



การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phenylephrine ในระหว่างตั้งครรภ์ของหนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar
Vascular Reactivity to Phenylephrine during Pregnancy of Wistar Rats

บุษยา ด่านเดชา

Budsaya Dandecha

๑

เลขหมู่ QL737.R6 บ75 2544 ร.2
Bib Key 204744
12 S.A. 2543

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University



2544

ชื่อวิทยานิพนธ์ การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phenylephrine ระหว่างตั้งครรภ์ของหนูแร้ท
สายพันธุ์ Wistar

ผู้เขียน นางบุษยา คำนเคชา



สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ



คณะกรรมการที่ปรึกษา

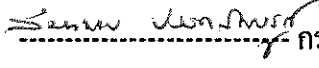
 
-----ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ฉวีวรรณ ชื่นสกุล)

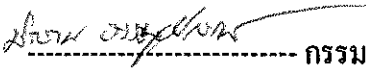
 
-----กรรมการ
(ดร.อลิสา สุวัฒน์ปุระ)

คณะกรรมการสอบ

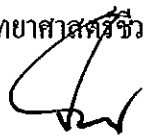
 
-----ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ฉวีวรรณ ชื่นสกุล)

 
-----กรรมการ
(ดร.อลิสา สุวัฒน์ปุระ)

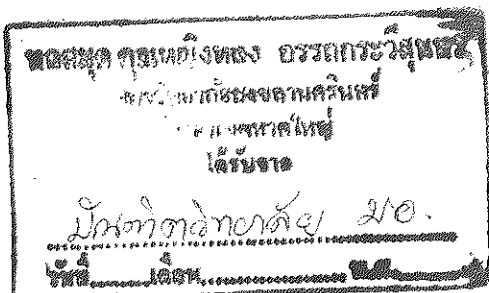

-----กรรมการ
(นพ.สมหมาย ปลอดสมบุรณ์)


-----กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ชรรณอุปกรณ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ



(รองศาสตราจารย์ ดร.ปิติ ทฤษฎีกุณ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



ชื่อวิทยานิพนธ์ การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phenylephrine ในระหว่างตั้งครรภ์ของหนูแร้ท
สายพันธุ์ Wistar
ผู้เขียน นางบุษยา คำนเดชา
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2543

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta และ mesenteric arterial beds ในระหว่างตั้งครรภ์ของหนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar และศึกษาบทบาทของ nitric oxide (NO), เซลล์เอนโดทีเลียมและ/หรือเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเหล่านี้ ทำการทดลองในหลอดเลือด thoracic aorta และ mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วันที่ตัดออกมาศึกษานอกร่างกาย (*in vitro*) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยากับการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) ต่อ KCl และ phenylephrine (Phe) ในหลอดเลือดที่มีและไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียมทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N^G-nitro-L-arginine (LNA)

ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl การเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe เกิดขึ้นในหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วันด้วย การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมหรือการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA มีผลทำให้ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วันเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูแร้ททุกกลุ่มในขนาดที่เท่าๆกัน ดังนั้นการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ในหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มจึงยังคงสูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ อย่างไรก็ตามสำหรับหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม LNA มีผลทำให้ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์เคลื่อนไปเท่ากับของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ในขณะที่ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันเคลื่อนไปเท่ากับของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน แต่ยังคงสูงกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน

สำหรับหลอดเลือด mesenteric arterial beds พบว่าการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดต่อการตอบสนองต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

แปลงดังกล่าวในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl แต่อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวไม่ปรากฏหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ในทำนองเดียวกันการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดต่อการตอบสนองต่อ Phe ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน ต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ LNA มีผลเพิ่มทั้งความไวและการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดในการตอบสนองต่อ Phe ของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วันไปเท่ากับของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่สำหรับหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันพบว่า การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ยังคงต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS มีผลเพิ่มทั้งความไวและความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดในการตอบสนองต่อ Phe ของหนูแร้ททุกกลุ่ม อย่างไรก็ตามการตอบสนองของหลอดเลือดที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มยังคงต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ สำหรับหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันแม้ว่าการตอบสนองในการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดต่อ Phe ไม่แตกต่างไปจากของกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ตั้งครรภ์พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน LNA ไม่มีผลทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงการตอบสนองในการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน แต่สำหรับหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันพบว่า LNA มีผลทำให้เพิ่มความไวและความดันเพอร์ฟิวชันสูงสุดในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายต่อ Phe ได้เล็กน้อย จึงทำให้ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันเคลื่อนมาใกล้เคียงกับของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน

จากผลการทดลองทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ในระหว่างตั้งครรภ์ในหนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวต่อการตอบสนองต่อ KCl สำหรับหลอดเลือด thoracic aorta ซึ่งเป็นหลอดเลือดขนส่งพบว่ามีการเพิ่มการตอบสนองต่อ Phe ในขณะที่หลอดเลือด mesenteric arterial beds ซึ่งเป็นหลอดเลือดด้านทานพบการลดการตอบสนองต่อ Phe ในระหว่างตั้งครรภ์มีการเพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นแต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงการหลั่งได้เองของ NO จากหลอดเลือด แม้ว่า NO มีบทบาททำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ทั้งในหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ แต่การเปลี่ยนแปลงการหลั่ง NO ของหลอดเลือดไม่น่าจะเป็นเพียงกลไกเดียวที่มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta และ mesenteric arterial beds ในระหว่างตั้งครรภ์ แต่อาจจะมีปัจจัยอื่นๆเช่นการเปลี่ยนแปลงการสร้างและ/หรือการหลั่งสารชนิดอื่นที่มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือดจากหลอดเลือดรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเองอาจเกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรภ์

Thesis Title Vascular Reactivity of Phenylephrine during Pregnancy of Wistar Rats
Author Mrs. Budsaya Dandecha
Major Program Biological Sciences
Academic Year 2000

Abstract

The present study was designed to determine whether there are any changes in responsiveness of the thoracic aortae and mesenteric arterial beds during pregnancy in the rat, and whether nitric oxide, endothelium and/or vascular smooth muscle play a role in these changes. Studies were performed *in vitro* using thoracic aortae and mesenteric arterial beds obtained from non-pregnant and 10, 15 and 20 day pregnant rats. Dose-response relationships to KCl and phenylephrine (Phe) of the blood vessels with or without functional endothelium were performed both in the absence and presence of LNA, a nitric oxide synthase inhibitor.

There were increases in maximum contractile responses to Phe but not to KCl of the thoracic aortae obtained from 20 day pregnant rats compared to those of non-pregnant controls. The increase in maximal contractile responses to Phe of pregnant rats was also found for 10 and 15 day pregnant rats. Removal of endothelium or the presence of LNA caused a significant shift of the curves to KCl and Phe to the left with increase in maximal responses to the same extent of both groups of animals. Thus, the maximal contractile responses to Phe of pregnant animals were still higher than those of non-pregnant rats. However, in the absence of endothelium, LNA caused a significant shift of the curve to Phe of the thoracic aortae obtained from non-pregnant rats to the same extent as that of 20 day pregnant rats, while the curve of 15 day pregnant rats was shifted to the same as that of 10 day pregnant rats but still higher than those of non-pregnant and 20 day pregnant rats.

There were lower maximal perfusion pressure responses to Phe but not to KCl of the mesenteric arterial beds of 20 day pregnant rats compared to those of non-pregnant animals. However, this difference was abolished by LNA. Similar lowering in maximal perfusion pressure responses to Phe was also found for the mesenteric arterial beds obtained from 10 and 15 day pregnant rats. LNA caused an increase in both sensitivity and maximal perfusion pressure responses to Phe of the mesenteric arterial beds from 15 and 20 day pregnant to the same extent as those of non-pregnant rats.

In 10 day pregnant rats, however, the responsiveness to Phe was still lower than that of non-pregnant and 15 and 20 day pregnant rats. CHAPS caused an increase in both sensitivity and maximal perfusion pressure responses to Phe of all groups of animals. However, the responsiveness of the blood vessels with impaired functional endothelium to Phe of all groups was still lower than that of non-pregnant rats. For 20 day pregnant rats, although the maximal perfusion pressure responses to Phe were not different from those of 10 and 15 day pregnant rats, there was not significantly different from those of non-pregnant animals. LNA had no effects on perfusion pressure responses to Phe of the mesenteric arterial beds with impaired functional endothelium of the vascular beds obtained from non-pregnant and 15 and 20 day pregnant rats. For those of 10 day pregnant rats, however, LNA caused a slight increase in both sensitivity and maximal perfusion pressure responses to Phe of the mesenteric arterial beds which raised the D-R curve to the same extent as those of 15 and 20 day pregnant rats.

These results suggest that there were changes in vascular responsiveness to Phe but not to KCl during pregnancy in the rats. The changes were different for different types of blood vessels. The thoracic aortae, a conducting vessel, showed an increase, while that of mesenteric arterial beds, a resistance vessels, showed a decrease in responsiveness to Phe during pregnancy. There were changes in stimulated release but not in spontaneous release of NO from the blood vessels during pregnancy in the rat. Although endogenous NO modulates vasoconstrictor response to Phe in both non-pregnant and pregnant animals, this mechanism does not fully account for changes in responsiveness of the thoracic aortae or mesenteric arterial beds during pregnancy. Some other factors such as alteration in the synthesis or release of some other vasoactive substances from the blood vessels, as well as functional alteration at the vascular smooth muscle itself, may be involve in these changes.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ฉวีวรรณ จันสกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและสอนเทคนิคต่างๆในการทำวิจัย วิธีการทำงานอย่างมีระบบแบบแผน ตลอดจนการเขียนและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณดร.อลิสา สุวัฒน์ประกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณอาจารย์นายแพทย์สมหมาย ปลอดสมบูรณ์ กรรมการสอบจากภาควิชาสรีรวิทยาและรองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ชรรมอุปกรณ์ กรรมการผู้แทนจากบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้กรุณาแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่มอบทุนวิจัย ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์จันทนา ชูปรีชา อาจารย์นงเยาว์ กิจเจริญนิรุฒม์ และคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยาทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำและความช่วยเหลือต่างๆ ขอขอบคุณคุณคุณเพทาย หิรัญพันธุ์ที่ให้คำปรึกษามาตลอด ขอขอบคุณคุณคุณพุทธธดา นิลเอสงค์ บุคลากรภาควิชาสรีรวิทยาและบุคลากรเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลองทุกท่าน สุกท้ายขอกราบขอบพระคุณพ่อและแม่ ขอขอบคุณน้องๆและลูกทั้งสอง ตลอดจนอาจารย์นายแพทย์พงศ์ศักดิ์ ค่านเดชา ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจอย่างสูงมาโดยตลอดจนกระทั่งมีวันนี้ที่สำเร็จการศึกษา

บุษยา ค่านเดชา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
Abstract	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการรูป	(8)
คำย่อและสัญลักษณ์	(10)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	6
วัตถุประสงค์	29
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	30
อุปกรณ์	30
ยาและสารเคมี	31
วิธีการ	31
3. ผลการทดลอง	38
4. วิจารณ์	67
5. สรุป	74
เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	102
ประวัติผู้เขียน	103

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ค่า EC_{50} และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl และ N^G -nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P)	42
3.2 ค่า EC_{50} และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine (Phe) และ N^G -nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ)	50
3.3 ค่า EC_{50} และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl และ N^G -nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P)	53
3.4 ค่า EC_{50} และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine(Phe), N^G -nitro-L-arginine (LNA) และ 3[(chlamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS)ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ)	65

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงส่วนประกอบของหลอดเลือดชนิดต่างๆ	7
1.2 แสดงโครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ	10
1.3 แสดงการออกฤทธิ์ของ NO ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด	20
1.4 แสดงการสังเคราะห์ prostaglandins จากกรด arachidonic	22
2.1 แสดง mesenteric arterial beds ใน organ bath	34
3.1 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์ endothelium และไม่มีเซลล์ endothelium ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วัน	39
3.2 แสดงตัวอย่างผลการทดลองในการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์ เอน โคธิเลียมและไม่มีเซลล์เอน โคธิเลียมต่อKClของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	40
3.3 แสดงผลของ N^G -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มี เซลล์เอน โคธิเลียม(ก)และไม่มีเซลล์เอน โคธิเลียม(ข) ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วัน	41
3.4 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอน โคธิเลียมและไม่มี เซลล์เอน โคธิเลียมต่อ phenylephrine ก่อน(ก)และหลังยับยั้ง(ข) การสร้าง NO ด้วย N^G -nitro-L-arginine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วัน	44
3.5 แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอน โคธิเลียมที่ทำให้มีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine ต่อ acetylcholine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ (ก) และตัวอย่าง การตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอน โคธิเลียมต่อ phenylephrine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์และกลุ่มตั้งครรรภ์ 10, 15 และ20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วย เครื่องโพลีกราฟ (ข)	45

