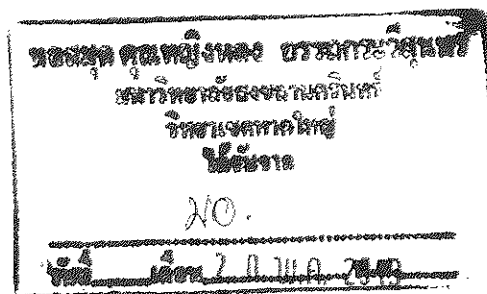




ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือดกล้ามเนื้อลายบริเวณขาหลังของหนูแร้ท

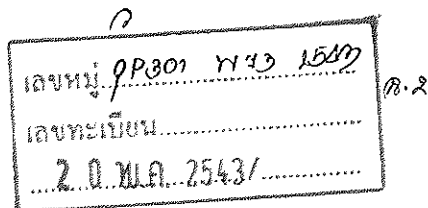
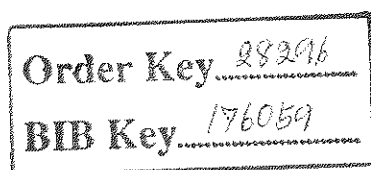
เพศเมียต่อ KCl และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก

Effects of Exercise on Vascular Reactivity of Hindquarter of Female Rats to KCl and  
Adrenergic Receptor Agonists



พุทธรดา นิลเอสงค์

Putrada Ninla-aesong



วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University


2543

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือดกล้ามเนื้อลายบริเวณ  
ขาหลังของหนูแร้ทเพศเมียต่อ KCl และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก

ผู้เขียน นางสาวพุทธธดา นิลเอสงค์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

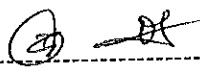
 ..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ฉวีวรรณ จันทร์กุล)

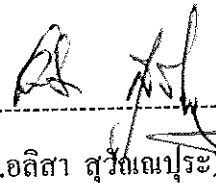
 ..... กรรมการ

(ดร.อลิสา สุวัฒน์ประ)

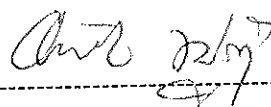
คณะกรรมการสอบ

 ..... ประธานกรรมการ

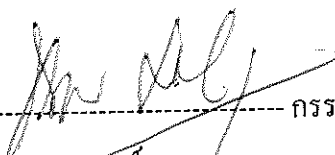
(รองศาสตราจารย์ ดร.ฉวีวรรณ จันทร์กุล)

 ..... กรรมการ

(ดร.อลิสา สุวัฒน์ประ)

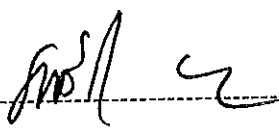
 ..... กรรมการ

(ดร. อภิชัย ชูปรีชา)

 ..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นพ.อนุภาพ เลขะกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

 .....  
(รองศาสตราจารย์ ดร. นพรัตน์ บำรุงรักษ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือดกล้ามเนื้อลายบริเวณ  
ขาหลังของหนูแร้ทเพศเมียต่อ KCl และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก  
ผู้เขียน นางสาวพุทธธดา นิลเอสงค์  
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ  
ปีการศึกษา 2542

### บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวคือ KCl และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก (phenylephrine, adrenaline, noradrenaline และ isoproterenol) และบทบาทของ nitric oxide (NO) และ prostaglandins ต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อสารดังกล่าว ทำการทดลองโดยใช้หนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar เพศเมียขณะพักภายหลังฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำทุกวันเป็นเวลานาน 28-33 วัน ทำการทดลองแบบ *in situ* โดย perfuse หลอดเลือด hindquarter vascular beds ด้วยสารละลาย Krebs แล้วศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) ต่อ phenylephrine (Phe) หรือ KCl รวมทั้งศึกษาผลของอัตราการไหลของสารละลาย Krebs ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe หรือ KCl ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 3 มล./นาทีการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน LNA มีผลให้ dose-response curve ของทั้งกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ของทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากันทำให้การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาที การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเช่นเดียวกัน LNA มีผลให้ dose-response curve ของทั้งกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ของทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากันทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม

การตอบสนองสูงสุดและความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (sensitivity) ต่อ Phe แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 3 มล./นาที LNA มีผลให้ dose-response curve ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากันทำให้การตอบสนองสูงสุดของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 5 มล./นาที การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน LNA ทำให้ dose-response curve ของทั้งกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากัน ภายหลังจากยับยั้งด้วย LNA ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่าน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองหลังเสร็จการทดลองเพิ่มขึ้นร้อยละ 40.8 และร้อยละ 16.0 เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 5 และ 3 มล./นาทีตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 3 มล./นาที Indomethacin ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ทั้งในกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่ว่าก่อนหรือหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA

การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline (Adr) และ noradrenaline (NA) ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุม LNA มีผลให้ dose-response curve ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายในขนาดที่เท่ากัน แม้ว่าหลังยับยั้งด้วย LNA ค่า  $EC_{50}$  ในการตอบสนองต่อ Adr และ NA ของกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันแต่ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Adr และ NA แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การยับยั้งด้วย propranolol ทำให้ dose-response curve ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางขวาในขนาดที่เท่ากัน และเช่นเดียวกันภายหลังจากยับยั้งด้วย propranolol และ LNA ความไวในการตอบสนองต่อ Adr แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่า การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ NA ของกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน หลังการยับยั้งด้วย propranolol และ yohimbine ความไวในการตอบสนองต่อ NA แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มวุ้นน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ LNA มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดและทำให้ dose-response curve ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้าย และเช่นเดียวกันภายหลังจากยับยั้งด้วย propranolol, yohimbine และ LNA การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ NA ของกลุ่มวุ้นน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน แต่ความไวในการตอบสนองต่อ NA แต่ละความเข้มข้นของ

กลุ่มว้ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรอร์เซ็นต์การคลายตัวตอบสนองต่อ isoproterenol ของ hindquarter vascular beds ซึ่งทำให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย Phe ของกลุ่มว้ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA

ผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าการฝีกออกกำลังกายโดยการว้ายน้ำมีผลทำให้ลดการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe และ isoproterenol แต่ไม่ลดการตอบสนองต่อ KCl ในขณะที่พัก การลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe และ isoproterenol น่าจะเกี่ยวข้องกับการลดการตอบสนองต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-1 และชนิดบีตาและไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง prostaglandins จากผลการทดลองที่พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Adr และ NA ของกลุ่มว้ายน้ำและกลุ่มควบคุม ไม่แตกต่างกันยกเว้นภายหลังยับยั้งด้วย propranolol หรือภายหลังยับยั้งด้วย propranolol และ yohimbine แสดงว่าน่าจะมีการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ในกลุ่มฝีกออกกำลังกาย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการลดการตอบสนองของหลอดเลือดด้านทานบริเวณกล้ามเนื้อลายที่ใช้งานต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-1 และชนิดบีตา และการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ภายหลังฝีกออกกำลังกายอาจมีผลทำให้ลดความต้านทานของหลอดเลือดภายหลังฝีกออกกำลังกายในขณะที่พัก



exercise-trained were significantly lower than those from sedentary control rats. There were no differences in perfusion pressure responses to Phe of the hindquarter vascular beds between those from exercise-trained and sedentary control rats when using perfusion flow rate  $5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . LNA caused significant shift of the curves to the left with increase in maximum responses to the same extent. In the presence of LNA, therefore, the perfusion pressure responses to Phe were significantly lower in sensitivity with no differences in maximum perfusion pressure responses for the blood vessels from exercise-trained rats compared to those of sedentary controls. Nevertheless, animal body weight at the end of each experiment was increased about 40.8% for those using perfusion flow rate of  $5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , and about 16.0% for those using  $3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Thus, the perfusion flow rate of  $3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  was used for the rest of this study. Indomethacin did not alter the dose-response curves to Phe of the hindquarter vascular beds either in the absence or presence of LNA of both obtained from the exercise-trained and sedentary control rats.

There were no differences in perfusion pressure responses to adrenaline (Adr) or noradrenaline (NA) of the hindquarter vascular beds between those obtained from exercise-trained and sedentary control rats. LNA caused significant leftward shift of the curves to NA and Adr of both groups. In the presence of LNA, although there were no differences in  $EC_{50}$  between the blood vessels from these two groups, they were lower in sensitivity to NA and Adr for the blood vessels from exercise-trained compared to those sedentary control rats. Propranolol caused significantly rightward shift of the dose-response curves to Adr in the same extent of both blood vessels from exercise-trained and sedentary control rats. Similarly, in the presence of LNA, propranolol caused a decrease in sensitivity to Adr for the blood vessels from exercise-trained compared to those of sedentary control rats. In the presence of both propranolol and yohimbine, maximum perfusion pressure responses to NA of the hindquarter vascular beds from exercise-trained rats were significantly lower in sensitivity with no differences in maximum responses for the blood vessels obtained from exercise-trained compare to those of sedentary control rats. LNA caused leftward shift of both curves with increase in maximum responses. Thus, in the presence of propranolol, yohimbine and LNA, there were no differences in maximum perfusion pressure responses to NA of the blood vessels of these two groups. However, the responsiveness to NA of blood vessels from exercise-trained rats were lower in sensitivity than those from those sedentary controls. Percent decrease in perfusion pressure responses to isoproterenol of hindquarter vascular

beds pre-constricted with phenylephrine were lower in those from exercise-trained versus sedentary control rats whether in absence or presence of LNA.

These results suggest that there was a lower vascular responsiveness to Phe and isoproterenol but not to KCl in exercise-trained rats at rest. The decrease in responsiveness to Phe and isoproterenol might be due to a decrease in alpha-1 and beta adrenergic receptor responses, which might not be a consequence of an alternative production of prostaglandins. The finding that there were no differences in responsiveness of the vascular beds to Adr and NA between exercise-trained and sedentary control rats, except in the presence of propranolol or both propranolol and yohimbine, suggests that there might be an increase in alpha-2 adrenergic receptor responsiveness for the vascular beds from exercise-trained compare to those sedentary controls. Therefore, in the case of resistance vessels of working skeletal muscle, physical stimulus by exercise training caused a decrease in responsiveness to alpha-1 and beta adrenergic receptor agonists and an increase in alpha-2 adrenergic receptor responses, and these changes may contribute to the decrease in peripheral vascular resistance in exercise-trained rats at rest.



## กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จวีวรรณ จันสกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและสอนเทคนิคต่างๆในการทำวิจัย วิธีการทำงานอย่างมีระบบแบบแผน ตลอดจนการเขียนและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร. อลิสา สุวัฒนปุระ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ดร. อภิชัย ชูปรีชา กรรมการสอบจากภาควิชาสรีรวิทยาและรองศาสตราจารย์ นพ.อานูภาพ เลขาคุณ กรรมการผู้แทนจากบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้กรุณาแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่มอบทุนวิจัย ขอขอบคุณอาจารย์ นงเยาว์ กิจเจริญนิรุตม์ คุณอาภรณ์ เพ็ญสวัสดิ์สำหรับคำแนะนำการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ คุณแพทย หิรัญพันธุ์ สำหรับคำแนะนำการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เทคนิคในการทำวิจัย ตลอดจนความช่วยเหลือต่างๆ ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยาและบุคลากรภาควิชาสรีรวิทยาทุกท่าน ขอขอบคุณคุณไมตรี นวลพลับและบุคลากรเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลองทุกท่าน รวมทั้งครอบครัวและเพื่อนๆที่ไม่ได้เอ่ยนาม ณ ที่นี้

พุทธรดา นิลเฮงส์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	(3)
Abstract.....	(6)
กิตติกรรมประกาศ.....	(9)
สารบัญ.....	(10)
รายการตาราง.....	(11)
รายการรูป.....	(12)
ตัวย่อและสัญลักษณ์.....	(15)
1. บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
ตรวจเอกสาร.....	6
วัตถุประสงค์.....	33
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ.....	34
อุปกรณ์.....	35
ยาและสารเคมี.....	35
วิธีการ.....	36
3. ผลการทดลอง.....	46
4. วิจารณ์.....	74
5. สรุป.....	81
เอกสารอ้างอิง.....	82
ภาคผนวก.....	122
ประวัติผู้เขียน.....	123

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ผลของการว่ายน้ำต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักเอเตรียม น้ำหนักเวนทริเคิล น้ำหนักต่อมหมวกไต น้ำหนักมดลูก น้ำหนักรังไข่ และจำนวนคอร์ปัสลูเตียมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ	47
3.2 ค่า EC <sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl, phenylephrine และ N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาทีและ 3 มล./นาที	53
3.3 ค่า EC <sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine, indomethacin และ N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	58
3.4 ค่า EC <sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine และ/หรือ propranolol ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	65
3.5 ค่า EC <sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline, propranolol และ yohimbine ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	66
3.6 การตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine ก่อนศึกษาการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	69
3.7 ค่า EC <sub>50</sub> และการคลายตัวสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol หลังจาก	70
ที่หลอดเลือดมีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	

## รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงการสร้าง NO โดยการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนอะตอมบนปลายของกลุ่มกัวนิดีโนของกรดอะมิโน L-arginine ได้สารตัวกลางคือ <i>N<sup>G</sup></i> -hydroxyl-L-arginine แล้วเปลี่ยนเป็น NO และได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม โดยอาศัย O <sub>2</sub> , NADPH และ CaM เป็นปัจจัยร่วม	10
1.2 แสดงโครงสร้างของ Nitric Oxide Synthase (NOS), cytochrome P450 reductase และตำแหน่งที่ cofactor ชนิดต่างๆจับกับ NOS	10
1.3 แสดงบทบาทของ calmodulin (CaM) ต่อ cNOS เมื่อระดับ Ca <sup>2+</sup> ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้ CaM (ซึ่งเชื่อมระหว่าง reductase และ oxidative domain) จับกับ NOS แข็งแรงขึ้น ทำให้อิเล็กตรอนที่ถูกถ่ายทอดจาก NADPH ในส่วน reductase domain สามารถส่งต่อมาให้แก่ FAD, FMN, heme และ L-arginine ในที่สุด	12
1.4 แสดงแหล่งที่สร้าง NO	12
1.5 แสดงโครงสร้างของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS	17
1.6 แสดงกลไกการกระตุ้นการหลั่ง NO และการออกฤทธิ์ของ NO ต่อเซลล์เป้าหมาย	17
1.7 แสดงการสังเคราะห์ prostaglandins จากสาร phospholipids	19
2.1 แสดงหลอดเลือดบริเวณช่องท้องและหลอดเลือดที่แยกไปยังขาหลังของหนูแร้ท	38
2.2 แสดงระบบที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหลของสารละลาย Krebs และผลของ <i>N<sup>G</sup></i> -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้ (ก) อัตราการไหล 5 มล./นาทีและ (ข) อัตราการไหล 3 มล./นาที	49
3.2 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl เมื่อใช้ อัตราการไหล 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	50
3.3 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหลของสารละลาย Krebs และผลของ <i>N<sup>G</sup></i> -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อ (ก) อัตราการไหล 5 มล./นาทีและ (ข) อัตราการไหล 3 มล./นาที	51

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.4 ตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	52
3.5 แสดงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที	56
3.6 แสดงผลของการว่ายน้ำ, indomethacin และ $N^G$ -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อ (ก) ก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM และ (ข) ก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM หลังจากถูกยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN	57
3.7 แสดงผลของการว่ายน้ำ, $N^G$ -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อ (ก) ต่อ noradrenaline และ (ข) ต่อ adrenaline	60
3.8 แสดงผลของการว่ายน้ำ, $N^G$ -nitro-L-arginine และ propranolol ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อ (ก) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN ภายหลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol	61
3.9 แสดงผลของการว่ายน้ำ, $N^G$ -nitro-L-arginine และ propranolol ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ เมื่อ (ก) ต่อ noradrenaline ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ต่อ adrenaline ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN หลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol	62
3.10 แสดงผลของการว่ายน้ำ, $N^G$ -nitro-L-arginine, propranolol และ yohimbine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อ (ก) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN หลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและแอลฟา-2 ด้วย propranolol และ yohimbine	64

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.11 แสดงผลของการว่ายน้ำ, isoproterenol ต่อการคลายตัวของ hindquarter vascular beds ที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine ความเข้มข้นซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัวร้อยละ 80 ของ maximum response ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย $N^G$ -nitro-L-arginine	71
3.12 แสดงผลของการว่ายน้ำ, isoproterenol และ $N^G$ -nitro-L-arginine ต่อการคลายตัวของ hindquarter vascular beds ที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆกัน ภายหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย $N^G$ -nitro-L-arginine ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำเมื่อ (ก) ทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น Con:-4.5, Sw:-4.5 และ (ข) ทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น Con:-5.0, Sw:-4.5	72
3.13 ตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	73

## ตัวย่อและสัญลักษณ์

A I	=	angiotensin I
A II	=	angiotensin II
AC	=	adenylate cyclase
ACE	=	angiotensin converting enzyme
ACh	=	acetylcholine
ADP	=	adenosine diphosphate
Adr	=	adrenaline
AMP	=	adenosine monophosphate
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate
ANP	=	atrial natriuretic peptide
ATP	=	adenosine triphosphate
BH <sub>4</sub>	=	tetrahydrobiopterin
BNP	=	brain natriuretic peptide
CaM	=	calmodulin
CNP	=	central natriuretic peptide
CO	=	cardiac output
CO <sub>2</sub>	=	carbondioxide
Con	=	control
COX	=	cyclooxygenase
COX I	=	constitutive cyclooxygenase
COX II	=	inducible cyclooxygenase
CYP 450	=	cytochrome P 450
DAG	=	diacylglycerol
EC <sub>50</sub>	=	effective concentration
EDHF	=	endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	=	endothelium-derived relaxing factor
EDTA	=	etylenediaminetetraacetic acid

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

ET	=	endothelin
ET <sub>A</sub>	=	endothelin receptor type A
ET <sub>B</sub>	=	endothelin receptor type B
FAD	=	flavin adenine dinuclotide
bFGF	=	basic fibroblast growth factor
FMN	=	flavin mononucleotide
GC	=	guanylate cyclase
cGMP	=	cyclic guanosine monophosphate
8-BrcGMP	=	8-bromoguanosine 3',5' -cyclic monophosphate
GTP	=	guanosine triphosphate
IDM	=	indomethacin
IGF-I	=	insulin-like growth factors-I
IL-1	=	interleukin-1
IP <sub>3</sub>	=	inositol triphosphate
i.p.	=	intraperitoneal
Iso	=	isoproterenol
ITF- $\gamma$	=	interferon- $\gamma$
IU	=	international unit
IVC	=	inferior vena cava
K <sub>Ca</sub>	=	calcium-dependent K <sup>+</sup> channel
K <sub>ATP</sub>	=	ATP sensitive K <sup>+</sup> channel
Kg.	=	kilogram
LN, LNA, L-NOARG, NLA,	=	N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine
L-NNA, NLA		
L-NAA	=	N <sup>G</sup> -amino-L-arginine
L-NAME	=	N <sup>G</sup> -amino-L-arginine methyl ester
L-NIL	=	N <sup>G</sup> -(1-iminoethyl)-L-lysine



คำย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

L-NIO	=	<i>N</i> <sup>G</sup> -iminoethyl-L-ornithine
L-NMMA	=	<i>N</i> <sup>G</sup> -monomethyl-L-arginine
LPS	=	lipopolysaccharide
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
NA	=	noradrenaline
NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NO	=	nitric oxide
NOS	=	nitric oxide synthase
cNOS	=	constitutive nitric oxide synthase
eNOS, ecNOS, NOS III	=	endothelial nitric oxide synthase
iNOS, NOS II	=	inducible nitric oxide synthase
mNOS, macNOS	=	macrophage nitric oxide synthase
nNOS, NOS I	=	neuronal nitric oxide synthase
P.E.	=	polyethylene tubing
PGE <sub>2</sub>	=	prostaglandin E <sub>2</sub>
PGF <sub>1α</sub>	=	prostaglandin F <sub>1α</sub>
PGF <sub>2α</sub>	=	prostaglandin F <sub>2α</sub>
PGG <sub>2</sub>	=	prostaglandin G <sub>2</sub>
PGH <sub>2</sub>	=	prostaglandin H <sub>2</sub>
PGHS	=	prostaglandin endoperoxide synthase
PGI <sub>2</sub>	=	prostacyclin
Phe	=	phenylephrine
PKC	=	protein kinase C
PKG	=	protein kinase G
PLC	=	phospholipase C
PNMT	=	Phenylethanolamine-N-Methyl-Transferase
Pro	=	propranolol

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

RT-PCR	=	reverse transcriptase-polymerase chain reaction
S.E.M.	=	standard error of mean value
SHR	=	Spontaneously Hypertensive Rat
SNP	=	sodium nitroprusside
Sw	=	swimming
TNF	=	tumor necrosis factor
TxA <sub>2</sub>	=	thromboxane A <sub>2</sub>
TxB <sub>2</sub>	=	thromboxane B <sub>2</sub>
Yoh	=	yohimbine

## 1. บทนำ

### บทนำต้นเรื่อง

การออกกำลังกายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบไหลเวียนเลือดทั้งในสัตว์ทดลองและในคน ผลดีต่อร่างกายที่สำคัญคือทำให้ลดอัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก (resting heart rate) (Overton, et al., 1988; Coat, et al., 1989) ลดความต้านทานรวมของหลอดเลือด (total peripheral resistance) (Tipton, et al., 1979; Coat, et al., 1989) และลดความดันโลหิตขณะพัก (resting blood pressure) (Tipton, et al., 1979; Coat, et al., 1989) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกที่ชัดเจนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้

ปัจจุบันมีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนว่า Endothelium Derived Relaxing Factor (EDRF) ซึ่งปัจจุบันยอมรับว่า EDRF คือ nitric oxide (NO) (Palmer, et al., 1987) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (vascular tone) NO หลังจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดทั้งการหลั่งได้เองตามปกติ (basal release) และการหลั่งเนื่องจากถูกกระตุ้น (stimulate release) โดยปัจจัยต่างๆทั้งทางเคมีและทางกายภาพ ปัจจัยทางเคมีได้แก่ acetylcholine (ACh) (Persson, et al., 1990), adenosine (Smits, et al., 1995), bradykinin (Nagao & Vanhoutte, 1992), serotonin (Salomone, et al., 1997), substance P (Ziche, et al., 1994),  $Ca^{2+}$  ionophores A23187 (Janssens, et al., 1992), ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Haung, et al., 1997), angiotensin II (Pueyo, et al., 1998), สารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ( $\alpha$ -adrenergic receptor agonists) (Kaneko & Sunano, 1993) และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา ( $\beta$ -adrenergic receptor agonists) (Gray & Marshall, 1992) สำหรับปัจจัยทางกายภาพได้แก่ แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) (Koller, et al., 1994) ขณะออกกำลังกายมีผลทำให้เพิ่มทั้งความแรงและอัตราการเต้นของหัวใจ เพิ่มการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อลายที่ใช้งาน ส่งผลให้เพิ่มแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าการออกกำลังกายอาจไปมีผลกระตุ้นเซลล์ผนังหลอดเลือดทำให้เพิ่มการหลั่ง NO จากเซลล์ผนังหลอดเลือดแล้วทำให้หลอดเลือดคลายตัว Maroun และคณะ (1995) วัดความเข้มข้นของ NO จากลมหายใจออกของคนที่ออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยาน เปรียบเทียบระหว่างขณะพักและขณะออกกำลังกายของกลุ่มคนที่ไม่ใช่ นักกีฬา กลุ่มคนที่ออกกำลังกายปานกลางและกลุ่มคนที่เป็ นักกีฬา พบว่าระดับ NO จากลมหายใจออกของกลุ่มนักกีฬาสูงกว่ากลุ่มอื่น เช่นเดียวกับที่ Phillips และคณะ (1996) วัดความเข้มข้นของ NO จากลมหายใจออกของคนขณะออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยาน พบว่าความเข้มข้นของ NO

จากลมหายใจออกเพิ่มขึ้นขณะออกกำลังกาย และเพิ่มขึ้นตามความแรงของการออกกำลังกาย Mill และคณะ (1996) วัดความเข้มข้นของ NO จากลมหายใจออกของม้าขณะออกกำลังกายโดยการวิ่งเหยาะๆ ด้วยความเร็วต่างๆ พบว่าความเข้มข้นของ NO จากลมหายใจออกเพิ่มขึ้นขณะออกกำลังกาย และเพิ่มขึ้นตามความแรงของการออกกำลังกาย Maxwell และคณะ (1998) วัดระดับ nitrate ซึ่งเป็น metabolite ที่เสถียรของ NO ในปัสสาวะของหนูเรื้อที่ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เปรียบเทียบระหว่างขณะพักก่อนออกกำลังกายและภายหลังออกกำลังกาย พบว่าระดับ nitrate ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นภายหลังออกกำลังกาย การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ด้วย *N*<sup>o</sup>-nitro-L-arginine (LNA) มีผลลดระดับ nitrate ภายหลังออกกำลังกายมากกว่าขณะพักก่อนออกกำลังกาย Patil และคณะ (1993) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณขาหลังของหนูเรื้อที่ภายหลังออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill จนเหนื่อย (45 นาที) โดยการวัดอัตราการไหลของเลือดใน iliac พบว่าการออกกำลังกายมีผลเพิ่มการสร้าง NO เนื่องจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย *N*<sup>o</sup>-amino-L-arginine methyl ester (L-NAME) มีผลลดอัตราการไหลของเลือดในกลุ่มออกกำลังกายมากกว่ากลุ่มควบคุม การเพิ่มการสร้าง NO ส่งผลให้การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine (Phe) ในกลุ่มออกกำลังกายต่ำกว่ากลุ่ม ควบคุม

ผลของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือด Oltman และคณะ (1992) ศึกษาการหดตัวตอบสนองของหลอดเลือดแดง coronary ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกในร่างกายของสุกรที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 16-22 สัปดาห์ วัดการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ KCl,  $PGF_{2\alpha}$ , endothelin หรือ noradrenaline (NA) พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ NA ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายต่ำกว่าของกลุ่มควบคุม แต่การตอบสนองต่อ KCl,  $PGF_{2\alpha}$  หรือ endothelin ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน Jansakul (1995) รายงานว่าการออกกำลังกายอย่างหนักโดยการให้หนูเรื้อว่ายน้ำเป็นเวลานาน 5-6 สัปดาห์ทำให้เพิ่มการผลิต NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดของหลอดเลือด thoracic aorta ในปี ค.ศ.1996 Chen และ Chiang ศึกษาการหดตัวตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ของ spontaneously hypertensive rat (SHR) และ normotensive rat ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกในร่างกายภายหลังการฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน drum exerciser นาน 10 สัปดาห์ พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ Phe, NA และ clonidine ของ SHR และ normotensive rat ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายต่ำกว่าของกลุ่มควบคุม และการลดการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อสารดังกล่าวสามารถถูกยับยั้งได้โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ต่อมาปี 1999 Jansakul และ Hirunpan พบว่าการออกกำลังกายดังกล่าวมีผลทำให้เพิ่มการผลิต NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของ

mesenteric arterial beds ด้วยทั้งการหลังได้เองตามปกติและการหลังจากการกระตุ้น โดยสารเคมีซึ่งส่งผลให้ลดการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าวต่อ KCl และ Phe

สำหรับการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อลายที่ใช้งานขณะพักภายหลังการฝึกออกกำลังกาย Sun และคณะ (1994) ศึกษาโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อลาย gracilis (gracilis arteriole) ในหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 4 สัปดาห์ พบว่าการออกกำลังกายมีผลทำให้เพิ่มการหลัง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด โดยพบว่า ACh หรือ L-arginine มีผลทำให้หลอดเลือดของกลุ่มออกกำลังกายคลายตัวได้มากกว่าของกลุ่มควบคุม และการคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าวสามารถยับยั้งได้โดยการทำลายเซลล์บุผนังหลอดเลือดหรือโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA ในปี ค.ศ. 1995 Koller และคณะศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดชนิดเดียวกันนี้ในหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายแบบเดียวกันนาน 3 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายมีผลทำให้เพิ่มการหลัง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA ทำให้การเพิ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด โดยเพิ่มการไหลของสารละลาย Krebs ในกลุ่มฝึกออกกำลังกายลดลงมากกว่าของกลุ่มควบคุม Kingwell และคณะ (1997) วัด forearm blood flow ของคนขณะที่มีการออกกำลังกายหลังจากการฝึกออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยานนาน 4 สัปดาห์พบว่าการหลัง NO จากหลอดเลือดบริเวณ forearm เพิ่มขึ้น และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย *N*<sup>c</sup>-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) มีผลทำให้ลด forearm blood flow ขณะออกกำลังกายมากกว่าขณะพัก Varin และคณะ (1999) ศึกษาโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงบริเวณกล้ามเนื้อลาย gracilis (gracilis artery) ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของหนูแร้ที่มีภาวะหัวใจล้มเหลวเรื้อรังหลังจากฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำนาน 10 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายมีผลทำให้เพิ่มการหลัง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด เนื่องจาก ACh หรือการเพิ่มอัตราการไหลของสาร มีผลทำให้หลอดเลือดของกลุ่มออกกำลังกายคลายตัวได้มากกว่าของกลุ่มควบคุม การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA ทำให้การเพิ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อการเพิ่มอัตราการไหลของสารในกลุ่มฝึกออกกำลังกายลดลงมากกว่าของกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ mRNA ของเอนไซม์ eNOS ของหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อ gracilis ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่าของกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตาม Wilson และ Kapoor (1993) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อลายปลายแขนของคนขณะที่มีการออกกำลังกายโดยการงอข้อมือ (wrist flexion) และวัด forearm blood flow พบว่าการฝึกออกกำลังกายไม่มีผลเพิ่มการหลัง NO เนื่องจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย L-NMMA ไม่มีผลเปลี่ยนแปลง forearm resistance ในการตอบสนองต่อ NA ในทำนองเดียวกัน Green และคณะ (1994) ศึกษาการ

ตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณแขนของคนที่ถูกออกกำลังกายโดยการบีบมือ วันละ 30 นาทีเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ในการตอบสนองต่อการขาดเลือดนาน 10 นาที (reactive hyperemia) การฉีด methacholine chloride หรือ sodium nitroprusside (SNP) เข้าทางหลอดเลือดแดง brachial พบว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้หลอดเลือดคลายตัวเพิ่มขึ้นแต่ไม่ได้เกิดจากการเพิ่มการผลิต NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด เนื่องจาก minimal vascular resistance ของแขนที่ใช้งานของกลุ่มฝึกออกกำลังกายลดลงภายหลังออกกำลังกาย แต่ forearm blood flow ในการตอบสนองต่อ methacholine chloride หรือ SNP ของแขนทั้ง 2 ข้างทั้งในกลุ่มฝึกออกกำลังกายและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน Green และคณะ (1996) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณแขนของนักกีฬาเทนนิสในการตอบสนองต่อการขาดเลือดนาน 5 นาที (reactive hyperemia blood flow) การฉีด ACh หรือ SNP เข้าทางหลอดเลือดแดง brachial พบว่าการออกกำลังกายทำให้เพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อการขาดเลือด แต่ไม่มีผลเพิ่มการผลิต NO เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง forearm blood flow ต่อการตอบสนองต่อ ACh, SNP หรือ L-NMMA ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างแขนที่ออกกำลังกายกับแขนที่ไม่ออกกำลังกาย Jasperse & Laughlin (1999) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ soleus ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งนาน 10-12 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายไม่มีผลทำให้เพิ่มการผลิต NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด เนื่องจากการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อการเพิ่มอัตราการไหลของสาร การกระตุ้นโดย ACh และ SNP หรือการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ KCl หรือ NA ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน ข้อขัดแย้งดังกล่าวเหล่านี้อาจเป็นไปได้ว่า วิธีการและ/หรือระยะเวลาของการฝึกออกกำลังกายอาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดประเภทต่างๆแตกต่างกัน เพื่อพิสูจน์ความเป็นไปได้ดังกล่าวนี้ การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณขาหลังซึ่งเป็นหลอดเลือดของกล้ามเนื้อลายที่ใช้งานขณะออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำโดยวิธีการและระยะเวลาของการฝึกออกกำลังกายตามวิธีการของ Jansakul (1995) และ Jansakul & Hirunpan (1999) ซึ่งได้เคยใช้ในการศึกษาผลของการฝึกออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta และหลอดเลือด mesenteric arterial beds ซึ่งเป็นหลอดเลือดบริเวณที่ไม่ได้ใช้งานในขณะออกกำลังกาย

การศึกษานี้จึงศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่ออัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก ความดันเลือดขณะพักและการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณขาหลัง (hindquarter vascular beds) ต่อ KCl ซึ่งเป็น depolarizing agent และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก (adrenergic receptor agonist) ได้แก่ phenylephrine, adrenaline, noradrenaline และ isoproterenol โดยดูความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือด รวมทั้งผลของการยับยั้งการสร้าง

prostaglandins ด้วย indomethacin และการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารดังกล่าว โดยมีสมมติฐานว่าการฝีกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำดังกล่าวอาจจะทำให้เพิ่มการผลิต NO และ/หรือ vasodilator prostaglandins จาก hindquarter vascular beds ส่งผลให้การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ สารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก

## ตรวจเอกสาร

### 1. การไหลเวียนเลือดไปยังกล้ามเนื้อลาย (Blood flow through the skeletal muscles)

ร่างกายมนุษย์ประกอบด้วยกล้ามเนื้อลายประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักร่างกาย ขณะพักกล้ามเนื้อลายได้รับเลือดประมาณร้อยละ 20 ของปริมาณเลือดที่หัวใจบีบตัวต่อนาที (cardiac output, CO) หรือประมาณ 3-4 มล.ต่อนาทีต่อกล้ามเนื้อ 100 กรัม ขณะออกกำลังกายหรือมีการทำงาน ปริมาณเลือดที่ไหลไปยังกล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้นจากขณะพักประมาณ 4 เท่า (ร้อยละ 80 ของ CO) และสามารถเพิ่มอัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะได้สูงสุดถึง 15-25 เท่าของขณะพักหรือประมาณ 50-80 มล.ต่อนาทีต่อกล้ามเนื้อ 100 กรัมขณะออกกำลังกายอย่างหนัก (Guyton, 1996) เพื่อนำออกซิเจนและสารอาหารไปยังกล้ามเนื้อที่ใช้งานให้เพียงพอกับความต้องการของเนื้อเยื่อ จากเหตุผลนี้อาจเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (vascular tone) ภายในกล้ามเนื้อลายอาจมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมปริมาณเลือดและการควบคุมความดันเลือดทั่วร่างกาย

### 2. การควบคุมการไหลเวียนเลือดไปยังกล้ามเนื้อลาย (Control of blood flow through the skeletal muscles)

การปรับการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อลายสามารถอธิบายได้ด้วยกฎของ Poiseuille (Poiseuille' law) ซึ่งอธิบายการไหลของ Newtonian fluid แบบ laminar flow ในท่อกลม ดังนี้

$$Q = \Delta P \pi r^4 / 8 \eta l$$

เมื่อ Q = การไหล (flow)

$\Delta P$  = ความดันที่แตกต่างกันระหว่าง 2 จุดในท่อ

(pressure difference across the tube)

r = รัศมีของท่อ (radius of the tube)

$\eta$  = ความหนืด (viscosity)

l = ความยาวของท่อ (length of the tube)

จากกฎของ Poiseuille นี้จะเห็นว่าขนาดของท่อหรือรัศมีของหลอดเลือดมีผลต่อความต้านทานและการไหลมากกว่าปัจจัยอื่น การเปลี่ยนแปลงขนาดหรือรัศมีของท่อเพียงเล็กน้อยจะมีผลต่อความต้านทานต่อการไหลและอัตราการไหลอย่างมาก



การไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อลายขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (diameter) ของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small artery) และหลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) (Ganong, 1997) ซึ่งถูกควบคุมโดยปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย คือ

#### 1. การควบคุมเฉพาะที่ (Local control)

ได้แก่ การปรับอัตราการไหลเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงระดับสาร metabolite ภายในเนื้อเยื่อ (local metabolite) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเฉพาะที่ การเปลี่ยนแปลงความดันที่ผนังหลอดเลือด และโดยสารที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด

#### 2. การควบคุมโดยฮอร์โมน (Hormonal control)

ได้แก่ adrenaline, noradrenaline, angiotensin II, acetylcholine และสารอื่นๆ ในเลือด

#### 3. การควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic control)

### 2.1 การควบคุมเฉพาะที่ (Local control)

#### 2.1.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิของเนื้อเยื่อทำให้หลอดเลือดแดงเล็กและหลอดเลือดดำคลายตัว (vasodilation) ในทางตรงกันข้ามเมื่อลดอุณหภูมิภายในเนื้อเยื่อลงทำให้หลอดเลือดตีบตัว (vasoconstriction)

#### 2.1.2 การเปลี่ยนแปลงความดันที่ผนังหลอดเลือด

โดยทั่วไปอัตราการไหลและความดันที่ทำให้เกิดการไหลจะมีความสัมพันธ์กัน คือ เมื่อความดันเพิ่มขึ้นอัตราการไหลก็จะเพิ่มขึ้นหรือถ้าความดันลดลงอัตราการไหลก็จะลดลง แต่สำหรับอัตราการไหลของเลือดในอวัยวะบางชนิดเช่น กล้ามเนื้อลาย มีอัตราการไหลของเลือดค่อนข้างคงที่แม้มีการเปลี่ยนแปลงความดันในหลอดเลือดแดง ทั้งนี้เกิดจากหลอดเลือดเล็กๆบริเวณ กล้ามเนื้อลายสามารถปรับขนาดได้เอง (autoregulation) เช่น เมื่อความดันเลือดแดงที่ไปยังอวัยวะลดลง ทำให้ความดันที่ผนังหลอดเลือดลดลง เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในอวัยวะจะคลายตัว (relaxation) ทำให้หลอดเลือดขยาย ความต้านทานต่อการไหลลดลง อัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะก็เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามถ้าความดันเลือดแดงที่ไปยังอวัยวะเพิ่มขึ้น ทำให้ความดันที่ผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้น เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในอวัยวะจะหดตัว (contraction) ทำให้หลอดเลือดตีบตัว ความต้านทานต่อการไหลเพิ่มขึ้น อัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะก็ไม่เพิ่มขึ้น

### 2.1.3 การเปลี่ยนแปลงระดับสาร metabolite ภายในเนื้อเยื่อ (local metabolite)

อวัยวะที่มีการทำงานเพิ่มขึ้นจะมี metabolism เพิ่มขึ้น ทำให้มีการสะสมของ metabolite เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) กรดแลคติก (lactic acid) โพแทสเซียมไอออน ( $\text{K}^+$ ) ไฮโดรเจนไอออน ( $\text{H}^+$ ) รวมทั้งสารที่เกิดจากการสลายตัวของ ATP ได้แก่ ADP, AMP, adenosine หรือภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ทำให้หลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อคลายตัว ทำให้อัตราการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อคลายเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังมีสารที่สร้างขึ้นเองภายในอวัยวะและมีผลต่อหลอดเลือดบริเวณนั้น เรียกว่า autacoid ได้แก่ histamine, serotonin และสารอื่นที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelium-derived substance)

### 2.1.4 สารที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Endothelium-derived substance)

เซลล์บุผนังหลอดเลือดทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมความตึงตัว (tone) ของหลอดเลือด (Griffith, et al., 1987; Ekelund & Mellander, 1990; Berdeaux, et al., 1994; Celermajer, et al., 1994; Stamler, et al., 1994; Alemany, et al., 1997; Yamakava, et al., 1997) โดยสามารถสร้างสารกลุ่ม vasodilator ได้แก่ NO (Palmer & Moncada, 1989; Ignarro, et al., 1990; Ekelund & Mellander, 1990; Sun, et al., 1992; Casino, et al., 1993; Jansakul, 1995; Jansakul & Hirunpan, 1999), Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) (Chen & Suzuki, 1990; Garland & McPherson, 1992; Zygmunt, et al., 1994; Yamakava, et al., 1997; Hansen & Olesen, 1997), prostacyclins ( $\text{PGI}_2$ ) (Frangos, 1985; Grabowski, et al., 1985; Rubanyi, et al., 1986; Koller, et al., 1994) และกลุ่ม vasoconstrictor ได้แก่ endothelin-1 (ET-1) (Yanagisawa, et al., 1988; Reynold & Mok, 1990; Haynes & Webb, 1994) และ thromboxane  $\text{A}_2$  ( $\text{TxA}_2$ ) (Reynolds & Mok, 1990) ในภาวะปกติขณะพัก (resting state) ความตึงตัวของหลอดเลือด (vascular tone) เกิดจากความสมดุลของสารที่ทำให้หลอดเลือดตีบตัวและคลายตัว ในที่นี้จะแยกกล่าวและกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะสารบางชนิดที่มีการศึกษาพบว่ามีความสำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อคลายเช่น nitric oxide และ prostacyclin

#### 2.1.4.1 Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF) หรือ nitric oxide (NO)

Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF) ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1980 โดย Furchgott และ Zawadzki ต่อมาในปี ค.ศ. 1987 Palmer และคณะพบว่า EDRF มีคุณสมบัติหลายประการเหมือน nitric oxide และได้รับการยืนยันโดย Ignarro และคณะ (1987)

