



ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหัวใจและหลอดเลือด  
ต่อ KCl และ phenylephrine ในหนูแร้ทเพศผู้

Effects of Exercise on Cardiovascular Reactivity  
to KCl and Phenylephrine in Male Rats

เพทาย หิรัญพันธ์  
Phetai Hiranphun

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
Master of Science Thesis in Biological Sciences  
Prince of Songkla University  
2541

เลขที่ QP310.895 ม.ศ.บ. 2541 (ก. 2)  
Bib Key 158846



(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหัวใจและหลอดเลือดต่อ KCl  
และ phenylephrine ในหนูแร้ทเพศผู้  
ผู้เขียน นายแพทย์ หิรัญพันธ์  
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

  ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นวิวรรณ จันสกุล)



  กรรมการ  
(ดร. อลิสา สุวัฒน์ประ)

ลวศึกษาต่อต่างประเทศ .. กรรมการ  
(อาจารย์นราทิพย์ จันสกุล)


คณะกรรมการสอบ


  ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นวิวรรณ จันสกุล)



  กรรมการ  
(ดร. อลิสา สุวัฒน์ประ)

ลวศึกษาต่อต่างประเทศ .. กรรมการ  
(อาจารย์นราทิพย์ จันสกุล)

 กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ประดับ ประสาทแก้ว)

 กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. วรุณี จินตภากร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

   
(รองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทร์พรหมมา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



กว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม  $180.6 \pm 25.8$  มม.ปรอท,  $n=7$  และกลุ่มว่ายนํ้า  $126.7 \pm 6.1$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P<0.05$ ) สำหรับผลต่อ phenylephrine พบว่า CHAPS ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ในกลุ่มว่ายนํ้าแต่ในกลุ่มควบคุม CHAPS มีผลเพิ่มความไวประมาณ 4.5 เท่า การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ของหลอดเลือดที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายด้วย CHAPS มีผลเพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl และ phenylephrine และทำให้การตอบสนองของหลอดเลือดไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า การยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M) ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดทั้งต่อ KCl และ phenylephrine

สำหรับหลอดเลือดดำพอร์ทัล การตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ phenylephrine ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA หรือการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM ของหลอดเลือดไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า

จากผลการทดลองแสดงว่าการออกกำลังกายโดยการว่ายนํ้าในหนูแร้ทเพศผู้มีผลทำให้ลดอัตราการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียมและลดการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine การลดความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl และการลดความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ภายหลังจากทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS ชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มการผลิตได้เองและการกระตุ้นการหลั่งของ NO ทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของ mesenteric arterial beds

Thesis Title        Effects of Exercise on Cardiovascular Reactivity to KCl and  
                          Phenylephrine in Male Rats  
Author                Mr. Phetai Hiranphun  
Major Program        Biological Sciences  
Academic Year        1998

#### Abstract

The present study was designed to determine whether there are any changes in (1) force and rate of spontaneous atrial contraction, (2) vascular reactivity of the mesenteric arterial beds and the portal vein to KCl and phenylephrine, (3) whether the vascular endothelium and vascular smooth muscle play a role in these changes and (4) whether the NO play a role in these changes. Adult male Wistar rats were subjected to a swimming schedule every day for 5-6 weeks. Studies were performed in vitro and the atrial contraction and the dose-response relationship to KCl and phenylephrine of the mesenteric arterial beds and of the portal vein were studied. Exercise training did not alter the force of atrial contraction. However, it caused significantly decrease in rate of the contraction obtained from exercise training rats than those of sedentary control rats. (control,  $273.3 \pm 5.5$  beats/min,  $n=12$ ; swimming,  $232.5 \pm 5.5$  beats/min,  $n=12$ ,  $p<0.05$ ) Basal perfusion pressure of the sedentary control and exercise training rats were not different whether using the perfusion flow rate of 2 or 5 ml/min. Maximum perfusion pressure response to KCl of the mesenteric arterial beds obtained from exercise training rats were significantly lower than those of sedentary control either using the perfusion flow rate 2 ml/min or 5 ml/min. Maximum perfusion pressure response to phenylephrine was lower for the mesenteric arterial beds obtained from exercise training rats compared to those of sedentary control group. (control,  $155.0 \pm 14.1$  mmHg,  $n=6$ ; swimming,  $113.9 \pm 8.2$  mmHg,  $n=6$ ,  $p<0.05$ ) However, these differences were abolished by blocking the nitric oxide synthase with  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M). Destruction the functional endothelium by CHAPS (3 mg/ml) caused a significantly increase in maximum perfusion pressure responses to KCl to the same extent in both exercise training and sedentary control rats, therefore the difference was still persist. (control,  $180.6 \pm 25.8$  mmHg,  $n=7$ ; swimming,  $126.7 \pm 6.1$  mmHg,  $n=6$ ,  $p<0.05$ ) CHAPS caused about

4.5 fold shift of the curve to the left with no change in maximum perfusion pressure response to phenylephrine for the mesenteric arterial beds obtained from sedentary control rats, but not for those obtained from exercise training rats. However, the differences between these two groups after removal of functional endothelium by CHAPS were abolished by LNA. The presence of prostaglandins inhibitor, indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M) did not modify the dose-responses curves to KCl and phenylephrine in either sedentary control or exercise training rats.

There were no difference in maximum contractile response to KCl or phenylephrine of the portal vein between those obtained from sedentary control and exercise training rats. LNA or IDM did not alter the responsiveness to KCl or phenylephrine of the portal vein obtained from sedentary control or exercise training rats.

These results suggest that exercise training by swimming in adult male rats caused a decrease in spontaneous atrial rate and lower in responsiveness to KCl and phenylephrine of the mesenteric arterial beds at rest. The decrease in reactivities to KCl or decrease in sensitivity to phenylephrine after having endothelium impairment by CHAPS of the mesenteric arterial beds of exercise training rats, were due to an increase in both spontaneous release and upregulation of phenylephrine-stimulated release of NO from both the vascular endothelium and the vascular smooth muscle cells.

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ฉวีวรรณ จันสกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและสอนเทคนิคต่างๆในการทำวิจัย การเขียนและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร. อลิสา สุวัฒนปุระและอาจารย์นราทิพย์ จันสกุล กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ประดับ ประสาทแก้ว กรรมการสอบจากภาควิชาสรีรวิทยาและผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. วรวิทย์ จินตภากร กรรมการผู้แทนจากบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้กรุณาแก้ไขปรับปรุงจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่มอบทุนระดับบัณฑิตศึกษาปีการศึกษา 2536-2537 ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มอบทุนวิจัย ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ก้าน จันทรพรหมมา ขอขอบคุณคุณคุณเรวดี สว่างศรีและบุคลากรบัณฑิตวิทยาลัยทุกท่าน

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์จางงศ์ สุภัทราวินวัฒน์, ดร. ศิริพันธุ์ หิรัญญาชาติธาดา, ผู้ช่วยศาสตราจารย์จันทนา ชูปรีชาและคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยาทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. เพรศพิชญ์ ฅณาธารณา ประธานคณะกรรมการบัณฑิตศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์กัจจา สว่างเจริญ อาจารย์ผู้ประสานงานหลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ขอขอบคุณอาจารย์นงเยาว์ กิจเจริญนิรุตม์, คุณอาภรณ์ เพ็ญสวัสดิ์ที่แนะนำการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ ขอขอบคุณคุณคุณรัชวรรณ ลีมีวิวัฒน์กุลและคุณสุภาพ นวลพลับที่รับภาระงานประจำ ขอขอบคุณคุณบุษยา ด้านเดชา, คุณพุทธรดา นิลเอสงค์และคุณน้อย บุญรอด ขอขอบคุณคุณคุณชื่อนี้อันันท์พงศ์ธรรม, คุณจาม ชูบัณฑิตและขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาสรีรวิทยาทุกท่าน ขอขอบคุณคุณไมตรี นวลพลับ, บุคลากรเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลองและเพื่อนร่วมงานในคณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านรวมถึงผู้มีพระคุณที่ไม่ได้เอ่ยนามอีกมากมาย ขอกราบขอบพระคุณพ่อแม่รวมทั้งสมาชิกของทั้ง 2 ครอบครัวที่ให้ความเมตตาช่วยเหลือจนเจือทุกอย่างและเป็นกำลังใจอย่างสูงมาโดยตลอด จนกระทั่งมีวันนี้ที่สำเร็จการศึกษา และสุดท้ายขอขอบใจถึง ส.ต.อ. ดิฐพงศ์ ไทยกุล น้องผู้ไม่อาจล่วงรู้ถึงความสำเร็จอันนี้

เพทาย หิรัญพันธุ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ .....	(3)
Abstract .....	(5)
กิตติกรรมประกาศ .....	(7)
สารบัญ .....	(8)
รายการตาราง .....	(9)
รายการรูป .....	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์ .....	(13)
1. บทนำ .....	1
บทนำต้นเรื่อง .....	1
การตรวจเอกสาร .....	4
วัตถุประสงค์ .....	27
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ .....	28
วัสดุ .....	28
อุปกรณ์ .....	29
วิธีการ .....	30
3. ผลการทดลอง .....	38
4. วิจารณ์ .....	60
5. สรุป .....	66
เอกสารอ้างอิง .....	67
ภาคผนวก .....	79
ประวัติผู้เขียน .....	80



## รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	แสดงการจำแนกเอนไซม์ nitric oxide synthase	19
1.2	แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ nitric oxide synthase	20
3.1	ผลของการว่ายน้ำต่อน้ำหนักตัว, น้ำหนักเอเทรียม, น้ำหนักเวนทริเคิล, น้ำหนักหลอดเลือดดำพอร์ทัลและน้ำหนักหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	39
3.2	ค่า $EC_{50}$ และการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีและ 5 มล./นาที	42
3.3	ค่า $EC_{50}$ และการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาที	51
3.4	ค่า $EC_{50}$ และการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ Phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	57

## รายการรูป

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงส่วนประกอบของผนังหลอดเลือดชนิดต่าง ๆ	5
1.2	โครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ	8
1.3	แสดงการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด	10
1.4	แสดงการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่ออะเซทิลโคลีน (ACh) จะหายไปภายหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม	13
1.5	แสดงการเปลี่ยน L-arginine เป็น L-citrulline และ nitric oxide โดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) โดยผ่านสารตัวกลางคือ N-hydroxy-arginine	16
1.6	แสดงสูตรโครงสร้างของ L-arginine และสารที่ใช้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS inhibitors)	16
1.7	แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ nitric oxide ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด	17
1.8	แสดงการสร้าง prostaglandins จากสาร phospholipids	22
2.1	แสดง mesenteric arterial beds ใน organ bath	32
3.1	แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลาย Krebs และผลของ N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine (LNA, $3 \times 10^{-4}$ M) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	41
3.2	แสดงผลของ CHAPS ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม (ก) CHAPS 3 มก./มล., (ข) CHAPS 4 มก./มล. และ (ค) CHAPS 5 มก./มล.	43
3.3	แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และผลของ (ก) N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine (LNA, $3 \times 10^{-4}$ M) และ (ข) indomethacin (IDM, $10^{-5}$ M) IDM ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	45

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.4	แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl (อัตราการใช้ 2 มล./นาที) ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	46
3.5	แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS (CH, 3 มก./มล.) แสดงในรูป (ก) และเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA แสดงในรูป (ข) ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	47
3.6	แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และผลต่อ (ก) LNA และ (ข) IDM ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	49
3.7	แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine (อัตราการใช้ 2 มล./นาที) ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	50
3.8	แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine เมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS แสดงในรูป (ก) และเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA แสดงในรูป (ข) ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	53
3.9	แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลและผลของ (ก) $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA, $3 \times 10^{-4}$ M) และ (ข) indomethacin (IDM, $10^{-5}$ M) ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	54
3.10	แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	55

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.11	แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลและผลของ (ก) LNA และ (ข) IDM ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า	58
3.12	แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	59

ตัวย่อและสัญลักษณ์

$\alpha$	=	alpha
$\beta$	=	beta
$\pi$	=	pi
° ซ.	=	องศาเซลเซียส
ซม.	=	เซนติเมตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
$\mu\text{M}$	=	micromolar
AC	=	adenylate cyclase
ACh	=	acetylcholine
$\text{BH}_4$	=	tetrahydrobiopterin
BK	=	bradykinin
CaM	=	calmodulin
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate
cGMP	=	cyclic guanosine monophosphate
CH, CHAPS	=	3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio] -1-propanesulfonate
COX	=	cyclooxygenase
COX-1	=	constitutive cyclooxygenase
COX-2	=	inducible cyclooxygenase
CYP 450	=	cytochrome P 450
DA	=	diacylglycerol
$\text{EC}_{50}$	=	effective concentration
EDCF	=	endothelium-derived contracting factor
EDHF	=	endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	=	endothelium-derived relaxing factor
EDTA	=	ethylenediaminetetracetic acid
EET	=	epoxyeicosatrienoic acid
eNOS, ecNOS, NOS-3	=	vascular endothelial nitric oxide synthase

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

ET	=	endothelin
FAD	=	flavin adenine dinucleotide
FMN	=	flavin mononucleotide
g.	=	gram
GTP	=	guanosine triphosphate
IDM	=	indomethacin
iNOS, macNOS, NOS-2	=	inducible nitric oxide synthase
IP <sub>3</sub>	=	inositol triphosphate
kDa	=	kilodalton
L-arg.	=	L-arginine
L-NAA	=	N <sup>G</sup> -amino-L-arginine
L-NAME	=	N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine methyl ester
L-NIL	=	N <sup>G</sup> -(1-iminoethyl)-L-lysine
L-NMMA	=	N <sup>G</sup> -monomethyl-L-arginine
L-NNA,LNA	=	N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine
M	=	molar
max.	=	maximum
mg.	=	milligram
MI	=	myogenic index
min., MIN.	=	minute
ml.	=	millilitre
MLCK	=	myosin light chain kinase
mM	=	millimolar
mmHg	=	millimetre mercury
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide
NANC	=	non-adrenergic, non-cholinergic neuron
NE	=	norepinephrine
nNOS, ncNOS, NOS-1	=	neuronal nitric oxide synthase
NO	=	nitric oxide

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

NOS	=	nitric oxide synthase
PDE	=	phosphodiesterase
PE 50	=	polyethylene tubing (number 50)
$P_f$	=	final pressure
$PGD_2$	=	prostaglandin $D_2$
$PGE_2$	=	prostaglandin $E_2$
$PGF_{1\alpha}$	=	prostaglandin $F_{1\alpha}$
$PGF_2$	=	prostaglandin $F_2$
$PGG_2$	=	prostaglandin $G_2$
$PGH_2$	=	prostaglandin $H_2$
$PGI_2$	=	prostacyclin
Phe	=	phenylephrine
$P_i$	=	initial pressure
PKA	=	protein kinase A
PKG	=	protein kinase G
PLC	=	phospholipase C
$r_f$	=	final radius
$r_i$	=	initial radius
S.E.M.	=	standard error of mean value
sGC, GC	=	guanylate cyclase
SHR	=	Spontaneously Hypertensive Rat
Sw.	=	swimming group
$TxA_2$	=	thromboxane $A_2$
$TxB_2$	=	thromboxane $B_2$
WKY	=	Wistar-Kyoto Rat

## 1. บทนำ

### บทนำต้นเรื่อง

การฝึกออกกำลังกายเป็นเวลาหลายสัปดาห์ทำให้เกิดการปรับกลไกการควบคุมในระบบไหลเวียนเลือด เช่น ทำให้ลดความดันเลือดในขณะพัก, ลดความต้านทานรวมของหลอดเลือดและลดอัตราการบีบตัวของหัวใจทั้งในสัตว์ทดลอง (Lutgemeier, et al., 1987; Musch, et al., 1987; Noma, et al., 1987; Overton, et al., 1988) และในคน (Meredith, et al., 1991; Seal and Reiling, 1991) แต่อย่างไรก็ตามเรายังไม่ทราบถึงกลไกที่ชัดเจนในการเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว

ปัจจุบันมีการศึกษามากมายที่แสดงว่า Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาร nitric oxide (NO) (Palmer, et al., 1987) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด nitric oxide สร้างจากผนังหลอดเลือดจากกรดอะมิโน L-arginine โดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (eNOS) (Palmer, et al., 1988) nitric oxide ถูกหลั่งจากเซลล์เอนโดทีเลียมทั้งแบบการหลั่งได้เองในภาวะปกติและการหลั่งจากการถูกกระตุ้นด้วยสารเคมีบางอย่าง เช่น อเซทิลโคลีน (Acetylcholine) (Griffith, et al., 1984; Rubanyi, et al., 1985; Busse, et al., 1993), ซีโรโทนิน (Serotonin) และนอร์เอพิเนฟริน (Norepinephrine) (Cocks and Angus, 1983) ตัวกระตุ้นทางฟิสิกส์ เช่น การเพิ่มแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) ที่เกิดจากการทดลองโดยการเพิ่มอัตราการไหลของเลือด (blood flow) หรือขณะออกกำลังกายก็สามารถชักนำให้มีการหลั่ง nitric oxide แล้วมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด (Gerova, et al., 1983; Smiesko, et al., 1985; Wang, et al., 1993; Sessa, et al., 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าการออกกำลังกายอย่างหนักจากการว่ายน้ำเป็นเวลานานมีผลเพิ่มการหลั่งของ nitric oxide ทั้งแบบการหลั่งได้เองและการหลั่งจากการถูกกระตุ้นจากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดแล้วมีผลทำให้ลดการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl และ phenylephrine ในหนูแร้ท (Jansakul, 1995) อย่างไรก็ตามหลักฐานการศึกษาที่กล่าวถึงบทบาทของ nitric oxide ในการควบคุมการไหลของเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ จากการฝึกออกกำลังกายยังมีความขัดแย้งกัน เช่น Katz และคณะ (1997) วัดการไหลของเลือดภายในหลอดเลือด brachial artery บริเวณแขนของผู้ป่วยโรคหัวใจเรื้อรังก่อนและหลังการออกกำลังกายโดยการบีบมือ (handgrip) ทุกวันเป็นเวลา 8 สัปดาห์แล้วศึกษาผลของการฉีดอเซทิลโคลีนและไนโตรกลีเซอรินพบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่ออเซทิลโคลีนเพิ่มขึ้น



อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกายในขณะที่ไนโตรกลีเซอรินไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าว Kingwell และคณะ (1996) ศึกษาในผู้ชายที่ฝึกปั่นจักรยานเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่ามีการเพิ่มการผลิตได้เองของ nitric oxide บริเวณแขนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทำให้ลดความดันในหลอดเลือด brachial artery และพบว่า  $N^G$ -monomethyl-L-arginine ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการสร้าง nitric oxide ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้นหลังการฝึกออกกำลังกาย แต่อย่างไรก็ตาม McAllister และคณะ (1996) ศึกษาในสุกรที่ให้ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เป็นเวลานานพบว่า การหดตัวของหลอดเลือดต่ออนุพันธ์เอพิเนฟรินและ KCl หรือการคลายตัวตอบสนองต่อ sodium nitroprusside ของหลอดเลือด femoral artery, brachial artery และ mesenteric artery ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ออกกำลังกายและกลุ่มควบคุม

Nichols และคณะ (1985) รายงานว่าส่วนของ mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทจะได้รับเลือดประมาณ 1 ใน 5 ของปริมาตรเลือดในการบีบตัวของหัวใจ (cardiac output) ดังนั้นการควบคุมปริมาตรเลือดในบริเวณนี้อาจมีบทบาทต่อความดันเลือดทั่วร่างกาย Coker และคณะ (1997) และ Mazzeo และคณะ (1997) รายงานว่าเมื่อเริ่มการออกกำลังกาย และขณะออกกำลังกายมีผลเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และลดการไหลของเลือดที่ไปยังบริเวณดังกล่าว ทั้งในลิงบาบูน (Hohimor, et al., 1983), ในสุนัข Foxhound (Musch, et al., 1987) และในหนูแร้ท (Yancey and Overton, 1993) การเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกนี้อาจมีผลกระตุ้นการผลิต nitric oxide จาก mesenteric arterial beds เพื่อปรับการตอบสนองของหลอดเลือด (Nase and Boegehold, 1996; 1997) และทำให้มีผลช่วยลดความต้านทานของหลอดเลือดขณะพักภายหลังการฝึกออกกำลังกาย อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงการตอบสนองของหลอดเลือด, ความต้านทานของหลอดเลือด หรือการไหลของเลือดในหลอดเลือด mesenteric arterial beds ขณะพักภายหลังการฝึกออกกำลังกาย

สำหรับผลของการออกกำลังกายต่อหลอดเลือดดำนั้น De May และ Vanhoutte (1982), Furchgott (1983), Vallance และคณะ (1989) รายงานว่าการตอบสนองของหลอดเลือดดำต่อตัวกระตุ้นน้อยกว่าในหลอดเลือดแดงเนื่องจากการผลิตได้เองและการหลั่งจากการถูกกระตุ้นของ nitric oxide ในหลอดเลือดดำจะน้อยกว่าในหลอดเลือดแดง (Moncada, 1992) ดังนั้นจึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่เป็นหลอดเลือดในบริเวณทางเดินอาหารในหนูแร้ทที่ฝึกออกกำลังกาย ซึ่งความรู้ที่ได้ อาจมีส่วนช่วยในการทำความเข้าใจกลไกควบคุมการส่งเลือดไปยังบริเวณทางเดินอาหารในหนูแร้ทที่ได้ผ่านการฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำ

การศึกษานี้ต้องการศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการตอบสนองของหัวใจและหลอดเลือด ทำการทดลองโดยให้หนูแร้ทว่ายน้ำ 5-6 สัปดาห์ ตัดหัวใจ, หลอดเลือด mesenteric arterial beds และหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein) ออกมาศึกษานอกร่างกาย (*in vitro*) แล้วศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) ต่อ KCl และ phenylephrine ในภาวะต่างๆ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารละลายครบส์ (perfusion flow rate), การยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA), การยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย indomethacin (IDM) และการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS)

## การตรวจเอกสาร

### ระบบไหลเวียนเลือด (Circulatory system)

ระบบไหลเวียนเลือดเป็นระบบที่ทำหน้าที่ส่งเลือดไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆของร่างกายโดยหัวใจทำหน้าที่บีบเลือดให้ไหลไปตามหลอดเลือดเพื่อส่งเลือดไปยังส่วนต่างๆทั่วร่างกาย (Wynsberghe, et al., 1995) ระบบไหลเวียนเลือดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ

1. เลือด (blood)
2. ระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular system)

#### 1. เลือด (blood)

เลือดประกอบด้วยส่วนของน้ำเลือด (plasma) และเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ได้แก่ เม็ดเลือดแดง (erythrocyte), เม็ดเลือดขาว (leukocyte) และเกล็ดเลือด (platelet หรือ thrombocyte) เลือดมีหน้าที่สำคัญ 3 ประการคือ

1.1 ขนส่งสาร (transport) เช่น ขนส่งออกซิเจนจากปอดและสารอาหารจากระบบทางเดินอาหารไปยังเนื้อเยื่อทั่วร่างกายและขนส่งของเสียที่เกิดจากเมแทบอลิซึมของเซลล์ไปขับทิ้งหรือทำลายที่ปอด, ตับ, ไต และต่อมเหงื่อ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ขนส่งฮอร์โมนหรือเอนไซม์ไปยังอวัยวะเป้าหมาย

1.2 ปรับการทำงาน (regulation) เช่น ปรับความเป็นกรด-ด่างของเนื้อเยื่อ, ปรับอุณหภูมิของร่างกายและควบคุมปริมาณน้ำและสารต่างๆ ในเลือด

1.3 ป้องกันอันตราย (protection) เช่น การแข็งตัวของเลือดจะช่วยป้องกันการเสียเลือด, เซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ทำลายเชื้อโรคหรือสารแปลกปลอม (Marieb, 1992; Wynsberghe, et al., 1995)

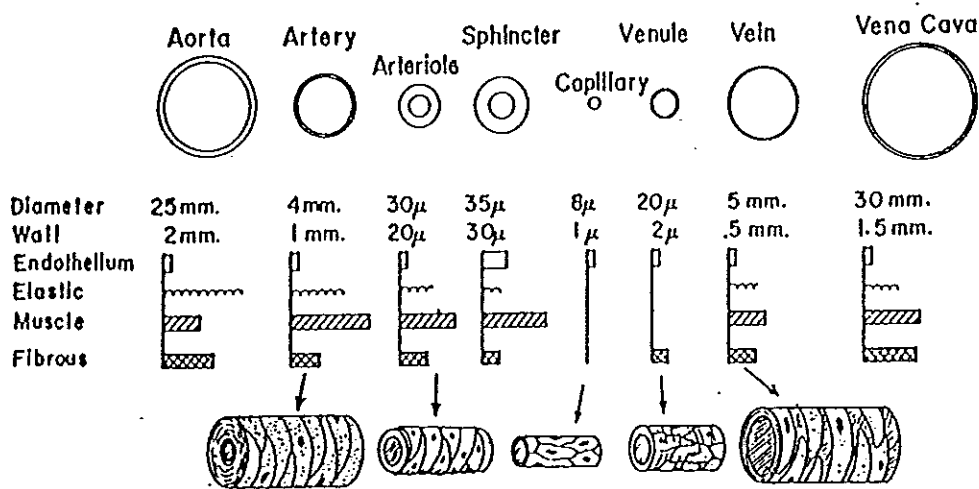
#### 2. หัวใจ (heart)

หัวใจทำหน้าที่บีบเลือดประกอบด้วยผนัง 3 ชั้นคือผนังชั้นนอก (epicardium), ผนังชั้นกลางซึ่งเป็นกล้ามเนื้อหัวใจ (myocardium) และผนังชั้นใน (endocardium) (Marieb, 1992) หัวใจประกอบด้วยห้อง (chamber) 4 ห้องคือหัวใจห้องบน (atria) 2 ห้องและหัวใจห้องล่าง (ventricles) 2 ห้อง (Wynsberghe, et al., 1995) หัวใจทางซีกขวาบีบเลือดที่มีออกซิเจนต่ำและมีการรับออกซิเจนที่ปอดเข้าสู่หัวใจทางเอเทรียมขวาผ่านสู่เวนทริเคิลขวาและหัวใจจะบีบเลือดส่วนนี้ไปยังปอด ส่วนหัวใจทางซีกซ้ายบีบเลือดที่มีออกซิเจนสูงจากปอดเข้าสู่เอเทรียมซ้ายผ่านสู่เวนทริเคิลซ้ายและหัวใจจะบีบเลือดส่วนนี้ไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย (Marieb, 1992) การทำงานของหัวใจจะถูกควบคุมโดยระบบประสาท (neural control) โดยมีศูนย์กลางอยู่ที่ cardio regulation center ในก้านสมองส่วนท้าย (medulla oblongata) ผ่านปลายประสาท

ซิมพาเทติก (sympathetic) และพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) และควบคุมโดยฮอร์โมนที่หลั่งมาจากต่อมไร้ท่อ (hormonal control) เช่น เอพิเนฟริน (epinephrine) และนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) ที่หลั่งมาจากต่อมหมวกไต (adrenal gland)

