียมอยู่ในกระดูกในรูป hydroxyapatite crystals ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ส่วนที่เหลืออยู่ในเซลล์และพลาสมา ความเข้มข้นของแคลเซียมในพลาสมามีประมาณ 10 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หรือ 5 มิลลิอิควิวาเลนท์/ลิตร หรือ 2.5 มิลลิโมล/ลิตร แคลเซียมในพลาสมาส่วนหนึ่งจับอยู่กับโปรตีน หรือไอออนประจุลบ ส่วนที่เหลือจะเป็นแคลเซียมไอออนอิสระ (ionized calcium, Ca^{2+}) ซึ่งไอออนอิสระนี้คือส่วนที่มีผลทางสรีรวิทยาในกระบวนการต่างๆ (Arnaud and Kolb, 1991) ในคนปกติจะมีแคลเซียมอยู่ในสมดุลหมายถึงแคลเซียมที่ได้รับจากอาหารเท่ากับแคลเซียมที่สูญเสียไปในปัสสาวะและอุจจาระ ยกเว้นในขณะตั้งครรภ์หรือให้นมบุตรมีการเปลี่ยนแปลงสมดุลแคลเซียมแสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลง metabolism ที่กระดูก โดยปกติแคลเซียมจะถูกดูดซึมในทางเดินอาหารแลกเปลี่ยนกับแคลเซียมใน ECF ส่วนที่เกิดการแลกเปลี่ยนได้แก่บริเวณ ลำไส้ ไต กระดูก และของเหลวภายในเซลล์ แคลเซียมถูกขับทิ้งทางปัสสาวะและอุจจาระ

การควบคุมสมดุลของแคลเซียมเกิดจากการทำงานร่วมกันของระบบต่างๆในร่างกายอย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้ระดับของแคลเซียมในเลือดเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ไม่ว่าหลังการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงหรือการไม่ได้รับแคลเซียมทั้งวัน (Goodman,1998)



รูปที่ 1.3 แสดงกลไกเกี่ยวกับความดันเลือดสูงที่เกิดจากฮอร์โมนมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์
1. เกิดการเก็บกักโซเดียมและน้ำ ทำให้ปริมาตร extracellular fluid เพิ่มขึ้น และมีผลเพิ่มปริมาตร plasma จึงทำให้ cardiac output เพิ่มขึ้นความดันเลือดจึงสูงขึ้น
2. เกิดการบีบตัวของหลอดเลือด (vasoconstriction) ทำให้ความต้านทานส่วนปลาย ทั้งหมด (total peripheral resistance) เพิ่มขึ้น ความดันเลือดจึงคงสูงอยู่ (ที่มา : Greenspan and Strewler, 1997)

3. การควบคุมระดับแคลเซียมในเลือด

ปัจจัยที่มีผลควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

3.1. การควบคุมโดยฮอร์โมน

3.2. การควบคุมโดยกระบวนการสรีรวิทยา

3.1. การควบคุมโดยฮอร์โมน

การควบคุมโดยฮอร์โมน คือการออกฤทธิ์ร่วมของฮอร์โมน 3 ชนิด ที่ควบคุมปริมาณแคลเซียมในร่างกาย ได้แก่ พาราไทรอยด์ฮอร์โมน (parathyroid hormone หรือ PTH) วิตามินดี 3 (1,25-dihydroxychole calciferol) หรือ 1,25 $(OH)_2D_3$ และ แคลซิโทนิน (calcitonin)

ต่อมพาราไทรอยด์มีคุณสมบัติรับรู้การเปลี่ยนแปลงแคลเซียมใน ECF ได้ไวมาก ระดับแคลเซียมที่ลดลงเล็กน้อยมีผลกระตุ้นการหลั่ง PTH PTH มีผลต่อการสลายกระดูกและการดูดกลับแคลเซียมที่ไตส่วน distal tubule รวมทั้งกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้ทางอ้อมโดยผ่าน 1,25 $(OH)_2D_3$ ทำให้ระดับของแคลเซียมกลับสู่ค่าปกติ การปล่อยแคลเซียมจากกระดูกแบบรวดเร็วซึ่งต้องอาศัย PTH และ 1,25$(OH)_2D_3$ และการดูดกลับแคลเซียมที่ท่อไตเป็นวิธีการควบคุมระดับแคลเซียมนาทีต่อนาที ส่วนการเปลี่ยนแปลงอัตราการดูดซึมแคลเซียมที่ลำไส้จะใช้เวลานานเป็นวันกว่าจะเห็นผลชัดเจนจึงเป็นการควบคุมระยะยาวมากกว่า โดยเฉพาะสามารถปรับตัวตามภาวะแคลเซียมที่เปลี่ยนแปลงได้ เช่น ในภาวะขาดแคลเซียม การควบคุมผ่านทางแคลเซียม-PTH-1,25$(OH)_2D_3$ จะถูกกระตุ้นทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมแคลเซียมจากอาหารที่มีปริมาณแคลเซียมต่ำได้ (Arnaud and Kolb, 1991)

การหลั่ง PTH ที่เพิ่มขึ้นเพื่อตอบสนองต่อระดับแคลเซียมต่ำในเลือด มีผลอีกอย่างหนึ่ง คือ ลดการดูดกลับฟอสเฟตที่ท่อไต ทำให้ฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นจากการปล่อยจากกระดูกหรือที่ถูกดูดซึมเพิ่มขึ้นมาพร้อมๆกับแคลเซียมถูกขับทิ้งไปทางปัสสาวะ เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตให้ใกล้เคียงปกติ นอกจากนั้นการมีแคลเซียมระดับต่ำในเลือดมีผลยับยั้งการหลั่งแคลซิโทนินซึ่งอาจมีส่วนช่วยให้ระดับแคลเซียมกลับสู่ระดับปกติเร็วขึ้นด้วย ในกรณีที่การดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้เกิดขึ้นไม่ได้พบว่าร่างกายจะพยายามรักษาระดับแคลเซียมในเลือดให้คงที่โดยการสลายจากกระดูกโดยไม่คำนึงถึงผลเสียที่เกิดขึ้นกับกระดูก (Goodman,1998) ในทางตรงกันข้ามเมื่อระดับของแคลเซียมในเลือดเพิ่มขึ้นจะมีผลยับยั้งการหลั่ง PTH และการสังเคราะห์ 1,25 $(OH)_2D_3$ ทำให้ปริมาณของแคลเซียมที่ปล่อยจากกระดูกลดลง ลดการดูดซึมแคลเซียม และขับถ่ายแคลเซียมออกมาในปัสสาวะเพิ่มขึ้น

หลังการกินอาหาร ระดับแคลเซียมที่สูงขึ้นมาเพียง 0.1 มิลลิกรัม/เดซิลิตรหรือน้อยกว่านี้มีผลยับยั้งการหลั่ง PTH ได้อย่างน้อย 30% ทำให้ไตดูดกลับแคลเซียมที่ท่อไตส่วนปลายได้น้อยลงดังนั้นปริมาณของแคลเซียมจากอาหารที่ได้เกินความต้องการของร่างกายจะถูกขับทิ้งในปัสสาวะ แต่ถ้าเกิดความผิดปกติทำให้ระดับของแคลเซียมในเลือดมีค่าสูงมาก ถึงแม้การหลั่ง PTH และการสังเคราะห์ 1,25$(OH)_2D_3$ จะถูกยับยั้งโดยสิ้นเชิงแต่ปริมาณของแคลเซียมในเลือดมีเกินความสามารถของไตที่จะขับออกทางปัสสาวะ ดังนั้นในกรณีนี้จะพบว่าระดับแคลเซียมในเลือดมีค่าสูงกว่าปกติ ยังมีฮอร์โมนตัวอื่นอีกที่มีอิทธิพลต่อสมดุลแคลเซียม เช่น prostaglandins มีผลต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมและกระตุ้นการสลายกระดูก (bone lysis) thyroid hormone

Central Library
Prince of Songkhla Univ.

มีผลต่อเซลล์กระดูกโดยตรงเพื่อเพิ่มการสลายกระดูกและลดเนื้อกระดูก (bone mass) เป็นต้น (Goodman,1998)

3.2. การควบคุมโดยกระบวนการทางสรีรวิทยา

กระบวนการทางสรีรวิทยาที่มีผลควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดที่สำคัญที่สุดและตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงได้ทันที คือ การขับทิ้งแคลเซียมที่ไต บางส่วนของการควบคุมนี้ไม่อยู่ใต้อิทธิพลของฮอร์โมน เนื่องจากการขับทิ้งแคลเซียมขึ้นอยู่กับปริมาณแคลเซียมที่กรองผ่านโกลเมอรูลัส การที่แคลเซียมถูกกรองมากจะมีผลให้แคลเซียมถูกขับทิ้งมากขึ้นด้วย ดังนั้นเมื่อระดับแคลเซียมในเลือดเพิ่มขึ้น ปริมาณที่กรองและปริมาณที่ขับทิ้งจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยเฉพาะถ้าการหลั่ง PTH ถูกยับยั้ง การขับทิ้งแคลเซียมก็จะยิ่งเพิ่มขึ้นอีก ในทางตรงข้ามเมื่อระดับของแคลเซียมในเลือดลดลงปริมาณแคลเซียมที่ถูกกรองก็จะน้อยลงด้วยทำให้ท่อไตดูดกลับแคลเซียมได้เกือบหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการหลั่ง PTH เพิ่มขึ้นจะกระตุ้นให้การดูดกลับแคลเซียมเพิ่มขึ้น แคลเซียมจึงถูกขับทิ้งโดยไตได้ลดลง (Goodman,1998)

4. แคลเซียมเมแทบอลิซึม (calcium metabolism) ในภาวะความดันเลือดสูง

พบว่าในคนที่เป็นความดันเลือดสูงมีความบกพร่องของแคลเซียมเมแทบอลิซึม (McCarron, 1980 ; Wessels *et al*, 1981 อ้างโดย Hatton and McCarron,1994) และพบว่ามีระดับ PTH ในเลือดเพิ่มขึ้นและฟอสฟอรัส (phosphorus) ต่ำลง (McCarron *et al*.,1982) รวมทั้งพบว่ามีการขับทิ้งแคลเซียมทางปัสสาวะเพิ่มขึ้นด้วย (Kesteloot *et al*., 1983) ทางคลินิกมีรายงานว่าระดับของ PTH ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วย essential hypertension ที่ไม่ได้รับการรักษา อาจจะเป็นผลจากการเพิ่มการขับทิ้งแคลเซียมทางปัสสาวะ (McCarron *et al*., 1980 ; Kesteloot and Joossens,1988) Youngและคณะ (1992) สนับสนุนผลดังกล่าวและเสนอว่าอาจจะเกิดจากความบกพร่องในการดูดซึมแคลเซียมที่ไต และที่ลำไส้เล็ก อย่างไรก็ตามมีรายงานถึงความสัมพันธ์ของความดันเลือดสูงและ primary hyperparathyroidism ด้วย (Hellstrom *et al*.,1958 อ้างโดย McCarron,1995) Merke และคณะ (1989) ศึกษาในหนู SHR พบว่าต่อมพาราไทรอยด์มีขนาดใหญ่ขึ้น มี PTH เพิ่มขึ้นและมี 1,25 $(OH)_2D_3$ ในเลือดต่ำลง Barlet และคณะ (1995) กล่าวว่าการทำงานของพาราไทรอยด์ อาจทำให้เกิดการสร้างและหลั่ง PTH ควบคู่กับ parathyroid hypertensive factor (PHF) เข้าสู่กระแสเลือดของสัตว์ทดลองความดันเลือดสูงและในคนความดันเลือดสูง PHF ทำให้แคลเซียมเข้าไปภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจึงทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดบีบตัวได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังเชื่อว่า PHF อาจเพิ่มความไวในการตอบ

สนองของหลอดเลือดต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดบีบตัวด้วย ดังนั้นการที่พบ PTH สูงขึ้นในเลือดและมีความดันเลือดสูงด้วยนั้น เชื่อว่าเกิดจากผลของ PHF ที่หลั่งออกมาพร้อมกัน มากกว่าเกิดจากผลของ PTH เอง เนื่องจาก Baski (1988) พบว่า PTH มีผลทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vasodilation) และส่งผลให้ความดันเลือดต่ำ (hypotension)

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแคลเซียมในอาหารและความดันเลือด

มีการศึกษาทางระบาดวิทยา รายงานความสัมพันธ์ของการตายเฉียบพลันเนื่องจากโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดกับการดื่มน้ำกระด้าง และสรุปว่าน้ำยิ่งกระด้างมากการตายเฉียบพลันเนื่องจากโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดรวมทั้งโรคความดันเลือดสูงยิ่งต่ำ และเป็นที่ทราบกันว่าความกระด้างของน้ำเกิดจากมีปริมาณเกลือแคลเซียมในน้ำมาก จึงคาดว่าอัตราการตายเนื่องจากโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดและโรคความดันเลือดสูงที่ลดลงน่าจะเกี่ยวข้องกับแคลเซียม (Sharrett and Feinleib.,1975 อ้างโดย Ayachi,1979) ซึ่งต่อมาในทางระบาดวิทยามีรายงานว่าปริมาณแคลเซียมในอาหารที่กินมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความดันเลือด (McCarron *et al.*, 1982 ; McCarron *et al.*, 1984 ; Hatton and McCarron., 1994 ; McCarron, 1995 ; Cappuccio *et al.*, 1995 ; Allender *et al.*, 1996 ; Bucher *et al.*, 1996 ; Buassi, 1998)

มีรายงานว่าการกินอาหารที่พร่องแคลเซียมเป็นเวลานาน (chronic calcium depletion) และ/หรือการควบคุมแคลเซียมในเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป มีผลชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงในคนความดันเลือดปกติ และความดันเลือดยิ่งสูงขึ้นในคนที่ความดันเลือดสูงชนิดเกิดเอง (Saito *et al.*, 1989 ; McCarron, 1995 ; Allender *et al.*, 1996) ในทางตรงกันข้ามพบว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูง มีผลลดความดันเลือดในผู้ป่วยความดันเลือดสูงชนิดเกิดเองได้ (Mccarron and Morris., 1985) และมีผลลดความดันเลือดในคนความดันเลือดสูงที่ได้รับเกลือโซเดียม (Resnick *et.al.*, 1986) แต่มีบางรายงานที่พบว่าการกินอาหารแคลเซียมสูงไม่มีผลลดความดันเลือดทั้งในคนความดันเลือดปกติและคนที่มีความดันเลือดสูง (Nowson and Morgan., 1989) ส่วนการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีผลลดความดันเลือดในหนูที่เป็นความดันเลือดสูงจาก DOCA-salt (Deoxycorticosterone Acetate-salt Hypertension) (Berthelot and Gairard., 1980 ; DiPette *et al.*, 1989 ; DiPette *et al.*, 1990 ; Porsti *et al.*, 1990 ; Arvola *et al.*, 1993 ; Lin *et al.*, 1994 ; Makynen *et al.*, 1994 ; Makynen *et al.*, 1996a ; Makynen *et al.*, 1996b) ในหนู SHR(Ayachi,1979 ; Stern *et al.*,1987 ; Porsti *et al.*,1992) ในหนู Dahl-

salt sensitive (Peuler *et al.*,1987) และในหนูความดันเลือดสูงที่เกิดจากมี nitric oxide น้อย (Jolma *et al.*, 2000)