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.6 แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม ที่ทำให้มีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine ต่อ acetylcholine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ (ก) และตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียมต่อ phenylephrine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ (ข)	46
3.7 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine ก่อน(ก) และ หลัง(ข) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม(ค) และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมร่วมกับการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine (ง) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน	48
3.8 แสดงผลของ N ^G -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl (ก) และ phenylephrine (ข) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน	52
3.9 แสดงตัวอย่างผลของ N ^G -nitro-L-arginine ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ	55
3.10 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อน และหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน	57
3.11 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อน และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio] propane sulfate ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน	60
3.12 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่ถูกทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]propane sulfonate ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน	62

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.13 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อน(ก) และหลัง(ข) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]propane sulfate(ค) และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]propane sulfate ร่วมกับการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N ^G -nitro-L-arginine ของหนูแร้ท กลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน	64

ตัวย่อและสัญลักษณ์

α	=	alpha
β	=	beta
AI	=	angiotensin I
A II	=	angiotensin II
ACE	=	angiotensin converting enzyme
ACh	=	acetylcholine
ADH	=	antidiuretic hormone
ADP	=	adenosine diphosphate
Adr	=	adrenaline
AMP	=	adenosine monophosphate
ANP	=	atrial natriuretic peptide
ATP	=	adenosine triphosphate
AVP	=	arginine vasopressin
BH ₄	=	tetrahydrobiopterin
BNP	=	brain natriuretic peptide
Ca ²⁺	=	calcium ion
CaM	=	calmodulin
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate
CHAPS	=	3-[(3-choamidopropyl)dimethylammonio]-1-propane sulfonate
cGMP	=	cyclic guanosine monophosphate
CNP	=	central natriuretic peptide
CO	=	cardiac output
COX	=	cyclooxygenase
CYP450	=	cytochrome P450
10 D-P	=	10 day pregnant

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

15D-P	=	15 day pregnant
20 D-P	=	20 day pregnant
E	=	epinephrine
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
EC ₅₀	=	effective concentration
EDHF	=	endothelial-derived hyperpolarizing factor
EDNO	=	endothelial-derived nitric oxide
EDRF	=	endothelial-derived relaxing factor
EST	=	estrous
ET	=	endothelin
ET _A	=	endothelin receptor type A
ET _B	=	endothelin receptor type B
FAD	=	flavin adenine dinucleotide
FMN	=	flavin mononucleotide
GC	=	guanylate cyclase
GTP	=	guanosine triphosphate
H ⁺	=	hydrogen ion
IP ₃	=	inositol triphosphate
K _{ca}	=	calcium-dependent K ⁺ channel
KCl	=	potassium chloride
K _{ATP}	=	ATP sensitive K ⁺ channel
Kg.	=	kilogram
LNA, L-NOARG, L-NNA	=	N ^G -nitro-L-arginine
L-NAA	=	N ^G -amino-L-arginine
L-NAME	=	N ^G -nitro-L-arginine methyl ester
L-NIL	=	N ^G -(1-iminoethyl)-L-lysine
L-NIO	=	N ^G -iminoethyl-L-ornithine
L-NMMA	=	N ^G -monomethyl-L-arginine

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

M	=	molar
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
mmHg	=	millimetre mercury
mM	=	millimolar
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
NA	=	noradrenaline
NaCl	=	sodium chloride
NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide
NE	=	norepinephrine
NO	=	nitric oxide
NOS	=	nitric oxide synthase
cNOS	=	constitutive nitric oxide synthase
bNOS, nNOS, NOS I	=	brain nitric oxide synthase
eNOS, ecNOS, NOS III	=	endothelial nitric oxide synthase
iNOS, NOS II	=	inducible nitric oxide synthase
PE50	=	polyethylene tubing (number 50)
PGE ₂	=	prostaglandin E ₂
PGF _{1α}	=	prostaglandin F _{1α}
PGF _{2α}	=	prostaglandin F _{2α}
PGG ₂	=	prostaglandin G ₂
PGH ₂	=	prostaglandin H ₂
PGI ₂	=	prostaglandin I ₂
Phe	=	phenylephrine
PIH	=	pregnancy-induced hypertension
PNMT	=	phylylethanolamine-N-methyl-transferase
S.E.M.	=	standard error of mean value
SHR	=	Spontaneously Hypertensive Rat

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

TxA ₂	=	thromboxane A ₂
TxB ₂	=	thromboxane B ₂
V ₁	=	Vasopressin receptor type 1
WKY	=	Wistar-Kyoto rat

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ภาวะตั้งครรภ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการทำงานของระบบการไหลเวียนเลือด (circulatory system) มีการเพิ่มปริมาตรเลือด (blood volume) และปริมาณเลือดที่ออกจากหัวใจต่อนาที (cardiac output) ของมารดา (Pan *et al.*, 1990) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้ปริมาณเลือดและสารอาหารจากมารดาไปสู่ตัวอ่อนทางหลอดเลือดคั่นมดลูกและรก (uteroplacental circuit) (Ahokas *et al.*, 1983; Hart *et al.*, 1986) ได้อย่างเพียงพอ ส่งผลให้ตัวอ่อนมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ (Bruce, 1976; Yallampalli *et al.*, 1993) อย่างไรก็ตามการตั้งครรภ์กลับทำให้ลดความดันโลหิต (Teeuw *et al.*, 1973; Chesley, 1975; St-Louis & Massicotte, 1985) และลดความต้านทานของหลอดเลือดส่วนปลายของมารดา (peripheral resistance) (Pohl *et al.*, 1986; St-Louis & Sicotte, 1992) แม้ว่าจะได้มีการศึกษาอย่างมากมายเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของระบบหัวใจและหลอดเลือดระหว่างตั้งครรภ์ทั้งในสัตว์ทดลองและในคน แต่ก็ยังไม่ทราบอย่างแน่ชัดว่าจะอะไรเป็นปัจจัยหลักและกลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดดังกล่าว

ภาวะความดันโลหิตสูงระหว่างตั้งครรภ์ (pregnancy-induced hypertension, PIH) เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างตั้งครรภ์คือผู้ป่วยกลับมีความดันโลหิตสูงขึ้นในขณะตั้งครรภ์ โดยทั่วไปผู้ป่วยจะเริ่มมีความดันโลหิตสูงขึ้นมากกว่า 140/90 มม.ปรอทในช่วงครึ่งท้ายของการตั้งครรภ์ ภาวะความดันโลหิตสูงระหว่างตั้งครรภ์เป็นสาเหตุหนึ่งของการตายของมารดา (symonds, 1980) การตายหรือทุพพลภาพของทารก (Friedman & Neff, 1976; Lin *et al.*, 1982; Sibai, 1988) และทารกในครรภ์เจริญเติบโตช้า (intrauterine growth retardation) เนื่องจากมีปริมาณเลือดไปเลี้ยงทารกในครรภ์ลดลง (Gallery *et al.*, 1979) แม้ว่าได้มีการศึกษาเกี่ยวกับภาวะความดันโลหิตสูงระหว่างตั้งครรภ์มานานกว่า 60 ปี แต่ยังไม่ทราบอย่างแน่ชัดว่าจะอะไรเป็นปัจจัยหลักและกลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด อย่างไรก็ตามในปัจจุบันเรายังไม่สามารถชักนำให้สัตว์ทดลองเกิดภาวะความดันโลหิตสูงเลียนแบบเหมือนกับ PIH ในคนได้ ดังนั้นการทราบถึงปัจจัยและกลไกในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรภ์ปกติก็น่าจะเป็นข้อมูลสำคัญที่อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมหรือป้องกันการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงระหว่างตั้งครรภ์ได้

ปัจจุบันมีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนว่า Endothelium Derived Relaxing Factor (EDRF) ซึ่งปัจจุบันยอมรับว่า EDRF คือ nitric oxide (NO) (Palmer *et al.*, 1987) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (vascular tone) NO หลั่งจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อ

เรียบหลอดเลือดทั้งการหลั่งได้เองตามปกติ (basal release) และการหลั่งเนื่องจากถูกกระตุ้น (stimulate release) โดยปัจจัยต่างๆทั้งทางเคมีและทางกายภาพ ปัจจัยทางเคมีได้แก่ Acetylcholine (ACh) (Tare *et al.*, 1990), adenosine (Smits *et al.*, 1995), bradykinin (Nagao & Vanhoutte, 1992), serotonin (Salomon *et al.*, 1997), substance P (Ziche *et al.*, 1994), Ca^{2+} ionophores A23187 (Janssens *et al.*, 1992), ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Vagnoni *et al.*, 1998), angiotensin II (AII) (Pueyo *et al.*, 1998), สารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา (α -adrenergic agonists) (Kaneko & Sunano, 1993), และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา (β -adrenergic agonists) (Gray & Marshall, 1992) สำหรับปัจจัยทางกายภาพได้แก่ แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) (Koller *et al.*, 1994) การตั้งครรภ์มีผลทำให้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด(plasma volume)ทั้งในคน (Ueland & Metcalfe, 1975; Mabie *et al.*, 1994), กระจายและหนูแร้ท (Nuwayhid, 1979; Slangen *et al.*, 1996) โดยจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามอายุครรภ์และมากเกือบเป็น 2 เท่าในระยะใกล้คลอด (Jansakul *et al.*, 1989) นอกจากนี้ยังพบว่า การตั้งครรภ์ในหนูแร้ทมีผลทำให้เพิ่มทั้งความแรงและอัตราการเต้นของหัวใจ (Slangen *et al.*, 1996) ซึ่งผลดังกล่าวนี้อาจทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการสร้างและการหลั่ง NO จากเซลล์ เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดระหว่างตั้งครรภ์ Conrad *et al.* (1993) และ McLaughlin และ Conrad (1995) ศึกษาระดับ NO ในเลือดของหนูแร้ทตั้งครรภ์โดยการวัดระดับของ cGMP ซึ่งเป็น metabolite form ของ NO ในเลือดและในปัสสาวะพบว่าระดับ cGMP ในเลือดและในปัสสาวะเพิ่มขึ้นระหว่างตั้งครรภ์เมื่อเปรียบเทียบกับหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ ในทำนองเดียวกัน Yang *et al.* (1996) ศึกษาระดับ NO ในเลือดของแกะตั้งครรภ์โดยการวัดระดับ nitrite และ nitrate ในเลือดและในปัสสาวะพบว่าระดับของสารดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์ ต่อมาในปีคศ. 1996 Xu *et al.* ศึกษาหาแหล่งที่มีการสร้าง NO ในระหว่างหนูแร้ทตั้งครรภ์ 20 วันโดยใช้วิธี Northern และ Western blot analysis ตรวจสอบ nitric oxide synthase (NOS) แบบ constitutive isoform ทั้งชนิด neuronal NOS (nNOS) และ endothelial NOS (ecNOS) โดยศึกษาที่หลอดเลือด aorta, mesenteric artery และที่ hypothalamus พบว่าในหนูแร้ทตั้งครรภ์ 20 วันมีการเพิ่มการสร้าง nNOS protein และ mRNA ใน hypothalamus และเพิ่ม ecNOS expression ทั้งในหลอดเลือด aorta และ mesenteric artery เมื่อเปรียบเทียบกับหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ในขณะที่ Magness *et al.* (1997) ศึกษาในแกะโดยใช้วิธีการเดียวกัน พบว่าในแกะตั้งครรภ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับของ nNOS ที่หลอดเลือดแต่มีการเพิ่ม expression ของ ecNOS ในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด uterine และ omental arteries โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงในหลอดเลือดแดง systemic แต่อย่างไรก็ตามในคนรายงานเกี่ยวกับระดับ NO ในเลือดระหว่างตั้งครรภ์ไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน Nobunaga *et al.* (1996) ได้รายงานว่าระดับ nitrite และ nitrate ในพลาสมาของสตรีตั้งครรภ์ปกติสูงกว่าสตรีไม่ตั้งครรภ์ และสตรีตั้งครรภ์ที่เป็นความดันโลหิตสูง (PIH) มีระดับ nitrite และ nitrate สูงกว่าสตรีตั้งครรภ์ปกติ แต่ Zhao *et al.* (1998) กลับพบว่าระดับ nitrite และ

nitrate ของสตรีตั้งครรภ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไตรมาสที่ 2 สูงกว่าในสตรีไม่ตั้งครรภ์ แต่สตรีตั้งครรภ์ที่เป็นความดันโลหิตสูงมีค่าต่ำกว่าสตรีตั้งครรภ์ปกติในไตรมาสที่ 3 และสตรีไม่ตั้งครรภ์ ในขณะที่ Hata *et al.* (1999) พบว่าระดับ nitrite และ nitrate ในเลือดของสตรีไม่ตั้งครรภ์สูงกว่าสตรีตั้งครรภ์ปกติและมีค่าลดลงเรื่อยๆเมื่อมีอายุครรภ์มากขึ้นและลงระดับต่ำจนระยะคลอด และค่าดังกล่าวในไตรมาสที่ 3 ไม่แตกต่างไปจากของสตรีตั้งครรภ์ที่เป็นความดันโลหิตสูง

สำหรับการตอบสนองของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรภ์ Jansakul *et al.* (1989) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ตัดออกมาศึกษาออกร่างกายต่อ noradrenaline (NA) และ phenylephrine (Phe) ของหนูแร้ตั้งครรภ์ 20 วันสูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ระยะฮิสตรีส การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมหรือการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย oxyhemoglobin มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดของหนูแร้ทั้งสองกลุ่มในขนาดที่เท่าๆกัน จึงยังคงทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดของหนูแร้ทุกกลุ่มตั้งครรภ์สูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ซึ่งผลดังกล่าวแตกต่างจากรายงานของ Weiner *et al.* (1989) ที่ศึกษาใน guinea pig โดยศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด uterine artery และ carotid artery ที่ตัดออกมาศึกษาออกร่างกาย พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด uterine artery ต่อ NA, adrenaline (Adr) และ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 50-60 วันต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อศึกษาในหลอดเลือด carotid artery ในทำนองเดียวกัน เมื่อศึกษาผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดต่อ acetylcholine (ACh) โดยให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย Phe พบว่า uterine และ carotid arteries ของกลุ่มตั้งครรภ์คลายตัวได้มากกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ผลดังกล่าวนี้อาจเป็นไปได้ว่าการลดความไวและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ NA และ Phe ในระหว่างตั้งครรภ์อาจเป็นผลมาจากมีการเพิ่มการหลั่ง NO จากหลอดเลือด

Parent *et al.* (1990) พบว่าความไวการตอบสนองของหลอดเลือด superior mesenteric artery ต่อ NA และ Phe ของหนูแร้ตั้งครรภ์ 21 วันที่ตัดออกมาศึกษาออกร่างกายต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความแรงในการตอบสนองสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันและการลดความไวของหลอดเลือด mesenteric artery ต่อ NA และ Phe ของหนูแร้ตั้งครรภ์ 21 วันไม่ได้ขึ้นกับเซลล์เอนโดทีเลียม ผลการทดลองนี้เหมือนกับรายงานของ Learmont *et al.* (1996) ที่พบว่าการตอบสนองต่อ NA ของหลอดเลือด mesenteric small artery ของหนูแร้สายพันธุ์ Wistar อายุครรภ์ 18-21 วันต่ำกว่าของกลุ่มหนูแร้ไม่ตั้งครรภ์ แต่การตอบสนองการคลายตัวต่อ bradykinin และ ACh ของหนูแร้ตั้งครรภ์สูงกว่าของหนูแร้ไม่ตั้งครรภ์ ในขณะที่ Pascoal *et al.* (1995) พบว่าในหนูแร้สายพันธุ์ Sprague Dawley การตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric artery ต่อ Phe และ KCl ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างหลอดเลือดของหนูอายุครรภ์ 18-20 วันและหนูไม่ตั้งครรภ์ไม่ว่าก่อนหรือหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย L-NNA แต่การคลายตัวของหลอดเลือดต่อ ACh ที่ให้หลอดเลือดหดตัวอยู่ก่อนด้วย Phe ของกลุ่มหนูตั้งครรภ์คลายตัวได้มากกว่าของกลุ่มหนูไม่ตั้งครรภ์ ในทำนองเดียวกัน Ralevic และ

Burnstock (1996) พบว่า mesenteric artery ของหนูแร้ทอายุครรภ์ 21 วันสายพันธุ์เดียวกันนี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อ AII, NA และ KCl เมื่อเปรียบเทียบกับของกลุ่มหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย L-NAME หรือการยับยั้งการสร้าง prostaglandin ด้วย indomethacin ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว

อย่างไรก็ตาม Nathan *et al.* (1995) ศึกษาบทบาทของ NO และ prostaglandins ต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดในหนูแร้ทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ไม่ตั้งครรภ์, ตั้งครรภ์ 9-11 วันและตั้งครรภ์ 18-20 วัน โดยศึกษาในหนูแร้ทระหว่างได้รับยาสลบ พบว่าการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย L-NAME มีผลเพิ่มความดันโลหิตเฉลี่ยในหนูแร้ทตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอดได้มากกว่าหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์และหนูแร้ทตั้งครรภ์ระยะกลาง นอกจากนี้ยังเพิ่มการตอบสนองต่อ AII แต่ไม่เปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อ Phe การยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย meclophenamate ไม่มีผลทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอดส่วนหนึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง NO ผลการศึกษานี้สนับสนุนการศึกษาของ Ahokas และ Sibai (1992) ที่พบว่าการลดการตอบสนองต่อ AII ของหลอดเลือด hindlimb artery ของหนูแร้ทสายพันธุ์ spontaneously hypertensive rat ตั้งครรภ์จะกลับเป็นปกติเมื่อได้รับสารยับยั้งการสร้าง NO แต่ผลดังกล่าวนี้แตกต่างจากของ Umans *et al.* (1990) ซึ่งศึกษาในหนูไม่สลบ พบว่า NO ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเฉลี่ยระหว่างหนูตั้งครรภ์เมื่อเปรียบเทียบกับหนูไม่ตั้งครรภ์

Griggs *et al.* (1993) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด renal intralobar artery ต่อ Phe ของหนูแร้ทตั้งครรภ์ 18-20 วันที่ตัดออกมาศึกษานอกร่างกายไม่แตกต่างจากของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ การทำลายเซลล์เอ็นโดเธลิยมหรือการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย L-NNA มีผลเพิ่มความไวของหลอดเลือดของหนูแร้ทตั้งครรภ์ได้มากกว่าหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ นอกจากนี้การคลายตัวของหลอดเลือดต่อ methacholine (หลอดเลือดถูกทำให้หดตัวอยู่ก่อนด้วย Phe) ของหนูแร้ทตั้งครรภ์มีความไวมากกว่าของหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระยะครรภ์ใกล้คลอดมีผลเพิ่มการหลั่ง NO โดยการกระตุ้น (stimulate NO secretion) จากเซลล์เอ็นโดเธลิยม แต่การลดการหลั่งได้เองของ NO (basal nitric oxide secretion) ของหลอดเลือด renal interlobar artery

Kim *et al.* (1994) ศึกษาผลของการตั้งครรภ์ต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด renal และ mesenteric arteries ของ guinea pig ที่ตัดออกมาศึกษานอกร่างกาย พบว่าการตั้งครรภ์มีผลเพิ่มการคลายตัวต่อการกระตุ้นด้วย ACh และเพิ่มการหดตัวต่อการกระตุ้นด้วย U 46619 เฉพาะของหลอดเลือด mesenteric artery เท่านั้น การทำลายเซลล์เอ็นโดเธลิยมมีผลเพิ่มการตอบสนองต่อ U 46619 ในหลอดเลือดทั้ง 2 ชนิดทั้งในหนูแร้ทตั้งครรภ์และหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์ การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย L-NNA และการยับยั้งการสร้าง prostaglandins ด้วย indomethacin มีผลต่อการตอบสนองของ

หลอดเลือดเช่นเดียวกับการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม แสดงว่าภาวะตั้งครรภ์มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดต่างชนิดกันแตกต่างกัน

แม้มีหลักฐานที่แสดงว่าการเพิ่มระดับ NO ในเลือดระหว่างตั้งครรภ์ในหนูเรื้อรังดังกล่าวแล้ว แต่ข้อมูลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อตัวกระตุ้นยังขัดแย้งกันอยู่ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของชนิดของสัตว์ทดลอง อายุครรภ์ที่แน่นอนหรือชนิดของหลอดเลือดที่ศึกษา สำหรับการศึกษารังนี้จึงวางแผนการศึกษาเพื่อ (1) ยืนยันผลการทดลองของ Jansakul *et al.* (1989) ที่พบว่าหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูเรื้อรังตั้งครรภ์ตอบสนองต่อ Phe สูงกว่าหลอดเลือดของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ไม่ว่าหลอดเลือดจะยังมีเซลล์เอนโดทีเลียมอยู่หรือไม่ก็ตาม (2) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะใดของการตั้งครรภ์ (3) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เกิดขึ้นในหลอดเลือด mesenteric arterial beds หรือไม่ และ (4) เซลล์เอนโดทีเลียมและการยับยั้งการสร้าง NO มีบทบาทต่อการตอบสนองของหลอดเลือดทั้งสองต่อ Phe หรือไม่อย่างไร

การตรวจเอกสาร

ระบบไหลเวียนเลือด (Circulatory system)

ระบบไหลเวียนเลือดเป็นระบบที่ทำหน้าที่ส่งเลือดไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆของร่างกายโดยหัวใจทำหน้าที่ปั๊มเลือดให้ไหลไปตามหลอดเลือดเพื่อส่งเลือดไปยังส่วนต่างๆทั่วร่างกาย (Wynsberghe *et al.*, 1995) ระบบไหลเวียนเลือดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนใหญ่ๆคือ

1. เลือด (blood)
2. หัวใจ (heart)
3. หลอดเลือด (blood vessel)

1. เลือด (Blood)

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

1.1 ขนส่งสาร (transport) ขนส่งออกซิเจนจากปอดและสารอาหารจากระบบทางเดินอาหารไปยังเนื้อเยื่อทั่วร่างกายและขนส่งของเสียที่เกิดจากเมแทบอลิซึมของเซลล์ไปขับทิ้งหรือทำลายที่ปอด, ตับ, ไตและต่อมเหงื่อ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ขนส่งฮอร์โมนหรือเอ็นไซม์ไปยังอวัยวะเป้าหมาย

1.2 ปรึบการทำงาน (regulation) ปรึบความเป็นกรด-ด่างของเนื้อเยื่อ, ปรึบอุณหภูมิของร่างกายและควบคุมปริมาณน้ำและสารต่างๆในเลือด

1.3 ป้องกันอันตราย (protection) การแข็งตัวของเลือดจะช่วยปรึบปรองกันการเสียเลือด, เซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ทำลายเชื้อโรคหรือสารแปลกปลอม (Marieb, 1992; Wynsberghe *et al.*, 1995)

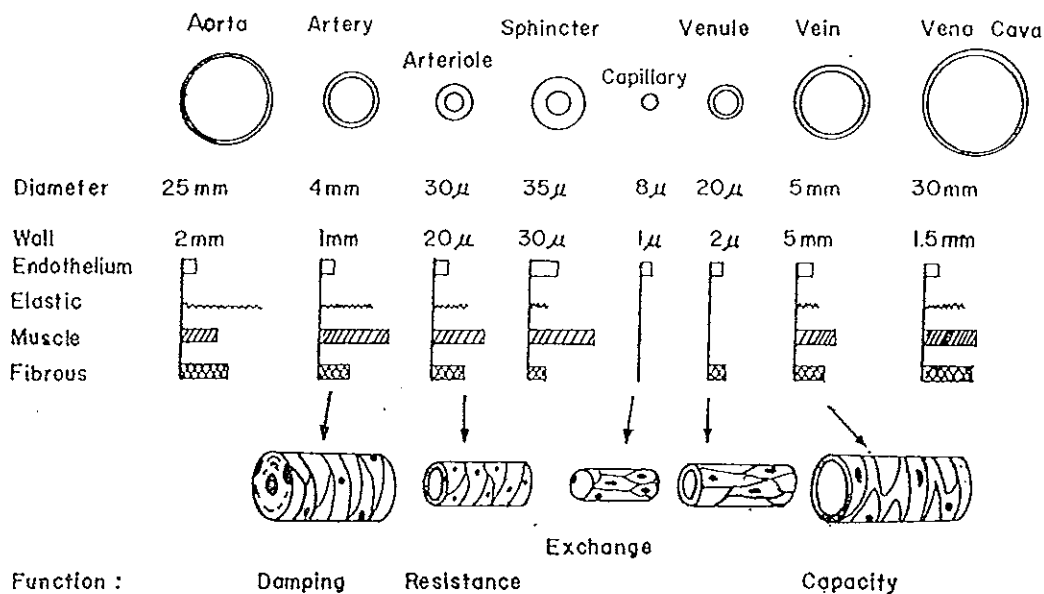
2. หัวใจ (Heart)