### 3. หลอดเลือด (blood vessel)

หลอดเลือดเป็นทางนำเลือดจากหัวใจไปสู่ส่วนต่างๆ ของร่างกายและนำเลือดกลับคืนเข้าสู่หัวใจ หลอดเลือดมีลักษณะเป็นท่อที่สามารถหดและขยายขนาดได้ (Marieb, 1992) ซึ่งหลอดเลือดเหล่านี้มีส่วนประกอบของผนังหลอดเลือดแตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 1.1 ทำให้มีคุณสมบัติและหน้าที่แตกต่างกัน



รูปที่ 1.1 แสดงส่วนประกอบของผนังหลอดเลือดชนิดต่างๆ

(ที่มา: Rushmer, 1976)

#### 3.1 ชนิดของหลอดเลือด

หลอดเลือดแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

3.1.1 หลอดเลือดแดง (artery)

3.1.2 หลอดเลือดฝอย (capillary)

3.1.3 หลอดเลือดดำ (vein)

(Marieb, 1992 ; Moore, 1992 ; Wynsberghe, et al., 1995)

เมื่อหัวใจบีบตัวเลือดจะถูกส่งจากหัวใจส่วนเวนทริเคิลเข้าสู่หลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ (large artery), หลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small artery) และหลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) ที่แตกแขนงย่อยเล็ก ๆ ตามลำดับนำเลือดสู่หลอดเลือดฝอย (capillary) ไปยังอวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย แล้วเลือดที่ออกจากหลอดเลือดฝอยจะเข้าสู่หลอดเลือดดำเล็ก (venule), หลอดเลือดดำขนาดเล็ก (small vein) และหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ (large vein) ตามลำดับกลับคืนเข้าสู่หัวใจ (Marieb, 1992)

### 3.1.1 หลอดเลือดแดง (artery)

หลอดเลือดแดงเป็นหลอดเลือดที่รับเลือดมาจากหัวใจ เนื่องจากมีสัดส่วนของเส้นใยอีลาสติก (elastic fiber) และเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle tissue) ที่แตกต่างกัน จึงแบ่งหลอดเลือดแดงออกเป็น 3 ชนิด คือ

3.1.1.1 หลอดเลือดแดงอีลาสติก (elastic artery) เป็นหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ เช่น หลอดเลือดแดงใหญ่เอออร์ตา (aorta) ทำหน้าที่รับเลือดโดยตรงจากหัวใจ ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยเส้นใยอีลาสติกมากทำให้มีคุณสมบัติในการยืดขยายได้มากเพื่อรักษาระดับความดันเลือดมิให้เปลี่ยนแปลงมากโดยการยืดผนังของหลอดเลือดออกในขณะที่หัวใจบีบตัวและหดตัวกลับในขณะที่หัวใจคลายตัวทำให้สามารถส่งเลือดไปยังหลอดเลือดขนาดเล็กที่อยู่ถัดไปได้อย่างต่อเนื่องทั้งที่เลือดออกมาจากหัวใจเป็นช่วง ๆ ตามจังหวะการบีบตัวของหัวใจ (Marieb, 1992; Moore, 1992; Wynsberghe, et al., 1995)

3.1.1.2. หลอดเลือดแดงมีสคูลาร์ (muscular artery) เป็นหลอดเลือดแดงที่กระจายเลือดไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนมากและมีเส้นใยอีลาสติกน้อยทำให้มีคุณสมบัติในการหดตัวได้มากแต่มีความยืดหยุ่นน้อย (Marieb, 1992) หลอดเลือดชนิดนี้มีความสำคัญในการปรับการไหลของเลือดไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น เพิ่มการไหลของเลือดไปยังแขน, ขา ในขณะที่ออกกำลังกาย (Moore, 1992)

3.1.1.3. หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) เป็นหลอดเลือดแดงที่มีขนาดเล็กที่สุดแต่มีผนังหลอดเลือดหนาและหดตัวปรับขนาดของท่อหลอดเลือดได้มากจึงมีบทบาทในการควบคุมความดันเลือดและควบคุมการไหลของเลือดไปยังอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย (Moore, 1992) ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนมาก (Wynsberghe, et al., 1995) และมีเส้นประสาทมาเลี้ยงเพื่อควบคุมขนาดของหลอดเลือด (April, 1990)

### 3.1.2 หลอดเลือดฝอย (capillary)

หลอดเลือดฝอยเป็นหลอดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด (Marieb, 1992) ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยเซลล์เอนโดทีเลียล (endothelial cell) เพียงชั้นเดียว หลอดเลือดฝอยทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำในลักษณะเป็นตาข่ายประสานติดต่อกันเรียกว่า capillary beds (Moore, 1992) โดยเลือดที่มาจากหลอดเลือดแดงเล็ก

(arteriole) จะผ่าน capillary beds ก่อนเข้าสู่หลอดเลือดดำเล็ก (venule) ผนังของหลอดเลือดฝอยจะมีรูให้น้ำและสารโมเลกุลเล็กๆ ผ่านได้ (Wynsberghe, et al., 1995) เกิดการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเลือดกับของเหลวระหว่างเซลล์ (interstitial fluid) (Marieb, 1992)

### 3.1.3 หลอดเลือดดำ (vein)

หลอดเลือดดำเป็นหลอดเลือดที่นำเลือดจากหลอดเลือดฝอยผ่านหลอดเลือดดำเล็ก (venule), หลอดเลือดดำขนาดเล็ก (small vein) และหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ (large vein) ตามลำดับกลับคืนเข้าสู่หัวใจ (Moore, 1992) เนื่องจากหลอดเลือดดำมีรูขนาดใหญ่และมีผนังบางจึงสามารถยืดขยายและเก็บเลือดไว้ได้มาก (Wynsberghe, et al., 1995) จึงเรียกว่าหลอดเลือดที่มีความจุ (capacitance vessel) หรือที่เก็บเลือด (blood reservoir) (Marieb, 1992) หลอดเลือดดำมีความดันต่ำมากเมื่อเทียบกับความดันภายในหลอดเลือดแดง หลอดเลือดดำที่แขนขาจะมีลิ้น (valve) เพื่อป้องกันเลือดไหลย้อนกลับ (Moore, 1992)

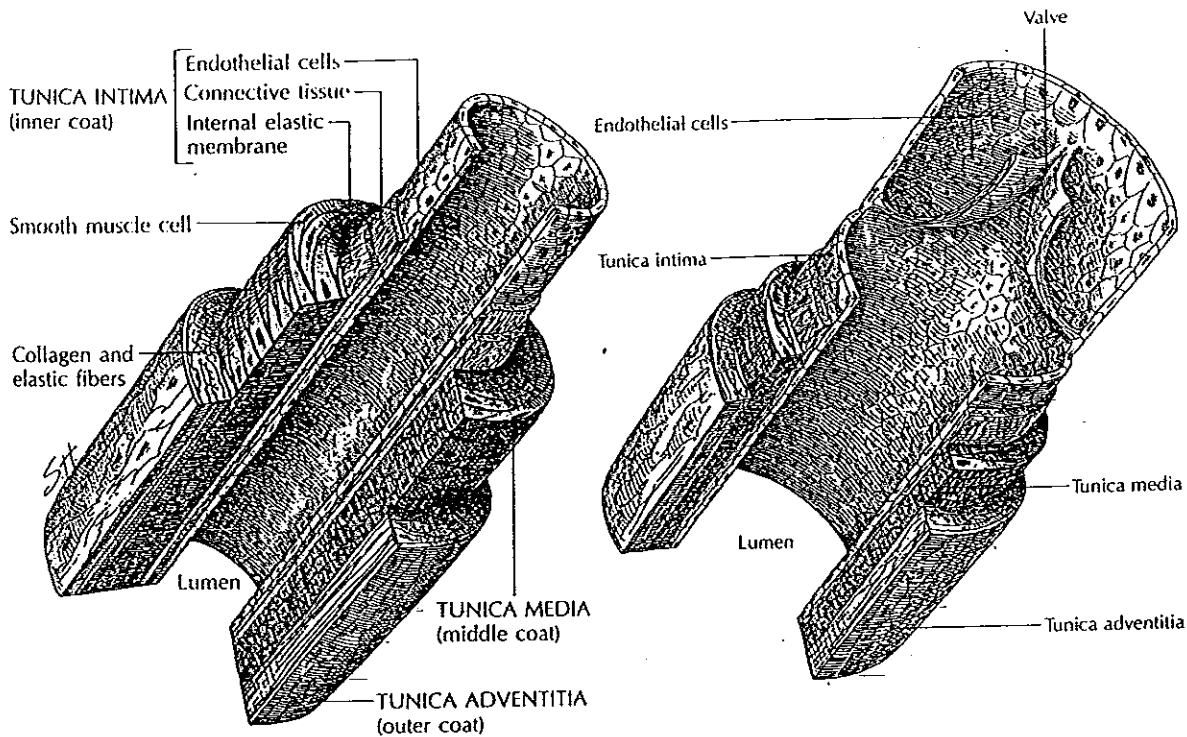
## 3.2 โครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือด

ผนังของหลอดเลือด (ยกเว้นหลอดเลือดฝอย) ดังแสดงในรูปที่ 1.2 แบ่งออกเป็น 3 ชั้น (Mulvany and Kalkjaer, 1990) ดังนี้

3.2.1 ทูนิกา อินติมา (tunica intima) เป็นชั้นในสุดประกอบด้วยเซลล์เอนโดทีเลียมเรียงตัวกันชั้นเดียวบนผนังภายในของหลอดเลือด ชั้นที่อยู่ถัดลงไปเรียกว่า subendothelial layer ชั้นนี้ประกอบด้วยเส้นใยคอนลาเจน (collagenous fibers) และหลอดเลือดบางชนิดอาจพบชั้นเส้นใยอีลาสติคเรียกว่า internal elastic lamina ด้วย (Marieb, 1992 ; Wynsberghe, et al., 1995)

3.2.2 ทูนิกา มีเดีย (tunica media) เป็นผนังชั้นกลางที่มีความหนามากที่สุด (Wynsberghe, et al., 1995) ประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนใหญ่ โดยมีเส้นใยอีลาสติคและเส้นใยคอนลาเจนปะปนบ้างแตกต่างกันไปในหลอดเลือดแดงแต่ละชนิด (Wynsberghe, et al., 1995) การทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic) ผ่าน vasomotor fiber ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดของรูหลอดเลือดเพื่อปรับความดันเลือด (blood pressure) และการไหลของเลือด (blood flow) (Marieb, 1992)

3.2.3 ทูนิกา เอกซ์เทอร์นาหรือทูนิกา แอดเวนติเชีย (tunica externa, tunica adventitia) เป็นผนังชั้นนอกสุดประกอบด้วยเส้นใยอีลาสติคและเส้นใยคอนลาเจนเป็นส่วนมาก จึงมีความแข็งแรงและยืดหยุ่นทำหน้าที่ป้องกันอันตรายของหลอดเลือด (Marieb, 1992)



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือดแดง (ซ้าย) และหลอดเลือดดำ (ขวา)  
(ที่มา: Wynsberghe, et al., 1995)

#### 4. การทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเป็นเซลล์ขนาดเล็กรูปกระสวยที่มีนิวเคลียสเดียว การหดตัวของหลอดเลือดจะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ (Nelson, et al., 1990) สารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstrictor substances) จะทำให้ความเข้มข้นของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ส่วนสารที่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด (vasodilator substances) ออกฤทธิ์โดยทำให้ความเข้มข้นของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ลดลง โดยการหดตัวของหลอดเลือดอาศัยกลไกผ่านทาง voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel (electrochemical coupling) และ receptor-operated  $Ca^{2+}$  channel (pharmacomechanical coupling) (Berne and Levy, 1993) สำหรับกลไกของ receptor-operated  $Ca^{2+}$  channel จะอาศัยตัวรับ (receptor) ทำงานร่วมกับเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ทำให้สร้าง inositol triphosphate ( $IP_3$ ) หรือ diacylglycerol (DA) เพิ่มขึ้นเกิดการปล่อย  $Ca^{2+}$  ออกมาจาก sarcoplasmic reticulum มากขึ้น (Abdel-Latif, 1986) และทำให้  $Ca^{2+}$  จากภายนอกแพร่เข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้นเกิดภาวะ

depolarization ไปกระตุ้นให้ voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channel เปิดออก  $\text{Ca}^{2+}$  จากภายนอกแพร่เข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้น เมื่อระดับของ  $\text{Ca}^{2+}$  ภายในเซลล์สูงขึ้น  $\text{Ca}^{2+}$  จะจับกับ calmodulin (CaM) แล้วไปกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin มีผลให้ thin filament และ thick filament เลื่อนเข้าหากันเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดขึ้นได้ (Hartshorne and Kawamura, 1992) ในทำนองกลับกันการคลายตัวของหลอดเลือดจะเกิดขึ้นเมื่อระดับของ  $\text{Ca}^{2+}$  ภายในเซลล์ลดลงหรือมีผลยับยั้งกลไกที่ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด (Berne and Levy, 1993; Hartshorne and Kawamura, 1992) เช่น กระตุ้นให้  $\text{K}^+$ -channel เปิดทำให้  $\text{K}^+$  ออกจากเซลล์มากขึ้นเกิดภาวะ hyperpolarization ไปยับยั้งการเปิดของ voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channel ทำให้  $\text{Ca}^{2+}$  จากภายนอกแพร่เข้าสู่ภายในเซลล์ลดลงหรือยับยั้งกลไกการหดตัวของหลอดเลือดโดยกระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase ทำให้ระดับของ cAMP เพิ่มขึ้นไปกระตุ้นเอนไซม์ protein kinase A หรือมีผลกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ทำให้ระดับของ cGMP เพิ่มขึ้นไปกระตุ้นเอนไซม์ protein kinase G ซึ่งเอนไซม์ protein kinase A และเอนไซม์ protein kinase G มีผลยับยั้งกลไกการหดตัวของหลอดเลือดทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น (Rang and Dale, 1991) ดังแสดงในรูปที่ 1.3 นอกจากนี้ยังมีกลไกอื่นที่ควบคุมการทำงานของหลอดเลือดโดยผ่านการควบคุมเฉพาะที่ (local control) เช่น การยืดหลอดเลือด (stretch), การเปลี่ยนแปลงความดันที่ผนังหลอดเลือดและผลของสารเมแทบอลิท์หรือโดยผ่านการควบคุมที่มาจากแหล่งอื่น (remote control) ได้แก่ จากระบบประสาทและสารที่มากับเลือด (blood borne) (Little, 1985)

## 5. การควบคุมการทำงานของหลอดเลือด (vascular control)

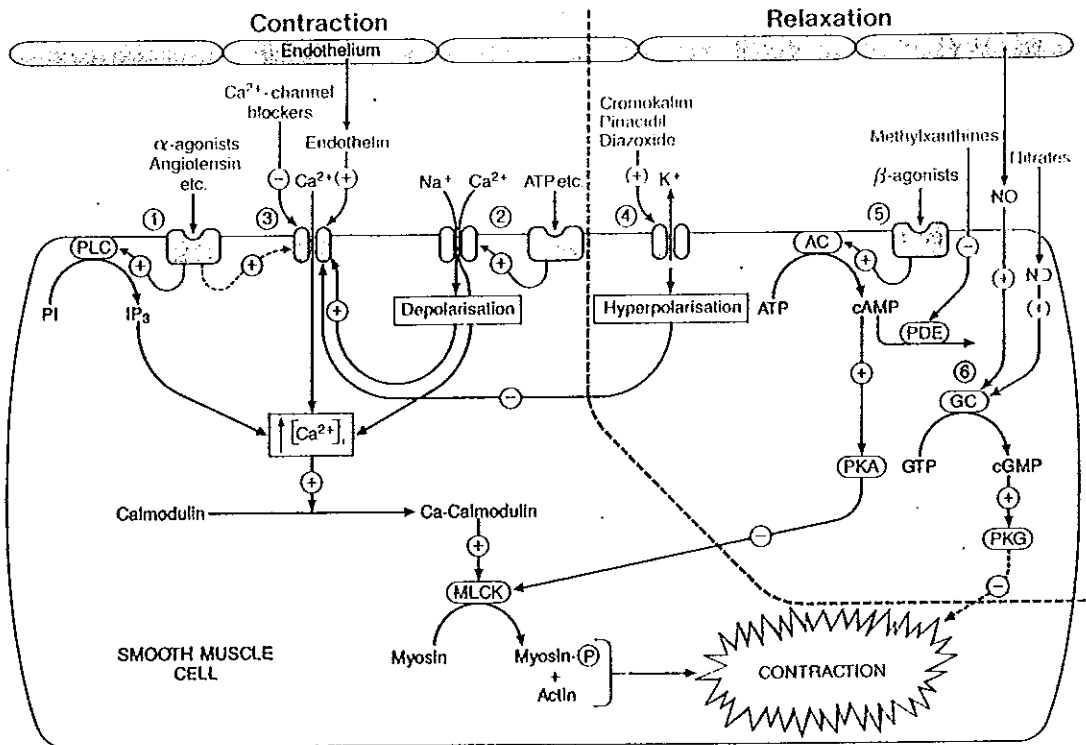
การควบคุมการทำงานของหลอดเลือด แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทคือ

- 5.1 การควบคุมโดยระบบประสาท (neural control)
- 5.2 การควบคุมโดยกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (myogenic control)
- 5.3 การควบคุมโดยฮอร์โมน (humoral control)

### 5.1 การควบคุมโดยระบบประสาท (neural control)

หลอดเลือดถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system) ได้แก่ ระบบประสาทซิมพาเทติกส่งใยประสาทมากับเส้นประสาทสันหลังส่วน thoracolumbar และระบบประสาทพาราซิมพาเทติกซึ่งส่งใยประสาทมากับเส้นประสาทสมองและไขสันหลังส่วน craniosacral พบว่าเส้นประสาทซิมพาเทติกส่งไปเลี้ยงหลอดเลือดความต้านทานมากน้อยแตกต่างกันไป เช่น หลอดเลือดในกล้ามเนื้อลายและหลอดเลือด mesenteric artery มีเส้นประสาทซิมพาเทติกไปเลี้ยงหนาแน่นกว่าหลอดเลือด cerebral artery และหลอดเลือด coronary





รูปที่ 1.3 แสดงการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด การหดตัวของหลอดเลือดเกิดจากระดับของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์สูงขึ้นผ่านทาง (1) ตัวรับทำงานร่วมกับ PLC ทำให้เพิ่มการสร้าง  $IP_3$  ทำให้เกิดการหลั่ง  $Ca^{2+}$  จากแหล่งเก็บ (2) receptor-operated channel ทำให้เกิดการเปิดของ  $Ca^{2+}$  channel แล้ว  $Ca^{2+}$  แพร่เข้าสู่เซลล์เกิดภาวะ depolarization และ (3) voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel ทำให้เกิดการเปิดของ  $Ca^{2+}$  channel และ  $Ca^{2+}$  แพร่เข้าสู่เซลล์มากขึ้น ส่วนการคลายตัวของหลอดเลือดเกิดจากระดับของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ลดลงผ่านทาง (4)  $K^+$  channel เปิดเกิดภาวะ hyperpolarization ยับยั้งการเปิดของ voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel (5)  $\beta$ -adrenergic agonist ทำให้เพิ่มการสร้าง cAMP (6) กระตุ้น guanylate cyclase ทำให้เพิ่มการสร้าง cGMP เช่น nitric oxide

(เอนไซม์: PLC = phospholipase C, AC = adenylate cyclase, GC = guanylate cyclase, PDE = phosphodiesterase, PKA = protein kinase A, PKG = protein kinase G, MLCK = myosin light chain kinase)

(ที่มา: Rang and Dale, 1991)

artery ใยประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงหลอดเลือดมี 2 ชนิดคือ adrenergic fibers เป็นชนิดที่ปลายประสาทหลังสารนอร์เอพิเนฟรินซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstriction) และ cholinergic fibers เป็นชนิดที่ปลายประสาทหลังสารอะเซทิลโคลีนซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว (sympathetic vasodilation) ส่วนระบบประสาทพาราซิมพาเทติกมีผลต่อการทำงานของหลอดเลือดน้อย (Rushmer, 1976)

หลอดเลือดส่วนใหญ่มักถูกควบคุมโดย adrenergic fiber เมื่อนอร์เอพิเนฟรินปล่อยออกมาจากปลายประสาทจะจับกับตัวรับชนิด  $\alpha$ -adrenergic receptor ของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดและการหดตัวดังกล่าวจะลดลงเมื่อมีสารที่มีผลยับยั้งการทำงานของ  $\alpha$ -adrenergic receptor (Ganong, 1993) สำหรับหลอดเลือด arterioles ของกล้ามเนื้อลายมี cholinergic fiber มาเลี้ยง ปลายประสาทของ adrenergic fiber และ cholinergic fiber จะอยู่ในชั้นทูนิกา แอดเวนติเทียของหลอดเลือด ในภาวะปกติผลของ adrenergic fiber จะเด่นและไม่มีผลของ cholinergic fiber มากนักแต่หากผลของ adrenergic fiber ลดลงจะทำให้ผลของ cholinergic fiber เด่นชัดขึ้น (Ganong, 1993)

## 5.2 การควบคุมโดยกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (myogenic control)

เนื่องจากหลอดเลือดบางชนิดประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบแบบยูนิตเดี่ยว (single unit) สามารถหดตัวได้เองเมื่อถูกยืด (stretch) การเปลี่ยนแปลงความดันภายในหลอดเลือด (intraluminal pressure) ที่ทำให้เกิดการยืดของหลอดเลือดอย่างรวดเร็วโดยไม่มีผลของระบบประสาทหรือของระบบต่อมไร้ท่อเข้ามาเกี่ยวข้องทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดเอง ได้แก่ หลอดเลือดชนิด small artery และหลอดเลือด arteriole (Johnson and Intaglietta, 1976; Hwa and Beven, 1986; Harder, 1987; Laher et. al., 1988; Jackson and Duling, 1989)

## 5.3 การควบคุมโดยสารฮอร์โมน (hormonal control) แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ

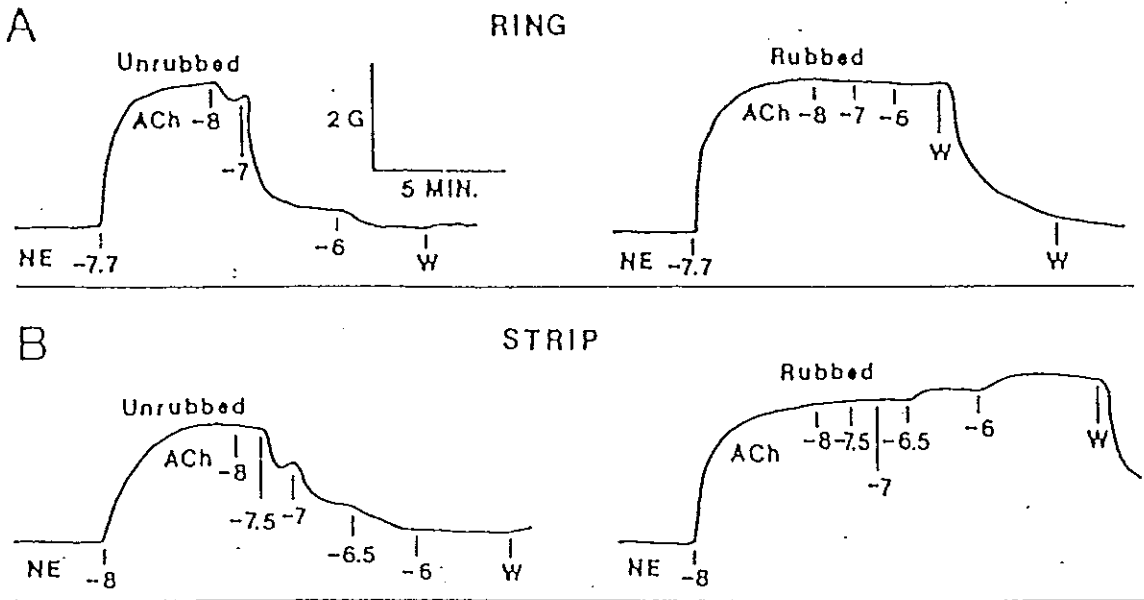
### 5.3.1 ฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อ (endocrine hormone)

สารที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดได้แก่ สารแคทีโคลามีน (catecholamine) หลังมาจากต่อมหมวกไตชั้นใน (adrenal medulla) คือ เอพิเนฟริน (epinephrine) และนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) แต่นอร์เอพิเนฟรินส่วนใหญ่ถูกหลั่งมาจากปลายประสาท โดยที่เอพิเนฟรินสามารถแสดงฤทธิ์ผ่านทาง  $\alpha$ -adrenergic receptor และ  $\beta$ -adrenergic receptor โดยเมื่อจับกับ  $\alpha$ -adrenergic receptor จะทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดแต่เมื่อจับกับ  $\beta$ -adrenergic receptor จะทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด จากการศึกษาพบว่าการออกกำลังกายมีผลเพิ่มระดับสารแคทีโค

ลามีนในเลือดทั้งชนิดเอพินเฟรอินและนอร์เอพินเฟรอินในสุนัข (Peronnet, et. al., 1981), ในหนูแรท (Rupp and Wahl, 1990) และในคน (Silverman and Mazzeo, 1996)

### 5.3.2 ฮอรโมนจากเนื้อเยื่อ (tissue hormone)

หลอดเลือดทุกชนิดจะมีเซลล์เอนโดทีเลียมที่มีลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียวเรียงต่อกันไป (monolayer) บนผนังภายในหลอดเลือด เดิมเข้าใจว่าทำหน้าที่เป็นเพียงตัวกรองน้ำและสารโมเลกุลเล็ก ๆ ให้ผ่านผนังของหลอดเลือดและทำหน้าที่กั้นเม็ดเลือดและสารโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีนให้อยู่ภายในหลอดเลือด ต่อมาทราบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมเป็นแหล่งผลิตสารหลายชนิดที่มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือด (vasoactive agents) (Berne and Levy, 1993) Furchgott และ Zawadzki เป็นกลุ่มแรกที่ค้นพบสาร Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) จากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด ทราบกันมานานแล้วว่าเซทิลโคลีนทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อทดลองแบบ *in vivo* เมื่อทำการทดลองแบบ *in vitro* กลับพบว่าทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดขึ้น จึงได้ทำการทดลองโดยใช้ชิ้นส่วนจากหลอดเลือด thoracic aorta ที่ตัดเนื้อเยื่ออย่างระมัดระวังพบว่าเมื่อเพิ่มขนาดความเข้มข้นของอเซทิลโคลีนภายหลังการทำให้หดตัวด้วยนอร์เอพินเฟรอินจะเกิดการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่ออเซทิลโคลีนแต่เมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดโดยการถูเบาๆ ด้านในของหลอดเลือดพบว่าจะไม่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่ออเซทิลโคลีนขึ้นดังแสดงในรูปที่ 1.4 โดยที่อเซทิลโคลีนจะจับกับตัวรับชนิด muscarinic receptor บนผนังเซลล์เอนโดทีเลียมและทำให้เกิดการหลั่งสาร EDRF แล้ว EDRF จะแพร่จากเซลล์เอนโดทีเลียมเข้าสู่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (vascular smooth muscle) ที่อยู่ด้านในทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดขึ้น (Furchgott, 1983; 1984; 1993) ต่อมา Palmer และคณะ (1987) ศึกษาโดยใช้วิธี chemiluminescent และวิธี bioassay ของสารที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอนโดทีเลียมหลอดเลือด aorta ของสุกร พบว่าไม่สามารถแยก EDRF และ nitric oxide ออกจากกันได้โดยอาศัยคุณสมบัติต่างๆ ทั้งการตอบสนองและผลต่อทั้งตัวกระตุ้น (agonist) และสารที่ยับยั้ง (antagonist) จึงเชื่อว่า EDRF คือ nitric oxide และพบว่า nitric oxide มีปริมาณน้อยกว่า EDRF แสดงว่ายังมีสารตัวอื่นมีผลในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดด้วย (Moncada, et al., 1991) สารตัวอื่นๆ ที่มีบทบาทสำคัญได้แก่ prostaglandins ทั้งที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว เช่น prostacyclin และที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว เช่น thromboxane A<sub>2</sub> และสาร endothelin ที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว สำหรับในที่นี้จะกล่าวถึง nitric oxide และ prostaglandins