### ก. การสังเคราะห์ NO

NO ถูกสังเคราะห์จากกรดอะมิโน L-arginine (Palmer, et al., 1988a และ Palmer, et al., 1988b) จากการเปลี่ยนแปลงในโคโรนอะตอมบนปลายของกลุ่มกัวนิดีนของกรดอะมิโน L-arginine (Iyenger, et al., 1987; Palmer, et al., 1988a; Palmer, et al., 1988b) โดยอาศัยเอนไซม์ NOS (Misko, et al., 1993) ได้สารตัวกลางคือ  $N^G$ -hydroxyl-L-arginine แล้วเปลี่ยนเป็น NO และได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม (Marletta, et al., 1988; Leone, et al., 1991; Janssens, et al., 1992; Nathan, 1992) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 โดยอาศัย  $O_2$ , NADPH (Janssens, et al., 1992; Nathan, 1992; White & Marletta, 1992), FAD, FMN (Janssens, et al., 1992; Tayeh & Marletta, 1989; White & Marletta, 1992),  $BH_4$  (Tayeh & Marletta, 1989), heme (White & Marletta, 1992) และ  $Ca^{2+}$  (Yui, et al., 1991; Hutcheson & Griffith, 1997; Demura, et al., 1998) และ calmodulin (CaM) (Gross, et al., 1991; Anggard, 1994) เป็นปัจจัยร่วม

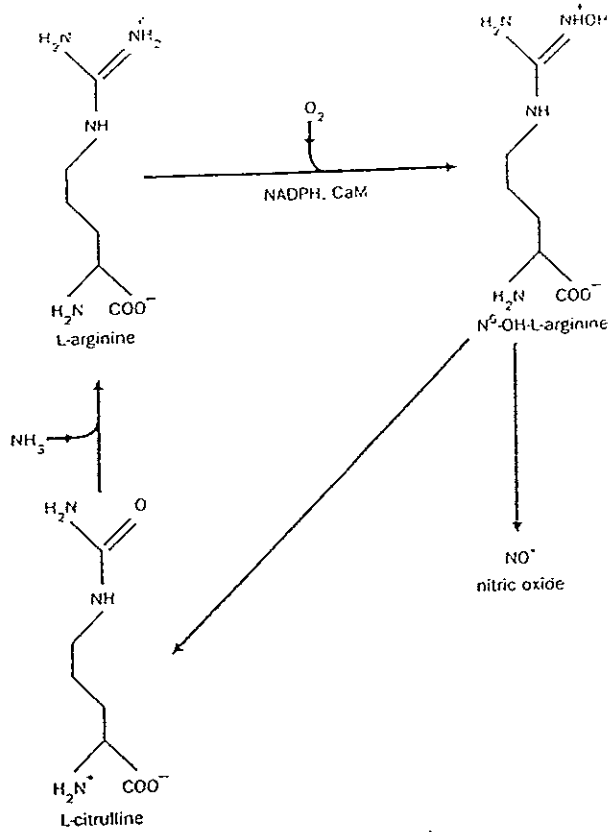
### ข. nitric oxide synthase (NOS)

เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสร้าง NO ปัจจุบันพบว่า NOS มีอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม (สารที่มีรูปร่างโครงสร้างต่างกันแต่เร่งปฏิกิริยาเดียวกัน) ได้แก่ neuronal NOS (nNOS, NOS I), inducible NOS (iNOS, NOS II) และ endothelial NOS (eNOS, NOS III) และสามารถบอกโครงสร้างของแต่ละไอโซฟอร์มทำให้เข้าใจการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น พบว่าเอนไซม์แต่ละไอโซฟอร์มมีโครงสร้างคล้าย cytochrome P450 โดยเฉพาะส่วน C-terminal ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นที่จับกับ NADPH, FAD และ FMN มีบทบาทในขบวนการขนส่งอิเล็กตรอน (electron transfer) ของ NADPH และ  $O_2$  ในการสังเคราะห์ NO สำหรับส่วน N-terminal เป็นตำแหน่งที่จับกับ L-arginine และ heme (Griffith & Stuehr, 1995) ดังรูปที่ 1.2

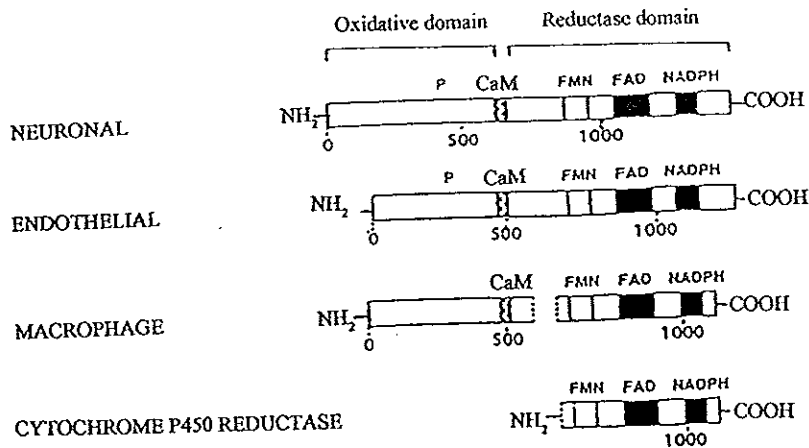
สามารถแบ่งเอนไซม์ตามลักษณะการสังเคราะห์ NO ได้เป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ

#### (1) Constitutive NOS (cNOS)

พบว่าการสังเคราะห์ NO ในภาวะปกติเกิดขึ้นเร็ว จึงเชื่อว่าการสร้าง NOS ไว้ก่อนแล้วเรียกว่า constitutive NOS (cNOS) แต่อยู่ในสภาพ inactive เมื่อมีการกระตุ้นให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะทำให้ cNOS ที่ถูกสร้างไว้ก่อนแล้วเปลี่ยนสภาพเป็น active, cNOS ได้แก่ endothelial NOS (eNOS, ecNOS หรือ NOS III) ซึ่งพบบริเวณเซลล์บุผนังหลอดเลือด เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Wood, et al., 1990) กล้ามเนื้อหัวใจ (Fukuchi, et al., 1998) และ neuronal NOS (nNOS หรือ NOS I) พบได้ในเซลล์หลายชนิดเช่น เซลล์ประสาท (Bredt, et al., 1990; Chakder, et al., 1997) เซลล์บุผนังหลอดเลือด (Janssens, et al., 1992) กล้าม



รูปที่ 1.1 แสดงการสร้าง NO โดยการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนอะตอมบนปลายของกลุ่มกัวนิดีนของกรดอะมิโน L-arginine ได้สารตัวกลางคือ N<sup>G</sup>-hydroxyl-L-arginine แล้วเปลี่ยนเป็น NO และได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม โดยอาศัย O<sub>2</sub>, NADPH และ CaM เป็นปัจจัยร่วม (ที่มา : Anggard, 1994)



รูปที่ 1.2 แสดงโครงสร้างของ Nitric Oxide Synthase (NOS), cytochrome P450 reductase และตำแหน่งที่ cofactor ชนิดต่างๆ จับกับ NOS (คัดแปลงจาก : Griffith & Stuehr, 1995)

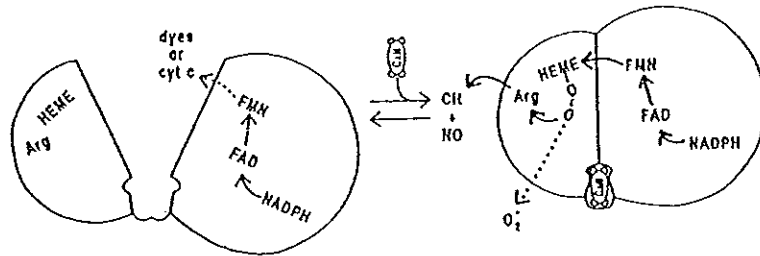
เนื้อเยื่อเรียบหลอดเลือด (Chakder, et al., 1997; Papadaki, et al., 1998) และกล้ามเนื้อลาย (Kobzik, et al., 1994; Reiser, et al., 1997; Hussain, et al., 1997; Fujii, et al., 1998) เป็นต้น

## (2) Inducible NOS (iNOS, Macrophage NOS, mNOS, macNOS)

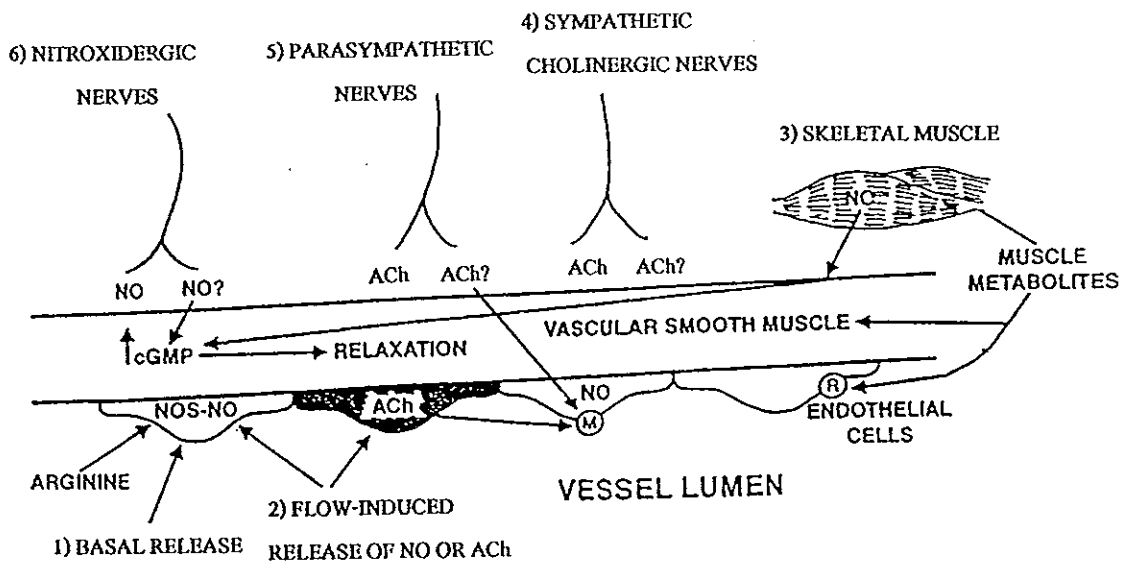
Inducible NOS (iNOS) หรือ NOS II เป็น NOS ที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นใหม่จากปัจจัยต่างๆที่เหมาะสม ไม่อาศัยแคลเซียมไอออนและ CaM ในการทำงาน (Gross, et al., 1991) พบได้ในไซโตพลาสซึมของแมคโครฟาจ (Marletta, et al., 1988) นิวโทรฟิล (Yui, et al., 1991) เซลล์บุผนังหลอดเลือด (Knowles, et al., 1990b) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Hirokawa, et al., 1994; Li, et al., 1997; Wang, et al., 1998) กล้ามเนื้อหัวใจ (Fukuchi, et al., 1998) รวมถึงเนื้อเยื่อต่างๆเช่นเซลล์ตับ (Knowles, et al., 1990a; Knowles, et al., 1990b; Moncada, et al., 1991; Scott, et al., 1996) ปอด (Knowles, et al., 1990a; Knowles, et al., 1990b) และเซลล์บุผนังหลอดลม (bronchiolar epithelial cell) (Shaul, et al., 1994) ปัจจัยต่างๆที่สามารถกระตุ้นการสร้าง iNOS ได้แก่ endotoxin (Santak, et al., 1997) เช่น lipopolysaccharide (LPS) (Scott, et al., 1996; Janoff, et al., 1997; Wang, et al., 1998; Kleschyov, et al., 1998) หรือ cytokine เช่น interferon- $\gamma$  (ITF- $\gamma$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Geiger, et al., 1997) และ interleukin-1 (Schini-Kerth, et al., 1994)

## ค. แหล่งที่สร้าง NO

NO นอกจากสร้างจาก (1) เซลล์บุผนังหลอดเลือด (Griffith, et al., 1987; Ekelund & Mellander, 1990) และ (2) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Nichols, et al., 1994; Jansakul & Hirunpan, 1999) แล้วยังสามารถสร้างจากบริเวณอื่นได้อีกเช่น (3) กล้ามเนื้อลาย (Balon & Nadler, 1994) ซึ่งกล้ามเนื้อลายสร้าง NO ที่เนื้อเยื่อได้โดยตรงหรือทางอ้อมจากสาร metabolite ที่สร้างขึ้นเมื่อเซลล์ทำงานเพิ่มขึ้นไปมีผลกระตุ้นตัวรับบนเซลล์บุผนังหลอดเลือด (4) ปลายประสาท sympathetic cholinergic (Loke, et al., 1994; Davisson, et al., 1997; Matsumoto, et al., 1997; Possas & Lewis, 1997) (5) ปลายประสาท parasympathetic cholinergic (Hedlund, et al., 1999) และ (6) ปลายประสาท nonadrenergic noncholinergic (Ignarro, et al., 1990; Toda & Okamura, 1992; Toda, et al., 1997) ทำให้ NO มีบทบาทต่อการทำงานของเซลล์เกือบทุกเซลล์ในร่างกาย แยกตามระบบต่างๆเช่น บทบาทต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด NO มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวอย่างแรง มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการไหลเวียนโลหิตเฉพาะที่ (local blood flow) (Vallance, et al., 1989; Alemany, et al., 1997) ความดันโลหิต (Rees, et al., 1989; Melo, et al., 1998) บทบาทต่อระบบประสาททั้งระบบประสาทส่วนกลางซึ่งมีผลต่อพฤติกรรมต่างๆเช่น การเรียนรู้ ความจำ



รูปที่ 1.3 แสดงบทบาทของ calmodulin (CaM) ต่อ cNOS เมื่อระดับ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นทำให้ CaM (ซึ่งเชื่อมระหว่าง reductase และ oxidative domain) จับกับ NOS แข็งแรงขึ้น ทำให้ อิเล็กตรอนที่ถูกถ่ายทอดจาก NADPH ในส่วน reductase domain สามารถส่งต่อมาให้แก่ FAD, FMN, heme และ L-arginine ในที่สุด (ที่มา : Griffith & Stuehr, 1995)



รูปที่ 1.4 แสดงแหล่งที่สร้าง NO (คัดแปลจาก : Joyner & Diatz, 1997)

การกิน และระบบประสาทส่วนปลายทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) บทบาทต่อระบบภูมิคุ้มกัน และระบบอื่นๆเช่น ระบบต่อมไร้ท่อ (Anggard, 1994; Lowenstein, et al., 1994) ระบบหายใจ (Matsumoto, et al., 1997) ระบบทางเดินอาหาร (Olgart & Iversen, 1999) ระบบทางเดินปัสสาวะ (Lahera & Khraibi, 1994; Manninig, et al., 1997) นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการควบคุมสมดุลของร่างกายอื่นๆเช่น ยับยั้งกระบวนการ adhesion ของเกร็ดเลือด (platelet) และเม็ดเลือดขาว (leukocyte) ต่อเซลล์ผนังหลอดเลือด (Kubes, et al., 1991 และ Gaboury, et al., 1993) ออกฤทธิ์ร่วมกับ prostacyclin ในการยับยั้งการเกิดการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด (platelet aggregation) (Salvemini, et al., 1989; Yao, et al., 1995) และควบคุมสภาพให้ซึมได้ของน้ำ (permeability) (Kobes & Granger, 1992; He, et al., 1997; He & Curry, 1997; Hinder, et al., 1997) เป็นต้น

#### ง. การกระตุ้นการสร้าง NO

ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นการหลั่ง NO จากเซลล์ผนังหลอดเลือดมี 2 ปัจจัยหลักคือ

(1) ปัจจัยทางเคมี (chemical stimuli) ได้แก่ acetylcholine (Ignarro, et al., 1987; Persson, et al., 1990; Tare, et al., 1990), ADP (Mitchell, et al., 1992), ATP (You, et al., 1997), adenosine (Smits, et al., 1995), bradykinin (Ignarro, et al., 1987; Nagao & Vanhoutte, 1992; Mitchell & Tyml, 1996; Ohlmann, et al., 1997), serotonin (Salomone, et al., 1997), histamine (Champion & Kadowitz, 1997), substance P (Ziche, et al., 1994; Quyyumi, et al., 1997), glutamate, thrombin (Nagao & Vanhoutte, 1992; Yang, et al., 1994),  $Ca^{2+}$  ionophores A23187 (Ignarro, et al., 1987; Janssens, et al., 1992),  $Cu^{2+}$  (Demura, et al., 1998), ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Ramsay, et al., 1995; Haung, et al., 1997; Skarsgard, et al., 1997; Nekoecian & Pang, 1998; Vagnoni, et al., 1998), angiotensin II (Pueyo, et al., 1998), อินซูลิน (Scherrer, et al., 1994; Steinberg, et al., 1994), สารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ( $\alpha$ -adrenergic receptor agonists) (Kaneko & Sunano, 1993, Chen, et al., 1994; Zschau, et al., 1997) และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา (Gray & Marshall, 1992; Grave & Poston, 1993; Cockcroft, et al., 1995; Rebich, et al., 1995; Chang, 1997; Charan, et al., 1997; Dawes, et al., 1997; Ming, et al., 1997; Majmudar, et al., 1999) เป็นต้น

(2) ปัจจัยทางกายภาพ (physical stimuli) ได้แก่ แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) (Koller, et al., 1994; Smalt, et al., 1997)

แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังของหลอดเลือด (shear stress,  $\tau$ ) คำนวณได้จาก  $\tau = 4\eta Q/\pi r^3$  เมื่อ  $\eta$  = ความหนืด (viscosity) ของสารเหลว  $Q$  = อัตราการไหลของสารเหลว

และ  $r =$  รัศมีของหลอดเลือด ดังนั้นการเพิ่มความหนืดหรืออัตราการไหลของสารเหลวหรือเลือดทำให้เพิ่มแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะและการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดดังนี้ (1) เปลี่ยนแปลง ionic conductance จากการเพิ่มระดับ secondary messenger เช่น inositol triphosphate (Davies & Babe, 1994) ทำให้เพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์บุผนังหลอดเลือดของหลอดเลือดต่างๆเช่น หลอดเลือดแดง pulmonary หลอดเลือดดำ umbilical (Mo, et al., 1991) หลอดเลือด aorta (Geiger, et al., 1992; Shen, et al., 1992; James, et al., 1995) และหลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อ cremaster (cremaster arteriole) (Falcone, et al., 1993; Falcone, 1995) แล้วไปมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ NOS (2) สร้าง transcriptional factor ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนและการสังเคราะห์โปรตีนทำให้เพิ่มการสังเคราะห์เอนไซม์ NOS และ endothelin-1 เป็นต้น (Davies & Babe, 1994)

มีหลักฐานการศึกษาที่แสดงว่าการเพิ่มความแรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือดมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด Smiesko และคณะ (1985) ทำการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกาย พบว่าการเพิ่มความเร็วในการไหลของเลือดทำให้มีการคลายตัวของหลอดเลือดแดงเล็ก femoral ของหนูแร้ท ต่อมาการศึกษาในหลอดเลือดชนิดอื่นๆเช่น หลอดเลือดแดง femoral ของสุนัข (Rubanyi, et al., 1986; Miller & Vanhoutte, 1988) หลอดเลือดแดงเล็ก mesenteric ของหนูแร้ท (Smiesko, et al., 1989) หลอดเลือดแดงเล็ก coronary ของสุกร (Kuo, et al., 1990) หลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อ cremaster ของหนูแร้ท (Koller & Kaley, 1990) หลอดเลือดแดง mesenteric ของกระต่าย (Pohl, et al., 1991) หลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อ gracilis ของหนูแร้ท (Koller, et al., 1994) หลอดเลือดแดง radius ของคน (Joannides, et al., 1995) หลอดเลือดแดง spinal ของกระต่าย (Yashiiro & Ohhashi, 1997) และหลอดเลือดดำฝอยบริเวณกล้ามเนื้อ gracilis (gracilis venules) ของหนูแร้ท (Koller, et al., 1998) พบว่ามีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว นอกจากนี้ Endlich และคณะ (1999) ทดลองโดยการวัด vascular conductance และการหดตัวในการตอบสนองต่อ angiotensin II ของหลอดเลือดบริเวณไตที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกาย พบว่าการเพิ่มความหนืดของสารเหลวทำให้หลอดเลือดบริเวณไตคลายตัว การคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าวเกิดจากการหลั่ง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้น (Knudsen & Frangos, 1997; Yashiiro & Ohhashi, 1997; Koller, et al., 1998; Endlich, et al., 1999)

#### จ. การยับยั้งการสร้าง NO

สารที่มีผลยับยั้งเอนไซม์ NOS (NOS inhibitor) สามารถยับยั้งการสร้าง NO ได้ ตัวอย่าง NOS inhibitor ได้แก่



## (1) L-arginine analogues

สารที่มีโครงสร้างคล้ายกรดอะมิโน L-arginine (L-arginine analogues) สามารถยับยั้งการสร้าง NO ได้โดยไปแข่งขันกับสารตั้งต้น (L-arginine) จับกับเอนไซม์ NOS (competitive inhibition) ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ได้แก่  $N^G$ -monomethyl-L-arginine (L-NMMA),  $N^G$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME),  $N^G$ -nitro-L-arginine (L-NOARG, NLA หรือ L-NNA) (Moore, et al 1990; Nagao, et al., 1992a),  $N^G$ -iminoethyl-L-ornithine (L-NIO),  $N^G$ -amino-L-arginine (L-NAA) และ  $N^G$ -(1-iminoethyl)-L-lysine (L-NIL) (Cochran, et al., 1996) เมื่อฉีดสารเหล่านี้เข้าไปในร่างกายของสัตว์ทดลองหรือคนมีผลยับยั้งการสร้าง NO ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัวและความดันเลือดเพิ่มขึ้น การให้ L-arginine ไม่มีผลโดยตรงต่อความดันโลหิตแต่จะทำให้ด้านการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งการทำงานของ NOS

## (2) Heme-Interacting Amino Acid Inhibitors

ได้แก่ L-thiocitrullin ( $N^{\delta}$ -thioureido-L-norvaline) เป็นสารที่มีโครงสร้างคล้าย L-citrullin (L-citrullin analogues) ซึ่งประกอบด้วย side chain ที่สามารถแข่งขันกับกลุ่มควินิโดโนของสารตั้งต้น (L-arginine) จับกับส่วน heme ของเอนไซม์ NOS

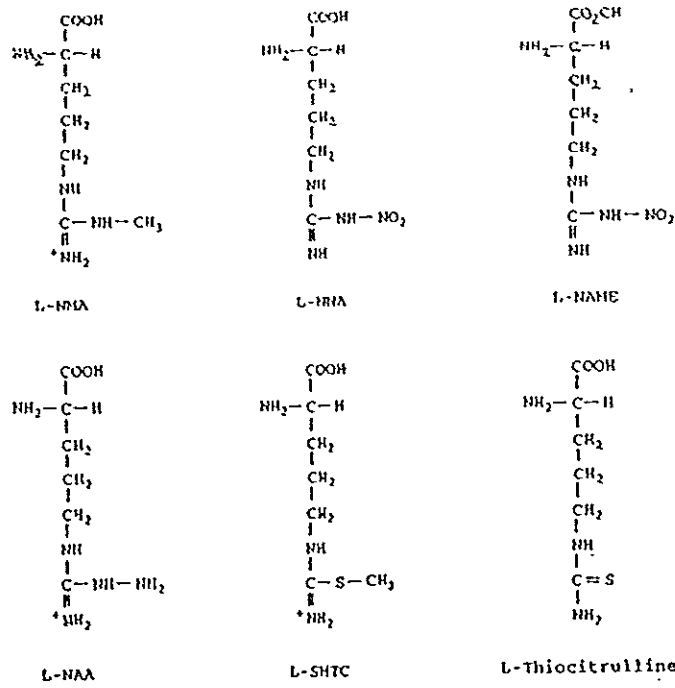
## (3) Low Molecular Weight, Non-Amino Acid Inhibitors

ได้แก่ flavin และ calmodulin antagonists เช่น aminoguanidines, alkyl guanidines, thioureas, several N-heterocycles (เช่น imidazole, phenylimidazoles, miconazole, clotrimazole, 7-nitroindazole และ ketoconazole (Griffith & Stuehr, 1995)

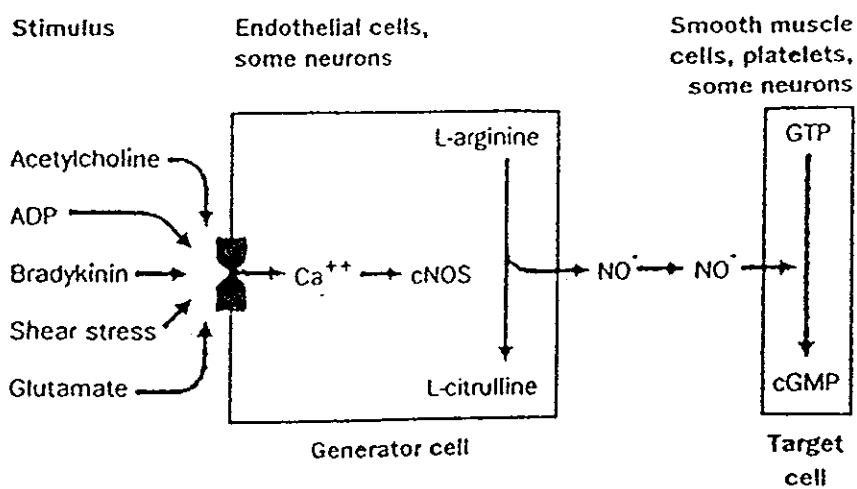
## ฉ. กลไกการออกฤทธิ์ของ NO ในการคลายตัวของหลอดเลือด

จากการกระตุ้นเซลล์บุผนังหลอดเลือดโดยปัจจัยทางเคมีหรือทางกายภาพ ดังกล่าวแล้ว ทำให้มีการเพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์บุผนังหลอดเลือดขึ้นชั่วคราว (transient) แคลเซียมจะจับกับ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex แล้วไปกระตุ้นเอนไซม์ NOS ได้ผลผลิตเป็น NO และได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม NO เป็นสารที่มีประจุเป็นกลาง (uncharged) ทำให้สามารถซึมผ่านเซลล์บุผนังหลอดเลือดไปยังกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้อย่างอิสระ และมีคุณสมบัติเป็น radical molecule คือเป็น โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ (unpaired electron) ทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ง่าย จึงมีค่าครึ่งชีวิตสั้น (3-5 วินาที) NO ทำให้หลอดเลือดคลายตัวโดยการกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) (Janssens, et al., 1992) ให้สลาย guanosine triphosphate (GTP) เป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ทำให้เพิ่มระดับ cGMP ภายในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Gruetter, et al., 1981; Ignarro, 1990; Cheung & Schulz, 1997; Darkow, et al., 1997) ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว กลไกที่

cGMP ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวยังไม่ทราบแน่ชัดแต่เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับ (1) การเปลี่ยนแปลง membrane potential ซึ่งมีผลต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด พบว่า  $K^+$  channel เป็นปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนแปลง membrane potential (Nelson, et al., 1990; Kitazono, et al., 1995) การกระตุ้น  $K^+$  channel ให้เปิดทำให้  $K^+$  เคลื่อนที่ออกจากเซลล์และเกิดภาวะ hyperpolarization ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Nagao & Vanhoutte, 1992) ทำให้ลดการเปิดของ voltage-dependent calcium channel (Tare, et al., 1990; Salomone, et al., 1997) ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง ชนิดของ  $K^+$  channel ที่เกี่ยวข้องยังไม่ทราบแน่ชัด มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับ ATP sensitive  $K^+$  channel ( $K_{ATP}$ ) (Garland & McPherson, 1992; Pakington, et al., 1995; Armstead, 1996a; Champion & Kadowitz, 1997; Gambone, et al., 1997; Janigro, et al. 1997) หรือ calcium-dependent  $K^+$  channel ( $K_{Ca}$ ) (Cooke, et al., 1991; Zygmunt & Hogestatt, 1996; Armstead, 1996b; Carrier, et al., 1997; Zhao, et al., 1997) แต่อย่างไรก็ตามยังมีรายงานที่ขัดแย้งกันกล่าวคือ Armstead (1997) และ Hansen & Olesen (1997) รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดโดย NO ไม่เกี่ยวข้องกับ  $K_{Ca}$  ขณะที่ Sobey & Faraci (1997) รายงานว่าไม่เกี่ยวข้องกับ  $K_{ATP}$  และ (2) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cGMP-dependent protein kinase (Rapoport, et al., 1983; Nishikawa, et al., 1984; Carrier, et al., 1997; Gao, et al., 1999) แล้วทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin light chain (Murad, 1986) ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ชนิดของ protein kinase เชื่อว่าได้แก่ protein kinase C ในปี 1993 Gopalakrishna และคณะรายงานว่า NO หรือ NO doner เช่น S-nitrosocysteine, S-nitroso-N-acetylpenicillamine และ sodium nitroprusside มีผลยับยั้งการทำงานของ protein kinase C เนื่องจากตัวกำจัด (scavenger) ของ NO เช่น oxyhemoglobin สามารถยับยั้งผลของ NO หรือ NO doner ต่อการทำงานของ protein kinase C ต่อมา Gao และคณะ (1999) รายงานว่า cGMP มีผลยับยั้งการทำงานของ protein kinase G (PKG) เนื่องจากสารยับยั้งการทำงานของ PKG สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดดำ pulmonary จากการตอบสนองต่อ cGMP



รูปที่ 1.5 แสดงโครงสร้างของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS  
(ที่มา : Griffith & Stuehr, 1995)



รูปที่ 1.6 แสดงกลไกการกระตุ้นการผลิต NO และการออกฤทธิ์ของ NO ต่อเซลล์เป้าหมาย  
(ที่มา : Anggard, 1994)

#### 2.1.4.2 Prostanoids

Prostanoids เป็นกลุ่มของสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของกรด arachidonic โดยเอนไซม์ 2 ขั้นตอนคือ

ขั้นตอนที่ 1 อาศัยเอนไซม์ prostaglandin endoperoxide synthase (PGHS) ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนคือส่วนที่ทำหน้าที่เป็น cyclooxygenase (COX) และส่วนที่ 2 ทำหน้าที่เป็น peroxidase (Katzung, 1992) ในขั้นตอนแรก COX ทำหน้าที่เติมออกซิเจน 2 อะตอมเข้าไปในกรด arachidonic ได้เป็น C15-hydroperoxy-C9,C11-endoperoxide (PGG<sub>2</sub>) จากนั้นเอนไซม์ส่วนที่ 2 ซึ่งทำหน้าที่เป็น peroxidase จะนำออกซิเจน 1 อะตอมออกจาก PGG<sub>2</sub> ได้เป็นสารตัวกลาง endoperoxide PGH<sub>2</sub> (Leffler, 1997) กระบวนการต่างๆในขั้นตอนที่ 1 เกิดที่ endoplasmic reticulum membrane เอนไซม์ PGHS พบได้ในเซลล์เกือบทุกชนิด

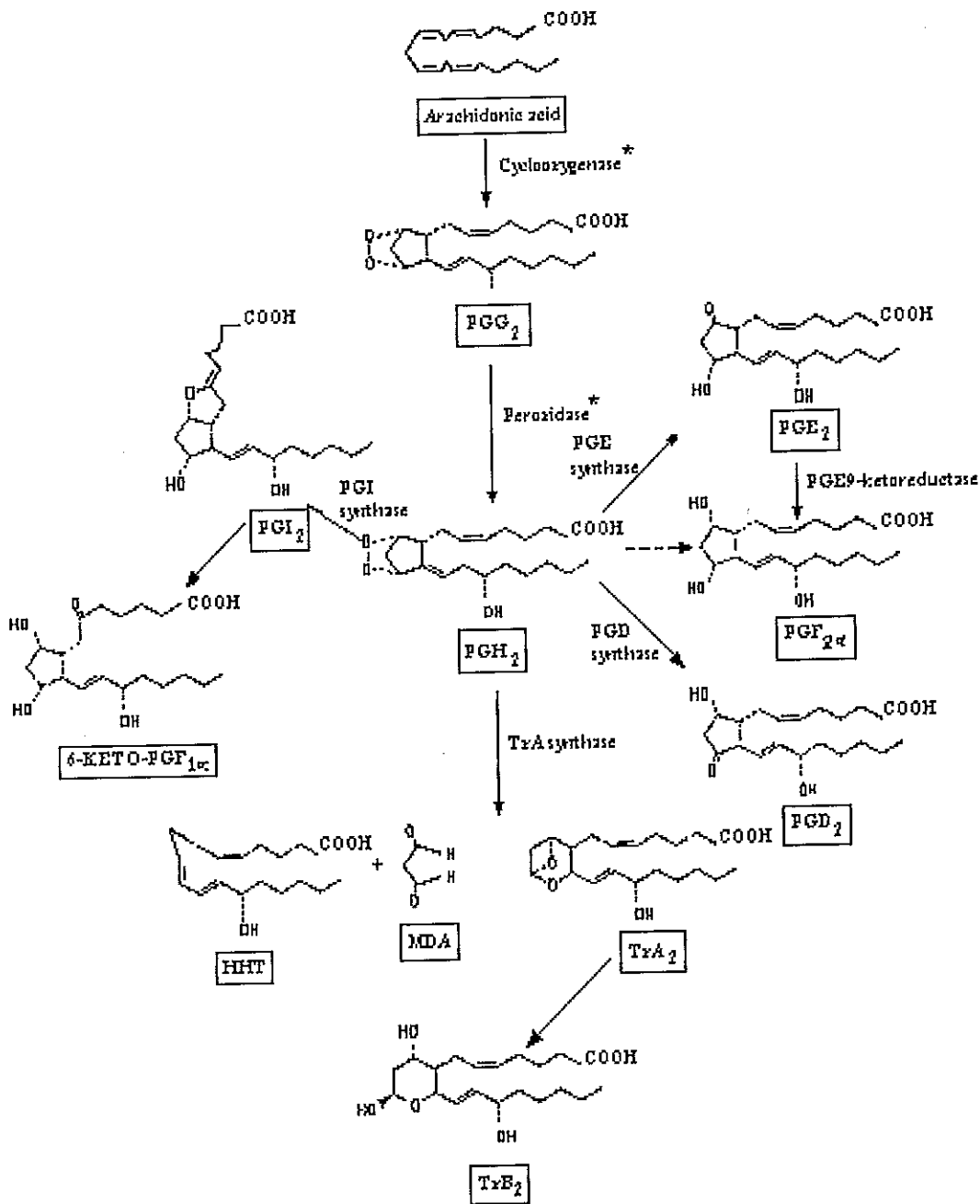
ขั้นตอนที่ 2 PGH<sub>2</sub> จะถูกเปลี่ยนเป็น prostanoids ต่างๆได้ 5 ชนิดตามชนิดของเอนไซม์ที่ปรากฏในเซลล์นั้นๆ (Leffler, 1997) ดังรูปที่ 1.7 เช่น thromboxane synthase ส่วนใหญ่พบบริเวณเกร็ดเลือดและแมคโครฟาจ (Katzung, 1992) เป็นต้น

เอนไซม์ PGHS ส่วนที่ทำหน้าที่เป็น COX มี 2 ไอโซไซม์คือ COX I (constitutive form) พบได้ในภาวะปกติในเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิด และ COX II (inducible form) ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับ การอักเสบ การเจริญเติบโต และการเกิด differentiation พบมากในแมคโครฟาจเมื่อมีการอักเสบ ปัจจัยที่มีผลกระตุ้น COX II ที่สำคัญได้แก่ growth factor, cytokine เช่น interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) และ endotoxin เช่น lipopolysaccharide (LPS) (Leffler, 1997)

ในที่นี้จะกล่าวถึงรายละเอียดของ prostanoids ที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือดและ/หรือเกี่ยวข้องกับการออกกำลังกายได้แก่ prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) และ thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>)

##### ก. Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>)

Prostacyclin สร้างจากสารตัวกลาง PGG<sub>2</sub> โดยเอนไซม์ prostacyclin synthase มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว มีความเสถียรต่ำ จะเปลี่ยนเป็น 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  ซึ่งเสถียรมากกว่าได้อย่างรวดเร็ว (Katzung, 1992) PGI<sub>2</sub> นอกจากจะสร้างได้เองขณะพักแล้วยังถูกสร้างเพิ่มขึ้นจากการกระตุ้น ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นการสร้าง PGI<sub>2</sub> ได้แก่ shear stress (Grabowski, et al., 1985; Koller, et al., 1994; Smalt, et al., 1997; Yashiro & Ohhashi, 1997), bradykinin (Hong & Deykin, 1982), thrombin (Jaffe, et al., 1987; Hallam, et al., 1988) และ ACh (Yashiro & Ohhashi, 1997) ปัจจัยดังกล่าวทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์ผนังหลอดเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Jaffe, et al., 1987;



รูปที่ 1.7 แสดงการสังเคราะห์ prostaglandins จากสาร phospholipids

เครื่องหมายดอกจัน หมายถึงขั้นตอนที่ใช้ cyclooxygenase และ peroxidase ถูกเร่งโดยเอนไซม์

เดียวกันคือ prostaglandin endoperoxide synthase (PGHS)

(ที่มา : Katzung, 1992)

**Central Library**  
**Prince of Songkhla Univ.**

Hallam, et al., 1988; Mo, et al., 1991; Shen, et al., 1992 และ Folcon, et al., 1993) ส่งผลให้เพิ่มการหลั่ง  $PGI_2$  จะเห็นได้ว่าปัจจัยกระตุ้นการสร้าง  $PGI_2$  เหมือนกับปัจจัยที่กระตุ้นการสร้าง NO จึงพบว่า  $PGI_2$  มีการหลั่งร่วมกับ NO (Rubanyi, et al., 1986; Carter & Pearson, 1992; Folcon, et al., 1993; Koller, et al., 1993; Gambone, et al., 1997; Koller, et al., 1998) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX ก็มีผลลดการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย (Chen, et al., 1997a) สารยับยั้งการสร้าง  $PGI_2$  ได้แก่ aspirin (Yashiro & Ohhashi, 1997) และ indomethacin (Parfenova, et al., 1995) ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX ส่วน indomethacin นอกจากจะยับยั้งการทำงานของ COX แล้วยังมีผลยับยั้งการทำงานของตัวรับ  $PGI_2$  ด้วย (Parfenova, et al., 1995)

กลไกการออกฤทธิ์ของ  $PGI_2$  ในการคลายตัวของหลอดเลือด

$PGI_2$  ที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดจะแพร่ไปยังกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด แล้วจับกับตัวรับบนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Leffler, 1997) แล้วมีผลกระตุ้นเอนไซม์ adenylase cyclase (AC) ทำให้เพิ่มการสะสม adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP) ภายในเซลล์ (Newby & Henderson, 1990; Parfenova, et al., 1995) ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว นอกจากนี้  $PGI_2$  ยังมีผลยับยั้งการหลั่ง endothelin-1 ซึ่งเป็นสารที่ทำให้หลอดเลือดตีบตัวจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Prins, et al., 1994; Razandi, et al., 1996)

#### ข. Thromboxane $A_2$ ( $TxA_2$ )

Thromboxane  $A_2$  สร้างจากสารตัวกลาง  $PGH_2$  โดยเอนไซม์ thromboxane synthase ซึ่งพบได้ที่เกร็ดเลือดและแมคโครฟาจ มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวและทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด (platelet aggregation) (Katzung, 1992) เมื่อ  $TxA_2$  จับกับตัวรับบนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Abe, et al., 1995) มีผลกระตุ้น protein kinase C (Perez-Vizcaino, et al., 1997 และ Ganong, 1997) ส่งผลให้เพิ่มระดับ inositol triphosphate ( $IP_3$ ) แล้ว  $IP_3$  ไปมีผลกระตุ้นการหลั่งแคลเซียมออกจาก endoplasmic reticulum (ER) ทำให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น (Himpens, et al., 1990; Katzung, 1992) ส่งผลให้หลอดเลือดตีบตัว

#### 2.1.4.3 Endothelium-Derived Hyperporalizing Factor (EDHF)

Endothelium-Derived Hyperporalizing Factor หมายถึงสารอื่นนอกเหนือจาก NO และ prostaglandins ซึ่งออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ EDRF แต่ไม่สามารถถูกยับยั้งด้วย L-arginine analogue, methylene blue หรือ hemoglobin (Chen, et al., 1988; Komori, et al., 1988; Mugge, et al., 1991; Fujii, et al., 1992) และไม่สามารถถูกยับยั้งด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase

(Chen, et al., 1988; Fujii, et al., 1992; Cohen, et al., 1995) ปัจจุบันยังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าสาร EDHF มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นอย่างไร อย่างไรก็ตามมีหลักฐานจากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า metabolite ของ cytochrome P450 (CYP 450) ซึ่งเป็นสาร eicosanoids ที่เปลี่ยนแปลงจากกรด arachidonic ทาง cytochrome P450 pathway น่าจะเป็น EDHF (Lischke, et al., 1995; Bakker & Sipkema, 1997; Ohlmann, et al., 1997) เนื่องจากพบว่าขณะที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA การคลายตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นโดย ACh (Lischke, et al., 1995; Bakker & Sipkema, 1997) หรือ bradykinin (Ohlmann, et al., 1997) สามารถถูกยับยั้งได้โดยสารยับยั้งเอนไซม์ cytochrome P 450 epoxygenase