หัวใจทำหน้าที่ปั๊มเลือด ประกอบด้วยผนัง 3 ชั้นคือผนังชั้นนอก (epicardium), ผนังชั้นกลางซึ่งเป็นกล้ามเนื้อหัวใจ (myocardium) และผนังชั้นใน (endocardium) (Marieb, 1992) หัวใจประกอบด้วยห้อง (chamber) 4 ห้องคือหัวใจห้องบน (atria) 2 ห้องและหัวใจห้องล่าง (ventricles) 2 ห้อง (Wynsberghe *et al.*, 1995) หัวใจทางซีกขวารับเลือดที่มีออกซิเจนต่ำและมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกลับคืนเข้าสู่หัวใจทางเอเตรียมขวาค่านสู่เวนทริคิลขวาและหัวใจปั๊มเลือดส่วนนี้ไปยังปอด ส่วนหัวใจทางซีกซ้ายรับเลือดที่มีออกซิเจนสูงจากปอดเข้าสู่เอเตรียมซ้ายค่านสู่เวนทริคิลซ้ายและหัวใจปั๊มเลือดส่วนนี้ไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย (Marieb, 1992) การทำงานของหัวใจถูกควบคุมโดยระบบประสาท (neural control) โดยมีศูนย์กลางอยู่ที่ cardio regulation center ในก้านสมองส่วนท้าย (medulla

oblongata) ผ่านปลายประสาทซิมพาเทติก (sympathetic) และพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) และควบคุมโดยฮอร์โมนที่หลั่งมาจากต่อมไร้ท่อ (hormonal control) เช่นเอพิเนฟริน (epinephrine) และนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) ที่หลั่งมาจากต่อมหมวกไต (adrenal gland)

3. หลอดเลือด (Blood vessel)

หลอดเลือดเป็นทางนำเลือดจากหัวใจไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกายและนำเลือดกลับคืนเข้าสู่หัวใจ หลอดเลือดมีลักษณะเป็นท่อขนาดต่างๆกัน สามารถหดและขยายขนาดได้ (Marieb, 1992) หลอดเลือดขนาดต่างๆเหล่านี้มีคุณสมบัติและหน้าที่แตกต่างกัน จึงมีส่วนประกอบของผนังหลอดเลือดที่ต่างกักัน (รูปที่ 1.1)



รูปที่ 1.1 แสดงส่วนประกอบของผนังหลอดเลือดชนิดต่างๆ

(ที่มา : Rushmer, 1976)

3.1 ชนิดของหลอดเลือด

หลอดเลือดแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

- 3.1.1 หลอดเลือดแดง (artery)
- 3.1.2 หลอดเลือดฝอย (capillary)
- 3.1.3 หลอดเลือดดำ (vein)

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

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

3.1.1 หลอดเลือดแดง (artery)

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

3.1.1.1 หลอดเลือดแดงอีลาสติก (elastic artery) เป็นหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่เช่น หลอดเลือดแดงใหญ่เออร์ตา (aorta) ทำหน้าที่รับเลือดโดยตรงจากหัวใจ ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยเส้นใยอีลาสติกมาก ทำให้มีคุณสมบัติในการยืดขยายได้มากเพื่อรักษาระดับความดันเลือดมิให้เปลี่ยนแปลงมากโดยการยืดผนังของหลอดเลือดออกในขณะที่หัวใจบีบตัวและหดตัวกลับในขณะที่หัวใจคลายตัว ทำให้สามารถส่งเลือดไปยังหลอดเลือดขนาดเล็กที่อยู่ถัดไปได้อย่างต่อเนื่องทั้งที่เลือดออกมาจากหัวใจเป็นช่วงๆตามจังหวะการบีบตัวของหัวใจ (Marieb, 1992; Moore, 1992; Wynsberghe *et al.*, 1995)

3.1.1.2 หลอดเลือดแดงมีสคูลาร์ (muscular artery) เป็นหลอดเลือดแดงที่กระจายเลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนมากและมีเส้นใยอีลาสติกน้อยทำให้มีคุณสมบัติในการหดตัวได้มากแต่มีความยืดหยุ่นน้อย (Marieb, 1992) หลอดเลือดชนิดนี้มีความสำคัญในการปรับการไหลของเลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกายเช่นเพิ่มการไหลของเลือดไปยังแขนและขาในขณะที่ออกกำลังกาย (Moore, 1992)

3.1.1.3 หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) เป็นหลอดเลือดแดงที่มีขนาดเล็กที่สุด แต่มีผนังหลอดเลือดหนาและหดตัวปรับขนาดของท่อหลอดเลือดได้มากจึงมีบทบาทในการควบคุมความดันเลือดและควบคุมการไหลของเลือดไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย (Moore, 1992) ผนังหลอดเลือดประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนมาก (Wynsberghe *et al.*, 1995) และมีเส้นประสาทมาเลี้ยงเพื่อควบคุมขนาดของหลอดเลือด (April, 1990)

3.1.2 หลอดเลือดฝอย (capillary)

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

(Moore, 1992) โดยเลือดที่มาจากหลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) ผ่าน capillary beds ก่อนเข้าสู่หลอดเลือดดำเล็ก (venule) ผนังของหลอดเลือดฝอยมีรูให้น้ำและสารโมเลกุลเล็กๆผ่านได้ (Wynsberghe *et al.*, 1995) เกิดการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเลือด กับของเหลวระหว่างเซลล์ (interstitial fluid) (Marieb, 1992)

3.1.3 หลอดเลือดดำ (vein)

หลอดเลือดดำ เป็นหลอดเลือดที่นำเลือดจากหลอดเลือดฝอย ผ่านหลอดเลือดดำเล็ก (venule), หลอดเลือดดำขนาดเล็ก (small vein) และหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ (large vein) ตามลำดับ กลับคืนเข้าสู่หัวใจ (Moore, 1992) เนื่องจากหลอดเลือดดำมีรูขนาดใหญ่และมีผนังบางจึงสามารถยืดขยายและเก็บเลือดไว้ได้มาก (Wynsberghe *et al.*, 1995) จึงเรียกว่าหลอดเลือดที่มีความจุ (capacitance vessels) หรือที่เก็บเลือด (blood reservoir) (Marieb, 1992) หลอดเลือดดำมีความดันต่ำมากเมื่อเทียบกับความดันภายในหลอดเลือดแดง หลอดเลือดดำที่แขนขาจะมีลิ้น (valve) เพื่อป้องกันเลือดไหลย้อนกลับ (Moore, 1992)

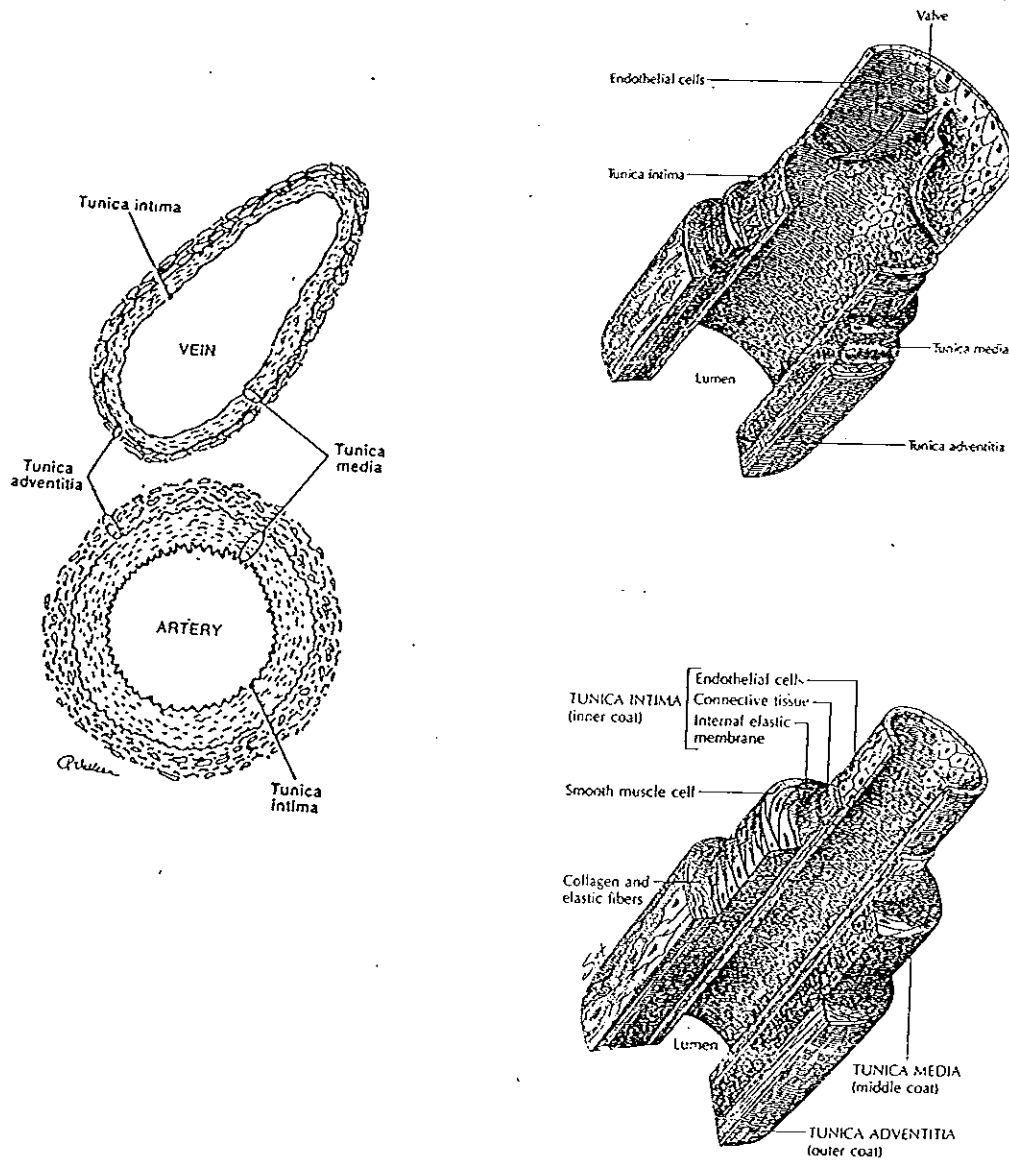
3.2 โครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือด

ผนังของหลอดเลือด (ยกเว้นหลอดเลือดฝอย) ดังแสดงในรูปที่ 1.2 ผนังของหลอดเลือดถูกแบ่งออกเป็น 3 ชั้น (Mulvany & Kalkjaer, 1990) ดังนี้

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

3.2.2 ทูนิกา มีเดีย (tunica media) เป็นผนังชั้นกลางที่มีความหนามากที่สุด (Wynsberghe *et al.*, 1995) ประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนใหญ่ โดยมีเส้นใยอีลาสติกและเส้นใยคอนลาเจนปะปนบ้างแตกต่างกันไปในหลอดเลือดแดงแต่ละชนิด (Wynsberghe *et al.*, 1995) การทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทซิมพาเทติกผ่าน vasomotor fiber ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดของรูหลอดเลือดเพื่อปรับความดันเลือด (blood pressure) และการไหลเวียนของเลือด (blood flow) (Marieb, 1992)

3.2.3 ทูนิกา เอกซ์เทอร์น่าหรือทูนิกา แอดเวนติเชีย (tunica externa, tunica adventitia) เป็นผนังชั้นนอกสุดประกอบด้วยเส้นใยอีลาสติกและเส้นใยคอนลาเจนเป็นส่วนมากจึงมีความแข็งแรงและยืดหยุ่นทำหน้าที่ป้องกันอันตรายของหลอดเลือด (Marieb, 1992)



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางกายวิภาคของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ

(ที่มา : Wynsberghe *et al.*, 1995)

3.3 การควบคุมการทำงานของหลอดเลือด (Vascular control)

การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทคือ

3.1.1 การควบคุม โดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic nervous system control)

3.1.2 การควบคุมโดยฮอร์โมน (hormonal control)

3.1.3 การควบคุมเฉพาะที่ (local control)

3.3.1 การควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic nervous system control)