รูปที่ 1.4 แสดงการขยายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่อเซทิลโคลีน (ACh) จะหายไปภายหลังจากทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม โดยทดลองในหลอดเลือด thoracic arota ของกระต่ายที่ตัดแบบ ring (A) และแบบ strip (B) ที่ยังมีเซลล์เอนโดทีเลียม (unrubbed: ด้านซ้าย) และที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลาย (rubbed: ด้านขวา) บันทึกการเปลี่ยนแปลงของ tension (isometric contraction) ต่อเซทิลโคลีนความเข้มข้นต่างๆ (หน่วย log molar dose) หลังการทำให้หลอดเลือดหดตัวก่อนด้วยนอร์เอพิเนฟริน (NE), W คือล้างเซทิลโคลีน (ที่มา: Furchgott, 1993)

### 5.3.2.1 Nitric oxide (NO)

Nitric oxide ถูกรายงานเป็นครั้งแรกโดย Jan Baptist นักวิทยาศาสตร์ชาวเบลเยียมราวปี ค.ศ. 1620 ต่อมา Robert Boyle และ Robert Hooke เตรียม nitric oxide ได้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1660 โดยการเผาโปตัสเซียมไนเตรท (potassium nitrate) ด้วยถ่านในที่อับอากาศจึงได้เรียกว่า nitrous air ต่อมา Murry J.A. ได้ใช้คำว่า nitric oxide แทน nitrous air มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1806 และ Walter Crum ได้เตรียม nitric oxide บริสุทธิ์ได้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1840 จากการเขย่าวรณกันของกรดไนตริก, กรดซัลฟูริกเข้มข้นและสารปรอท ต่อมาเมื่อได้มีการศึกษาและตรวจวัดปริมาณของ nitric oxide ที่มาจากสารไนโตรซามีน (nitrosamine) และไนไตรท์ (nitrite) จากอุตสาหกรรมการผลิตอาหารและพบว่ามีการผลิตสาร nitrite และ nitrate จากเซลล์ macrophage จึงได้พบว่าการสร้าง nitric oxide (Moncada, 1992; Lowenstein, et al., 1994) มีความจำเป็นที่จะต้องมีการมี L-arginine เสมอ

Nitric oxide มีลักษณะเป็น free radical gas เนื่องจากมีโมเลกุลขนาดเล็กและไม่มีประจุจึงสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ได้ง่ายโดยไม่ต้องจับกับตัวรับ (receptor) nitric oxide ในร่างกายจะมีค่าครึ่งชีวิต (half life) สั้นมากประมาณ 4 วินาทีและจะสลายเป็น nitrite และ nitrate ที่สามารถวัดปริมาณการหลังได้ในปัสสาวะ (Cochran, et al., 1996) ปัจจุบันพบว่านอกจาก nitric oxide จะมีความสำคัญในการควบคุมการคลายตัวของหลอดเลือดแล้วยังทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ทั้งในระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลายและยังทำหน้าที่ในการควบคุมสมดุลของร่างกาย เช่น ปรับการทำงานของหลอดเลือด (vascular tone), เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (inflammation), ภูมิคุ้มกันของเซลล์ (cell immunity) และการแข็งตัวของเลือด (blood coagulation) แต่อย่างไรก็ตาม nitric oxide สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติและพยาธิสภาพในระบบหัวใจและหลอดเลือด, ระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกันได้เช่นกัน (Moncada, 1991; Anggard, 1994; Lowenstein, et al., 1994)

#### ก. การสร้างและการยับยั้งการสร้าง nitric oxide

Nitric oxide เป็นสารที่ไม่มีการเก็บสะสม ดังนั้นปริมาณของ nitric oxide จึงขึ้นอยู่กับการสร้าง, การหลั่งและการทำลาย การสร้าง nitric oxide เกิดขึ้นในปฏิกิริยา citrulline-nitric oxide pathway/arginine-nitric oxide pathway จากการเปลี่ยนแปลง nitrogen atom บนปลาย guanidino group ของกรดอะมิโน L-arginine โดยอาศัยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ผ่านสารตัวกลางคือ  $N^G$ -hydroxy-L-arginine

และมี L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม (co-product) ดังแสดงในรูปที่ 1.5 และมี O<sub>2</sub>, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), flavin mononucleotide (FMN), flavin adenine dinucleotide (FAD), tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>), Ca<sup>2+</sup> และ calmodulin เป็นปัจจัยร่วม (cofactor) จากการศึกษาของ Iyenger และคณะ (1987) ที่ใช้ L-(guanidino-15 N) arginine และใช้วิธี gas chromatographic-mass spectroscopy สนับสนุนว่าการสร้าง nitric oxide ของเซลล์ macrophage จำเป็นต้องอาศัย L-arginine โดยพบว่าส่วนปลายของ guanidino nitrogen ของ L-arginine เป็นส่วนสำคัญในการสร้าง nitric oxide และพบว่าสารที่มีโครงสร้างคล้าย L-arginine (L-arginine analogues) ดังแสดงในรูปที่ 1.6 สามารถยับยั้งการสร้าง nitric oxide ได้ (Griffith and Gross, 1996) โดยการแย่งจับกับเอนไซม์ nitric oxide synthase (competitive inhibition) สารดังกล่าวได้ถูกนำมาศึกษาและที่ใช้กันมากได้แก่ N<sup>G</sup>-methyl-L-arginine (L-NMMA), N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) และ N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) (Moore, et al., 1990; Ree, et al., 1990; Moncada, et al., 1991)

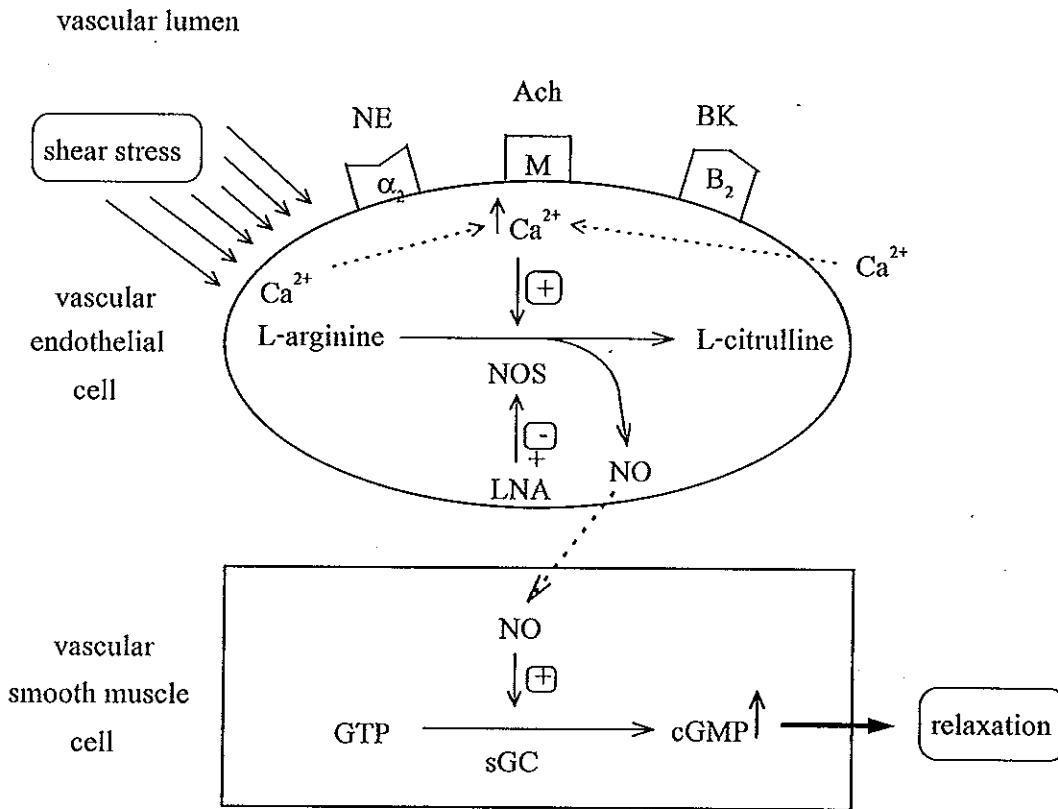
ปัจจัยที่มีผลต่อการกระตุ้นการหลั่ง nitric oxide จากเซลล์เอนโดทีเลียม มี 2 ปัจจัยหลักคือ

(1) ปัจจัยทางเคมี เช่น อเซทิลโคลีน, นอร์เอพิเนฟรินและ bradykinin ซึ่งจะมีตัวรับเฉพาะอยู่ที่ผิวของเซลล์เอนโดทีเลียม (Blanstein and Walsh, 1995)

(2) ปัจจัยทางฟิสิกส์ เช่น แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) เนื่องจากเซลล์เอนโดทีเลียมที่บุผิวหน้าภายในหลอดเลือดจะเป็นตัวสัมผัสกับการไหลของเลือดโดยตรง (Halpern, et al., 1984)

กลไกการคลายตัวของหลอดเลือดโดย nitric oxide เกิดขึ้นโดย nitric oxide กระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ให้สลาย guanosine triphosphate ภายในเซลล์เป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) เมื่อระดับของ cGMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดสูงขึ้นก็ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดขึ้นได้ (Rapoport, et al., 1983; Murad, 1996) ดังแสดงในรูปที่ 1.7 นอกจากนี้ยังมีสารบางตัวที่กระตุ้นให้เพิ่ม cGMP โดยตรงทำให้มีการหลั่ง nitric oxide (exogenous nitric oxide) จึงเรียกสารพวกนี้ว่าเป็น ผู้ให้ nitric oxide (nitric oxide donor) เช่น sodium nitroprusside, nitroglycerin ก็ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดขึ้นได้เช่นกัน (Rang and Dale, 1991)





รูปที่ 1.7 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ nitric oxide (NO) ที่ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด (vascular relaxation) โดยตัวกระตุ้นทางเคมี เช่น นอร์เอพิเนฟริน (NE), อเซทิลโคลีน (Ach) และ bradykinine (BK) ที่มีตัวรับ (receptor) เฉพาะเป็น  $\alpha_2$ -adrenergic, muscarinic (M) และ bradykinine ( $B_2$ ) อยู่ที่ผิวเซลล์และตัวกระตุ้นทางฟิสิกส์ เช่น แรงเสียดสีของน้ำเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) จะมีผลเพิ่มระดับของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ซึ่งเป็น cofactor สำหรับเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) เปลี่ยน L-arginine ให้เป็น L-citrulline และ nitric oxide (NO) แล้ว nitric oxide จะแพร่เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดไปกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase (sGC) เปลี่ยน GTP เป็น cGMP เพิ่มขึ้นมีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการขยายตัว (LNA คือ  $N^G$ -nitro-L-arginine; + คือการกระตุ้นและ - คือการยับยั้ง)

(ดัดแปลงมาจาก: Furchgott, 1996; McAllister, 1995)



### ข. เอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS)

เอนไซม์ nitric oxide synthase แบ่งออกเป็น 3 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 1.1 และตารางที่ 1.2

(1) ncNOS (neuronal NOS, NOS-1) เป็นเอนไซม์ nitric oxide synthase ชนิดที่พบในระบบประสาทส่วนกลางและในเซลล์ประสาทจัดเป็นชนิด constitutive ที่ได้รับการแยกและโคลนยีนเป็นอันดับแรกจึงเรียกเป็น type 1 มีขนาดโมเลกุล 168 kDa ค้นพบในปี ค.ศ.1990 โดย Garthwaite และคณะ (Furchgott, 1996) เอนไซม์ nitric oxide synthase ชนิดนี้จะต้องการ  $Ca^{2+}$  และ calmodulin ในการสร้าง nitric oxide จากเซลล์ประสาท NANC (non-adrenergic, non-cholinergic neurones) (Rand, 1992) และอาจพบได้ในเซลล์กล้ามเนื้อลาย (Kobzik, et al., 1994)

(2) ecNOS (vascular endothelial NOS, NOS-3) เป็นเอนไซม์ nitric oxide synthase ที่พบในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดมีขนาดโมเลกุล 135 kDa จัดเป็นชนิด constitutive ที่ต้องการ  $Ca^{2+}$  และ calmodulin ในการสร้าง nitric oxide ค้นพบในปี ค.ศ.1988 โดย Palmer และคณะ (Furchgott, 1996) เอนไซม์ nitric oxide synthase ชนิดนี้จะถูกกระตุ้นโดยระดับของ  $Ca^{2+}$  ที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์

(3) iNOS (inducible NOS, NOS-2) เป็นเอนไซม์ nitric oxide synthase พบในเซลล์ macrophage ที่ถูกกระตุ้นด้วย endotoxin, cytokines จัดเป็นชนิด inducible ที่ไม่ต้องการ  $Ca^{2+}$  มีขนาดโมเลกุล 130 kDa ถูกค้นพบโดย Hibbs, J. และคณะ (Furchgott, 1996) อาจพบได้ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Wood, et al., 1990) และในกล้ามเนื้อหัวใจ (Schulz and Triggle, 1994)

#### 5.3.2.2 Prostaglandins

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1930 มีการค้นพบสารชนิดหนึ่งในน้ำอสุจิ (semen) ที่มีผลทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อดลูกโดยเข้าใจว่าเป็นสารที่สร้างจากต่อมลูกหมาก จึงเรียกว่า prostaglandins เนื่องจากเป็นสารที่ไม่เสถียร (unstable) จึงถูกเมแทบอลิท์โดยเซลล์ต่างๆ ได้ง่ายเกิดเป็นสารต่างๆ ในกลุ่ม prostaglandins ที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป เช่น เกล็ดเลือด (plateletts) สร้าง thromboxane  $A_2$  ( $TxA_2$ ), เซลล์เอนโดทีเลียมสร้าง prostacyclin ( $PGI_2$ ), เซลล์ macrophage สร้าง prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ), และ Mast cell สร้าง prostaglandin  $D_2$  ( $PGD_2$ ) prostaglandins สร้างจาก arachidonic acid โดยมีเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) เป็นเอนไซม์ตัวแรกที่ทำหน้าที่เปลี่ยน

ตารางที่ 1.1 แสดงการจำแนกเอนไซม์ nitric oxide synthase

Original designation	Function designation	Numerical designation
nNOS (constitutive)	ncNOS	NOS-1
eNOS (constitutive)	ecNOS	NOS-3
macNOS (inducible)	iNOS	NOS-2

Original designation หมายถึงใช้เนื้อเยื่อที่พบครั้งแรกเป็นเกณฑ์;

n=neuronal, e=endothelium และ mac=macrophage

Functional designation หมายถึงความต้องการ calcium ของเอนไซม์เป็นเกณฑ์;

c=calcium dependent และ i=calcium independent

Numerical designation หมายถึงใช้ตามลำดับในการโคลนยีนเป็นเกณฑ์

(ที่มา: Stamler and Feelisch, 1996)

ตารางที่ 1.2 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ nitric oxide synthase

Isoform	eNOS	nNOS	iNOS
source	endothelium cells kidney epithelium	neurons skeletal muscles adrenal gland mast cells	hepatocytes fibroblasts macrophages neutrophils
regulation	constitutive	constitutive	inducible
activation	elevated calcium	elevated calcium	transcription
stimuli	Ca <sup>2+</sup> ionophore	Ca <sup>2+</sup> ionophore	interferon
(example)	bradykinin thrombin	acetylcholine electric pulses	
function	low output	low output (picogram)	high output (nanogram)
	rapid release	rapid release	prolonged release
inhibitors	L-arg. analogues	L-arg. analogues	L-arg. analogues glucocorticoids

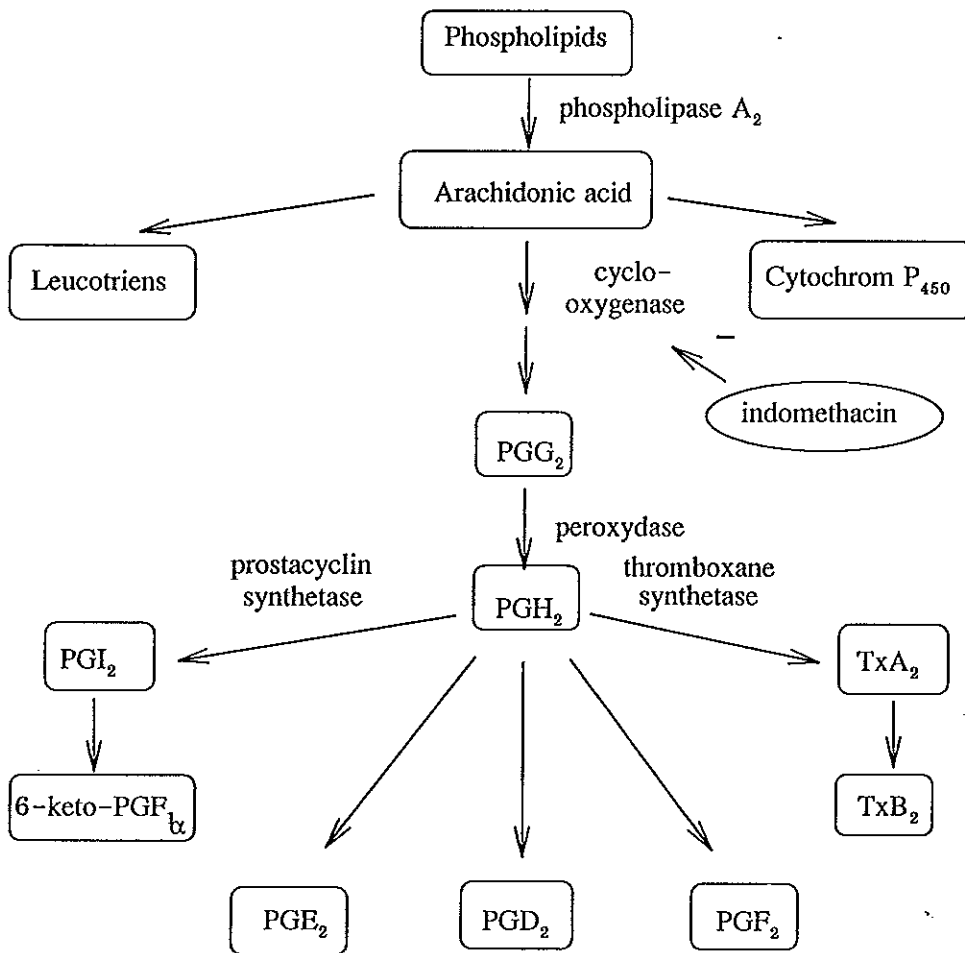
ที่มา: ดัดแปลงจาก Cochran, et al., 1996

arachidonic acid ให้เป็น  $\text{PGH}_2$  ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น prostaglandins หลายชนิดขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อที่มีเอนไซม์ prostaglandin synthase ที่แตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 1.8

เอนไซม์ COX มีอยู่ 2 ชนิดคือ constitutive form (COX-1) พบในเนื้อเยื่อทุกชนิดและ inducible form (COX-2) โดย COX-2 จะเพิ่มขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยภาวะที่เกิดการอักเสบ (inflammatory) จาก endotoxin (Griswold and Adams, 1996) สารที่ใช้ในการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ได้แก่ สารในกลุ่ม nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) ที่นิยมใช้กันมากคือ indomethacin และ aspirin ซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX-1 และ COX-2 สำหรับ prostaglandins ที่มีบทบาทต่อการทำงานของหลอดเลือดมากคือ prostacyclin ที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดและ thromboxane ที่มีฤทธิ์ตรงข้ามกันคือทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด

#### ก. Prostacyclin ( $\text{PGI}_2$ )

Prostacyclin สร้างที่เซลล์เอนโดทีเลียมเนื่องจากมีความเสถียรต่ำจึงเปลี่ยนเป็น 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$  ได้ง่าย (Rang and Dale, 1991) ซึ่ง 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$  จะมีความเสถียรมากกว่าและสามารถวัดปริมาณได้ในกระแสเลือด prostacyclin มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวโดยการกระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase ทำให้เพิ่มระดับของ cAMP ภายในเซลล์ (Newby and Henderson, 1990) และมีผลยับยั้งเอนไซม์ protein kinase C ทำให้ลดการหดตัวของหลอดเลือด นอกจากนี้ prostacyclin ยังมีผลยับยั้งการจับกันของเกล็ดเลือด (Rang and Dale, 1991) การสร้าง prostacyclin ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ภายในเซลล์และมักจะหลั่งร่วมกับ nitric oxide (Carter and Pearson, 1992) ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดและป้องกันการจับตัวของเกล็ดเลือดเหมือนกัน (Moncada, et al., 1991) แต่มีกลไกการทำงานที่แตกต่างกันโดย prostacyclin มีผลกระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase ทำให้เพิ่มระดับของ cAMP ภายในเซลล์ ส่วน nitric oxide จะมีผลกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ทำให้เพิ่มระดับของ cGMP ภายในเซลล์ โดยทั้ง cAMP และ cGMP ล้วนมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด (Berne and Levy, 1993) และเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงการไหลของเลือด (Blood flow) สามารถกระตุ้นการหลั่งทั้ง prostacyclin และ nitric oxide (Berthiaume and Frangos, 1995) ในการจำแนกจึงต้องอาศัยการใช้สาร indomethacin เพื่อยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ไม่ให้เกิดการสร้าง prostacyclin (Rang and Dale, 1991) และใช้สาร  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine (LNA) เพื่อยับยั้งเอนไซม์ nitric oxide synthase ไม่ให้เกิดการสร้าง nitric oxide (Moncada, et al., 1991) และพบว่าสาร indomethacin นอกจากจะยับยั้งการสร้าง prostacyclin



รูปที่ 1.8 แสดงการสร้าง prostaglandins จากสาร phospholipids  
(ดัดแปลงจาก : Rang and Dale, 1991)

แล้วยังมีผลยับยั้งการทำงานของตัวรับของ prostacyclin ( $\text{PGI}_2$ -receptor) อีกด้วย (Parfenova, et al., 1995)

## ข. Thromboxane $A_2$ ( $\text{TxA}_2$ )

Thromboxane  $A_2$  เป็น prostaglandins ที่สร้างจากเกล็ดเลือด มีฤทธิ์ตรงข้ามกับ prostacyclin คือมีผลทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดและชักนำให้เกิดการจับกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) สมดุลระหว่าง prostacyclin และ thromboxane  $A_2$  จึงมีบทบาทต่อการทำงานของหลอดเลือด (Rang and Dale, 1991)

## 6. การออกกำลังกายต่อการทำงานของระบบไหลเวียนเลือด

### 6.1 ผลต่อหัวใจ

การฝึกออกกำลังกาย (exercise training) มีผลลดอัตราการบีบตัวของหัวใจ (heart rate) ในขณะที่พักทั้งในสัตว์ทดลอง (Tipton, 1965; Tipton and Taylor, 1965; Tipton, 1969) และในคน (Katona, et al., 1982) ซึ่ง Scheuer และ Tipton (1977) ศึกษาในหนูแร้พบว่า การลดอัตราการบีบตัวของหัวใจเกิดจากการเพิ่มการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกและลดการทำงานของระบบซิมพาเทติก แต่จากการศึกษาของ Katona และคณะ (1982) ในนักกีฬาพบว่า การออกกำลังกายไม่มีผลทำให้เพิ่มการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกแต่อย่างใด และ Negrao และคณะ (1992) ได้ศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Wistar เพศผู้ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill พบว่ามีการลดอัตราการบีบตัวของหัวใจในขณะที่พักของหนูแร้ที่ออกกำลังกายดังกล่าวเนื่องมาจากการลดการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก โดยมีผลลดความไวในการกระตุ้นต่อ cholinergic receptor ของ SA-node

### 6.2 ผลต่อหลอดเลือด

Roger และคณะ (1991) ศึกษาบทบาทของ  $\alpha$ -adrenergic receptor และ  $\beta$ -adrenergic receptor ในหลอดเลือด coronary artery ของสุนัขที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill พบว่าการออกกำลังกายไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด coronary artery ต่อ  $\alpha$ -adrenergic agonist (นอร์เอปิเนฟรินและ phenylephrine) แต่ลดการตอบสนองต่อ  $\beta$ -adrenergic agonist (isoproterenol) และ vasoactive intestinal peptide สำหรับการศึกษาในกล้ามเนื้อลาย Welsh และ Segal (1997) พบว่าเซทิลโคลินที่หลังจากบริเวณ neuromuscular junction นอกจากจะมีบทบาทในการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อลายเกิดการหดตัวแล้วยังมีผลกระตุ้นทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดที่มาเลี้ยงกล้ามเนื้อลายและหลอดเลือด arteriole ในกล้ามเนื้อลายขณะออก