EDHF ไม่มีการหลั่งได้เองตามปกติ (basal release) แต่หลังจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากการกระตุ้นโดยสารเคมีเช่น acetylcholine (Garland & McPherson, 1992; Zygmunt, et al., 1994; Parkington, et al., 1995; Bakker & Sipkema, 1997; Gambone, et al., 1997; Hansen & Olesen, 1997; Yamakawa, et al., 1997; Armstead, 1998; Yajima, et al., 1999), bradykinin (Olmos, et al., 1995; Gambone, et al., 1997; Ohlmann, et al., 1997), adenine nucleotide (Chen & Suzuki, 1991), substance P (Mugge, et al., 1991; Peterson, et al., 1995) และ  $Ca^{2+}$  ionophores A23187 (Chen & Suzuki, 1990; Gambone, et al., 1997) สารดังกล่าวเหล่านี้ทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์บุผนังหลอดเลือดเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้เพิ่มการหลั่ง EDHF จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Chen & Suzuki, 1990) การหลั่ง EDHF จำเป็นต้องมี calmodulin เกี่ยวข้องด้วย Nagao และคณะ (1992b) รายงานว่าการใช้ calmodulin antagonist สามารถยับยั้งการหลั่ง EDHF ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า  $PGI_2$  (Yajima, et al., 1999) และ NO (Bauersachs, et al., 1996) สามารถลดการหลั่งของ EDHF ได้

#### กลไกการออกฤทธิ์ของ EDHF ในการคลายตัวของหลอดเลือด

EDHF ทำให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยการกระตุ้นให้เกิดการเปิดของ  $K^+$  channel ทำให้  $K^+$  เคลื่อนออกจากเซลล์ เกิดภาวะ hyperpolarization ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Verbeuren, et al., 1990) แต่อย่างไรก็ตามชนิดของ  $K^+$  channel ที่เกี่ยวข้องดังกล่าวยังไม่ทราบแน่ชัด Lischke และคณะ (1995), Bakker & Sipkema (1997), Hansen & Olesen (1997) และ Zygmunt และคณะ (1997) รายงานว่า  $K^+$  channel ที่เกี่ยวข้องคือ calcium-dependent  $K^+$  channel ( $K_{Ca}$ ) ส่วน Itoh และคณะ (1992) เชื่อว่าเป็น ATP sensitive  $K^+$  channel ( $K_{ATP}$ ) ในขณะที่ Chataigneau และคณะ (1998) รายงานว่าการเกิดภาวะ hyperpolarization ไม่เกี่ยวข้องกับ  $K_{Ca}$  channel หรือ  $K_{ATP}$  channel (Garland & McPherson, 1992; Zygmunt, et al., 1994; Parkington, et al., 1995; Hansen & Olesen, 1997)

#### 2.1.4.4 Endothelin (ET)

Endothelin เป็นเปปไทด์ฮอร์โมน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 21 โมเลกุลเรียงต่อกัน และยึดกันด้วยพันธะ disulfide 2 ตำแหน่ง ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1988 โดย Yanagisawa และคณะ ET มีคุณสมบัติเป็นทั้งสารที่ทำให้หลอดเลือดตีบตัวอย่างแรงและทำให้หลอดเลือดคลายตัว ปัจจุบันสามารถแยก ET ได้เป็น 3 ชนิดคือ ET-1, ET-2 และ ET-3 โดย ET-1 เป็น ET ชนิดเดียวที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดและมีบทบาทในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (Pollock, et al., 1995) นอกจากนี้ ET-1 ถูกสร้างจากกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Levin, 1995) กล้ามเนื้อเรียบบริเวณทางเดินอาหาร (Yoshinaga, et al., 1992) และหัวใจส่วนเอเดรียล (Elton, et al., 1992) ได้ด้วย ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นการหลั่ง ET-1 ได้แก่ thrombin, adrenaline,  $Ca^{2+}$  ionophore A23187 (Vane, et al., 1990) endotoxin (Eakes, et al., 1997; Eakes & Olson, 1998) รวมทั้งการเพิ่มการไหลของเลือดซึ่งสามารถทั้งเพิ่มและลดการหลั่ง ET-1 (Miller & Burnett, 1992) พบว่า ET-1 หลั่งเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง หลอดเลือดแดงโคโรนารีแข็งและตีบ (coronary atherosclerosis) (Rossi, et al., 1999) กล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) และภาวะหัวใจล้มเหลวเรื้อรัง (chronic heart failure) (Teerlink, et al., 1994)

การแสดงฤทธิ์ของ ET ต่อหลอดเลือด

ET ออกฤทธิ์โดยการจับกับตัวรับ (receptor) ซึ่งมี 2 ชนิดย่อยคือ  $ET_A$  และ  $ET_B$  ตัวรับชนิด  $ET_A$  มีความจำเพาะกับ ET-1 มากกว่า ET-3 ประมาณ 10 เท่าและพบมากบริเวณเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและกล้ามเนื้อหัวใจ (Arai, 1990; Levin, 1995)  $ET_B$  ส่วนใหญ่พบบริเวณเซลล์บุผนังหลอดเลือด พบน้อยบริเวณเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ มีความจำเพาะกับ ET-1 เท่าๆกับ ET-3 (Levin, 1995) เมื่อ ET-1 จับกับตัวรับชนิด  $ET_A$  ที่หลอดเลือดทำให้หลอดเลือดตีบตัว (Hill, et al., 1997; Pannen, et al., 1997; Garcia-Villalon, et al., 1997; Stangl, et al., 1997) การฉีด ET-1 เข้าทางหลอดเลือดดำในสัตว์ทดลองที่สลบมีผลเพิ่มความต้านทานในหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงเพิ่มความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจ ลดปริมาตรเลือดที่หัวใจบีบตัวต่อนาทีและเพิ่ม mean circulatory filling pressure (Palacios, et al., 1997) การจับของ ET-1 กับตัวรับชนิด  $ET_B$  จะกระตุ้นให้มีการหลั่ง  $PGI_2$  (D' Orleans-Juste, et al., 1992; Matsuura, et al., 1997) และ NO (Tod & Cassin, 1992; Hirata, et al., 1995; Matsuura, et al., 1997) ส่งผลให้หลอดเลือดคลายตัว (Nakashima & Vanhoutte, 1993; Matsuura, et al., 1997; Palacios, et al., 1997; Pannen, et al., 1997) Wang และคณะ (1997b) รายงานว่าการจับของ ET-1 กับตัวรับทั้งชนิด  $ET_A$  และ  $ET_B$  ทำให้เกิดการตีบตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein) นอกจากนี้การจับของ ET-1 กับตัวรับชนิด  $ET_A$  บริเวณเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจะกระตุ้นการหลั่ง ANP จากเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (Rebsamen, et al., 1997)



กลไกการออกฤทธิ์ของ ET ที่ทำให้เกิดการตีบตัวของหลอดเลือด

ET ทำให้หลอดเลือดตีบตัวโดยการทำให้เพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Mitsuhashi, et al., 1989; Aramori & Nakanishi, 1992; Saita, et al., 1997; Zhang, et al., 1997a) เมื่อ ET-1 จับกับตัวรับชนิด  $ET_A$  บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะมีผล (1) กระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase (AC) (Grossman & Morgan, 1997) ส่งผลให้เพิ่มการสะสม cyclic adenosine monophosphate (cAMP) (Aramori & Nakanishi, 1992) แล้ว cAMP จะไปมีผลต่อ cAMP-dependent protein kinase ทำให้เกิด phosphorylation ของโปรตีน (2) กระตุ้น phospholipase C (PLC) (Resink, et al., 1988; Rubanyi & Polokoff, 1994; Zhang, et al., 1997a; Jones, et al., 1998) ส่งผลให้เพิ่มระดับ  $IP_3$  (VanReberghem, et al., 1988; Aramori & Nakanishi, 1992; Zhang, et al., 1997a) และ DAG (Rubanyi & Polokoff, 1994)  $IP_3$  ไปมีผลกระตุ้นการหลั่งแคลเซียมออกจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ ส่วน DAG มีผลเพิ่มการทำงานของ protein kinase C ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่ง  $Ca^{2+}$  ออกจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ (Bauer, et al., 1999) (3) กระตุ้น phospholipase D ทำให้เพิ่มระดับ DAG (Grossman & Morgan, 1997) (4) กระตุ้น phospholipase  $A_2$  (Resink, et al., 1989; Reynold, et al., 1989) ทำให้กระตุ้นการหลั่งสาร metabolite ของกรด arachidonic เช่น  $TxA_2$  (Reynold & Mok, 1990; Zaugg, et al., 1996),  $PGE_2$  (Simonson & Dunn, 1990) (5) กระตุ้น  $Ca^{2+}$  channel โดยตรง (Gardner, et al., 1992; Xuan, et al., 1994; Pollock, et al., 1995; Garcia-Villalon, et al., 1997) ทำให้แคลเซียมจากนอกเซลล์เคลื่อนที่สู่ภายในเซลล์ และ/หรือ (6) อื่นๆ ได้แก่ ET มีผลเสริมฤทธิ์ของสารที่ทำให้หลอดเลือดตีบตัวเช่น noradrenaline และ serotonin (Yang, et al., 1990) และมีผลกระตุ้นการหลั่งสารแกลทีคอลามีนจากต่อมหมวกไต (Yamaguchi, 1997)

## 2.2. การควบคุมโดยฮอร์โมน (Hormonal control)

### 2.2.1 แอดรีนาลินและนอร์แอดรีนาลิน (Adrenaline และ Noradrenaline)

Adrenaline (Adr) และ noradrenaline (NA) หลั่งจากต่อมหมวกไตชั้นใน ส่วน NA นอกจากหลั่งจากต่อมหมวกไตชั้นในแล้วยังหลั่งจากปลายประสาทซิมพาเทติกด้วย NA สร้างจากกรดอะมิโน tyrosine จากปฏิกิริยา hydroxylation และ decarboxylation ส่วน Adr สร้างจาก NA จากปฏิกิริยา methylation โดยเอนไซม์ Phenylethanolamine-N-Methyl-Transferase (PNMT) ซึ่งพบได้บริเวณต่อมหมวกไตชั้นใน เอนไซม์ PNMT สามารถถูกกระตุ้นการหลั่งโดย glucocorticoids (Ganong, 1997) ซึ่งจะหลั่งเพิ่มขึ้นเมื่อมีการออกกำลังกาย (Luger, et al., 1987; Esabella, et al., 1991) NA และ Adr เป็นสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกที่ไม่จำเพาะ (non-specific adrenergic receptor agonists) NA จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ในขณะที่ Adr จับกับ

ตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิดแอลฟาและบีตา การจับของ NA และ Adr กับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่หัวใจมีผลให้เพิ่มความแรงและอัตราการเต้นของหัวใจ (Ganong, 1997) แต่ถ้าจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่หลอดเลือดมีผลให้หลอดเลือดคลายตัว (Priest, et al., 1997) การจับของ NA และ Adr กับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาที่หลอดเลือดมีผลให้หลอดเลือดหดตัว (Marshall, 1982; Brock, et al., 1997)

### 2.2.2 เอสโตรเจน (Estrogen)

เอสโตรเจนเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมน เอสโตรเจนที่สำคัญที่ร่างกายสร้างเองตามธรรมชาติได้แก่  $17\beta$ -estradiol, estrone และ estriol โดย  $17\beta$ -estradiol เป็นชนิดที่สร้างมากที่สุดที่รังไข่ และมีความจำเพาะต่อตัวรับเอสโตรเจนมากกว่า estrone และ estriol สำหรับ estrone และ estriol ส่วนหนึ่งสร้างจากรังไข่แต่ส่วนใหญ่สร้างจากตับหรือเนื้อเยื่อทั่วไปจากสารตั้งต้นคือ androstenedione และ androgen ชนิดอื่นๆ เอสโตรเจนหลังจากเซลล์ theca interna และเซลล์ granulosa ของฟอลลิเคิล คอร์ปัสลูเทียมและรก (Katzung, 1992) ตัวรับเอสโตรเจนพบได้บริเวณเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Langub & Watson, 1992) บริเวณกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Orimi, et al., 1993) และกล้ามเนื้อหัวใจ (Walter, 1977) เอสโตรเจนมีบทบาทในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดโดยทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Van Buren, et al., 1992; Meyer, et al., 1997) เพิ่มการไหลของเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ ได้แก่ มดลูก (Van Buren, et al., 1992; Zhang, et al., 1997b) ปลายแขน (Volterrani, et al., 1995) และกล้ามเนื้อหัวใจ (Walter, 1977; Gilligan, et al., 1994; Guetta, et al., 1997) กลไกในการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนเหมือนสเตียรอยด์ฮอร์โมนทั่วไปคือจับกับตัวรับเฉพาะภายในเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฮอร์โมน-รีเซพเตอร์แล้วแพร่เข้าสู่นิวเคลียส ไปมีผลเกี่ยวข้องกับกลไกการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเพาะ บทบาทของเอสโตรเจนในการทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดทำงานผ่านทางเซลล์บุผนังหลอดเลือด พบว่าการทำลายเซลล์บุผนังหลอดเลือดมีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือด โดยเอสโตรเจน (Meyer, et al., 1997; Anderson, et al., 1999) เอสโตรเจนกระตุ้นให้มีการหลั่ง NO โดยกระตุ้นการสร้างและการทำงานของเอนไซม์ NOS (Weiner, et al., 1994; Lantin-Hermoso, et al., 1997; Wang, et al., 1997a) แต่ Anderson และคณะ (1999) รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดจากการได้รับเอสโตรเจนในระยะสั้นๆ (1 สัปดาห์) การทำงานไม่ผ่านทางเซลล์บุผนังหลอดเลือดแต่จะมีผลที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยตรงเนื่องจากพบว่าการทำลายเซลล์บุผนังหลอดเลือดไม่มีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดโดยเอสโตรเจนและเชื่อว่าการคลายตัวของหลอดเลือดจากการได้รับเอสโตรเจนในระยะสั้นๆ น่าจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสมดุลของแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

หลอดเลือดโดยการกระตุ้น voltage-dependent  $Ca^{2+}$  channel โดยตรง (Shan, et al., 1994; Zhang, et al., 1994) ทำให้ลดระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Shan, et al., 1994; Zhang, et al., 1994; Bhalla, et al., 1997) นอกจากนี้พบว่าเอสโตรเจนยังมีผลลดการทำงานของ angiotensin converting enzyme ทำให้ลดระดับ angiotensin II ในพลาสมา (Brosnihan, et al., 1997)

### 2.2.3 เอเตรียล นาทริยูเรติก เพปไทด์ (Atrial natriuretic peptide (ANP))

เอเตรียล นาทริยูเรติก เพปไทด์ (ANP) เป็นเพปไทด์ฮอร์โมนประกอบด้วยกรดอะมิโน 28 โมเลกุล สร้างจากเซลล์ granular ของกล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเตรียม (Mukoyama, et al., 1991; Claycombe, et al., 1995) จากการกระตุ้น โดยการเพิ่ม cardiac filling การถูกยืดของหัวใจส่วนเอเตรียม (Skvorak & Dietz, 1997) การได้รับ NaCl เพิ่มขึ้น การเพิ่มความดันเลือด (Ganong, 1997) และเมื่อมีการสร้าง NO น้อยลง (Skvorak & Dietz, 1997) ปัจจุบันพบว่า ANP นอกจากจะสร้างที่เอเตรียมแล้วยังพบว่าสามารถสร้างจากสมองส่วน hypothalamus และ brain stem เรียก brain natriuretic peptide (BNP) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 32 โมเลกุล (Gutkowska, et al., 1997) BNP นอกจากสร้างจากสมองแล้วยังสร้างจากหัวใจส่วนเอเตรียมและเวนทริเคิล (Mukoyama, et al., 1991) นอกจากนี้ ANP ยังสร้างจากระบบประสาทส่วนกลางหรือเซลล์บุผนังหลอดเลือดเรียก central natriuretic peptide (CNP) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 22 โมเลกุล (Suga, et al., 1992; Gutkowska, et al., 1997) ANP มีบทบาทในการควบคุมปริมาณสารน้ำในร่างกายและควบคุมความดันโลหิต (Gutkowska, et al., 1997; Melo, et al., 1998) ANP มีบทบาทในการควบคุมปริมาณสารน้ำในร่างกายโดยการลดความต้องการน้ำและเกลือ เพิ่มการขับน้ำและเกลือแร่ทางไต ANP มีบทบาทในการควบคุมความดันโลหิตโดยทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Chu & Cobb, 1987; Barer, et al., 1993; Supaporn, et al., 1996; Yamamoto, et al., 1997) กลไกการคลายตัวของหลอดเลือดโดย ANP เกิดจากการกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) ทำให้เพิ่มระดับ cGMP (Gutkowska, et al., 1997) นอกจากนี้ ANP ยังมีผลลดการหลั่ง renin จากไตทำให้ระดับ angiotensin II ลดลง ลดการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาเทติก และลดการหลั่ง vasopressin (Ganong, 1997)

### 2.2.4 แองจิโอเทนซินทู (Angiotensin II)

angiotensin II (AII) เป็นเพปไทด์ฮอร์โมนประกอบด้วยกรดอะมิโน 8 โมเลกุล สร้างขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ renin ที่หลั่งจากเซลล์ juxtaglomerular ที่ไตเปลี่ยน angiotensinogen ในพลาสมาได้เป็น angiotensin I (AI) แล้ว AI ถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อหลายชนิดโดยเฉพาะที่ปอดคือเอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE) ได้เป็น AII

ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมความดันโลหิต (Weishaar, et al., 1991) ระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน สามารถควบคุมความดันเลือดได้โดยวิธีการหลัก 2 วิธีคือการเพิ่มปริมาณเลือดในร่างกายและเพิ่มความต้านทานในหลอดเลือดส่วนปลาย AII มีผลเพิ่มปริมาณเลือดในร่างกายโดยมีผลกระตุ้นการหลั่ง vasopressin (ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดตีบตัว แม้ปริมาณ vasopressin ที่หลั่งในภาวะปกติไม่มากพอที่จะทำให้หลอดเลือดตีบตัวแต่มีผลต่อไตทำให้ลดการสูญเสียน้ำทางไต) และกระตุ้นการหลั่ง aldosterone ทำให้ไตดูดซึมน้ำและโซเดียมได้ดีขึ้น AII มีผลเพิ่มความต้านทานในหลอดเลือดส่วนปลายเนื่องจาก AII เองมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดตีบตัวอย่างแรงและเสริมกับผลทางอ้อมโดย AII มีผลกระตุ้นการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาเทติก (Ganong, 1997) กลไกที่ AII ทำให้หลอดเลือดตีบตัวเกิดได้โดยการจับของ AII กับตัวรับบริเวณเซลล์เมมเบรนทำให้ (1) กระตุ้น protein kinase C (Bauer, et al., 1999) ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่ง  $Ca^{2+}$  ออกจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ (Bauer, et al., 1999) และ (2) กระตุ้น L-type  $Ca^{2+}$ -channel ทำให้  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนเข้าสู่เซลล์ (Bauer, et al., 1999) ทำให้เพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (Somlyo & Somlyo, 1994; Horowitz, et al., 1996) ส่งผลให้เกิด phosphorylation ของ myosin light chain และการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด มีรายงานว่า AII มีผลกระตุ้นการสร้าง NO และ prostacyclin (Heinemann, et al., 1997)

### 2.3. การควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic control)

การควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic control) หลอดเลือดมีใยประสาทจากระบบประสาทอัตโนมัติมาเลี้ยง แบ่งออกได้ 3 กลุ่มคือ

2.3.1 ใยประสาท sympathetic vasoconstrictor

2.3.2 ใยประสาท sympathetic vasodilator

2.3.3 ใยประสาท parasympathetic vasodilator

#### 2.3.1 ใยประสาท sympathetic vasoconstrictor

หลอดเลือดในทุกส่วนของร่างกายรวมทั้งหลอดเลือดต้านทาน (resistance vessels) บริเวณกล้ามเนื้อหลายได้รับใยประสาท sympathetic vasoconstrictor ไปเลี้ยง (Fuxe & Sedvall, 1965; Ganong, 1997) ปลายประสาทชนิดนี้หลั่งสารสื่อประสาท NA ไปจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆคือตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ( $\alpha$ -adrenergic receptor) และตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา ( $\beta$ -adrenergic receptor) ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาแบ่งเป็น 2 ชนิดย่อยคือ  $\alpha_1$  และ  $\alpha_2$  ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\alpha_1$  สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้น

ได้แก่ phenylephrine และ methoxamine และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย prazosin ส่วนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\alpha_2$  สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ clonidine และ  $\alpha$ -methylnoradrenaline และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย yohimbine โดยสามารถยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\alpha_2$  ทั้งที่ตำแหน่ง presynapse และ postsynapse การกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\alpha_2$  ที่ presynapse มีผลยับยั้งการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาเทติก การกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\alpha_2$  ที่ postsynapse ทำให้หลอดเลือดหดตัว ส่วนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาแบ่งออกเป็น 3 ชนิดย่อยคือ  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  และ  $\beta_3$  ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\beta_1$  สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ dobutamine และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย metoprolol ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\beta_2$  สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ terbutaline และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย butoxamine สารที่สามารถจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิด  $\beta_1$  และ  $\beta_2$  ได้แก่ isoproterenol และสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิด  $\beta_1$  และ  $\beta_2$  ได้แก่ propranolol (Brody, et al., 1998) สำหรับที่หลอดเลือด NA ความเข้มข้นต่ำๆสามารถจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด  $\beta_2$  ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว (Marshall, 1982; Vatner, et al., 1985; Gustafsson, et al., 1990; Priest, et al., 1997) แต่ NA ความเข้มข้นสูงจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาทั้ง  $\alpha_1$  และ  $\alpha_2$  ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัว (Marshall, 1982; Zschauer, et al., 1997) โดยทั่วไปผลต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาเด่นกว่าจึงทำให้หลอดเลือดหดตัว การส่งกระแสประสาทในใยประสาทชนิดนี้ถูกควบคุมโดยศูนย์ควบคุมระบบไหลเวียนเลือดในสมองส่วน brain stem โดยผ่านวงจรของ baroreceptor reflex ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมความดันเลือด (Shi, et al., 1993; Grassi, et al., 1994; Chandler & DiCarlo, 1997)

### 2.3.2 ใยประสาท sympathetic vasodilator

หลอดเลือดต้านทาน (resistance vessels) บริเวณกล้ามเนื้อลายของสัตว์บางชนิดเช่น แกะ แพะ สุนัขจิ้งจอก (Bolme, et al., 1970) ได้รับทั้งใยประสาท sympathetic vasoconstrictor และใยประสาท sympathetic vasodilator ไปเลี้ยง ปลายประสาท sympathetic vasodilator หลังสารสื่อประสาท ACh ดังนั้นการกระตุ้นใยประสาทชนิดนี้จึงมีผลให้หลอดเลือดคลายตัว

### 2.3.3 ใยประสาท parasympathetic vasodilator

ปลายประสาท parasympathetic vasodilator หลังสารสื่อประสาท ACh มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว ในภาวะปกติใยประสาทชนิดนี้ไม่ทำงาน การคลายตัวของหลอดเลือดส่วน

ใหญ่เกิดจากการลดการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก แต่มีการศึกษาที่รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดแดง coronary ของสุนัขเกิดจากการหลั่ง ACh จากปลายประสาท parasympathetic แล้วไปมีผลกระตุ้นการสร้าง NO เนื่องจากพบว่าการฉีดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS เข้าไปในร่างกายสุนัขภายหลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกและยับยั้งการสร้างสาร prostaglandins ทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh หรือจากการกระตุ้นเส้นประสาท vagus ลดลงแต่ไม่ลดการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่อ nitroglycerine (Brotan, et al., 1992)

### 3. ผลของการออกกำลังกายต่อการทำงานของระบบไหลเวียนเลือด (Cardiovascular responses to exercise)

#### 3.1 ผลต่อหัวใจ

การออกกำลังกายมีผลต่อหัวใจทำให้ลดอัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก (resting heart rate) ทั้งในสัตว์ทดลอง (Lutgemeier, et al., 1987; Overton, et al., 1988; Musch, et al., 1991; McCoy, et al., 1993; Gava, et al., 1995; Chen, et al., 1997b; Collins & DiCarlo, 1997) และในคน (Coat, et al., 1989; Silber, et al., 1991; Grassi, et al., 1994; Shi, et al., 1995; Wilmore, et al., 1996; Chen, et al., 1997b; Shin, et al., 1997) ทำให้การเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกายลดลงภายหลังมีการฝึกออกกำลังกาย (Gava, 1995; Chen, et al., 1997b) แต่อย่างไรก็ตามกลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวยังไม่ทราบแน่ชัด Gava และคณะ (1995) และ Chen และคณะ (1997b) รายงานว่าการลดอัตราการเต้นของหัวใจขณะพักและการทำให้การเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกายลดน้อยลงภายหลังมีการฝึกออกกำลังกายใน SHR เกิดร่วมกับการลดการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปควบคุมการทำงานของหัวใจ (cardiac sympathetic) แต่เพิ่มการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่ไปควบคุมการทำงานของหัวใจ (vagal tone) (Shi, et al., 1995; Shin, et al., 1997) ในขณะที่ Kotona และคณะ (1982) พบว่าการลดอัตราการเต้นของหัวใจขณะพักของนักกีฬาไม่ได้เกิดจากการลดการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกหรือการเพิ่มการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่ไปควบคุมการทำงานของหัวใจ ต่อมาในปี ค.ศ.1987 Friedman และคณะศึกษาการตอบสนองของหัวใจต่อการฉีด isoproterenol ซึ่งเป็นสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาเข้าทางหลอดเลือดดำในสุนัขที่ออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 60 นาที เปรียบเทียบการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจในการตอบสนองต่อ isoproterenol ระหว่างก่อนออกกำลังกายและขณะพักภายหลังออกกำลังกาย พบว่าการเพิ่มอัตราการ

เต้นของหัวใจในการตอบสนองต่อ isoproterenol ขณะพักภายหลังออกกำลังกายลดลงเมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกาย ซึ่งผลดังกล่าวคาดว่าอาจเกิดจากการลดจำนวนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่หัวใจ ต่อมา Eysmann และคณะ (1996) ศึกษาการตอบสนองของหัวใจต่อ isoproterenol โดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำเช่นเดียวกัน ในคนที่ออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยานช่วงสั้นๆ (10 นาที) และออกกำลังกายจนเหนื่อย (95 นาที) เปรียบเทียบการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจในการตอบสนองต่อ isoproterenol ระหว่างก่อนออกกำลังกายและขณะพักภายหลังออกกำลังกาย และวัดจำนวนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาจาก lymphocyte พบว่าการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจในการตอบสนองต่อ isoproterenol ลดลงภายหลังออกกำลังกายเมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกาย แต่จำนวนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่ lymphocyte ไม่เปลี่ยนแปลง

### 3.2 ผลต่อหลอดเลือด

การออกกำลังกายมีผลต่อหลอดเลือดทำให้ลดความต้านทานรวมของหลอดเลือดส่วนปลาย (total peripheral resistance) ทั้งในสัตว์ทดลอง (Tipton, et al., 1979) และในคน (Coat, et al., 1989; Cleroux, et al., 1992; Piepoli, et al., 1993; Halliwill, et al., 1996; Kingwell, et al., 1997) ลดความต้านทานของหลอดเลือดบริเวณอวัยวะที่ใช้งานเช่น ขาหลังในสัตว์ทดลอง (Laughlin & Ripperger, 1987; Sexton, et al., 1988; Lash, et al., 1989) ทำให้เพิ่มการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อหลายขณะที่มีการออกกำลังกายทั้งในสัตว์ทดลอง (Laughlin & Armstrong, 1982; Musch, et al., 1987; Martin III, et al., 1990; Musch, et al., 1991; O'Leary, et al., 1994; McAllister, et al., 1995) และในคน (Sinoway, et al., 1987; Kingwell, et al., 1997) รวมทั้งเพิ่มการไหลของเลือดไปยังกล้ามเนื้อหลายขณะพักภายหลังการออกกำลังกายในสัตว์ทดลอง (Endo, et al., 1994) และภายหลังการฝึกออกกำลังกายเป็นเวลานานในคน (Katz, et al., 1997) กลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเกิดจาก (1) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด (anatomical vascular adaptation) มีรายงานพบว่าการเพิ่มจำนวนและความหนาแน่นของหลอดเลือด capillary ที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อลายในคน (Brodal, et al., 1977; McCall, et al., 1996) และในสัตว์ทดลอง (Lash & Bohlen, 1992; Gute, et al., 1996; Suzuki, et al., 1997) เพิ่มจำนวนและความหนาแน่นของหลอดเลือด capillary (White, et al., 1998) และ arteriole ที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ (Breisch, et al., 1986) เพิ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดง coronary (Bove & Dewey, 1985) ส่งผลให้ลดความต้านทานของหลอดเลือด และเพิ่มความหนาของผนังหลอดเลือดแดง (Segal, et al., 1993) และ/หรือ (2) การปรับเปลี่ยนการทำงานของหลอดเลือด (functional vascular adaptation) มีรายงานพบว่าการเพิ่มระดับ growth factors ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือดหรือต่อการสร้าง

collateral vessel เช่น IGF-1 (Hornum, et al., 1997), bFGF (Yang, et al., 1998) เพิ่มระดับสาร metabolite บางชนิดที่ทำให้หลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อลายที่ใช้งานขยายตัวเช่น ATP (Hashimoto, et al., 1999; Starritt, et al., 1999), adenosine (Proctor & Duling, 1982),  $K^+$  (Kiens, et al., 1989; Wilson, et al., 1994; MacLean, et al., 1998), phosphate (MacLean, et al., 1998) และ lactate (Galliven, et al., 1997) รวมทั้งมีผลกระตุ้นให้เพิ่มการสร้างและหลั่งสารที่มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวเช่น NO (Delp, et al., 1993) และ/หรือ prostacyclin (Lang, et al., 1997) ส่งผลให้ลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว

สำหรับการตอบสนองของหลอดเลือดต่างๆหลังการฝึกออกกำลังกาย พบว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้เพิ่มการหลั่ง NO จากหลอดเลือด ส่งผลให้การตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวลดลง Delp และคณะ (1993) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด abdominal aorta ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill 10-12 สัปดาห์ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกาย พบว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้เพิ่มการหลั่ง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด เนื่องจากพบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่าของกลุ่มควบคุม แต่การหดตัวของหลอดเลือดโดย KCl และ NA ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายต่ำกว่าของกลุ่มควบคุม การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย L-NAME มีผลทำให้การเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายลดลงมากกว่าของกลุ่มควบคุม และการทำลายเซลล์บุผนังหลอดเลือดไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ KCl แต่ทำให้เพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ NA ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายแต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดของกลุ่มควบคุม Lash และคณะ (1993) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณขาหลัง (hindlimb vascular beds) และหลอดเลือดบริเวณลำไส้ (intestinal vascular beds) ภายในร่างกายของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 9-11 สัปดาห์โดยการวัด hindlimb resistance, hindlimb blood flow, intestinal resistance, intestinal blood flow และความดันโลหิตในการตอบสนองต่อการฉีด Phe เข้าทางหลอดเลือดดำ พบว่าการฝึกออกกำลังกายมีผลลดการตอบสนองของหลอดเลือดบริเวณลำไส้ต่อ Phe เนื่องจากการฉีด Phe ทำให้หลอดเลือดบริเวณลำไส้ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายหดตัวน้อยกว่าของกลุ่มควบคุม ส่งผลให้การลด intestinal blood flow ในการตอบสนองต่อการฉีด Phe ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายน้อยลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Wang และคณะ (1993) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดง coronary ในร่างกายโดยการวัด coronary blood flow ในสุนัขที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 1 สัปดาห์ พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดแดง coronary ต่อ ACh ซึ่งฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่า



ของกล้ามเนื้อ และการคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าวสามารถยับยั้งได้โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA ในปี ค.ศ.1994 Muller และคณะศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดง coronary ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของสุกรที่ฝึกออกกำลังกายอย่างหนักโดยการวิ่งบน treadmill นาน 16-20 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายดังกล่าวทำให้เพิ่มการผลิต NO เนื่องจากพบว่ามีการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ bradykinin ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่าของกลุ่มควบคุม แต่การคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ adenosine หรือ SNP ไม่แตกต่างกัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย L-NMMA มีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ bradykinin ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายมากกว่าของกลุ่มควบคุม Delp และคณะ (1995) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด abdominal aorta ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของหนูแร้ที่ เป็น hypothyroid และฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 10 สัปดาห์ พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่าของกลุ่มควบคุม แต่การคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ SNP หรือ forskolin ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน Delp และ Laughlin (1997) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด abdominal aorta ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของหนูแร้ที่ขณะพักภายหลังการออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 1 วัน และ 1, 2, 4 และ 10 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายนาน 4 และ 10 สัปดาห์ทำให้เพิ่มการผลิต NO จากหลอดเลือด เนื่องจาก ACh มีผลทำให้เพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดของกลุ่มฝึกออกกำลังกายมากกว่าของกลุ่มควบคุมและการเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าวสามารถยับยั้งได้ด้วย L-NAME ในปี ค.ศ. 1997 Jungersten และคณะใช้วิธีวัดระดับ nitrate ในปัสสาวะและปัสสาวะขณะพักภายหลังการออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยานในคน เปรียบเทียบระหว่างนักกีฬาและกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช่นักกีฬา พบว่าระดับ nitrate ขณะพักของนักกีฬาสูงกว่าของกลุ่มควบคุม Jonsdottir และคณะ (1998) วัดระดับ nitrate ในปัสสาวะของ SHR ขณะพักภายหลังออกกำลังกายโดยการวิ่งบน wheel นาน 3-35 วัน พบว่าระดับ nitrate ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นหลังออกกำลังกายนาน 35 วันเมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกาย

การเพิ่มการสร้าง NO ภายหลังการฝึกออกกำลังกายเป็นผลมาจากมีการเพิ่มการสร้างเอนไซม์ NOS ในปี ค.ศ. 1994 Sessa และคณะเป็นกลุ่มแรกที่รายงานว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้เพิ่มการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ NOS ศึกษาโดยใช้เทคนิค Northern blot วัดระดับ mRNA ของเอนไซม์ eNOS จากหลอดเลือด thoracic aorta ของสุนัขที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 10 วัน พบว่าระดับ mRNA ของเอนไซม์ eNOS จากหลอดเลือด thoracic aorta ของสุนัขที่ฝึกออกกำลังกายสูงกว่ากลุ่มควบคุม และวัดระดับ nitrite ที่เพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นโดยการเพาะป่ม (incubate) ด้วย ACh จากหลอดเลือดแดง coronary พบว่า ACh มีผลทำให้ระดับ nitrite

จากหลอดเลือดแดง coronary ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายสูงกว่าของกลุ่มควบคุม ต่อมา Balon และ Nadler (1997) ใช้เทคนิคทางชีวเคมีและเทคนิค Western blot ศึกษาปริมาณโปรตีนที่จำเพาะของ เอนไซม์ NOS จากเซลล์กล้ามเนื้อ soleus ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ NOS type I และ type III จากเซลล์กล้ามเนื้อ soleus ในกลุ่มฝึกออกกำลังกายเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Delp และ Laughlin (1997) ใช้เทคนิค Immuno blot ศึกษาปริมาณโปรตีนที่จำเพาะของเอนไซม์ NOS จากหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 1 วันและ 1, 2, 4 และ 10 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโปรตีนที่จำเพาะของเอนไซม์ NOS จากหลอดเลือดของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกาย เป็นเวลานาน 4 และ 10 สัปดาห์สูงกว่าของกลุ่มควบคุม Woodman และคณะ (1997) ใช้วิธี reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) วัดระดับ mRNA ของเอนไซม์ eNOS จาก หลอดเลือดแดง coronary ของสุกรที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 16 สัปดาห์พบว่าระดับ mRNA ของเอนไซม์ eNOS จากหลอดเลือดแดง coronary ของสุกรที่ฝึกออกกำลังกายเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

แต่อย่างไรก็ตามผลของการฝึกออกกำลังกายต่อการตอบสนองของหลอดเลือดยังมีรายงานที่ขัดแย้งกัน Roger และคณะ (1991) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดง coronary ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของสุนัขที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 11 สัปดาห์ พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดต่อการกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย adrenaline หรือ NA หลังจากที่ยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาด้วย phentolamine หรือต่อ isoproterenol และการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ NA หรือ Phe ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน Jasperse & Laughlin (1999) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ soleus ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่ง นาน 10-12 สัปดาห์โดยวัดการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ NA พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ NA ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน ในทำนองเดียวกัน Mitani และคณะ (1999) ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดง pulmonary ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกายต่อ ACh ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill นาน 10 สัปดาห์ พบว่าการฝึกออกกำลังกายไม่มีผลเพิ่มการผลิต NO จากหลอดเลือดแดง pulmonary

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstrictor agents) ได้แก่ โปแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก (adrenergic receptor agonist; phenylephrine, adrenaline, noradrenaline และ isoproterenol)
2. ศึกษากลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อสารดังกล่าว

## 2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### วัสดุ

#### สัตว์ทดลอง

ใช้หนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar เพศเมียอายุ 4-5 เดือนซึ่งมีน้ำหนักในวันเริ่มต้น 250-350 กรัมและมีวงจรสืบพันธุ์ (estrous cycle) ปกติอย่างน้อย 2 รอบ จากเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลี้ยงในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 25 °ซ. สัตว์ส่วนระหว่างความมืดและแสงสว่าง 12:12 ชั่วโมง โดยให้มีอาหารสำเร็จรูปและน้ำประปาตลอดเวลา แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

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

เป็นกลุ่มสัตว์ทดลองที่ไม่ต้องว่ายน้ำแต่เลี้ยงไว้ห้องเดียวกับกลุ่มว่ายน้ำตลอดช่วงระยะเวลาที่กลุ่มทดลองว่ายน้ำประมาณ 5 สัปดาห์ โดยก่อนการทดลองจะบันทึกน้ำหนักตัวไว้

#### 2. กลุ่มทดลอง (exercise training group)

ให้สัตว์ทดลองว่ายน้ำตามวิธีของ Jansakul (1995) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ohkubo และคณะ (1992) โดยให้หนูแร้ทว่ายน้ำในถัง fiber glass ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 ซม. สูง 70 ซม. บรรจุน้ำประปาให้มีระดับความลึกประมาณ 45 ซม. ที่อุณหภูมิห้อง 27-28 °ซ ในการว่ายน้ำแต่ละครั้งให้หนูแร้ทว่ายน้ำในถังดังกล่าวครั้งละ 12 ตัว โดยมีตารางการว่ายน้ำดังนี้

วันที่ 1 ว่ายน้ำนาน 10 นาที เวลา 8.00-8.10 น.

วันที่ 2 ว่ายน้ำนาน 20 นาที เวลา 8.00-8.20 น.

วันที่ 3 ว่ายน้ำนาน 30 นาที เวลา 8.00-8.30 น.

วันที่ 4 ว่ายน้ำนาน 40 นาที เวลา 8.00-8.40 น.

วันที่ 5 ว่ายน้ำนาน 50 นาที เวลา 8.00-8.50 น.

วันที่ 6 ว่ายน้ำนาน 60 นาที เวลา 8.00-9.00 น.

วันที่ 7 ว่ายน้ำนาน 70 นาที เวลา 8.00-9.10 น.

วันที่ 8 ว่ายน้ำนาน 80 นาที เวลา 8.00-9.20 น.

วันที่ 9 ว่ายน้ำนาน 90 นาที เวลา 8.00-9.30 น.

วันที่ 10 แบ่งการว่ายน้ำออกเป็น 2 ช่วง คือช่วงเช้าและช่วงบ่ายดังนี้

ช่วงเช้าว่ายน้ำนาน 50 นาที เวลา 8.00-8.50 น.

ช่วงบ่ายว่ายน้ำนาน 50 นาที เวลา 14.00-14.50 น.

วันที่ 11 ช่วงเช้าว่ายน้ำนาน 60 นาที เวลา 8.00-9.00 น.

ช่วงบ่ายว่ายน้ำนาน 60 นาที เวลา 14.00-15.00 น.

วันที่ 12 ช่วงเช้าว่ายน้ำนาน 70 นาที เวลา 8.00-9.10 น.

ช่วงบ่ายว่ายน้ำนาน 70 นาที เวลา 14.00-15.10 น.

วันที่ 13 ช่วงเช้าว่ายน้ำนาน 80 นาที เวลา 8.00-9.20 น.

ช่วงบ่ายว่ายน้ำนาน 80 นาที เวลา 14.00-15.20 น.

วันที่ 14 ช่วงเช้าว่ายน้ำนาน 90 นาที เวลา 8.00-9.30 น.

ช่วงบ่ายว่ายน้ำนาน 90 นาที เวลา 14.00-15.30 น.