หลอดเลือดถูกควบคุมการทำงานด้วยประสาทอัตโนมัติ 3 ชนิดคือ

3.3.1.1 ไยประสาท sympathetic vasoconstrictor

3.3.1.2 ไยประสาท sympathetic vasodilator

3.3.1.3 ไยประสาท parasympathetic vasodilator

3.3.1.1 ไยประสาท sympathetic vasoconstrictor

หลอดเลือดในทุกส่วนของร่างกายได้รับใยประสาท sympathetic vasoconstrictor มาเลี้ยง (Fuxe & Sedvall, 1965; Ganong, 1997) ปลายประสาทชนิดนี้หลั่งสารสื่อประสาท NA ไปจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆคือตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา(α -adrenergic receptor) และตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตา (β -adrenergic receptor) ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาแบ่งออกเป็น 2 ชนิดย่อยคือ α_1 และ α_2 ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด α_1 สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ phenylephrine และ methoxamine และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย prozosin ส่วนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด α_2 สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ clonidine และ α -methylnoradrenaline และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย yohimbin โดยสามารถยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด α_2 ทั้งที่ตำแหน่ง presynapse และ postsynapse การกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด α_2 ที่ presynapse มีผลยับยั้งการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาทติก การกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด α_2 ที่ postsynapse ทำให้หลอดเลือดตีบตัว ส่วนตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาแบ่งออกเป็น 3 ชนิดย่อยคือ β_1 , β_2 และ β_3 ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด β_1 สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ dobutamine และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย metoprolol ตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด β_2 สามารถจับกับสารที่มีความจำเพาะในการกระตุ้นได้แก่ terbutaline และสามารถยับยั้งการทำงานได้โดย butoxamine สารที่สามารถจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิด β_1 และ β_2 ได้แก่ isoproterenol และสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิด β_1 และ β_2 ได้แก่ propranolol (Brody *et al.*, 1998) สำหรับที่หลอดเลือด NA ความเข้มข้นต่ำๆสามารถจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิด β_2 ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว (Marshall, 1982; Vatner *et al.*, 1985; Gustafsson *et al.*, 1990; Priest *et al.*, 1997) แต่ NA ความเข้มข้นสูงจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาทั้ง α_1 และ α_2 ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัว (Marshall, 1982; Zschoauer *et al.*, 1997) โดยทั่วไปผลต่อตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาเด่นกว่าจึงทำให้หลอดเลือดตีบตัว การส่งกระแสประสาทในใยประสาทชนิดนี้ถูกควบคุมโดยศูนย์ควบคุมระบบไหลเวียนเลือดในสมองส่วนก้านสมอง (brain stem) โดยผ่านวงจรของ baroreceptor reflex ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมความดันโลหิต (Shi *et al.*, 1993; Grassi *et al.*, 1994; Chandler & DiCarlo, 1997)

3.3.1.2 ไยประสาท sympathetic vasodilator

หลอดเลือดด้านทวนบริเวณกล้ามเนื้อลายของสัตว์บางชนิดเช่นแกะ แพะ และสุนัขจิ้งจอก (Bolme *et al.*, 1970) ได้รับทั้งไยประสาท sympathetic vasoconstrictor และไยประสาท sympathetic vasodilator ไปเลี้ยง ปลายประสาท sympathetic vasodilator หลังสารสื่อประสาทชนิด ACh ดังนั้นการกระตุ้นไยประสาทชนิดนี้จึงมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว

3.3.1.3 ไยประสาท parasympathetic vasodilator

ปลายประสาท parasympathetic vasodilator หลังสารสื่อประสาทชนิด ACh มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว ในภาวะปกติไยประสาทชนิดนี้ไม่ทำงาน การคลายตัวของหลอดเลือดส่วนใหญ่เกิดจากการลดการทำงานของระบบประสาทซิมพาเทติก แต่มีการศึกษาที่รายงานว่า การคลายตัวของหลอดเลือดแดง coronary ของสุนัขเกิดจากการหลั่ง ACh จากปลายประสาท parasympathetic แล้วไปมีผลกระตุ้นการสร้าง NO เนื่องจากพบว่ากรดไขมันยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) เข้าไปในร่างกายสุนัขภายหลังยับยั้งการทำงานของตัวรับแอดรีเนอร์จิกและยับยั้งการสร้างสาร prostaglandins ทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ ACh หรือจากการกระตุ้นเส้นประสาท vagus ลดลงแต่ไม่ลดการคลายตัวของหลอดเลือดตอบสนองต่อ nitroglycerine (Broten *et al.*, 1992)

3.3.2 การควบคุมโดยฮอร์โมน (Hormonal control)

การควบคุมโดยฮอร์โมนแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ

3.3.2.1 ฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อ (Endocrine hormone)

3.3.2.1.1 แอดรีนาลินและนอร์แอดรีนาลิน (Adrenaline และ noradrenaline)

Adrenaline (Adr) และ noradrenaline (NA) ถูกหลั่งจากต่อมหมวกไตชั้นใน ส่วน NA ยังถูกหลั่งจากปลายประสาทซิมพาเทติกโดย 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) NA และ Adr เป็นสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิกที่ไม่จำเพาะ (non-specific adrenergic receptor agonists) NA จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟา แต่ Adr จับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกทั้งชนิดแอลฟาและบีตา การจับของ NA และ Adr กับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่หัวใจทำให้เพิ่มความแรงและ อัตราการเต้นของหัวใจ (Ganong, 1997) แต่ถ้าจับกับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดบีตาที่หลอดเลือดทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Priest *et al.*, 1997) การจับของ NA และ Adr กับตัวรับแอดรีเนอร์จิกชนิดแอลฟาที่หลอดเลือดทำให้หลอดเลือดหดตัว (Marshall, 1982; Brock *et al.*, 1997) ส่งผลให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้น

3.3.2.1.2 อาร์จินีนแวนโซเพรสซิน (Arginine vasopressin (AVP))

AVP เป็นเพปไทด์ฮอร์โมน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 9 โมเลกุลและมีพันธะ disulfide 1 ตำแหน่ง ถูกสร้างจาก supraoptic nucleus และ paraventricular nucleus ที่บริเวณ hypothalamus (Zimmerman *et al.*, 1984) โดยหลักเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมปริมาณน้ำในร่างกายแต่พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดตีบตัวได้

AVP จับกับตัวรับ V_1 บนผิวเซลล์เมมเบรนแล้วกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับ inositol triphosphate (IP_3) ภายในเซลล์ (Berridge, 1993) IP_3 ที่เพิ่มขึ้นจะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของแคลเซียมออกจาก endoplasmic reticulum เข้าสู่ cytoplasm ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้หลอดเลือดตีบตัว

3.3.2.1.3 เอเทรียล นาตริยูเรติก เพปไทด์ (Atrial natriuretic peptide (ANP))

เอเทรียล นาตริยูเรติก เพปไทด์เป็นเพปไทด์ฮอร์โมน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 28 โมเลกุล สร้างจากเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจส่วนเอเทรียม (Mukoyama *et al.*, 1991; Claycombe *et al.*, 1995) จากการถูกกระตุ้นโดยการเพิ่ม cardiac filling การถูกยืดของหัวใจส่วนเอเทรียม (Skvorak & Dietz, 1997) การได้รับเกลือ NaCl เพิ่มขึ้น การเพิ่มความดันโลหิต (Ganong, 1997) และเมื่อมีการสร้าง NO ลดลง (Skvorak & Dietz, 1997) ปัจจุบันพบว่า ANP นอกจากถูกสร้างที่เอเทรียมแล้วยังพบว่าสามารถถูกสร้างจากสมองส่วน hypothalamus และ brain stem ซึ่งเรียกว่า brain natriuretic peptide (BNP) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 32 โมเลกุล (Gutkowska *et al.*, 1997) ANP ยังถูกสร้างจากระบบประสาทส่วนกลางหรือเซลล์เอนโดธีเลียมซึ่งถูกเรียกว่า central natriuretic peptide (CNP) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 22 โมเลกุล (Suga *et al.*, 1992; Gutkowska *et al.*, 1997) ANP มีบทบาทในการควบคุมปริมาณสารน้ำในร่างกายและควบคุมความดันโลหิต (Gutkowska *et al.*, 1997; Melo *et al.*, 1998) โดยการลดความกระหายน้ำและเกลือ เพิ่มการขับน้ำและเกลือโซเดียมทางไต นอกจากนี้ ANP ยังมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Supaporn *et al.*, 1996; Yamamoto *et al.*, 1997) กลไกการคลายตัวของหลอดเลือดโดย ANP เกิดจากการกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) ทำให้เพิ่มระดับ cGMP ภายในเซลล์ (Gutkoswka *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังมีผลลดการหลั่ง renin จากไตทำให้ระดับ angiotensin II ลดลง ลดการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาเทติกและลดการหลั่ง vasopressin (Ganong, 1997)

Cusson *et al.* (1985) วัดระดับของ ANP ในพลาสมาของสตรีตั้งครรภ์พบว่าระดับ ANP ในพลาสมาที่อายุครรภ์ประมาณ 27 สัปดาห์มีค่าสูงกว่าสตรีไม่ตั้งครรภ์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1987 Otsuki *et al.* พบว่าระดับ ANP ในพลาสมาเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตลอดการตั้งครรภ์และจะเพิ่มขึ้นสูงสุดที่อายุครรภ์ 36 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตาม Janskul *et al.* (1989) รายงานว่าระดับ ANP ในพลาสมาของหนูแร้ทลดลงในระหว่างตั้งครรภ์ แต่มีค่าต่ำสุดเมื่อใกล้คลอด (20 วัน) และมีค่าเพิ่มขึ้นใน 6 ชั่วโมง หลังคลอด ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลของ Davidson และ Dunlop (1984) ที่พบว่าระดับ ANP เพิ่มขึ้น

หลังคลอด 3-5 วันซึ่งเกิดขึ้นพร้อมๆกับมี natriuresis และ diuresis ผลการศึกษาทำให้ Rutherford *et al.* (1987) ได้ตั้งสมมติฐานว่า ANP เป็นฮอร์โมนที่ช่วยในการกำจัดน้ำและโซเดียมส่วนเกินในระยะหลังคลอด

3.3.2.1.4 ระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน (Renin-angiotensin system)

เรนินเป็นเอนไซม์สร้างจาก juxtaglomerular cell ในไต ทำหน้าที่เปลี่ยน angiotensinogen ซึ่งอยู่ในกระแสเลือดให้เป็น angiotensin I (AI) AI ถูกเปลี่ยนเป็น angiotensin II (AII) โดยเอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งมีอยู่ในเนื้อเยื่อหลายชนิด โดยเฉพาะที่ปอด AII มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความดันโลหิต (Weishaar *et al.*, 1991) โดยการเพิ่มปริมาณน้ำเลือดในร่างกายและเพิ่มความต้านทานในหลอดเลือดส่วนปลาย AII ทำให้มีผลเพิ่มปริมาณน้ำเลือด โดยกระตุ้นการหลั่ง vasopressin และ aldosterone ทำให้ไตดูดซึมน้ำและเกลือโซเดียมได้ดีขึ้น สำหรับการเพิ่มความต้านทานของหลอดเลือดส่วนปลาย AII มีผลทั้งทางตรงโดยทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยตรงและทางอ้อมโดยการกระตุ้นการหลั่ง NA จากปลายประสาทซิมพาเทติก (Ganong, 1997)

3.3.2.1.5 เอสโตรเจน (Estrogen)

เอสโตรเจนเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมน เอสโตรเจนที่สำคัญที่ร่างกายสร้างได้เองตามธรรมชาติได้แก่ 17β -estradiol, estrone และ estriol โดย 17β -estradiol เป็นเอสโตรเจนที่ถูกสร้างมากที่สุดจากรังไข่และมีความจำเพาะต่อตัวรับเอสโตรเจนมากกว่า estrone และ estriol สำหรับ estrone และ estriol ส่วนใหญ่ถูกสร้างจากตับหรือเนื้อเยื่อทั่วไปจากสารตั้งต้นคือ androstenedione และ androgen ชนิดอื่นๆ ส่วนน้อยถูกสร้างจากรังไข่ เอสโตรเจนถูกหลั่งจากเซลล์ theca interna และเซลล์ granulosa ของฟอลลิเคิล คอร์ปัสลูเทียมและรก (Katzung, 1992a) ตัวรับเอสโตรเจนพบได้บริเวณเซลล์เอนโดทีเลียม (Langub & Watson, 1992) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Orimi *et al.*, 1993) และกล้ามเนื้อหัวใจ (Walter, 1977) เอสโตรเจนมีบทบาทในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดโดยทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Van Buren *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1997) ส่งผลให้เพิ่มการไหลของเลือดไปยังอวัยวะต่างๆได้แก่สมอง (Van Buren *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 1997) ปลายแขน (Volterrani *et al.*, 1995) และกล้ามเนื้อหัวใจ (Gilligan *et al.*, 1994; Guetta *et al.*, 1997)

กลไกการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนเหมือนสเตียรอยด์ฮอร์โมนทั่วไปคือจะจับกับตัวรับเฉพาะบนผิวเซลล์เมมเบรน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของฮอร์โมนและตัวรับแล้วเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสไป มีผลเกี่ยวข้องกับกระบวนการแปลรหัสในการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเพาะ

Miller *et al.* (1987) รายงานว่าหลอดเลือด ovarian artery ของกระต่ายที่ได้รับเอสโตรเจนตอบสนองต่อ oxytocin ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดเลือดที่ไม่ได้เอสโตรเจน William *et al.* (1988) ศึกษาในหนู spontaneous hypertensive rats (SHR) พบว่าหนู SHR ที่ได้รับเอสโตรเจนมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวต่อการกระตุ้นด้วย ACh ได้มากขึ้น กลไกที่เอสโตรเจนมีผลทำ