การได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดในภาวะความดันเลือดสูงได้อย่างไร นั้นยังไม่สามารถสรุปกลไกที่แน่ชัดได้ ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในคนที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงและมีการเสนอกลไกการลดความดันเลือดหลายกลไก Resnick และคณะ (1986) ศึกษาในคนความดันเลือดสูงที่ได้รับเกลือโซเดียม เสนอแนะว่าการได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดโดยมีการลดลงของฮอร์โมนที่ควบคุมแคลเซียมในร่างกาย ได้แก่ PTH และมีผลกดการสร้าง Vitamin D_3 ด้วย Saito และคณะ (1987) ศึกษาในคนที่ความดันเลือดสูงเสนอว่าอาจเกิดจากกลไกการเพิ่มการขับทิ้งเกลือโซเดียมในปัสสาวะ และ Ayachi (1979) ศึกษาในหนู SHR เสนอว่าอาจเกิดจากการเพิ่มการขับทิ้งเกลือโซเดียมเช่นกัน Stern และคณะ (1987) ศึกษาในหนู SHR พบว่าการตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine และ Angiotensin II ของหนูที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงไม่ลดลง และเมื่อนำหลอดเลือดแดงที่หางของสัตว์ทดลองเหล่านี้ออกมาศึกษานอกร่างกาย พบว่าหนูที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงมี contractile force ของหลอดเลือดต่อnorepinephrine เพิ่มขึ้น Peuler และคณะ (1987) เสนอว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดของหนูความดันเลือดสูงชนิด Dahl-salt sensitive ได้โดยกลไกทางระบบประสาทอัตโนมัติมากกว่ากลไกที่หลอดเลือด โดยพบว่าก่อนทำการยับยั้งการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ สัตว์ทดลองที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีค่า basal pressure ต่ำกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมปกติ แต่หลังจากยับยั้งการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ basal pressure ของสัตว์ทดลองสองกลุ่มไม่ต่างกัน และการตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine, phenylephrine และ Angiotensin II ของสัตว์ทดลองสองกลุ่มก็ไม่ต่างกัน แต่ Kageyama และคณะ (1986) ศึกษาการตอบสนองต่อ norepinephrine ที่ hind limb ของหนู SHR พบว่าหลอดเลือดของหนูที่ได้รับแคลเซียมสูงลดการตอบสนองต่อ norepinephrine Hatton และคณะ (1989) ศึกษาใน SHR พบว่าความดันเลือดของหนูที่กินแคลเซียมสูงตอบสนองต่อ norepinephrine น้อยกว่าหนู SHR ที่กินแคลเซียมต่ำกว่า และเสนอว่าอาจเกิดจากกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังหลอดเลือดตอบสนองต่อ norepinephrine ลดลงร่วมกับการลดฮอร์โมนที่ควบคุมแคลเซียมในร่างกาย DiPette และคณะ (1989) รายงานว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงทำให้เกิดการลดความต้านทานส่วนปลายทั้งหมดของหลอดเลือดและลดความต้านทานของหลอดเลือดที่ไตในหนู DOCA-salt hypertension การศึกษาของ Liu และคณะ (1994) พบว่าการได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยป้องกันการเกิด renal vascular

hypertrophy ได้ ถึงแม้ว่าหนู DOCA-salt hypertension ที่กินอาหารแคลเซียมต่ำและที่กินอาหารแคลเซียมสูงความดันเลือดจะไม่แตกต่างกัน Lewanczuk และคณะ (1990) พบว่า SHR ที่กินอาหารที่มีแคลเซียมต่ำมีความดันเลือดแดงเฉลี่ยและ PHF activity สูง ขณะที่ SHR กลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงความดันเลือดแดงเฉลี่ยต่ำกว่าและไม่พบ PHF activity เลย และเสนอว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดโดยการลด PHF activity Lin และคณะ (1994) ศึกษาในหนู DOCA-salt hypertension ก็ได้ผลเช่นเดียวกันและเสนอว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดอาจเกิดจากการลด PHF mRNA expression Porsti และคณะ (1992) รายงานว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงทำให้หลอดเลือดแดง mesenteric ของหนู SHR ที่ตัดออกมาศึกษานอกร่างกาย คลายตัวได้เร็วขึ้นหลังจากการกระตุ้นให้บีบตัวด้วย potassium chloride Makynen และคณะ (1996a ; 1996b) พบว่าการได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงหลังจากหนูเกิดความดันเลือดสูงด้วยมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ไปแล้ว สามารถทำให้ความดันเลือดลดลงได้ (reversal of hypertension) และเมื่อตัดหลอดเลือดแดง mesenteric มาศึกษานอกร่างกายพบว่า หลอดเลือดของหนูความดันเลือดสูงที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงตอบสนองต่อ acetylcholine และ sodium nitroprusside ได้ดีกว่าหนูความดันเลือดสูงที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมปกติ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อป้องกันการเกิด hyperpolarization ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด mesenteric แล้ว หลอดเลือดจะไม่ตอบสนองต่อ acetylcholine ในหนูที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากเพิ่มการเกิด endothelium-dependent hyperpolarization Passmore และคณะ (1997) ศึกษาในหนู SHR ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงพบว่าหลอดเลือดที่ไตตอบสนองต่อ norepinephrine ได้น้อยกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมต่ำ และพบว่าหลังยับยั้งการสร้าง NO การตอบสนองของหลอดเลือดที่ไตต่อ norepinephrine เพิ่มมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ Civantos และคณะ (1999) ได้ศึกษาในหนู SHR และหนูความดันเลือดปกติที่สมองและไขสันหลังขาดการติดต่อกัน (pithed rat) พบว่าหนูทั้งสองพวกที่ได้รับอาหารแคลเซียมสูงความดันเลือดตอบสนองต่อ α_1-agonist (methoxamine) และ α_2-agonist (B-HT 920) ได้น้อยลง

การศึกษาผลของอาหารที่มีแคลเซียมผสมปริมาณต่าง ๆ กันต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดส่วนใหญ่นิยมใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ผสมในอาหารแห้ง แต่อย่างไรก็ตามมีการใช้ $CaCl_2$ ผสมลงในน้ำให้สัตว์ทดลองดื่มซึ่งพบว่ามีผลเปลี่ยนแปลงความดันเลือดได้เช่นกัน ส่วนใหญ่ปริมาณแคลเซียมที่ผสมในอาหารอยู่ในระหว่าง 5% จนถึง 0% โดยน้ำหนัก อาหารที่มีปริมาณแคลเซียม 0.5-1% ถือว่าเป็นอาหารที่มีแคลเซียมปกติ ส่วนอาหารที่มีแคลเซียมสูงจะมี

แคลเซียมผสมประมาณ 2-4 % (Hatton and McCarron., 1994) แต่อย่างไรก็ตามบริษัทผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูปส่วนใหญ่จะผสมแคลเซียมประมาณ 1-1.4 % และในการทดลองนี้ใช้อาหารสำเร็จรูปที่มีแคลเซียม 1.4 % เป็นระดับควบคุม (control) ส่วนอาหารที่มีแคลเซียมสูงจะมีแคลเซียมผสม 3.5%

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงต่อความดันเลือดในหนูปกติและหนูความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดจากการตอบสนองเมื่อได้รับสารขยายหลอดเลือด (acetylcholine) ในหนูความดันเลือดปกติและหนูความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ ซึ่งได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดจากการตอบสนองเมื่อได้รับสารบีบหลอดเลือด (norepinephrine และphenylephrine) ในหนูความดันเลือดปกติและหนูความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ ซึ่งได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุ

2.1.1 สัตว์ทดลอง

ในการทดลองนี้ใช้หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Wistar ที่มีความดันเลือดปกติและที่ทำให้เกิดความดันเลือดสูง ซึ่งได้รับอาหารหนูสำเร็จรูปปกติ (มีแคลเซียม 1.4%) (S.W.T.company, Thailand) และที่ได้รับอาหารหนูที่มีแคลเซียมสูง (มีแคลเซียม 3.5%) สัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มดื่มน้ำประปาหรือน้ำเกลือ 0.9% โดยไม่จำกัดปริมาณ โดยเลี้ยงที่หน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ หนูขาวทั้งหมดถูกเลี้ยงในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25 °c รวมทั้งควบคุมช่วงเวลาที่มีแสงสว่าง : มืด ให้มีสัดส่วนเท่ากับ 12 :12 ชั่วโมง

2.1.2 ยาและสารเคมี

1. Inactin (Thiobutabarbital Sodium) , RBI , ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. Pentolinium (1 , 1 –Pentame thylenebis [1- methyl pyrrolidinium hydrogen tartrate]) Di(L[+] – tartrate) Salt , Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. (-)- Arterenol ([-]-Norepinephine) Bitartrate Salt; Hydrate, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. L-Phenylephrine Hydrochloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. Ascorbic Acid, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Deoxycorticosterone Acetate (DOCA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. Acetylchloline chloride (Ach), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. Heparin, Leo Pharmaceutical Products, ประเทศเดนมาร์ค
9. Calcium Carbonate, วิทยาศรม , กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
10. Olive Oil, วิทยาศรม, กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
11. น้ำเกลือความเข้มข้น 0.9% (Normal Saline Solution)

2.2 อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
2. ชุดเครื่องมือควบคุมอุณหภูมิร่างกาย (Harvard Apparatus Homeothermic Blanket Control Unit) ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องฉีดสารละลายต่อเนื่อง (Harvard Apparatus Compact Infusion Pump , Model HA 975 A) ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เครื่องโพลีกราฟ (Polygraph, Model 7) พร้อมอุปกรณ์ประกอบด้วย EKG Tachograph Pre-amplifier (Model 7 P4) ,Low-Level D.C. Pre-amplifier (Model 7 P1), Pressure transducer (Model Statham P 23 ID) , Grass ,ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด (Model Mettler AJ 150) , ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
6. เครื่องดูดสารอัตโนมัติ (Automatic Pipettes) (Model Socorex) , ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ (Model 20 , 200 , 5000 Eppendorf Research) , ประเทศเยอรมันนี
7. Hypodermic syringe Interchangeable , Fortuna , 1 ml , ประเทศเยอรมันนี
8. Polyethylene Tubing No. 50 (P.E. 50) Inside Diamiter 0.58 mm (0.23") Outside Diameter 0.965 mm (0.38") , Clay Adams , ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องผสมอาหารและอัดเม็ด Hobart (Model A-200T), ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. เครื่องอบอาหาร
11. เครื่องวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ (Automatic Analyzer) Hitachi (Model 917), ประเทศญี่ปุ่น
12. เครื่องตรวจวัดอิเลคโตรไลท์ (Model Nucleus) Nova, ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.3 วิธีการ

2.3.1 วิธีเตรียมอาหารที่มีแคลเซียมสูง

การเตรียมอาหารที่มีแคลเซียมสูง 3.5% ทำโดยนำอาหารหนูสำเร็จรูปปกติ (มีแคลเซียม 1.4%) (S.W.T., Thailand) มาปั่นให้เป็นผงและเพิ่มแคลเซียมอีก 2.1% (โดยคำณวนจาก $CaCO_3$ ที่ใช้) ลงไปในอาหารที่ปั่นแล้ว เติมน้ำ deionized 300 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ใส่ส่วนผสมทั้งหมดดังกล่าวลงในเครื่องผสมอาหารและอัดเม็ด แล้วนำมาอบในตู้อบแห้งด้วยอุณหภูมิ 40 °C 30-60 นาที ได้เป็นอาหารสำเร็จที่มีแคลเซียมสูง 3.5 % สำหรับใช้เลี้ยงหนูกลุ่มทดลองต่อไป

2.3.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

2.3.2.1 ใช้หนูขาวเพศผู้อายุเต็ม 6 สัปดาห์นำมาชั่งน้ำหนักตัวและวัดความดัน systolic pressure ด้วยเครื่อง Harvard rat tail blood pressure monitor เป็นการวัดความดันเลือดโดยทางอ้อมที่หางหนูขณะหนูไม่สลบ ที่อุณหภูมิห้อง 25 °C แล้วแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว ดังนี้

1) กลุ่ม Placebo หมายถึง หนูขาวที่ได้รับ olive oil (ตัวทำละลาย) (ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง) อาหารสำเร็จรูปปกติ (มี Calcium 1.4%) และดื่มน้ำประปา จัดเป็นกลุ่มควบคุม
2) กลุ่ม Placebo-HC (Placebo + High Calcium) หมายถึง หนูที่ได้รับ Olive oil อาหารที่เพิ่มแคลเซียม (มี Calcium 3.5%) และดื่มน้ำประปา
3) กลุ่ม DOCA (Deoxycorticosterone-Acetate) หมายถึง หนูที่ได้รับ DOCA ซึ่งเป็นมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ที่ละลายใน olive oil (ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง) ร่วมกับน้ำเกลือ 0.9% แทนน้ำประปาเพื่อชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงและ อาหารสำเร็จรูปปกติ
4) กลุ่ม DOCA-HC (DOCA + High Calcium) หมายถึง หนูที่ได้รับ DOCA ร่วมกับน้ำเกลือ 0.9%และ อาหารที่เพิ่มแคลเซียม

โดยหนูทุกกลุ่มเริ่มได้รับการทดลองต่าง ๆ ดังกล่าวเมื่ออายุเต็ม 7 สัปดาห์ เลี้ยงหนูต่อไปอีก 6 สัปดาห์ ในระยะเวลาดังกล่าวชั่งน้ำหนักตัวและวัดความดันเลือดที่หางหนูขณะไม่สลบทุกสัปดาห์ เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดของหนูทั้ง 4 กลุ่ม

2.3.2.2 หนูกลุ่ม 1 และ 2 ได้รับการฉีด Olive oil 0.1 มิลลิลิตร (ปริมาตรใกล้เคียงกับที่หนูกลุ่ม 3 และ 4 ได้รับ) เข้าชั้นใต้ผิวหนัง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง สำหรับหนูกลุ่ม 3 และ 4 ได้รับการฉีด DOCA ที่ละลายใน Olive oil ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขนาด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าชั้นใต้ผิวหนัง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง เช่นเดียวกัน สำหรับน้ำประปาที่ให้หนูกลุ่ม 1 และ 2 และน้ำเกลือ (0.9% NaCl) ที่ให้หนูกลุ่ม 3 และ 4 มีไว้ให้ดื่มได้ตลอดเวลาโดยไม่จำกัดปริมาณ (*ad libitum*)

2.3.3 วิธีวัดความดันเลือดที่หางหนู

นำสัตว์ทดลองที่ต้องการวัดความดันเลือดใส่ในกรงพลาสติกขนาดเล็กเพื่อควบคุมการเคลื่อนไหวของหนู (restrainer) และสอดหางหนูเข้าไปใน cuff ซึ่งจะมี photo sensor อยู่และต่ออยู่กับเครื่อง rat tail blood pressure monitor ที่รับสัญญาณเข้าพร้อมกันสองทาง ทางหนึ่งรับสัญญาณการเพิ่มความดันจากการบีบลูกยาง ในขณะเดียวกันการเพิ่มความดันในลูกยางจะมีผลเพิ่มความดันใน cuff ที่ cuff มี photo sensor อยู่เพื่อรับสัญญาณการไหลของเลือด (pulse) ที่หางหนูจะส่งสัญญาณเข้าเครื่อง rat tail blood pressure monitor ด้วย ต่อสัญญาณจากเครื่อง rat tail blood pressure monitor เข้าเครื่องบันทึก polygraph เพื่อบันทึก pulse และความดันเลือดที่หางหนู ใช้ cuff ที่มีขนาดพอดีกับหางหนู หลังจากปล่อยให้หนูคุ้นเคยกับเครื่องยึดหนูประมาณ 5-10 นาที จึงเริ่มวัดความดันโดยเพิ่มความดันใน cuff ให้สูงกว่าความดันภายในหลอดเลือดที่หางหนู ทำให้ไม่มีการไหลของเลือดผ่านหลอดเลือดบริเวณใต้ cuff จากนั้นค่อยๆลดความดันใน cuff ลงอย่างสม่ำเสมอจนกระทั่งความดันภายใน cuff น้อยกว่าความดัน systolic ภายในหลอดเลือดแดงเล็กน้อย เลือดจะสามารถไหลผ่านหลอดเลือดที่บริเวณใต้ cuff และเริ่มบันทึก pulse ได้ ค่าความดันเลือดใน cuff ขณะนี้จะประมาณเท่ากับค่า systolic pressure วัดความดันเลือดซ้ำ 3 ครั้งและหาค่าเฉลี่ยของ systolic pressure