และให้สัตว์ทดลองว่ายน้ำวันละ 2 รอบๆละ 90 นาทีเช่นนี้ต่อไปอีก 2 สัปดาห์ สัตว์ทดลอง  
ทุกตัวนำไปศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดในสัปดาห์ถัดไป

### อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
2. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermostat-heater-circulator), Model D1, HAAKE, ประเทศเดนมาร์ก
3. เครื่องปั๊มสารละลายต่อเนื่อง (peristaltic pump), Model Miniplus 3, Gilson, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เครื่องโพลีกราฟ (polygraph), Model 7D พร้อมอุปกรณ์ประกอบด้วย tachograph preamplifier (Model 7P44B) และ pressure transducer (Model StathamP2), Grass, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด Model AE200, Mettler, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
6. ไปเปตต์อัตโนมัติ (automatic pipettes) Model 5000, Nichiryo, ประเทศญี่ปุ่น
7. ก๊าซคาร์โบเจน (carbogen) ซึ่งเป็นส่วนผสมของ  $O_2$  ร้อยละ 95 และ  $CO_2$  ร้อยละ 5

### ยานและสารเคมี

1. สารละลายเครบส์ (Krebs' Heinsleit solution) ซึ่งเป็น physiological fluid
2. น้ำเกลือ ความเข้มข้น 0.9% NaCl (normal saline solution)
3. สารละลายเครบส์ที่มี KCl ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM

4. Phenylephrine hydrochloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5.  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Indomethacin, Fluka, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
7. Adrenaline bitartrate, Reseach Biochemical, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. Noradrenaline bitartrate, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. Isoproterenol hydrochloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. Propranolol hydrochloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. Yohimbine hydrochloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
12. Ascorbic acid, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
13. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
14. Nembutal sodium, Abbott Laboratories, ประเทศสหรัฐอเมริกา
15. Heparin, Leo, ประเทศเดนมาร์ก

## วิธีการ

ศึกษาผลของการฝีกออกกำลังกายระยะยาวต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อสารที่มีผลทำให้หลอดเลือดหดตัวได้แก่ KCl และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก (phenylephrine, adrenaline, noradrenaline และ isoproterenol) พร้อมทั้งศึกษาถึงกลไกที่อาจเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds โดยดูผลของการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย indomethacin (IDM) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ผลของการยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol (Pro) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline ผลของการยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและแอลฟา-2 ด้วย propranolol และ yohimbine (Yoh) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline และบทบาทของ nitric oxide (NO) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl, phenylephrine, adrenaline, noradrenaline และ isoproterenol

### 2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

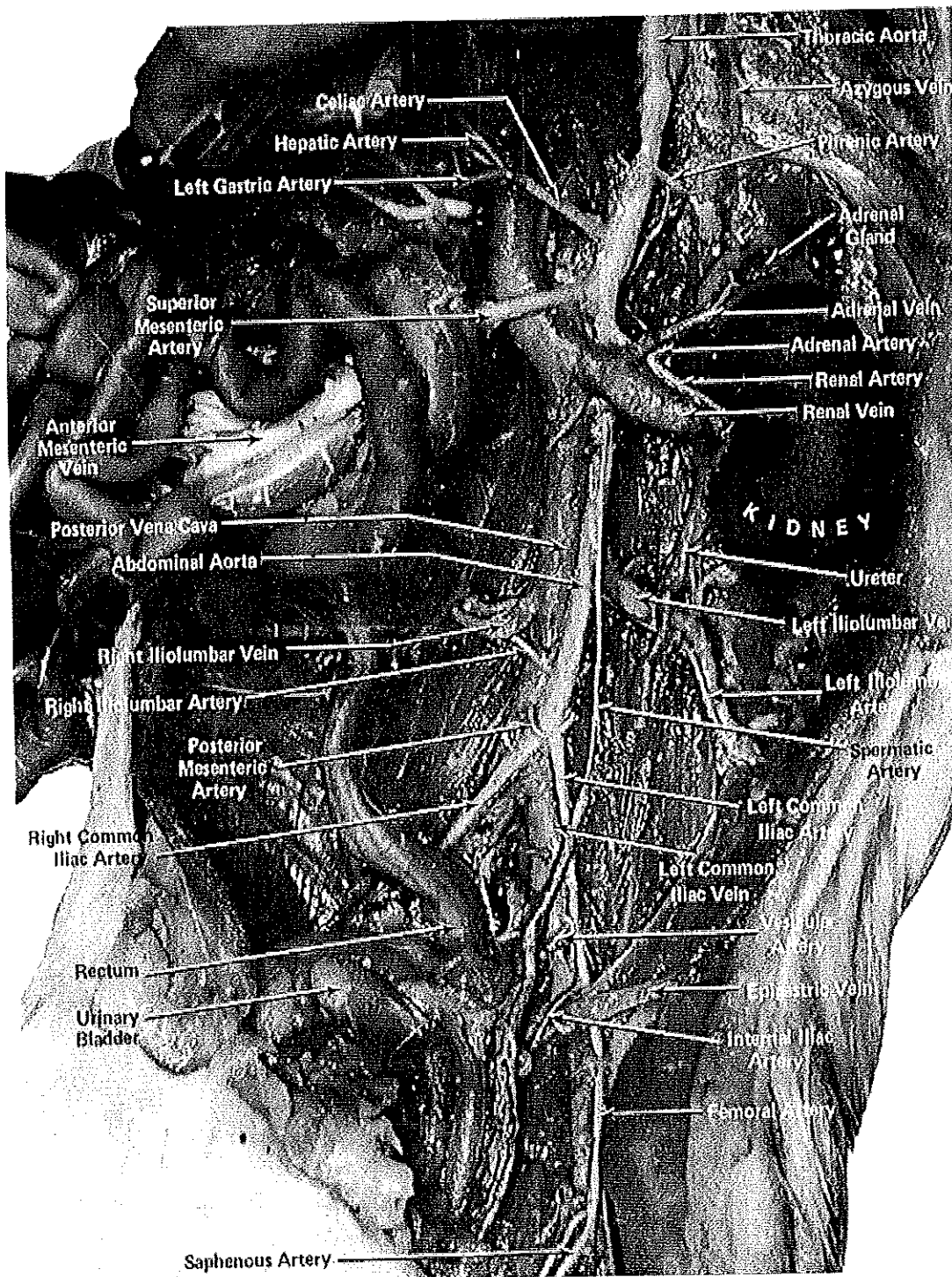
ทำ vaginal smear เพื่อตรวจสอบวงจรสืบพันธุ์ เลือกเฉพาะหนูแร้ที่ที่มีวงจรสืบพันธุ์ (estrous cycle) ปกติอย่างน้อย 2 รอบมาใช้ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำและในวันที่ทำการทดลองเลือกหนูแร้ที่อยู่ในระยะ estrus มาใช้ในการศึกษา

### 2.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับศึกษาอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดแดงเฉลี่ยขณะพัก

สลบหนูด้วย nembatal sodium ( $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ , i.p.) ผ่าตัดใส่ท่อหลอดลมคอ (endotracheal tube) แยกหาหลอดเลือดแดง common carotid สอดท่อ polyethylene (P.E.) เบอร์ 50 เข้าไปในหลอดเลือดแดง common carotid ข้างขวาและให้ปลายข้างหนึ่งของท่อ P.E. ต่อเข้ากับ pressure transducer ซึ่งต่อกับ polygraph และ tachograph สำหรับบันทึกอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดแดง

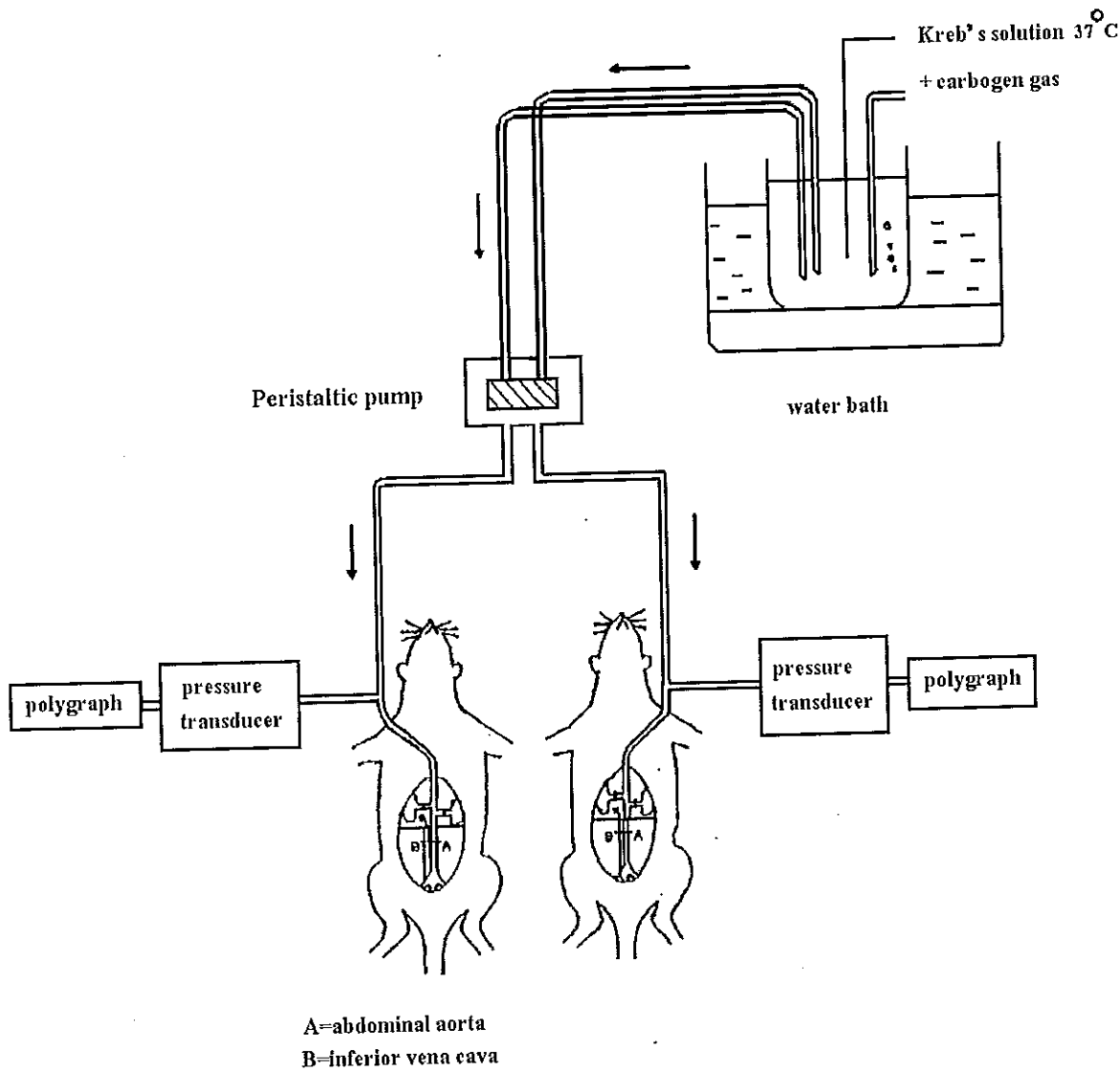
### 2.1.2 การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับศึกษาการตอบสนองของ hindquarter vascular beds

หลังจากบันทึกอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดแดงนาน 30 นาที ดังในข้อ 2.1.1 แล้ว ถอดท่อ P.E. ที่หลอดเลือดแดง common carotid ออกโดยการผูกหลอดเลือดแดง common carotid ให้แน่นก่อนแล้วดึงท่อ P.E. ออก หลังจากนั้นเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับศึกษาการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ตามวิธีการของ Relevic และคณะ (1989) ดังรายละเอียดต่อไปนี้คือ เปิดช่องท้องของสัตว์ทดลองโดยการผ่าผนังหน้าท้องในแนวกลางตามยาวของท้อง แยกหาหลอดเลือด abdominal aorta เตรียมพร้อมสำหรับสอดท่อ P.E. จากนั้นแยกหาหลอดเลือดที่แตกแขนงออกไปจาก abdominal aorta แถวบริเวณช่องท้องที่ไปเลี้ยงบริเวณอื่นๆที่ไม่ใช่บริเวณขาหลัง ได้แก่ หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ renal หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ovarian หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ iliolumbar และหลอดเลือดแดง inferior mesenteric (ดังรูปที่ 2.1) รวมทั้งหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อผนังหน้าท้องทั้ง 2 ข้าง แล้วทำการผูกหลอดเลือดเหล่านี้เพื่อไม่ให้หลอดเลือดเหล่านี้ซึ่งไม่ต้องการศึกษาถูก perfuse ด้วยสารละลาย Krebs' จากนั้นผูกหลอดเลือด abdominal aorta ตรงตำแหน่งระหว่างหลอดเลือดแดง renal ข้างซ้ายและหลอดเลือดแดง iliolumbar แล้วสอดท่อ P.E. (เบอร์ 60) เข้าทางหลอดเลือด abdominal aorta ไปทางปลายขาให้ปลายท่อ P.E. สอดลึกเข้าไปถึงบริเวณทางแยกหลอดเลือดแดง common ileac ที่ไปเลี้ยงขาหลังทั้ง 2 ข้าง (ileac bifurcation) ขณะเดียวกันเจาะหลอดเลือด inferior vena cava ตรงตำแหน่งเดียวกันกับที่เจาะหลอดเลือด abdominal aorta เพื่อให้เลือดและสารละลาย Krebs' ไหลออกมานอกลำตัว แล้ว infuse สารละลาย heparin ( $50 \text{ IU.ml}^{-1}$  ในน้ำเกลือ 0.9%) 10 มล. เข้าไปทางหลอดเลือด abdominal aorta ด้วยอัตราเร็ว 5 มล./นาที แล้วจึงต่อปลายอีกข้างหนึ่งของท่อ P.E. เข้ากับท่อรูปตัว T ซึ่งมีทางหนึ่งต่อเข้ากับ perfusion pump และอีกทางหนึ่งต่อเข้ากับ pressure transducer ซึ่งต่อกับ polygraph ป้อนสารละลาย Krebs' (Krebs' Heinsleit Solution) ที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่อยู่ที่  $37^{\circ}\text{C}$  และมีฟองอากาศคาร์บอนเจน (ส่วนผสมของ  $\text{O}_2$  ร้อยละ 95 และ  $\text{CO}_2$  ร้อยละ 5) ให้ตลอดเวลาเข้าทาง



รูปที่ 2.1 แสดงหลอดเลือดบริเวณช่องท้องและหลอดเลือดที่แยกไปยังขาหลังของหนูแร้ท  
(ที่มา : Bohensky, 1986)





รูปที่ 2.2 แสดงระบบที่ใช้ในการทดลอง ป้อนสารละลายเครบส์ (Krebs' solution) เข้าทางหลอดเลือด abdominal aorta ไปทางปลายขาให้ปลายท่อ P.E. สอดลึกเข้าไปถึงบริเวณทางแยก หลอดเลือดแดง common ileac ที่ไปเลี้ยวขวาหลังทั้ง 2 ข้าง (ileac bifurcation) ขณะเดียวกัน เจาะหลอดเลือด inferior vena cava ตำแหน่งเดียวกันกับที่เจาะหลอดเลือด abdominal aorta เพื่อให้เลือดและสารละลายเครบส์ไหลออกมานอกลำตัว (ดัดแปลงมาจาก : Jonhsson, et al., 1991)

หลอดเลือด abdominal aorta (ดังรูปที่ 2.2) ด้วยอัตราการไหลคงที่ 5 มล./นาทีนาน 20 นาที เพื่อกำจัดเลือดออกจากบริเวณขาหลัง แล้วจึงเริ่มทำการทดลอง

ซึ่งนำนักสัตว์ทดลองอีกครั้งหลังเสร็จการทดลองจากนั้นตัดแยกหัวใจ ต่อมหวนได้รังไข่และมดลูกออกจากตัวสัตว์ทดลอง เลาะไขมันและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกจากเนื้อเยื่อดังกล่าว ชับเนื้อเยื่อด้วยกระดาษกรองก่อนนำไปซึ่งน้ำหนัก สำหรับหัวใจที่ตัดแยกออกมาแช่ลงในสารละลาย Krebs ที่มีอุณหภูมิ 37°C ปล่อยให้หัวใจบีบตัวอย่างอิสระเพื่อไล่เลือดที่ค้างอยู่ในห้องหัวใจ จากนั้นจึงตัดแยกหัวใจส่วนเอเตรียมและเวนทริเคิลออกจากกัน ชับเนื้อเยื่อด้วยกระดาษกรองก่อนนำไปซึ่งน้ำหนัก

## 2.2 การทดลอง

2.2.1 ศึกษาผลของการว่ายน้ำต่ออัตราการเต้นของหัวใจ (heart rate) และความดันเลือดแดงเฉลี่ย (mean arterial pressure) ขณะพัก

หลังจาก cannulate หลอดเลือดแดง common carotid และต่อท่อ P.E. เข้ากับ polygraph และ tachograph ตามวิธีการในข้อ 2.1.1 แล้ว บันทึกอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดแดงโดย equilibrate นานประมาณ 30 นาทีเพื่อให้อัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดแดงเฉลี่ยคงที่ เก็บข้อมูลทีนาทีที่ 30

2.2.2 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหล (perfusion flow rate) ของสารละลาย Krebs และผลของ  $N^G$ -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl และ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม หลังจากเตรียมสัตว์ทดลองในข้อ 2.1.2 แล้ว equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ด้วยอัตราการไหล 5 มล./นาทีต่อไปอีก 25 นาที แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl โดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี KCl ความเข้มข้น 20 mM นาน 1 นาที (เป็นระยะเวลาที่ทำให้มีการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl สูงสุด) แล้วเปลี่ยนมา perfuse ด้วยสารละลาย Krebs นานประมาณ 5-10 นาที (เป็นระยะเวลาที่การหดตัวของหลอดเลือดกลับสู่ภาวะปกติ) แล้วจึง perfuse สารละลาย Krebs ที่มี KCl ความเข้มข้นถัดไปคือ 40, 80 และ 120 mM ตามลำดับด้วยวิธีการเดียวกัน เมื่อสิ้นสุดการ perfuse สารละลาย Krebs ที่มี KCl ความเข้มข้นสุดท้าย perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ต่อไปอีกประมาณ 10 นาที แล้วจึง perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs

ที่มี  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M) นาน 30 นาทีเพื่อยับยั้งการสร้าง NO จากนั้นศึกษาผลของ KCl ต่อหลอดเลือดซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยใช้สารละลาย Krebs ที่มี KCl และ LNA ผสมอยู่ด้วย perfuse สารละลาย KCl ที่ความเข้มข้นตามลำดับด้วยวิธีการเดิมจนครบทุกความเข้มข้น เปรียบเทียบ perfusion pressure ที่เพิ่มขึ้นจาก basal perfusion pressure ระหว่างก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA

ในการทำนองเดียวกัน แต่ใช้สัตว์ทดลองใหม่อีกชุดหนึ่งซึ่งจากกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม หลังจากเตรียมสัตว์ทดลองดังข้อ 2.1.2 แล้ว เปลี่ยนอัตราการใช้ไหลของสารละลาย Krebs จาก 5 มล./นาที่มาเป็น 3 มล./นาที่ equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs เป็นเวลานาน 25 นาที แล้วจึงศึกษาผลการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA โดยวิธีการเดียวกับการทดลองข้างต้น

ใช้วิธีการทำนองเดียวกับข้างต้น ใช้สัตว์ทดลองใหม่อีก 2 ชุดซึ่งจากกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม ศึกษาผลการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine เมื่อใช้อัตราการใช้ไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาที่หรือ 3 มล./นาที่ ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA โดยทำการทดลองแบบเดียวกับ KCl แต่เปลี่ยนจาก KCl เป็น phenylephrine (ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $3 \times 10^{-4}$  M) โดย perfuse สารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine แต่ละความเข้มข้นนาน 45 วินาทีซึ่งเป็นระยะเวลาที่ทำให้มีการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine สูงสุด เว้นระยะระหว่าง phenylephrine แต่ละความเข้มข้นประมาณ 5-15 นาที เพื่อให้การหดตัวของหลอดเลือดกลับสู่ภาวะปกติ

### 2.2.3 ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl

เพื่อศึกษาว่าระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds หรือไม่ ทำการทดลองในสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุมเมื่อใช้อัตราการใช้ไหล 3 มล./นาที่ โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 2.2.2 จากนั้น perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs นาน 30 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาเท่ากับที่ใช้ในการ perfuse สารละลาย Krebs ที่มี LNA แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ซ้ำอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธีการเดิม คำนวณค่า perfusion pressure ที่เพิ่มขึ้นจาก basal perfusion pressure เปรียบเทียบผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl แต่ละความเข้มข้นระหว่างครั้งแรกและครั้งหลัง

ผลการบันทึกน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาที่ น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองหลังเสร็จการทดลอง ( $417.29 \pm 8.54$  กรัม,  $n = 24$ ) เพิ่มขึ้นร้อยละ  $40.76 \pm 1.74$  เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง ( $296.65 \pm 5.22$  กรัม,  $n = 24$ ) ในขณะที่เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 3 มล./นาที่ น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองหลังเสร็จการทดลอง ( $328.79 \pm 4.43$  กรัม,  $n = 24$ ) เพิ่มขึ้นร้อยละ  $16.02 \pm 0.99$  เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง ( $283.46 \pm 3.19$  กรัม,  $n = 24$ )

จากการที่สัตว์ทดลองบวมมากเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาที่ เมื่อเทียบกับอัตราการไหล 3 มล./นาที่ ค่า basal perfusion pressure ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs เท่ากันทั้งเมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาที่ และ 3 มล./นาที่ และถึงแม้ว่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที่ต่ำกว่าเมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามภายหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ทำให้ dose response curve ในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine เคลื่อนไปทางซ้ายและทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine เมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาที่และ 3 มล./นาที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 3 มล./นาที่

#### 2.2.4 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, indomethacin และ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม หลังจากเตรียมสัตว์ทดลองในข้อ 2.1.2 แล้ว equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs โดยใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที่ต่อไปอีก 25 นาที แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2 เว้นระยะระหว่าง phenylephrine แต่ละความเข้มข้นประมาณ 5-15 นาทีเพื่อให้การหดตัวของหลอดเลือดกลับสู่ภาวะปกติ หลังจากสิ้นสุดการ perfuse สารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine ความเข้มข้นสุดท้าย perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ต่อไปอีก 10-20 นาที แล้วจึง perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี indomethacin IDM ( $10^{-6}$  M) นาน 30 นาทีเพื่อยับยั้งการสร้าง prostaglandins แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยใช้สารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine และ IDM ผสมอยู่ด้วย perfuse สารละลาย phenylephrine ที่ละความเข้มข้นตามลำดับด้วยวิธีการเดิมจนครบทุกความเข้มข้น คำนวณค่า perfusion pressure ที่เพิ่มขึ้นจาก basal perfusion pressure เปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM

สัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งหลังจาก equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี อัตราการไหล 3 มล./นาที นาน 20 นาที แล้ว perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) นาน 30 นาที จึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine โดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆ และ LNA ผสมอยู่ด้วยตามวิธีการเดิม หลังจากสิ้นสุดการ perfuse สารละลาย phenylephrine ความเข้มข้นสุดท้ายแล้ว perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) และ IDM ( $10^{-6}$  M) ผสมอยู่ด้วยนาน 30 นาที แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine, LNA และ IDM ผสมอยู่ด้วย เปรียบเทียบ perfusion pressure ที่เพิ่มขึ้นจาก basal perfusion pressure ระหว่างก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM

#### 2.2.5 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, LNA และ propranolol ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline ทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมด้วยวิธีการเดียวกับ phenylephrine แต่เปลี่ยนจาก phenylephrine เป็น adrenaline (ความเข้มข้น  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  และ  $3 \times 10^{-5}$  M) ทั้งก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA

สัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline หลังจากที่ยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ( $10^{-5}$  M) นาน 30 นาที โดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี adrenaline ความเข้มข้นต่างๆ และ propranolol ผสมอยู่ด้วยตามวิธีการเดิม หลังจากสิ้นสุดการ perfuse สารละลาย adrenaline ความเข้มข้นสุดท้ายแล้ว perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี propranolol ( $10^{-5}$  M) และ LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) ผสมอยู่ด้วยนาน 30 นาที แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline ซ้ำอีกครั้ง

#### 2.2.6 ศึกษาผลของการว่ายน้ำ, LNA, propranolol และ yohimbine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline ทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมด้วยวิธีการเดียวกับ phenylephrine แต่เปลี่ยนจาก

phenylephrine เป็น noradrenaline (ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $3 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  และ  $3 \times 10^{-3}$  M) ทั้งก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA

สัตว์ทดลองอีกชุดหนึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline หลังจากที่ยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิดบีตาและแอลฟา-2 ด้วย propranolol ( $10^{-5}$  M) และ yohimbine ( $10^{-6}$  M) นาน 30 นาที โดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี adrenaline ความเข้มข้นต่างๆ propranolol และ yohimbine ผสมอยู่ด้วยตามวิธีการเดิม หลังจากสิ้นสุดการ perfuse สารละลาย adrenaline ความเข้มข้นสุดท้ายแล้ว perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี propranolol ( $10^{-5}$  M), yohimbine ( $10^{-6}$  M) และ LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) ผสมอยู่ด้วยนาน 30 นาที แล้วจึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline ซ้ำอีกครั้ง

### 2.2.7 ศึกษาผลของการว่ายน้ำและ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม หลังจากเตรียมสัตว์ทดลองในข้อ 2.1.2 แล้ว equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ด้วยอัตราการไหล 3 มล./นาทีต่อไปอีก 25 นาที จากนั้นทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine ความเข้มข้นซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัวร้อยละ 80 ของ maximum response (Con :  $3 \times 10^{-5}$  หรือ  $10^{-5}$ , Sw :  $10^{-4}$  หรือ  $3 \times 10^{-5}$  M) นาน 2 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาที่ทำให้มีการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine สูงเต็มที่ แล้วจึงศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ isoproterenol โดยการ perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine ความเข้มข้นเดิมและ isoproterenol ความเข้มข้นต่างๆผสมอยู่ด้วย ( $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $3 \times 10^{-4}$  M) โดย perfuse สารละลายแต่ละความเข้มข้นนาน 1 นาทีที่ความเข้มข้นตามลำดับติดต่อกัน เมื่อสิ้นสุดการ perfuse ด้วยสารละลาย isoproterenol ความเข้มข้นสุดท้ายแล้ว perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) นาน 30 นาที แล้วจึงศึกษาผลของ isoproterenol ต่อหลอดเลือดซ้ำอีกครั้ง โดยทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine ความเข้มข้นซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัวร้อยละ 80 ของ maximum response (Con :  $3 \times 10^{-5}$  หรือ  $10^{-5}$ , Sw :  $10^{-4}$  หรือ  $3 \times 10^{-5}$  M) และ LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) ผสมอยู่ด้วย จากนั้น perfuse หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs ที่มี phenylephrine, LNA และ isoproterenol ผสมอยู่ด้วย ด้วยวิธีการเดิมจนครบทุกความเข้มข้น คำนวณค่า perfusion pressure ที่ลดลงจาก maximum response เมื่อทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine

### วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ค่า perfusion pressure ที่เพิ่มขึ้นจากการตอบสนองในแต่ละค่าความเข้มข้นของ KCl, phenylephrine, adrenaline และ noradrenaline และเปอร์เซ็นต์การคลายตัวในการตอบสนองต่อ isoproterenol ซึ่งคิดจากค่า perfusion pressure ที่ลดลงจาก perfusion pressure เดิมที่หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine นำมาคิดค่าเฉลี่ยแล้วนำเสนอข้อมูลในรูป mean  $\pm$  S.E.M. และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของยากับการตอบสนอง (dose-response curve) เปรียบเทียบผลการทดลองโดยดูความแตกต่างระหว่างความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (sensitivity) ต่อยาแต่ละความเข้มข้น การตอบสนองสูงสุด (maximum response) และคำนวณหาค่า  $EC_{50}$  (effective concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของยาที่ทำให้มีการตอบสนองร้อยละ 50 ของการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มว่านน้ำและกลุ่มควบคุม คำนวณค่าทางสถิติโดยใช้ student's t-test หรือ ANOVA ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป โดยยอมรับค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $P < 0.05$

### 3. ผลการทดลอง

น้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นก่อนการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำของหนูแร้ทเพศเมียกลุ่มว่ายน้ำ และกลุ่มควบคุมมีค่าใกล้เคียงกัน (กลุ่มว่ายน้ำ  $289.33 \pm 3.06$  กรัม กลุ่มควบคุม  $286.69 \pm 4.82$  กรัม,  $n = 24$ ,  $P > 0.05$ ) เมื่อสิ้นสุดการว่ายน้ำน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มว่ายน้ำลดลง ขณะที่กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น (น้ำหนักวันสุดท้ายของการว่ายน้ำ กลุ่มว่ายน้ำ  $281.04 \pm 2.88$  กรัม กลุ่มควบคุม  $304.94 \pm 5.50$  กรัม,  $n = 24$ ,  $P < 0.05$ ) จากการสังเกตปริมาณไขมันภายในช่องท้องและบริเวณ หลอดเลือด mesenteric vascular beds พบว่าปริมาณไขมันของกลุ่มว่ายน้ำลดลงประมาณร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

น้ำหนักหัวใจส่วนเอเตรียม น้ำหนักหัวใจส่วนเอเตรียมต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักหัวใจส่วนเวนทริคูล น้ำหนักหัวใจส่วนเวนทริคูลต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักต่อมหมวกไต น้ำหนักต่อมหมวกไตต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักรังไข่ และน้ำหนักรังไข่ต่อน้ำหนักตัวของกลุ่มว่ายน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่น้ำหนักมดลูก น้ำหนักมดลูกต่อน้ำหนักตัวและจำนวนคอร์ปัสคูลูเทียมไม่แตกต่างกัน ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.1

3.1 ผลของการว่ายน้ำต่ออัตราการเต้นของหัวใจ (heart rate) และความดันเลือดแดงเฉลี่ย (mean arterial pressure) ขณะพัก

อัตราการเต้นของหัวใจขณะพัก (resting heart rate) ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มว่ายน้ำ  $348.75 \pm 4.57$  ครั้ง/นาที กลุ่มควบคุม  $385.13 \pm 5.09$  ครั้ง/นาที,  $n = 24$ ,  $P < 0.05$ ) และความดันเลือดแดงเฉลี่ย (mean arterial pressure) ขณะพักของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มว่ายน้ำ  $129.30 \pm 2.84$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $146.67 \pm 3.24$  มม.ปรอท,  $n = 24$ ,  $P < 0.05$ )

3.2 ผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหล (perfusion flow rate) ของสารละลายเครบส์และ  $N^G$ -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl และ phenylephrine

ค่า basal perfusion pressure ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันเมื่อใช้อัตราการไหลเท่ากันทั้งอัตราการไหลของสารละลายเครบส์ 5 มล./นาที (กลุ่มว่ายน้ำ  $61.4 \pm 1.9$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $57.0 \pm 3.26$  มม.ปรอท,  $n = 24$ ,  $P > 0.05$ ) และเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครบส์ 3 มล./นาที (กลุ่มว่ายน้ำ  $40.5 \pm 1.2$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $43.8 \pm 1.4$  มม.ปรอท,  $n = 24$ ,  $P > 0.05$ )



ตารางที่ 3.1 ผลของการว่ายน้ำต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักเอเดรียม น้ำหนักเวนทริเคิล น้ำหนักต่อมหมวกไต น้ำหนักมดลูก น้ำหนักรังไข่ และจำนวนคอร์ปัสลูเตียมของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ (n คือ จำนวนสัตว์ทดลอง ค่าที่แสดงคือ mean  $\pm$  S.E.M.)

	n	กลุ่มควบคุม	กลุ่มว่ายน้ำ
น้ำหนักวันเริ่มการว่ายน้ำ (กรัม)	24	286.69 $\pm$ 4.82	289.33 $\pm$ 3.06
น้ำหนักวันสุดท้ายของการว่ายน้ำ (กรัม)	24	304.94 $\pm$ 5.50*	281.04 $\pm$ 2.88* <sup>+</sup>
น้ำหนักเอเดรียม (มิลลิกรัม)	24	6.21 $\pm$ 0.21	13.92 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
น้ำหนักเอเดรียมต่อน้ำหนักตัว (มิลลิกรัม/กรัม)	24	21.56 $\pm$ 0.63	48.91 $\pm$ 1.41 <sup>a</sup>
น้ำหนักเวนทริเคิล (มิลลิกรัม)	24	88.19 $\pm$ 1.67	125.99 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup>
น้ำหนักเวนทริเคิลต่อน้ำหนักตัว (ไมโครกรัม/กรัม)	24	306.41 $\pm$ 4.13	443.44 $\pm$ 7.53 <sup>a</sup>
น้ำหนักต่อมหมวกไต (มิลลิกรัม)	24	8.32 $\pm$ 0.02	11.62 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>
น้ำหนักต่อมหมวกไตต่อน้ำหนักตัว (ไมโครกรัม/กรัม)	24	28.96 $\pm$ 0.72	40.91 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>
น้ำหนักมดลูก (มิลลิกรัม)	24	98.02 $\pm$ 5.19	95.14 $\pm$ 5.10
น้ำหนักมดลูกต่อน้ำหนักตัว (ไมโครกรัม/กรัม)	24	344.15 $\pm$ 20.29	335.15 $\pm$ 17.95 <sup>a</sup>
น้ำหนักรังไข่ (มิลลิกรัม)	24	10.71 $\pm$ 0.48	13.73 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>
น้ำหนักรังไข่ต่อน้ำหนักตัว (ไมโครกรัม/กรัม)	24	37.37 $\pm$ 1.77	48.30 $\pm$ 2.23 <sup>a</sup>
จำนวนคอร์ปัสลูเตียม (corpusluteum)	24	13.6 $\pm$ 0.7	15.2 $\pm$ 0.7

\* แตกต่างกับก่อนว่ายน้ำในกลุ่มเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

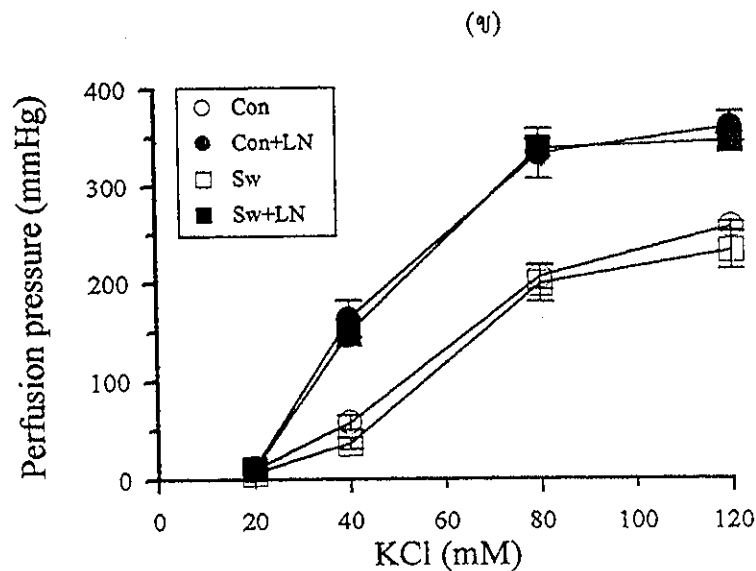
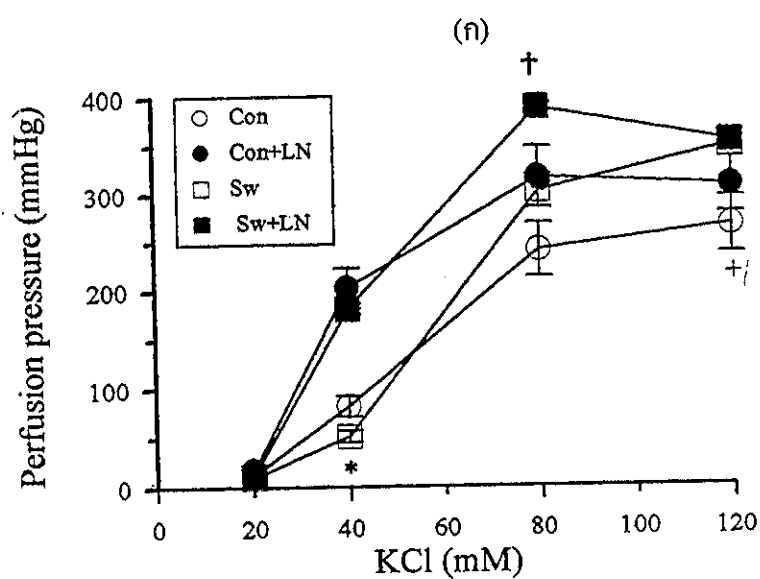
+ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

a สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

รูปที่ 3.1 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหลของสารละลายเครปส์และ *N<sup>G</sup>*-nitro-L-arginine (LNA,  $3 \times 10^{-4}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม รูปที่ 3.2 แสดงตัวอย่างการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 3 มล./นาที พบว่าการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำสูงกว่าของกลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 5 มล./นาที ในขณะที่เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 3 มล./นาที การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA นอกจากนี้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 5 มล./นาทีสูงกว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 3 มล./นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.2

รูปที่ 3.3 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหลของสารละลายเครปส์และ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาที การตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน การยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) ทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของทั้ง 2 กลุ่มและทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 3 เท่า แต่อย่างไรก็ตามความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด (sensitivity) ต่อ phenylephrine แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายน้ำ  $337.33 \pm 10.76$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $345.75 \pm 13.62$  มม.ปรอท,  $n = 8$ ,  $P > 0.05$ ) นอกจากนี้พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ความเข้มข้นที่สูงที่สุดลดลงเมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ถัดลงมาในกลุ่มควบคุมแต่ผลดังกล่าวไม่พบในกลุ่มว่ายน้ำ

รูปที่ 3.4 แสดงตัวอย่างการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครปส์ 3 มล./นาที พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที การตอบสนองสูงสุดและความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (การตอบสนองสูงสุด กลุ่มว่ายน้ำ  $194.17 \pm 10.99$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $271.25 \pm 28.31$  มม.ปรอท,  $n=6$ ,  $P<0.05$ ) การยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 3 เท่า ดังนั้นความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ



รูปที่ 3.1 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหล (perfusion flow rate) ของสารละลาย Krebs และผลของ  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M)

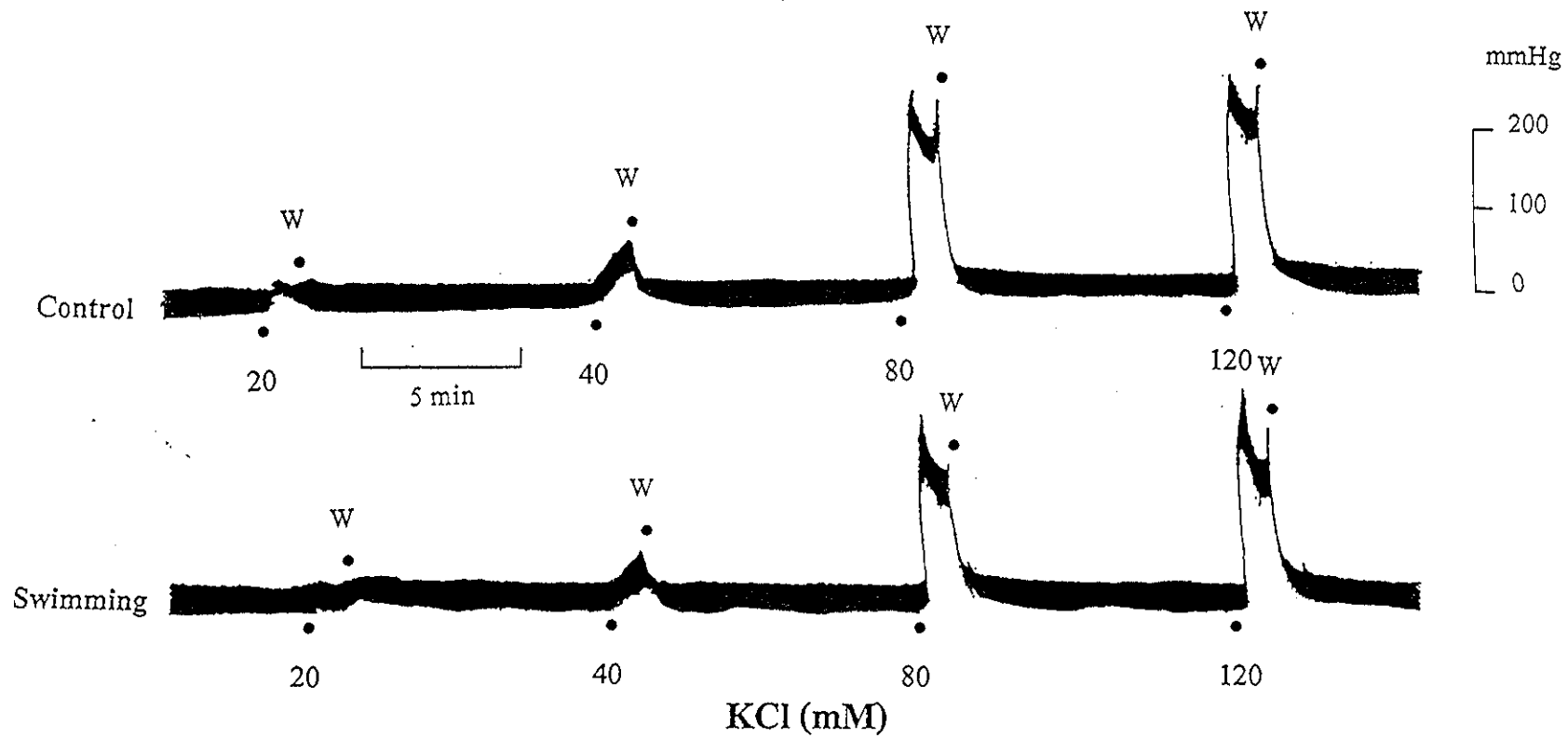
ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) เมื่อใช้

(ก) อัตราการไหล 5 มล./นาที,  $n=6-7$  และ (ข) อัตราการไหล 3 มล./นาที,  $n=6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