ให้หลอดเลือดคลายตัวน่าจะผ่านทางเซลล์เอนโดทีเลียมเนื่องจากพบว่าการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมมีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดโดยเอสโตรเจน (Meyer *et al.*, 1997 ; Anderson *et al.*, 1999) สำหรับสตรีหลังหมดประจำเดือน (postmenopausal women) พบว่าการให้ 17β -estradiol หรือ ethinyl estradiol โดยการหยดเข้าหลอดเลือดแดง forearm artery หรือหลอดเลือด coronary artery มีผลทำให้หลอดเลือด forearm artery และหลอดเลือด coronary artery ตอบสนองต่อ ACh ได้ดีขึ้นส่งผลให้หลอดเลือดคลายตัวได้เพิ่มขึ้น (Gilligan *et al.*, 1994; Reis *et al.*, 1994) Rosselli *et al.* (1994) ศึกษา ระดับของ nitrate และ nitrite ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของการสลาย NO ในเลือดของผู้หญิงโตเต็มวัยพบว่าระดับของสารทั้งสองในเลือดเพิ่มสูงขึ้นในช่วง follicular phase ของรอบประจำเดือน (menstrual cycle) ซึ่งเป็นระยะที่มีการเพิ่มขึ้นของระดับ 17β -estradiol ในพลาสมาและระดับของสารทั้งสองลดลงในระยะหลังการตกไข่ (postovulatory phase) ซึ่งเป็นระยะที่มีการเพิ่มขึ้นของโปรเจสเตอโรน เชื่อว่าเอสโตรเจนกระตุ้นให้มีการหลั่ง NO โดยการกระตุ้นการสร้างและการทำงานของเอนไซม์ NOS (Weiner *et al.*, 1994; Lantin-Hermoso *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1997a) แต่อย่างไรก็ตาม Anderson *et al.* (1999) รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดจากการได้รับเอสโตรเจนในระยะสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ไม่ได้ขึ้นกับการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมแต่จะมีผลที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยตรงเนื่องจากพบว่าการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมไม่มีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดและเชื่อว่าการคลายตัวของหลอดเลือดจากการได้รับเอสโตรเจนระยะสั้นน่าจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสมดุขั้วของแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยการกระตุ้น voltage-gated 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) นอกจากนี้การให้เอสโตรเจนระยะยาวแก่กระต่ายมีผลทำให้เพิ่ม voltage-gated Ca^{2+} channel ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจด้วย (Batra, 1990) ผลการศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจากการศึกษาของ Farley และ Ford (1992) ทำการศึกษาในหลอดเลือด uterine artery ของหนูที่ตั้งครรภ์ 20, 50, 80 และ 110 วัน พบว่าระดับ estrogen ในเลือดที่เพิ่มขึ้นขณะตั้งครรภ์ไม่มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือด uterine artery แต่การตั้งครรภ์มีผลลดการตอบสนองของหลอดเลือด uterine artery ต่อ KCl โดยพบร่วมกับมีการเพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายนอกเซลล์ของหนูตั้งครรภ์ 20-110 วัน ผลการทดลองนี้แสดงว่าเอสโตรเจนที่เพิ่มขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์มีผลเพิ่มการนำ Ca^{2+} ออกนอกเซลล์หรือลด Ca^{2+} uptake จากการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าของผนังเซลล์เมื่อได้รับ KCl ผลการศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจาก Stice *et al.* (1987) ซึ่งพบว่า การให้ 4-hydroxylated estradiol ในช่วงแรก ของหนูตั้งครรภ์ มีผลลด Ca^{2+} uptake ของหลอดเลือด uterine artery ทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว

Wakasugi *et al.* (1989) พบว่าการฉีด estradiol เข้าสู่ช่องท้องหนูแร้เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์มีผลทำให้เพิ่มการหลั่ง PGI_2 จากหลอดเลือด aorta ในทำนองเดียวกัน Chang *et al.* (1980) รายงานว่าการให้ 17β -estradiol แก่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด aorta ของหนูแร้มีผลทำให้เพิ่ม

การหลั่ง PGI₂ แต่ในทางตรงกันข้าม Miller และ Vanhoutte (1990) รายงานว่าการให้ 17β-estradiol ในกระต่ายเป็นเวลานาน 14 วันมีผลทำให้หลอดเลือด aorta ที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมเพิ่มการตอบสนองต่อ NA ซึ่งเป็นผลจากการเพิ่มระดับ prostacyclin ในเลือด ดังนั้นเขาจึงสรุปว่าการให้ estrogen เป็นเวลานานมีผลทำให้หลอดเลือด aorta ที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมตอบสนองต่อ NA เพิ่มขึ้นผ่านกลไกการสร้าง arachidonic acid โดย cyclooxygenase

ในคน Goldstein *et al.* (1983) พบว่าระดับ NA ในพลาสมาลดลงในช่วง follicular phase ของรอบประจำเดือนเมื่อเปรียบเทียบกับระยะ luteal phase ในขณะที่ Brosnihan *et al.* (1997) รายงานว่าเอสโตรเจนมีผลลดการทำงานของ angiotensin converting enzyme ทำให้ลดระดับ AII ในพลาสมา

Polderman *et al.* (1993) วัดระดับ endothelin-1 (ET-1) ในเลือดเปรียบเทียบระหว่างสตรีช่วงก่อนหมดประจำเดือน (premenopausal women) กับผู้ชายที่มีอายุใกล้เคียงกัน (age-match) พบว่าสตรีช่วงก่อนหมดประจำเดือนมีระดับ ET-1 ในเลือดต่ำกว่าในผู้ชายที่มีอายุใกล้เคียงกัน และการให้เอสโตรเจนแก่ผู้ชายที่ทำการผ่าตัดเปลี่ยนเพศ (male transsexuals) มีผลลดระดับ ET-1 ในพลาสมาด้วย ผลการศึกษาดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าเอสโตรเจนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดโดยการทำให้อัตราส่วนของสารกระตุ้นหลอดเลือดเกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางทำให้หลอดเลือดคลายตัว

3.3.2.1.6 โปรเจสเตอโรน (Progesterone)

โปรเจสเตอโรนเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมน ถูกสร้างจากรังไข่ คอร์ปัสลูเตียม และรกโดยเฉพาะหลังการตั้งครรภ์ 6-7 สัปดาห์ (Diczfalusy & Troen, 1961) กลไกการออกฤทธิ์เหมือนกับเอสโตรเจนคือจับกับตัวรับบนผิวเซลล์ แล้วจึงเข้าสู่ภายในเซลล์และมีผลต่อการทำงานของนิวเคลียส โปรเจสเตอโรนออกฤทธิ์ลดการสร้างตัวรับเอสโตรเจน (Tseng & Gupide, 1975) และเพิ่มการทำลายเอสโตรเจนด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าโปรเจสเตอโรนมีฤทธิ์ต้านผลของเอสโตรเจน Miller และ Vanhoutte (1991) พบว่าการให้เอสโตรเจนเป็นเวลานานทำให้เพิ่มการคลายของหลอดเลือด แต่จากการให้เอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนในลักษณะยาเม็ดคุมกำเนิดแก่สุนัขเพศเมียที่ทำการตัดรังไข่ (ovariectomy) เป็นเวลา 14 – 21 วัน พบว่าโปรเจสเตอโรนมีผลทำให้หลอดเลือด coronary artery ของสุนัขที่ตัดออกมาสึกขานอกร่างกายลดการตอบสนองต่างๆของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นโดยเอสโตรเจน ขณะเดียวกัน Dogterom และ De Jong (1974) รายงานว่า การให้โปรเจสเตอโรนขนาด supraphysiologic เป็นเวลานาน 3 วันมีผลทำให้หลอดเลือด tail artery ของหนูแร้ลดการตอบสนองต่อ NA

3.3.2.2 ฮอรโมนจากเนื้อเยื่อ (Tissue hormone)

หลอดเลือดทุกชนิดมีเซลล์เอนโดทีเลียลซึ่งมีลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียวเรียงต่อกันบนผนังภายในหลอดเลือด เดิมเข้าใจว่าทำหน้าที่เป็นเพียงชั้นกรองน้ำและสารโมเลกุลเล็กให้ผ่านผนังของหลอดเลือดและกั้นเม็ดเลือดและสารโมเลกุลขนาดใหญ่เช่นโปรตีนให้อยู่ภายในหลอดเลือด ต่อมาทราบว่าเซลล์เอนโดทีเลียลเป็นแหล่งผลิตสารหลายชนิดที่มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือด (vasoactive agents) (Berne & Levy, 1993) แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงสารบางชนิด ได้แก่ nitric oxide, prostanoids, endothelin และ endothelium-derived hyperpolarizing factor

3.3.2.2.1 Nitric oxide (NO) หรือ Endothelium-derived relaxing factor (EDRF)

Ferchcott และ Zawazki (1980) เป็นคนแรกที่ค้นพบว่าหลอดเลือดแดงใหญ่ aorta ของกระต่ายที่ทำให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย NA คลายตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine (ACh) เมื่อมีเซลล์เอนโดทีเลียล แต่ไม่ทราบกลไกของสารที่ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว จึงได้ตั้งชื่อว่า endothelium-derived relaxing factor (EDRF) การศึกษาต่อมาทำให้ทราบว่า EDRF คือ nitric oxide (NO) (Palmer *et al.*, 1987; Ignarro *et al.*, 1987) ในปัจจุบันรู้จักในชื่อ endothelium-derived nitric oxide (EDNO) NO เป็นแก๊สไม่มีสี ละลายได้ดีในไขมัน ทำให้สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ได้ดี (Henry *et al.*, 1993; Anggard, 1994) NO ประกอบด้วยไนโตรเจน 1 อะตอมและออกซิเจน 1 อะตอม มีค่าครึ่งชีวิตสั้นเพียง 5 –6 วินาทีเท่านั้น NO มีคุณสมบัติเป็น radical molecule (Lowenstein *et al.*, 1994) เพราะว่า NO เป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ (unpair electron) ทำให้ NO สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ง่าย

ก. การสังเคราะห์ NO

NO เป็นสารที่ไม่มีการเก็บสะสม ดังนั้นปริมาณของ NO จึงขึ้นอยู่กับการสร้างและการทำลาย NO ถูกสังเคราะห์จากกรดอะมิโน L-arginine (Palmer *et al.*, 1988) ด้วยขบวนการ oxidation โดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ได้ผลผลิตคือ NO และ L-citrulline (Marletta *et al.*, 1988; Leone *et al.*, 1991) เอนไซม์ออกซิเจน, NADPH (Janssens *et al.*, 1992; Nathan, 1992), FAD, FMN (Janssens *et al.*, 1992), BH_4 (Tayeh & Marletta, 1989), heme (White & Marletta, 1992), แคลเซียมไอออน (Yui *et al.*, 1991) และ calmodulin (CaM) (Gross *et al.*, 1991; Anggard, 1994) เป็นปัจจัยร่วม (cofactor)

ข. Nitric oxide synthase (NOS)

NOS เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสร้าง NO ปัจจุบันพบว่ามี NOS อย่างน้อย 3 isoform (สารที่มีรูปร่างโครงสร้างต่างกันแต่เร่งปฏิกิริยาเดียวกัน) ได้แก่ neuronal NOS (nNOS, NOS I), inducible NOS (iNOS, NOS II) และ endothelial NOS (eNOS, NOS III) พบว่าเอนไซม์แต่ละ isoform มีโครงสร้างคล้าย cytochrome P450 โดยเฉพาะส่วน C-terminal ซึ่งเป็นส่วนที่จับกับ NADPH,

FAD และ FMN มีบทบาทในขบวนการขนส่งอิเล็กตรอน (electron transfer) ของ NADPH และ O_2 สำหรับส่วน N-terminal เป็นส่วนที่จับกับ L-arginine และ heme (Griffith & Stuehr, 1995)

ค. แหล่งที่สร้าง NO

NO ถูกสร้างจากเซลล์เอนโดทีเลียม (Griffith *et al.*, 1987; Ekelund & Mellander, 1990) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Nichols *et al.*, 1994; Jansakul & Hirunpan, 1999) เซลล์กล้ามเนื้อลาย (Balon & Nadler, 1994) ปลายประสาท sympathetic cholinergic (Loke *et al.*, 1994; Davisson *et al.*, 1997) ปลายประสาท parasympathetic cholinergic (Hedlund *et al.*, 1999) และปลายประสาท nonadrenergic noncholinergic (Ignarro *et al.*, 1990; Toda & Okamura, 1992; Toda *et al.*, 1997) ทำให้ NO มีบทบาทต่อการทำงานของเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกาย

ง. การกระตุ้นการสร้าง NO

ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นการหลั่ง NO จากเซลล์เอนโดทีเลียมมี 2 ปัจจัยหลักคือ

(1) ปัจจัยทางเคมี (chemical stimuli) ได้แก่ acetylcholine (Ignarro *et al.*, 1987; Tare *et al.*, 1990), ADP (Mitchell *et al.*, 1992), ATP (You *et al.*, 1997), adenosine (Smits *et al.*, 1995), bradykinin (Ignarro *et al.*, 1987; Mitchell & Tyml, 1996), serotonin (Salomone *et al.*, 1997), histamine (Champion & Kadowitz, 1997), substance P (Ziche *et al.*, 1994; Quyyumi *et al.*, 1997), glutamate, thrombin (Nagao & Vanhoutte, 1992), Ca^{2+} ionophores A23187 (Ignarro *et al.*, 1987; Janssens *et al.*, 1992), estrogen (Ramsay *et al.*, 1995; Vagnoni *et al.*, 1998), angiotensin II (Pueyo *et al.*, 1998), α -adrenergic receptor agonists (Kaneko & Sunano, 1993; Zschaure *et al.*, 1997) และ β -adrenergic receptor agonists (Gray & Marshall, 1992; Majmudar *et al.*, 1999) เป็นต้น

(2) ปัจจัยทางกายภาพ (physical stimuli) ได้แก่ แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือด (shear stress) (Koller *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1996; Smalt *et al.*, 1997) มีการศึกษาที่แสดงผลนี้ในหลอดเลือดแดง femoral ของหนูแร้ที่ตัดออกมาศึกษาภายนอกร่างกาย (Smiesko *et al.*, 1985) หลอดเลือดแดงเล็ก mesenteric ของหนูแร้ (Smiesko *et al.*, 1989) หลอดเลือดแดง femoral ของสุนัข (Rubanyi *et al.*, 1986; Miller & Vanhoutte, 1988) หลอดเลือดแดง mesenteric ของกระต่าย (Pohl *et al.*, 1991) หลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อ gracilis ของหนูแร้ (Koller *et al.*, 1994) และหลอดเลือดแดง radial ของคน (Joannides *et al.*, 1995)

แรงเสียดสีของเลือดต่อผนังหลอดเลือดทำให้มีการสร้าง NO มากขึ้นจาก (1) เปลี่ยนแปลง ionic conductance จากการเพิ่มระดับ second messenger เช่น IP_3 (Davies & Babe, 1994) ทำให้เพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดเช่นหลอดเลือดแดง pulmonary หลอดเลือดดำ umbilical (Mo *et al.*, 1991) หลอดเลือดแดง aorta (Geiger *et al.*, 1992; Shen *et al.*, 1992; James *et al.*, 1995) และหลอดเลือดแดงเล็กบริเวณกล้ามเนื้อ cremaster (Falcone *et al.*, 1993; Falcone,

1995) แล้วทำให้มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ NOS และ (2) สร้าง transcriptional factor ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนและการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้เพิ่มการสังเคราะห์เอนไซม์ NOS (Davies & Babe, 1994)

จ. การยับยั้งการสร้าง NO

สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ NOS ได้แก่

(1) L-arginine analogues ได้แก่สารที่มีโครงสร้างคล้ายกรดอะมิโน L-arginine ยับยั้งการสร้าง NO โดยการแข่งขันกับ L-arginine ในการจับกับเอนไซม์ NOS (competitive inhibitor) สารกลุ่มนี้ได้แก่ N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA), N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), N^G-nitro-L-arginine (L-NOARG, LNA 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)

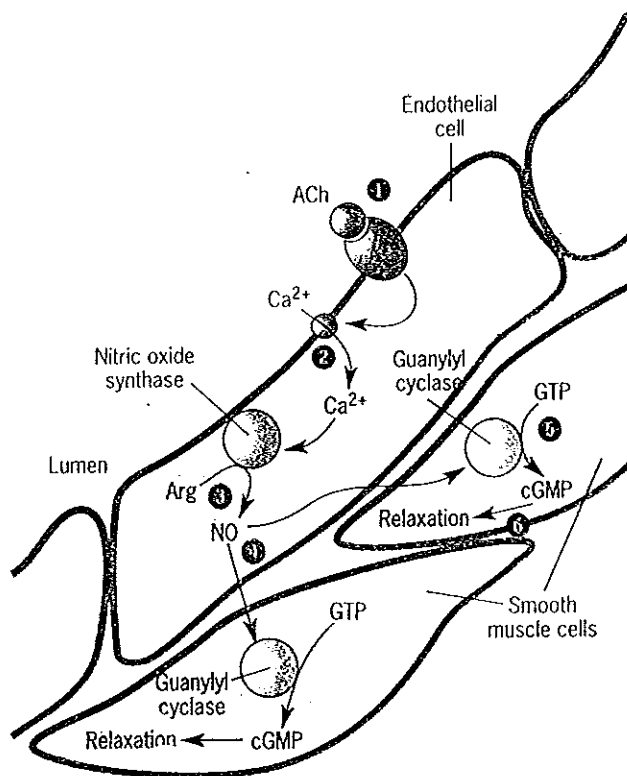
(2) Heme-interacting amino acid inhibitors ได้แก่สารที่มีโครงสร้างคล้าย L-arginine ซึ่งประกอบด้วย side chain ที่สามารถแข่งขันกับกลุ่มกวินิดีโนของ L-arginine จับส่วน heme ของเอนไซม์ NOS สารในกลุ่มนี้ได้แก่ L-thiocitrullin (N^S-thioureido-L-norvaline)

(3) Low molecular weight, non-amino acid inhibitors ได้แก่ flavin และ calmodulin antagonists เช่น aminoguanidines, thioureas และ N-heterocycles (เช่น imidazole, miconazole, clotrimazole, 7-nitroindazole และ ketoconazole) (Griffith & Stuehr, 1995)

ฉ. กลไกการออกฤทธิ์ของ NO ในการคลายตัวของหลอดเลือด

เมื่อมีการกระตุ้นเซลล์เอนโดทีเลียมโดยปัจจัยทางกายภาพหรือปัจจัยทางเคมีดังกล่าวแล้วจะทำให้มีการเพิ่มระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ขึ้นชั่วคราว แคลเซียมไอออนจะจับกับ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex แล้วไปกระตุ้นเอนไซม์ NOS ได้ผลผลิตเป็น NO และ L-citrulline NO เป็นสารที่ไม่มีประจุ ทำให้สามารถซึมผ่านเซลล์เอนโดทีเลียมไปยังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้อย่างอิสระ NO ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวโดยการกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) (Janssens *et al.*, 1992) ให้สลาย GTP เป็น cGMP ทำให้ระดับ cGMP ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเพิ่มขึ้น (Arnold *et al.*, 1987; Ignarro, 1990; Cheung & Schulz, 1997) cGMP ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวโดยการยับยั้ง protein kinase ทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin light chain ส่งผลให้หลอดเลือดคลายตัวในที่สุด (Anggard, 1994) ดังรูปที่ 1.3 อย่างไรก็ตามกลไกที่ cGMP ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับ (1) การเปลี่ยนแปลง membrane potential ซึ่งมีผลต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด พบว่า K⁺ channel เป็นปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนแปลง (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; Janigro *et al.*, 1997) หรือ calcium-dependent K^+ channel (K_{Ca}) (Zygmunt & Hogestatt, 1996; Zhao *et al.*, 1997) แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานที่ขัดแย้งกันกล่าวคือ Armstead (1997) และ Hansen และ Olesen (1997) รายงานว่าการคลายตัวของหลอดเลือดด้วย NO ไม่เกี่ยวข้องกับ K_{Ca} โดย Sobey และ Faraci (1997) รายงานว่าไม่เกี่ยวข้องกับ K_{ATP} และ (2) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cGMP-dependent protein kinase (Rapoport & Murad, 1983; Nishikawa *et al.*, 1984; Gao *et al.*, 1999) ทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin light chain (Murad, 1986) ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ชนิดของ protein kinase เชื่อว่าเป็น protein kinase C ในปี 1993 Gopalakrishna *et al* รายงานว่า NO หรือ NO donor เช่น S-nitrosocysteine และ sodium nitroprusside มีผลยับยั้งการทำงานของ protein kinase C เนื่องจากตัวกำจัดการของ NO เช่น oxyhemoglobin สามารถยับยั้งผลของ NO หรือ NO donor ต่อการทำงานของ protein kinase C



รูปที่ 1.3 แสดงการออกฤทธิ์ของ NO ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

(ที่มา : Anggard, 1994)

3.3.2.2 Prostanoids

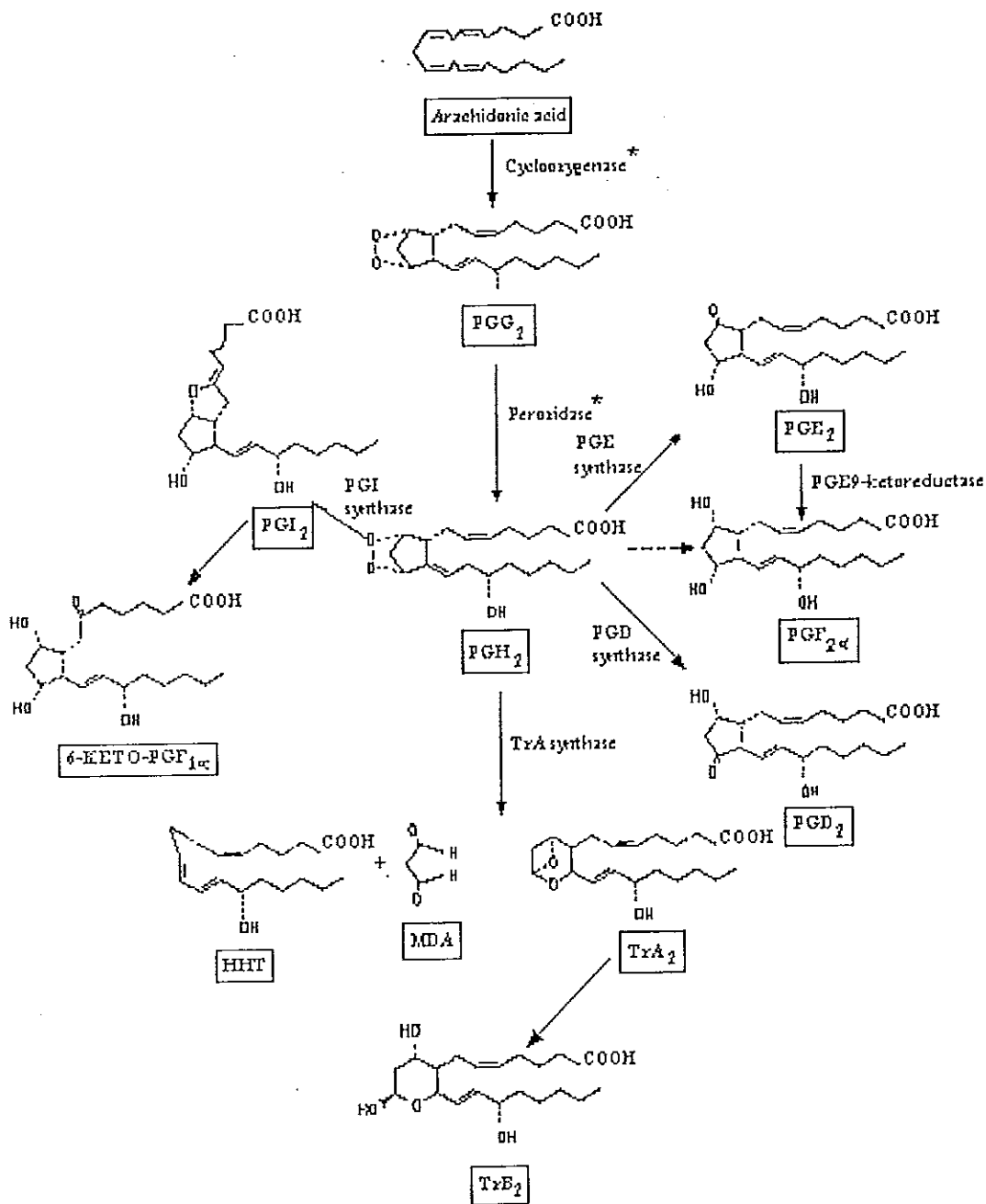
Prostanoids เป็นกลุ่มสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงกรด arachidonic โดยเอนไซม์ 2 ขั้นตอนคือ