2.3.4 วิธีเตรียมสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดต่อสารที่มีผลต่อหลอดเลือด

2.3.4.1 นำสัตว์ทดลองทั้ง 4 กลุ่ม มาสลบด้วย Inactin (Thiobutabarbital Sodium) ขนาด 100 mg/kg ฉีดเข้าในช่องท้อง (intraperitonial,IP)

2.3.4.2 เจาะหลอดลมและสอดท่อ polyethylene เบอร์ 240 (PE 240) เพื่อให้หายใจได้สะดวกและเพื่อดูดเสมหะ

2.3.4.3 ผ่าตัดและสอดท่อ polyethylene เบอร์ 50 (PE 50) เข้าในหลอดเลือดแดง femoral สำหรับวัดความดันเลือดในหลอดเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจ บันทึกความดันเลือด (systolic และ diastolic blood pressure) และอัตราการเต้นของหัวใจด้วยเครื่อง polygraph

2.3.4.4 สอดท่อ polyethylene เบอร์ 50 (PE 50) เข้าในหลอดเลือดดำ femoral สำหรับฉีดสารต่างๆและน้ำเกลือ (0.9% NaCl)

2.3.4.5 สอดท่อเข้าในกระเพาะปัสสาวะ (urinary bladder cannulation) โดยใช้ท่อ polyethylene เบอร์ 240 (PE 240) เพื่อระบายปัสสาวะ

2.3.4.6 วางสัตว์ทดลองบนเตียงที่ควบคุมอุณหภูมิของสัตว์ทดลองให้อยู่ที่ประมาณ 36 °C รอให้ความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจคงที่ใช้เวลาประมาณ 20 นาที จึงเริ่มทดลองด้วยการฉีดสารต่างๆด้วยอัตราการฉีดคงที่ที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ด้วยเครื่องฉีดสารละลายต่อเนื่อง

2.3.4.7 หลังจากเสร็จสิ้นการฉีดสารต่างๆแล้ว ประมาณ 90 นาทีจึงเก็บเลือดจากหลอดเลือดแดง femoral หลังจากเกิดลิ่มเลือดจึงนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifuse) เพื่อนำซีรัมไปหาปริมาณแคลเซียมทั้ง total calcium และ calcium ion และ sodium ion

2.3.4.8 หลังจากเก็บเลือดแล้วฆ่าสัตว์ทดลองโดยฉีด saturated magnesium sulphate (saturated $MgSO_4$) เข้าทางหลอดเลือดดำเพื่อให้สัตว์ทดลองตายอย่างสงบ

2.3.4.9 หลังจากสัตว์ทดลองตายตัดหัวใจส่วน ventricle มาชั่งน้ำหนักเพื่อเปรียบเทียบขนาดของหัวใจต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองในกลุ่มต่าง ๆ

2.3.5 วิธีศึกษาการตอบสนองของความดันเลือด และอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อได้รับสารขยายหลอดเลือด (acetylcholine)

เตรียมสัตว์ทดลองตามข้อ 2.3.4 จากนั้นฉีดสัตว์ทดลองทุกกลุ่มด้วย acetylcholine ขนาด 0.1, 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg การฉีด acetylcholine จะเริ่มต้นด้วยขนาดต่ำสุดก่อนแล้วรอจนกระทั่งความดันเลือดแดงที่ลดลงกลับสู่ค่าก่อนฉีด จึงเริ่มฉีดขนาดที่สูงขึ้นไปเรื่อย ๆ จนถึงขนาดสูงสุด

2.3.6 วิธีศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจต่อ acetylcholine หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion

2.3.6.1 หลังจากเสร็จการทดลองข้อ 2.3.5 แล้ว ทำการฉีด pentolinium tartrate (Matsumura *et al.*, 1998 ; เยาวลักษณ์, 2543) ความเข้มข้น 12 mg/kg (IP) โดย pentolinium tartrate จับกับ nicotinic receptors ที่ autonomic ganglion ทำให้ระบบประสาทอัตโนมัติถูกยับยั้งการทำงาน (Taylor,1996) ฉีด pentolinium tartrate ทิ้งไว้เป็นเวลา 8-10 นาที เพื่อให้ความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจคงที่

2.3.6.2 บันทึกการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจหลังจากฉีด acetylcholine ขนาด 0.1, 0.4 , 1.6 และ 3.2 μg/kg ตามลำดับ ซ้ำแบบเดิม

2.3.7 วิธีศึกษาผลการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อได้รับสารที่ทำให้หลอดเลือดบีบตัว (norepinephine และ phenylephrine)

2.3.7.1 เตรียมสัตว์ทดลองดังข้อ 2.3.4 วิธีการทดลองทำเช่นเดียวกับ 2.3.5 แต่ใช้ norepinephrine ขนาด 0.1, 0.4 และ 0.8 μg/kg และ phenylephrine ขนาด 0.4, 1.6 และ 3.2 μg/kg

2.3.7.2 หลังจากฉีดสารจากขนาดต่ำถึงขนาดสูงขึ้นตามลำดับ บันทึกการเปลี่ยนแปลงของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจ

2.3.8 วิธีศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจต่อสารบีบหลอดเลือดหลังจากปิดกั้น autonomic ganglion

2.3.8.1 หลังจากเสร็จการทดลอง 2.3.7 แล้วทำการยับยั้งระบบประสาทอัตโนมัติโดยฉีด pentolinium tartrate ความเข้มข้น 12 mg/kg ทิ้งไว้เป็นเวลา 8-10 นาที เพื่อให้ความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจคงที่

2.3.8.2 ฉีด norepinephrine ขนาด 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 μg/kg phenylephrine ขนาด 0.4, 0.8, 1.6 และ 3.2 μg/kg ตามลำดับ ซ้ำแบบเดิมบันทึกการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจ

2.3.9 วิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารในเลือด (Analysis methods)

หาปริมาณ ionized calcium และ ionized sodium ใน ซีรัม ใช้วิธี Ion-selective Electrode ด้วยเครื่องตรวจวัดอิเลคโตรไลท์ (Nova,ประเทศสหรัฐอเมริกา) สำหรับ total calcium

ใช้วิธี Complexometric ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ (Hitachi,ประเทศญี่ปุ่น) โดยส่งตัวอย่าง ซีรัม ของหนูทั้งสี่กลุ่มไปทำการวิเคราะห์ที่หน่วยเคมีคลินิก โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

2.3.10 ค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ย (mean arterial pressure)

ค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยหาโดยคำนวณจาก

mean arterial pressure = diastolic pressure+1/3 pulse pressure

ค่าความดันเลือดที่เปลี่ยนแปลงหลังจากฉีดสาร หาได้จากค่าความดันเลือดขณะ control ก่อนฉีดสาร ลบด้วยความดันเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปมากที่สุดหลังจากฉีดสารนั้น ๆ

2.3.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสารกับความดันเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปจากก่อนฉีดสาร (dose-reponse curve) โดยใช้ค่า mean±SEM ของความดันเลือดที่เปลี่ยนไปในแต่ละความเข้มข้นของ acetylcholine norepinephrine และ phenyleprine เปรียบเทียบการตอบสนองของความดันเลือดต่อสารต่างๆดังกล่าวที่ขนาดเดียวกันระหว่างกลุ่มควบคุมซึ่งมีความดันเลือดปกติกับกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง และกลุ่ม DOCA ซึ่งมีความดันเลือดสูงที่ได้รับอาหารปกติ กับกลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง และเปรียบเทียบการตอบสนองของความดันเลือดต่อสารต่างๆดังกล่าวระหว่างสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มหลังจากยับยั้งการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย การคำนวณทางสถิติใช้ Oneway-ANOVA และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ฉีดสารขนาดเดียวกันด้วย LSD post hoc test โดยยอมรับค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

3. ผลการทดลอง

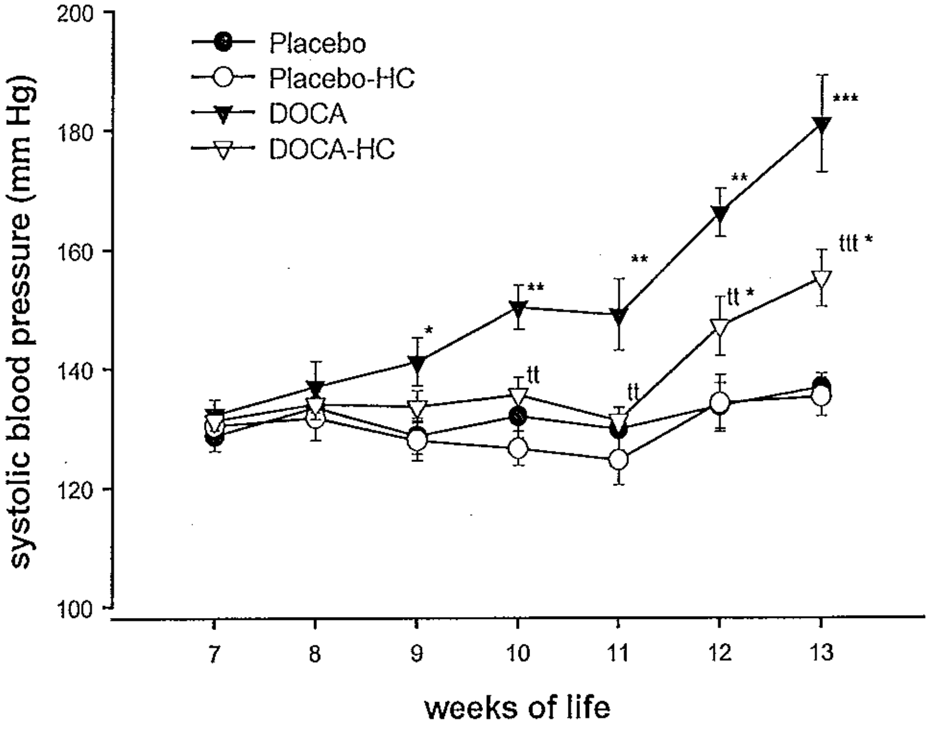
3.1 ความดันเลือดที่วัดโดยทางอ้อมที่หาง

จากผลการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC มีค่า systolic blood pressure ที่วัดโดยทางอ้อมที่หางหนูทุกสัปดาห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (กลุ่ม Placebo 136.7±2 มม.ปรอท, n=14 และกลุ่ม Placebo-HC 135.0±3 มม.ปรอท, n=14) (แสดงในรูปที่ 3.1) ส่วนสัตว์ทดลองที่ชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงโดยใช้ DOCA-salt พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารปกติ (มีแคลเซียม1.4%) มีค่า systolic blood pressure สูงกว่ากลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูง (3.5%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่ม DOCA 181.0±8 มม.ปรอท, n=16 และกลุ่ม DOCA-HC 155.1± 5 มม.ปรอท, n=16, $P<0.001$) โดยพบว่าค่า systolic blood pressure เริ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มการทดลอง (แสดงในรูปที่ 3.1) และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Placebo ก็พบว่ากลุ่ม DOCA มีค่า systolic blood pressure สูงกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($P<0.001$) และพบว่ากลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงเริ่มมี systolic blood pressure สูงกว่ากลุ่ม Placebo ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง แต่ยังคงต่ำกว่ากลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารปกติ ($P<0.001$) systolic blood pressure ของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มตลอดเวลาที่ทำการทดลองนาน 6 สัปดาห์ แสดงในรูปที่ 3.1

3.2 ความดันเลือดแดงเฉลี่ย (Mean Blood Pressure หรือ MBP) และอัตราการเต้นของหัวใจ (Heart Rate หรือ HR) ภายใต้ฤทธิ์ของยาสลบหลังจากทำการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์

การบันทึกผลความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจภายใต้ยาสลบ หลังจากผ่าตัดสัตว์ทดลองเสร็จประมาณ 20 นาที ซึ่งเป็นช่วงที่ความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจคงที่ พบว่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยซึ่งได้จากการคำนวณ diastolic pressure+1/3 pulse pressure ของกลุ่ม DOCA มีค่าสูงกว่ากลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 3.1) และพบว่ากลุ่ม DOCA มีค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($P<0.05$) แต่พบว่ากลุ่ม DOCA-HC มีค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยไม่แตกต่างกับกลุ่ม Placebo ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจของสัตว์ทดลองทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3.1) และหลังจากยับยั้งการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติแล้ว พบว่าความดัน

เลือดแดงเฉลี่ยของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มลดลง (ตารางที่ 3.1) แต่อย่างไรก็ตามกลุ่ม DOCA ยังคงมีความดันเลือดแดงเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่ม DOCA-HC ยังคงมีความดันเลือดแดงเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่ม DOCA ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มลดลงอย่างมากหลังจากปิดกั้น autonomic ganglion และไม่มีความแตกต่างกันในสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่ม



รูปที่ 3.1 แสดงความดันเลือดหนูที่วัดโดยทางอ้อม (tail cuff method) ในระยะทำการทดลอง 6 สัปดาห์แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM กลุ่ม Placebo (Calcium 1.4%) n=14 กลุ่ม Placebo-HC (High Calcium 3.5%) n=14 กลุ่ม DOCA (Calcium 1.4%) n=16 และกลุ่ม DOCA-HC (High Calcium) n=16

$^{*, t}$ $P<0.05$, $^{**, tt}$ $P<0.01$, $^{***, ttt}$ $P<0.001$

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

[t] แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.1 ความดันเลือดแดงเฉลี่ย (Mean Arterial Pressure หรือ MAP) และ อัตราการเต้นของหัวใจ (Heart Rate) ของหนูทั้งสี่กลุ่ม ก่อนเริ่มฉีดสารที่มีผลต่อหลอดเลือด (vasoactive agents) และหลังจากปิดกั้น autonomic gangion แต่ละค่าแสดง mean ± SEM

	Placebo (n=19)	Placebo-HC (n=18)	DOCA (n=20)	DOCA-HC (n=19)
Basal MAP (mm Hg)	125 ± 3	121 ± 2	151 ± 4*	123 ± 4ᵗ
Basal Heart Rate (beats/minute)	419 ± 7	412 ± 6	414 ± 7	420 ± 6
MAP After ANS blockade (mm Hg)	69 ± 3	68 ± 2	91 ± 4*	72 ± 3ᵗ
Heart Rate (beats/minute)	332 ± 6	328 ± 5	324 ± 6	328 ± 4

P<0.05 * แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ᵗ แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