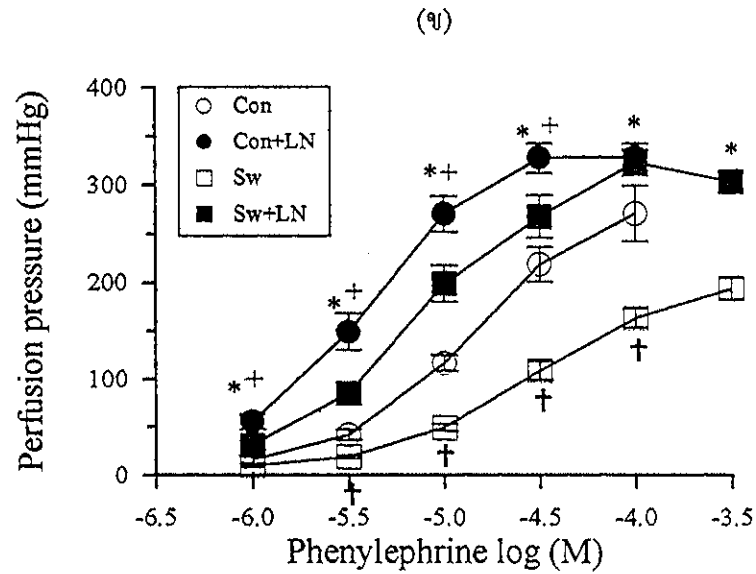
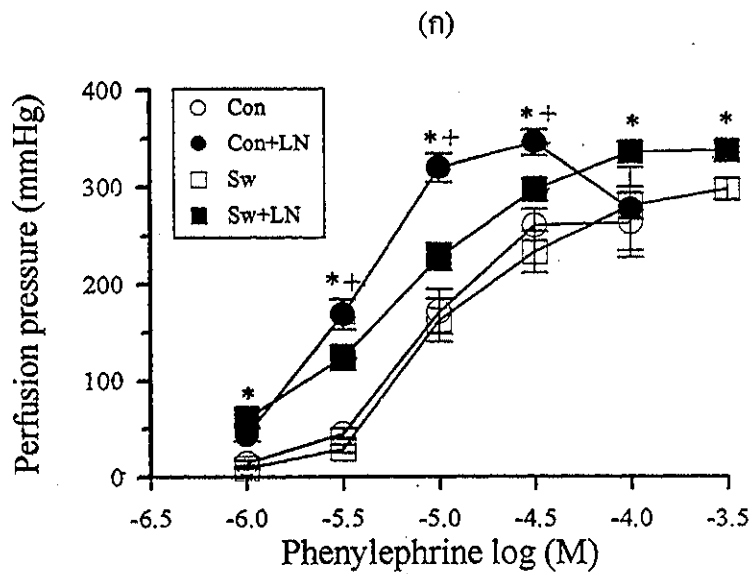
+ ต่ำกว่ากลุ่มว่ายน้ำก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

† สูงกว่ากลุ่มควบคุมหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.2 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเครบส์ 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มว่ายน้ำ (Swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ป้อนสารละลายเครบส์ที่มี KCl, <sup>W</sup>• คือ ป้อนสารละลายเครบส์



รูปที่ 3.3 แสดงผลของการว่ายน้ำ อัตราการไหล (perfusion flow rate) ของสารละลายเกรบส์และผลของ  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M)

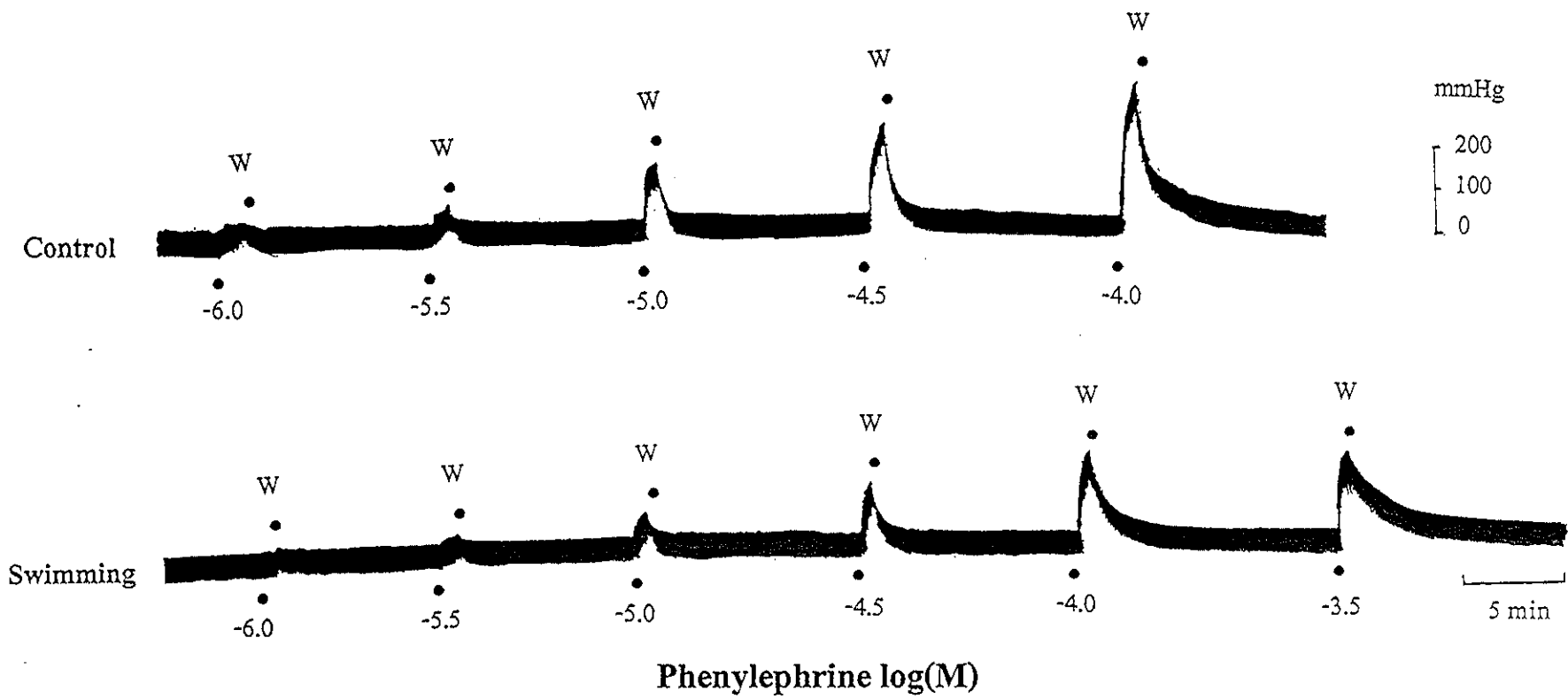
ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) เมื่อใช้

(ก) อัตราการไหล 5 มล./นาที,  $n=8$  และ (ข) อัตราการไหล 3 มล./นาที,  $n=6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* สูงกว่าก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN ใน กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำด้วยกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

+ สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำภายหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

† ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.4 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มว่ายน้ำ (Swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ป้อนสารละลายครบส์ที่มี phenylephrine, <sup>W</sup> คือ ป้อนสารละลายครบส์

ตารางที่ 3.2 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl, phenylephrine (Phe) และ N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 5 มล./นาทีและ 3 มล./นาที

Treatment	EC <sub>50</sub> (95% C.I.)		Maximum response (± S.E.M.) increase in perfusion pressure (mmHg)			
	n	Control	n	Swimming		
<b>flow rate 5 ml. min<sup>-1</sup></b>		(mM)				
KCl	7	42.10 (36.70-48.29)	6	46.09 (40.01-53.09)	266.14 ± 28.92	348.83 ± 8.13 <sup>*</sup>
KCl+ LNA	7	36.36 (32.04-41.27)	6	40.02 (39.09-40.98)	316.43 ± 31.62 <sup>+</sup>	388.33 ± 3.80 <sup>*,+</sup>
		(μM)				
Phe	8	7.35 (5.88-9.19)	8	10.16 (8.11-12.73)	264.00 ± 36.00	297.71 ± 10.39
Phe+LNA	8	2.73 (2.39-3.11) <sup>a</sup>	8	3.66 (2.98-4.50) <sup>a</sup>	345.75 ± 13.62 <sup>+</sup>	337.33 ± 10.76 <sup>+</sup>
<b>flow rate 3 ml. min<sup>-1</sup></b>		(mM)				
KCl	6	43.41 (38.70-48.69)	6	45.76 (39.06-53.61)	257.50 ± 4.79	232.33 ± 19.30 <sup>b</sup>
KCl+LNA	6	39.48 (35.96-43.35)	6	40.50 (38.29-42.83)	360.00 ± 15.65 <sup>+</sup>	345.00 ± 7.55 <sup>+,b</sup>
		(μM)				
Phe	6	11.97 (9.54-15.03) <sup>c</sup>	6	26.61 (20.57-34.42) <sup>c,e</sup>	271.25 ± 28.31	194.17 ± 10.99 <sup>b,d</sup>
Phe+LNA	6	3.58 (2.88-4.45) <sup>a</sup>	6	7.68 (5.62-10.49) <sup>a,c,e</sup>	329.17 ± 13.87 <sup>+</sup>	323.33 ± 13.09 <sup>+</sup>

- \* สูงกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัส 5 มล./นาทีในการทดลองเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- + สูงกว่ากลุ่มก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มว่ายนํ้า) เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัสเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- <sup>a</sup> ต่ำกว่า  $EC_{50}$  ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มว่ายนํ้า) ก่อนยับยั้ง การสร้าง NO ด้วย LNA เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัสเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- <sup>b</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายนํ้า เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัส 5 มล./นาทีในการทดลองเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- <sup>c</sup> สูงกว่า  $EC_{50}$  ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มว่ายนํ้า) เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัส 5 มล./นาทีในการทดลองเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- <sup>d</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- <sup>e</sup> สูงกว่า  $EC_{50}$  ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกันเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายแคโรบัสเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



phenylephrine แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่าน้ำยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่าน้ำ  $323.33 \pm 13.09$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $329.17 \pm 13.87$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ) ภายหลังการยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่าน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันไม่ว่าจะใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาทีหรือ 3 มล./นาที ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.2

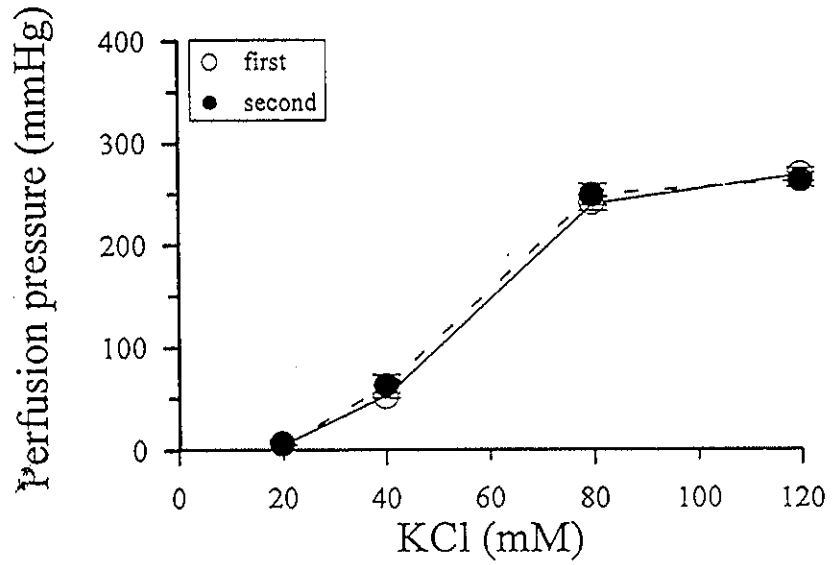
ผลการบันทึกน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 5 มล./นาทีน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองหลังเสร็จการทดลอง ( $417.29 \pm 8.54$  กรัม,  $n = 24$ ) เพิ่มขึ้นร้อยละ  $40.76 \pm 1.74$  เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง ( $296.65 \pm 5.22$  กรัม,  $n = 24$ ) ในขณะที่เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย Krebs 3 มล./นาทีน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองหลังเสร็จการทดลอง ( $328.79 \pm 4.43$  กรัม,  $n = 24$ ) เพิ่มขึ้นร้อยละ  $16.02 \pm 0.99$  เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง ( $283.46 \pm 3.19$  กรัม,  $n = 24$ )

### 3.3 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl

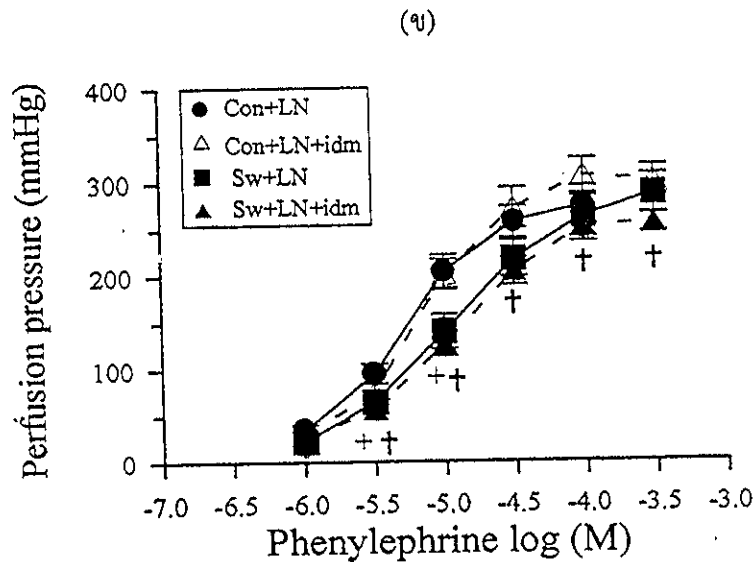
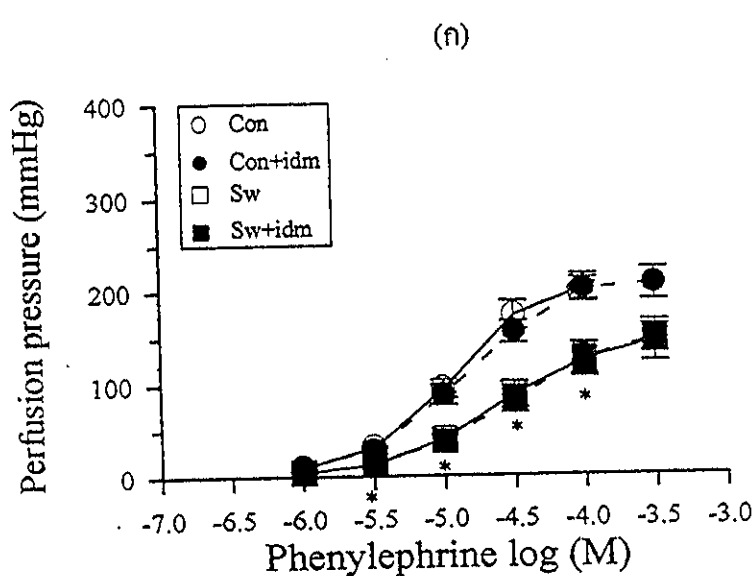
รูปที่ 3.5 แสดงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ในกลุ่มควบคุม พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl (dose-response curve) ในครั้งแรกและครั้งหลังไม่แตกต่างกัน แสดงว่าระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl

### 3.4 ผลการของการว่าน้ำ, indomethacin และ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine

รูปที่ 3.6 แสดงผลของ indomethacin (IDM) และ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่าน้ำและกลุ่มควบคุม พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ phenylephrine แต่ละความเข้มข้นและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่าน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (การตอบสนองสูงสุดกลุ่มว่าน้ำ  $144.20 \pm 21.85$  มม.ปรอท,  $n = 5$ , กลุ่มควบคุม  $201.33 \pm 15.28$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P < 0.05$ ) การยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM ( $10^{-6}$  M) ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่าน้ำ



รูปที่ 3.5 แสดงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของหนูกุ่มควบคุม (control) ในครั้งที่หนึ่ง (first) และครั้งที่สอง (second) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที, n=4 แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.



รูปที่ 3.6 แสดงผลของการว่ายน้ำ, indomethacin (IDM,  $10^{-6}$  M) และ  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ในหนูกลุ่มควบคุม (Con),  $n=6-8$  และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw),  $n=5-7$  เมื่อ (ก) ก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM และ (ข) ก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM หลังจากถูกยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN, แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

- \* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกัน (ทั้งก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- + ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกัน (หลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- † ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกัน (หลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 3.3 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine (Phe), indomethacin (IDM) และ N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที

Treatment		EC <sub>50</sub> (95% C.I.)			Maximum response (± S.E.M.)	
		(μM)			increase in perfusion pressure (mmHg)	
flow rate 3 ml. min <sup>-1</sup>	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
Phe	6	10.25 (8.37-12.54)	5	22.80 (14.17-36.67) <sup>*</sup>	201.33 ± 15.28	144.20 ± 21.89 <sup>+</sup>
Phe+IDM	8	11.95 (9.71-14.71)	7	23.35 (16.43-33.18) <sup>*</sup>	205.50 ± 17.43	147.00 ± 14.85 <sup>+</sup>
Phe+LNA	6	4.54 (2.61-7.90) <sup>+</sup>	5	8.99 (6.26-12.91) <sup>a</sup>	274.83 ± 20.43	287.00 ± 20.59
Phe+ IDM+LNA	8	7.04 (5.46-9.07) <sup>a</sup>	7	9.60 (7.69-11.99) <sup>b</sup>	306.00 ± 18.13	255.71 ± 9.83 <sup>+</sup>

<sup>\*</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>+</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>a</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

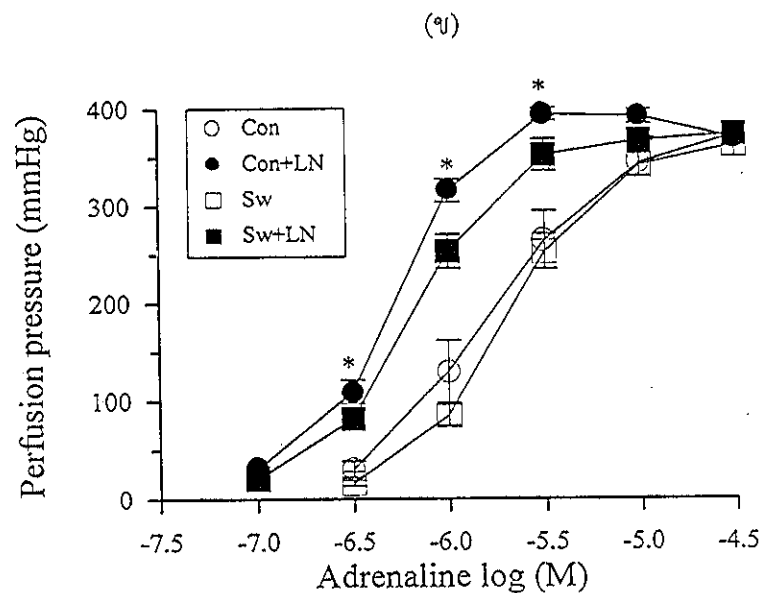
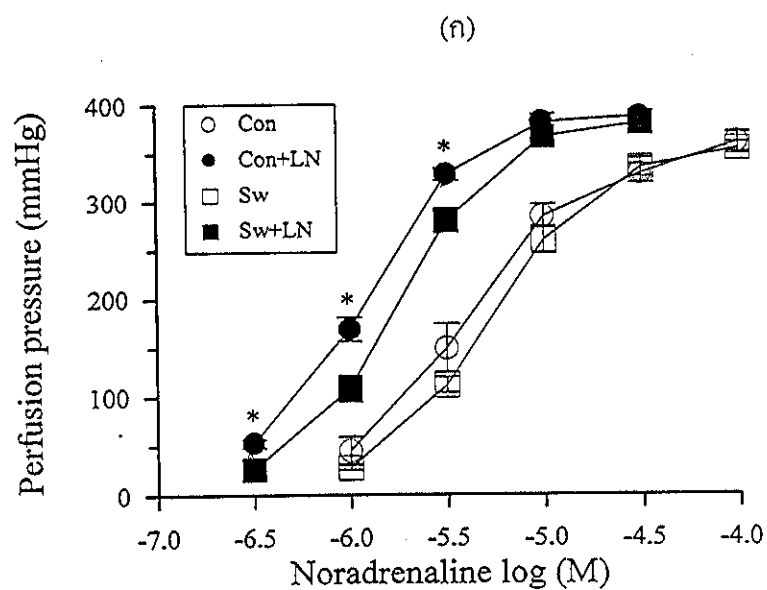
<sup>b</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายน้ำหลังยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ phenylephrine ทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายและมีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ phenylephrine ทั้ง 2 กลุ่มในขนาดที่เท่ากัน และเช่นเดียวกันการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย IDM ( $10^{-6}$  M) หลังจากที่ยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายนํ้า ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.3

### 3.5 ผลของการว่ายนํ้า, LNA และ propranolol ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline

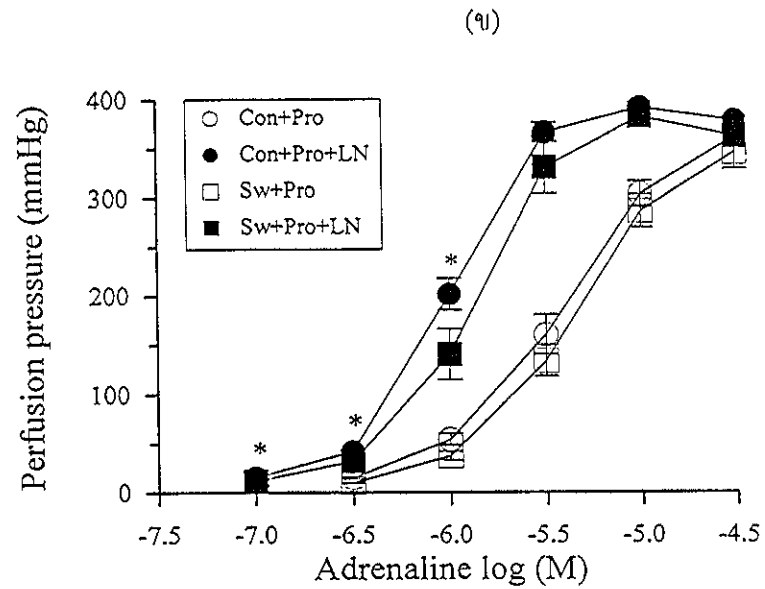
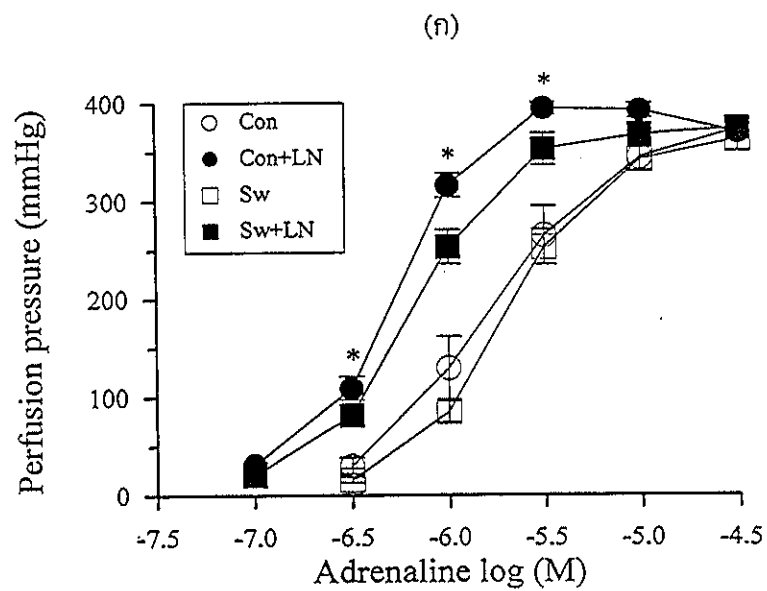
รูปที่ 3.8 แสดงผลของ LNA และ propranolol ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline ของกลุ่มว่ายนํ้าและกลุ่มควบคุม พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline แต่ละความเข้มข้นและการตอบสนองสูงสุดของกลุ่มว่ายนํ้าและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน (การตอบสนองสูงสุด กลุ่มว่ายนํ้า  $362.17 \pm 12.42$  มม.ปรอท,  $n = 6$ , กลุ่มควบคุม  $372.50 \pm 9.13$  มม.ปรอท,  $n = 7$ ,  $P > 0.05$ ) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ adrenaline ทั้ง 2 กลุ่ม และทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ adrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 3 เท่า แต่อย่างไรก็ตามความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายนํ้าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ adrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายนํ้า  $373.33 \pm 4.01$  มม.ปรอท,  $n = 6$ , กลุ่มควบคุม  $393.86 \pm 6.61$  มม.ปรอท,  $n = 7$ ,  $P > 0.05$ )

การยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ( $10^{-5}$  M) มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางขวาประมาณ 2 เท่า แต่เมื่อยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ( $10^{-5}$  M) พร้อมทั้งยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ adrenaline ในทั้ง 2 กลุ่มและทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ adrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 2 เท่า และเช่นเดียวกันความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ adrenaline แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายนํ้าต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.4



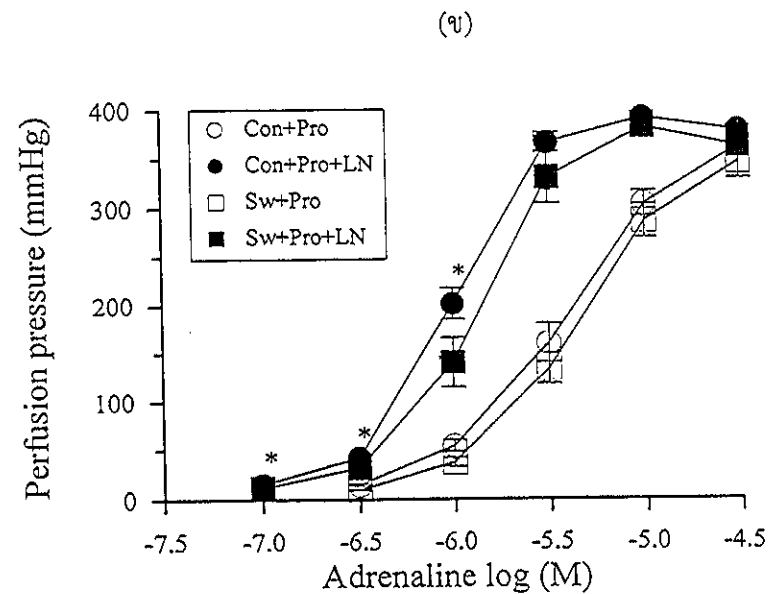
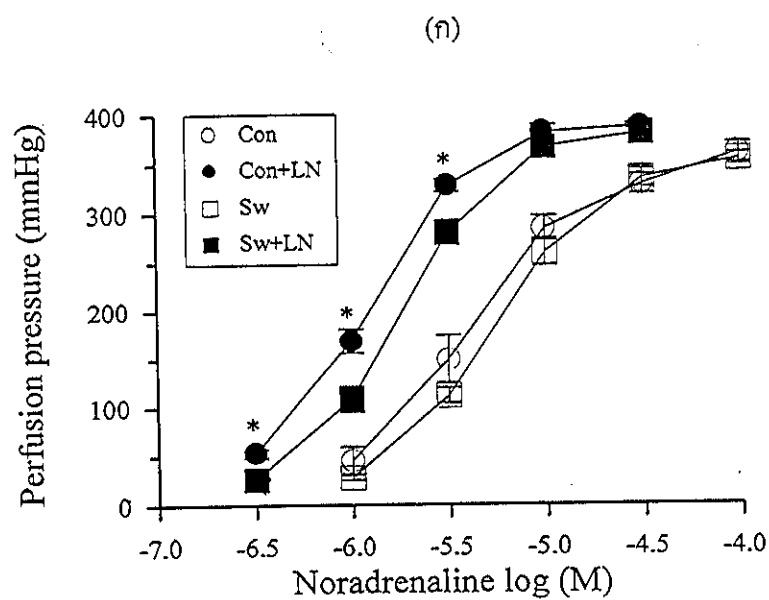
รูปที่ 3.7 แสดงผลของการว่ายน้ำ,  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN เมื่อ (ก) ต่อ noradrenaline และ (ข) ต่อ adrenaline,  $n=6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำภายหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.8 แสดงผลของการว่ายน้ำ,  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M) และ propranolol (Pro,  $10^{-5}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline ในหนูกลุ่มควบคุม (Con),  $n=7$  และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw),  $n=5-6$  เมื่อ (ก) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN ภายหลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำภายหลังจากยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.9 แสดงผลของการว่ายน้ำ,  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M) และ propranolol (Pro,  $10^{-5}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) เมื่อ (ก) ต่อ noradrenaline ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ต่อ adrenaline ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN หลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol,  $n=6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

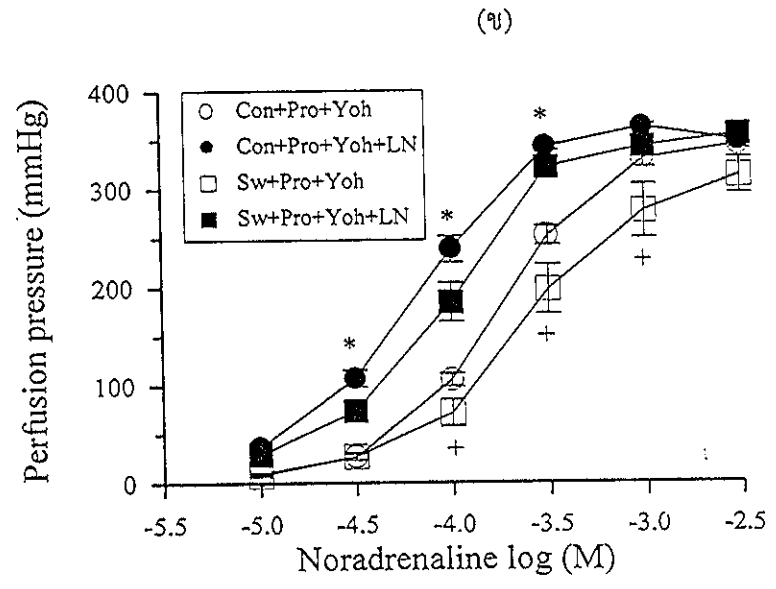
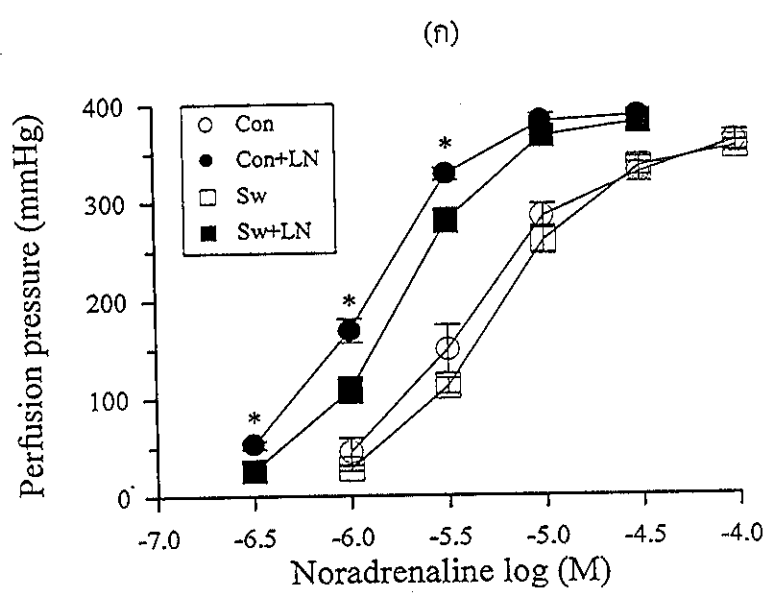
\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำภายหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



### 3.6 ผลของการว่ายน้ำ, LNA, propranolol และ yohimbine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline

รูปที่ 3.10 แสดงผลของ LNA, propranolol และ yohimbine ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline แต่ละความเข้มข้นและการตอบสนองสูงสุดของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน (การตอบสนองสูงสุด กลุ่มว่ายน้ำ  $354.00 \pm 6.04$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $360.50 \pm 10.13$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) มีผลเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ noradrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มและทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ noradrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 3 เท่า แต่อย่างไรก็ตามความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ adrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายน้ำ  $380.50 \pm 4.91$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $387.00 \pm 6.48$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ )

ภายหลังการยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ( $10^{-6}$  M) พร้อมกับยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ด้วย yohimbine ( $10^{-6}$  M) มีผลทำให้ dose-response curve ในตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline เคลื่อนไปทางขวาประมาณ 50 และ 44 เท่าในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำตามลำดับ ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline แต่ละความเข้มข้นภายหลังการยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol และการยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ด้วย yohimbine ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ noradrenaline ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายน้ำ  $312.33 \pm 18.36$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $343.83 \pm 4.47$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) หลังจากที่ยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol และยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ด้วย yohimbine มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองต่อ noradrenaline เคลื่อนไปทางซ้ายประมาณ 3 และ 2 เท่าในกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำตามลำดับ และเช่นเดียวกันความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ noradrenaline แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ noradrenaline ทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายน้ำ  $354.33 \pm 3.52$  มม.ปรอท กลุ่มควบคุม  $362.67 \pm 3.00$  มม.ปรอท,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ) ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.5



รูปที่ 3.10 แสดงผลของการว่ายน้ำ,  $N^G$ -nitro-L-arginine (LN,  $3 \times 10^{-4}$  M) และ propranolol (Pro,  $10^{-5}$  M) + yohimbine (Yoh,  $10^{-6}$  M) ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) เมื่อ (ก) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN และ (ข) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN หลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ด้วย propranolol และ yohimbine,  $n=6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

\* สูงกว่ากลุ่มว่ายน้ำภายหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

+ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 3.4 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ adrenaline (Adr) ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) และ/หรือ propranolol (Pro) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที

Treatment	EC <sub>50</sub> (95% C.I.)				Maximum response (± S.E.M.)	
	flow rate 3 ml. min <sup>-1</sup>	n	(μM)	n	increase in perfusion pressure (mmHg)	
		Control	Swimming	Control	Swimming	
Adr		1.43 (0.91-2.24)	1.92 (1.58-2.33)	372.57 ± 9.13	362.17 ± 12.42	
Adr+LNA		0.54 (0.49-0.65) <sup>*</sup>	0.64 (0.53-0.77) <sup>*</sup>	393.86 ± 6.61 <sup>+</sup>	373.33 ± 4.01	
Adr+Pro		3.40 (2.90-4.00) <sup>a</sup>	3.81 (3.22-4.54) <sup>a</sup>	361.57 ± 8.52	345.80 ± 17.00	
Adr+Pro+LNA		0.95 (0.86-1.04) <sup>b</sup>	1.19 (0.96-1.49) <sup>b</sup>	391.14 ± 5.82 <sup>c</sup>	381.80 ± 9.26 <sup>c</sup>	

<sup>\*</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>+</sup> สูงกว่า maximum response ในกลุ่มควบคุมก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>a</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>b</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) หลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>c</sup> สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) หลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 3.5 ค่า EC<sub>50</sub> และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ noradrenaline (NA), propranolol (Pro) และ yohimbine (Yoh) ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที

Treatment		EC <sub>50</sub> (95% C.I.)		Maximum response (± S.E.M.)		
flow rate 3 ml. min <sup>-1</sup>		(μM)		increase in perfusion pressure (mmHg)		
	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
NA	6	3.30 (2.69-4.06)	6	4.44 (3.84-5.14)	360.50 ± 10.13	354.00 ± 6.04
NA+LNA	6	1.07 (0.97-1.17) <sup>*</sup>	6	1.58 (1.39-1.79) <sup>*,+</sup>	387.00 ± 6.48 <sup>a</sup>	380.50 ± 4.91 <sup>a</sup>
NA+Pro+Yoh	6	163.75 (139.11-192.76) <sup>b</sup>	6	193.96 (136.85-274.90) <sup>b</sup>	343.83 ± 4.47	312.33 ± 18.36
NA+Pro+Yoh+LNA	6	62.66 (55.19-71.14) <sup>c</sup>	6	81.47 (69.37-95.68) <sup>c</sup>	362.67 ± 3.00 <sup>d</sup>	354.33 ± 3.52 <sup>d</sup>

<sup>\*</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>+</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มควบคุมหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>a</sup> สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>b</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและแอลฟาด้วย propranolol และ yohimbine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>c</sup> ต่ำกว่า EC<sub>50</sub> ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) หลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและแอลฟาด้วย propranolol และ yohimbine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>d</sup> สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) หลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและแอลฟาด้วย propranolol และ yohimbine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

### 3.7 ผลการของการว่ายน้ำและ LNA ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds

#### ต่อ isoproterenol

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆก่อนศึกษาการคลายตัวของหลอดเลือดต่อ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม รูปที่ 3.11 และ 3.12 แสดงการคลายตัวในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของหลอดเลือดที่ถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ( $3 \times 10^{-4}$  M) เมื่อหลอดเลือดของกลุ่มควบคุมถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M และกลุ่มว่ายน้ำถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $10^{-4}$  M พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การคลายตัวของ hindquarter vascular beds ในการตอบสนองต่อ isoproterenol พบว่ากลุ่มว่ายน้ำมีความไวในการตอบสนองต่อ isoproterenol ต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่า  $EC_{50}$  ของ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำมีค่าสูงกว่าของกลุ่มควบคุมประมาณ 3 เท่า ( $EC_{50}$  กลุ่มว่ายน้ำ 11.18 (3.98-31.37)  $\mu$ M, n = 5, กลุ่มควบคุม 3.41 (1.50-7.80)  $\mu$ M, n = 6,  $P < 0.05$ ) และการคลายตัวสูงสุดของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มว่ายน้ำร้อยละ  $55.24 \pm 6.36$ , n = 5, กลุ่มควบคุมร้อยละ  $82.35 \pm 4.73$ , n = 6,  $P < 0.05$ )

ภายหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA เมื่อหลอดเลือดของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้นเดิมคือกลุ่มควบคุมหลอดเลือดถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M และกลุ่มว่ายน้ำถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $10^{-4}$  M ตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol ดังแสดงในรูปที่ 3.13 พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ isoproterenol แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า  $EC_{50}$  ของ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 2 เท่า ( $EC_{50}$  กลุ่มว่ายน้ำ 85.53 (54.89-133.27)  $\mu$ M, n = 5, กลุ่มควบคุม 44.89 (24.53-82.16)  $\mu$ M, n = 6,  $P < 0.05$ ) และการคลายตัวสูงสุดของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มว่ายน้ำร้อยละ  $44.25 \pm 3.89$ , n = 5, กลุ่มควบคุมร้อยละ  $67.73 \pm 2.97$ , n = 6,  $P < 0.05$ ) เมื่อลดความเข้มข้นของ phenylephrine โดยให้หลอดเลือด

เลือดของกลุ่มว่ายน้ำหัดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M การหัดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของกลุ่มว่ายน้ำก็ยังต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ isoproterenol แต่ละความเข้มข้นของกลุ่มว่ายน้ำยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า  $EC_{50}$  ของ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 2 เท่า ( $EC_{50}$  กลุ่มว่ายน้ำ  $91.10$  ( $69.51-119.38$ )  $\mu M$ ,  $n = 6$ , กลุ่มควบคุม  $44.89$  ( $24.53-82.16$ )  $\mu M$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0.05$ ) แม้ว่าการคลายตัวสูงสุดของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน (กลุ่มว่ายน้ำร้อยละ  $65.18 \pm 5.07$  กลุ่มควบคุมร้อยละ  $67.73 \pm 2.97$ ,  $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ) ในทำนองเดียวกันเมื่อลดความเข้มข้นของ phenylephrine ของกลุ่มควบคุมมาเป็นที่ความเข้มข้น  $10^{-5}$  M และให้หลอดเลือดของกลุ่มว่ายน้ำยังคงหัดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M เช่นเดิม พบว่าการหัดตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ phenylephrine ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำไม่มีความแตกต่างกัน แต่ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ isoproterenol แต่ละความเข้มข้นและการคลายตัวสูงสุดของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (การคลายตัวสูงสุด กลุ่มว่ายน้ำร้อยละ  $65.18 \pm 5.07$ ,  $n = 5$ , กลุ่มควบคุมร้อยละ  $79.28 \pm 0.91$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0.05$ ) ค่า  $EC_{50}$  ของ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 2 เท่า ( $EC_{50}$  กลุ่มว่ายน้ำ  $91.10$  ( $69.51-119.38$ )  $\mu M$ ,  $n = 6$ , กลุ่มควบคุม  $37.26$  ( $28.91-47.86$ )  $\mu M$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0.05$ ) ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.6 การตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆ (precontracted with phenylephrine concentrations, Precons Phe : log concentration in M) ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย  $N^G$ -nitro-L-arginine (LNA) ก่อนศึกษาการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที

Treatment		Maximum response ( $\pm$ S.E.M.) increase in perfusion pressure (mmHg)		
flow rate 3 ml. min <sup>-1</sup>	n	Control	n	Swimming
Without LNA				
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.0)	6	202.67 $\pm$ 14.17	5	142.00 $\pm$ 19.14 <sup>*</sup>
With LNA				
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.0)	6	221.33 $\pm$ 8.89	5	216.00 $\pm$ 16.84 <sup>+</sup>
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.5)	6	221.33 $\pm$ 8.89	6	125.00 $\pm$ 10.25 <sup>*</sup>
(precons Phe : Con-5.0, Sw-4.5)	6	108.33 $\pm$ 6.67	5	125.00 $\pm$ 10.25

<sup>\*</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมในการทดลองเดียวกันทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

<sup>+</sup> สูงกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มว่ายน้ำก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 3.7 ค่า EC<sub>50</sub> และการคลายตัวสูงสุด (maximum response) ของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol หลังจากที่หลอดเลือดมีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆ (Precons Phe : logM) ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ในหนูกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มว่ายน้ำ (swimming) เมื่อใช้อัตราการไหล 3 มล./นาที