กำลังกายด้วย ภายหลังจากค้นพบสาร EDRF ในปี ค.ศ. 1980 โดย Furchgott และ Zawadzki แล้ว Tesfamariam และ Cohen (1988) ศึกษาในหลอดเลือดแดง common carotid ของกระต่ายถึงผลของแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) ที่มีผลต่อการตอบสนองของ  $\alpha$ -adrenergic agonist พบว่าการเพิ่มแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือดโดยการใส่สาร dextran ในสารละลาย Krebs เพื่อเพิ่มความหนืด (viscosity) มีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้โดยการหลั่งสาร EDRF ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดซึ่ง Ohyanaki และคณะ (1992) ศึกษาหลอดเลือดในกล้ามเนื้อลาย Cremaster ของหนูแร้พบว่าการหลั่งสาร EDRF มาควบคุมการทำงานของหลอดเลือด arteriole และ venule โดยมีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ  $\alpha_2$ -adrenergic agonist มากกว่า  $\alpha_1$ -adrenergic agonist และ nitric oxide ก็มีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดต่อ nor-epinephrine ของหลอดเลือด arteriole ในกล้ามเนื้อ Cremaster ของหนูแร้ ต่อมา Nase และ Boegehold (1996) ศึกษาพบว่า nitric oxide มีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเส้นประสาท adrenergic ในหลอดเลือด mesenteric artery โดยการใส่สาร L-NMMA ยับยั้งการสร้าง nitric oxide มีผลเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแต่ภายหลังการใช้ L-arginine ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสร้าง nitric oxide ทำให้การหดตัวที่เพิ่มขึ้นนั้นกลับลดลง ต่อมา ในปี 1997 Nase และ Boegehold ได้ศึกษาเพิ่มเติมพบว่าการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมหรือการใช้สาร L-NMMA ยับยั้งการสร้าง nitric oxide มีผลลดการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่ออะเซทิลโคลีนโดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงเมื่อใช้สาร sodium nitroprusside และต่อการกระตุ้นเส้นประสาท adrenergic แสดงว่า nitric oxide ที่หลั่งจากเซลล์เอนโดทีเลียมมีผลลดการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าสารที่ยับยั้งการสร้าง nitric oxide ยังมีผลเพิ่มระดับความดันเลือดและลดอัตราการบีบตัวของหัวใจในหนูแร้สายพันธุ์ Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) ได้มากกว่าในหนูแร้สายพันธุ์ Wistar-Kyoto Rats (WKY) (Chen and Hu, 1997) แสดงว่าการหลั่ง nitric oxide มีผลต่อความดันเลือดและความต้านทานรวมส่วนปลาย (total peripheral resistance) ทำให้สามารถลดภาวะความดันเลือดสูง (hypertension) ในหนูทดลองได้

การออกกำลังกายต่อเนื่องกันนานๆ อาจทำให้เกิดการปรับตัวขึ้นภายในหลอดเลือด โดยมีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด เช่น อาจทำให้เพิ่มขนาดของหลอดเลือดหรือมีการเพิ่มจำนวนของหลอดเลือด (Segal, et al., 1993; Delp, 1995) หรือมีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดผ่านทางเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดหรือเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยตรง เช่น มีผลต่อการหลั่งสาร nitric oxide, prostacyclin จากการศึกษาก่อนของ Miller and Burnett (1992) พบว่าการเพิ่มอัตราการไหลของเลือดมีผลเพิ่มแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือดมีผลกระตุ้นเซลล์เอนโดทีเลียมให้สร้างสารที่ทำให้

เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดขึ้นเพื่อที่จะลดความต้านทานต่อการไหลของเลือด (Melkumyant, et al., 1995) หรือลดความต้านทานส่วนปลายในขณะออกกำลังกาย (Delp, 1995; McAllister, et al., 1995) โดยอาจมีผลไปกระตุ้นเอนไซม์ nitric oxide synthase ให้หลั่ง nitric oxide หรือไปกระตุ้นเอนไซม์ cyclooxygenase ให้หลั่ง prostaglandins ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดขึ้น จากการศึกษาพบว่าการออกกำลังกายมีผลลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารที่ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด (vasoactive agents) เช่น นอร์เอพิเนฟริน, phenylephrine หรือ KCl โดย Bove และ Dewey (1985) และ Oltman และคณะ (1992) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด coronary artery ต่อ phenylephrine และ KCl ลดลงในสุกรที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ Roger และคณะ (1991) ศึกษาในสุนัขที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เช่นกันกลับพบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด coronary artery ที่ยังคงมีเซลล์เอนโดทีเลียมต่อ นอร์เอพิเนฟรินและ phenylephrine ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ออกกำลังกายและกลุ่มควบคุม สำหรับการทดลองศึกษาในหนูแร้ Edward และคณะ (1985) ศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Spontaneously Hypertensive Rat เพศผู้ที่ให้ออกกำลังกายทั้งโดยการให้วิ่งบน treadmill และที่ให้ออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำพบว่า การตอบสนองของหลอดเลือด abdominal aorta ที่ตัดแบบ helical strips ต่อ นอร์เอพิเนฟรินไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ออกกำลังกายและกลุ่มควบคุม ต่อมา Chen และ Chiang (1996) ได้ทำการศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Spontaneously Hypertensive Rat และสายพันธุ์ Wistar-Kyoto Rat ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ยังคงมีเซลล์เอนโดทีเลียมต่อ นอร์เอพิเนฟรินและ phenylephrine ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดแดง common carotid ต่อ นอร์เอพิเนฟรินและ phenylephrine ส่วน Delp และคณะ (1993) ศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เช่นกันพบว่า การออกกำลังกายมีผลลดความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดแต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด abdominal aorta ต่อ นอร์เอพิเนฟรินและ KCl แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว ต่อ phenylephrine Chen และคณะ (1993) ศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Wistar ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill พบว่าการฝึกออกกำลังกายมีผลทำให้เพิ่มการผลิต prostacyclin จาก thoracic aorta แต่ Patil และคณะ (1993) ศึกษาในหนูแร้สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill ถึงการตอบสนองของหลอดเลือดแดง common iliac โดยการวัดการไหลของเลือดด้วยวิธี Doppler ultrasound พบว่าเมื่อยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย L-NAME มีผลเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine แสดงว่าการออกกำลังกายมีผลเพิ่มการผลิตของ nitric oxide



Sessa และคณะ 1994, Shen และคณะ 1995 ทำการศึกษาในระดับโมเลกุลพบว่าจากการออกกำลังกายทำให้เพิ่มการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ synthase โดยพบว่ามีเพิ่มระดับ mRNA ของไนตริกออกไซด์ synthase

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม
2. ศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ phenylephrine
3. ศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในการควบคุมการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ phenylephrine
4. การออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งของ nitric oxide จากเซลล์เอนโดทีเลียมและ/หรือจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหรือไม่และ nitric oxide มีบทบาทต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl และ phenylephrine อย่างไร

## 2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### วัสดุ

#### สัตว์ทดลอง

ใช้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ อายุ 4-5 เดือนซึ่งมีน้ำหนักในวันเริ่มต้น 350-420 กรัม จากเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลี้ยงในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 25°C. โดยให้มีอาหารสำเร็จรูปและน้ำประปาตลอดเวลา แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

#### 1. กลุ่มควบคุม (sedentary control group)

เป็นกลุ่มสัตว์ทดลองที่ไม่ต้องว่ายน้ำแต่เลี้ยงไว้ในห้องเดียวกับกลุ่มว่ายน้ำตลอดช่วงระยะเวลาที่กลุ่มว่ายน้ำได้ฝึกว่ายน้ำเป็นเวลาประมาณ 5 สัปดาห์ โดยก่อนการทดลองจะบันทึกน้ำหนักตัวไว้

#### 2. กลุ่มว่ายน้ำ (swimming group)

ให้หนูแรทออกกำลังกายตามวิธีการของ Jansakul (1995) ซึ่งดัดแปลงมาจาก Ohkubo และคณะ (1992) โดยให้หนูแรทว่ายน้ำในถังไฟเบอร์กลาสที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 ซม. สูง 70 ซม. บรรจุน้ำประปาที่มีอุณหภูมิ 28°- 29°C. ให้มีระดับความลึกประมาณ 45 ซม. ในการว่ายน้ำแต่ละครั้งให้หนูแรทว่ายน้ำในถังดังกล่าวครั้งละไม่เกิน 10 ตัว ในช่วงเช้าเริ่มเวลา 9.00 น. และช่วงบ่ายเริ่มเวลา 15.00 น. โดยมีตารางการว่ายน้ำดังนี้

วันที่ 1	ว่ายน้ำนาน 10 นาที	เวลา 9.00-9.10 น.
วันที่ 2	ว่ายน้ำนาน 20 นาที	เวลา 9.00-9.20 น.
วันที่ 3	ว่ายน้ำนาน 30 นาที	เวลา 9.00-9.30 น.
วันที่ 4	ว่ายน้ำนาน 40 นาที	เวลา 9.00-9.40 น.
วันที่ 5	ว่ายน้ำนาน 50 นาที	เวลา 9.00-9.50 น.
วันที่ 6	ว่ายน้ำนาน 60 นาที	เวลา 9.00-10.00 น.
วันที่ 7	ว่ายน้ำนาน 70 นาที	เวลา 9.00-10.10 น.
วันที่ 8	ว่ายน้ำนาน 80 นาที	เวลา 9.00-10.20 น.
วันที่ 9	ว่ายน้ำนาน 90 นาที	เวลา 9.00-10.30 น.

- วันที่ 10 แบ่งการว่ายน้ำออกเป็น 2 ช่วง คือช่วงเช้าและช่วงบ่ายดังนี้  
 ช่วงเช้า ว่ายน้ำนาน 50 นาที เวลา 9.00-9.50 น.  
 และช่วงบ่ายว่ายน้ำอีก 50 นาที เวลา 15.00-15.50 น.
- วันที่ 11 ช่วงเช้า ว่ายน้ำนาน 60 นาที เวลา 9.00-10.00 น.  
 และช่วงบ่ายว่ายน้ำอีก 60 นาที เวลา 15.00-16.00 น.
- วันที่ 12 ช่วงเช้า ว่ายน้ำนาน 70 นาที เวลา 9.00-10.10 น.  
 และช่วงบ่ายว่ายน้ำอีก 70 นาที เวลา 15.00-16.10 น.
- วันที่ 13 ช่วงเช้า ว่ายน้ำนาน 80 นาที เวลา 9.00-10.20 น.  
 และช่วงบ่ายว่ายน้ำอีก 80 นาที เวลา 15.00-16.20 น.
- วันที่ 14 ช่วงเช้า ว่ายน้ำนาน 90 นาที เวลา 9.00-10.30 น.  
 และช่วงบ่ายว่ายน้ำอีก 90 นาที เวลา 15.00-16.30 น.

และให้สัตว์ทดลองว่ายน้ำวันละ 2 รอบๆ ละ 90 นาทีเช่นนี้ต่อไปอีก 2 สัปดาห์  
 สัตว์ทดลองทุกตัวจะนำไปศึกษาการตอบสนองของหัวใจและหลอดเลือดในสัปดาห์ถัดไป

#### อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
2. ชุด isolated organ bath  
 ขนาด 20 มล. สำหรับใส่หัวใจและหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein)  
 ขนาด 100 มล. สำหรับใส่หลอดเลือด mesenteric arterial beds
3. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermostat-heater-circulator), Model D1, HAAKE, ประเทศเดนมาร์ก
4. เครื่องปั๊มสารละลายต่อเนื่อง (peristaltic pump), Model Minipuls 3, Gilson, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องโพลีกราฟ (polygraph), model 7D พร้อมอุปกรณ์ประกอบด้วย tachograph preamplifier (Model 7P44B), force transducer (Model FT03) และ pressure transducer ( Model Statham P2), Grass, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องชั่งอย่างละเอียด Model AE200, Mettler, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
7. ไปเปตต์อัตโนมัติ (automatic pipettes) Model 5000, Nichiryo, ประเทศญี่ปุ่น
8. ก๊าซคาร์โบเจน (carbogen) ซึ่งเป็นก๊าซผสมของ 95 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>

## ยาและสารเคมี

1. สารละลายเครบส์ (Krebs' Heinsleit solution) เป็น physiological fluid
2. น้ำเกลือ ความเข้มข้น 0.9 % NaCl (normal saline solution)
3. Phenylephrine hydrochloride (Phe), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Indomethacin (IDM), Fluka, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
7. Ascorbic acid, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. Ethylenediaminetetracetic acid (EDTA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา

## วิธีการ

ศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อหัวใจและหลอดเลือด เป็นการทดลองนอกร่างกาย โดยใช้กล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม (atrium), หลอดเลือดแดงบริเวณทางเดินอาหาร (mesenteric arterial beds) และหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein) ของหนูแรทในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ซึ่งเป็น depolarizing agent และ phenylephrine ซึ่งเป็น  $\alpha_1$ -adrenergic agonist ในภาวะต่างๆ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารละลายเครบส์ (perfusion flow rate), การยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA, การยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM และการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS)

### 2.1 การเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับใช้ทดลอง (tissue preparation)

#### 2.1.1 การเตรียมกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม (atrium)

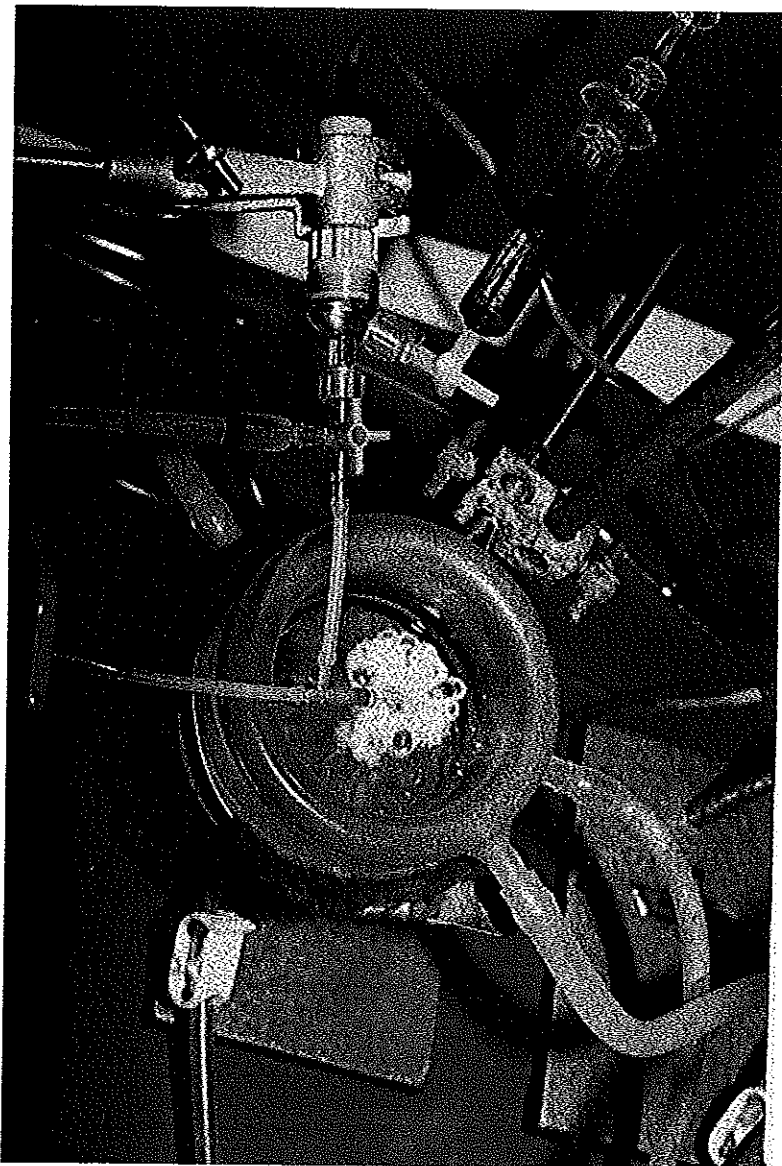
หนูแรททั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำจะถูกฆ่าโดยการตัดคอด้วยกิโยติน (guillotine) เปิดช่องอกตัดเอาหัวใจส่วนเอเตรียมคู่ (ทั้งข้างซ้ายและขวา) แช่ไว้ในสารละลายเครบส์ ปลดปล่อยหัวใจบีบตัวเพื่อบีบไล่เลือดภายในหัวใจแล้วจึงใช้ไหมขนาดเล็กผูกเป็นบ่วงไว้ที่เอเตรียมซ้ายส่วนเอเตรียมขวาผูกด้วยไหมยาว จากนั้นนำหัวใจใส่ใน organ bath ขนาด 20 มล. ที่มีสารละลายเครบส์บรรจุอยู่และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านตลอดเวลา โดยให้ปลายที่เป็นบ่วงเกี่ยวไว้กับตาชั่งที่ก้นของ organ bath ส่วนด้านที่ผูกด้วยไหมยาวจะต่อเข้ากับ force transducer ซึ่งต่ออยู่กับเครื่องโพลีกราฟแล้ว equilibrate หัวใจที่อุณหภูมิ 37° ซ. ประมาณ 60 นาทีโดยเปลี่ยนสารละลายเครบส์ใน organ bath ทุกๆ 10 นาทีเพื่อให้เนื้อเยื่อปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่

### 2.1.2 การเตรียมหลอดเลือดแดงบริเวณทางเดินอาหาร (mesenteric arterial beds)

หลังจากฆ่าสัตว์ทดลองทั้งสองกลุ่มตั้งข้อ 2.1.1 แล้วจึงนำมาหาหลอดเลือด superior mesenteric artery โดยแยกหลอดเลือดออกจากเนื้อเยื่อที่ล้อมรอบแล้วสอดท่อโพลีเอทิลีน (PE 50) และใช้ไหมผูกท่อ PE ไว้กับหลอดเลือดจากนั้นจึงฉีดน้ำเกลือ 0.9 % ผ่านหลอดเลือดอย่างช้าๆ ประมาณ 1-2 มล. ตัดส่วนของหลอดเลือดและทางเดินอาหารทั้งหมดออกจากสัตว์ทดลองโดยใช้กรรไกรขนาดเล็กตัดแยกเอาส่วนของกระเพาะและลำไส้ออกจากส่วนของ mesenteric arterial beds อย่าให้ปลายกรรไกรตัดถูกลำไส้เพราะจะทำให้กากอาหารและน้ำย่อยในลำไส้ซึมออกมา มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือด (McGregor, 1965) เมื่อเลาะส่วน mesenteric arterial beds ได้แล้วนำไปใส่ใน organ bath ขนาด 100 มล. ที่มีสารละลาย Krebs solution ควบคุมอุณหภูมิที่ 37° ซ. และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านตลอดเวลา นำปลายข้างหนึ่งของท่อ PE ซึ่งอีกด้านต่ออยู่กับหลอดเลือด mesenteric arterial beds มาต่อเข้ากับท่อของเครื่องบีบสารละลาย (peristaltic pump) เพื่อบีบสารละลาย Krebs solution อุณหภูมิ 37° ซ. ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาที (Chu and Bielin, 1993; Le Marquer-Domagala and Finet, 1997) ให้ผ่าน mesenteric arterial beds ตลอดเวลา โดยท่อบีบสารละลายนี้จะมีข้อต่อสามทางซึ่งต่อกับ pressure transducer (รูปที่ 2.1) และเครื่องโพลีกราฟแล้ว equilibrate หลอดเลือด mesenteric arterial beds โดยบีบสารละลาย Krebs solution ผ่านหลอดเลือดแล้วปรับสภาพความดันให้คงที่เป็นเวลา 20 นาทีแล้วเอาหลอดเลือดแล้วปรับความดันออกจะได้ค่า basal perfusion pressure ที่แท้จริงของหลอดเลือดและ equilibrate ต่ออีก 20 นาทีเพื่อให้เนื้อเยื่อปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่

### 2.1.3 การเตรียมหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein)

หลังจากฆ่าสัตว์ทดลองทั้งสองกลุ่มตั้งข้อ 2.1.1 แล้วรีบเปิดช่องท้องหาหลอดเลือดดำพอร์ทัลโดยแยกหลอดเลือดออกจากเนื้อเยื่อที่ล้อมรอบแล้วจึงใช้ไหมสอดมัดหลอดเลือดดำพอร์ทัลและผูกทำเป็นบ่วง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งของหลอดเลือดห่างออกไปประมาณ 1 ซม. ผูกด้วยไหมยาว ตัดหลอดเลือดเหนือบ่วงทั้งสองข้างออกนำหลอดเลือดใส่ใน organ bath ขนาด 20 มล. ที่มีสารละลาย Krebs solution บรรจุอยู่และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านตลอดเวลาโดยให้ปลายที่เป็นบ่วงเกี่ยวไว้กับตาชั่งที่ก้นของ organ bath ส่วนด้านที่ผูกด้วยไหมยาวจะต่อเข้ากับ force transducer ซึ่งต่ออยู่กับเครื่องโพลีกราฟโดยปรับให้มี basal tension 0.5 กรัม equilibrate หลอดเลือดที่ 37° ซ. เป็นเวลา 40 นาทีโดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs solution ใน organ bath ทุกๆ 10 นาทีเพื่อให้เนื้อเยื่อปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่



รูปที่ 2.1 แสดง Mesenteric arterial beds ใน organ bath

## 2.2 การทดลอง

### 2.2.1 ศึกษาผลของการว่ายน้ำต่อความแรงและอัตราการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม

นำเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียมของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่มจากข้อ 2.1.1 มาบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับความแรงและอัตราการบีบตัวได้เองของหัวใจส่วนเอเตรียม

### 2.2.2 ศึกษาผลของอัตราการไหล (perfusion flow rate) ของสารละลาย Krebs และผลของ $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

ทำการทดลองเบื้องต้นทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำโดยใช้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่เตรียมโดยวิธีในข้อ 2.1.2 จะถูกนำมาศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดโดยการบีบสารละลายที่ใช้ KCl แทนที่ NaCl ด้วยความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับให้แต่ละความเข้มข้นถูกบีบไหลผ่านหลอดเลือดใน organ bath ด้วยอัตราการไหล (perfusion flow rate) 2 มล./นาทีจนมีการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชัน (perfusion pressure) ตอบสนองเต็มที่ จากนั้นบีบด้วยสารละลาย Krebs เพื่อให้หลอดเลือดกลับสู่สภาพปกติเป็นเวลา 5-10 นาทีก่อนที่จะบีบสารละลาย KCl ในความเข้มข้นถัดไปจนครบทุกความเข้มข้น แล้ว equilibrate หลอดเลือดโดยการบีบสารละลาย Krebs ด้วยอัตราการไหลเท่าเดิมต่อไปอีก 20 นาที เพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวเข้าสู่สภาพปกติแล้วจึง incubate หลอดเลือดด้วยการบีบสารละลาย Krebs ที่มี  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M ให้ไหลผ่านหลอดเลือดเป็นเวลา 40 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกการทดลองอีกครั้งโดยบีบสารละลาย KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นตามลำดับโดยวิธีการเดียวกันซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะมี LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M คำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีเปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA

ส่วนสัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งทำเช่นเดียวกับชุดแรกแต่เปลี่ยนอัตราการไหลของเครื่องบีบสารละลายเป็น 5 มล./นาทีคงที่ตลอดการทดลองแล้วบันทึกผลการทดลองและคำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาทีเปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA



2.2.3 ศึกษาผลความเข้มข้นของ 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

ทำการทดลองเบื้องต้นเฉพาะในกลุ่มควบคุมมาศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาที เมื่อ equilibrate หลอดเลือดเป็นเวลา 20 นาทีเพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวเข้าสู่สภาพปกติแล้วจึงบีบ CHAPS ความเข้มข้นที่ใช้คือ 3, 4 และ 5 มก./มล. โดยการบีบสารละลาย Krebs ที่มี CHAPS ในแต่ละความเข้มข้นให้ไหลผ่านหลอดเลือด mesenteric arterial beds เป็นเวลา 2 นาทีเพื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดแล้ว equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ต่อไปอีก 40 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกผลการทดลองอีกครั้งโดยการบีบสารละลาย KCl ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับโดยวิธีการเดียวกันและคำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังทำลายเนื้อเยื่อเอนโดทีเลียมด้วย CHAPS ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 มก./มล.

2.2.4 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ,  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) และ indomethacin (IDM) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

ทำการศึกษาทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำถึงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีและบันทึกผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นภายหลัง incubate หลอดเลือดด้วย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2 ทุกประการและคำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA

ส่วนสัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดแรกแต่ใช้ indomethacin (IDM) ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M แทนที่ LNA แล้วบันทึกผลและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ IDM

### 2.2.5 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำถึงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีและบันทึกผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นภายหลังทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. เป็นเวลา 2 นาทีเช่นเดียวกับข้อ 2.2.3 ทุกประการ หลังจากนั้นจึงบันทึกผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นอีกครั้งภายหลัง incubate หลอดเลือดด้วย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M และคำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และหลังการให้ LNA

### 2.2.6 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2 ทุกประการ เพียงแต่เปลี่ยนจาก KCl เป็น phenylephrine ความเข้มข้นระหว่าง  $10^{-6}$  M -  $3 \times 10^{-4}$  M โดยเพิ่มความเข้มข้นครั้งละ  $0.5 \log [M]$  ตามลำดับด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีและบันทึกผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ความเข้มข้นดังกล่าวภายหลัง incubate หลอดเลือดด้วย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M คำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA

ส่วนสัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดแรกแต่ใช้ IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M แทนที่ LNA แล้วบันทึกผลและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ IDM

### 2.2.7 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเช่นเดียวกับข้อ 2.2.5 ทุกประการเพียงแต่เปลี่ยนจาก KCl เป็น phenylephrine ความเข้มข้นระหว่าง  $10^{-6}$  M -  $3 \times 10^{-4}$  M โดยเพิ่มความเข้มข้นครั้งละ  $0.5 \log [M]$  ตามลำดับด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีและคำนวณการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ

phenylephrine เปรียบเทียบก่อนและหลังทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และหลังการให้ LNA

#### 2.2.8 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl

หลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ได้จากหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่เตรียมโดยวิธีในข้อ 2.1.3 จะถูกนำมาศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดโดยใช้ KCl แทนที่ NaCl ในสารละลาย Krebs ด้วยความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับโดยให้แต่ละความเข้มข้นของ KCl สัมผัสเนื้อเยื่อภายใน organ bath นาน 1-2 นาทีหรือมีการหดตัวตอบสนองเต็มที่ จากนั้นล้างเนื้อเยื่อด้วยสารละลาย Krebs หลายๆ ครั้งเพื่อให้หลอดเลือดกลับสู่สภาพเดิมก่อนที่จะใส่ KCl ความเข้มข้นถัดไป เมื่อใส่ KCl ความเข้มข้นสูงสุดแล้ว equilibrate ด้วยสารละลาย Krebs ไปอีก 20 นาทีเพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวสู่สภาพปกติโดยการล้างหลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ทุกๆ 10 นาทีแล้วจึง incubate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M นาน 40 นาทีโดยการเปลี่ยนสารละลาย Krebs ที่มี LNA ทุกๆ 10 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกผลการทดลองโดยใช้สารละลาย KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นอีกครั้งซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะมี LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับโดยวิธีการเดียวกันแล้วบันทึกผลการทดลองและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ตอบสนองต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA

ส่วนสัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดแรกแต่ใช้ IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M แทนที่ LNA แล้วบันทึกผลและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ตอบสนองต่อ KCl เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ IDM

#### 2.2.9 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำถึงผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine แบบความเข้มข้นสะสม (cumulative dose-response curve) โดยใช้ความเข้มข้นของ phenylephrine ระหว่าง  $10^{-9}$  M -  $3 \times 10^{-5}$  M ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นครั้งละ  $0.5 \log [M]$  ตามลำดับให้แต่ละความเข้มข้นของ phenylephrine สัมผัสกับเนื้อเยื่อนาน 1-2 นาทีหรือมีการหดตัวตอบสนองเต็มที่แล้วจึงหยุดความเข้มข้นสูงกว่าต่อไปโดยไม่ต้องล้างเนื้อเยื่อ เมื่อหยุด phenylephrine ครบทุกความเข้มข้นแล้วจึงล้างเนื้อเยื่อหลายๆ ครั้งด้วยสารละลาย Krebs equilibrate หลอดเลือดต่อไปอีก 20 นาทีเพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวสู่สภาพปกติโดยการล้างหลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ทุกๆ 10 นาทีหลังจากนั้นจึง incubate หลอดเลือด

ด้วยสารละลายเครบส์ที่มี LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M นาน 40 นาทีโดยการเปลี่ยนสารละลายเครบส์ที่มี LNA ทุกๆ 10 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกผลการทดลองโดยใช้ phenylephrine ความเข้มข้นระหว่าง  $10^{-9}$  M -  $3 \times 10^{-5}$  M ในสารละลายเครบส์อีกครั้งซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะมี LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ตอบสนองต่อ phenylephrine เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ LNA .