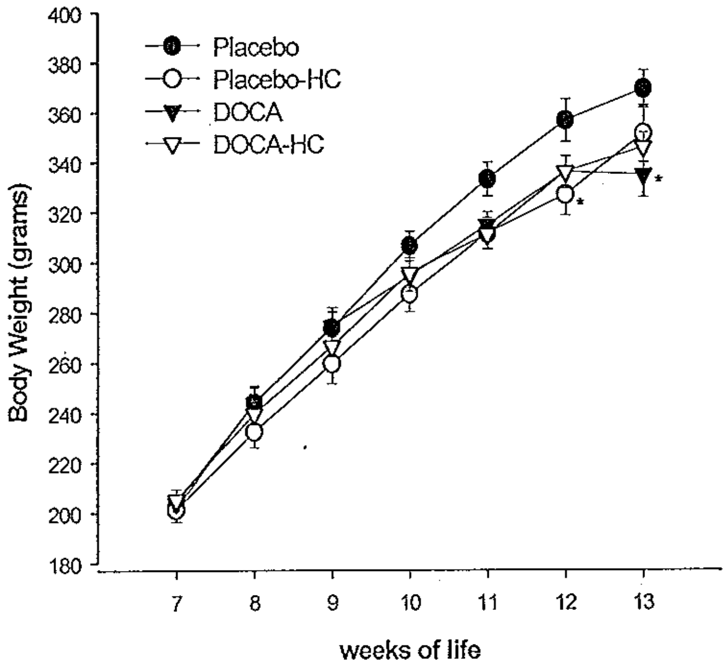
3.3 น้ำหนักตัวสัตว์ทดลอง

น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มในระยะเลี้ยงสัตว์ทดลอง 6 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นที่ละน้อยและเป็นไปในรูปแบบเดียวกันและใกล้เคียงกันใน 3 สัปดาห์แรกของการทดลอง แต่ในสัปดาห์ที่ 4-6 ของการทดลอง (อายุ 10-13 สัปดาห์) น้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม Placebo-HC DOCA-HC และ DOCA น้อยกว่ากลุ่ม Placebo แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกลุ่ม DOCA ที่สัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง กลุ่ม Placebo 369±7 กรัม, n=14, กลุ่ม Placebo-HC 351±11 กรัม, n=14, กลุ่ม DOCA 334±9 กรัม, n=14 และกลุ่ม DOCA-HC 346±6 กรัม, n=15, ตามลำดับ P<0.05) (รูปที่ 3.2)

3.4 น้ำหนักหัวใจต่อน้ำหนักตัว

เพื่อที่จะยืนยันถึงค่าความดันเลือดที่แตกต่างกัน จึงทำการชั่งน้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง พบว่าน้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ของสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA สูงกว่ากลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กลุ่ม Placebo และ Placebo-HC น้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3.2)

ในขณะเดียวกันการชั่งน้ำหนักตัวในวันที่ทำการทดลองพบว่ากลุ่ม DOCA มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกับกลุ่ม DOCA-HC แต่กลุ่ม DOCA มีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กลุ่ม Placebo น้ำหนักตัวไม่แตกต่างกับกลุ่ม Placebo-HC และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนของน้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองพบว่ากลุ่ม DOCA มีน้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่ม Placebo และกลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC มีน้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน สำหรับกลุ่ม DOCA-HC ถึงแม้จะมีน้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่ม DOCA แต่ก็ยังคงมากกว่าของกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 3.2)



รูปที่ 3.2 น้ำหนักตัวของหนูแต่ละกลุ่มในระยะทำการทดลอง 6 สัปดาห์

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM. กลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) n=14 กลุ่ม Placebo-HC (High Calcium 3.5%) n=14 กลุ่ม DOCA (Calcium 1.4%) n=14 และ กลุ่ม DOCA-HC (DOCA+High Calcium 3.5%) n=15 * P<0.05

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.2 อัตราส่วนของน้ำหนักหัวใจส่วน ventricle ต่อน้ำหนักตัว ของกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4%) Placebo-HC (High Calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4%) DOCA-HC (High Calcium 3.5%) แต่ละค่าแสดง mean ± SEM

	Placebo (n=19)	Placebo-HC (n=16)	DOCA (n=18)	DOCA-HC (n=14)
Body Weight (gram)	392 ± 8	359 ± 9	342 ± 8*	350 ± 6
Ventricular Weight (mg)	914 ± 9	839 ± 25	1036 ± 26	952 ± 24
Ventricular Weight /Body Weight	2.34 ±0	2.34 ± 0	3.06 ± 0.0*	2.70 ± 0.* ᵗ

P<0.05 * แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ᵗ แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.5 ปริมาณแคลเซียมและโซเดียมในซีรัม

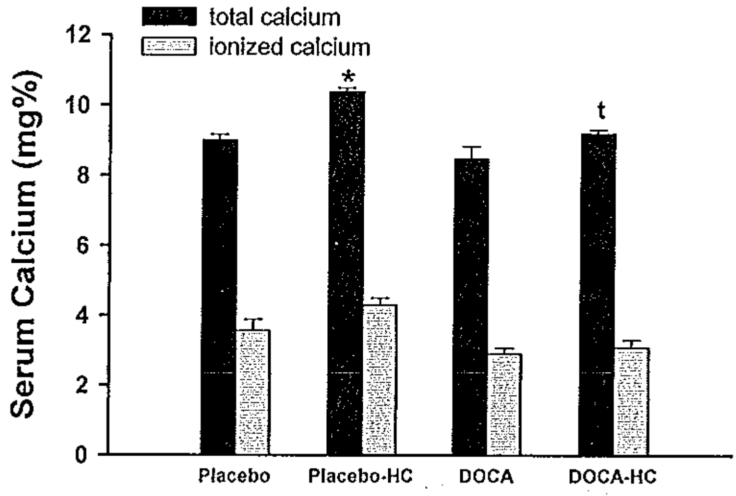
จากการวิเคราะห์หาปริมาณ Serum total Calcium (tCa) พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo-HC มีค่า tCa สูงกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่ม Placebo-HC 10.38±0.11 mg% และ กลุ่ม Placebo 9.00±0.17 mg%, $P<0.05$, n=6) ส่วนสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA ซึ่งกินอาหารที่มีแคลเซียมสูง (DOCA-HC) ค่า tCa ก็สูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมปกติ (DOCA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (กลุ่ม DOCA-HC 9.20±0.11 mg% และกลุ่ม DOCA 8.48 ± 0.35 mg% , $P<0.05$, n=6) และระหว่างกลุ่ม DOCA ซึ่งมีความดันเลือดสูงกว่ากลุ่ม Placebo พบว่า tCa ของกลุ่ม DOCA (8.48 ± 0.35 mg%) มีแนวโน้มต่ำกว่ากลุ่ม Placebo (9.00 ± 0.17 mg%) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 3.3)

สำหรับค่า Serum Ionized Calcium (iCa^{2+}) พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo-HC ค่า iCa^{2+} มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม Placebo แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกันสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA-HC ค่า iCa^{2+} มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม DOCA แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน และระหว่างกลุ่ม DOCA ซึ่งมีความดันเลือดสูงกว่ากลุ่ม Placebo พบว่า iCa^{2+} ของกลุ่ม DOCA มีแนวโน้มต่ำกว่าของกลุ่ม Placebo แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน (รูปที่ 3.3)

ส่วนค่า Serum Ionized Sodium (Na^{+}) พบว่าสัตว์ทดลองทุกกลุ่มมีปริมาณของ Na^{+} ในซีรัมไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 3.4)

3.6 ผลการศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับสารขยายหลอดเลือด acetylcholine

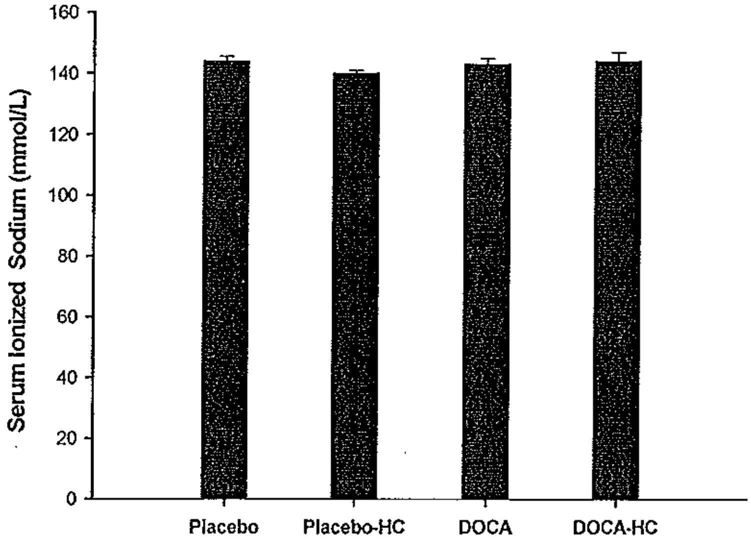
เมื่อฉีด acetylcholine ขนาด 0.1, 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg เข้าหลอดเลือดดำของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มพบว่า acetylcholine ขนาดต่าง ๆ เหล่านี้มีผลลดความดันเลือดลงอย่างชัดเจน และเกิด baroreceptor reflex ทำให้เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ (แสดงตัวอย่างดังรูปที่ 3.5) พบว่าในสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดจากการได้รับ acetylcholine ขนาด 0.1, 0.4, และ 3.2 µg/kg ไม่แตกต่างกัน แต่ที่ขนาด 1.6 µg/kg กลุ่ม Placebo-HC ความดันเลือดเปลี่ยนแปลงได้น้อยกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) (รูปที่ 3.6) ส่วนสัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA พบว่าการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดจากการได้รับ acetylcholine น้อยกว่ากลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อได้รับสาร acetylcholine ขนาด 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg ($P<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่ม DOCA มีการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดเมื่อได้รับ acetylcholine ที่ขนาด 1.6 และ 3.2 µg/kg ได้น้อยกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย ($P<0.05$) (รูปที่ 3.6)



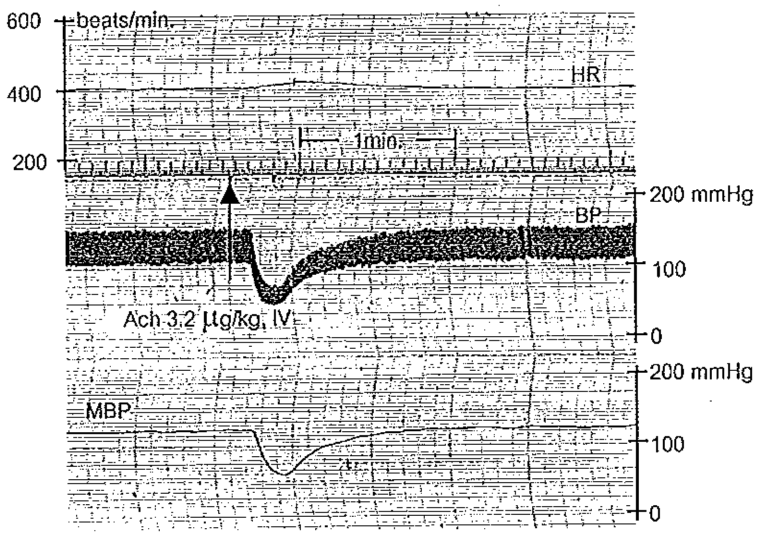
รูปที่ 3.3 ค่า tCa (serum total Calcium) และ iCa^{2+}(serum ionized calcium) ของกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4%), Placebo-HC(High Calcium 3.5%), DOCA (Calcium 1.4%) และ DOCA-HC (High Calcium 3.5%) ทุกกลุ่ม n=6 แต่ละค่าแสดง mean ± SEM

P<0.05 * แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ᵗ แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 3.4 ค่า Na^+ (serum ionized sodium) ของกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4%) Placebo-HC (High Calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4%) DOCA-HC (High Calcium 3.5%) ทุกกลุ่ม n=6

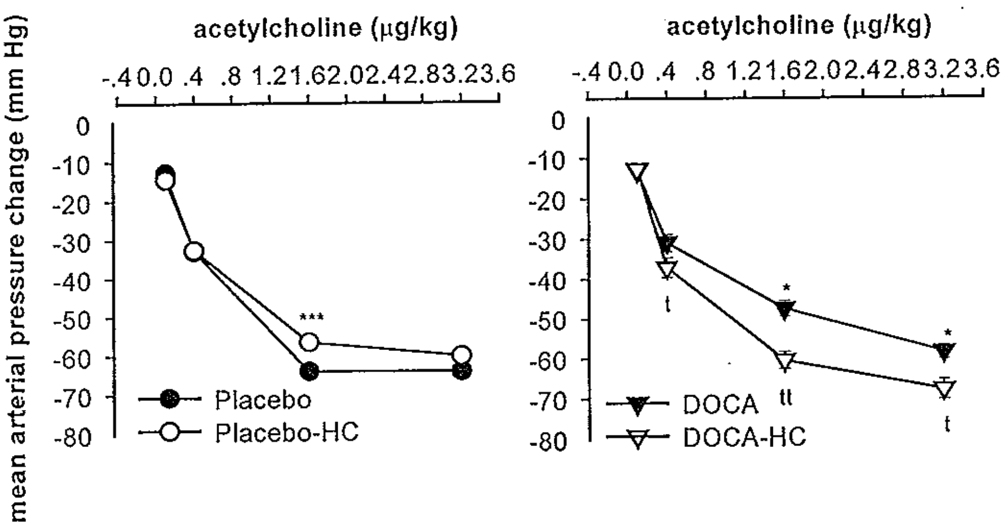


รูปที่ 3.5 ตัวอย่างการบันทึกผลการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อฉีด acetylcholine (Ach) 3.2 μg/kg เข้าหลอดเลือดดำ (intravenous, iv) ของหนูกลุ่ม Placebo HR= Heart Rate, BP= Blood Pressure, MBP= Mean Blood Pressure (สัญญาณที่ลูกศรชี้ คือ จุดเริ่มฉีดสาร สัญญาณต่อมา คือ จุดสิ้นสุดการฉีดสาร)

3.7 ผลการศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับ acetylcholine หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion

หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion ด้วย pentolinium tartrate 12 mg/kg ทำให้ความดันเลือดของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มลดลงอย่างมาก (ตารางที่ 3.1)

หลังจากได้รับสารขยายหลอดเลือด acetylcholine ขนาด 0.1, 0.4, 1.6 และ 3.2 μg/kg ความดันเลือดแดงเฉลี่ยของสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC เปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกัน โดยความดันเลือดแดงเฉลี่ยลดลงเมื่อความเข้มข้นของ acetylcholine เพิ่มขึ้น (รูปที่ 3.7) ส่วนกลุ่ม DOCA-HC เมื่อได้รับ acetylcholine พบว่าความดันเลือดลดลงได้มากกว่ากลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกขนาด ($P<0.05$ และ $P<0.001$ ตามลำดับ) และพบว่ากลุ่ม DOCA เมื่อได้รับ acetylcholine ความดันเลือดลดลงได้น้อยกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย ($P<0.05$) (รูปที่ 3.7)