Treatment		EC <sub>50</sub> (95% C.I.)		Maximum response (± S.E.M.)		
flow rate 3 ml. min <sup>-1</sup>		(μM)		% decrease in perfusion pressure		
	n	Control	n	Swimming	Control	Swimming
Without LNA						
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.0)	6	3.41 (1.50-7.80)	5	11.18 (3.98-31.37)	82.35 ± 4.73	55.24 ± 6.36 <sup>*</sup>
With LNA						
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.0)	6	44.89 (24.53-82.16) <sup>+</sup>	5	83.53 (54.89-133.27) <sup>+</sup>	67.73 ± 2.97 <sup>a</sup>	44.25 ± 3.89 <sup>a,b</sup>
(precons Phe : Con-4.5, Sw-4.5)	6	44.89 (24.53-82.16) <sup>+</sup>	6	91.10 (69.51-119.38) <sup>+</sup>	67.73 ± 2.97	65.18 ± 5.07
(precons Phe : Con-5.0, Sw-4.5)	6	37.26 (28.91-48.03) <sup>+</sup>	5	91.10 (69.51-119.38) <sup>+,c</sup>	79.28 ± 0.91	65.18 ± 5.07 <sup>b</sup>

<sup>\*</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

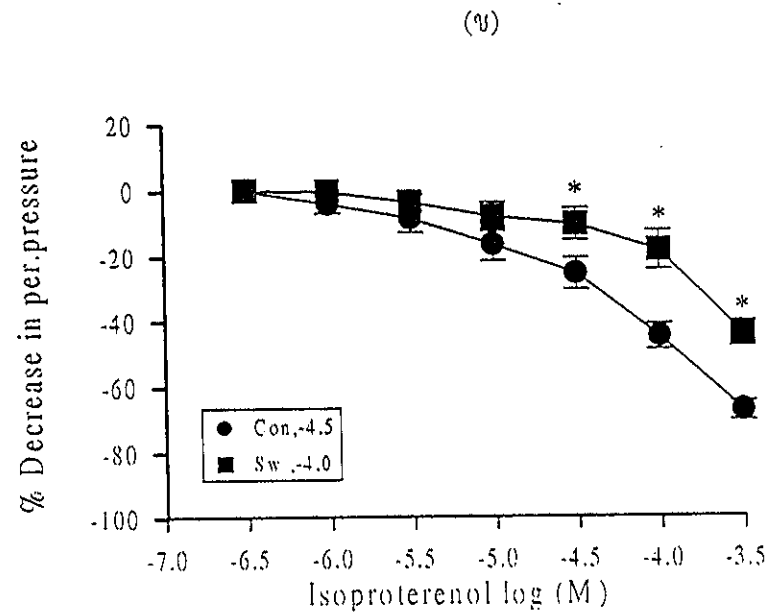
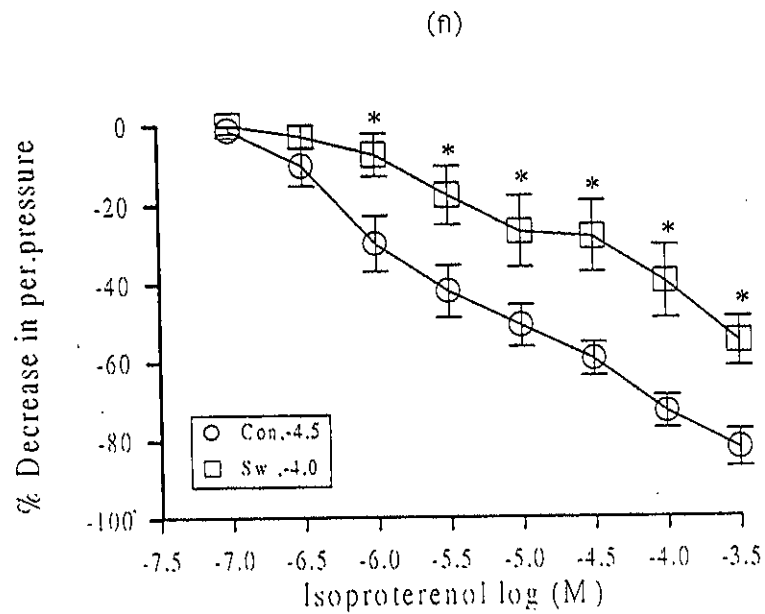
<sup>+</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>a</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมหรือว่ายน้ำ) ก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

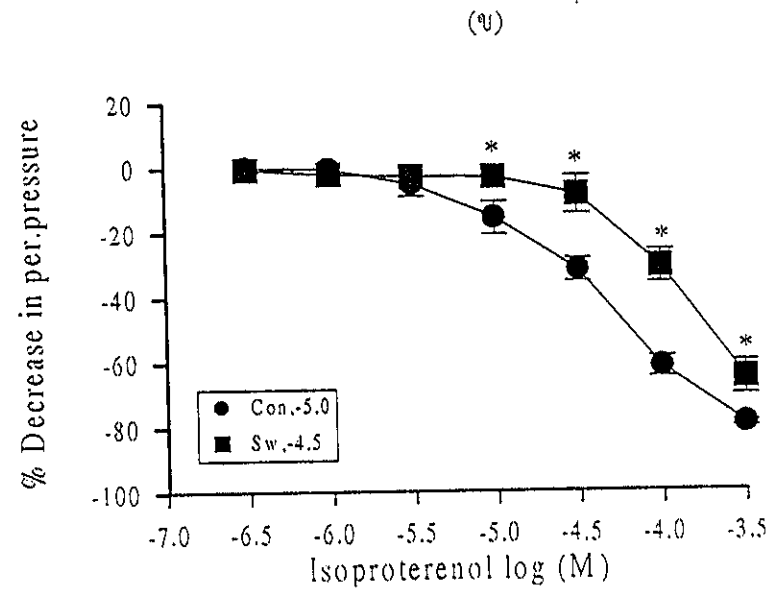
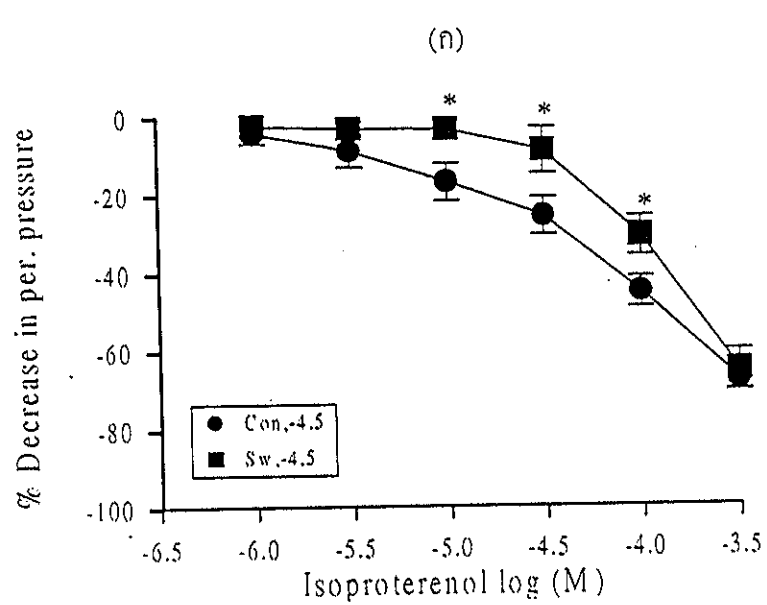
<sup>b</sup> ต่ำกว่า maximum response ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

<sup>c</sup> สูงกว่า EC<sub>50</sub> ของการตอบสนองของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุมหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)





รูปที่ 3.11 แสดงผลของการว่ายน้ำ, isoproterenol และ  $N^G$ -nitro-L-arginine ( $LN, 3 \times 10^{-4}$  M) ต่อการคลายตัวของ hindquarter vascular beds ที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้นซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัวร้อยละ 80 ของ maximum response ในหนูกลุ่มควบคุม (Con),  $n=6$  และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw),  $n=5$  เมื่อ (ก) ก่อนการยับยั้งการสร้าง NO และ (ข) ภายหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.  
 Con,-4.5 : ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $3 \times 10^{-5}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มควบคุมหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol  
 Sw,-4.0 : ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $10^{-4}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มว่ายน้ำหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol  
 \* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

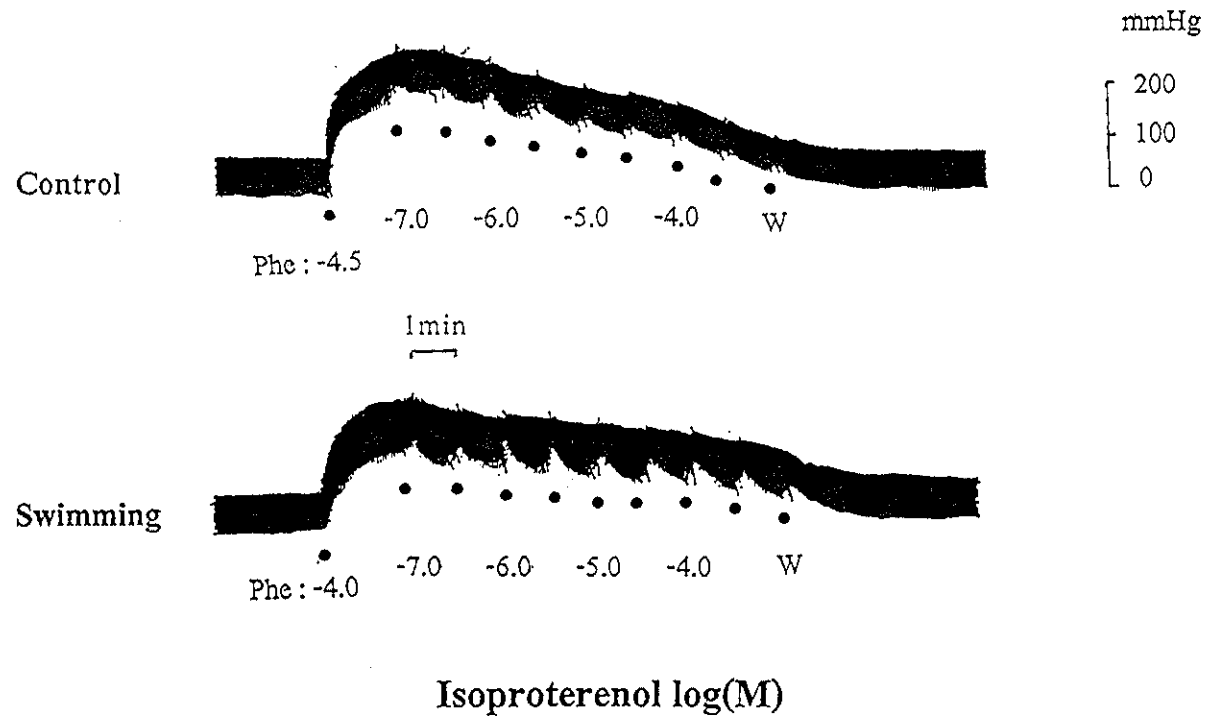


รูปที่ 3.12 แสดงผลของการว่ายน้ำ, isoproterenol และ  $N^G$ -nitro-L-arginine ( $LN, 3 \times 10^{-4}$  M) ต่อการคลายตัวของ hindquarter vascular beds ที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย phenylephrine ความเข้มข้นต่างๆกัน ภายหลังจากยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LN ในหนูกลุ่มควบคุม (Con) และกลุ่มว่ายน้ำ (Sw) เมื่อ (ก) ลดความเข้มข้นของ phenylephrine ที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนในกลุ่มว่ายน้ำ (ข) ลดความเข้มข้นของ phenylephrine ที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มว่ายน้ำ,  $n=5-6$  แต่ละจุดแสดงค่า mean  $\pm$  S.E.M.

Con.-4.5 หรือ Con.-5.0: ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $3 \times 10^{-5}$  หรือ  $10^{-5}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มควบคุมหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol

Sw,-4.5 : ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $3 \times 10^{-5}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มว่ายน้ำหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol

\* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปที่ 3.13 แสดงตัวอย่างผลการทดลองการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ isoproterenol เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายครบส์ 3 มล./นาที ของหนูกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มว่ายน้ำ (Swimming) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

● คือ ป้อนสารละลายครบส์ที่มี phenylephrine และ isoproterenol, ● คือ ป้อนสารละลายครบส์

Phe,-4.5 : ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $3 \times 10^{-5}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มควบคุมหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol

Phe,-4.0 : ความเข้มข้นของ phenylephrine ( $10^{-4}$  M) ที่ให้หลอดเลือดของกลุ่มควบคุมหดตัวก่อนศึกษาการคลายตัวต่อ isoproterenol

#### 4.วิจารณ์

การศึกษารุ่นนี้แสดงให้เห็นว่าการฝึกรอกกำลังกายโดยการว่ายน้ำในหนูแร้ทเพศเมียทำให้ลดความไวในการตอบสนองของ hindquarter vascular beds (sensitivity) ต่อสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-1 (phenylephrine, Phe) แต่ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งตัวเอง (basal release) ของ nitric oxide (NO) จาก hindquarter vascular beds ผลดังกล่าวแตกต่างกับผลการศึกษาของ Jansakul (1995) ศึกษาหลอดเลือด thoracic aorta และ Jansakul & Hirunpan (1999) ศึกษาหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทเพศผู้ที่ฝึกรอกกำลังกายโดยวิธีการเดียวกัน พบว่าการลดการตอบสนองของหลอดเลือดทั้ง 2 ชนิดนี้ต่อ Phe เกิดจากเพิ่มการหลั่ง NO ทั้งการหลั่งตัวเองและการหลั่งจากการถูกกระตุ้นจากชั้น endothelium และกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการฝึกรอกกำลังกายอย่างหนักเป็นเวลานานโดยการว่ายน้ำดังกล่าวมีผลทำให้การตอบสนองของหลอดเลือดต่ำลง หลอดเลือดด้านทรวงอกบริเวณอวัยวะที่ไม่ใช้งานขณะออกกำลังกาย และหลอดเลือดด้านทรวงอกบริเวณอวัยวะที่ใช้งานขณะออกกำลังกายแตกต่างกัน ผลการทดลองดังกล่าวนี้คล้ายกับผลการทดลองของ McAllister และคณะ (1996) ซึ่งรายงานว่าการฝึกรอกกำลังกายของสุกรโดยการวิ่งบน treadmill เป็นเวลานานไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดแดง femoral, brachial, mesenteric และ hepatic ต่อ KCl หรือ noradrenaline (NA) แต่การตอบสนองโดยการหดตัวของหลอดเลือดแดง renal ต่อ NA ของกลุ่มฝึกรอกกำลังกายต่ำกว่าของกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ Lash (1998) รายงานว่าการเปลี่ยนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงบริเวณกล้ามเนื้อ spinotrapezius ในการตอบสนองต่อ NA และ adrenaline (Adr) แตกต่างกันขึ้นอยู่กับลำดับ (order) ของหลอดเลือด arterioles โดยหลอดเลือด terminal feed artery และหลอดเลือด arteriole ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด (first-order arteriole) ของกลุ่มฝึกรอกกำลังกายหดตัวตอบสนองต่อ NA ความเข้มข้นสูงๆ ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม แต่การตอบสนองโดยการคลายตัวโดยใช้ Adr ความเข้มข้นต่ำๆ พบว่ามีผลทำให้หลอดเลือด arteriole ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและหลอดเลือด arteriole ที่มีขนาดใหญ่รองลงมา (second-order arteriole) ของกลุ่มฝึกรอกกำลังกายมีการคลายตัวแต่ไม่มีผลดังกล่าวในกลุ่มควบคุม

การเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe ของหนูแร้ทที่ฝึกรอกกำลังกายในการศึกษารุ่นนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด (anatomical vascular adaptation) และ/หรือการปรับการทำงานของหลอดเลือด (functional vascular adaptation) Lash & Bohlen (1992) รายงานว่าการฝึกรอกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เป็นเวลานานของหนูแร้ททำให้เพิ่มความหนาแน่นของหลอดเลือดในกล้ามเนื้อลาย พบว่ามีการเพิ่ม

ศึกษาค้นคว้าของหลอดเลือด capillary ต่อใยกล้ามเนื้อของกล้ามเนื้อ gracilis ในกลุ่มฝึกออกกำลังกาย  
 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทำนองเดียวกัน Suzuki และคณะ (1997) ใช้เทคนิคทาง histochemical  
 ย้อมสีหาปริมาณของหลอดเลือด capillary บริเวณกล้ามเนื้อ soleus ในหนูแร้ที่อายุ 3 และ 54  
 สัปดาห์ที่ฝึกออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill เป็นเวลานาน พบว่าความหนาแน่นของหลอดเลือด  
 arteriolar capillary ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายเพิ่มขึ้น แต่ venular capillary และ intermediate  
 capillary (หลอดเลือด capillary บริเวณ transitional zone) ลดลงเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง  
 สร้างของหลอดเลือดดังกล่าวนี้ทำให้ลดความต้านทานรวมของหลอดเลือด ดังนั้นหากมีการเปลี่ยนแปลง  
 โครงสร้างของ hindquarter vascular beds หลังฝึกออกกำลังกาย เมื่อใช้อัตราการไหลของสาร  
 ละลายเตรบส์ที่เท่ากัน ค่า basal perfusion pressure ของหนูกุ่มควบคุมที่มีหลอดเลือดเล็กกว่าจะมี  
 ค่าสูงกว่ากลุ่มที่มีหลอดเลือดใหญ่กว่า เพื่อที่จะศึกษาความเป็นไปได้ดังกล่าวจึงทำการทดลองโดย  
 ศึกษาผลของอัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ต่อการตอบสนองของ hindquarter vascular beds  
 ต่อ KCl และ Phe เปรียบเทียบระหว่างเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ 5 มล./นาทีและ  
 3 มล./นาที ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ทั้งของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม ผลการ  
 ทดลองพบว่าค่า basal perfusion pressure ของ hindquarter vascular beds ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่ม  
 ควบคุมไม่แตกต่างกันไม่ว่าจะใช้อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ 5 หรือ 3 มล./นาที รูปที่ 3.1  
 และ 3.3 พบว่าการตอบสนองสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำสูงกว่า  
 กลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ 5 มล./นาที  
 ในขณะที่เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ 3 มล./นาที การตอบสนองของ hindquarter  
 vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน และเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า  
 KCl ไม่มีผลกระตุ้นการหลั่ง NO (Cock & Angus, 1983) จากผลดังกล่าวนี้แสดงว่าการเพิ่มการตอบ  
 สอนสูงสุดของ hindquarter vascular beds ต่อ KCl ของกลุ่มว่ายน้ำเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อใช้  
 อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์ 5 มล./นาที น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ  
 hindquarter vascular beds สำหรับการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe พบว่าการ  
 ตอบสนองของกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลาย  
 เตรบส์ 5 มล./นาที แต่ภายหลังยับยั้งด้วย LNA พบว่าความไวในการตอบสนองของ hindquarter  
 vascular beds ต่อ Phe ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ที่เป็นดังนี้อาจเป็นไปได้ว่าความไวในการ  
 ตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มว่ายน้ำที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง  
 ของหลอดเลือดถูกทำให้ลดลงเนื่องจากการลดการตอบสนอง (down regulation) ของหลอดเลือด  
 ต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-1 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเตรบส์  
 เป็น 3 มล./นาที พบว่าการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe แต่ละความเข้มข้นของ

กลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA ผลการทดลองนี้เป็นการยืนยันว่ามีการลดความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มว่ายน้ำเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Jansakul (1995) และ Jansakul & Hirunpan (1999) รายงานว่าการฝึกรอกกำลังกายโดยการว่ายน้ำในหนูแร้ทเพศผู้ทำให้เพิ่มการหลั่ง NO (แต่ไม่เพิ่มการหลั่ง vasodilator prostaglandins) จากหลอดเลือด thoracic aorta และ mesenteric arterial beds ส่งผลให้ลดการตอบสนองของหลอดเลือดทั้ง 2 ชนิดต่อ Phe การศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีฝึกรอกกำลังกายเดียวกันและได้ศึกษาว่าการลดการตอบสนองต่อ Phe ของหลอดเลือดเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการหลั่ง NO ทั้งชนิดการหลั่งได้เองตามปกติหรือการหลั่งจากการถูกกระตุ้นจากหลอดเลือดหรือไม่ ทำการศึกษาโดยศึกษาการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe ในสัตว์ทดลองกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.3 LNA มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ทั้งในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้นในขนาดที่เท่ากัน ดังนั้นการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มว่ายน้ำจึงยังคงต่ำกว่าของกลุ่มควบคุม indomethacin ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe ในทั้ง 2 กลุ่มทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA ผลการทดลองดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่าการลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ภายหลังฝึกรอกกำลังกายไม่น่าจะเกิดจากการเพิ่มการหลั่ง NO และ/หรือ vasodilator prostaglandins ผลการทดลองดังกล่าวนี้คล้ายกับรายงานของ Patil (1993) และ Howard & DiCarlo (1993) ศึกษาการตอบสนองโดยการหดตัวของหลอดเลือดต่อ Phe ก่อนและหลังออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill 1 ครั้ง (single bout) วัดอัตราการไหลของเลือดในหลอดเลือดแดง common iliac พบว่าการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ Phe ลดลงหลังออกกำลังกายเมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกาย แต่อย่างไรก็ตาม Sun และคณะ (1994) พบว่าการตอบสนองโดยการหดตัวของหลอดเลือด gracilis arterioles ต่อ NA ของหนูแร้ทที่ฝึกรอกกำลังกายระยะสั้นและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน แม้ว่าการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh และ L-Arg ของกลุ่มฝึกรอกกำลังกายเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และผลดังกล่าวนี้สามารถยับยั้งได้ด้วย LNA แสดงว่าการฝึกรอกกำลังกายระยะสั้นทำให้เพิ่มการสร้าง NO จากการกระตุ้นโดย ACh และ L-Arg จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด และในทำนองเดียวกัน Koller และคณะ (1995) รายงานว่าการออกกำลังกายระยะสั้นของหนูแร้ทติดต่อกันทุกวันทำให้เพิ่มความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด gracilis arteriole ต่อแรงเสียดสีผนังหลอดเลือด (wall shear stress) ทำให้เพิ่มการหลั่ง NO และ vasodilator prostaglandins ส่งผลให้หลอดเลือดขยายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การที่ผลการทดลองในครั้งนี้และของ Patil และคณะ (1993) ขัดแย้งกับของกลุ่มอื่น อาจเป็นไปได้ว่าในการทดลองครั้งนี้และการศึกษาของ Patil และคณะ (1993) ทำการศึกษา

โดยใช้หลอดเลือดทุกดำคับตั้งแต่หลอดเลือดแดงขนาดกลาง (medium artery) หลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small artery) หลอดเลือดดำ (vein) หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) หลอดเลือดฝอย (capillary) และหลอดเลือดดำฝอย (venule) ในขณะที่ Sun และคณะ (1994) และ Koller และคณะ (1995) ทำการทดลองโดยใช้เฉพาะ arteriole ซึ่งเป็นหลอดเลือดที่สามารถเปลี่ยนแปลงขนาดได้มากขณะออกกำลังกาย และอาจเป็นข้อบ่งชี้ว่าหลอดเลือดต่างชนิดกันอาจให้ผลการตอบสนองที่แตกต่างกัน

การลดการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ Phe ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกายอาจเกิดจาก down regulation จากการเพิ่มระดับของ NA และ Adr ในพลาสมาขณะออกกำลังกาย Pawelczyk และคณะ (1997) และ Mazzeo และคณะ (1997) รายงานว่าระดับ NA ในพลาสมาเพิ่มขึ้นขณะออกกำลังกาย และในทำนองเดียวกันระดับ Adr ในพลาสมาที่เพิ่มขึ้นอย่างมากด้วยขณะออกกำลังกาย (Neumann & Heusch, 1997; Silverman & Mazzeo, 1996) การออกกำลังกายเป็นตัวกระตุ้นที่ดีในการกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก มีรายงานว่า การออกกำลังกายทั้งแบบ static และ dynamic มีผลทำให้เพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ (muscle sympathetic nerve activity) โดยพบว่าการออกกำลังกายของแขนแบบ isometric ในคน ทำให้การทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นทันทีที่เริ่มออกกำลังกายและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆขณะที่มีการออกกำลังกาย (Batman, et al., 1994) นอกจากนี้การออกกำลังกายแบบ dynamic ทำให้การทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงบริเวณเอว (lumbar sympathetic nerve activity) เพิ่มขึ้นทันทีตั้งแต่เริ่มต้นออกกำลังกายในหนูแร้ (DiCarlo, et al., 1996) หรือแม้แต่ขณะออกกำลังกายในคนโดยการปั่นจักรยานด้วยความแรง (intensity) เบาๆ เป็นเวลานาน (Saito, et al., 1997) สำหรับการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกที่หลอดเลือด Buckwalter และคณะ (1997) รายงานว่าแม้ขณะออกกำลังกายโดยการวิ่งบน treadmill อย่างหนักในสุนัขก็ยังคงมีการหดตัวของหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อลายที่ใช้งาน โดยการกระตุ้นผ่านตัวรับแอดรีเนอร์จิก (sympathetic vasoconstriction) เนื่องจากการยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาด้วย prazosine ทำให้เพิ่ม ileac conductance ขณะออกกำลังกาย การเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติกขณะออกกำลังกายอาจจะทำให้เพิ่มปริมาณของ NA ที่หลั่งออกมาจากปลายประสาท (NA spillover) เข้าสู่กระแสเลือด Savard และคณะ (1987) ได้พิสูจน์ความเป็นไปได้นี้โดยวัดระดับ NA spillover ในหลอดเลือดดำ femoral ขณะออกกำลังกายโดยการเหยียดเข่า (knee extension) เปรียบเทียบระหว่างขาข้างที่ออกกำลังกายและขาข้างที่ไม่ได้ออกกำลังกาย พบว่ามี NA spillover ในขาข้างที่ออกกำลังกายมากกว่าขาข้างที่ไม่ได้ออกกำลังกาย Kjaer และคณะ (1985) และ Kjaer และคณะ (1986) รายงานว่าการฝึกออกกำลังกายเป็นเวลานานในคนทำให้เพิ่มการตอบสนอง

ของต่อมหมวกไตชั้นใน (adrenal medulla) ทำให้เพิ่ม secretory capacity เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Perronnet และคณะ (1981) รายงานว่าระดับ NA และ Adr ในพลาสมาของคนเพิ่มขึ้นภายหลังการออกกำลังกายด้วยความรุนแรงปานกลาง โดยระดับ Adr ในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับปกติเฉพาะช่วงที่ออกกำลังกายอย่างหนักหรือออกกำลังกายขนาดปานกลางเป็นเวลานาน สำหรับในการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำหนักต่อมหมวกไต น้ำหนักต่อมหมวกไตต่อน้ำหนักตัวของกลุ่มว่ายน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าการฝึกร่างกายโดยการว่ายน้ำเป็นเวลานานที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีผลกระทบต่อระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงต่อมหมวกไต (sympathoadrenal system) ด้วยควบคุมไปกับการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ ซึ่งอาจทำให้เพิ่มระดับ NA และ Adr ในพลาสมาขณะออกกำลังกายและนำไปสู่การลดการตอบสนอง (down regulation) ของหลอดเลือด hindquarter vascular beds ต่อการกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาขณะพักภายหลังการฝึกร่างกาย

NA และ Adr เป็นสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกที่ไม่จำเพาะ (non-specific adrenergic receptor agonists) ที่หลอดเลือด NA จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ในขณะที่ Adr จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิดแอลฟาและบีตา ดังนั้นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจว่าการฝึกร่างกายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทำให้ลดการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดอื่นหรือไม่ จึงทำการทดลองโดยศึกษา dose-response curve ในการตอบสนองต่อ NA, Adr และ Adr หลังจากยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ในกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ผลการทดลองพบว่าความไวในการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ NA และ Adr ของกลุ่มว่ายน้ำมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามภายหลังการยับยั้งด้วย LNA ความไวในการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ NA และ Adr ในกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นการชี้ให้เห็นว่าอาจมีการหลั่ง NO จากการถูกกระตุ้นลดลงภายหลังฝึกร่างกาย ผลการทดลองดังกล่าวนี้เกิดขึ้นในทำนองเดียวกันเมื่อศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Adr หลังยับยั้งตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol ซึ่งเป็นการยืนยันว่าการฝึกร่างกายทำให้ลดความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา ผลดังกล่าวนี้เหมือนกับการศึกษาของ Wiegman และคณะ (1981) ที่พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดแดงเล็กบริเวณทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA กล้ามเนื้อ cremaster ต่อ NA ลดลงภายหลังฝึกร่างกายโดยการว่ายน้ำนาน 6 สัปดาห์ และความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดดำต่อ NA ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางกลับกัน Lash (1998) รายงานว่าความไวในการหดตัวตอบสนองต่อ NA และ Adr ความเข้มข้นสูงของหลอดเลือดแดง terminal feed



และหลอดเลือดแดงเล็กที่มีขนาดใหญ่ที่สุด (first-order arteriole) ของหนูแร้ที่ฝึกออกกำลังกาย โดยการวิ่งบน treadmill เป็นเวลานานเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ Adr ความเข้มข้นต่ำมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด arteriole ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและหลอดเลือดแดงเล็กที่มีขนาดใหญ่รองลงมา (second-order arteriole) ของกลุ่มฝึกออกกำลังกายเท่านั้น ไม่พบการคลายตัวของหลอดเลือดดังกล่าวในกลุ่มควบคุม ในทำนองเดียวกันเหตุผลสำหรับอธิบายผลการศึกษาที่ขัดแย้งดังกล่าวอาจเป็นเพราะชนิดของหลอดเลือดที่เลือกใช้ในการศึกษาแตกต่างกัน

เพื่อศึกษาว่าการลดการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ NA ในกลุ่มฝึกออกกำลังกายเกี่ยวข้องกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 หรือไม่ ทำการทดลองโดยศึกษา dose-response curve ต่อ NA หลังจากยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาด้วย propranolol และยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ด้วย yohimbine ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.10 พบว่าก่อนยับยั้งด้วย propranolol และ yohimbine ความไวในการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อ NA ของกลุ่มว่ายน้ำมีแนวโน้มลดลงโดยที่การตอบสนองสูงสุดไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่หลังยับยั้งด้วย propranolol และ yohimbine ทั้งก่อนและหลังยับยั้งด้วย LNA พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ NA ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าอาจมีการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 ทดแทนการลดการตอบสนองต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด แอลฟา-1 และการลดการหลั่ง NO จากการถูกกระตุ้นของ hindquarter vascular beds

เพื่อศึกษาว่าการฝึกออกกำลังกายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาหรือไม่ ทำการทดลองโดยศึกษา dose-response curve ต่อ isoproterenol ของหลอดเลือดที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย Phe ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทั้งกลุ่มว่ายน้ำและกลุ่มควบคุม ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.11 และ 3.12 พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ isoproterenol ของกลุ่มว่ายน้ำต่ำกว่ากลุ่มควบคุมไม่ว่าจะให้หลอดเลือดของกลุ่มว่ายน้ำหดตัวอยู่ก่อนด้วย Phe ความเข้มข้นเดียวกันหรือความเข้มข้นต่ำกว่ากลุ่มควบคุมทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ผลดังกล่าวนี้เป็นการชี้ว่ามีการลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาภายหลังฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำเป็นเวลานาน ซึ่งผลดังกล่าวนี้เทียบได้กับผลการศึกษาของ Butler และคณะ (1982) ที่รายงานว่าการฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำเป็นเวลานาน ทำให้ลดความหนาแน่นของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่เม็ดเลือดขาวของคนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และการลดความหนาแน่นของตัวรับแอดรีเนอร์จิก

กล่าวเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลง fitness แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาดังนี้ให้ผลแตกต่างกับ Fujii และคณะ (1997) ที่รายงานว่าทั้งระดับ mRNA ของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาและจำนวนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่เม็ดเลือดขาวของคนเพิ่มขึ้นทันทีหลังออกกำลังกายเพียงครั้งเดียวโดยการปั่นจักรยานจนเหนื่อยหอบ และในทำนองเดียวกัน Svedenhag และคณะ (1999) รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดโดยการฉีด isoproterenol เข้าทางหลอดเลือดดำของคนในกลุ่มฝึกออกกำลังกายคลายตัวได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ฝึกออกกำลังกาย แต่การตอบสนองต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา-2 บริเวณเม็ดเลือดขาวไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มฝึกออกกำลังกายและกลุ่มควบคุม สาเหตุของความขัดแย้งของผลการทดลองเหล่านี้ อาจเนื่องจากระยะเวลาที่ออกกำลังกายหรือวิธีการที่ใช้ศึกษาแตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้และการศึกษาของ Butler และคณะ (1982) ศึกษาในกลุ่มที่ฝึกออกกำลังกาย ขณะที่ Fujii และคณะ (1997) ศึกษาหลังออกกำลังกายทันที โดยไม่ได้ผ่านการฝึกออกกำลังกายมาก่อน หรือในอีกกรณีหนึ่งอาจเนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ทำการทดลองใน hindquarter vascular beds ซึ่งเป็นหลอดเลือดบริเวณกล้ามเนื้อที่ใช้ออกกำลังกายโดยตรง ในขณะที่ Svedenhag และคณะ (1991) ใช้วิธีวัดความดันเลือดแดงซึ่งเกิดจากการตอบสนองของอวัยวะหลายส่วนทั่วร่างกาย

## 5. สรุป

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการฝึกออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำในหนูแร้ทเพศเมียทำให้ลดอัตราการเต้นของหัวใจและความดันโลหิตขณะพัก ลดการตอบสนองของ hindquarter vascular beds ต่อการกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-1 และชนิดบีตา เพิ่มการตอบสนองต่อการกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา-2 และลดการหลั่ง NO ชนิดหลังจากการถูกกระตุ้นจาก hindquarter vascular beds ของกลุ่มว่ายน้ำเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

## เอกสารอ้างอิง

- Abe, T., Takeuchi, K., Takahashi, N., Tsutsumi, E., Taniyama, Y. and Abe, K. 1995. Rat kidney thromboxane receptor: molecular cloning, signal transduction, and intrarenal expression localization. *J. Clin. Invest.* 96 : 657-664.
- Ahlborg, G. and Lundberg, J. 1997. Nitric oxide-endothelin-1 interaction in humans. *J. Appl. Physiol.* 82 (5) : 1593-1600.
- Aleman, C. A., Oh, W. and Stonestreet, B. S. 1997. Effects of nitric oxide synthase inhibition on mesenteric perfusion in young pigs. *Am. J. Physiol.* 272 (Gastrointest. Liver Physiol. 35) G612-G616.
- Andersen, H. L., Weis, J. U., Fjalland, B. and Korsgaard, N. 1999. Effect of acute and long-term treatment with 17- $\beta$ -estradiol on the vasomotor responses in the aorta. *Br. J. Pharmacol.* 126 : 159-168.
- Anggard, E. 1994. Nitric oxide : mediator, murderer, and medicine. *Lancet.* 343 : 1199 -1206.
- Arai, H., Hori, S., Aramori, I., Ohkubo, H. and Nakanishi, S. 1990. Cloning and expression of cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature.* 348 : 730-732.
- Aramori, I. and Nakanishi, S. 1992. Coupling of Two Endothelin Receptor Subtypes to Differing Signal Transduction in Transfected Chinese Hamster Ovary Cells. *J. Biol. Chem.* 267 : 12468-12474.
- Armstrong, W. M. 1996a. Role of ATP-sensitive  $K^+$  channels in cGMP-mediated pial artery vasodilation. *Am. J. Physiol.* 270 (Heart Circ. Physiol. 39) : H423-H426.
- Armstrong, W. M. 1996b. Role of activation of calcium-sensitive  $K^+$  channels in nitric oxide- and hypoxia-induced pial artery vasodilation. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1785 -H1790.
- Armstrong, W. M. 1997. Brain injury impairs ATP-sensitive  $K^+$  channel function in piglet cerebral arteries. *Stroke.* 28 : 2273-2280.
- Armstrong, W. M. 1998. Relationship among NO, the  $K_{ATP}$  channel, and opioids in hypoxic pial artery dilation. *Am. J. Physiol.* 275 (Heart Circ. Physiol. 44) : H988 -H994.
- Bakker, E. N. T. P. and Sipkema, P. 1997. Components of acetylcholine-induced dilation in isolated rat arterioles. *Am. J. Physiol.* 270 (Heart Circ. Physiol. 39) : H1696-H1703.

- Balon, T. W. and Nadler, J. L. 1994. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J. Appl. Physiol.* 77 (6) : 2519-2521.
- Balon, T. W. and Nadler, J. L. 1997. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 82 (1) : 359-363.
- Barer, G., Emery, C., Stewart, A., Bee, D. and Howard, P. 1993. Endothelial control of the pulmonary circulation in normal and chronically hypoxic rats. *J. Physiol.* 463 : 1-16.
- Barron, B. A., Laughlin, M. H. and Gwartz, P. A. 1997. Exercise effect on canine and miniswine cardiac catecholamines and enkephalins. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (10) : 1338-1343.
- Batman, B. A., Hardy, J. C., Leuenberger, U. A., Smith, M. B., Yang, Q. X. and Sinoway, L. I. 1994. Sympathetic nerve activity during prolonged rhythmic forearm exercise. *J. Appl. Physiol.* 76 (3) : 1077-1081.
- Bauer, J., Dau, C., Cavarape, A., Schaefer, F., Ehmke, H. and Parekh, N. 1999. ANG II- and  $\text{TxA}_2$ -induced mesenteric vasoconstriction in rats is mediated by separate cell signaling pathways. *Am. J. Physiol.* 277 (Heart Circ. Physiol. 46) : H1-H7.
- Bauersachs, J., Popp, R., Hecker, M., Sauer, E., Fleming, I. and Busse, R. 1996. Nitric Oxide Attenuates the Release of Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor. *Circulation.* 94 : 3341-3347.
- Berdeaux, A., Ghaleh, B., Dubois-Rande, J. L., Vigue, B., Rochelle, C. D. L., Hittinger, L. and Giudicelli, J. F. 1994. Role of Vascular Endothelium in Exercise-induced Dilation of Large Epicardial Coronary Arteries in Conscious Dogs. *Circulation.* 89 : 2799-2808.
- Bhalla, R. C., Toth, K.F., Bhatti, R. A., Thompson, L. P. and Sharma, R. V. 1997. Estrogen reduces proliferation and agonist-induced calcium increase in coronary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1996-H2003.
- Bolme, P., Novotny, J., Uvnas, B. and Wright, P. G. 1970. Species Distribution of Sympathetic Cholinergic Vasodilator Nerves in Skeletal Muscle. *Acta Physiol. Scand.* 78 : 60-64.
- Bohensky, F. 1986. The circulatory system. In *Photo manual and dissection guide of the rat.* 1<sup>st</sup> ed., pp. 113, avery publishing group Inc. USA.
- Bove, A. A. and Dewey, J. D. 1985. Proximal coronary vasomotor reactivity after exercise training in dogs. *Circulation.* 71 : 620-625.

- Bredt, D. S., Hwang, P. M. and Synder, S. H. 1990. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role of nitric oxide. *Nature*. 347 : 768-770.
- Breisch, E. A., White, F. C., Nimmo, L. E., McKirnan, M. D. and Bloor, C. M. 1986. Exercise-induced cardiac hypertrophy : a correlation of blood flow and microvasculature. *J. Appl. Physiol.* 60 (4) : 1259-1267.
- Brock, J. A., McLachlan, E. M. and Rayner, S. E. 1997. Contribution of  $\alpha$ -adrenoceptors to depolarization and contraction evoked by continuous asynchronous sympathetic nerve activity in rat tail artery. *Br. J. Pharmacol.* 120 : 1513-1521.
- Brodal, P., Ingjer, F. and Hermansen, L. 1977. Capillary supply of skeletal muscle fibers in untrained and endurance-trained men. *Am. J. Physiol.* 232 (6) : H705-H712.
- Brody, T. M., Larner, J. and Minneman, K. P. 1998. *Human Pharmacology : Molecular To Clinical*. 3<sup>rd</sup> ed., pp 90-95, Mosby-Year Book, Inc. USA.
- Brosnihan, K. B., Li, P., Ganten, D. and Ferrario, C. M. 1997. Estrogen protects transgenic hypertensive rats by shifting the vasoconstrictor-vasodilator balance of RAS. *Am. J. Physiol.* 273 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 42) : R1908-R1915.
- Brotan, T. P., Miyashiro, J. K., Moncada, S. and Feigl, E. O. 1992. Role of endothelium-derived relaxing factor in parasympathetic coronary vasodilation. *Am. J. Physiol.* 262 (Heart Circ. Physiol. 31) : H1579-H1584.
- Buckwalter, J. B., Mueller, P. J. and Clifford, P. S. 1997. Sympathetic vasoconstriction in active skeletal muscles during dynamic exercise. *J. Appl. Physiol.* 83 (5) : 1575-1580.
- Buckwalter, J. B., Mueller, P. J. and Clifford, P. S. 1998.  $\alpha_1$ -Adrenergic-receptor responsiveness in skeletal muscle during dynamic exercise. *J. Appl. Physiol.* 85 (6) : 2277-2283.
- Butler, J., O'Brien, M., O'Malley, K. and Kelly, J. G. 1982. Relationship of  $\beta$ -adrenoceptor density to fitness in athletes. *Nature*. 298 : 60-62.
- Carrier, G. O., Fuchs, L.C., Winecoff, A. P., Giulumian, A. D. and White, R. E. 1997. Nitrovasodilators relax mesenteric microvessels by cGMP-induced stimulation of  $\text{Ca}^{2+}$ -activated K channels. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H76-H84.
- Carter, T. D. and Pearson, J. D. 1992. Regulation of Prostacyclin Synthesis in Endothelial Cells. *NIPS*. 7 : 64-69.