ส่วนสัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดแรกแต่ใช้ IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M แทนที่ LNA แล้วบันทึกผลและคำนวณการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ตอบสนองต่อ phenylephrine เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้ IDM

### 2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลองโดยดูความแตกต่างของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) ที่ได้จากค่าเฉลี่ย (mean  $\pm$  S.E.M.) ในแต่ละความเข้มข้นของ KCl และ phenylephrine เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำโดยแต่ละการทดลองจะมีจำนวนหลอดเลือดของหนูแร้ตั้งแต่ 5 ตัวขึ้นไป การคำนวณหาค่า  $EC_{50}$  (effective concentration) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของยาที่ทำให้มีการตอบสนอง 50 % ของการตอบสนองสูงสุด (maximal response) ของหลอดเลือดหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว (Diem and Leutner, 1970) ส่วนการคำนวณค่าทางสถิติใช้ Unpaired Student's *t*-test, Paired Student's *t*-test หรือ one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปโดยจะยอมรับค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $P < 0.05$

### 3. ผลการทดลอง

น้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นก่อนการว่ายน้ำของหนูแร้ทเพศผู้ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ มีค่าใกล้เคียงกัน (กลุ่มควบคุม  $374.6 \pm 3.7$  กรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $377.6 \pm 3.6$  กรัม,  $n=12$ ) เมื่อสิ้นสุดการว่ายน้ำกลุ่มว่ายน้ำมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยลดลง ( $343.8 \pm 7.1$  กรัม,  $n=12$ ,  $P<0.05$ ) ขณะที่กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ( $428.6 \pm 7.3$  กรัม,  $n=12$ ,  $P<0.05$ ) (ดังตารางที่ 3.1)

#### 3.1 ผลของการว่ายน้ำต่อความแรงและอัตราการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม

การว่ายน้ำมีผลทำให้น้ำหนักของหัวใจส่วนเอเตรียมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุม  $7.5 \pm 0.5$  มิลลิกรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $11.6 \pm 1.0$  มิลลิกรัม,  $n=12$ ,  $P<0.05$ ) และมีผลทำให้น้ำหนักของหัวใจส่วนเวนทริเคิลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (กลุ่มควบคุม  $107.5 \pm 8.0$  มิลลิกรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $119.6 \pm 4.0$  มิลลิกรัม,  $n=12$ ,  $P<0.05$ ) (ดังตารางที่ 3.1)

การว่ายน้ำไม่มีผลเพิ่มความแรงในการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม (กลุ่มควบคุม  $0.47 \pm 0.03$  กรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $0.55 \pm 0.05$  กรัม,  $n=12$ ,  $P>0.05$ ) แต่มีผลทำให้อัตราการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ว่ายน้ำ (กลุ่มควบคุม  $273.3 \pm 5.5$  ครั้ง/นาที,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $232.5 \pm 5.1$  ครั้ง/นาที,  $n=12$ ,  $P<0.05$ )

#### 3.2 ผลของอัตราการไหลของสารละลาย Krebs และผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

เพื่อที่จะศึกษาเบื้องต้นว่าอัตราการไหลของสารละลาย Krebs ผ่านหลอดเลือด mesenteric arterial beds จะมีผลต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl หรือไม่ ทำการทดลองโดยการบีบสารละลาย Krebs ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาที และ 5 มล./นาที พบว่าอัตราการไหลของสารละลาย Krebs 2 และ 5 มล./นาทีไม่ทำให้ค่า basal perfusion pressure เฉลี่ยของหลอดเลือด mesenteric arterial beds มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ กล่าวคือเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีค่า basal perfusion pressure เฉลี่ยของกลุ่มควบคุมมีค่า  $10.0 \pm 1.3$

ตารางที่ 3.1 ผลของการว่ายน้ำต่อน้ำหนักตัว, น้ำหนักเอเทรียม, น้ำหนักเวนทริเคิล, น้ำหนักหลอดเลือดดำพอร์ทัลและน้ำหนักหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ (n คือ จำนวนสัตว์ทดลอง, ค่าที่แสดงคือ mean  $\pm$  S.E.M.)

	n	กลุ่มควบคุม	กลุ่มว่ายน้ำ
น้ำหนักตัววันเริ่มการว่ายน้ำ (กรัม)	12	374.6 $\pm$ 3.7	377.6 $\pm$ 3.6
น้ำหนักตัววันสุดท้ายของการว่ายน้ำ (กรัม)	12	428.6 $\pm$ 7.3	343.8 $\pm$ 7.1*
น้ำหนักเอเทรียม (มิลลิกรัม)	12	7.5 $\pm$ 0.5	11.6 $\pm$ 1.0*
น้ำหนักเอเทรียมต่อน้ำหนักตัว ( $\times 10^{-3}$ กรัม)	12	0.17 $\pm$ 0.01	0.35 $\pm$ 0.02*
น้ำหนักเวนทริเคิล (มิลลิกรัม)	12	107.5 $\pm$ 8.0	119.6 $\pm$ 4.0*
น้ำหนักเวนทริเคิลต่อน้ำหนักตัว ( $\times 10^{-3}$ กรัม)	12	2.3 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.1*
น้ำหนักหลอดเลือดดำพอร์ทัล (มิลลิกรัม)	12	1.3 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1
น้ำหนักหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อน้ำหนักตัว ( $\times 10^{-3}$ กรัม)	12	0.03 $\pm$ 0.002	0.03 $\pm$ 0.002
น้ำหนัก mesenteric arterial beds (กรัม)	12	7.6 $\pm$ 0.5	5.4 $\pm$ 0.5*
น้ำหนัก mesenteric arterial beds ต่อน้ำหนักตัว ( $\times 10^{-3}$ กรัม)	12	17.5 $\pm$ 1.3	16.0 $\pm$ 1.1

\* แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

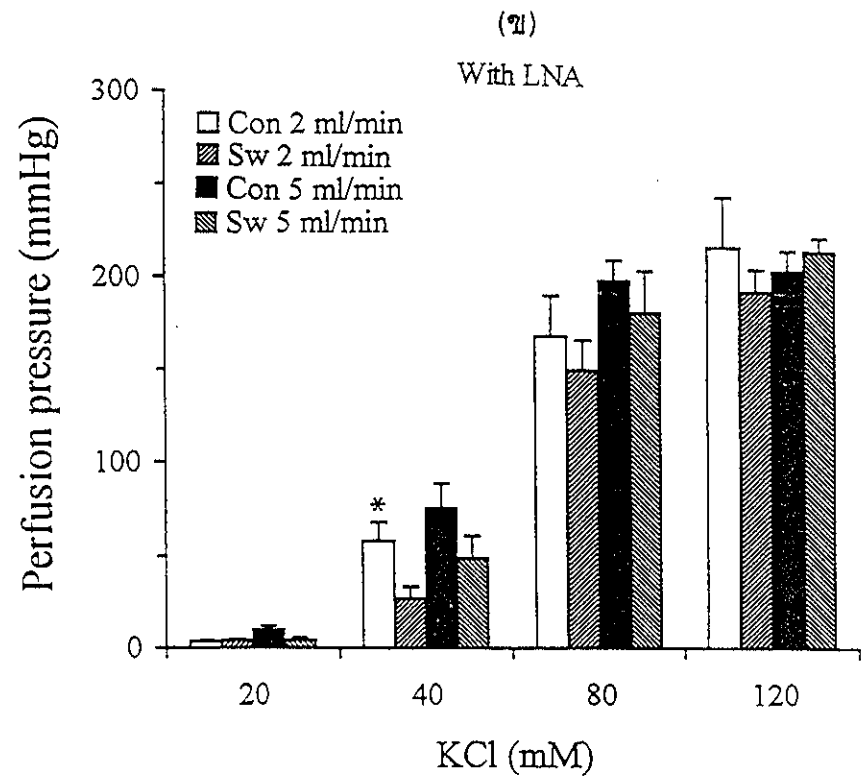
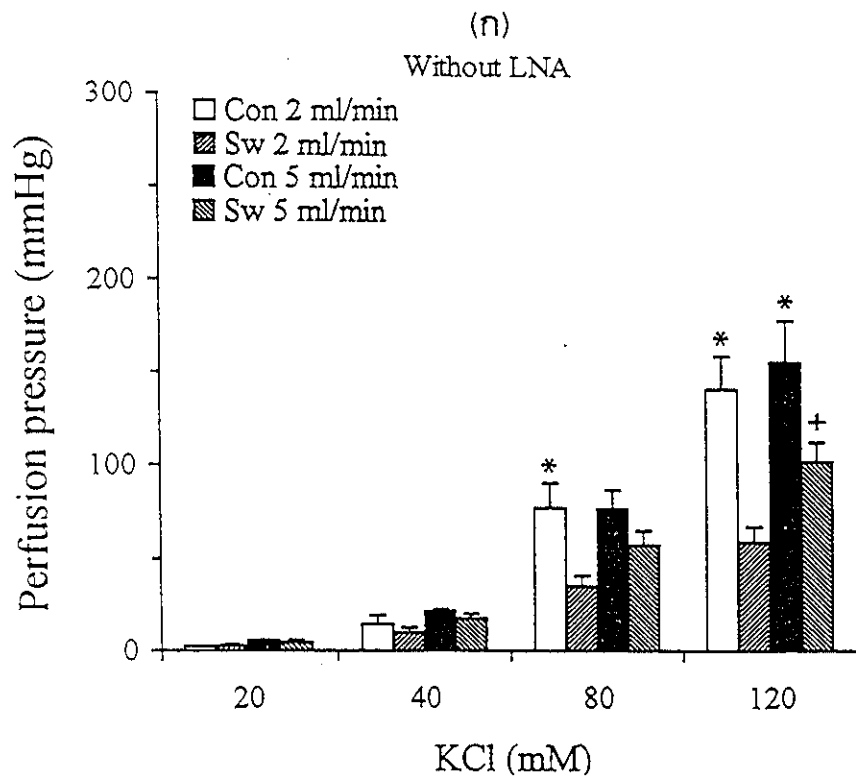
มม.ปรอท,  $n=18$  และกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $9.5 \pm 1.2$  มม.ปรอท,  $n=18$  ( $P>0.05$ ) และเมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาทีค่า basal perfusion pressure เฉลี่ยของกลุ่มควบคุมมีค่า  $19.0 \pm 2.1$  มม.ปรอท,  $n=6$  และกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $18.3 \pm 1.2$  มม.ปรอท,  $n=6$  ( $P>0.05$ ) เป็นทำนองเดียวกันกับที่เมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีแสดงว่าความต้านทานต่อการไหลในหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าไม่มีความแตกต่างกัน

รูปที่ 3.1 แสดงผลของอัตราการไหลต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl พบว่าการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ในกลุ่มว่ายนํ้าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไม่ว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs เป็น 2 หรือ 5 มล./นาทีและเมื่อเปรียบเทียบการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายนํ้าด้วยกันพบว่าเมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาทีมีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่ำกว่าเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาที (ดังตารางที่ 3.2) แต่อย่างไรก็ตามการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ภายหลังจากการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าทั้งเมื่อใช้อัตราการไหล 2 หรือ 5 มล./นาทีแสดงว่าอัตราการไหลของสารละลาย Krebs 2 และ 5 มล./นาทีไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของการหลั่ง nitric oxide ทั้งในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs ผ่านหลอดเลือด mesenteric arterial beds 2 มล./นาที

### 3.3 ผลของ CHAPS ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

เพื่อที่จะศึกษาเบื้องต้นหาขนาดของ CHAPS ในการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียลของหลอดเลือดโดยไม่ให้มีผลหรือมีผลไปทำลายชั้นเซลล์กล้ามเนื้อเรียบน้อยที่สุด จึงทำการทดลองในหนูกลุ่มควบคุมโดยการป้อน CHAPS ความเข้มข้น 3, 4 หรือ 5 มก./มล. ให้ไหลผ่านหลอดเลือด mesenteric arterial beds ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีเป็นเวลา 2 นาทีเพื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียลของหลอดเลือดดังกล่าวก่อนศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

รูปที่ 3.2 แสดงการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ภายหลังจากการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียลของหลอดเลือดโดยใช้ CHAPS ความเข้มข้นดังกล่าว พบว่า CHAPS ที่ความเข้มข้น 3 มก./มล. มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากกว่าความเข้มข้น 4 มก./มล. ที่มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดเล็กน้อยในขณะที่ความเข้มข้น 5 มก./มล. มีผลลดการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl แสดงว่า CHAPS ความเข้มข้น 4 และ 5 มก./มล. อาจทำลายชั้นเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดด้วย ดังนั้น



รูปที่ 3.1 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายเครบส์และผลของ  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M., n=6

\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้อัตราการไหลและความเข้มข้นของ KCl ที่เท่ากัน

+ สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีในความเข้มข้นของ KCl ที่เท่ากัน



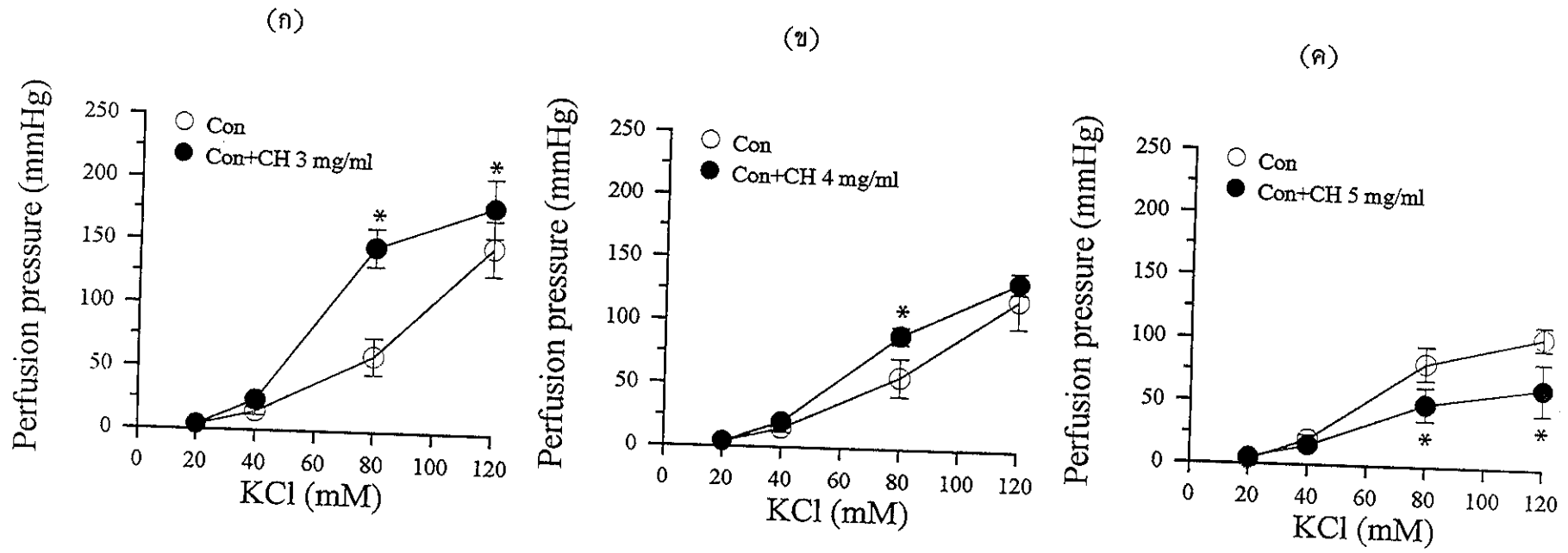
ตารางที่ 3.2 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาที และ 5 มล./นาที

Treatment		EC <sub>50</sub> (95%/C.I.) (mM)			Maximum response (± S.E.M.) increase in perfusion pressure (mmHg)	
flow rate 2 ml/min	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
KCl	6	68.1 (59.5-78.0)	6	63.9 (54.5-75.0)	140.0 ± 18.3	58.8 ± 8.4 <sup>a</sup>
KCl+LNA	6	55.3 (46.1-66.4)	6	60.9 (55.2-71.1)	216.0 ± 26.9	192.5 ± 12.1 <sup>b</sup>
KCl+IDM	5	63.7 (56.7-71.7)	5	67.6 (62.5-73.2)	114.0 ± 4.8	86.5 ± 6.8 <sup>a</sup>
KCl+CHAPS	7	60.0 (59.2-70.4)	6	63.8 (59.4-68.4)	180.6 ± 25.8	126.7 ± 6.1
KCl+CHAPS+LNA	6	53.6 (47.0-61.2)	6	59.2 (50.2-69.8)	216.7 ± 13.6	195.0 ± 15.3
flow rate 5 ml/min						
KCl	6	68.5 (59.2-79.3)	6	65.3 (57.8-73.7)	155.0 ± 22.4	101.7 ± 10.5 <sup>a,c</sup>
KCl+LNA	6	45.7 (37.4-55.2)	6	57.6 (50.6-65.4)	203.3 ± 11.1	214.2 ± 7.3 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุม.

<sup>b</sup> สูงกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อไม่มีการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA.

<sup>c</sup> สูงกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาที.



รูปที่ 3.2 แสดงผลของ CHAPS ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม  
 (ก) CHAPS 3 มก./มล., (ข) CHAPS 4 มก./มล., (ค) CHAPS 5 มก./มล. แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M., n=5  
 \* แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ , Paired Student *t*-test)

ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. ในการทำลายเซลล์เอ็นโดทีเลียมของหลอดเลือด mesenteric arterial beds

### 3.4 ผลของการว่ายน้ำ, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

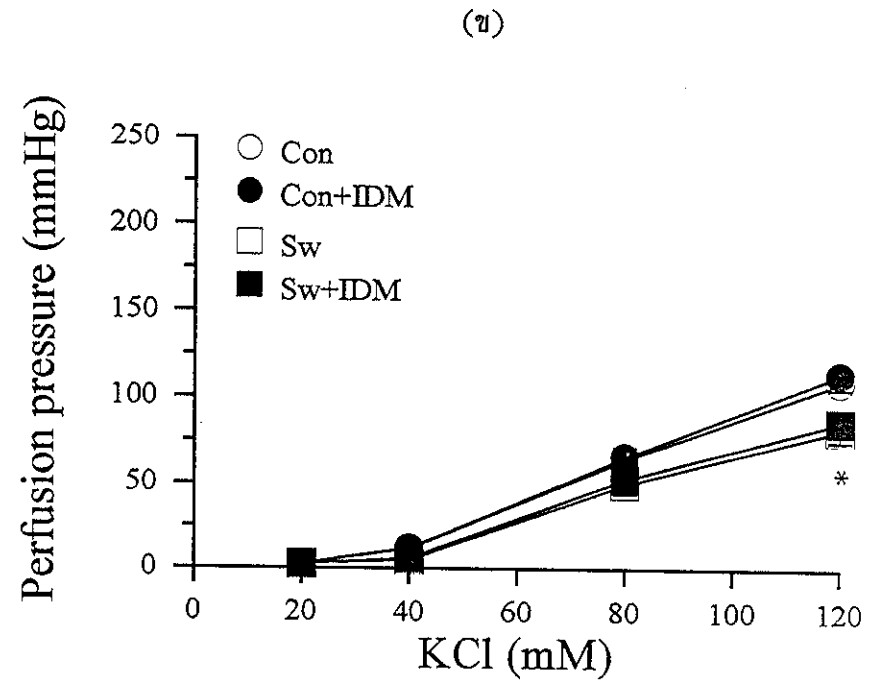
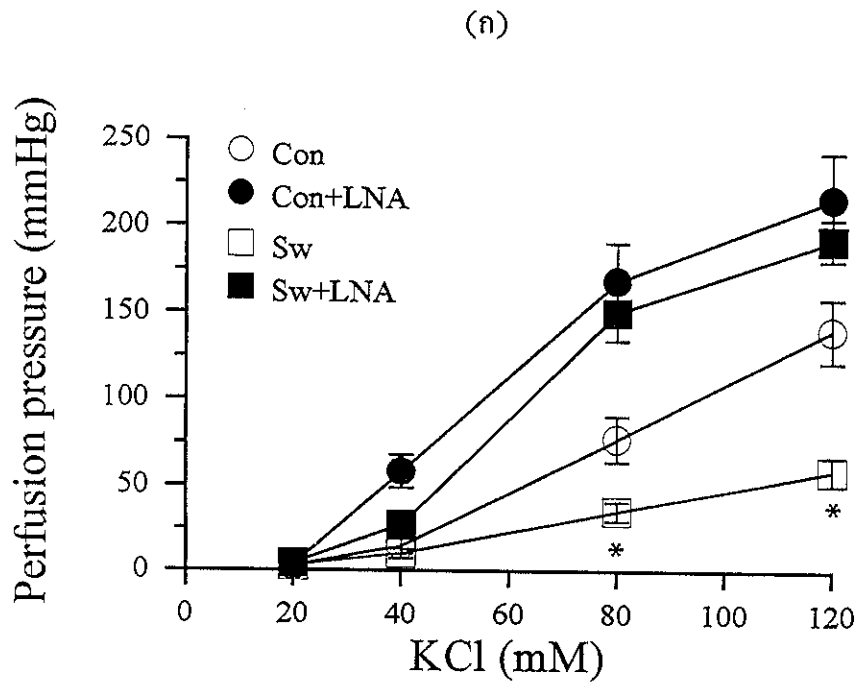
น้ำหนักเฉลี่ยของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มว่ายน้ำมีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุมมีค่า  $7.6 \pm 0.5$  กรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำมีค่า  $5.4 \pm 0.5$  กรัม,  $n =12$ ,  $P<0.05$ ) แต่เมื่อคีดน้ำหนักหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อน้ำหนักตัวพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ (ดังตารางที่ 3.1)

รูปที่ 3.3 แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำและตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.4 KCl มีผลทำให้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำมีการหดตัวและความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ KCl โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (กลุ่มควบคุมมีค่า  $2.5 \pm 0.1$  มม.ปรอทและกลุ่มว่ายน้ำมีค่า  $2.9 \pm 0.5$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P>0.05$ ) แต่มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ในกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุมมีค่า  $140.0 \pm 18.3$  มม.ปรอทและกลุ่มว่ายน้ำมีค่า  $58.8 \pm 8.4$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P<0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามไม่มีผลทำให้ค่า  $EC_{50}$  เปลี่ยนแปลง (ดังตารางที่ 3.2)

การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M มีผลเพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ ในขณะที่การยับยั้งการสร้าง prostaglandins โดย IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ

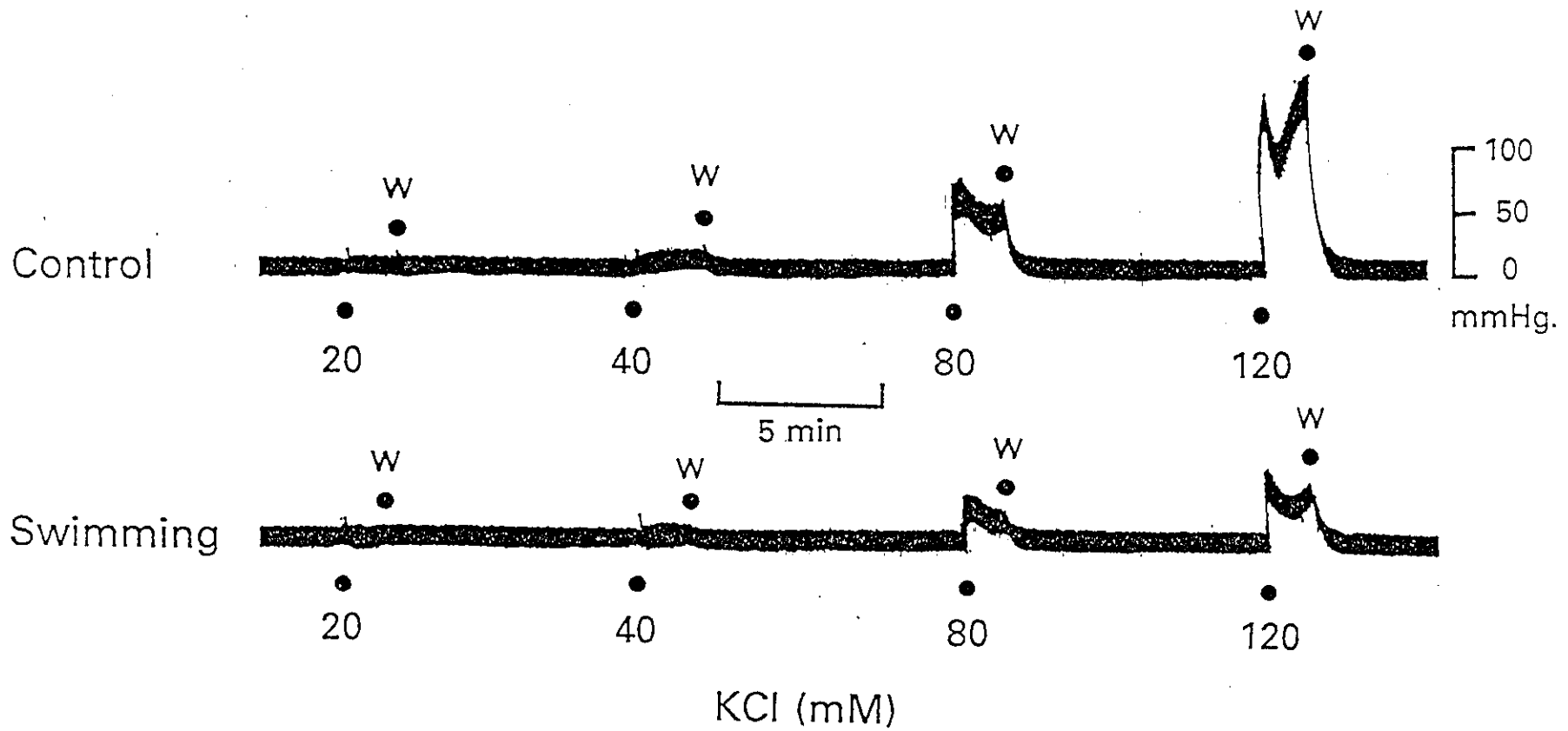
### 3.5 ผลของการว่ายน้ำ, CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

รูปที่ 3.5 แสดงผลการทำลายเซลล์เอ็นโดทีเลียมของหลอดเลือดโดยการบีบ CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีเป็นเวลา 2 นาทีที่มีผลเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (กลุ่มควบคุมมีค่า  $2.9 \pm 0.5$  มม.ปรอทและกลุ่มว่ายน้ำมีค่า  $2.9 \pm 0.5$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P>0.05$ ) แต่มีผลเพิ่มความแรงใน