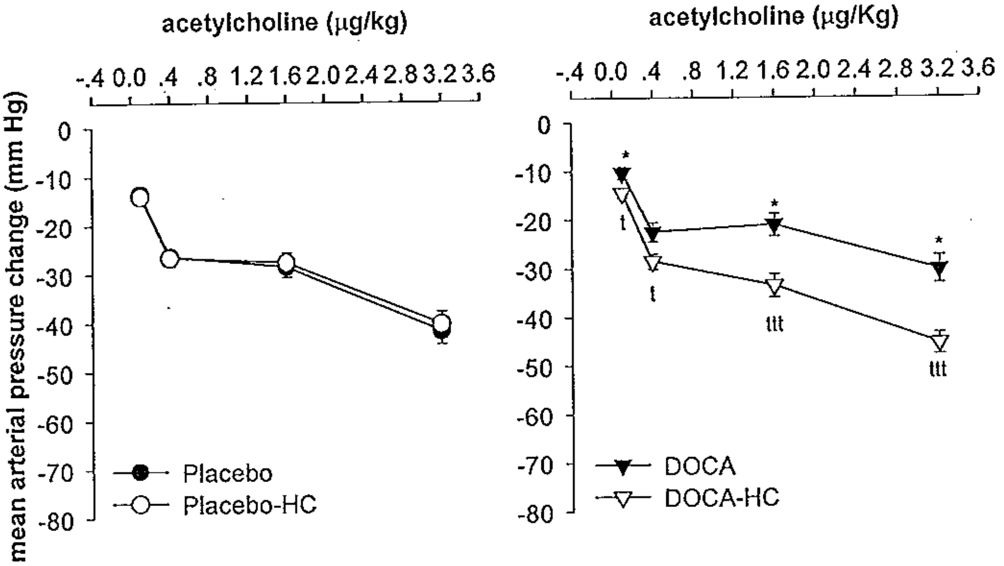


รูปที่ 3.6 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ acetylcholine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8)

แต่ละจุดแสดงค่า mean±SEM *, ^{t} P<0.05, ^{tt} P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{t} แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



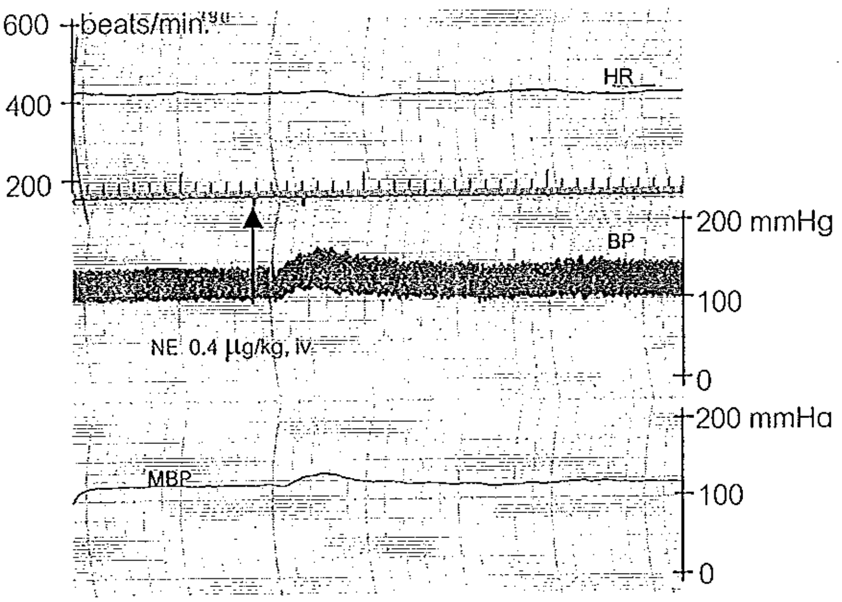
รูปที่ 3.7 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ acetylcholine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8) แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM ^{t}P<0.05, ^{tt} P<0.01, ^{ttt} P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

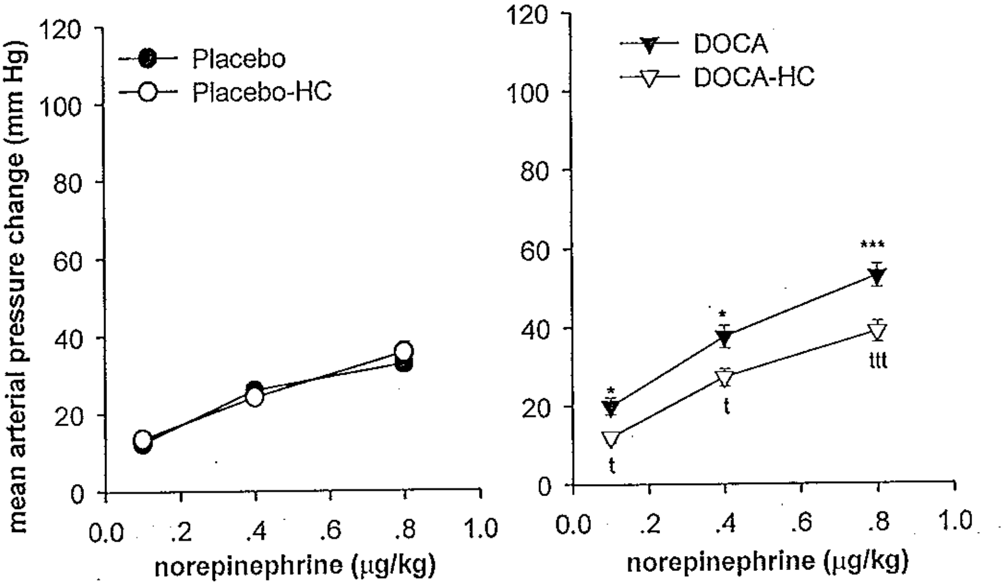
^{t} แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.8 **ผลการศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับ** norepinephine

เมื่อฉีด norepinephrine ขนาดต่างๆเข้าหลอดเลือดดำของสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มจะทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้น ดังตัวอย่าง (รูปที่ 3.8) พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดจากการได้รับ norepinephrine ขนาด 0.1, 0.4 และ 0.8 μg/kg ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าการได้รับ norepinephine 0.1, 0.4 และ 0.8 μg/kg ในกลุ่ม DOCA ความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้มากกว่ากลุ่ม DOCA-HC และกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) (รูปที่ 3.9)



รูปที่ 3.8 ตัวอย่างการบันทึกผลการตอบสนองของความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อฉีด norepinephrine (NE) 0.4 μg/kg เข้าหลอดเลือดดำ (inravenous,iv) ของหนูกลุ่ม Placebo HR= Heart Rate, BP= Blood Pressure, MBP= Mean Blood Pressure (สัญญาณที่ลูกศรชี้ คือ จุดเริ่มฉีด NE สัญญาณต่อมา คือ จุดสิ้นสุดการฉีด NE)



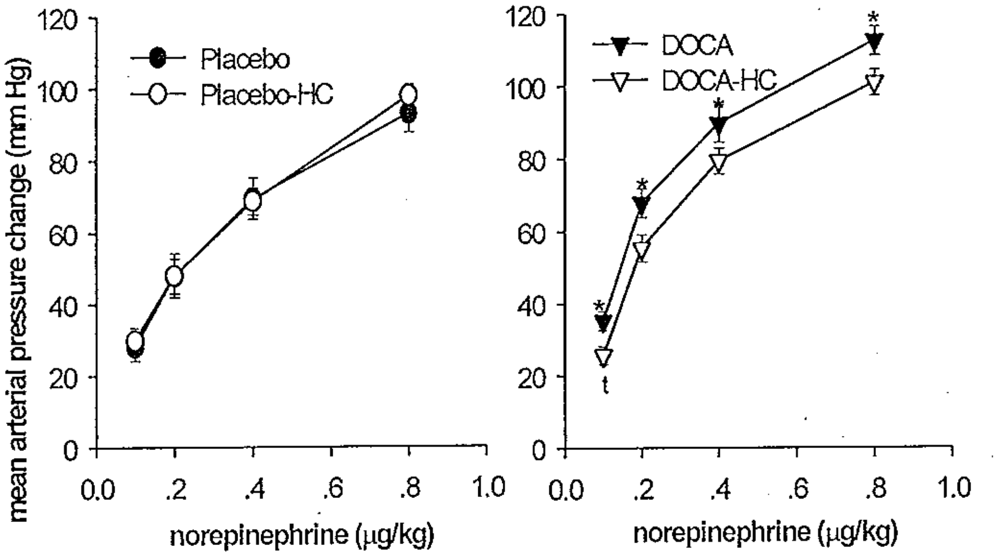
รูปที่ 3.9 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8) แต่ละจุดแสดงค่า mean±SEM ^{*,t} P<0.05 ^{***,ttt} P <0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.9 ผลการศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับ norepinephrine หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion

หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion ด้วย pentolinium tartrate ในสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่ม พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC มีการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดเมื่อได้รับ norepinephrine ขนาด 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 µg/kg ไม่แตกต่างกัน และกลุ่ม DOCA-HC มีความดันเลือดเพิ่มขึ้นจากการได้รับ norepinephrine ขนาด 0.2, 0.4 และ 0.8 µg/kg ไม่แตกต่างกับกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญ แต่มีแนวโน้มว่าความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่า กลุ่ม DOCA-HC ยกเว้น norepinephrine ขนาด 0.1 µg/kg ความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่ากลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่พบว่ากลุ่ม DOCA มีการเพิ่มขึ้นของความดันเลือดมากกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อได้รับ norepinephrine ในขนาดที่เท่ากัน (รูปที่ 3.10)



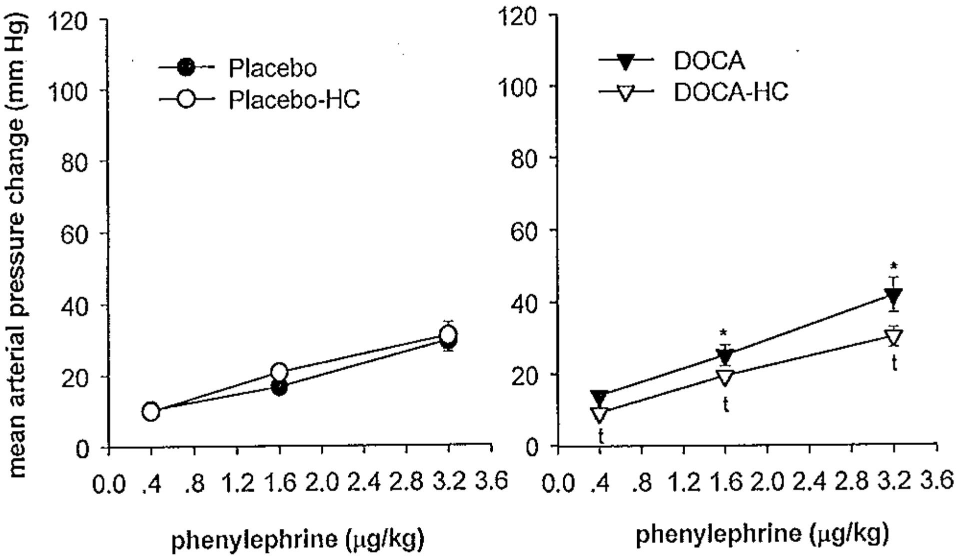
รูปที่ 3.10 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8) แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

P<0.05 * แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.10 **ศึกษาผลการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับ** phenylephrine (Phe)

phenylephrine หรือ Phe เป็นสารที่ทำให้หลอดเลือดบีบตัว ทำงานผ่านการกระตุ้นตัวรับ α - adrenergic ที่หลอดเลือด เมื่อฉีด Phe จะทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้น พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC ความดันเลือดเพิ่มขึ้นจากการได้รับ Phe ขนาด 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่ากลุ่ม DOCA มีความดันเลือดเพิ่มขึ้นจากการได้รับ Phe ขนาด 1.6 และ 3.2 µg/kg มากกว่ากลุ่ม Placebo ($P<0.05$) และกลุ่ม DOCA-HC ความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่ากลุ่ม DOCA เมื่อได้รับ Phe ขนาด 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 3.11)



รูปที่ 3.11 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8) แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM $P<0.05$

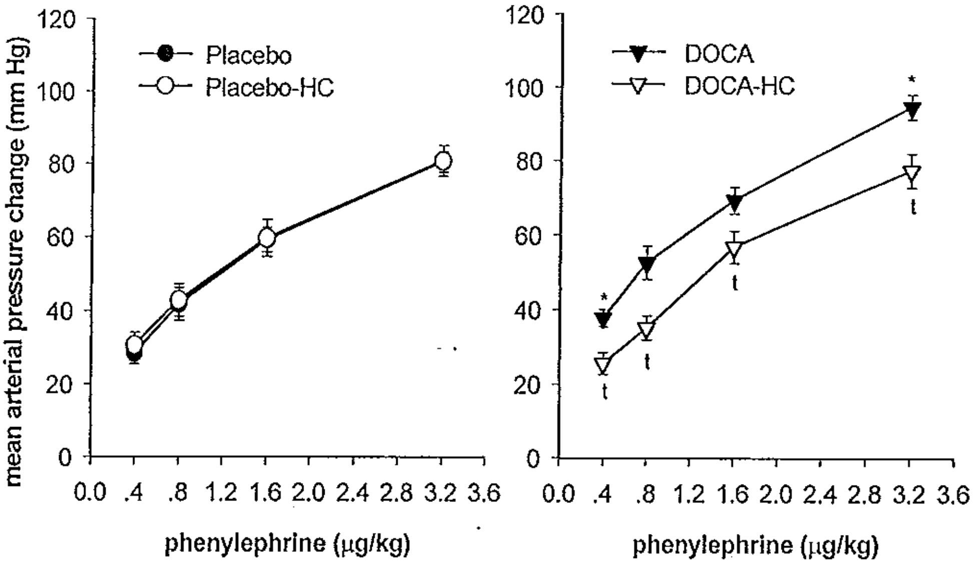
* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.11 ผลการศึกษาการตอบสนองของความดันเลือดเมื่อได้รับ phenylephrine หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion

หลังจากปิดกั้น autonomic ganglion ในสัตว์ทดลองทั้งสี่กลุ่มแล้ว ฉีด Phe พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่ม Placebo และกลุ่ม Placebo-HC มีการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดตอบสนองจากการได้รับ Phe ขนาด 0.4 , 0.8 , 1.6 และ 3.2 µg/kg ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่ากลุ่ม DOCA ความดันเลือดเพิ่มจากการได้รับ Phe ขนาด 0.4 และ 3.2 µg/kg ได้มากกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่ากลุ่ม DOCA-HC ความดันเลือดเพิ่มขึ้นจากการได้รับ Phe ขนาด 0.4, 1.6 และ 3.2 µg/kg น้อยกว่ากลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($P<0.05$) (รูปที่ 3.12)

จะเห็นได้ว่าการตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine และ phenylephrine ในหนูทั้งสี่กลุ่มทั้งก่อนและหลังการยับยั้งการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติเป็นไปในทำนองเดียวกัน



รูปที่ 3.12 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine หลังปิดกั้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติด้วย pentolinium tartrate ของหนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) Placebo-HC (High calcium 3.5%) DOCA (Calcium 1.4 %) DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8) แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM $P<0.05$