- Casino, P. R., Kilcoyne, C. M., Quyyumi, A. A., Hoeg, J. M. and Panza, J. A. 1993. The Role of Nitric Oxide in Endothelium-Dependent Vasodilation of Hypercholesterolemic Patients. *Circulation*. 88 : 2541-2547.
- Celermajer, D. S., Dollery, C., Burch, M. and Deanfield, J. E. 1994. Role of Endothelium in the Maintenance of Low Pulmonary Vascular Tone in Normal Children. *Circulation*. 89 : 2041-2044.
- Chakder, S., Bandyopadhyay, A. and Rattan, S. 1997. Neuronal NOS gene expression in gastrointestinal myenteric neurons and smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 273 (Cell Physiol. 42) : C1868-C1875.
- Champion, H. C. and Kadowitz, P. J. 1997. NO release and the opening of  $K^+_{ATP}$  channels mediate vasodilator response to histamine in the cat. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H928-H937.
- Chandler, M. P. and DiCarlo, S. E. 1997. Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2734-H2745.
- Chandler, M. P., Rodenbaugh, D. W. and DiCarlo, S. E. 1998. Arterial baroreflex resetting mediates postexercise reductions in arterial pressure and heart rate. *Am. J. Physiol.* 275 (Heart Circ. Physiol. 44) : H1627-H1634.
- Chang, H. 1997. Role of nitric oxide in vasodilator responses induced by salbutamol in rat diaphragmatic microcirculation. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H2173-H2179.
- Charan, N. B., Johnson, S. R., Lakshminarayan, S., Thompson, W. H. and Carvalho, P. 1997. Nitric oxide and  $\beta$ -adrenergic agonist-induced bronchial arterial vasodilation. *J. Appl. Physiol.* 82 (2) : 686-692.
- Chataigneau, T., Feletou, M., Duhault, J. and Vanhoutte, P. M. 1998. Epoxyeicosatrienoic acids, potassium channel blockers and endothelium-dependent hyperpolarization in the guinea-pig carotid artery. *Br. J. Pharmacol.* 123 : 574-580.
- Chen, G. and Suzuki, H., Weston, A. H. 1988. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* 95 : 1165-1174.

- Chen, G. and Suzuki, H. 1990. Calcium dependency of the endothelium-dependent hyperpolarization in smooth muscle cells of the rabbit carotid artery. *J. Physiol.* 421 : 521-534.
- Chen, G. and Suzuki, H. 1991. Endothelium-dependent hyperpolarization elicited by adenine compounds in rabbit carotid artery. *Am. J. Physiol.* 260 (Heart Circ. Physiol. 29) : H1037-H1042.
- 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., Li, H. and Chen, C. 1994. Physical Conditioning Decrease Norepinephrine-Induced Vasoconstriction in Rabbits : Possible Roles of Norepinephrine-Evoked Endothelium-Derived Relaxing factor. *Circulation.* 90 : 970-975.
- Chen, H. and Chiang, I. 1996. Chronic exercise decreases adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneous hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 271 (Heart Circ. Physiol. 40) : H977 -H983.
- Chen, L., Salafranca, M. N. and Mehta, J. L. 1997a. Cyclooxygenase inhibition decrease nitric oxide synthase activity in human platelets. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1854-H1859.
- Chen, Y., Chandler, M. P. and DiCarlo, S. E. 1997b. Daily exercise and gender influence postexercise cardiac autonomic responses in hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1412 -H1418.
- Cheung, P. and Schulz, R. 1997. Glutathione causes coronary vasodilation via a nitric oxide- and soluble guanylate cyclase-dependent mechanism. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1231-H1238.
- Chu, A. and Cobb, F. R. 1987. Effects of Atrial Natriuretic Peptide on Proximal Epicardial Coronary Arteries and Coronary Blood Flow in Conscious Dogs. *Circ. Res.* 61 : 485-491.
- Claycombe, K. J., Lee, D. W. and Miller III, H. A. 1995. Properties of rat ANP-secreting cells that are cardiomyocytes and that synthesize the hormone. *Am. J. Physiol.* 268 (Heart Circ. Physiol. 37) : H265-H270.



- Cleroux, J., Kouame, N., Nadeau, A., Coulombe, D. and Lacouriere, Y. 1992. Aftereffects of Exercise on Regional and Systemic Hemodynamics in Hypertension. *Hypertension*. 19 : 183-191.
- Coats, A. J. S., Conway, J., Isea, J. E., Pannarale, G., Sliight, P. and Somer, V. K. 1989. Systemic and forearm vascular resistance changes after upright bicycle exercise in man. *J. Physiol.* 413 : 289 -298.
- Cochran, F. R., Selph, J. and Sherman, P. 1996. Insights into the Role of Nitric Oxide in Inflammatory Arthritis. *Med. Res. Rev.* 16 : 547-567.
- Cockcroft, J. R., Chowienczyk, P. J., Brett, S. E., Chen, C. P., Dupont, A. G., Nueten, L. V., Wooding, P. J. and Ritter, J.M. 1995. Nebivolol Vasodilates Human Forearm Vasculature : Evidence for an L -Arginine/NO -Dependent Mechanism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274 : 1067 -1071.
- Cocks, T. M. and Angus, J. A. 1983. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by Noradrenaline and serotonin. *Nature*. 305 : 627-630.
- Cohen, R. A. and Vanhoutte, P. M. 1995. Endothelium-Dependent Hyperpolarization : Beyond Nitric Oxide and Cyclic GMP. *Circulation*. 92 : 3337-3349.
- Coker, R. H., Khrishna, 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 (4) : 1244-1249.
- Collins, H. L. and DiCarlo, S. E. 1997. Daily exercise attenuates the sympathetic component of the arterial baroreflex control of heart rate. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2613-H2619.
- Cooke, J. P., Rossitch, E., Andon, N. A., Loscalzo, J. and Dzau, V. J. 1991. Flow Activates an Endothelial Potassium channel to Release an Endogenous Nitrovasodilator. *J. Clin. Invest.* 88 : 1663-1671.
- Darkow, D. J., Lu, L. and White, R. E. 1997. Estrogen relaxation of coronary artery smooth muscle is mediated by nitric oxide and cGMP. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H2765-H2773.
- Davies, P. F. and Barbee, K. A. 1994. Endothelial Cell Surface Imaging : Insights Into Hemodynamic Force Transduction. *NIPS*. 9 : 153-157.

- Davisson, R. L., Possas, O. S., Murphy, S. P. and Lewis, S. J. 1997. Neurogenically derived nitrosyl factors mediate sympathetic vasodilation in the hindlimb of the rat. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H2369-H2376.
- Dawes, M., Chowienczyk, P. J. and Ritter, J. M. 1997. Effects of Inhibition of L-Arginine/Nitric Oxide Pathway on Vasodilation Caused by  $\beta$ -Adrenergic Agonists in Human Forearm. *Circulation.* 95 : 2293-2297.
- 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 (3) : 1354 -1363.
- Delp, M. D., McAllister, R. M. and Laughlin, M. H. 1995. Exercise training alters aortic vascular reactivity in hypothyroid rats. *Am. J. Physiol.* 268 (Heart Circ. Physiol. 37) : H1428-H1435.
- Delp, M. D. and Laughlin, M. H. 1997. Time course of enhanced endothelium - mediated dilation in aorta of trained rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 : 1454-1461.
- Demura, Y., Ishizaki, T., Ameshima, S., Okamura, S., Hayashi, T., Matsukawa, S. and Miyamori, I. 1998. The activation of nitric oxide synthase by copper ion is mediated by intracellular  $Ca^{2+}$  mobilization in human pulmonary arterial endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 125 : 1180-1187.
- DiCarlo, S. E., Chen, C. and Collins, H.L. 1996. Onset of exercise increases lumbar sympathetic nerve activity in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 28 : 677-684.
- D'Orleans-Juste, P., Telemaque, S., Claing, A., Ihara, M. and Yano, M. 1992. Human big- endothelin-1 and endothelin-1 release prostacyclin via the activation of  $ET_1$  receptors in the perfused lung. *Br. J. Pharmacol.* 105 : 773-775.
- Eakes, A. T., Howard, K. H., Miller, J. E. and Olson, M. S. 1997. Endothelin-1 production by hepatic endothelial cells : characterization and augmentation by endotoxin exposure. *Am. J. Physiol.* 272 (Gastrointes. Liver Physiol. 35) : G605-G611.
- Eakes, A. T. and Olson, M. S. 1998. Regulation of endothelin synthesis in hepatic endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 274 (Gastrointest. Liver Physiol. 37) : G1608-G1076.
- Ekelund, U. and Mellander, S. 1990. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of tonus in large-bore arterial resistance vessels, arterioles and veins in cat skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* 140 : 301-309.

- Ekelund, U., Bjornberg, J. and Mellander, S. 1998.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor activation may trigger the increased production of endothelium-derived nitric oxide in skeletal muscle during acute haemorrhage. *Acta Physiol. Scand.* 164 : 285-292.
- Elton, T. S., Oparil, S., Taylor, G. R., Hicks, P. H., Yang, R. -H., Jin, H. and Chen, Y. F. 1992. Normobaric hypoxia stimulates endothelin-1 gene expression in the rat. *Am. J. Physiol.* 263 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 32) : R1260-R1264.
- Endlich, K., Muller, C., Barthelmebs, M. and Helwig, J. 1999. Role of shear stress in nitric oxide-dependent modulation of renal angiotensin II vasoconstriction. *Br. J. Pharmacol.* 127 : 1929-1935.
- Endo, T., Imaizumi, T., Tagawa, T., Shivamoto, M. Ando, S. and Takeshita, A. 1994. Role of Nitric Oxide in Exercise -Induced Vasodilation of the Forearm. *Circulation.* 90 : 2886-2890.
- Eysmann, S. B., Gervino, E., Vatner, D. E., Katz, S. E., Decker, L. and Douglas, P. S. 1996. Prolonged exercise alters  $\beta$ -adrenergic responsiveness in healthy sedentary humans. *J. Appl. Physiol.* 80 (2) : 616-622.
- Falcone, J. C., Kuo, L. and Meininger, G. A. 1993. Endothelial cell calcium increases during flow-induced dilation in isolated arterioles. *Am. J. Physiol.* 270 (Heart Circ. Physiol. 39) : H1696-H1703.
- Falcone, J. C. 1995. Endothelial cell calcium and vascular control. *Med. Sci. Sports Exerc.* 27 : 1165-1169.
- Floras, J. S., Sinkey, C. A., Aylward, P. E., Seals, D. R., Thoren, P. N. and Mark, A. L. 1989. Postexercise Hypotension and Sympathoinhibition in Borderline Hypertensive Men. *Hypertension.* 14 : 28-35.
- Frangos, J. A. 1985. Flow Effects on Prostacyclin Production by Cultured Human Endothelial Cells. *Science.* 227 :1477-1479.
- Frey, G. C., McCubbin, J. A., Dunn, J. M. and Mazzeo, R. S. 1997. Plasma catecholamine and lactate relationship during graded exercise in men with spinal cord injury. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (4) : 451-456.

- Friedman, D. B., Ordway, G. A. and Williams, R. S. 1987. Exercise-induced functional desensitization of canine cardiac  $\beta$ -adrenergic receptors. *J. Appl. Physiol.* 62 (4) : 1721-1723.
- Fujii, K. M., Tominaga, S., Ohmori, K., Kobayashi, K., Koga, T., Takata, Y. and Fujishima, M. 1992. Decreased endothelium-dependent hyperpolarization to acetylcholine in smooth muscle of the mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 70 : 660-669.
- Fujii, N., Shibata, T., Homma, S., Ikegami, H., Murakami, K. and Miyazaki, H. 1997. Exercise-induced changes in  $\beta$ -adrenergic-receptor mRNA level measured by competitive RT-PCR. *J. Appl. Physiol.* 82 (6) : 1926-1931.
- Fujii, Y., Guo, Y. and Hussain, S. N. A. 1998. Regulation of nitric oxide production in response to skeletal muscle activation. *J. Appl. Physiol.* 85 (6) : 2330-2336.
- Fukuchi, M., Hussain, S. N. A. and Giaid, A. 1998. Heterogeneous Expression and Activity of Endothelial and Inducible Nitric Oxide Synthases in End-Stage Human Heart Failure. *Circulation.* 98 : 132-139.
- 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.
- Fuxe, K. and Sedvall, G. 1965. The Distribution of Adrenergic Nerve Fibers to the Blood Vessels in Skeletal Muscle. *Acta Physiol. Scand.* 64 : 75-86.
- Gaboury, J., Woodman, R. C., Granger, D. N., Reinhardt, P. and Kubes, P. 1993. Nitric oxide prevents leukocyte adherence : role of superoxide. *Am. J. Physiol.* 265. (Heart Circ. Physiol. 34) : H862-H867.
- Galant, S. P., Duriseti, L., Underwood, S. and Insel, P. A. 1978. Decreased beta-adrenergic receptors on polymorphonuclear leukocytes after adrenergic therapy. *N. E. J. Med.* 299 : 933-936.
- Galliven, E. A., Singh, A., Michelson, D., Bina, S., Gold, P. W. and Deuster, P. A. 1997. Hormonal and metabolic responses to exercise across time of day and menstrual cycle phase. *J. Appl. Physiol.* 83 (6) : 1822-1831.

- Gambone, L.M., Murray, P. A. and Flavahan, N. A. 1997. Synergistic interaction between endothelium-derived NO and prostacyclin in pulmonary artery : potential role for  $K^+_{ATP}$  channels. *Br. J. Pharmacol.* 121 :271-279.
- Ganong, W. F. 1997. Circulation. *In* Review of medical physiology. 18<sup>th</sup> ed., pp. 536-601, a Lange medical book. USA.
- Gao, Y., Dhanakoti, S., Tolsa, J. and Raj, J. U. 1999. Role of protein kinase G in nitric oxide- and cGMP-induced relaxation of newborn ovine pulmonary veins. *J. Appl. Physiol.* 87 (3) : 993-998.
- Garcia-Villalon, A. L., Padilla, J., Fernandez, N., Monge, L., Gomez, B. and Dieguez, G. 1997. Role of endothelin receptors, calcium and nitric oxide in the potentiation by endothelin-1 of the sympathetic contraction of rabbit ear artery during cooling. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 1659-1664.
- Gardner, J. P., Tokudome, G., Tomonari, H., Maher, E., Hollander, D. and Aviv, A. 1992. Endothelin-induced calcium responses in human vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 262 (Cell Physiol. 31) : C148-C155.
- Garland, C. J. and McPherson, G. A. 1992. Evidence that nitric oxide does not mediate the hyperpolarization and relaxation to acetylcholine in the rat small mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.* 105 : 429-435.
- Gava, N. S., Veras-Silva, A. S., Negrao, C. E., Krieger, E. M. 1995. Low-Intensity Exercise Training Attenuates Cardiac  $\beta$ -Adrenergic Tone During Exercise in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension.* 26 [part 2] :1129-1133.
- Gebert, G. and Friedman, S. M. 1973. An implantable glass electrode used for pH measurement in working skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 34 (1) : 122-124.
- Geiger, R. V., Berk, B. C., Alexander, R. W. and Nerem, R. M. 1992. Flow-induced calcium transients in single endothelial cells : spatial and temporal analysis. *Am. J. Physiol.* 262 (Cell Physiol. 31) : C1411-C1417.
- Geiger, M., Stone, A., Mason, S. N., Oldham, K. T. and Guice, K. S. 1997. Differential nitric oxide production by microvascular and macrovascular endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 273 (Lung Cell. Mol. Physiol. 17) : L275-L281.

- Gilligan, D.M., Quyyumi, A. A., Cannon III, R. O., Johnson, G. B., Schenke, W. H. 1994. Effects of Physiological Levels of Estrogen on Coronary Vasomotor Function in Postmenopausal Woman. *Circulation*. 89 : 2545-2551.
- Goldstein, D. S., McCarty, R., Polinsky, R. J. and Kopin, I. J. 1983. Relationship between plasma norepinephrine and sympathetic neural activity. *Hypertension Dallas*. 5 : 552-559.
- Gopalakrishna, R., Chen, Z. H. and Gundimeda, U. 1993. Nitric Oxide and Nitric Oxide-generating Agents Induce a Reversible Inactivation of Protein Kinase C Activity and Phorbol Ester Binding. *J. Biol. Chem*. 268 : 27180-27185.
- Grabowski, E. F., Jaffe, E. A. and Weksler, B. B. 1985. Prostacyclin production by cultured endothelial cell monolayers exposed to step increases in shear stress. *J. Lab. Clin. Med*. 105 : 36-43.
- Grassi, G., Seravalle, G., Calhoun, D. A. and Mancia, G. 1994. Physical Training and Baroreceptor Control of Sympathetic Nerve Activity in Humans. *Hypertension*. 23 : 294-301.
- Graves, J. and Poston, L. 1993.  $\beta$  - adrenoceptor agonist mediated relaxation of rat isolated resistance arteries : a role for the endothelium and nitric oxide. *Br. J. Pharmacol*. 108 : 631-637.
- Gray, D.W. and Marshall, I. 1992. Novel signal transduction pathway mediating endothelium - dependent  $\beta$  - adrenoceptor vasorelaxation in rat thoracic aorta. *Br. J. Pharmacol*. 107 : 684-690.
- Green, D. J., Cable, N. T., Fox, C., Rankin, J.M. and Tayler, R. R. 1994. Modification of forearm resistance vessels by exercise training in young men. *J. Appl. Physiol*. 77 (4) : 1829-1833.
- Green, D. J., Fowler, D. T., O'driscoll, J.G., Blanksby, B. A. and Tayler, R. R. 1996. Endothelium-derived nitric oxide activity in forearm vessels of tennis players. *J. Appl. Physiol*. 81 (2) : 943-948.
- Griffith, T. M., Edwards, D. H., Davies, R. LI., Harrison, T. J. and Evans, K. T. 1987. EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels. *Nature*. 329 : 442-445.
- Griffith, O. W. and Stuech, D. J. 1995. Nitric oxide synthase : Properties and Catalytic Mechanism. *Annu. Rev. Physiol*. 57 : 707-736.

- Gross, S. S., Jaff, E. A., Levi, 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. Commun.* 178 : 823-829.
- Grossman, J. D. and Morgan, J. P. 1997. Cardiovascular Effects of Endothelin. *News Physiol. Sci.* 12 : 113-117.
- Gruetter, C. A., Gruetter, D. Y., Lyon, J. E., Kadowitz, P. J. and Ignarro, L. J. 1981. Relationship between Cyclic Guanosine 3', 5'-Monophosphate Formation and Relaxation of Coronary Arterial Smooth Muscle by Glyceryl Trinitrate, Nitroprusside, Nitrite and Nitric Oxide : Effects of Methylene Blue and Methemoglobin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 219 : 181-186.
- Guetta, V., Quyyumi, A. A., Prasad, A., Panza, J. A., Waclawiw, M. and Cannon III, R. O. 1997. The Role of Nitric Oxide in Coronary Vascular Effects of Estrogen in Postmenopausal. *Circulation.* 96 : 2795-2801.
- Gustafsson, D., Elg, M. and Melin, P. 1990. Effects of noradrenaline and vasopressin analogues on resistance and capacitance vessels in the rat hindquarter preparation. *Acta Physiol. Scand.* 139 : 85-93.
- Gute, D., Fraga, C., Laughlin, M. H. and Amann, J. F. 1996. Regional changes in capillary supply in skeletal muscle of high-intensity endurance-trained rats. *J. Appl. Physiol.* 81 (2) : 619-626.
- Gutkowska, J., Antunes-Rodrigues, J. and McCann, S. M. 1997. Atrial Natriuretic Peptide in Brain and Pituitary Gland. *Physiol. Rev.* 77 : 465-515.
- Guyton, A. C. and Hall, J. E. 1996. *Circulation. In Textbook of Medical Physiology.* 9<sup>th</sup> ed., pp. 199-261, W. B. Saunders company. USA.
- Hagberg, J. M., Montain, S. J. and Martin III, W. H. 1987. Blood pressure and hemodynamic responses after exercise in older hypertensives. *J. Appl. Physiol.* 63 (1) : 270-276.
- Hallam, T. J., Pearson, J. D. and Needham, L. A. 1988. Thrombin-stimulated elevation of human endothelial-cell cytoplasmic free calcium concentration causes prostacyclin production. *Biochem. J.* 251 : 243-249.

- Halliwill, J. R., Taylor, J. A. and Eckberg, D. L. 1996. Impaired sympathetic vascular regulation in humans after acute dynamic exercise. *J. Physiol.* 495: 279-288.
- Hansen, P. R. and Olesen, S. 1997. Relaxation of Rat Resistance Arteries by Acetylcholine Involves a Dual Mechanism : Activation of  $K^+$  channels and Formation of Nitric Oxide. *Pharmacol. Toxicol.* 80 : 280-285.
- Harri, M. N. 1979. Physical Training Under the Influence of Beta-Blockade in Rats. II : Effects on Vascular Reactivity. *Eur. J. Appl. Physiol.* 42 : 151-157.
- Hashimoto, M., Shinozuka, K., Tanabe, Y., Gamoh, S., Hara, T., Hossain, M. S., Kwon, Y. M., Kunitomo, M. and Masumura, S. 1999. Hypotension induced by exercise is associated with enhanced release of adenylyl purines from aged rat artery. *Am. J. Physiol.* 276 (Heart Circ. Physiol. 45) : H970-H975.
- Haug, A., sun, D., Koller, A. and Kaley, G. 1997. Gender difference in mitogenic tone of rat arterioles is due to estrogen-induced, enhanced release of NO. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1804-H1809.
- Haynes, W. and Webb, D. 1994. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet.* 344 : 852-854.
- He, P. and Curry, F. E. 1997. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on basal microvessel permeability and endothelial cell  $[Ca^{2+}]_i$ . *Am. J. Physiol.* 273. (Heart Circ. Physiol. 42) : H747-H755.
- He, P., Liu, B. and Curry, F. E. 1997. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on endothelial  $[Ca^{2+}]_i$  and microvessel permeability. *Am. J. Physiol.* 272. (Heart Circ. Physiol. 41) : H176-H185.
- Hedlund, P., Alm, P. and Andersson, K. 1999. NO synthase in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol.* 126 : 349-360.
- Heinemann, A., Wachter, C. H., Peskar, B. A. and Holzer, P. 1997. Dilatation by angiotensin II of the rat femoral arterial bed *in vivo* via pressure/flow-induced release of nitric oxide and prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 975-984.



- Hill, C. E., Kirton, A., Wu, D. D. and Vanner, S. J. 1997. Role of maxi-K<sup>+</sup> channels in endothelin-induced vasoconstriction of mesenteric and submucosal arterioles. *Am. J. Physiol.* 273 (Gastrointest. Liver Physiol. 36) : G1087-G1093.
- Himpens, B., Kitazawa, T. and Somlyo, A. P. 1990. Agonist-dependent modulation of Ca<sup>2+</sup> sensitivity in rabbit pulmonary artery smooth muscle. *Pflugers Arch.* 417 : 21-28.
- Hinder, F., Booke, M., Traber, L. D. and Traber, D. L. 1997. Nitric oxide and endothelial permeability. *J. Appl. Physiol.* 83 (6) : 1941-1946.
- Hirata, Y., Hayakawa, H., Suzuki, E., Kimura, K., Kikuchi, K., Nagano, T., Hirobe, M. and Omata, M. 1995. Direct Measurements of Endothelium-Derived Nitric Oxide Release by Stimulation of Endothelin Receptors in Rat Kidney and Its Alteration in Salt-Induced Hypertension. *Circulation.* 91 : 1229-1235.
- Hirokawa, K., O'Shaughnessy, K., Moore, K., Ramrakha, P. and Wilkins, M. R. 1994. Induction of nitric oxide synthase in cultured vascular smooth muscle cells : the role of cyclic AMP. *Br. J. Pharmacol.* 112 : 396-402.
- Hong, S. L. and Deykin, D. 1982. Activation of Phospholipase A<sub>2</sub> and C Pig Aortic Endothelial Cells Synthesizing Prostacyclin. *J. Biol. Chem.* 257 : 7151-7154.
- Hornum, M., Cooper, D. M., Brasel, J. A., Bueno, A. and Sietsema, K. E. 1997. Exercise-induced changes in circulating growth factors with cyclic variation in plasma estradiol in women. *J. Appl. Physiol.* 82 (6) : 1946-1951.
- Horowitz, A., Menice, C. B., Laporte, R. and Morgan, K. G. 1996. Mechanisms of Smooth Muscle Contraction. *Physiol. Rev.* 76 (4) : 967-1003.
- Howard, M. G. and DiCarlo, S. E. 1992. Reduced vascular responsiveness after a single bout of dynamic exercise in the conscious rabbit. *J. Appl. Physiol.* 73 (6) : 2662-2667.
- Hussain, S. N. A., El-Dwairi, Q., Abdul-Hussain, M. N. and Sakkal, D. 1997. Expression of nitric oxide synthase isoforms in normal ventilatory and limb muscles. *J. Appl. Physiol.* 83 (2) : 348-353.
- Hutcheson, I. R. and Griffith, T. M. 1997. Central role of intracellular calcium stores in acute flow-and agonist-evoked endothelial nitric oxide release. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 117-125.

- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E. and Chaudhuri, G. 1987. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84 : 9265-9269.
- Ignarro, L. J., Bush, P. A., Buga, G. M. and Wood, K. S., Fukuto, J. M. and Rajfer, J. 1990. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170 : 843-850.
- Itoh, T., Seki, N., Suzuki, S., Ito, S., Kajikuri, J. and Kuriyama, H. 1992. Membrane hyperpolarization inhibits agonist-induced synthesis of inositol 1,4,5-triphosphate in rabbit mesenteric artery. *J. Physiol.* 451 : 307-328.
- 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.
- Jaffe, E. A., Grulich, J., Weksler, B. B., Hampel, G. and Watanabe, K. 1987. Correlation between Thrombin-induced Prostacyclin Production and Inositol Triphosphate and Cytosolic Free Calcium Levels in Cultured Human Endothelial Cells. *J. Biol. Chem.* 262 : 8557-8565.
- James, N. L., Harrison, D. G. and Nerem, R. M. 1995. Effects of shear on endothelial cell calcium in the presence and absence of ATP. *FASEB J.* 9 : 968-973.
- Janigro, D., Nguyen, T. S., Meno, J., West, G. A. and Winn, H. R. 1997. Endothelium-dependent regulation of cerebrovascular tone by extracellular and intercellular ATP. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H878 –H885.
- Janoff, E. N., Hayakawa, H., Taylor, D. N., Fasching, C. E., Kenner, J. R., Jaimes, E. and Rajj, L. 1997. Nitric oxide production during *Vibrio cholerae* infection. *Am. J. Physiol.* 273 (Gastrointest. Liver Physiol. 36) : G1160-G1167.
- Jansakul, C. 1995. Effect of swimming on vascular reactivity to phenylephrine and KCl in male rat. *Br. J. Pharmacol.* 115 : 587-594.
- Jansakul, C. and Hirunpan, P. 1999. Effects of exercise training on responsiveness of mesenteric arterial beds to phenylephrine and KCl in male rats. *Br. J. Pharmacol.* 127 : 1559-1566.

- Janssens, S. P., Shimouchi, A., Quertermous, T., Bloch, D. B. and Bloch, K. D. 1992. Cloning and Expression of a cDNA Encoding Human Endothelium-Derived Relaxing Factor/Nitric Oxide Synthase. *J. Biol. Chem.* 267 : 14519-14522.
- Jasperse, J. L. and Laughlin, M. H. 1999. Vasomotor responses of soleus feed arteries from sedentary and exercise-trained rats. *J. Appl. Physiol.* 86 (2) : 441-449.
- Joannides, R., Haegele, W. E., Linder, L., Richard, V., Bakkali, E. H., Thuilez, C. and Luscher, T. F. 1995. Nitric Oxide Is Responsible for Flow-Dependent Dilation of Human Peripheral Conduit Arteries In Vivo. *Circulation.* 91 : 1314-1319.
- Johnsson, E., Folkow, B. and Karlstrom, G. 1991. Myogenic responsiveness in rat hindquarter vessels during constant-flow and constant-pressure perfusion *in vitro* ; effects of various potassium concentrations and of endothelial nitrous oxide blockade. *Acta Physiol. Scand.* 142 : 319-328.
- Jones, A. W., Magliola, L., Waters, C. B. and Rubin, L. J. 1998. Endothelin-1 activates phospholipases and channels at similar concentrations in porcine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* 274 (Cell Physiol. 43) : C1583-C1591.
- Jonsdottir, I. H., Jungersten, L., Johansson, C., Wennmalm, A., Thoren, P. and Hoffmann, P. 1998. Increase in nitric oxide formation after chronic voluntary exercise in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol. Scand.* 162 : 149-153.
- Joyner, M. J., Nauss, L. A., Warner, M. A. and Warner, D. O. 1992. Sympathetic modulation of blood flow and O<sub>2</sub> uptake in rhythmically contracting human forearm muscles. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H1078-H1083.
- Joyner, M. and Dietz, N. M. 1997. Nitric oxide and vasodilation in human limbs. *J. Appl. Physiol.* 83 (6) : 1785-1796.
- 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 (3) : 760-764.
- Kaneko, K. and Sunano, S. 1993. Involvement of  $\alpha$ -adrenoceptors 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 (6) : 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.
- Katzung, B. G. 1992. The Eicosanoids. *In Basic & Clinical Pharmacology*, 5<sup>th</sup> ed., pp. 263-271, a Lange medical book. USA.
- Katzung, B. G. 1992. The Gonadal Hormones & Inhibitors. *In Basic & Clinical Pharmacology*, 5<sup>th</sup> ed., pp. 559-568, a Lange medical book. USA.
- Kiens, B., Saltin, B., Walloe, L. and Wesche, J. 1989. Temporal relationship between blood flow changes and release of ions and metabolites from muscles upon single weak contractions. *Acta Physiol. Scand.* 136 : 551-559.
- Kingwell, B. A., Sherrard, B., Jennings, G. L. and Dart, A. M. 1997. Four weeks of cycle training increases basal production of nitric oxide from the forearm. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1070-H1077.
- Kitazono, T., Faraci, F. M., Taguchi, H. and Heistad, D. D. 1995. Role of Potassium Channels in Cerebral Blood Vessels. *Stroke.* 26 : 1713-1723.
- Kjaer, M., Christensen, N. J., Sonne, B., Richter, E. A. and Galbo, H. 1985. Effect of exercise on epinephrine turnover in trained and untrained male subjects. *J. Appl. Physiol.* 55(4) : 1061-1067.
- Kjaer, M., Farrel, P. A., Christensen, N. J., and Galbo, H. 1986. Increased epinephrine response and inaccurate gluco-regulation in exercising athletes. *J. Appl. Physiol.* 61(5) : 1693-1700.
- Kleschyov, A. L., Muller, B., Schott, C. and Stoclet, J. 1998. Role of adventitial nitric oxide in vascular hyporeactivity induced by lipopolysaccharide in rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 124 : 623-626.
- Knowles, R. G., Merrett, M., Salter, M. and Moncada, S. 1990a. Differential induction of brain, lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat. *Biochem. J.* 270 : 833-836.

- Knowles, R. G., Salter, M., Brooka, S. L. and Moncada, S. 1990b. Anti-inflammatory glucocorticoids inhibit the induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the lung, liver and aorta of the rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 172 : 1042-1048.
- Knudsen, H. L. and Frangos, J. A. 1997. Role of cytoskeleton in shear stress-induced endothelial nitric oxide production. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H347-H355.
- Kobes, P. and Granger, D. N. 1992. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am. J. Physiol.* 262 (Heart Circ. Physiol. 31) : H611-H615.
- Kobzik, L., Reid, M. B., Bredt, D. S. and Stamler, J. S. 1994. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature.* 372 : 546-548.
- Koller, A. and Kalay, G. 1990. Prostaglandins Mediate Arteriolar Dilation to Increased Blood Flow Velocity in Skeletal Muscle Microcirculation. *Circ. Res.* 67 : 529-534.
- Koller, A., Sun, D., Messina, E. J. and Kaley, G. 1993. L-Arginine analogues blunt prostaglandin-related dilation of arterioles. *Am. J. Physiol.* 264 (Heart Circ. Physiol. 33) : H1194-H1199.
- Koller, A., Sun, D., Huang, A. and Kaley, G. 1994. Corelease of nitric oxide and prostaglandins mediates flow-dependent dilation of rat gracilis muscle arterioles. *Am. J. Physiol.* 267 (Heart Circ. Physiol. 36) :H326-H332.
- Koller, A., Huang, A., Sun, D. and Kalay, G. 1995. Exercise Training Augments Flow-Dependent Dilation in Rat Skeletal Muscle Arterioles : Role of Endothelial Nitric Oxide and Prostaglandins. *Circ. Res.* 76 : 544-550.
- Koller, A., Dornyei, G. and Kalay, G. 1998. Flow -induced responses in skeletal muscle venules : modulation by nitric oxide and prostaglandins. *Am. J. Physiol.* 275 (Heart Circ. Physiol. 44) : H831-H836.
- Komori, K., Lorenz, R.R. and Vanhoutte, P. M. 1988. Nitric Oxide, ACh, and electrical and mechanical properties of canine arterial smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 255 (Heart Circ. Physiol. 24) : H207-H212.
- Kulics, J. M., Collins, H. L. and DiCarlo, S. E. 1999. Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am. J. Physiol.* 276(Heart Circ. Physiol. 45) : H27-H32.

- Kuo, L., Davis, J. and Chilian, W. M. 1990. Endothelium-dependent, flow-induced dilation of isolated coronary arterioles. *Am. J. Physiol.* 259 (Heart Circ. Physiol. 28) : H1063-H1070.
- Lahera, V. and Khraibi, A. A. 1994. Nitric Oxide Inhibition in Hypertension. *NIPS.* 9 : 268-271.
- Lang, C. C., Chomsky, D. B., Butler, J., Kapoor, S. and Wilson, J. R. 1997. Prostaglandins production contributes to exercise -induced vasodilation in heart failure. *J. Appl. Physiol.* 83 (6) : 1933 -1940.
- Langille, B. L. and O'Donnell. 1986. Reductions in Arterial Diameter Produced by Chronic Decreases in Blood Flow Are Endothelium-Dependent. *Science.* 231 : 405-407.
- Langub, M. C. and Watson, R. E. 1992. Estrogen Receptor-Immunoreactive Glia, Endothelia, and Ependyma in Guinea Pig Preoptic area and Median Eminence : Electron Microscopy. *Endocrinology.* 130 : 364-372.
- Lantin-Hermoso, R. L., Rosenfeld, C. R., Yuhanna, I. S., German, Z., Chen, Z. and Shaul, P. W. 1997. Estrogen acutely stimulates nitric oxide synthase activity in fetal pulmonary artery endothelium. *Am. J. Physiol.* 273 (Lung Cell. Mol. Physiol. 17) : L119-L126.
- Lash, J. M., Betts, S. J. J. and Hamlin, R. L. 1989. Training-induced vascular and metabolic adaptations in normo (11 week)- and hyper (18 week)-glycemic obese zucker rats. *Int. J. Obesity.* 13 : 777-789.
- Lash, J. M. and Bohlen, H. G. 1992. Functional adaptations of rat skeletal muscle arterioles to aerobic exercise training. *J. Appl. Physiol.* 72 (6) : 2052-2062.
- Lash, J. M., Reilly, T., Thomas, M. and Bohlen, H. G. 1993. Adrenergic and pressure-dependent vascular regulation in sedentary and trained rats. *Am. J. Physiol.* 265 (Heart Circ. Physiol. 34) : H1064-H1073.
- Lash, J. M. and Bohlen, H. G. 1997. Time- and order-dependent changes in functional and NO-mediated dilation during exercise training. *J. Appl. Physiol.* 82 (2) : 460-468.
- Lash, J. M. 1998. Exercise training enhances adrenergic constriction and dilation in the rat spinotrapezius muscle. *J. Appl. Physiol.* 85 (1) : 168 -174.
- Laughlin, M. H. and Armstrong, R. B. 1982. Muscular blood flow distribution patterns as a function of running speed in rats. *Am. J. Physiol.* 243 (Heart Circ. Physiol. 12): H296 - H306.

- Laughlin, M. H. and Ripperger, J. 1987. Vascular transport capacity of hindlimb muscles of exercise-trained rats. *J. Appl. Physiol.* 62 (2) : 438-443.
- Leffler, C. W. 1997. Prostanoids : Intrinsic Modulators of Cerebral Circulation. *News. Physiol. Sci.* 12 : 72-77.
- Lefkowitz, R. J. 1979. Direct binding studies of adrenergic receptors: biochemical, physiologic, and clinical implications. *Ann. Int. Med.* 91 : 450-458.
- Leone, A. M., Palmer, R. M. J., Knowles, R. G., Francis, P. L., Ashton, D. S. and Moncada, S. 1991. Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthase Incorporate Molecular Oxygen into Both Nitric Oxide and Citrulline. *J. Biol. Chem.* 266 : 23790-23795.
- Levin, E. R. 1995. Endothelins. *N. E. J. Med.* 10 : 356-363.
- Li, S., Fan, S. X. and McKenna, T. M. 1997. Vascular smooth muscle cells on Matrigel as a model for LPS-induced hypocontractility and NO formation. *Am. J. Physiol.* 272. (Heart Circ. Physiol. 41) : H576-H584.
- Lischke, V., Busse, R. and Hecker, M. 1995. Selective inhibition by barbiturates of the synthesis of endothelium-derived hyperpolarization factor in the rabbit carotid artery. *Br. J. Pharmacol.* 115 : 969-974.
- Loke, K. E., Sobay, C. G., Dusting, G. J. and Woodman, O. L. 1994. Requirement for endothelium-derived nitric oxide in vasodilatation produced by stimulation of cholinergic nerves in rat hindquarters. *Br. J. Pharmacol.* 112 : 630-634.
- Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L. and Snyder, S. H. 1994. Nitric Oxide : A physiologic Messenger. *Ann. Intern. Med.* 120 : 227-237.
- Lutgemeier, I., Luft, 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. Hypertension.* 5 : 241-247.
- Majmudar, N. G., Anumba, D., Robson, S. C. and Ford, G. A. 1999. Contribution of nitric oxide to  $\beta_2$ -adrenoceptor mediated vasodilatation in human forearm arterial vasculature. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 47 : 173-177.
- Manninig, R. D., Hu, L. and Reckelhoff, J. F. 1997. Role of nitric oxide in the arterial pressure and renal adaptations to long-term changes in sodium intake. *Am. J. Physiol.* 272 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 42) : R1162-R1169.

- Marletta, M. A., Yoon, P. S., Iyengar, R., Leaf, C. D. and Wishnok, J. S. 1988. Macrophage Oxidation of L-Arginine to Nitrite and Nitrate : Nitric Oxide Is an Intermediate. *Biochemistry*. 27 : 8706-8711.
- Maroun, M. J., Mehta, S., Turcotte, R., Cosio, M. G. and Hussain, S. N. A. 1995. Effects of physical conditioning on endogenous nitric oxide output during exercise. *J. Appl. Physiol.* 79 (4) : 1219-1225.
- Marshall, J. M. 1982. The influence of the sympathetic nervous system on individual vessels of the microcirculation of skeletal muscle of the rat. *J. Physiol.* 332 : 169-186.
- 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 (5) : 1804-1809.
- Matsumoto, K., Aizawa, H., Takata, S., Inoue, H., Takahashi, N. and Hara, N. 1997. Nitric oxide derived from sympathetic nerves regulates airway responsiveness to histamine in guinea pigs. *J. Appl. Physiol.* 83 (5) : 1432-1437.
- Matsuura, T., Miura, K., Ebara, T., Yukimura, T., Yamanaka, S., Kim, S. and Iwao, H. 1997. Renal vascular effects of the selective endothelin receptor antagonists in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 81-85.
- Maxwell, A. J., Schauble, E., Bernstein, D. and Cooke, J. P. 1998. Limb Blood Flow During Exercise Is Dependent on Nitric Oxide. *Circulation.* 98 : 369-374.
- Mazzeo, R. S., Rajkumar, C., Jennings, G. and Esler, M. 1997. Norepinephrine spillover at rest and during submaximal exercise in young and old subjects. *J. Appl. Physiol.* 82 (6) : 1869-1874.
- 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 (1) :216-225.



- McCall, G. E., Byrnes, W. C., Dickinson, A., Pattany, P. M. and Fleck, S. J. 1996. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *J. Appl. Physiol.* 81 (5) : 2004-2012.
- McCoy, D. E., Steele, J. E., Cox, R. H., Wiley, R. L. and McGuire, G. J. 1993. Swim training alters renal and cardiovascular responses to stress in borderline hypertensive rats. *J. Appl. Physiol.* 75 (5) : 1946-1954.
- McLean, D. A., LaNoue, K. F., Gray, K. S. and Sinoway, L. I. 1998. Effects of hindlimb contraction on pressor and muscle interstitial metabolite responses in the cat. *J. Appl. Physiol.* 85 (4) : 1583-1592.
- Melo, L. G., Veress, A. T., Ackermann, U. and Sonnenberg, H. 1998. Chronic regulation of arterial blood pressure by ANP : role of endogenous vasoactive endothelial factors. *Am. J. Physiol.* 275. (Heart Circ. Physiol. 44) : H1826-H1833.
- Meyer, M. C., Cummings, K. and Osol, G. 1997. Estrogen replacement attenuates resistance artery adrenergic sensitivity via endothelial vasodilators. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H2264-H2270.
- Miller, V. M. and Vanhoutte, P. M. 1988. Enhanced release of endothelium-derived factor (s) by chronic increases in blood flow. *Am. J. Physiol.* 255 (Heart Circ. Physiol. 24) : H446-H451.
- Miller, V. M. and Burnett, J. C. 1992. Modulation of NO and endothelin by chronic increases in blood flow in canine femoral arteries. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H103-H108.
- Mills, P. C., Marlin, D. J., Demoncheaux, E. Scott, C., Casas, I., Smith, N. C. and Higenbottam, T. 1996. Nitric oxide and exercise in the horses. *J. Physiol.* 495 : 863-874.
- Ming, Z., Parent, R. and Lavallee, M. 1997.  $\beta_2$ -Adrenergic Dilation of Resistance Coronary Vessels Involves  $K_{ATP}$  Channels and Nitric Oxide in Conscious Dogs. *Circulation.* 95 : 1568-1576.
- Misko, T. P., Moore, W. M., Kasten, T. P., Nickols, G. A., Corbett, J. A., Tilton, R. G., McDaniel, M. L., Williamson, J. R. and Currie, M. G. 1993. Selective inhibition of the inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine. *Eur. J. Pharmacol.* 233 : 119-125.