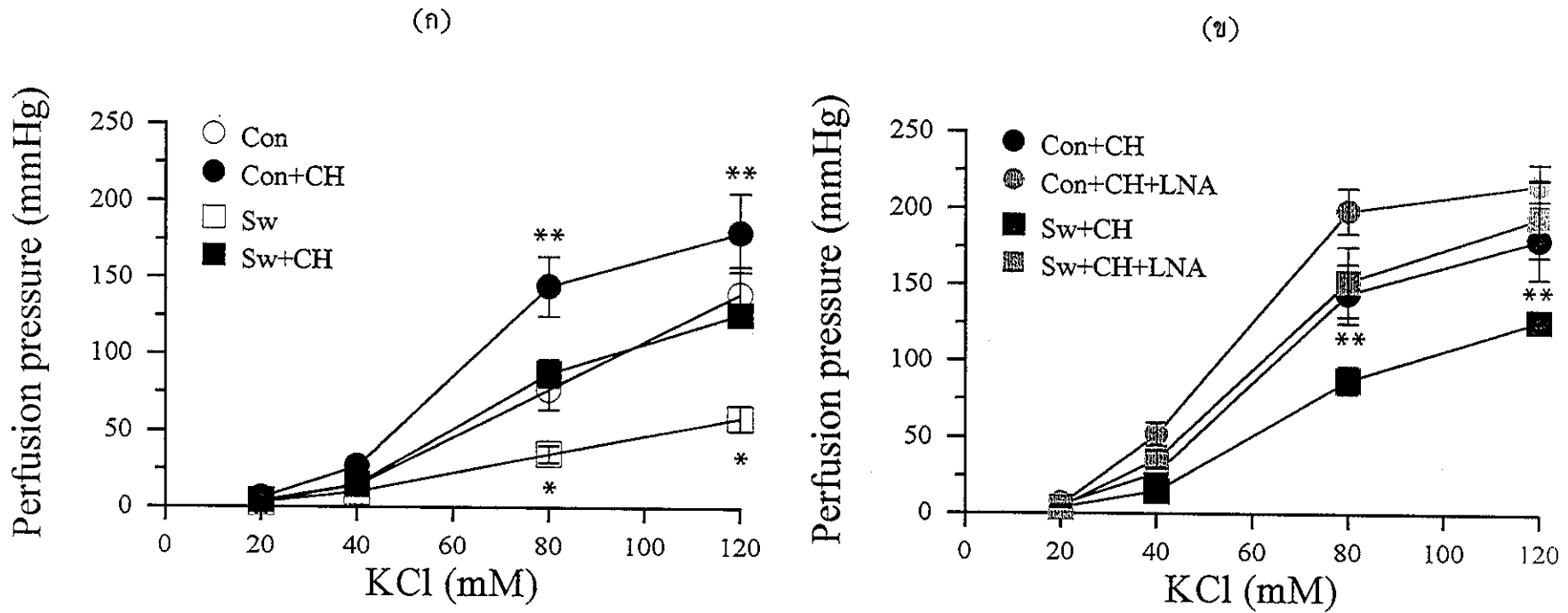
รูปที่ 3.3 แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และผลของ (ก)  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M),  $n=6$  และ (ข) indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M),  $n=5$  ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.4 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl (อัตราการไหล 2 มล./นาที) ของหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ป้อนสารละลาย Krebs ที่มี KCl , W คือ ป้อนสารละลาย Krebs



รูปที่ 3.5 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS (CH, 3 มก./มล.), n=6 แสดงในรูป (ก) และเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA, n=6 แสดงในรูป (ข) ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

\*\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS ( $P < 0.05$ )

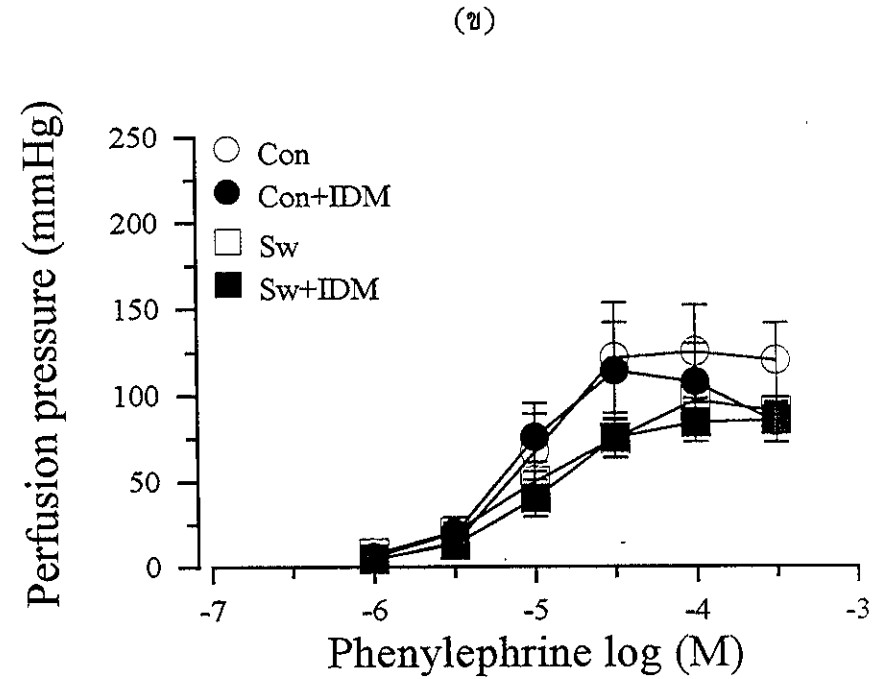
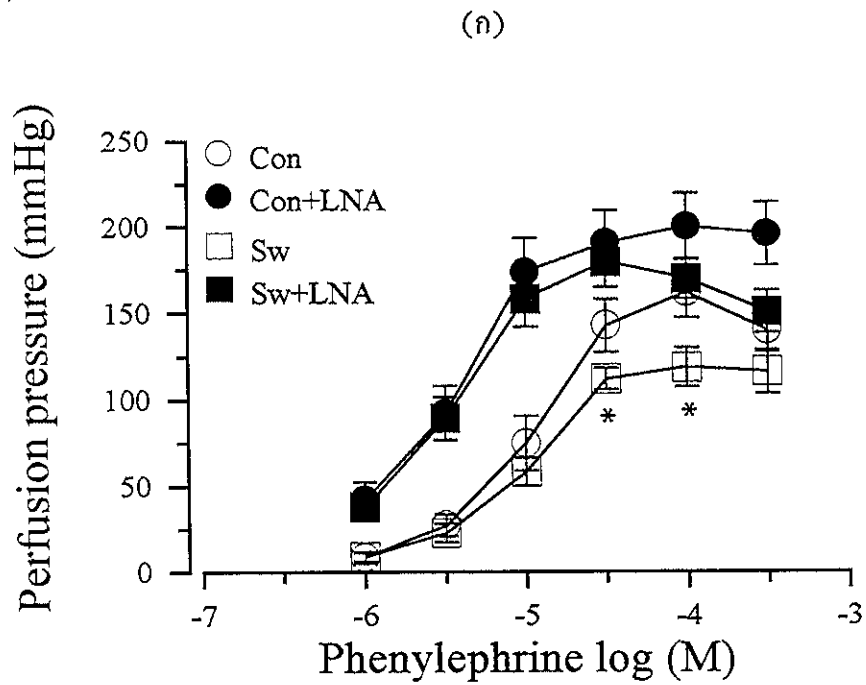
การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ของทั้ง 2 กลุ่มในสัดส่วนที่เท่ากันโดยที่การตอบสนองสูงสุดของกลุ่มว่ายนํ้ายังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุมมีค่า  $180.6 \pm 25.8$ ,  $n=7$  มม.ปรอทและกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $126.7 \pm 6.1$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P<0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามไม่มีผลทำให้ค่า  $EC_{50}$  เปลี่ยนแปลง (ดังตารางที่ 3.2)

การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M ของหลอดเลือดที่เซลล์เอนโดทีเลียลถูกทำลายด้วย CHAPS มีผลเพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า

### 3.6 ผลของการว่ายนํ้า, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

รูปที่ 3.6 แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าและตัวอย่างของผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.7 phenylephrine มีผลทำให้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้ามีการหดตัวและความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ phenylephrine โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (กลุ่มควบคุมมีค่า  $4.6 \pm 0.8$  มม.ปรอทและกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $8.0 \pm 2.2$  มม.ปรอท,  $n=5$ ,  $P>0.05$ ) แต่มีผลเพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ในกลุ่มว่ายนํ้าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุมมีค่า  $125.0 \pm 7.1$  มม.ปรอท,  $n=6$  และกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $97.0 \pm 6.3$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P<0.05$ ) และค่า  $EC_{50}$  ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 3.3)

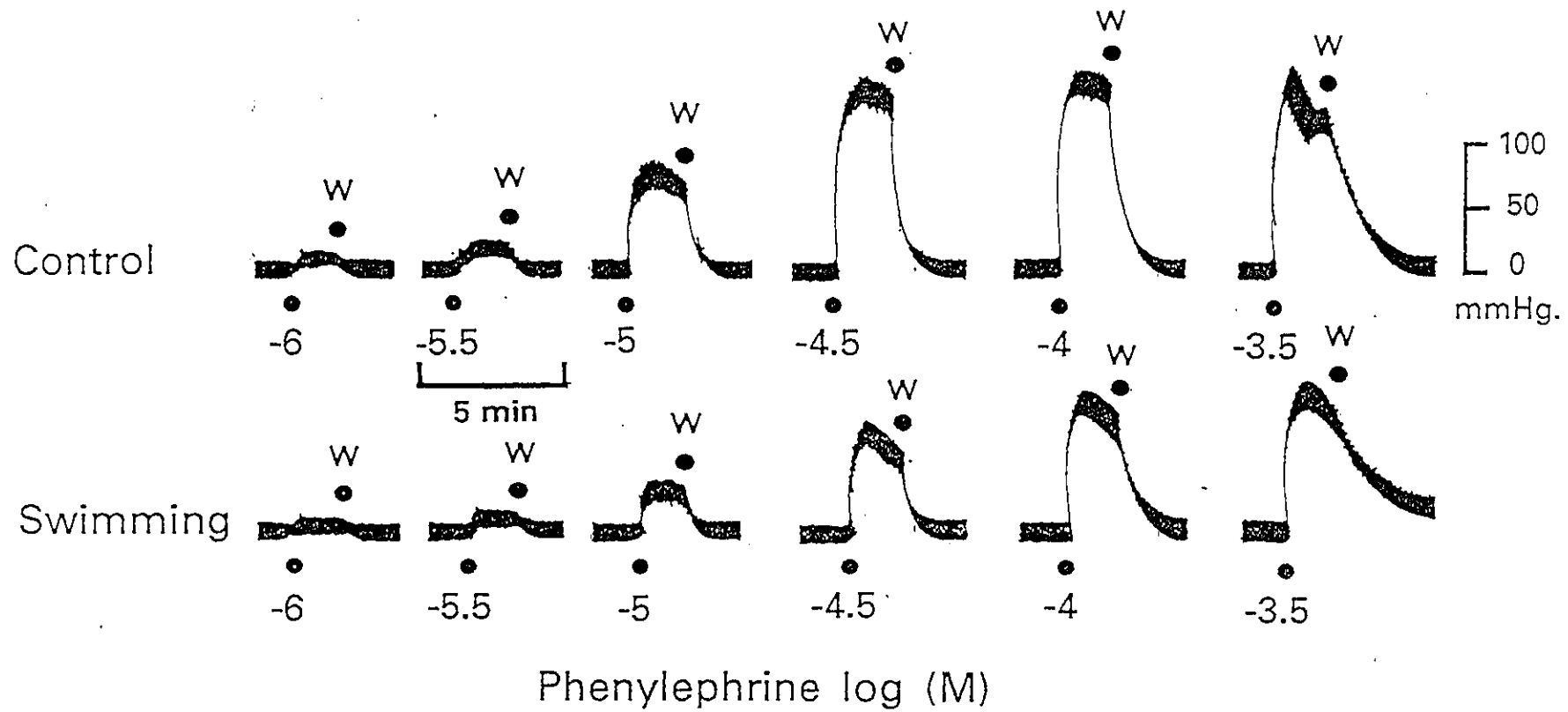
การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M มีผลเพิ่มทั้งความไวในการตอบสนองและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine และทำให้ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าในขณะที่การยับยั้งการสร้าง prostaglandins โดย IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า



รูปที่ 3.6 แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และผลต่อ (ก)  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M),  $n=6$  และ (ข) indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M),  $n=5$  ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )





รูปที่ 3.7 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine (อัตราการไหล 2 มล./นาที) ของหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ป้อนสารละลายแครบส์ที่มี phenylephrine , W คือ ป้อนสารละลายแครบส์

ตารางที่ 3.3 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phenylephrine (Phe) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 2 มล./นาที

Treatment	EC <sub>50</sub> (95%/C.I.) ( $\mu$ M)				Maximum response ( $\pm$ S.E.M.) increase in perfusion pressure (mmHg)	
	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
Phe	6	9.0 (7.0-12.0)*	6	9.0 (7.0-10.0)*	125.0 $\pm$ 7.1	97.0 $\pm$ 6.3 <sup>b</sup>
Phe+LNA	6	3.0 (2.0-4.0)	6	3.0 (2.0-4.0)	200.4 $\pm$ 19.6	179.6 $\pm$ 14.7 <sup>c</sup>
Phe+IDM	5	9.7 (6.8-13.9)*	5	7.3 (4.1-12.9)*	114.0 $\pm$ 28.0	84.2 $\pm$ 11.3
Phe+CHAPS	6	2.0 (2.0-3.0) <sup>a</sup>	6	6.0 (4.0-10.0)	123.3 $\pm$ 12.1	101.7 $\pm$ 11.5
Phe+CHAPS+LNA	6	2.0 (2.0-4.0)	6	2.0 (2.0-3.0)	203.3 $\pm$ 14.3	179.2 $\pm$ 22.9

\* สูงกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองต่อ Phe+LNA, Phe+CHAPS และ Phe+CHAPS+LNA.

<sup>a</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองต่อ Phe+CHAPS ในกลุ่มว่ายน้ำ.

<sup>b</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุม.

<sup>c</sup> สูงกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อไม่มีการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA.

### 3.7 ผลของการว่ายน้ำ, CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

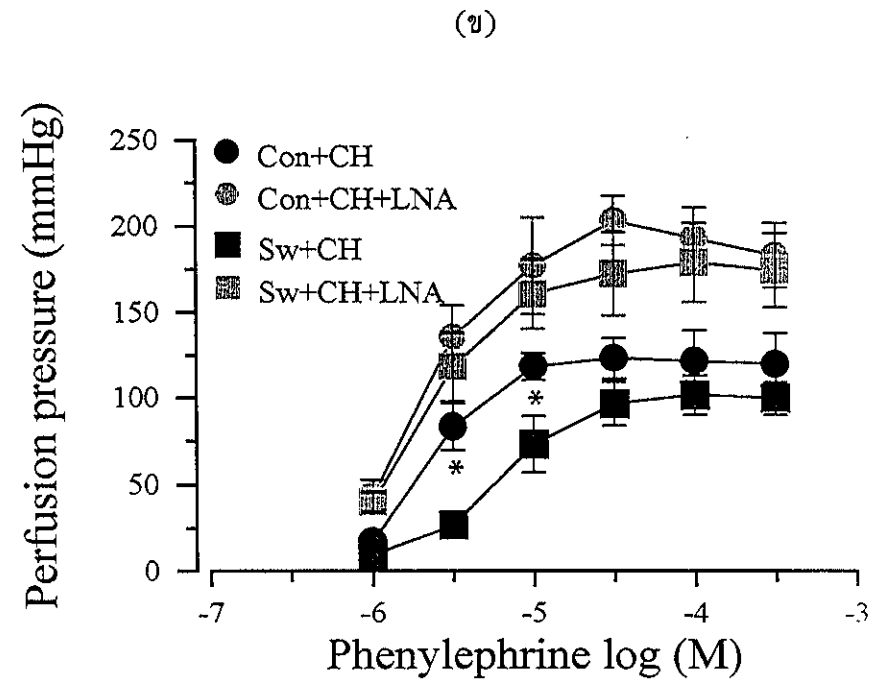
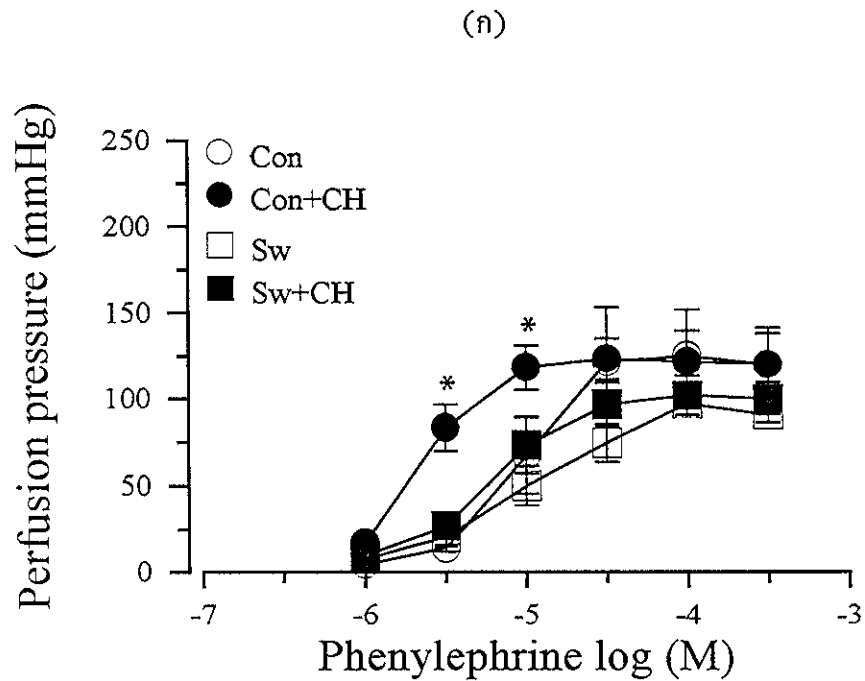
รูปที่ 3.8 แสดงผลของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่ถูกทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS โดยการบีบ CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีเป็นเวลา 2 นาทีที่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ในกลุ่มว่ายน้ำ แต่ในกลุ่มควบคุมการทำลายเนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS มีผลเพิ่มความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine โดยทำให้ลดค่า  $EC_{50}$  ประมาณ 4.5 เท่า (ก่อนทำลายเนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเลียมมีค่า  $9.0 \mu\text{M}$  ( $7.0-12.0 \mu\text{M}$ ) และหลังทำลายเนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเลียมมีค่า  $2.0 \mu\text{M}$  ( $2.0-3.0 \mu\text{M}$ )) ดังแสดงในตารางที่ 3.3 โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของทั้ง 2 กลุ่ม

การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4} \text{ M}$  ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายด้วย CHAPS มีผลเพิ่มทั้งความไวในการตอบสนองและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine และทำให้ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ

### 3.8 ผลของการว่ายน้ำ, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl

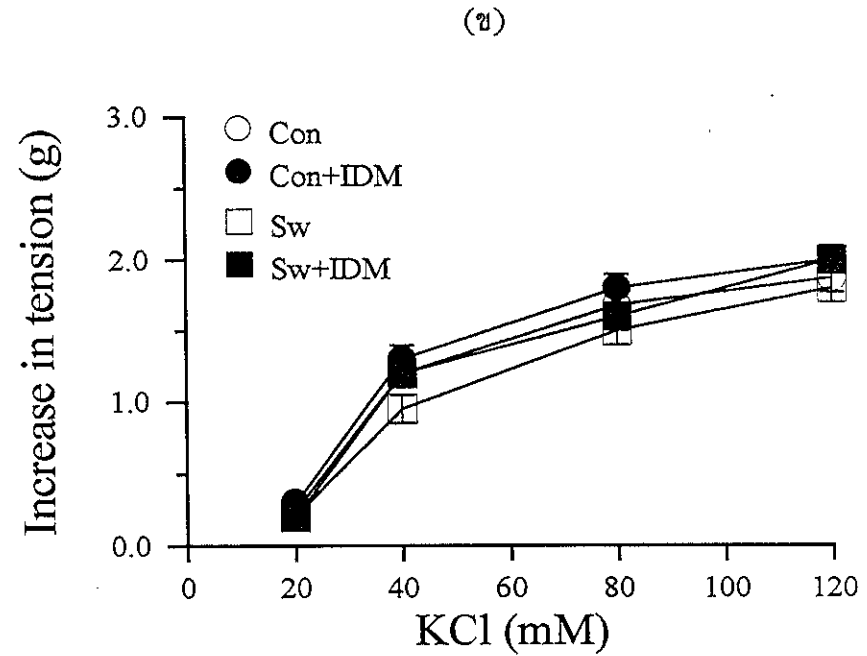
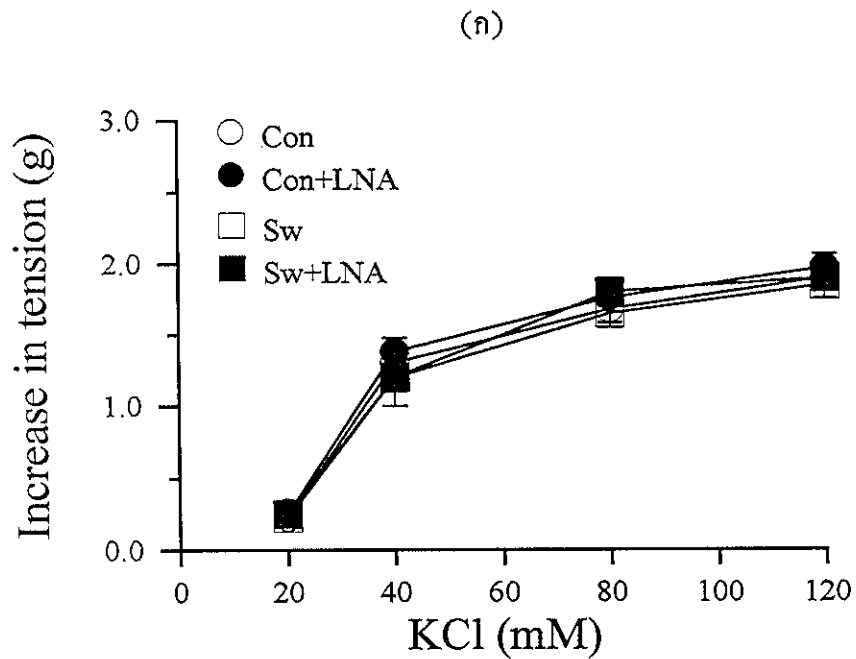
น้ำหนักของหลอดเลือดดำพอร์ทัลไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ (กลุ่มควบคุม  $1.3 \pm 0.1$  มิลลิกรัม,  $n=12$  และกลุ่มว่ายน้ำ  $1.0 \pm 0.1$  มิลลิกรัม,  $n=12$ ,  $P>0.05$ ) (ดังตารางที่ 3.1)

รูปที่ 3.9 แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลของกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำและตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.10 KCl มีผลทำให้หลอดเลือดดำพอร์ทัลของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำมีการหดตัวและความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ KCl โดยที่ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ความเข้มข้นต่างๆของ KCl ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำทั้งในแง่ของความไว (sensitivity) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด โดยดูจากการตอบสนองของหลอดเลือดที่ความเข้มข้นต่ำสุดของ KCl (กลุ่มควบคุมมีค่า  $0.25 \pm 0.02$  กรัมและกลุ่มว่ายน้ำ มีค่า  $0.22 \pm 0.02$  กรัม,  $n=6$ ,  $P>0.05$ ) และในแง่ของความแรงในการตอบสนองสูงสุด (reactivity) โดยดูจากค่าการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl (กลุ่มควบคุมมีค่า  $1.9 \pm 0.1$  กรัมและกลุ่มว่ายน้ำมีค่า  $1.9 \pm 0.1$

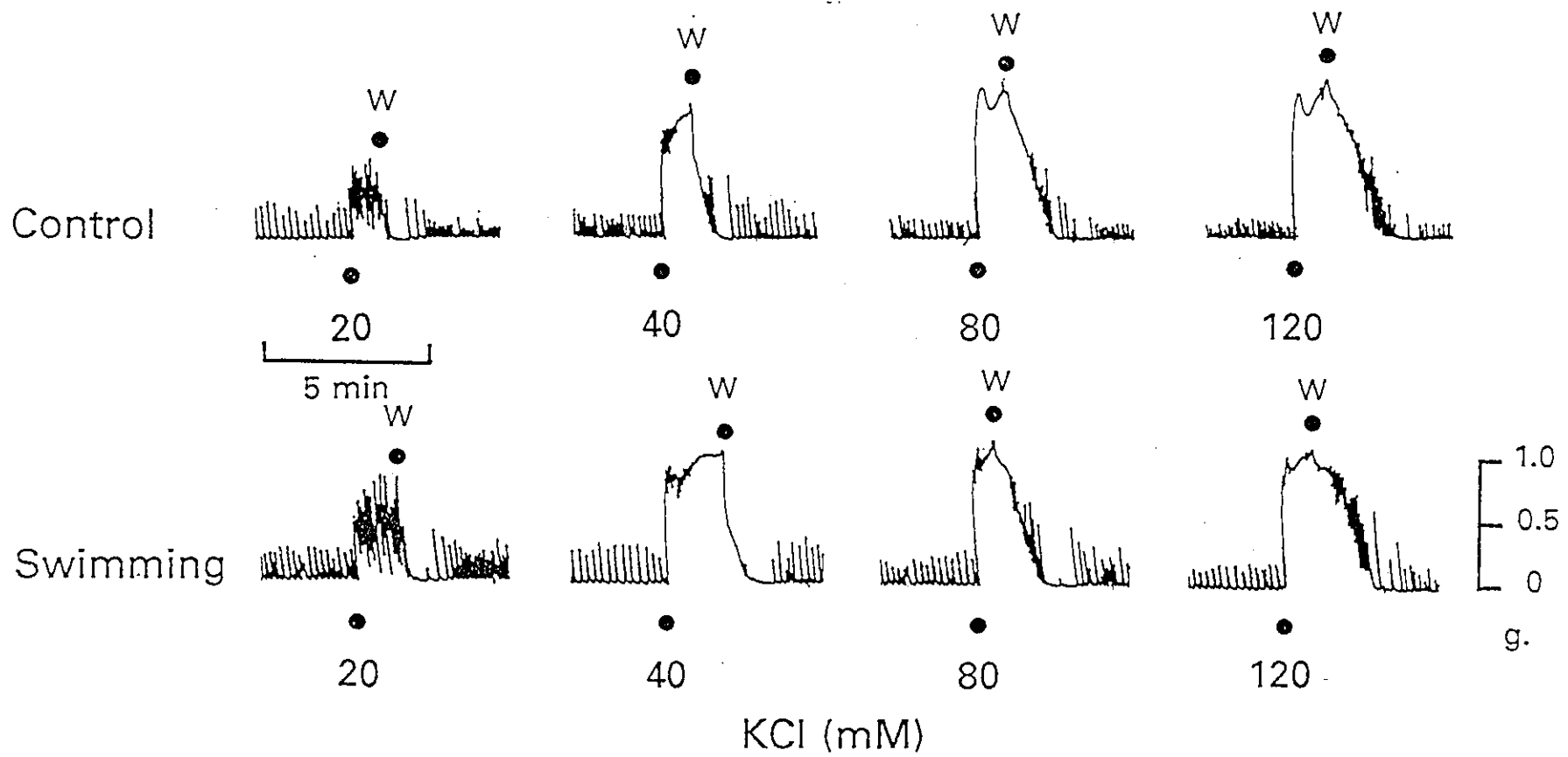


รูปที่ 3.8 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine เมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS (CH, 3 มก./มล.), n=6-7 แสดงในรูป (ก) และเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS และยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA, 3 × 10<sup>-4</sup> M), n=6 แสดงในรูป (ข) ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean ± S.E.M..