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูง (calcium 3.5%) มีผลลดความรุนแรงของความดันเลือดสูงที่เกิดจาก DOCA-salt ได้ เช่นเดียวกับผลการทดลองก่อน ๆ (Berthelot and Gairard., 1980 ; DiPette *et al.*, 1989 ; DiPette *et al.*, 1990 ; Porsti *et al.*, 1990 ; Arvola *et al.*, 1993 ; Lin *et al.*, 1994 ; Makynen *et al.*, 1994 ; Makynen *et al.*, 1996a Makynen *et al.*, 1996b) ถึงแม้ปริมาณของแคลเซียมที่เพิ่มจะแตกต่างกันไปก็ตาม นอกจากนี้การได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงยังช่วยลดความดันเลือดในหนู SHR (Ayachi,1979 ; Stern *et al.*,1987 ; Kohno *et al.*, 1989 ; Lewanczuk et al., 1990 ; Porsti *et al.*, 1992 ; Makynen *et al.*, 1995) ในหนู Dahl-salt sensitive (Peuler *et al.*,1987) รวมทั้งในคนที่เป็น essential hypertension ด้วย (McCarron and Morris., 1985 ; Resnick *et al.*, 1986) ในขณะที่ไม่มีผลลดความดันเลือดของสัตว์ทดลองที่ความดันเลือดปกติ (Passmore *et al.*, 1997 ; Civantos *et al.*, 1999)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าความดันเลือดเฉลี่ยของหนูกลุ่ม DOCA สูงกว่าหนูกลุ่ม Placebo และหนูกลุ่ม DOCA-HC ทั้งก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion ขณะที่อัตราการเต้นของหัวใจหนูทุกกลุ่มไม่ต่างกัน เป็นไปได้ว่าความดันเลือดเฉลี่ยที่สูงขึ้นในหนูกลุ่ม DOCA อาจไม่เกิดจากการเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก ผลนี้ไม่สนับสนุนผลการศึกษาของ Peuler และคณะ (1987) ที่พบว่าการปิดกั้น autonomic ganglion ทำให้ความดันเลือดของหนูกลุ่ม Dahl-salt sensitive ที่กินอาหารที่มีแคลเซียมปกติและที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงไม่แตกต่างกัน ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจที่ลดลงหลังปิดกั้น autonomic ganglion แสดงว่าในสัตว์ทดลองที่ใช้ขณะอยู่ภายใต้ยาสลบระบบประสาทซิมพาเทติกมีผลควบคุมการทำงานของหัวใจเด่นกว่าระบบประสาทพาราซิมพาเทติก รายงานการศึกษาหนู SHR ที่กินอาหารที่มีแคลเซียมปกติและกลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงพบว่าระดับของ norepinephrine และ epinephrine ใน plasma ไม่แตกต่างกัน (Stern *et al.*,1987 ; Hatton *et al.*, 1993) แต่ Luft และคณะ (1988) รายงานว่าหนู SHR มี norepinephrine และ epinephrine ใน plasma สูงกว่าหนูกลุ่มควบคุม WKY และพบว่าหนู SHR ที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงมี norepinephrine และ epinephrine ใน plasma ลดลงและความดันเลือดลดลงด้วย สำหรับการทดลองนี้พบว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงไม่มีผลต่อความดันเลือดในหนูความดันเลือดปกติ สอดคล้องกับ Kageyama และคณะ (1986), Kageyama และคณะ (1987a) และ Hatton และ McCarron (1994) ที่รายงานว่า ความดันเลือด

ของหนูกลุ่มความดันเลือดปกติ เช่น WKY, Wistar, Fisher 344, และ Spraque-Dawley ตอบสนองต่ออาหารที่มีแคลเซียมสูงน้อยกว่าหนูที่เกิดความดันเลือดสูงและต้องใช้เวลานานกว่าด้วย

การศึกษาเกี่ยวกับน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง พบว่าสัตว์ทดลองทุกกลุ่มน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันในช่วงที่เลี้ยง 6 สัปดาห์ ยกเว้นในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ที่พบว่ากลุ่ม DOCA น้ำหนักตัวต่ำกว่ากลุ่ม placebo เป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม DOCA และ DOCA-HC ซึ่งได้รับเกลือโซเดียมสูง ไตเพิ่มการดูดกลับน้ำและโซเดียมเพื่อรักษาความเข้มข้นของสารใน ECF ให้คงที่ แต่ในขณะเดียวกันไตก็ทำหน้าที่รักษาดุลของปริมาตรของของเหลวในร่างกาย ทำให้เพิ่มการขับทิ้งน้ำและเกลือโซเดียมด้วย ซึ่งอาจเป็นผลให้น้ำหนักตัวของหนูทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ยกเว้นในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ที่พบว่ากลุ่ม DOCA น้ำหนักตัวลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่ม placebo ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Porsti และคณะ (1992) ที่ทำการศึกษาในหนู SHR Arvola และคณะ (1993) รายงานว่าหลังจากเลี้ยงหนู 8 สัปดาห์ น้ำหนักตัวของหนูไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม แต่ก็พบว่ากลุ่มที่ได้รับ deoxycorticosterone มีปริมาณของ Na^+ intake และ Na^+ urinary excretion สูงกว่ากลุ่ม Wistar อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

น้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม DOCA สูงกว่าของหนูกลุ่ม Placebo และหนูกลุ่ม DOCA-HC เนื่องจากหนูกลุ่ม DOCA นั้นกล้ามเนื้อหัวใจส่วน ventricle ซ้ายทำงานหนักขึ้นเพราะต้องทำงานต้าน after load ที่สูงขึ้นทำให้กล้ามเนื้อหัวใจส่วน ventricle ซ้ายมีขนาดใหญ่ขึ้น (Kannel *et al.*, 1984) และถึงแม้ความดันเลือดของหนูกลุ่ม DOCA-HC จะลดลงแต่พบว่าน้ำหนัก ventricle ต่อน้ำหนักตัวยังคงมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าความดันเลือดของหนูกลุ่ม DOCA-HC สูงกว่ากลุ่ม Placebo จริงแต่ความดันเลือดไม่สูงมากเท่ากับหนูกลุ่ม DOCA

นอกจากนี้การศึกษานี้พบว่าผลของการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงทำให้ tCa ในซีรัม ของกลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมสูงมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญ และ iCa ในซีรัมมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีแคลเซียมปกติด้วย อาจเป็นไปได้ว่าปริมาณของ tCa และ iCa ของหนูกลุ่ม DOCA-HC ที่มีแนวโน้มมากกว่าของหนูกลุ่ม DOCA มีผลช่วยให้เกิดการสร้าง NO ได้มากกว่า (Lopez-Jaramillo *et al.*, 1990 ; Bevan and Joyce,1993) จึงทำให้พบว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC ตอบสนองต่อการฉีด acetylcholine ได้ดีกว่าหนูกลุ่ม DOCA (รูปที่ 3.3) และจากผลการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมในซีรัมของหนูกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมสูงไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มที่ดื่มน้ำปกติ เป็นไปได้ว่าหนูกลุ่มที่ได้รับเกลือโซเดียมสูง ไตเพิ่มการดูดกลับน้ำเพื่อรักษาความเข้มข้นของโซเดียมใน ECF ให้คงที่ Tajima และคณะ (1983) ศึกษาใน

หนูที่ตัดไตออกข้างหนึ่งร่วมกับการได้รับ DOCA-salt รายงานว่า หนูความดันเลือดสูงที่เกิดจาก DOCA-salt นี้มีปริมาณน้ำในร่างกาย (body fluid volume) เพิ่มขึ้น และพบว่าอัตราส่วนของ plasma volume / extracellular fluid volume และอัตราส่วนของ extracellular fluid volume / total body water ของกลุ่ม DOCA-salt ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม

การทดลองนี้พบว่าทั้งก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion สัตว์ทดลองกลุ่ม DOCA มีการตอบสนองของความดันเลือดต่อการได้รับ acetylcholine น้อยกว่ากลุ่ม DOCA-HC และกลุ่มความดันเลือดปกติ (Placebo) (รูปที่ 3.6 และ 3.7) โดยหลังปิดกั้น autonomic ganglion ที่สมบูรณ์นั้นจะสังเกตุได้จากการตอบสนองของอัตราการเต้นของหัวใจเมื่อทำให้ความดันเลือดเปลี่ยนแปลง ซึ่งในระหว่างทำการทดลองพบว่าเมื่อฉีด acetylcholine ที่ทำให้ความดันเลือดลดลง อัตราการเต้นของหัวใจไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในทางตรงกันข้ามเมื่อฉีด norepinephrine หรือ phenylephrine ที่ทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจเช่นกัน จากผลการทดลองอาจเป็นไปได้ว่ากลุ่ม DOCA มีความบกพร่องของการคลายตัวของหลอดเลือดต่อ acetylcholine โดยไม่ขึ้นกับการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ อาจเป็นไปได้ว่า acetylcholine กระตุ้น endothelial cell ที่หลอดเลือดของหนูความดันเลือดสูงจาก DOCA ให้สร้าง NO ได้น้อยกว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC และหนูกลุ่มปกติ (Placebo) และพบว่าหลังจากยับยั้งการเกิด baroreceptor reflex (โดย block autonomic ganglion) การตอบสนองของความดันเลือดในหนูกลุ่ม DOCA และหนูกลุ่ม DOCA-HC ก็จะแตกต่างกันชัดเจนยิ่งขึ้น เป็นไปได้ว่าการที่กลุ่ม DOCA-HC มีปริมาณ Ca^{2+} ในซีรัมมากกว่า หลังจากฉีด acetylcholine จึงมีการหลั่ง NO ได้มากกว่าและทำให้ความดันเลือดลดลงได้มากกว่า เนื่องจาก Lopez-Jaramillo และคณะ (1990) พบว่าการสร้างและหลั่ง NO ขึ้นกับระดับของ Ca^{2+} ใน ECF การลด Ca^{2+} ใน ECF ทำให้ลดการสร้างและหลั่ง NO และการเพิ่ม Ca^{2+} ใน ECF มีผลตรงกันข้าม นอกจากนี้ Bevan และ Joyce (1993) ยังพบว่าการมี Ca^{2+} ใน ECF ที่สูงขึ้นแม้จะยังคงอยู่ในพิสัยปกติ (high normal range) ก็ส่งเสริมให้หลั่ง NO ได้มากขึ้น และส่งเสริมการเกิด flow dependent vasodilation โดยที่การมี Ca^{2+} ใน ECF ลดลงทำให้การหลั่ง NO ลดลงด้วย ดังนั้นการที่หนูกลุ่ม DOCA-HC ตอบสนองต่อ acetylcholine ได้มากกว่าของหนูกลุ่ม DOCA เป็นไปได้ว่า acetylcholine กระตุ้น endothelial cell ที่หลอดเลือดของหนูกลุ่ม DOCA-HC ให้สร้าง NO ได้ดีกว่าหนูกลุ่ม DOCA เนื่องจากพบว่าปริมาณ tCa และ iCa ในซีรัม ของหนูกลุ่ม DOCA-HC มีมากกว่าของหนูกลุ่ม DOCA (iCa^{2+}3.10±0.21 และ iCa^{2+}2.90±0.17 ตามลำดับ) ถึงแม้จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4 ภาคผนวก) ซึ่งสอดคล้องกับ DiPette และคณะ (1989)

ที่พบว่า iCa^{2+} ของกลุ่ม DOCA-HC มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่ม DOCA เพียงเล็กน้อย แต่ทำให้ความดันเลือดลดลงได้เช่นกัน ส่วนหนูกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC ซึ่งมีความดันเลือดปกติและไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม ทั้งๆ ที่พบว่าปริมาณ tCa และ iCa ในซีรัม ของหนูกลุ่ม Placebo-HC มีสูงกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Hatton และคณะ (1989) ที่พบว่าปริมาณ tCa และ iCa ในซีรัมของหนูความดันเลือดปกติ (Wistar Kyoto) ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความดันเลือดเฉลี่ยของหนูทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ Passmore และคณะ (1997) รายงานว่าปริมาณแคลเซียมในอาหารที่ได้รับเพิ่มขึ้นนั้นไม่ทำให้ความดันเลือดและ renal vascular resistance ของหนูปกติเปลี่ยนแปลง

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาแบบ *in vitro* ที่มีรายงานว่าหลอดเลือดแดง mesenteric ของหนู SHR และของหนู DOCA ตอบสนองต่อ acetylcholine และ sodium nitroprusside (exogenous NO) ได้ลดลงและการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยให้หลอดเลือดคลายตัวตอบสนองต่อ acetylcholine และ sodium nitroprusside ได้เพิ่มขึ้น (Porsti *et al.*,1990 ; Arvola *et al.*, 1993 ; Makynen *et al.*, 1994 ; Makynen *et al.*, 1996a ; Makynen *et al.*, 1996b) โดยMakynen และคณะ (1996b) เสนอว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงอาจช่วยเพิ่มการทำงานของ ATP-sensitive (K_{ATP}) และ Ca^{2+}- activated K^{+} channel และอาจเกิดจากเพิ่มการเกิด endothelium-dependent hyperpolarization ทำให้หลอดเลือดแดง mesenteric ของหนูกลุ่ม DOCA-HC ตอบสนองต่อ acetylcholine เพิ่มขึ้น Nagao และคณะ (1992) ศึกษาแบบ *in vitro* พบว่า endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) มีความสำคัญต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (femoral ,mesenteric และ renal) ขณะที่ NO มีความสำคัญต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ (aorta, pulmonary และ iliac) มากกว่า

การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าก่อนปิดกั้น autonomic ganglion การตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ของกลุ่ม DOCA มากกว่ากลุ่ม Placebo และ กลุ่ม DOCA-HC และหลังจากปิดกั้น autonomic ganglion แล้ว พบว่าการตอบสนองของความดันเลือดต่อ norepinephrine ของกลุ่ม DOCA มากกว่ากลุ่ม DOCA-HC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ norepi-nephrine ขนาด 0.1 µg/kg ซึ่งเป็นขนาดต่ำสุดที่ใช้ในการทดลอง ส่วนที่ขนาด 0.2, 0.4 และ 0.8 µg/kg การตอบสนองของกลุ่ม DOCA มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่ม DOCA-HC เช่นกัน แต่ไม่มีนัย-สำคัญทางสถิติ และการตอบสนองของกลุ่ม DOCA ยังคงมากกว่ากลุ่ม Placebo อย่างมีนัย-สำคัญทางสถิติด้วย แสดงให้เห็นว่าการได้รับ norepinephrine หนูกลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารที่มี

แคลเซียมสูง (DOCA-HC) ทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่ากลุ่ม DOCA สอดคล้องกับการศึกษาของ Hatton และคณะ (1989) ที่พบว่าหนู SHR ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงความดันเลือดเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่าหนู SHR ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมต่ำกว่าเมื่อได้รับ norepinephrine ในขนาดเท่ากัน และความดันเลือดที่เพิ่มขึ้นของกลุ่ม SHR ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงนั้นไม่แตกต่างจากความดันเลือดที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มปกติ (Placebo) เมื่อได้รับ norepinephrine ในขนาดเท่ากัน อาจเป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม DOCA ที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมปกติ (1.4%) และเกิดความดันเลือดสูงนั้นเกิดจากมีการปล่อย Ca^{2+} จาก subcellular store เพิ่มขึ้นและ α-adrenergic receptor ที่หลอดเลือดแดงมีความไวในการตอบสนองต่อ norepinephrine เพิ่มขึ้น (Storm and Webb., 1992) ส่วนหนู DOCA-HC มีการปล่อย Ca^{2+} จาก subcellular store ได้น้อยกว่าและความไวในการตอบสนองของ α-adrenergic receptor น้อยกว่า (Hatton *et al.*,1989 ; Hatton *et al.*,1993) หรืออาจเป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC อาจสร้าง NO ได้ดีขึ้น (Passmore *et al.*, 1997) Civantos และคณะ (1999) ศึกษาแบบ *in vivo* ในหนูความดันเลือดปกติและหนู SHR พบว่าการได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงทำให้หลอดเลือดของหนูทั้งสองกลุ่มตอบสนองต่อการกระตุ้น α_1 และ α_2-adrenergic receptor ได้น้อยลง ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC มี α-adrenergic activity น้อยกว่าหนูกลุ่ม DOCA ความดันเลือดจึงเพิ่มขึ้นได้น้อยกว่าหนูกลุ่ม DOCA เมื่อได้รับ norepinephrine ขนาดเท่ากัน ไม่ว่าจะเป็นการตอบสนองขณะที่มี baroreceptor reflex หรือหลังยับยั้งการเกิด baroreceptor reflex แล้วก็ตาม (รูปที่ 3.9 และ 3.10) และพบว่าความดันเลือดของหนูกลุ่ม Placebo และ Placebo-HC ตอบสนองต่อ norepinephrine ไม่แตกต่างกัน จากการศึกษาโดยการฉีด phenylephrine ก็ได้ผลเช่นเดียวกันกับผลของ norepinephrine และผลการทดลองชัดเจนกว่า ซึ่งเป็นตัวสนับสนุนว่าหนูกลุ่ม DOCA-HC มี α-adrenergic activity น้อยกว่าหนูกลุ่ม DOCA (รูปที่ 3.11 และ 3.12)

5. สรุป

จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าการกินอาหารที่มีแคลเซียมสูงช่วยลดความดันเลือดสูงที่เกิดจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ได้ โดยพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงความดันเลือดตอบสนองต่อ acetylcholine ได้มากกว่าขณะเดียวกันความดันเลือดตอบสนองต่อ norepinephrine และ phenylephrine ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับหนูความดันเลือดสูงจากมิเนอรัลโลคอร์ทิคอยด์ที่กินอาหารปกติ

เอกสารอ้างอิง

กองสถิติสาธารณสุข สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. 2536. สถิติประชากร. จำนวนตายด้วยสาเหตุที่สำคัญกับอัตราต่อประชากร 100,000 คน 10 อันดับแรก พ.ศ.2533 - 2534. 18. กรุงเทพมหานคร

เยาวลักษณ์ หาญณรงค์. 2543. ผลของสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับของแองจิโอเทนซินทูต่อการทำงานของไตหนู :ศึกษาโดยวิธีเคลียรานซ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Agabiti-Rosei, E. and Muiesan, M.L. 1995. The organ damage in arterial hypertension. *Ann Ital Med Int* Oct 10 suppl : 99s-107s.