- Mitchell, J. A., Nucci, G. D., Warner, T. D. and Vane, J. R. 1992. Different patterns of release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin. *Br. J. Pharmacol.* 105 : 485-489.
- Mitani, Y., Maruyama, J., Maruyama, K. and Sakurai, M. 1999. Exercise training does not alter acetylcholine-induced responses in isolated pulmonary artery from rat. *Eur. Respir. J.* 13 (3) : 622-625.
- Mitchell, D. and Tyml, K. 1996. Nitric oxide release in rat skeletal muscle capillary. *Am. J. Physiol.* 270 (Heart Circ. Physiol. 39) : H1696-H1703.
- Mitsuhashi, T. R., Morris, R. C. and Ives, H. E. 1989. Endothelin-induced increases in vascular smooth muscle  $Ca^{2+}$  do not depend on dihydropyridine-sensitive  $Ca^{2+}$  channels. *J. Clin. Invest.* 84 : 635-639.
- Mo, M., Eskin, S. G. and Schilling, W. P. 1991. Flow-induced changes in  $Ca^{2+}$  signaling of vascular endothelial cells : effects of shear stress and ATP. *Am. J. Physiol.* 260 (Heart Circ. Physiol. 29) : H1698-H1707.
- Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. 1991. Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43 (2) : 109-142.
- 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.
- Mugge, A., Lopez, J. A. G., Piegors, D. J., Breese, K. R. and Heistad, D. D. 1991. Acetylcholine-induced vasodilation in rabbit hindlimb *in vivo* is not inhibited by analogues of L-arginine. *Am. J. Physiol.* 260 (Heart Circ. Physiol. 29) : H242-H247.
- Mukoyama, M., Nakao, K., Hosoda, K., Suga, S., Saito, Y., Ogawa, Y., Shirakami, G., Jougasaki, M., Obata, K., Yasue, H., Kambayashi, Y., Inouye, K. and Imura, H. 1991. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans: evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system. atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J. Clin. Invest.* 87 : 1402-1412.
- Muller, J. M., Myers, P. R. and Laughlin, H. 1994. Vasodilator Responses of Coronary Resistance Arteries of Exercise-Trained Pigs. *Circulation.* 89 : 2308-2314.
- Murad, F. 1986. Cyclic Guanosine Monophosphate as a Mediator of Vasodilation. *J. Clin. Invest.* 78 : 1-5.

- Murphy, R. J. L., Gardiner, P. F., Rousseau, G., Bouvier, M. and Beliveau, L. 1997. Chronic  $\beta$ -blockade increases skeletal muscle  $\beta$ -adrenergic receptor density and enhances contractile force. *J. Appl. Physiol.* 83 (2) : 459-465.
- Musch, T. I., Haidet, G. C., Ordway, G. A., Longhurst, J. C. and Mitchell, J. H. 1987. Training effects on regional blood flow response to maximal exercise in foxhounds. *J. Appl. Physiol.* 62 (4) : 1724-1732.
- Musch, T. I., Terrell, J. A. and Hilty, M. R. 1991. Effects of high-intensity sprint training on skeletal muscle blood flow in rats. *J. Appl. Physiol.* 71 (4) : 1387 -1395.
- Nagao, T., and Vanhoutte, P. M. 1992. Hyperpolarization as a mechanism for endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery. *J. Physiol.* 445 : 355-367.
- Nagao, T., Illiano, S. and Vanhoutte, P. M. 1992a. Heterogenous distribution of endothelium-dependent relaxation resistant to  $N^G$ -nitro-L-arginine. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H1090 -H1094.
- Nagao, T., Illiano, S. and Vanhoutte, P. M. 1992b. Calmodulin antagonists inhibit endothelium-dependent hyperpolarization in the canine coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* 107 : 382-386.
- Nakashima, M. and Vanhoutte, P. M. 1993. Endothelin-1 and -3 cause endothelium-dependent hyperpolarization in the rat mesenteric artery. *Am. J. Physiol.* 265 (Heart Circ. Physiol. 34) : H2137 -H2141.
- Nathan, C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB.* 6 : 3051-3064.
- 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.
- Nekooeian, A. and Pang, C. C. Y. 1998. Estrogen restores role of basal nitric oxide in control of vascular tone in rats with chronic heart failure. *Am. J. Physiol.* 274 (Heart Circ. Physiol. 43) : H2094-H2099.
- Neumann, T. and Heusch, G. 1997. Myocardial, skeletal muscle, and renal blood flow during exercise in conscious dogs with heart failure. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2452-H2457.

- Newby, A. C. and Henderson, A. H. 1990. Stimulus-secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu. Rev. Physiol.* 52 : 661-674.
- 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.
- Nieto, J. L., Diaz-Laviada, I., Malpartida, J. M., Galve-Roperh, I. and Haro, A. 1997. Adaptations of the  $\beta$ -adrenoceptor-adenylyl cyclase system in rat skeletal muscle to endurance physical training. *Pflugers Arch-Eur. J. Physiol.* 434 : 809-814.
- Nishikawa, M., Lanerolle, P. D., Lincoln, T. M. and Adelstein, R. S. 1984. Phosphorylation of Mammalian Myosin Light Chain Kinase by the Catalytic Subunit of Cyclic AMP-dependent Protein Kinase and by Cyclic GMP-dependent Protein Kinase. *J. Biol. Chem.* 259 : 8429-8436.
- Noma, K., Rupp, H. and Jakob, 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 prostanoids generation of rats. *Am.J. Physiol.* 262 : R464-R471.
- Ohlman, P., Martinez, M. C., Schneider, M. F., Stoclet, J. C. and Andriantsitohaina, R. 1997. Characterization of endothelium-derived relaxing factors released by bradykinin in human resistance arteries. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 657-664.
- O'leary, D. S., Dunlap, R. C. and Glover, K. W. 1994. Role of endothelium-derived relaxing factor in hindlimb reactive and active hyperemia in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 266 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 35) : R1213 -R1219.
- Olgart, C. and Iversen, H. H. 1999. Nitric oxide-dependent relaxation induced by  $M_1$  muscarinic receptor activation in the rat small intestine. *Br. J. Pharmacol.* 127 : 309-313.
- Olmos, L., Mombouli, J., Illiano, S. and Vanhoutte, P. M. 1995. cGMP mediates the desensitization to bradykinin in isolated canine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* 268 (Heart Circ. Physiol. 37) : H865 -H870.

- Oltman, C. L., Parker, J. L., Adams, H. R. and Laughlin, M. H. 1992. Effect of exercise training on vasomotor reactivity of porcine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* 263 (Heart Circ. Physiol. 32) : H372 -H382.
- Orimo, A., Inoue, S., Ikegami, A., Hosoi, T., Akishita, M., Ouchi, Y., Muramatsu, M. and Orimo, H. 1993. Vascular smooth muscle cells as target for estrogen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195 : 730-736.
- 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.
- Palacios, B., Lim, S. L. and Pang, C. C. Y. 1997. Subtypes of endothelin receptors that mediate venous effects of endothelin-1 in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 993-998.
- Palmer, R. M., 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. 1988a. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 327 : 524-526.
- Palmer, R. M. J., Rees, D. D., Ashton, D. S. and Moncada, S. 1988b. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 153 : 1251-1256.
- Palmer, R. M. J. and Moncada, S. 1989. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 158 : 348-352.
- Pakington, H. C., Tonta, M. A., Coleman, H. A. and Tare, M. 1995. Role of membrane potential in endothelium-dependent relaxation of guinea-pig coronary arterial smooth muscle. *J. Physiol.* 484 : 469-480.
- Pannen, B. H. J., Bauer, M., Noldge-Schomburg, G. F. E., Zhang, J. X., Robotham, J. L., Clemens, M. G. and Geiger, K. 1997. Regulation of hepatic blood flow during resuscitation from hemorrhagic shock : role of NO and endothelins. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H2736-H2745.
- Papadaki, M., Tilton, R. G., Eskin, S. G. and McIntire, L. V. 1998. Nitric oxide production by cultured human aortic smooth muscle cells : stimulation by fluid flow. *Am. J. Physiol.* 274 (Heart Circ. Physiol. 43) : H616-H626.

- Parfenova, H., Hsu, P. and Leffler, C. W. 1995. Dilator prostanoids-induced Cyclic AMP Formation and Release by Cerebral Microvascular Smooth Muscle Cells : Inhibition by Indomethacin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 272 : 44-52.
- 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) : H1184 -H1188.
- Pawelczyk, J. A., Pawelczyk, R. A., Warberg, J. and Mitchell, J. H. 1997. Cardiovascular and catecholamine responses to static exercise in partially curarized humans. *Acta Physiol. Scand.* 160 : 23-28.
- Perez-Vizcaino, F., Villamor, E., Duarte, J. and Tamargo, J. 1997. Involvement of protein kinin C in reduced relaxant responses to the NO/cyclic GMP pathway in piglet pulmonary arteries contracted by the thromboxane A<sub>2</sub>-mimetic U46619. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 1323-1333.
- Peronnet, F., Nadeau, R. A., Champlain, J., Magrassi, P. and Chatrand, C. C. 1981. Exercise plasma catecholamines in dogs : Role of adrenals and Cardiac nerve endings. *Am. J. Physiol.* 241 (Heart Circ. Physiol. 42) : H243-H247.
- Persson, M. G., Gustafsson, L. E., Wiklund, N. P., Hedqvist, P. and Moncada, S. 1990. Endogenous nitric oxide as a modulator of rabbit skeletal muscle microcirculation *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.* 100 : 463-466.
- Peterson, J., Zygmunt, P. M., Brandt, L. and Hogestatt, E. D. 1995. Substance P-induced relaxation and hyperpolarization in human cerebral arteries. *Br. J. Pharmacol.* 115 : 889-894.
- Phillips, C. R., Giraud, G. D. and Holden, W. E. 1996. Exhaled nitric oxide during exercise : site of release and modulation by ventilation and blood flow. *J. Appl. Physiol.* 80 (6) : 1865-1871.
- Piepoli, M., Coats, A. J. S., Adamopoulos, S., Bernardi, L., Feng, Y. H., Conway, J. and Sleight, P. 1993. Persistent peripheral vasodilation and sympathetic activity in hypotension after maximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 75 (4) : 1807-1814.

- Pohl, U., Herlan, K., Huang, A. and Bassenge, E. 1991. EDRF-mediated shear-induced dilation opposes myogenic vasoconstriction in small rabbit arteries. *Am. J. Physiol.* 261 (Heart Circ. Physiol. 30) : H2016-H2023.
- Pollock, D. M., Keith, T. L. and Highsmith, R. F. 1995. Endothelin receptors and calcium signaling. *FASEB.* 9 : 1196-1204.
- Possas, O. S. and Lewis, S. J. 1997. NO-containing factors mediate hindlimb vasodilation produced by superior laryngeal nerve stimulation. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H234-H243.
- Priest, R. M., Huckes, D. and Ward, J. P. T. 1997. Noradrenaline,  $\beta$ -adrenoceptor mediated vasorelaxation and nitric oxide in large and small pulmonary arteries of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 1375-1384.
- Prins, B. A., Hu, R., Nazario, B., Pedram, A., Frank, H. J. L., Weber, M. A. and Levin, E. R. 1994. Prostaglandin E<sub>2</sub> and Prostacyclin Inhibit the Production and Secretion of Endothelin from Cultured Endothelial Cells. *J. Biol. Chem.* 269 : 11938-11944.
- Proctor, K. G. and Duling, B. R. 1982. Adenosine and free-flow functional hyperemia in striated muscle. *Am. J. Physiol.* 242 (Heart Circ. Physiol. 11) : H688-H697.
- Pueyo, M. E., Arnal, J., Rami, J. and Michell, J. 1998. Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 274 (Cell Physiol. 43) : C214-C220.
- Quyyumi, A. A., Mulcahy, D., Andrews, N. P., Husain, S., Panza, J. A. and Cannon III, R. O. 1997. Coronary Vascular Nitric Oxide Activity in Hypertension and Hypercholesterolemia : Comparison of Acetylcholine and Substance P. *Circulation.* 95 : 104-110.
- Ralevic, V., Kristek, F. and Burnstock, G. 1989. A New Protocol for Removal of the Endothelium From the Perfused Rat Hind-Limb Preparation. *Cir. Res.* 64 : 1190-1196.
- Ramsay, B., Johnson, M. R., Leone, A. M. and Steer, P. J. 1995. The effect of exogenous oestrogen on nitric oxide production in woman : a placebo controlled crossover study. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 102 : 417-419.

- Rapoport, R. M., Draznin, M. B. and Murad, F. 1983. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature*. 306 : 174-176.
- Ray, C. A. and Gracey, K.H. 1997. Augmentation of exercise-induced muscle sympathetic nerve activity during muscle heating. *J. Appl. Physiol.* 82 (6) : 1719-1725.
- Razandi, M., Pedram, A. Rubin, T. and Levin, E. R. 1996. PGE<sub>2</sub> and PGI<sub>2</sub> inhibit ET-1 secretion from endothelial cells by stimulating particulate guanylate cyclase. *Am. J. Physiol.* 270 (Heart Circ. Physiol. 39) : H1342-H1349.
- Rebich, S., Devine, J. O. and Armstead, W. M. 1995. Role of nitric oxide and cAMP in  $\beta$ -adrenoceptor-induced pial artery vasodilation. *Am. J. Physiol.* 268 (Heart Circ. Physiol. 37) : H1071 -H1076.
- Rebsamen, M. C., Church, D. J., Morabito, D., Valloton, M. B. and Lang, U. 1997. Role of cAMP and calcium influx in endothelin-1-induced ANP release in rat cardiomyocytes. *Am. J. Physiol.* 273 (Endocrinol. Metab. 36) : E922-E931.
- Rees, D. D., Palmer, R. M. and Moncada, S. 1989. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 3375-3378.
- Reiser, P. J., Kline, W. O. and Vaghy, P. L. 1997. Induction of neuronal type nitric oxide synthase in skeletal muscle by chronic electrical stimulation in vivo. *J. Appl. Physiol.* 82 (4) :1250-1255.
- Ray, C. A. and Hume, K. M. 1998. Sympathetic neural adaptations to exercise training in humans: insights from microneurography. *Med. Sci. Sports Exerc.* 30 (3) : 387-391.
- Ray, C. A. 1999. Sympathetic adaptations to one-legged training. *J. Appl. Physiol.* 86 (5) : 1583-1587.
- Reynolds, E. E. and Mok, L. L. S. 1990. Role of Thromboxane A<sub>2</sub> /Prostaglandin H<sub>2</sub> Receptor in the Vasoconstrictor Response of Rat Aorta to Endothelin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252 : 915-921.
- Roger, P. J., Miller, T. D., Baver, 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 (6) : 2346-2351.



- Rossi, G. P., Colonna, S., Pavan, E., Albertin, G., Rocca, F. D., Gerosa, G., Casarotto, D., Sartore, S., Pauletto, P. and Pessina, A. A. 1999. Endothelin-1 and Its mRNA in the Wall Layers of Human Arteries Ex Vivo. *Circulation*. 99 : 1147-1155.
- Rubanyi, G. M., Romeo, J. C. and Vanhoutte, P. M. 1986. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 250 (Heart Circ. Physiol. 19) : H1145-H1149.
- Rubanyi, G. M. and Polokoff, M. A. 1994. Endothelins : Molecular Biology, Biochemistry, Pharmacology, Physiology, and Pathophysiology. *Pharmacol. Rev.* 46 (3) : 325-415.
- Rueckert, P. A., Slane, P. R., Lillis, D. L. and Hanson, P. 1996. Hemodynamic patterns and duration of post-dynamic exercise hypotension in hypertensive humans. *Med. Sci. Sports Exerc.* 28 : 24-32.
- Saita, Y., Koizumi, T., Yazawa, H., Morita, T., Takenaka, T. and Honda, K. 1997. Endothelin receptors and their cellular signal transduction mechanism in human cultured prostatic smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 687-694.
- Saito, M., Kagaya, A., Ogita, F. and Shinohara, M. 1992. Changes in muscle sympathetic nerve activity and calf blood flow during combined leg and forearm exercise. *Acta Physiol. Scand.* 146 : 449-456.
- Saito, M., Sone, R., Ikeda, M. and Mano, T. 1997. Sympathetic outflow to the skeletal muscle in humans increases during prolonged light exercise. *J. Appl. Physiol.* 82 (4) : 1237-1243.
- Salomone, S., Morel, N. and Godfraind, T. 1997. Role of nitric oxide in the contractile response to 5-hydroxytryptamine of the basilar artery from Wistar Kyoto and stroke-prone rats. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 1051-1058.
- Salvemini, D., Nucci, G. D., Gryglewski, R. J. and Vane, J. R. 1989. Human neutrophils and mononuclear cells inhibit platelet aggregation by releasing a nitric oxide-like factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86 : 6328-6332.
- Santak, B., Radermacher, P., Iber, T., Adler, J., Wachter, U., Vassilev, D., Georgieff, M. and Vogt, J. 1997. *In vivo* quantification of endotoxin-induced nitric oxide production in pigs from Na<sup>15</sup>NO<sub>3</sub>-infusion. *Br. J. Pharmacol.* 122 : 1605-1610.
- Savard, G., Strange, S., Kiens, B., Richter, E. A., Christensen, N. J. and Saltin, B. 1987. Noradrenaline spillover during exercise in active versus resting skeletal muscle in man. *Acta Physiol. Scand.* 131 : 507-515.

- Scherer, U., Randin, D., Vollenweider, P. and Nicod, P. 1994. Nitric Oxide Release Accounts for Insulin's Vascular Effects in Humans. *J. Clin. Invest.* 94 : 2511-2515.
- Schini-Kerth, V. B., Fisslthaler, B. and Busse, R. 1994. CGRP enhances induction of NO synthase in vascular smooth muscle cells via a cAMP-dependent mechanism. *Am. J. Physiol.* 267 (Heart Circ. Physiol. 36) : H2483-H2490.
- Scott, J. A., Machoun, M. and McCormack, D. G. 1996. Inducible nitric oxide synthase and vascular reactivity in rat thoracic aorta : effect of aminoguanidine. *J. Appl. Physiol.* 80 (1) : 271-277.
- Seals, D. R. and Reiling, M. J. 1989. Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in human. *J. Appl. Physiol.* 66 (5) : 2472-2478.
- Seals, 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 (2) : 722-726.
- 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.
- Sexton, W. L., Korthuis, R. J. and Laughlin, M. H. 1988. High-intensity exercise training increases vascular transport capacity of rat hindquarters. *Am. J. Physiol.* 254 (Heart Circ. Physiol. 23) : H274 - H278.
- Shan, J., Resnick, L. M., Liu, Q., Wu, X., Barbagallo, M. and Pang, P. K. T. 1994. Vascular effects of 17 $\beta$ -estradiol in male Sprague-Dawley rats. *Am. J. Physiol.* 266 (Heart Circ. Physiol. 35) : H967-H973.
- Shaul, P. W., North, A. J., Wu, L. C., Wells, L. B., Brannon, T. S., Lau, K. S., Michel, T., Margraf, L. R. and Star, R. A. 1994. Endothelial Nitric Oxide Is Expressed in Cultured Human Bronchiolar Epithelium. *J. Clin. Invest.* 94 : 2231-2236.
- Shen, J., Lusinskas, F. W., Connolly, A., Dewey, C. F. and Gimbrone, M. A. 1992. Fluid shear stress modulates cytosolic free calcium in vascular endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 262 (Cell Physiol. 31) : C384-C390.

- Shi, X., Andresen, J. M., Potts, J. T., Foresman, B. H., Stern, S. A. and Raven, P. B. 1993. Aortic baroreflex control of heart rate during hypertensive stimuli : effect of fitness. *J. Appl. Physiol.* 74 (4) : 1555-1562.
- Shi, X., Stevens, G. H. J., Foresman, B. H., Stern, S. A. and Raven, P. B. 1995. Autonomic nervous system control of the heart : endurance exercise training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 27 : 1406-1413.
- Shin, K., Minamitani, H., Onishi, S., Yamazaki, H. and Lee, M. 1997. Autonomic differences between athletes and nonathletes : spectral analysis approach. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 : 1482-1490.
- Silber, D., McLaughlin, D. and Sinoway, L. 1991. Leg exercise conditioning increases peak forearm blood flow. *J. Appl. Physiol.* 71 (4) : 1568 -1573.
- Silva, G. J. J., Brum, P. C., Negrao, C. E. and Krieger, E. M. 1997. Acute and Chronic Effects of Exercise on Baroreflexes in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension.* 30 [part 2] : 714-719.
- Silverman, H. G. and Mazzeo, R. S. 1996. Hormonal Responses to Maximal and Submaximal Exercise in Trained and Untrained Men of Various Ages. *J. Gerontol. : Biol. Sci.* 51A : B30-B37.
- Simonson, M. S. and Dunn, M. J. 1990. Cellular signaling by peptides of the endothelin gene family. *FASEB.* 4 : 2989-3000.
- Sinoway, L. I., Shenberger, J., Wilson, J., McLaughlin, D., Musch, T. and Zelis, R. 1987. A 30-day forearm work protocol increases maximal forearm blood flow. *J. Appl. Physiol.* 62 (3) : 1063-1067.
- Skarsgard, P., Breemen, C. V. and Laher, I. 1997. Estrogen regulates myogenic tone in pressurized cerebral arteries by enhanced basal release of nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2248-H2256.
- Skvorak, J. P. and Dietz, J. R. 1997. Endothelin and nitric oxide interact to regulate stretch-induced ANP secretion. *Am. J. Physiol.* 273 (Regulatory Integrative. Physiol. 42) : R301-R306.

- Smalt, R., Mitchell, F. T., Howard, R. L. and Chambers, T. J. 1997. Induction of NO and prostaglandin E<sub>2</sub> in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain. *Am. J. Physiol.* 273 (Endocrinol. Metab. 36) : E751-E758.
- 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.
- Smiesko, V., Lang, D. J. and Johnson, P. C. 1989. Dilator response of rat mesenteric arcading arterioles to increased blood flow velocity. *Am. J. Physiol.* 257 (Heart Circ. Physiol. 26) : H1958-H1965.
- Smits, P., Williams, S. B., Lipson, D. E., Banitt, P., Rongen, G. A. and Creager, M. A. 1995. V Endothelial Release of Nitric Oxide Contributes to the Vasodilator Effect of Adenosine in Humans. *Circulation.* 92 : 2135-2141.
- Sobey, C. G. and Faraci, F. M. 1997. Effect of nitric oxide and potassium channel agonists and inhibitors on basilar artery diameter. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H256 -H262.
- Somlyo, A. P. and Somlyo, A. V. 1994. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature.* 372 : 231-236.
- Stamler, J. S., Loh, E., Roddy, M., Currie, K. E. and Creager, M. A. 1994. Nitric Oxide Regulates Basal Systemic and Pulmonary Vascular Resistance in Healthy Humans. *Circulation.* 89 : 2035-2040.
- Stangl, K., Dschietzig, T., Laule, M., Alexiou, K., Wernecke, K. D. Baumann, G. 1997. Pulmonary Big Endothelin Affects Coronary Tone and Leads to Enhanced, ET<sub>A</sub>-Mediated Coronary Constriction in Early Endothelial Dysfunction. *Circulation.* 96 : 3192-3200.
- Starritt, E. C., Angus, D. and Hargreaves, M. 1999. Effect of short-term training on mitochondrial ATP production rate in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 86 (2) : 450-454.
- Steinberg, H. O., Brechtel, G., Johnson, A., Fineberg, N. and Baron, A. 1994. Insulin-mediated Skeletal Muscle Vasodilation Is Nitric Oxide Dependent : A Novel Action of Insulin to Increase Nitric Oxide Release. *J. Clin. Invest.* 94 : 1172-1179.

- Suga, S., Nakao, K., Itoh, H., Komatsu, Y., Ogawa, Y. Hama, N. and Imura, H. 1992. Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. *J. Clin. Invest.* 90 : 1145-1149.
- Sun, D., Messina, E. J., Koller, A., Wolin, M. S. and Kaley, G. 1992. Endothelium-dependent dilation to L-arginine in isolated rat skeletal muscle arterioles. *Am. J. Physiol.* 262 (Heart Circ. Physiol. 31) : H1211-H1216.
- Sun, D., Huang, A., Koller, A. and Kalay, G. 1994. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *J. Appl. Physiol.* 76 (5) : 2241 -2247.
- Supaporn, T., Wennberg, P. A., Wei, C. M., Kinoshita, M., Matsuda, Y. and Burnett, J. C. 1996. Role for the endogenous natriuretic peptide system in the control of basal coronary vascular tone in dogs. *Clin. Sci. (Lond.)* 90 : 357-362.
- Suzuki, J., Gao, M., Batra, S. and Koyama, T. 1997. Effects of treadmill training on the arteriolar and venular portions of capillary in soleus muscle of young and middle-aged rats. *Acta Physiol. Scand.* 159 : 113-121.
- Svedenhag, J., Martinsson, A., Ekblom, B. and Hjerdahl, P. 1991. Altered cardiovascular responsiveness to adrenoceptor agonists in endurance-trained men. *J. Appl. Physiol.* 70 (2) : 531-538.
- Tanaka, H., Bassett, D. R., Howley, E. T., Thompson, D. L., Ashraf, M. and Rawson, F. L. 1997. Swimming training lowers the resting blood pressure in individuals with hypertension. *J. Hypertension.* 15 : 651-657.
- Tare, M., Parkington, H. C., Coleman, H. A., Neild, T. O. and Dusting, G. J. 1990. Hyperpolarization and relaxation of arterial smooth muscle caused by nitric oxide derived from the endothelium. *Nature.* 346 : 69-71.
- Tayeh, M. A. and Marletta, M. A. 1989. Macrophage Oxidation of L-Arginine to Nitric Oxide, Nitrite, and Nitrate. *J. Biol. Chem.* 264 : 19654-19658.
- Teerlink, J. R., Loffler, B., Hess, P., Maire, J., Clozel, M. and Clozel, J. 1994. Role of Endothelin in the Maintenance of Blood Pressure in Conscious Rats With Chronic Heart Failure : Acute Effects of the Endothelin Receptor Antagonist Ro 47-0203 (Bosentan). *Circulation.* 90 : 2510-2518.

- Tipton, C. M., Matthess, R. D., Rowlett, K. A., Edwards, J. G. and Oppliger, R. A. 1979. Exercise training and peripheral vascular responses of SHR groups. *Physiologist*. 22 : 124.
- Tod, M. L. and Cassin, S. 1992. Endothelin-1-induced pulmonary arterial dilation is reduced by  $N^{\omega}$ -nitro-L-arginine in fetal lambs. *J. Appl. Physiol.* 72 (5) : 1730-1734.
- Toda, N. and Okamura, T. 1992. Regulation by Nitrooxidergic Nerve of Arterial Tone. *NIPS*. 7 : 148-151.
- Toda, N., Ayajiki, K., Uchiyama, M. and Okamura, T. 1997. Nitric oxide-mediated neurogenic vasodilation in isolated monkey lingual arteries. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H1582-H1588.
- Vagnoni, K. E., Shaw, C. E., Phernetton, T. M., Meglin, B. M., Bird, I. M. and Magness, R. R. 1998. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. III. Ovarian and estrogen effects on NO synthase. *Am. J. Physiol.* 275 (Heart Circ. Physiol. 44) : H1845-H1856.
- Vallance, P., Collier, J. and Moncada, S. 1989. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet*. 28 : 997-1000.
- Van Buren, G. A., Yang, D. and Clark, K. E. 1992. Estrogen-induced uterine vasodilatation is antagonized by L-nitroarginine methyl ester, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167 : 828-833.
- Van Reterghem, C., Vigne, P., Barhanin, J., Schmid-Alliana, A., Frelin, C. and Lazdunski, M. 1988. Molecular mechanism of action of the vasoconstrictor peptide endothelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157 : 977-985.
- Vane, J. R., Anggard, E. E. and Botting, R. M. 1990. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. E. J. Med.* 323 : 27-36.
- Varin, R., Mulder, P., Richard, V., Tamion, F., Devaux, C., Henry, J., Lallemand, F., Lerebours, G. and Thuillez, C. 1999. Exercise Improves Flow-Mediated Vasodilation of Skeletal Muscle Arteries in Rats With Chronic Heart Failure. *Circulation*. 99 : 2951-2957.
- Vatner, S. F., Knight, D. R. and Hintze, T. H. 1985. Norepinephrine-induced  $\beta_1$ -adrenergic peripheral vasodilation in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 249 (Heart Circ. Physiol. 18) : H49-H56.

- Vatner, D. E., Vatner, S. F., Nejima, J., Uemura, N., Susanni, E. E., Hintze, T. H. and Homcy, C. J. 1989. Chronic Norepinephrine Elicits Desensitization by uncoupling the  $\beta$ -Receptor. *J. Clin. Invest.* 84 : 1741-1748.
- Veras-Silva, A. S., Mattos, K. C., Gava, N. S., Brum, P. C., Negrao, C. E. and Krieger, E. M. 1997. Low-intensity exercise training decrease cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2627-H2631.
- Verbeuren, T. J., Jordaens, F. H., Hove, C. E. V., Hoydonck, A. V. and Herman, A. G. 1990. Release and vascular activity of endothelium-derived relaxing factor in atherosclerotic rabbit aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 191 : 173-184.
- Vissing, S. F., Scherrer, U. and Victor, R. G. 1991. Stimulation of Skin Sympathetic Nerve Discharge by Central Command: Differential Control of Sympathetic Outflow to Skin and Skeletal Muscle During Static Exercise. *Circ. Res.* 69 : 228-238.
- Volterrani, M., Rosano, G., Coats, A., Beale, C. and Collins, P. 1995. Estrogen Acutely Increases Peripheral Blood Flow in Postmenopausal Woman. *Am. J. Med.* 99 : 119-122.
- Walter, E. 1977. The Heart : A target Organ for Estradiol. *Science.* 319-321.
- Wang, J., Wolin, M. S. and Hintze, T. H. 1993. Chronic Exercise Enhances Endothelium-Mediated Dilatation of Epicardial Coronary Artery in Conscious Dogs. *Circ. Res.* 73 : 829-838.
- Wang, X., Barber, D. A., Lewis, D. A., McGregor, C. G. A., Sieck, G C., Fitzpatrick, L. A. and Miller, V. M. 1997a. Gender and transcriptional regulation of NO synthase and ET-1 in porcine aortic endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1962-H1967.
- Wang, H., Shibamoto, T. and Miyahara, T. 1997b. Endothelin-1 selectively contracts portal vein through both ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptors in isolated rabbit liver. *Am. J. Physiol.* 273 (Gastrointes. Liver Physiol. 36) : G1036-H1043.
- Wang, X., McGregor, C. G. A. and Miller, V. M. 1998. Induction and cDNA sequence of inducible nitric oxide synthase from canine aortic smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 275 (Heart Circ. Physiol. 44) : H1122-H1129.

- Weiner, C. P., Lizasoain, I., Baylis, S. A., Knowles, R. G., Charles, I. G. and Moncada, S. 1994. Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91 : 5212-5216.
- Weishaar, R. E., Panek, R. L., Major, T. C., Simmerman, J., Rapundalo, S. T. and Taylor, D. G. 1991. Evidence for a Function Tissue Renin-Angiotensin System in the Rat Mesenteric Vasculature and Its Involvement in Regulating Blood Pressure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250 : 568-574.
- White, K. A. and Marletta, M. A. 1992. Nitric Oxide Synthase Is a Cytochrome P-450 Hemoprotein. *Biochemistry.* 31 : 6627-6631.
- White, F. C., Bloor, C. M., McKirnan, M. D. and Carroll, S. M. 1998. Exercise training in swine promotes growth of arteriolar bed and capillary angiogenesis in heart. *J. Appl. Physiol.* 85 (3) : 1160-1168.
- Wiegman, D. L., Harris, P. D., Joshua, I. G. and Miller, F. N. 1981. Decreased vascular sensitivity to norepinephrine following exercise training. *J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 51 (2) : 282-287.
- Williams, R. S., Eden, R. S., Moll, M. E., Lester, R. M. and Wallace, A. G. 1981. Autonomic mechanisms of training bradycardia :  $\beta$ -adrenargic receptors in humans. *J. Appl. Physiol.* 51 (5) : 1232-1237.
- Wilmore, J. H., Stanforth, P. R., Gagnon, J., Leon, A. S., Rao, D. C., Skinner, J. S. and Bouchard, C. 1996. Endurance exercise training has a minimal effect on resting heart rate : the HERITAGE study. *Med. Sci. Sports Exerc.* 28 : 829-835.
- Wilson, J. R. and Kapoor, S. C. 1993. Contribution of endothelium-derived relaxing factor to exercise-induced vasodilation in humans. *J. Appl. Physiol.* 75 (6) : 2740-2744.
- Wilson, J. R., Kapoor, S. C. and Krishna, G. G. 1994. Contribution of potassium to exercise-induced vasodilation in humans. *J. Appl. Physiol.* 77 (6) : 2552-2557.
- 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.
- Xuan, Y., Wang, O. and Whorton, A. R. 1994. Regulation of endothelin-induced  $Ca^{2+}$  mobilization in smooth muscle cells by protein kinase C. *Am. J. Physiol.* 266 (Cell Physiol. 35) : C1560-C1567.
- Yajima, K., Nishiyama, M., Yamamoto, Y. and Suzuki, H. 1999. Inhibition of endothelium-dependent hyperpolarization by endothelial prostanoids in guinea-pig coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* 126 : 1-10.
- Yamaguchi, N. 1997. Role of  $ET_A$  and  $ET_B$  receptors in endothelin-1-induced adrenal catecholamine secretion in vivo. *Am. J. Physiol.* 272 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 41) : R1290-R1297.
- Yamakawa, N., Ohhashi, M., Waga, S. and Itoh, T. 1997. Role of endothelium in regulation of smooth muscle membrane potential and tone in the rabbit middle cerebral artery. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 1315-1322.
- Yamamoto, K., Burnett, J. C. and Redfield, M. M. 1997. Effect of endogenous natriuretic peptide system on ventricular and coronary function in failing heart. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2406-H2414.
- Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K. and Masaki, T. 1988. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 323 : 411-415.
- Yang, Z., Richard, V., Segesser, L., Bauer, E., Stulz, P., Turina, M. and Luscher, T. F. 1990. Threshold Concentration of Endothelin-1 Potentiate Contractions to Norepinephrine and Serotonin in Human Arteries : A New Mechanism of Vasospasm?. *Circulation.* 82 : 188-195.
- Yang, Z., Arnet, U., Bauer, E., Segesser, L. V., Siebenmann, R., Turina, M. and Luscher, T. F. 1994. Thrombin-Induced Endothelium-Dependent Inhibition and Direct Activation of Platelet-Vessel Wall Interaction : Role of Prostacyclin, Nitric Oxide, and Thromboxane  $A_2$ . *Circulation.* 89 : 2266-2272.

- Yang, H. T., Ogilvie, R. W. and Terjung, R. L. 1998. Exercise training enhances basic fibroblast growth factor-induced collateral blood flow. *Am. J. Physiol.* 274 (Heart Circ. Physiol. 43) : H2053-H2061.
- Yao, S., Akhtar, S., Scott-Burden, T., Ober, J. C., Golino, P., Buja, M., Casscells, W. and Willerson, J. T. 1995. Endogenous and Exogenous Nitric Oxide Protect Agonist Intracoronary Thrombosis and Reocclusion After Thrombolysis. *Circulation.* 92 : 1005-1010.
- Yashiro, Y. and Ohhashi, T. 1997. Flow- and agonist-mediated nitric oxide- and prostaglandin-dependent dilation in spinal arteries. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H2217-H2223.
- Yoshinaga, M., Chijiwa, Y., Misawa, T., Harada, N. and Nawata, H. 1992. Endothelin<sub>B</sub> receptor on guinea pig small intestinal smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 262 (Gastrointest. Liver Physiol. 25) : G308-G311.
- You, J., Johnson, T. D., Childres, W. F. and Bryan, R. M. 1997. Endothelial-mediated dilations of rat middle cerebral arteries by ATP and ADP. *Am. J. Physiol.* 273 (Heart Circ. Physiol. 42) : H1472-H1477.
- Yuan, X., Bright, R. T., Aldinger, A. M. and Rubin, L. J. 1997. Nitric oxide inhibits serotonin induced calcium release in pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 272 (Lung Cell. Mol. Physiol. 16) : L44-L50.
- Yui, Y., Hattori, R., Kosuga, K., Eizawa, H., Hiki, K., Ohkawa, S., Ohnishi, K., Terao, S. and Kawai, C. 1991. Calmodulin-independent Nitric Oxide Synthase from Rat Polymorphonuclear Neutrophils. *J. Biol. Chem.* 266 : 3369-3371.
- Zaugg, C. E., Hornstein, P. S., Zhu, P., Simper, D., Luscher, T. F., Allegrini, P. R. and Buser, P. T. 1996. Endothelin-1-Induced Release of Thromboxane A<sub>2</sub> Increase the Vasoconstrictor Effect of Endothelin-1 in Postischemic Reperfused Rat Hearts. *Circulation.* 94 : 742-747.
- Zhang, F., Ram, J. L., Standley, P. R. and Sowers, J. R. 1994. 17 $\beta$ -Estradiol attenuates voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> currents in A7r5 vascular smooth muscle cell line. *Am. J. Physiol.* 266 (Cell Physiol. 35) : C975-C980.

- Zhang, W., Sarosi, G., Barnhart, D., Yule, D. I. and Mulholland, M. W. 1997a. Endothelin-activated calcium signaling in enteric glia derived from neonatal guinea pig. *Am. J. Physiol.* 272 (Gastrointest. Liver Physiol. 35) : G1175 –G1185.
- Zhang, R., Guth, P. H., Scremin, O. U., Singh, R., Pervin, S. and Chaudhuri, G. 1997b. Regulation of endometrial blood flow in ovariectomized rats : assessment of the role of nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 273. (Heart Circ. Physiol. 42) : H2009-H2017.
- Zhao, Y., Wang, J., Rubin, L. J. and Yuan, X. 1997. Inhibition of  $K_v$  and  $K_{ca}$  channels antagonizes NO-induced relaxation in pulmonary artery. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41) : H904 –H912.
- 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.
- Ziche, M., Morbidelli, L., Masini, E., Amerini, S., Granger, H. J., Maggi, C. A., Geppetti, P. and Ledda, F. 1994. Nitric Oxide Mediates Angiogenesis In Vivo and Endothelial Cell Growth and Migration In Vitro Promoted by Substance P. *J. Clin. Invest.* 94 : 2036-2044.
- Zschauer, A. O. A., Sielczak, M. W., Smith, D. A. S. and Wanner, A. 1997. Norepinephrine-induced contraction of isolated rabbit bronchial artery : role of  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptor activation. *J. Appl. Physiol.* 82 (6) : 1918-1925.
- Zygmunt, P. M., Waldeck, K. and Hogestatt, E. D. 1994. The endothelium mediates a nitric oxide-independent hyperpolarization and relaxation in the rat hepatic artery. *Acta Physiol. Scand.* 152 : 375-384.
- Zygmunt, P. M. and Hogestatt, E. D. 1996. Role of potassium channels in endothelium-dependent relaxation resistant to nitroarginine in the rat hepatic artery. *Br. J. Pharmacol.* 117 : 1600-1606.
- Zygmunt, P. M., Edwards, G., Weston, A. H., Larsson, B. and Hogestatt, E. D. 1997. Involvement of voltage-dependent potassium channels in the EDHF-mediated relaxation of hepatic artery. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 141-149.

ภาคผนวก

1. สารละลายเครบส์ (Krebs-Henseleit solution) ประกอบด้วย

NaCl	118.3	mM
KCl	4.7	mM
CaCl <sub>2</sub>	1.9	mM
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.45	mM
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.18	mM
NaH <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	25	mM
D-glucose	11.66	mM
Na <sub>2</sub> EDTA	0.024	mM
Ascorbic acid	0.09	mM

2. การเตรียมสารละลาย KCl ความเข้มข้น 20 mM, 40mM, 80mM และ 120mM โดยการใช้ KCl แทนที่ NaCl ในสารละลายเครบส์เพื่อไม่ให้ osmolarity ของสารละลายเครบส์เปลี่ยนแปลง ดังนี้

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

3. Phenylephrine, adrenaline, noradrenaline, isoproterenol, propranolol และ yohimbine ละลายด้วยสารละลายที่ประกอบด้วย

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

4. N<sup>o</sup>-nitro-L-arginine (LNA) ละลายด้วยสารละลายเครบส์

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

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวพุทธดา นิลเอสงค์  
วัน เดือน ปีเกิด 10 ตุลาคม 2514  
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
ประกาศนียบัตรพยาบาลศาสตร์	วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนีสงขลา	2536