\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำเมื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS (P<0.05)



รูปที่ 3.9 แสดงผลของ KCl ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลและผลของ (ก)  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M),  $n=6$  และ (ข) indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M),  $n=6$  ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.



รูปที่ 3.10 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl ของหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ใส่สารละลาย Krebs ที่มี KCl , W คือ ใส่ด้วยสารละลาย Krebs

กรัม,  $n=6$ ,  $P>0.05$ ) และค่า  $EC_{50}$  ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า (ดังตารางที่ 3.4)

การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA, ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M และการยับยั้งการสร้าง prostaglandins โดย IDM, ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า

### 3.9 ผลของการว่ายนํ้า, LNA และ IDM ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine

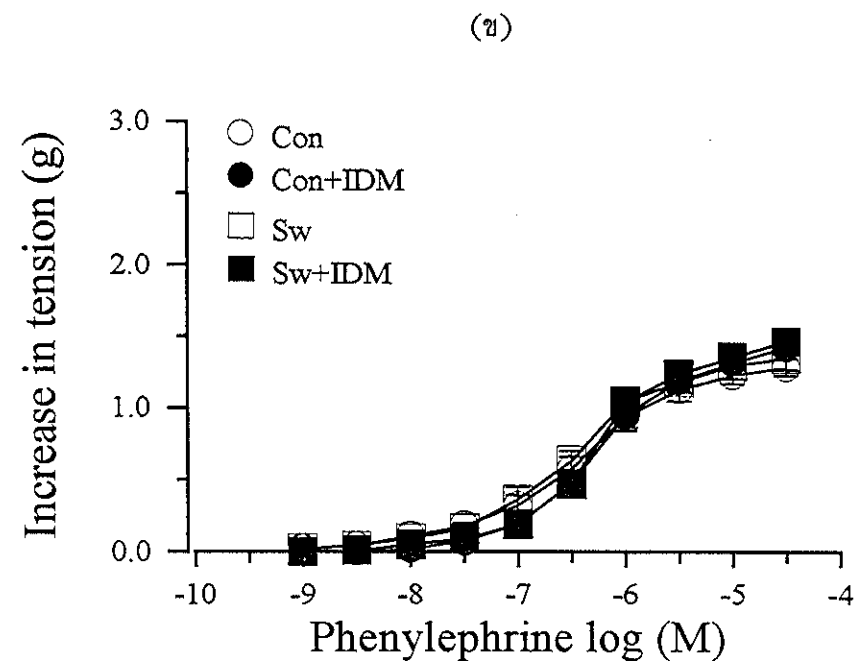
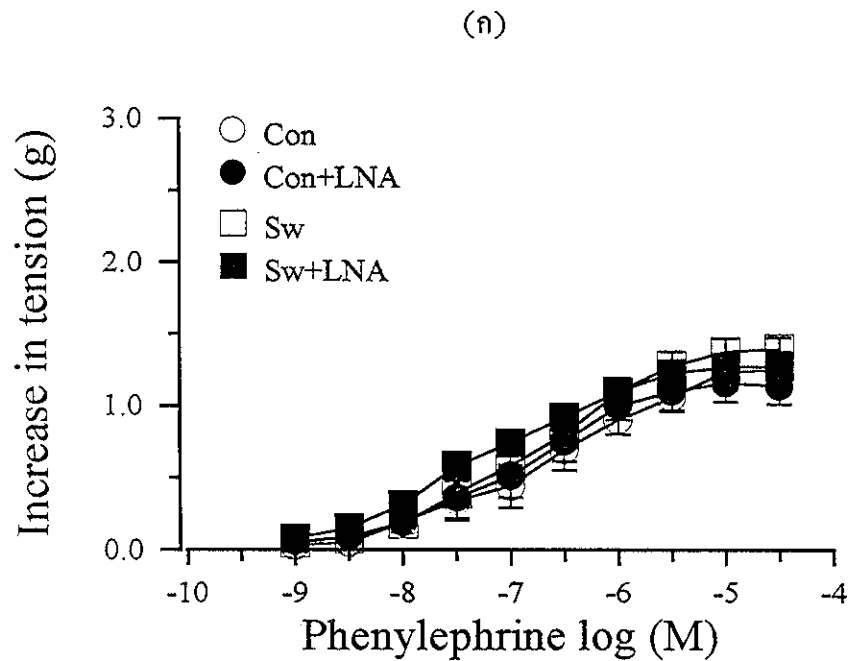
รูปที่ 3.11 แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลของกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าและตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.12 phenylephrine มีผลทำให้หลอดเลือดดำพอร์ทัลของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้ามีการหดตัวและความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ phenylephrine โดยที่ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัลที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ phenylephrine ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าทั้งในแง่ของความไวต่อการตอบสนองของหลอดเลือด (กลุ่มควบคุมมีค่า  $0.02 \pm 0.02$  กรัมและกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $0.02 \pm 0.02$  กรัม,  $n=5$ ,  $P>0.05$ ) และในแง่ของความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine (กลุ่มควบคุม มีค่า  $1.3 \pm 0.1$  กรัมและกลุ่มว่ายนํ้ามีค่า  $1.4 \pm 0.1$  กรัม,  $n=5$ ,  $P>0.05$ ) และค่า  $EC_{50}$  ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า (ดังตารางที่ 3.4)

การยับยั้งการสร้าง nitric oxide โดย LNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-4}$  M และการยับยั้งการสร้าง prostaglandins โดย IDM ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M ก็ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้าเช่นกัน

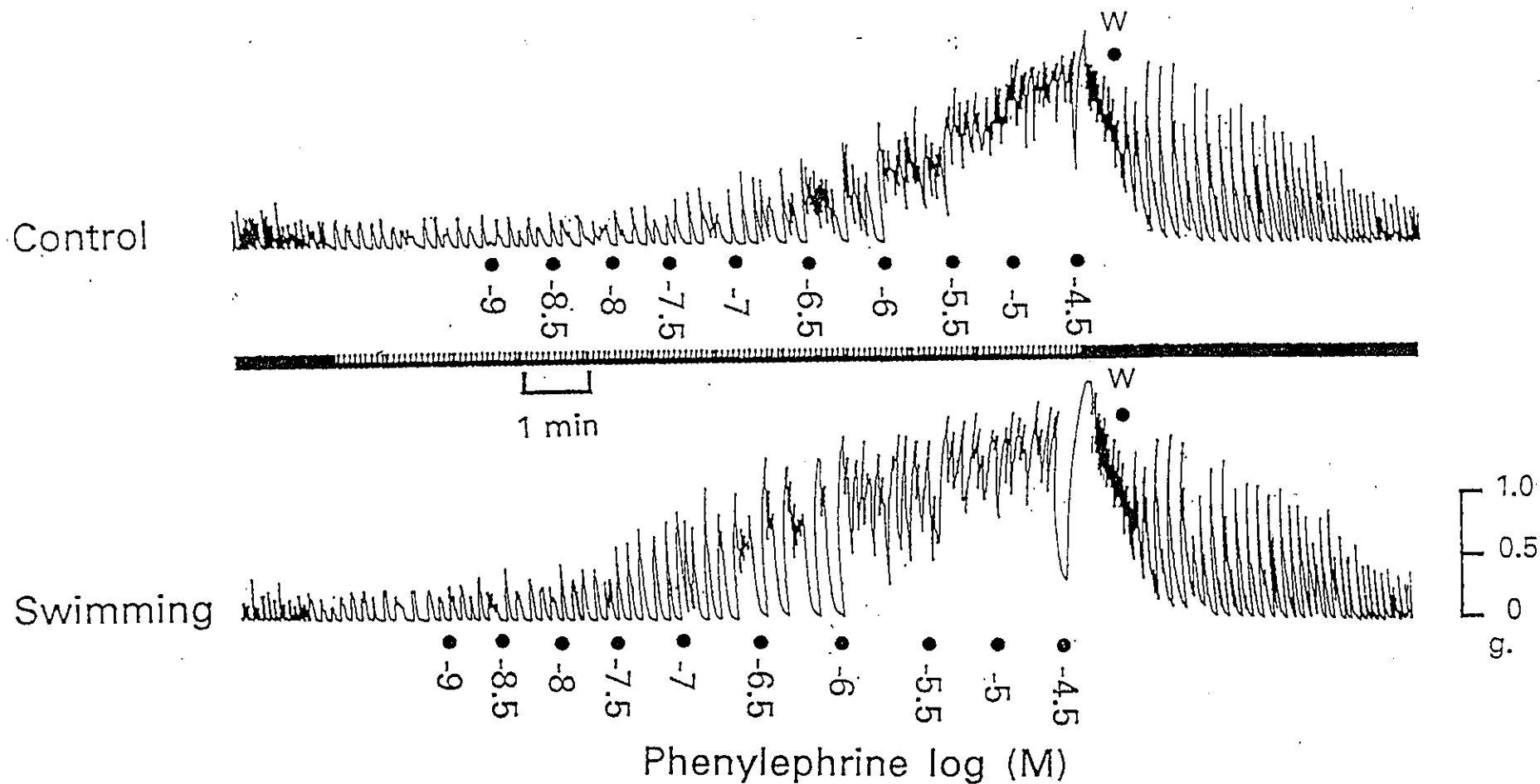
ตารางที่ 3.4 ค่า  $EC_{50}$  และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ Phenylephrine (Phe) ในหนู  
กลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming)

Treatment	$EC_{50}$ (95%/C.I.) (mM)				Maximum response ( $\pm$ S.E.M.) increase in tension (g)	
	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
KCl	6	21.5 (11.8-39.1)	6	25.7 (13.9-47.5)	$1.9 \pm 0.1$	$1.9 \pm 0.1$
KCl+LNA	6	18.8 (9.3-38.1)	6	26.4 (19.1-36.6)	$1.9 \pm 0.1$	$1.9 \pm 0.1$
KCl+IDM	6	17.8 (7.3-43.6)	6	29.7 (19.8-44.7)	$2.0 \pm 0.1$	$2.0 \pm 0.1$
Phe	6	0.15 (0.09-0.37)	6	0.17 (0.11-0.27)	$1.3 \pm 0.1$	$1.4 \pm 0.1$
Phe+LNA	6	0.12 (0.06-0.35)	6	0.15 (0.13-0.19)	$1.2 \pm 0.1$	$1.3 \pm 0.1$
Phe+IDM	5	0.13 (0.05-0.33)	5	0.18 (0.16-0.24)	$1.4 \pm 0.1$	$1.5 \pm 0.1$





รูปที่ 3.11 แสดงผลของ phenylephrine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลและผลของ (ก)  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M),  $n=6$  และ (ข) indomethacin (IDM,  $10^{-5}$  M),  $n=5$  ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.



รูปที่ 3.12 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ phenylephrine ของหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ หยุด phenylephrine , W คือ ล้างด้วยสารละลาย Krebs

#### 4. วิจารณ์

การฝึกออกกำลังกาย (exercise training) โดยการว่ายน้ำในหนูแรทเพศผู้มีผลทำให้เพิ่มน้ำหนักของเอเทรียมและเวนทริเคิลและทำให้น้ำหนักของเอเทรียมและเวนทริเคิลต่อน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นการแสดงให้เห็นว่าการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำมีผลเพิ่มการทำงานของหัวใจแต่จากการทดลองพบว่าการว่ายน้ำไม่มีผลเพิ่มความแรงในการบีบตัวของหัวใจแต่มีผลลดอัตราการบีบตัวของหัวใจเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ว่ายน้ำเช่นเดียวกับรายงานการศึกษาที่พบว่าการฝึกออกกำลังกายมีผลลดอัตราการบีบตัวของหัวใจขณะพักทั้งในสัตว์ทดลองและในคน (Tipton, 1965; Lin and Horvath, 1972; Noma, et al., 1987; Seal and Reiling, 1991)

การทดลองครั้งนี้พบว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine ลดลงดังแสดงในรูปที่ 3.3 และ 3.6 นั้นแตกต่างกับผลการทดลองของ Jansakul (1995) ที่ศึกษาในหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแรทเพศผู้ที่ทำว่ายน้ำโดยวิธีการเดียวกันพบว่าการออกกำลังกายมีผลลดการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดที่ยังมีเนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเลียมต่อ phenylephrine แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl (โดยที่หลอดเลือด mesenteric arterial beds เป็นหลอดเลือดความต้านทานขณะที่หลอดเลือด thoracic aorta เป็นหลอดเลือดลำเลียง) จากผลการทดลองดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าการฝึกออกกำลังกายอาจมีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองสูงสุดแตกต่างกันตามชนิดของหลอดเลือดที่ใช้ศึกษา จากการศึกษาของ McAllister และคณะ (1996) ถึงผลของการออกกำลังกายในสุกรที่ให้ออกกำลังกายบน treadmill เป็นเวลานาน 16-20 สัปดาห์ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด femoral artery, brachial artery, mesenteric artery และ hepatic artery พบว่าการออกกำลังกายไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเหล่านี้ต่อ KCl และนอร์เอพิเนฟรินเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่หลอดเลือด renal artery ของกลุ่มออกกำลังกายมีการตอบสนองต่อนอร์เอพิเนฟรินน้อยกว่าของกลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าชนิดของสัตว์ทดลองและวิธีการออกกำลังกายที่แตกต่างกันอาจทำให้ผลการทดลองแตกต่างกัน

ในขณะที่ออกกำลังกายทั้งในหนูแรทและในคน (Meredith, et al., 1991; Seal and Reiling, 1991; Yancey and Overton, 1993) มีผลเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก (Coker, et al., 1997) ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds และลดการไหลของเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะในช่องท้องพร้อมกับเพิ่มการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อลายที่ใช้ในการออกกำลังกาย (Armstrong and Laughlin, 1984; Martin III, et al., 1990)

แม้ว่า Martin III และคณะ (1990) รายงานว่าการฝีกออกกำลังโดยการเดินเร็ว ๆ หรือวิ่งเหยาะ ๆ ในผู้สูงอายุทั้งเพศชายและหญิงไม่มีความแตกต่างในการไหลของเลือดบริเวณขาในขณะพักระหว่างผู้ที่ผ่านการฝีกออกกำลังกายกับผู้ที่ไม่เคยฝีกออกกำลังกายมาก่อน อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงการไหลของเลือดใน mesenteric arterial beds ขณะพักภายหลังการฝีกออกกำลังกาย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าหลังจากหยุดออกกำลังกาย การกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกหยุดลงทำให้เพิ่มการไหลของเลือดใน mesenteric arterial beds โดยทันทีซึ่งอาจจะมีผลชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด mesenteric arterial beds (Pourageaud and De May, 1997) และ/หรือกระตุ้นการหลั่งสารที่มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในสัตว์ทดลองที่ออกกำลังกายดังกล่าว

สำหรับการศึกษาคั้งนี้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำถูกหล่อเลี้ยงโดยการบีบสารละลาย Krebs ด้วยอัตราการไหล 2 มล./นาทีเช่นเดียวกับการศึกษาของ Le Marquer-Domagala และ Finet (1997) ที่ใช้กับหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้เพศผู้สายพันธุ์ Wistar, Wistar-Kyoto และ Spontaneously Hypertensive Rats ที่มีน้ำหนัก 250-400 กรัมซึ่งเป็นช่วงน้ำหนักตัวของหนูแร้ที่ใช้ในการศึกษาคั้งนี้ ดังนั้นหากมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในหนูกลุ่มว่ายน้ำ การใช้อัตราการไหล 2 มล./นาทีอาจจะไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความดันเพอร์ฟิวชั่นของหลอดเลือด (basal perfusion pressure) ได้มากพอและทำให้การตอบสนองต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวน้อยลงกว่าที่ควร เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ดังกล่าวจึงทำการทดลองถึงผลของการใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาทีหรือเพิ่มอัตราการไหลขึ้น 2.5 เท่าเช่นเดียวกับขนาดที่ใช้ในการศึกษาของ Parsons และคณะ (1994), Adeagbo และคณะ (1994) พบว่าอัตราการไหล 5 มล./นาทีมีผลเพิ่ม basal perfusion pressure ของหลอดเลือดของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากัน ดังนั้นอัตราการไหล 2 หรือ 5 มล./นาทีไม่ทำให้ค่า basal perfusion pressure เฉลี่ยของหลอดเลือด mesenteric arterial beds มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำและพบว่าค่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมไม่ว่าใช้อัตราการไหล 2 หรือ 5 มล./นาทีและเมื่อเปรียบเทียบการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายน้ำด้วยกันพบว่าอัตราการไหล 2 มล./นาทีมีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่ำกว่าการใช้อัตราการไหล 5 มล./นาที อย่างไรก็ตามการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ภายหลังการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำทั้งเมื่อใช้อัตราการไหล 2 หรือ 5 มล./นาที ดังนั้นการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ที่ลดลงในกลุ่มว่ายน้ำจึงไม่น่าจะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดจากการออกกำลังกายดังกล่าว

มีรายงานว่า การออกกำลังกายแบบไดนามิกและภายหลังการฝึกออกกำลังกายทำให้มีการสร้าง nitric oxide (NO) Maroun และคณะ (1995) พบว่าในขณะที่ออกกำลังกายจะมีปริมาณ nitric oxide เพิ่มขึ้นในลมหายใจออกและ Jungersten และคณะ (1997) ก็พบว่ามี การเพิ่มระดับ nitric oxide ในเลือดอย่างรวดเร็วหลังจากการออกกำลังกายเพียง 1 ครั้ง สำหรับในสัตว์ทดลองนั้น Sessa และคณะ (1994) เป็นกลุ่มแรกที่แสดงให้เห็นว่าการฝึกออกกำลังกายของสุนัขโดยการวิ่งบน treadmill มีผลเพิ่มการสร้างยีน endothelial nitric oxide synthase (ecNOS) ในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด coronary เช่นเดียวกับผลการศึกษาในสุกร (Woodman, et al., 1997) Zhou และคณะ (1996) ศึกษาในหนูแร้ที่ให้ฝึกการออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill พบว่าระดับ mRNA ของ ecNOS ในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta เพิ่มขึ้น 2-3 เท่า ในขณะที่เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด arteriole ในกล้ามเนื้อ Gracillis และกล้ามเนื้อ Spinotrapezius มีการเพิ่มขึ้นถึง 5-6 เท่า Sun และคณะ (1994) พบว่าการออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill ระยะเวลาสั้น ๆ ทุกวัน ก็มีผลเพิ่มการสร้าง nitric oxide จากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด arteriole ในกล้ามเนื้อลายของหนูแร้ Bernstein และคณะ (1996) ทำการศึกษาในสุนัขที่ให้วิ่งบน treadmill ทันทีพบว่า มีผลเพิ่มการสร้าง nitric oxide ในหลอดเลือดแดง coronary นอกจากนี้ Jansakul (1995) ศึกษาพบว่าการฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำของหนูแร้เพศผู้ มีผลเพิ่มการผลิต nitric oxide ทั้งการหลั่งตัวเองและการหลั่งโดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta ทำให้ลดการตอบสนองต่อ KCl และ phenylephrine ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine ที่ลดลงในหนูกลุ่มว่ายน้ำนั้นอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มการสร้าง nitric oxide ภายหลังการฝึกออกกำลังกาย จึงทำการทดลองโดยใช้ LNA ผสมในสารละลาย Krebs ให้ไหลผ่านหลอดเลือดเป็นเวลา 40 นาทีเพื่อยับยั้งการสร้าง nitric oxide พบว่า LNA มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl และ phenylephrine ทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมโดยไม่มี ความแตกต่างระหว่างสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม แสดงว่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine ที่ลดลงในหนูกลุ่มว่ายน้ำน่าจะเป็นผลมาจากการเพิ่มการผลิตของ nitric oxide จากหลอดเลือด mesenteric arterial beds

การฝึกออกกำลังกายมีผลเพิ่มการผลิต prostaglandins ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด Ohkubo และคณะ (1992) พบว่าหนูแร้ที่ให้ออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำมีการเพิ่มการสร้าง prostacyclin ( $PGI_2$ ) ในหลอดเลือด thoracic aorta เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ Watanabe และคณะ (1991) ได้ศึกษาผลที่เกิดขึ้นทันทีหลังจากให้หนูแร้ ออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำพบว่าระดับ prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) ในเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่ง prostaglandin  $E_2$  และ prostacyclin มีคุณสมบัติทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

และ phenylephrine ที่ลดลงในกลุ่มว้ายน้ำอาจมีสาเหตุมาจากการเพิ่มการสร้างสาร prostaglandins ดังกล่าวจากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด จึงได้ทำการทดลองโดยใช้ indomethacin ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclo-oxygenase เพื่อไม่ให้เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสร้างสาร prostaglandins จากการทดลองพบว่า indomethacin ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว้ายน้ำดังแสดงในรูปที่ 3.3 (ข) และ 3.6 (ข) ผลดังกล่าวเหมือนกับผลการศึกษาก่อนของ Jansakul (1995) ที่ทำการทดลองแบบเดียวกัน แต่ใช้หลอดเลือด thoracic aorta แม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้และของ Jansakul (1995) จะใช้การว้ายน้ำตามวิธีการของ Ohkubo และคณะ (1992) แต่ใช้น้ำอุณหภูมิ  $28^{\circ} - 29^{\circ}\text{C}$ . ในขณะที่ Ohkubo และคณะใช้น้ำอุณหภูมิ  $34^{\circ} - 35^{\circ}\text{C}$ . ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของอุณหภูมิที่ทำให้หนูแร้ทว้ายน้ำ ดังนั้นการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine ที่ลดลงในกลุ่มว้ายน้ำจึงไม่น่าจะเป็นผลมาจากการเพิ่มการหลั่ง prostaglandins

ปัจจุบันเป็นที่ทราบแล้วว่า nitric oxide สามารถสร้างในปริมาณมากทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดโดยการถูกกระตุ้นจากสารบางอย่าง เช่น cytokine และ endotoxin (Knowles, et al., 1990; Gross, et al., 1991; Marczin, et al., 1993) ส่วนตัวกระตุ้นทางฟิสิกส์ เช่น การออกกำลังกายนั้น Sessa และคณะ (1994), Zhou และคณะ (1996) พบว่าการออกกำลังกายมีผลเพิ่มการแสดงออกของยีน eNOS ในเซลล์เอนโดทีเลียมของ thoracic aorta และหลอดเลือด arteriole สำหรับหลอดเลือดที่บริเวณลำไส้ชั้น Nichols และคณะ (1994) ศึกษาเอนไซม์ nitric oxide synthase โดยวิธี histochemistry และ immunohistochemistry พบว่าบริเวณลำไส้ของหนูแร้ทและของคนมีการหลั่ง nitric oxide ทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด จากการศึกษานี้จึงเป็นไปได้ว่าการเพิ่มการหลั่ง nitric oxide ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มว้ายน้ำอาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาต่อโดยการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS (Bhardwaj and Moore, 1988; Parsons, et al., 1994) CHAPS เป็นสาร saponin ซึ่งในความเข้มข้นสูง ๆ อาจมีผลทำลายทั้งเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นของ CHAPS ที่เหมาะสมในการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดโดยจะให้ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 มก./มล. (ดัดแปลงจาก Bhardwaj and Moore, 1988; Parsons, et al., 1994) โดยการป้อนสารละลาย Krebs ที่มี CHAPS ในแต่ละความเข้มข้นให้ไหลผ่านหลอดเลือด mesenteric arterial beds เป็นเวลา 2 นาทีเพื่อทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดก่อนศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุมดังผลการทดลองในรูปที่ 3.2

พบว่า CHAPS ที่ความเข้มข้น 3 มก./มล. มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากกว่าความเข้มข้น 4 มก./มล. ที่มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดเพียงเล็กน้อยในขณะที่ความเข้มข้น 5 มก./มล. มีผลลดการตอบสนองสูงสุดต่อ KCl ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้ CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. ในการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดจากการทดลองพบว่า CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ในสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่มในสัดส่วนที่เท่ากันจึงทำให้หลังจากที่มีการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS แล้วการตอบสนองสูงสุดของกลุ่มว่ายน้ำยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 3.5 และการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA ทำให้เพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดทั้ง 2 กลุ่มโดยไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำแสดงว่าการออกกำลังกายมีผลเพิ่มการหลั่งได้เองของ nitric oxide จากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเนื่องจาก KCl ไม่มีผลในการกระตุ้นการหลั่ง nitric oxide การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดด้วย CHAPS มีผลเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine และลดค่า  $EC_{50}$  ในหนูกลุ่มควบคุมประมาณ 4.5 เท่าเป็นการเพิ่มความไวในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของกลุ่มควบคุมเมื่อเทียบกับกลุ่มว่ายน้ำ อย่างไรก็ตามภายหลังการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA แล้วไม่มีความแตกต่างในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำแสดงว่าการฝึกร่างกายเป็นเวลานานมีผลกระตุ้นการหลั่งของ nitric oxide จากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ทำให้การตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ลดลงเนื่องจาก phenylephrine กระตุ้นการหลั่ง nitric oxide ด้วย (Cocks and Angus, 1983; Kaneko and Sunano, 1993)

สำหรับหลอดเลือดดำพอร์ทัล การศึกษาครั้งนี้พบว่าการฝึกร่างกายโดยการว่ายน้ำของหนูแรทเพศผู้ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัลต่อ KCl และ phenylephrine และพบว่าการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA และการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย indomethacin ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดำพอร์ทัล อาจเป็นไปได้ว่าเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำมีการหลั่ง nitric oxide น้อยกว่าหลอดเลือดแดง ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Vallance และคณะ (1989), Moncada (1992) และ Shirai และคณะ (1997) ซึ่ง Chen และคณะ (1993) ทำการศึกษาถึงการหลั่ง prostacyclin ในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar ที่ให้ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill ก็พบว่ามีการเพิ่มการหลั่ง prostacyclin ในหลอดเลือดดำน้อยกว่าหลอดเลือดแดงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ Shi และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาในหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ pulmonary ของหนูตะเภาพบว่าการคลายตัวตอบสนองต่อเอซิทิลโคลีนในหลอดเลือดดำจะน้อยกว่าในหลอดเลือดแดงโดยไม่มีผลของ prostaglandins แต่อาจเป็นผลมาจากความสามารถใน

การสร้าง nitric oxide ของเซลล์เอ็นโดทีเลียมในหลอดเลือดดำน้อยกว่าในหลอดเลือดแดง เนื่องจากเมื่อยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA แล้วพบว่าในหลอดเลือดดำมีการหดตัวเพิ่มขึ้นน้อยกว่าในหลอดเลือดแดง



## 5. สรุป

การฝึกออกกำลังกาย (exercise training) โดยการว่ายน้ำระยะเวลาในหนูแร้ท มีผลทำให้ลดอัตราการบีบตัวได้เองของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเดรียมและลดการตอบสนองสูงสุด (maximal response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ phenylephrine เมื่อเทียบกับหนูแร้ทกลุ่มควบคุมที่ไม่ออกกำลังกายและพบว่าอัตราการไหล (perfusion flow rate) ไม่มีผลต่อการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว สำหรับการลดลงของการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดในหนูแร้ทกลุ่มที่ฝึกออกกำลังกายไม่ได้เป็นผลมาจากการหลั่ง prostaglandins แต่เป็นผลมาจากการเพิ่มการหลั่งของ nitric oxide ทั้งการหลั่งได้เองและการหลั่งจากการถูกกระตุ้นโดย phenylephrine จากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds สำหรับหลอดเลือดดำพอร์ทัล พบว่าการฝึกออกกำลังกาย ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งของ nitric oxide จากหลอดเลือดดำพอร์ทัล

## เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Latif, A. A. 1986. Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides, and the generation of secondary messengers. *Pharmacol. Rev.* 38 : 227-257.
- Adeagbo, A. S. O., Tabrizchi, R. and Tiggler, C. R. 1994. The effects of perfusion rate and N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester on cirazoline- and KCl- induced responses in the perfused mesenteric arterial bed of rats. *Br. J. Pharmacol.* 111 : 13-20.
- Anggard, E. 1994. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet.* 343 : 1199-1206.
- Aprill, E. W. 1990. Circulation system. In *Anatomy.* 2d ed., pp. 31-38., Harwal Publishing Company, Malvern, Pennsylvania, USA.
- Armstrong, R. B. and Laughlin, M. H. 1984. Exercise blood flow patterns within and among rat muscle after training. *Am. J. Physiol.* 246 (Heart Circ. Physiol. 15) : H59-H68.
- Berne, R. M. and Levy, M. N. 1993. The cardiovascular system. In *Physiology.* 3d ed. (eds. Bern, R. M. and Levy, M. N.), pp. 465-493., Mosby-year book. Inc.
- Berstein, R. D., Ochoa, F. Y., Xu, X., Forfia, P., Shen, W., Thomason, C. I. and Hintze, T. H. 1996. Function and production of nitric oxide in the coronary circulation of the conscious dog during exercise. *Circ. Res.* 79: 840-848.
- Berthiaume, F. and Frangos, J. A. 1995. Flow effects on endothelial cell signal transduction, function and mediator release. In *Flow-dependent regulation of vascular function.* (eds. Beven, J. A., Kaley, G. and Rubanyi, G.M.), pp. 85-114., Oxford university press.
- Bhardwaj, R. and Moore, P. K. 1988. Endothelium-derived relaxing factor and the effects of acetylcholine and histamine on resistance blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* 95 : 835-843.