Allender, P. S., Cutler, J. A., Follman, D. and Cappuccio, F.P. 1996. Dietary calcium and blood pressure : a meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med.* 124 : 825-831.

Anderson, K. M., Eckhart, A. D., Willette, R. N. and Koch, W. J. 1999. The myocardial β-adrenergic system in spontaneously hypertensive heart failure (SHHF) rats. *Hypertension* 33 : 402-407.

Arnaud, C. D. and Kolb, F. O. 1991.The calciotropic Hormones & Metabolic Bone disease. In Greenspan, F. S.(ed.) Basic and Clinical Endocrinology (3rd ed.) ,pp.247-322. Connecticut : Appleton & Lange.

Arvola, P., Ruskoaho, H. and Porsti, I. 1993. Effects of high calcium diet on arterial smooth muscle function and electrolyte balance in mineralocorticoid-salt hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 108 : 948-958.

Ayachi, S. 1979. Increased Dietary Calcium Lowers Blood Pressure in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Metabolism* 28 (No.12 December) : 1234 - 38.

Baksi, S. N. 1988. Hypotensive action of parathyroid hormone in hypoparathyroid and hyperparathyroid rats. *Hypertension* Jun 11(6) Pt 1 : 509-13.

Barlet, J. P., Coxam, V. and Davicco, M. J. 1995. Relation between the parathyroid glands and arterial pressure : is there a parathyroid hypertensive factor? *Presse Med* Nov25 24(36) : 1703-6.

Berne, R. M. and Levy, M. N. 1992. Cardiovascular Physiology (6th ed.), St. Louis : Mosby Year Book.

Berne, R. M. and Levy, M. N. 1996. Principles of Physiology (2nd ed.), St. Louis : Mosby Year Book.

Berne, R. M. and Levy, M. N. 1998. Physiology (4th ed.), St. Louis : Mosby Year Book.

Berthelot, A. and Gairard, A. 1980. Parathyroid hormone and deoxycorticosterone acetate-induced hypertension in the rat. *Clin Sci* (Colch) May 58 (5) : 365-71.

Bevan, J. A. and Joyce, E. H. 1993. Calcium dependence of low-induced dilation. Cooperative interaction with sodium. *Hypertension* Vol. 21 : 16-21.

Boquinhas, J. M. 1991. Hypertension from the nephrologist's point of view. *Acta Med Port* Jul-Aug 4(4) : 221-6.

Brenner, B. M. and Stein, J. H. 1981. Hypertension (Contemporary issues in nephology; vol 8.), Newyork : Churchill livingstone.

Brown, L., Ooi, S. Y., Lau, K. and Senia, C. 2000. Cardiac and Vascular responses in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* Apr 27(4) : 263-9.

Bruner, C. A. 1992. Vascular responsiveness in rats resistant to aldosterone-salt hypertension. *Hypertension* 20 : 59-66.

Buassi, N. 1998. High dietary calcium decreases blood pressure in normotensive rats. *Braz J Med Biol Res* Aug 31(8) : 1099-101.

Bucher, H. C., Cook, R. J., Guyatt, G. H., Lang, J. D., Coo, D.J., Hatala, Rose. and Hunt, D. L. 1996. Effects of dietary calcium supplementation on blood pressure. A meta-analysis of randomized contrlled trials. *JAMA* 275 : 1016-1022.

Cappuccio, F. P., Elliott, P., Allender, p. S., Pryer, J., Follman, D. A. and Cutler, J. A. 1995. Epidemiologic association between dietary calcium intake and blood pressure : a meta-analysis of published data [see comments]. *Am J Epidemiol* Nov 1 142 (9) : 925-45.

Civantos, B., Lopez-Miranda, V., Ortega, A. and Aleixandre de Artinano, M. A. 1999. Alpha-adrenoceptor-mediated pressor responses in pithed rats fed diets with different calcium contents. *Eur J Pharmacol* Oct8 382(2) : 91-101.

Cottler, P. 1975. Pathogenesis of renal hypertension. *Schweiz Med Wochenschr.* Dec13 105 (50) : 1670-7.

DiPette, D. J., Greilich, P.E., Kerr, N.E., Graham, G.A. and Holland, O.B. 1989. Systemic and regional hemodynamic effects of dietary calcium supplementation in mineralocorticoid hypertension. *Hypertension* 13(1) : 77-82.

DiPette, D. J., Greilich, P.E., Nickols, G. A., Graham, G.A., Graham, G. A., Green, A., Cooper, C. W. and Holland, O.B. 1990. Effect of dietary calcium supplementation on blood pressure and calciotropic hormones in mineralocorticoid-salt hypertension. *J Hypertens* Jun 8(6) : 515-520.

Don, B. R., Biglieri, E. G. and Schambelan, M. 1997. Endocrine Hypertension. In Greenspan, F. S. and Strewler, G. J. (eds.), Basic & Clinical Endocrinology (5th ed.). pp 359-380. Connecticut : Appleton & Lange.

Douglas, P.S. 1993. Cardiovascular Helth and Disease in Woman. Hypertension (1st ed.), pp. 63-103. Philadelphia : W.B. Saunders Company.

Edward, D. and Frohlich, M. D. 1999. Risk mechanisms in hypertensive heart disease. *Hypertension.* 34 : 782-789.

Eid, H. and Champlain, J. D. 1988. Increased inositol monophosphate production in cardiovascular tissue of DOCA-salt hypertensive rats. *Hypertension* Vol 12 : 122-128.

Fink, G. D., Johnson, R. J. and Galligen, J. J. 2000. Mechanisms of increased venous smooth muscle tone in desoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Hypertension* 34 (1) :464.

Ganong, W. F. 1999. Review of Medical Physiology. (19th ed.), Connecticut : Appleton & Lange.

Goodman, H. M.1998. Hormonal Regulation of Calcium Metabolism. In Johnson, L. R. Essential Medical Physiology (2nd ed.), pp 597-615. Philadelphia : Lippincott - Raven Publishers.

Greenspan, F. S. and Strewler, G. J.1997. Basic & Clinical Endocrinology (5th ed.). pp 359-380. Connecticut : Appleton & Lange.

Guyton, A. C. and Hall, J. E. 1996. Textbook of Medical Physiology (8th ed.), Philadelphia : W.B. Saunders Company.

Hagen, E. C. and Webb, R. C. 1984. Coronary reactivity in deoxycorticosterone acetate hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 247 (*Heart Circ Physiol.* 16) : H409-H414.

Hatton, D.C., Scrogin, K.E., Metz, J,A. and McCarron, D.A. 1989. Dietary calcium alters blood pressure reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 3 : 622-629.

Hatton, D.C., Scrogin, K.E., Levine, D. Feller, D. and McCarron, D.A. 1993. Dietary calcium modulates blood pressure through α_1-adenergic receptors. *Am. J.Physiol.* Feb 264(2) Pt 2 : F234- F238.

Hatton, D.C. and McCarron, D.A. 1994. Dietary calcium and blood pressure in experimental models of hypertension. A review. *Hypertension.* Vol 23 : 513-530.

Jolmal, P., Kalliovalkama, J., Tolvanen, J. P., Koobi, P., Kahonen, M., Hutri-Kahonen, N., Wu, X. and Porsti, I. 2000. High calcium diet enhances vasorelaxation in nitric oxide-deficient hypertension. *Am. J. Physi*ol. 279 (*Heart Circ. Physiol.* 3) : H1036-H1043.

Kageyama, Y., Suzuki, H., Hayashi, K. and Saurta, T. 1986. Effects of calcium loading on blood pressure in spontaneously hypertensive rats : attenuation of the vascular reactivity. *Clin Exp Hypertens* A8 : 355-370.

Kageyama, Y., Suzuki, H., Arima, K. and Saruta, T. 1987a. Oral calcium treatment lowers blood pressure in renovascular hypertensive rats by suppressing the renin-angiotensin system. *Hypertension* 10 : 375-382

Kageyama, Y. and Bravo, E. L. 1987b. Neurohumoral and hemodynamic responses to dietary calcium supplementation in deoxycorticosterone-salt hypertensive dogs. *Hypertension* Jun 9(6) Pt2 : III 166-170.

Kannel, W. B., Doyle, J. T. and Ostfeld, A. M. *et al*. 1984. Optimal resources for primary prevention of atherosclerotic disease. Atherosclerosis study group. *Circulation* 70 : 155A-205A.

Katzung, B. G. 1998. Basic & Clinical Pharmacology (7th ed.), Connecticut : Appleton & Lange.

Kesteloot, H. and Joosens, J. V. 1988. Relationship of dietary sodium, potassium, calcium, and magnesium with blood pressure. Belgian interuniversity research on nutrition and health. *Hypertension* 12 : 594-599.

Kesteloot, H., Van Schaftingen, E., Van Hoof, R., Geboers, J. 1983. Relationship between ionized serum calcium and blood pressure. *Circulation* 68 (Suppl 3) : III - 90.

Kobayashi, M. and Uesugi, S. 1995. The role of hypertension as a risk factor of atheroscleosis. *Rinsho Byori* Feb 43(2) : 104-110.

Kohno, M., Murakawa, K., Yasunari, K., Yokokawa, K., Kurihara, N. and Tekeda, T. 1989. Possible involvement of atrial natriuretic factor in the antihypertensive action of a high-calcium diet in spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats. *Metablism* Oct 38(10) : 997-1004.

Komanicky, P. and Melby, J. C. 1982. Hypertensinogenic potencies of aldosterne and deoxycorticosterone in the rat. *Hypertension* Vol 4 : 140-145.

Lewanczuk, R. Z., Chen, A. and Pang, P. K. 1990. The effects of dietary calcium on blood pressure in spontaneously hypertensive rats may be mediated by parathyroid hypertensive factor. *Am J Hypertens* May 3(5) Pt1 : 349-53.

Levick, J. R. 1995. An Introduction to Cardiovascular Physiology. Oxford : Butterworth-Heine mann Ltd.

Lin, C. M., Saito, K., Tsujino, T. and Tokoyama, M. 1994. Calcium supplementaion inhibits the expression of parathyroid hypertensive factor in DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens* Feb 7(2) : 201-204.

Liu, D. T., Birchall, I., Hewitson, T., Kincaid-Smith, P. and Whitworth, J. A. 1994. Effect of dietary calcium on the development of hypertension and hypertensive vascular lesions in DOCA-salt and two kidney, one clip hypertensive rats. *J Hypertens* Feb 12(2) : 145-153.

Longhurst, P. A., Rice, P. J., Taylor, D. A. and Fleming, W. W. 1988. Sensitivity of caudal arteries and the mesenteric vascular bed to norepinephrine in DOCA-salt hypertension. *Hypertension* Vol 12 133-142.

Lopez-Jaramillo, P., Gonzalez, M. C., Palmer, R. M. J. and Moncada, S. 1990. The crucial role of physiological Ca^{2+} concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone. *Br J Pharmacol* 101 : 489-493.

Luft, F. C. Ganten, U., Meyer, D., Steinberg, H., Gless, K. H., Unger, T. and Ganten, D. 1988. Effect of high calcium diet on magnesium, catecholamines, and blood pressure of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Proc Soc Exp Biol Med* Apr 187 (4) : 474-481.

Macgregor, A. M. and Cade, J. R. 1975. Renal Hypertension. *Surg Gynecol Obstet* Jan 140(1) : 97-110.

Makynen, H., Arvola, P., Vapaatalo, H. and Porsti, I. 1994. High calcium diet effectively opposes the development of deoxycorticosterone-salt hypertension in rats. Am J Hypertens June 7(6) 520-528.

Makynen, H., Kahonen, M., Arvola, P., wuorela, H., Vapaatalo, H. and Porsti, I. 1995. Dietary calcium and magnesium supplments in spontaneously hypertensive rats and isolated arterial reactivity. *Br J Pharmacol* Aug 115(8) : 1456-1462.

Makynen, H., Kahonen, M., Wu, X., Wuorela, H., Arvola, P. and Porsti, I. 1996 a. Endothelial function in deoxycorticosterone-NaCl hypertension : effect of calcium supplementation. *Circulation* Mar1 93 (5) : 1000-8.

Makynen, H., Kahonen, M., Wu, X., Wuorela, H. and Porsti, I. 1996b. Reversal of hypertension and endothelial dysfunction in deoxycorticosterone-NaCl-treated rats by high Ca^{2+}diet. *Am. J. Physiol.* 270 (*Heart Circ. Physiol.* 3) : H 1250-H 1257.

Matsumura, Y., Hashimoto, N., Taira, S., Kuo, T., Kitano, R., Ohkita, M., Obgenorth, T. and Taoka, M. 1999. Different contribution on endothelin-A and endothelin-B receptors in the patholenesis of deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension in rats. *Hypertension* 33 759-765.

McCarron, D.A.,Pingree, P. A., Rubin, R. J., Gaucher, S. M., Molitch, M., Krutzik, S. 1980. Enhanced parathyroid function in essential hypertension: a homeostatic response to a urinary leak. *Hypertension* 2: 162-168.

McCarron, D.A., Morris, C.D. and Cole, C. 1982. Dietary Calcium in Human Hypertension. *Science* 217 : 267-269.

McCarron, D.A., Morris, C.D., Henrry, H.V. and Stanton, J.L. 1984. Blood pressure and nutrient intake in the United States. *Science* 224 : 1392-1398.