- Blanstein, A. S. and Walsh, R. A. 1995. Cardiovascular physiology. In *Physiology.*, (eds. Sperelakis. N. and Blanko, R. O.), pp. 351-372., Brown and company.
- Boye, A. A. and Dewey, J. D. 1985. Proximal coronary vasomotor reactivity after exercise training in dogs. *Circulation.* 71 : 620-625.
- Busse, R., Mulsch, A., Fleming, I. and Hecker, M. 1993. Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation.* 87 [suppl.V] : V-18 - V-25.
- Carter, T. D. and Pearson, J. D. 1992. Regulation of prostacyclin synthesis in endothelial cells. *NIPS.* 7 : 64-69.
- Chen, H. I. and Chiang, I. P. 1996. Chronic exercise decrease adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 271 (Heart Circ. Physiol. 40) : H977-H983.
- Chen, H. I., Jen, C. J. and Chang, W. C. 1993. Effects of exercise training on the biosynthesis of prostacyclin and thromboxane in rats. *Acta. Physiol. Scand.* 147 : 109-115.
- Chen, H. J. and Hu, C. T. 1997. Endogenous nitric oxide on arterial hemodynamics : a comparison between normotensive and hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1816-H1823.
- Chu, Z. M. and Beilin, L. J. 1993. Mechanisms of vasodilatation in pregnancy: studies of the role of prostaglandins and nitric oxide in changes of vascular reactivity in the in situ blood perfused mesentery of pregnant rats. *Br. J. Pharmacol.* 109 : 322-329.
- Cochran, F. R., Selph, J. and Sherman, P. 1996. Insights into the role of nitric oxide inflammatory arthritis. *Medicinal Research Review.* 16 : 547-567.
- Coker, R. H., Krishna, M. G., Lacy, D. B., Allen, E. J. and Wasserman, D. H. 1997. Sympathetic drive to liver and nonhepatic splanchnic tissue during heavy exercise. *J. Appl. Physiol.* 82 : 1244-1249.
- Cokes, T.M. and Angus, J. A. 1983. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature.* 305 : 627-630.

- De May, J. G. and Vanhoutte, P. M. 1982. Heterogeneous behavior of the canine arterial and venous wall: importance of endothelium. *Circ. Res.* 51 : 439-447.
- Delp, M. D. 1995. Effects of exercise training on endothelium-dependent peripheral vascular responsiveness. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 27 : 1152-1157.
- Delp, M. D., McAllister, R. M. and Laughlin, M. H. 1993. Exercise training alters endothelium-dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. *J. Appl. Physiol.* 75 : 1354-1363.
- Diem, K. and Leutner, C. 1970. *Documenta Geigy Scientific Tables*. 7th ed., Basle. J. R., Geigy.
- Edwards, J. G. Tipton, C. M. and Matthes, R. D. 1985. Influence of exercise training on reactivity and contractility of arterial strips from hypertensive rats. *J. Appl. Physiol.* 58 : 1683-1688.
- Furchgott, R. F. 1983. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* 53 : 557-573.
- Furchgott, R. F. 1984. The role of endothelium in the response of vascular smooth muscle to drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 24 : 175-197.
- Furchgott, R. F. 1993. The discovery of endothelium-dependent relaxation. *Circulation.* 87 [suppl.V] : V-3 - V-8.
- Furchgott, R. F. 1996. The discovery of endothelium-derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *JAMA.* 276 : 1186-1188.
- Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 288 : 373-376.
- Ganong, W. F. 1993. *Circulation*. In *Review of medical physiology*. 16th ed., pp. 469-571, Appleton & Lang.
- Gerova, M., Smiesko, V., Gero, J. and Barta, E. 1983. Dilation of conduit coronary artery induced by high blood flow. *Physiol. Bohemoslov.* 32 : 55-63.

- Griffith, O. W. and Gross, S. S. 1996. Inhibitors of nitric oxide synthase. In *Method of nitric oxide research*. (eds. Feelisch, M. and Stamler, J. S.), pp. 187-208, John Wiley & Sons.
- Griffith, T. M., Henderson, A. H., Edwards, D. H. and Lewis, M. J. 1984. Isolated perfused rabbit coronary artery and aortic strip preparations: the role of endothelium-derived relaxant factor. *J. Physiol.* 351 : 13-24.
- Griswold, D. E. and Adams, D. E. 1996. Constitutive cyclooxygenase (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2) : rationale for selective inhibition and progress to date. *Medicinal Research Reviews.* 16 : 181-206.
- Gross, S. S., Jaffe, E. A., Leve, R. and Kilbourn, R. G. 1991. Cytokine activated endothelial cells express an isotype of nitric oxide synthase which is tetrahydrobiopterin-dependent, calmodulin-independent and inhibited by arginine analogs with a rank-order of potency characteristic of activated macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 178 : 823-829.
- Halpern, W., Mongeon, S. A. and Root, D. T. 1984. Stress, tension and myogenic aspects of small isolated extraparenchymal rat arteries. In *Smooth muscle contraction*. (eds. Stephens, N. L.), pp 427-456, Murul Dekker, New York.
- Harder, D. R. 1987. Pressure induced myogenic activation of cat cerebral arteries is dependent on an intact endothelium. *Circ. Res.* 60 : 102-107.
- Hartshone, D. J. and Kawamura, J. R. 1992. Regulation of contraction-relaxation in smooth muscle. *NIPS.* 7 : 59-64.
- Hohimer, A. R., Hales, J. R., Rowell, L. B. and Smith, O. A. 1983. Regional distribution of blood flow during mild dynamic leg exercise in the baboon. *J. Appl. Physiol.* 55 : 1173-1177.
- Hwa, J. J. and Beven, J. A. 1986. Stretch-dependent (myogenic) tone in rabbit ear resistance arteries. *Am. J. Physiol.* 250 (Heart Circ. Physiol. 19) : H87-H95.
- Iyenger, R., Stuehr, D. J. and Marletta, M. A. 1987. Macrophage synthesis of nitrite, nitrate and N-nitro-amines: precursors and role of the respiratory burst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84 : 6369-6373.

- Jackson, P. A. and Duling, B. R. 1989. Myogenic response and wall mechanics of arterioles. *Am. J. Physiol.* 257 (Heart Circ. Physiol. 26) : H1147-H1155.
- Jansakul, C. 1995. Effect of swimming on vascular reactivity to phenylephrine and KCl in male rats. *Br. J. Pharmacol.* 115 : 587-594.
- Johnson, P. C. and Intaglietta, M. 1976. Contributions of pressure and flow sensitivity to autoregulation in mesenteric arterioles. *Am. J. Physiol.* 231 : 1686-1698.
- Jungersten, L., Ambring, A., Wall, B. and Wennmalm, A. 1997. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *J. Appl. Physiol.* 82 : 760-764.
- Kaneko, Y. and Sunano, S. 1993. Involvement of  $\alpha$ -adrenoreceptors in the endothelium-dependent depression of noradrenaline-induced contraction in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 240 : 195-200.
- Katona, P. G., McLean, M., Dighton, D. H. and Guz, A. 1982. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *J. Appl. Physiol.* 52 : 1652-1657.
- Katz, S. D., Yuen, J., Bijion, R. and Le Juntel, T. H. 1997. Training improves endothelium dependent vasodilation in resistance vessels of patients with heart failure. *J. Appl. Physiol.* 82 : 1488-1492.
- Kingwell, B. A., Tran, B., Cameron, J. D., Jennings, G. L. and Dart, A. M. 1996. Enhanced vasodilation to acetylcholine in athletes is associated with lower plasma cholesterol. *Am. J. Physiol.* 270 : H2008-H2013.
- Knowles, R. G., Salter, M., Brooks, S. L. and Moncada, S. 1990. Antiinflammatory glucocorticoids inhibit the induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the lung, liver and aorta of the rat. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 172 : 1042-1048.
- Kobzik, L., Reid, M. B., Brecht, D. S. and Stamler, J. S. 1994. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature.* 372 : 546-548.
- Laher, I., Van Breemen, C. and Beven, J. A. 1988. Stretch-dependent calcium uptake associated with myogenic tone in rabbit facial vein. *Cir. Res.* 63 : 669-772.

- Le Marquer-Domagala, F. and Finet, M. 1997. Comparison of nitric oxide and cyclo-oxygenase pathway in mesenteric resistance vessels of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 588-594.
- Lin, Y. C. and Horvath, S. M. 1972. Autonomic nervous control of cardiac frequency in the exercise-trained rat. *J. Appl. Physiol.* 33 : 796-799.
- Little, R. C. 1985. Local control of peripheral circulation. In *Physiology of the heart and circulation.*, 3d ed., pp. 270-284., Yearbook Medical Publishers., Inc.
- Lowenstein, C. J., Dinerman, T. L. and Snyder, S. H. 1994. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann. Intern Med.* 120 : 227-237.
- Lutgemeier, I., Luff, F. C., Unger, T., Ganten, U., Lang, R. E., Gless, K.H. and Ganten, D. 1987. Blood pressure, electrolyte and adrenal responses in swim-trained hypertensive rats. *J. Hypertens.* 5 : 241-247.
- Marczin, N., Papapetropoulos, A. and Catavas, J. D. 1993. Tyrosine kinase inhibitors suppress endotoxin- and IL-1 $\beta$ -induced NO synthesis in aortic smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 265 : H1014-H1018.
- Marieb, E. N. 1992. The cardiovascular system : blood vessels. In *human anatomy and physiology.*, 2d ed., pp. 633-678, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Maroun, M. J., Mehta, S., Turcotte, R., Cosio, M. G. and Hussin, S. N. A. 1995. Effects of physical condition on endogenous nitric oxide output during exercise. *J. Appl. Physiol.* 79 : 1219-1225.
- Martin III, W. H., Kohrt, W. M., Malley, M. T., Korte, E. and Stoltz, S. 1990. Exercise training enhances leg vasodilatory capacity of 65-yr-old men and women. *J. Appl. Physiol.* 69 : 1804-1809.
- Mazzeo, R. S., Rajkumar, C., Jennings, G. and Ester, M. 1997. Norepinephrine spillover at rest and during submaximal exercise in young and old subjects. *J. Appl. Physiol.* 82 : 1869-1874.
- McAllister, R. M. 1995. Endothelial-mediated control of coronary and skeletal blood flow during exercise: introduction. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 27 : 1122-1124.

- McAllister, R. M., Hirai, T. and Musch, T. I. 1995. Contribution of endothelium-derived-nitric oxide (EDNO) to the skeletal muscle blood flow response to exercise. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 27 : 1145-1151.
- McAllister, R. M., Kimani, J. K., Webster, J. L., Parker, J. L. and Laughlin, M. H. 1996. Effects of exercise training on responses of peripheral and visceral arteries in swine. *J. Appl. Physiol.* 80 : 216-225.
- McGregor, D. D. 1965. The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor response in perfused mesenteric blood vessel of the rat. *J. Physiol. London.* 171 : 21-30.
- Meredith, I. T., Friberg, P., Jennings, G. L., Dewar, E. M., Fazio, V. A., Lambert, G. W. and Esler, M. D. 1991. Exercise training lower resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. *Hypertension.* 18 : 575-582.
- Miller, V. M. and Burnet, J. C. JR. 1992. Modulation of NO and endothelin by chronic increase in blood flow in canine femoral arteries. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H103-H108.
- Moncada, S. 1992. The 1991 Ulf von Euler Lecture: the L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta. Physiol. Scand.* 145 : 201-227.
- Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higg, E. A. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43 : 109-142.
- Moore, K. L., 1992. Blood vessels and the cardiovascular system: overview of anatomy. In *Anatomy.*, 3d ed., pp. 23-25, William and Wilkins.
- Moore, P. K., Al-Swayeh, O. A., Chong, N. W. S., Evans, R. A. and Gibson, A. 1990. L-N<sup>G</sup>-nitro-arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 99 : 408-412.
- Mulvany, M. J. and Aalkjaer, C. 1990. Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.* 70 : 921-953.
- Murad, F. 1996. Signal transduction using nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate. *JAMA.* 276 : 1189-1192.
- Musch, T. I., Haidet, G. C., Ordway, G. A., Lohghurst, J. C. and Mitchell, J. H. 1987. Training effects on regional blood flow response to maximal exercise in foxhounds. *J. Appl. Physiol.* 62 : 1724-1732.



- Nase, G. P. and Boegehold, M. A. 1996. Nitric oxide modulates arteriolar responses to increased sympathetic nerve activity. *Am. J. Physiol.* 271: H860-H869.
- Nase, G. P. and Boegehold, M. A. 1997. Endothelium-derived nitric oxide limits sympathetic neurogenic constriction in intestinal microcirculation. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H426-H433.
- Negrao, C. E., Moreira, E. D., Santos, M. C. L. M., Farah, V. M. A. and Krieger, E. M. 1992. Vagal function impairment after exercise training. *J. Appl. Physiol.* 72 : 1749-1753.
- Nelson, M. T., Patlak, J. B., Worley, J. F. and Standen, N. B. 1990. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone. *Am. J. Physiol.* 259 (Cell. Physiol. 28) : C3-C18.
- Newby, A. C. and Henderson, A. H. 1990. Stimulus- secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu. Rev. Physiol.* 52 : 661-674.
- Nichols, A. J., Wilson, A. C. and Hiley, C. R. 1985. Effects of chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine on cardiac output and its distribution in the rats. *Eur. Pharmacol.* 109 : 263-268.
- Nichols, K., Staines, W., Rubin, S. and Krantis, A. 1994. Distribution of nitric oxide synthase activity in arterioles and venules of rat and human intestine. *Am. J. Physiol.* 267 (Gastrointest. Liver Physiol. 30) : G270-G275.
- Noma, K., Rupp, H. and Jacob, R. 1987. Subacute and long term effect of swimming training on blood pressure in young and old spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc. Res.* 21 : 871-877.
- Ohkubo, T, Jacob, R. and Rupp, H. 1992. Swimming changes vascular fatty acid composition and prostanoid generation of rats. *Am. J. Physiol.* 262 (Regulatory Intgration Comp. Physiol. 31) : R464-R471.
- Ohyanaki, M., Nishigaki, K. and Febar, J. E. 1992. Interaction between microvascular  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$  adrenoceptors and endothelium-derived relaxing factor. *Circ. Res.* 71 : 188-200.

- Oltman, C. L., Parker, J. L., Adams, H. R. and Laughlin, M. H. 1992. Effects of exercise training on vasomotor reactivity of porcine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H372-H382.
- Overton, J. M., Joyner, M. J. and Tipton, C. M. 1988. Reduction in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *J. Appl. Physiol.* 64 : 748-752.
- Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 327 : 524-526.
- Palmer, R. M. J., Ashton, D. S. and Moncada, S. 1988. Vascular endothelial cell synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 333 : 664-666.
- Perfenova, H., Hsu, P. and Leffler, C. W. 1995. Dilator prostanoid-induced cyclic AMP formation and release by cerebral microvascular smooth muscle cells:inhibition by indomethacin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 272 : 44-52.
- Parsons, S. J. W., Hill, A., Waldron, G. J., Plane, F. and Garland, C. J. 1994. The relative importance of nitric oxide and nitric oxide-dependent mechanisms in acetylcholine-evoked dilation of the rats mesenteric bed. *Br. J. Pharmacol.* 113 : 1275-1280.
- Patil, R. D., DiCarlo, S. E. and Collins, H. L. 1993. Acute exercise enhances nitric oxide modulation of vascular response to phenylephrine. *Am. J. Physiol.* 265 (Heart Circ. Physiol. 34) : H1141-H1188.
- Peronnet, F., Nadeau, R. A., de Champlain, J., Magrassi, P. and Chatrand, C. 1981. Exercise plasma catecholamines in dogs: role of adrenals and cardiac nerve endings. *Am. J. Physiol.* 241 (Heart Circ. Physiol. 10) : H243-H247.
- Pourageaud, F. and De May, J. G. R. 1997. Structure properties of rat mesenteric small arteries after 4-wk exposure to elevated or reduced blood flow. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1699-H1706.
- Rand, M. J. 1992. NANC transmission: nitric oxide as a mediator of non-adrenergic, non-cholinergic nerve-effector transmission. *Clin. Exp. Phamacol. Physiol.* 19 : 147-169.

- Rang, H.P. and Dale, M. M. 1991. Pharmacology., 2d ed., pp. 346-368, Churchill Livingstone, Medical Division of Longman Group UK Ltd.
- Rapoport, R. M., Draznin, M. B. and Murad, F. 1983. Endothelium-dependent relaxation in the rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature*. 306 : 174-176.
- Ree, D. D., Palmer, R. M. J., Schulz, R., Hodson, J. F. and Moncada, S. 1990. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 101 : 746-752.
- Roger, P. J., Miller, T. D., Bauer, B. A. Brum, J. M., Bove, A. A. and Vanhoutte, P. M. 1991. Exercise training and responsiveness of isolated coronary arteries. *J. Appl. Physiol.* 71 : 2346-2351.
- Rubanyi, G. M., Lorenz, R. R. and Vanhoutte, P. M. 1985. Bioassay of endothelium-derived relaxing factor(s): inactivation by catecholamines. *Am. J. Physiol.* 249 (Heart Circ. Physiol. 18) : H95-H101.
- Rupp, H. and Wahl, R. 1990. Influence of thyroid hormones and catecholamines on myosin of swim-exercised rats. *J. Appl. Physiol.* 68 : 973-978.
- Rushmer, R. F. 1976. Structure and function of the cardiovascular system., 2d. ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- Scheuer, J. and Tipton, C. M. 1977. Cardiovascular adaptations to physical training. *Ann. Rev. Physiol.* 39 : 221-251.
- Schulz, R. and Triggle, C. R. 1994. Role of No in vascular smooth muscle and cardiac muscle function. *TIPS*. 15 : 255-259.
- Seal, D. R. and Reiling, M. J. 1991. Effect of regular exercise on 24-hour arterial pressure in older hypertensive humans. *Hypertension*. 18 : 583-592.
- Segal, S. S., Kurjiaka, D. T. and Caston, A. L. 1993. Endurance training increases arterial wall thickness in rats. *J. Appl. Physiol.* 74 : 349-353.
- Sessa, W. C., Pritchard, K., Seyedi, N., Wang, J. and Hintze, T. H. 1994. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ. Res.* 74 : 349-353.

- Shen, W., Zhang, X., Zhao, G., Wolin, M. S., Sessa, W. and Hintze, T. H. 1995. Nitric oxide production and NO synthase gene expression contribute to vascular regulation during exercise. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 27 : 1125-1134.
- Shi, W., Eidelman, D. H. and Michel, R. P. 1997. Differential relaxant responses of pulmonary arteries and vein in lung explants of guinea pigs. *J. Appl. Physiol.* 83 : 1476-1481.
- Shirai, M., Shimouchi, A., Kawaguchi, A. T., Ikeda, S., Sunakawa, K. and Ninomiya, I. 1997. Endogenous of nitric oxide attenuates hypoxia vasoconstriction of small pulmonary arteries and veins in anaesthetized cats. *Acta. Physiol. Scand.* 159 : 263-264.
- Silverman, H. G. and Mazzeo, R. S. 1996. Hormonal responses to maximal and submaximal exercise in trained and untrained men of various ages. *J. Gerontology : Biological Sciences.* 51A : B30-B37.
- Smiesko, V., Kozik, J. and Dolezel, S. 1985. Role of endothelium in the control of arterial diameter by blood flow. *Blood vessels.* 22 : 247-251.
- Stamler, J. S. and Feelisch, M. 1996. Biochemistry of nitric oxide and redox-related species. In *Method of nitric oxide research.* (eds. Feelisch, M. and Stamler, J. S.), pp. 19-27, John Wiley & Sons.
- Sun, D., Huang, A., Koller, A. and Kaley G. 1994. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *J. Apply. Physiol.* 76 : 2241-2247.
- Tesfamariam, B. and Cohen, R. A. 1988. Inhibition of adrenergic vasoconstriction by endothelial cell shear stress. *Circ. Res.* 63 : 720-725.
- Tipton, C. M. 1965. Training and bradycardia in rats. *Am. J. Physiol.* 209 : 1089-1094.
- Tipton, C. M. 1969. The influence of atropine on the heart rate responses of nontrained, trained and detrained animals. *Physiologist.* 12 : 376.
- Tipton, C. M. and Taylor, B. 1965. Influence of atropine on heart rates of rats. *Am. J. Physiol.* 208 : 480-484.
- Vallance, P., Collier, J. and Moncada, S. 1989. Nitric oxide synthesized from L-arginine mediates endothelium-dependent dilatation in human veins. *Cardiovasc. Res.* 23 : 1053-1057.

- Wang, J., Wolin, M. S. and Hintze, T. H. 1993. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ. Res.* 73 : 829-838.
- Watanabe, T., Morimoto, A., Sakata, Y., Long, N. C. and Murakami, N. 1991. Prostaglandin E<sub>2</sub> is involved in adrenocorticotrophic hormone release during swimming exercise in rats. *J. Physiol.* 433 : 719-725.
- Welsh, D. G. and Segal, S. S. 1997. Coactivation of resistance vessels and muscle fibers with acetylcholine release from motor nerves. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H156-H163.
- Wood, K. S., Buga, G. M., Byrns, R. E. and Ignarro, L. J. 1990. Vascular smooth muscle-derived relaxing factor (MDRF) and its close similarity to nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170 : 80-88.
- Woodman, C. R., Muller, J. M., Laughlin, M. H. and Price, E. M. 1997. Induction of nitric oxide synthase mRNA in coronary resistance arteries isolated from exercise-trained pigs. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2575-H2579.
- Wynsberghe, D. V., Noback, C. R. and Carola, R. 1995. Human anatomy and physiology., 3d ed., McGraw-Hill, Inc.
- Yancey, S. L. and Overton, J. M. 1993. Cardiovascular responses to voluntary and treadmill exercise in rats. *J. Appl. Physiol.* 75 : 1334-1340.
- Zhou, J., Sun, D., Kally, G. and Kumer, A. 1996. Endothelial nitric oxide synthase gene expression is upregulated by chronic exercise in rat microvessels. *FASEB. J.* 10 : A39.

## ภาคผนวก

### 1. การเตรียมสารละลายเครบส์ (Krebs-Henseleit solution) ประกอบด้วย

NaCl	6.62	กรัมต่อลิตร
KCl	0.35	กรัมต่อลิตร
CaCl <sub>2</sub>	0.367	กรัมต่อลิตร
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.29	กรัมต่อลิตร
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.16	กรัมต่อลิตร
NaH <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2.1	กรัมต่อลิตร
D-glucose	2.0	กรัมต่อลิตร
Na <sub>2</sub> EDTA	0.018	กรัมต่อลิตร
Ascorbic acid	0.009	กรัมต่อลิตร

2. การเตรียมสารละลาย KCl ความเข้มข้น 20 mM, 40 mM, 80 mM และ 120 mM โดยการใช้ KCl แทนที่ NaCl ในสารละลายเครบส์โดยไม่มีผลต่อ osmolarity ของสารละลายเครบส์ดังนี้

	20 mM	40 mM	80 mM	120 mM
KCl (กรัมต่อลิตร)	1.491	2.982	5.964	8.946
NaCl (กรัมต่อลิตร)	5.997	4.830	2.490	1.580

### 3. การเตรียม phenylephrine และ CHAPS ละลายด้วยสารละลายที่ประกอบด้วย

NaCl	6.62	กรัมต่อลิตร
NaH <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2.1	กรัมต่อลิตร
Ascorbic acid	0.009	กรัมต่อลิตร

### 4. การเตรียม N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ละลายด้วยสารละลายเครบส์

5. การเตรียม indomethacin ละลายด้วยสารละลาย 0.1% Sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายแพทย์ หิรัญพันธุ์

วัน เดือน ปีเกิด 8 มีนาคม 2503

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
การศึกษาระดับบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒสงขลา	2528
สาธารณสุขศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช	2529