McCarron, D.A. and Morris, C.D. 1985. Blood pressure response to oral calcium in persons with mild to moderate hypertension , *Ann Intern Med* 103 : 825-831.

McCarron, D.A. 1995. Calcium metabolism in hypertension. *Keio J Med.* December 44 (4) :105-114.

Merke, J., Lucas, P. A.,Szabo, A., Cournot-Witmer, G., Mall, G., Bouillon, R., Drueke, T., Mann, J. and Ritz, E. 1989. Hyperparathyroidism and abnormal calcitriol metablism in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* Vol 13 : 233-242.

Miller 2d, A. W., Bohr, D. F., Schork, A. M. and Terris, J. M. 1979. Hemodynamic responses to DOCA in young pigs. *Hypertension.* Vol 1 : 591-597.

Matsumura, K., Abe, I., Tsuchihashi, T., and Fujishima, M. 1998. Central nitric oxide attenuates the baroreceptor reflex in conscious rabbits.*Am.J.Physiol.* 274 *(Regulatory Integrative Comp. Physiol.)* 43 : R1142-R1149.

Nagao, T., Illiano, S., and Vanhoutte, PM. 1992. Heterogeneous distribution of endothelium - dependent relaxations resistant to N^G-nitro-L-arginine in rats. *Am.J.Physiol.* 263 *(Heart Circ. Physiol.* 32*)* : H1090-H1094.

Nishikawa, Y., Steep, D.W. and Chilian, W.M. 1999. In vivo location and mechanism of EDHF mediated vasodilation in canine coronary microcirculation. *Am. J. Physiol.* 277 (*Heart Circ. Physiol.* 46) : H1252-H1259.

No authors listed. 1986. Final report of the Subcommittee on Nonpharmacological Therapy of the 1984 Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Nonpharmacological approaches to the control of high blood pressure. *Hypertension* 8 : 444-467.

No authors listed. 1991. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolates systolic hypertension. Final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP).SHEP Cooperative Research Group. *JAMA* 265 : 3255 - 3264.

No authors listed. 1994. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. *JAMA* 272 : 1942-1948

Nowson, C. and Morgan, T. 1989. Effect of calcium carbonate on blood pressure in normotensive and hypertensive people. *Hypertension* 13 : 630-639.

Owen, G. K. 1989. Control of hypertrophic versus hyperplasic growth of vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 257 : H1755-H1765.

Passmore, J. C., Hatton, D. C. and McCarron, D. A. 1997. Dietary calcium decreases blood pressure without decreasing renal vascular resistance or altering the response to NO blockade. *J Lab Clin Med* 130 : 627-634.

Peuler, J.D., Morgan, D,A. and Mark, A.L. 1987. High calcium diet reduces blood pressure in dahl salt-sensitive rats by neural mechanisms. *Hypertension* 9 [Suppl III] : III 159- III 165.

Porsti, I., Arvola, P., Wuorela, H., LIkka, M., Saynavalammi, P., Huhtala, H., Metsa-Ketela, T., and Vapaatalo, H. 1990. Effects of high calcium diet and deoxycortico-sterone on vascular smooth responses in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* Sep 8(9) : 835-841.

Porsti, I., Arvola, P., Wuorela, H. and Vapaatalo, H. 1992. High calcium diet augments vascular potassium relaxation in hypertensive rats. *Hypertension* 19 : 85-92.

Rang, H. P. and DLE, M. M. 1991. The Circulation. In Pharmacology (2nd ed.), pp. 346-368. Hongkong : Churchill lingstone.

Resnick, L.M., DiFabio, B., Marion, R., James, G.D. and Laragh, J.H. 1986. Dietary calcium modifies the pressor effects of dietary salt intake in essential hypertension. *J Hypertens.* 4 (suppl 6) : S679-S681.

Rushmer, R. F. 1976. Organ Physiology Structure and Function of The Cardiovascular System (2nd ed.), Philadelphia : W. B. Saunders Company.

Saito, K., Sano, H., Furuta, Y. and Fukuzaki, H. 1989. Effect of oral calcium on blood pressure response in salt – loaded borderline hypertensive patients. *Hypertension* 13 : 219-226.

Schiffrin, E. L., Lariviere, R., Li, J. S. Sventek, P. and Touyz, R. M. 1995. Deoxycorticosterone acetate plus salt induces overexpression of vascular endotjelin-1 and severe vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 25 : 769-773.

Schiffrin, E. L. 1999. Role of endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 34: 876-881.

Schleiffer, R., Galluser, M., Kachelhoffer, J., Raul, F. 1994. Dietary calcium supplementation, blood pressure, and intestinal calcium absorbtion. *Am J Med Sci* Feb 307 suppl 1: S116-9.

Simon, G., Lllyes, G. and Csiky, B. 1998. Structure vascular changes in hypertension. Role of angiotensin II, dietary sodium supplementation, blood pressure, and time. *Hypertension* 32 : 654-660.

Smith, J. J. and Kampine, J. P. 1990. Circulatory Physiology (3rd ed.), Baltimore : Williams&Wilkins.

Stern, N., Golub, M., Nyby, M., Berger, M., Eggen, P., Lee, D.B.N., Tuck, M, L. and Brickman, A.S. 1987. Effect of high calcium intake on pressor responsivity in hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 252 *(Heart Circ. Physiol.* 21*)* : H1112- H1119.

Storm, D. S. and Webb, R. C. 1992. α- adrenergic receptors and $^{45}Ca^{2+}$ efflux in arteries from deoxycorticosterone acetate hypertensive rats. *Hypertension* 19 : 734-738.

Strauer, B. E. 1991. Development of cardiac failure by coronary small vessel disease in hypertensive heart disease? *J Hypertens Suppl* Dec 9 (2) : S11-20 ; discussion S20-1.

Tajima, Y., Ichikawa, S., Sakamaki, T., Matsuo, H., Aizawa, F., Kogure, M., Yagi, S. and Murata, K. 1983. Body fluid distribution in the maintenance of DOCA-salt hypertension in rats. *Am.J.Physiol.* May 244(5) : H695-700.

Taylor, P. 1996. Agents Acting at the Neuromuscular Junction and Autonomic Ganglia. In Hardman, J. G., Goodman Gilman, A., Limbird, L. E (eds.). Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics. (9ed ed.) pp. 193. New York. McGraw-Hill.

Ullian, M. E., Islam, M. M., Robinson, C. J., Fitzgibbon, W. R., Tobin, E. T. and Paul, R. V. 1997. Resistance to mineralocorticoid in Wistar-furth rats. *Am. J. Physiol.* Mar 272 (3) Pt2 : H1454-1461.

Valtin, H. and Schafer, J. A. 1995. Renal Function (3rd ed.). Boston : Little, Brown and Company.

Whitworth, J. A., Brown, M. A., Kelly, J. J. and Williamson, P. M. 1995. Mechanisms of cortisol-induced hypertension in humans. *Steroids* Jan 60(1) : 76-80.

White, R. M., Rivera, C. O. and Davison, C. B. 1996. Differential contribution of endothelial function to vascular reactivity in conduit and resistance arteries from deoxycorticosterone-salt hypertensive rats. *Hypertension* 27 : 1245-1253.

Young, E. W., Morris, C. D. and McCarron, D. A. 1992. Urinary calcium excretion in essential hypertension. *J Lab Clin Med* 120 : 624-632.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1.1 การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด acetylcholine (Ach) ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) และกลุ่ม Placebo-HC (High calcium 3.5%)

Ach (μg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	132±3	119±3	-13±1	125±5	110±5	-14±1
0.4	130±3	97±3	-33±2	118±4	85±4	-32±2
1.6	127±1	63±2	-64±1	120±5	64±4	-56±2***
3.2	125±2	61±2	-64±1	119±4	59±4	-60±2
Ach (μg/kg)	MAP after ANS blockade (mmHg)					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	78±5	64±5	-14±1	68±2	54±2	-14±1
0.4	79±4	53±3	-26±2	78±3	51±1	-27±2
1.6	74±2	45±1	-29±2	68±3	40±1	-28±2
3.2	87±4	45±2	-42±3	81±3	40±0.56	-40±3

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, t P<0.05, tt P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด acetylcholine (Ach) ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม DOCA (Calcium 1.4 %) และกลุ่มDOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8)

Ach (μg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	151±8	138±7	-13±1	126±8	113±8	-12±1
0.4	142±7	111±6	-31±2	133±5	96±6	-37±3^{t}
1.6	132±4	85±5	-47±2*	131±5	70±4	60±2^{tt}
3.2	134±4	76±6	-58±2*	127±2	65±3	-67±2^{t}
Ach (μg/kg)	**MAP after ANS blockade (mmHg)**					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	79±5	69±5	10±1	74±5	59±4	14±1^{t}
0.4	80±5	58±4	23±2	82±5	53±4	28±1^{t}
1.6	68±3	45±1	21±2*	79±4	45±3	33±2^{ttt}
3.2	74±4	44±2	30±3*	89±4	43±3	45±2^{ttt}

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, ^{t} $P<0.05$, ^{tt} $P<0.01$, *** $P<0.001$

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{t} แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด norepinephrine (NE) ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) และกลุ่ม Placebo-HC (High calcium 3.5%)(n = 8)

NE (μg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	123±4	135±5	12±1	123±2	136±3	13±1
0.4	122±5	153±4	26±2	120±2	148±4	24±2
0.8	122±5	153±5	33±2	120±3	155±5	36±3
NE (μg/kg)	**MAP after ANS blockade (mmHg)**					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	63±4	86±6	28±4	64±4	94±6	30±4
0.2	75±4	123±8	48±5	69±4	113±8	48±6
0.4	70±3	139±8	70±6	67±4	136±8	69±4
0.8	70±3	171±7	93±5	72±4	169±5	98±3

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, t P<0.05, tt P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงความดันเลือดหลังจากฉีด norepinephrine (NE) ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม DOCA (Calcium 1.4 %) และกลุ่ม DOCA-HC (High calcium 3.5%)(n = 8)

NE (μg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	156±7	172±7	20±2*	123±4	135±4	12±1^{t}
0.4	156±4	192±5	38±3*	115±9	147±8	27±2^{t}
0.8	151±6	201±8	53±3***	110±7	154±5	39±3^{ttt}
NE (μg/kg)	MAP after ANS blockade (mmHg)					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.1	89±7	125±9	35±3*	73±6	97±6	26±3^{t}
0.2	87±5	147±8	68±4*	69±5	111±6	55±4
0.4	85±4	179±8	90±5*	75±5	158±7	79±4
0.8	86±6	199±8	113±4*	74±4	185±6	101±4

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

^{*,t} P<0.05, ^{tt} P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^{t} แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.1 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม Placebo (Calcium 1.4 %) และกลุ่มPlacebo-HC (High calcium 3.5%) (n = 8)

PE (μg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.4	129±5	140±5	10±1	121±3	130±4	11±1
1.6	128±5	147±7	17±1	118±5	139±6	21±2
3.2	128±5	158±7	29±3	118±5	149±7	31±4
PE (μg/kg)	**MAP after ANS blockade (mmHg)**					
	Placebo			Placebo-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.4	71±3	100±5	28±3	72±4	102±7	30±4
0.8	74±3	116±7	42±5	71±v	113±7	43±4
1.6	72±3	132±5	59±3	70±3	130±v	60±5
3.2	73±	153±5	80±3	70±2	151±6	81±4

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, t P<0.05, tt P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.2 การตอบสนองของความดันเลือดต่อ phenylephrine ก่อนและหลังปิดกั้น autonomic ganglion หนูกลุ่ม DOCA (Calcium 1.4 %) และกลุ่ม DOCA-HC (High calcium 3.5%) (n = 8)

PE (µg/kg)	MAP before ANS blockade (mmHg)					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.4	146±6	160±6	14±1	117±7	128±7	9±2[t]
1.6	154±6	182±6	25±3*	125±7	143±7	19±1[t]
3.2	157±6	199±7	41±5*	120±7	149±7	30±3[t]

PE (µg/kg)	MAP after ANS blockade (mmHg)					
	DOCA			DOCA-HC		
	Pre-injection	Post-injection	BP changed	Pre-injection	Post-injection	BP changed
0.4	93±6	130±7	38±2*	72±5	103±9	26±3[t]
0.8	91±5	142±8	53±4	74±6	108±9	35±3[t]
1.6	97±5	166±7	69±4	73±6	130±9	57±4[t]
3.2	97±5	192±5	95±3	73±3	151±9	77±5[t]

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, t P<0.05, tt P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ค่า serum electrolytes กลุ่ม Placebo กลุ่ม Placebo-HC (High Calcium) กลุ่ม DOCA (Calcium 1.4%) และกลุ่ม DOCA-HC (High Calcium 3.5%) (n=6)

Serum electrolytes	Placebo	Placebo-HC	DOCA	DOCA-HC
tCa, mg%	9.00±0.17	10.38±0.11*	8.48±0.35	9.20±0.11†
ica^{2+}, mg%	3.57±0.32	4.30±0.21	2.90±0.17	3.10±0.21
Na+, mmol/L	144.5±1	140±1	143±1	144±3

แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM

*, † P<0.05, †† P<0.01, *** P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

† แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 5 ความดันเลือด systolic (SBP) ที่วัดโดยทางอ้อม (tail cuff method) ที่หางหนูในระยะทำการทดลอง เริ่มตั้งแต่หนูอายุครบ 7 สัปดาห์ ถึง 13 สัปดาห์, แต่ละจุดแสดงค่า mean ± SEM กลุ่ม Placebo กลุ่ม Placebo-HC (High Calcium) กลุ่ม DOCA (Calcium 1.4%) และกลุ่ม DOCA-HC (High Calcium 3.5%)

Group	SBP (mmHg)						
	Week 7	Week 8	Week 9	Week 10	Week 11	Week 12	Week 13
Placebo (n=14)	128.7±3	133.4±3	128.6±3	131.9± 4	129.8±4	133.6±4	136.7±2
Placebo-HC (n=14)	130.3±3	136.6±4	127.8±3	126.5± 3	124.6±4	134.1± 5	135.0±3
DOCA (n=16)	132.3±3	136.9±4	141.1±4*	150.2± 4**	149.5± 6**	166.2±4**	181.0±8***
DOCA-HC (n=16)	132.2±2	134.0±3	133.5±4	135.5±3tt	131.1±2tt	147.0±5tt	155.1±5ttt

*, t P<0.05, **, tt P<0.01, ***, ttt P<0.001

* แตกต่างจากกลุ่ม Placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

t แตกต่างจากกลุ่ม DOCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ปริมาณแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของอาหารหนูสำเร็จรูป
C.P. mice feed บริษัท S.W.T. ประเทศไทย

Moisture	(Max)	12%
Crude protein	(Min)	24%
Fat	(Min)	4.5%
Fiber	(Max)	5%
Metabolizable energy (swing) Kcal/kg.		3,040
Calcium		1.4%
Phosphorus (available)		0.9%
Sodium		0.20%
Potassium		1.17%
Magnesium		0.23%
Manganese	p.p.m	171
Copper	p.p.m.	22
Zinc	p.p.m.	100
Iron	p.p.m.	180
Cobalt	p.p.m.	1.82
Potassium Iodide	p.p.m.	1
Selenium	p.p.m.	0.1

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวจรัญญา ตาละลักษมณ์

วัน เดือน ปี เกิด 21 ตุลาคม 2513

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (กายภาพบำบัด)	มหาวิทยาลัยรังสิต	2536