ขั้นตอนที่ 1 อาศัยเอนไซม์ prostaglandin endoperoxide synthase (PGHS) ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนคือส่วนที่ทำหน้าที่เป็น cyclooxygenase (COX) และส่วนที่ทำหน้าที่เป็น peroxidase (Katzung, 1992b) ในขั้นตอนแรก COX ทำหน้าที่เติมออกซิเจน 2 อะตอมเข้าไปในกรด arachidonic ได้เป็น C15-hydroperoxy-C9,C11-endoperoxide (PGG₂) จากนั้นเอนไซม์ peroxidase จะนำออกซิเจน 1 อะตอมออกจาก PGG₂ ได้สารตัวกลาง endoperoxide PGH₂ (Leffler, 1997) กระบวนการต่างๆในขั้นตอนที่ 1 เกิดที่ endoplasmic reticulum membrane เอนไซม์ PGHS พบได้ในเซลล์เกือบทุกชนิด

ขั้นตอนที่ 2 PGH₂ จะถูกเปลี่ยนเป็น prostanoids ต่างๆได้ 5 ชนิดตามชนิดของเอนไซม์ที่ปรากฏในเซลล์นั้นๆ (Leffler, 1997) ดังรูปที่ 1.4 เช่น thromboxane synthase ส่วนใหญ่พบบริเวณแกร็ดเลือดและแมคโครฟาจ (Katzung, 1992b) เป็นต้น ในที่นี้จะกล่าวถึง prostanoids ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดซึ่งได้แก่ prostacyclin (PGI₂) และ thromboxane A₂ (TxA₂)

ก. Prostacyclin (PGI₂)

PGI₂ ถูกสร้างจากสารตัวกลาง PGH₂ โดยเอนไซม์ prostacyclin synthase มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว มีเสถียรภาพต่ำ PGI₂ จะถูกเปลี่ยนเป็น 6-keto-PGF_{1α} ซึ่งมีเสถียรภาพดีกว่า (Katzung, 1992b) PGI₂ ถูกสร้างได้เองขณะพักและเมื่อมีการกระตุ้น ปัจจัยที่กระตุ้นการสร้าง PGI₂ ได้แก่ shear stress (Grabowski *et al.*, 1985; Koller *et al.*, 1994; Smalt *et al.*, 1997), bradykinin (Hong & Deykin, 1982), thrombin (Jaffe *et al.*, 1987; Hallam *et al.*, 1988) และ ACh (Yashiro & Ohhashi, 1997) การกระตุ้นจากปัจจัยต่างๆดังกล่าวจะทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์เอนโดทีเลียมเพิ่มสูงขึ้น (Shen *et al.*, 1992) ส่งผลให้เพิ่มการผลิต PGI₂ จะเห็นว่าปัจจัยกระตุ้นการสร้าง PGI₂ เหมือนกับปัจจัยกระตุ้นการสร้าง NO จึงพบว่า PGI₂ มีการหลั่งร่วมกับ NO (Rubanyi *et al.*, 1986; Koller *et al.*, 1998) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX ก็มีผลลดการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย (Chen *et al.*, 1997) สารยับยั้งการสร้าง PGI₂ ได้แก่ indomethacin (Parfenova *et al.*, 1995) และ aspirin (Yashiro & Ohhashi, 1997) ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX นอกจากนี้ indomethacin ยังมีผลยับยั้งการทำงานของตัวรับ PGI₂ ด้วย (Parfenova *et al.*, 1995)



รูปที่ 1.4 แสดงการสังเคราะห์ prostaglandins จากกรด arachidonic

(เครื่องหมายดอกจันหมายถึงขั้นตอนที่ใช้ cyclooxygenase และ peroxidase ถูกเร่งโดย เอนไซม์เดียวกันคือ prostaglandin endoperoxide synthase (PGHS))

(ที่มา : Katzung, 1992b)

กลไกการออกฤทธิ์ของ PGI₂ ในการคลายตัวของหลอดเลือด

PGI₂ ที่สร้างจากเซลล์เอนโดทีเลียมจะแพร่ไปยังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด แล้วจับกับตัวรับบนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Leffler, 1997) แล้วมีผลกระตุ้นเอนไซม์ adenylylate cyclase ทำให้เพิ่มระดับ cAMP ภายในเซลล์ (Newby & Henderson, 1990) ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว นอกจากนี้ PGI₂ ยังมีผลยับยั้งการหลั่ง endothelin-1 ซึ่งเป็นสารที่ถูกสร้างจากเซลล์เอนโดทีเลียมและทำให้หลอดเลือดตีบตัว (Prins *et al.*, 1994; Razandi *et al.*, 1996)

ข. Thromboxane A₂ (TxA₂)

TxA₂ ถูกสร้างจากสารตัวกลาง PGH₂ โดยเอนไซม์ thromboxane synthase ซึ่งพบได้ที่เกร็ดเลือดและแมคโครฟาจ มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบตีบตัวและเกร็ดเลือดเกาะกลุ่มกัน (platelet aggregation) (Katzung, 1992b) เมื่อ TxA₂ จับกับตัวรับบนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Abe *et al.*, 1995) มีผลกระตุ้นเอนไซม์ protein kinase C (Ganong, 1997) ทำให้เพิ่มระดับ IP₃ ภายในเซลล์ IP₃ ที่เพิ่มขึ้นไปมีผลกระตุ้นการหลั่งแคลเซียมออกจาก endoplasmic reticulum ทำให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Himpens *et al.*, 1990; Katzung, 1992b) ส่งผลให้หลอดเลือดตีบตัว

3.3.2.2.3 Endothelin (ET)

ET เป็นเปปไทด์ฮอร์โมน ET ประกอบด้วยกรดอะมิโน 21 โมเลกุลเรียงต่อกันและยึดกันด้วยพันธะ disulfide 2 ตำแหน่ง ถูกค้นพบในปีค.ศ. 1988 โดย Yanagisawa *et al.* ปัจจุบันสามารถแยก ET ได้เป็น 3 ชนิดคือ ET-1, ET-2 และ ET-3 ET-1 เป็น ET ชนิดเดียวที่สร้างจากเซลล์เอนโดทีเลียมและมีบทบาทในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (Pollock *et al.*, 1995) นอกจากนี้ ET-1 ยังถูกสร้างได้จากกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Levin, 1995) กล้ามเนื้อเรียบบริเวณทางเดินอาหาร (Yoshinaga *et al.*, 1992) และหัวใจส่วนเอเทรียม (Elton *et al.*, 1992)

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 ส่วนใหญ่พบบริเวณเซลล์เอนโดทีเลียม พบน้อยบริเวณเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ มีความจำเพาะกับ ET-1 เท่าๆกับ ET-3 (Levin, 1995) เมื่อ ET-1 จับกับตัวรับชนิด ET_A ที่หลอดเลือดจะทำให้หลอดเลือดตีบตัว (Hill *et al.*, 1997; Pannen *et al.*, 1997) การฉีด ET-1 เข้าทางหลอดเลือดดำในสัตว์ทดลองที่สลบทำให้เพิ่มความต้านทานในหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง เพิ่มความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจ ลดปริมาตรเลือดที่ออกจากหัวใจ ต่อนาทีและเพิ่ม mean circulatory filling pressure (Palacios *et al.*, 1997) การจับของ ET-1 กับตัวรับชนิด ET_B จะกระตุ้นการหลั่ง PGI₂ และ NO (Hirata *et al.*, 1995; Matsuura *et al.*, 1997) ส่งผลให้

หลอดเลือดคลายตัว (Matsuura *et al.*, 1997; Palacios *et al.*, 1997) Wang *et al.* (1997b) รายงานว่าการจับของ ET-1 กับตัวรับทั้งสองชนิดทำให้เกิดการตีบตัวของหลอดเลือดดำพอร์ทัล (portal vein)

กลไกการออกฤทธิ์ของ ET ที่ทำให้หลอดเลือดตีบตัว

ET ทำให้หลอดเลือดตีบตัวโดยการเพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Mitsuhashi *et al.*, 1989; Saita *et al.*, 1997) เมื่อ ET-1 จับกับตัวรับชนิด ET_A บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะทำให้ (1) กระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase (AC) (Grossman & Morgan, 1997) ส่งผลให้เพิ่มระดับ cAMP ภายในเซลล์ แล้ว cAMP ทำให้เกิด phosphorylation ของโปรตีนโดยเอนไซม์ cAMP-dependent protein kinase (2) กระตุ้น phospholipase C (PLC) (Jones *et al.*, 1998) ส่งผลให้เพิ่มระดับ IP_3 (Aramori & Nakanishi, 1992; Zhang *et al.*, 1997) IP_3 ไปมีผลกระตุ้นการหลั่งแคลเซียมออกจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ (3) กระตุ้น phospholipase A_2 ทำให้กระตุ้นการหลั่งสาร metabolite ของกรด arachidonic เช่น TxA_2 (Reynold & Mok, 1990; Zaugg *et al.*, 1996), PGE_2 (Simonson & Dunn, 1990) และ/หรือ (4) กระตุ้น Ca^{2+} channel โดยตรง (Pollock *et al.*, 1995) ทำให้แคลเซียมจากนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์

3.3.2.2.4 Endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)

EDHF หมายถึงสารอื่นนอกเหนือจาก NO และ protanoids ที่สามารถออกฤทธิ์ได้เช่นเดียวกัน แต่ไม่ถูกยับยั้งด้วย L-arginine analogue, methylene blue หรือ hemoglobin และสารยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase (Chen *et al.*, 1988; Fujii *et al.*, 1992) ปัจจุบันยังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่า EDHF มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นอย่างไร อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน่าจะเป็น metabolite ของ cytochrome P450 (CYP 450) ซึ่งเป็น eicosanoids ชนิดหนึ่งที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงกรด arachidonic เนื่องจากพบว่าขณะที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ด้วย LNA การคลายตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นโดย ACh (Lischke *et al.*, 1995; Bakkar & Sipkema, 1997) หรือ bradykinin (Ohlmann *et al.*, 1997) สามารถถูกยับยั้งได้โดยสารยับยั้งเอนไซม์ cytochrome P450 epoxygenase

EDHF ไม่มีการหลั่งได้เองตามปกติ (basal release) แต่สามารถถูกหลั่งจากเซลล์เอนโดทีเลียมจากการกระตุ้นโดยสารเคมีเช่น Acetylcholine (Yamakawa *et al.*, 1997; Yajima *et al.*, 1999), bradykinin (Gambone *et al.*, 1997), adenine nucleotide (Chen & Suzuki, 1991), substance P (Peterson *et al.*, 1995) และ Ca^{2+} ionophores A23187 (Gambone *et al.*, 1997) สารเหล่านี้ทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์เอนโดทีเลียมเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เพิ่มการหลั่ง EDHF (Chen & Suzuki, 1990) การหลั่ง EDHF จำเป็นต้องมี calmodulin ด้วย Nagao *et al.* (1992b) รายงานว่าการใช้ calmodulin antagonist สามารถยับยั้งการหลั่ง EDHF ได้ นอกจากสารเหล่านี้แล้วยังพบว่า PGL_2 (Yajima *et al.*, 1999) และ NO (Bauersachs *et al.*, 1996) สามารถยับยั้งการหลั่ง EDHF ได้

กลไกการออกฤทธิ์ของ EDHF

EDHF ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวโดยการกระตุ้นให้เกิดการเปิดของ K^+ channel ทำให้ K^+ เคลื่อนออกจากเซลล์ เกิดภาวะ hyperpolarization ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Verbeuren *et al.*, 1990) ยังไม่ทราบชนิดของ K^+ channel ที่เกี่ยวข้อง แต่มีรายงานว่า K^+ channel ที่เกี่ยวข้องเป็น calcium-dependent K^+ channel (K_{Ca}) (Hansen & Olesen, 1997; Zygmunt *et al.*, 1997) ส่วน Itoh *et al.* (1992) เชื่อว่าเป็น ATP sensitive K^+ channel (K_{ATP}) แต่ในขณะที่ Chataigneau *et al.* (1998) รายงานว่าการเกิดภาวะ hyperpolarization ไม่เกี่ยวข้องทั้งกับ K_{Ca} channel หรือ K_{ATP} channel (Parkington *et al.*, 1995; Hansen & Olesen, 1997)

3.3.3 การควบคุมเฉพาะที่ (Local control)

3.3.3.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิของเนื้อเยื่อทำให้หลอดเลือดแดงเล็กและหลอดเลือดดำคลายตัว (vasodilation) ในทางตรงกันข้ามเมื่อลดอุณหภูมิภายในเนื้อเยื่อทำให้หลอดเลือดตีบตัว (vasoconstriction)

3.3.3.2 การเปลี่ยนแปลงความดันที่ผนังหลอดเลือด

โดยทั่วไปอัตราการไหลและความดันที่ทำให้เกิดการไหลจะมีความสัมพันธ์กันคือ เมื่อความดันเพิ่มขึ้นอัตราการไหลก็จะเพิ่มขึ้นหรือถ้าความดันลดลงอัตราการไหลก็จะลดลง แต่สำหรับอัตราการไหลของเลือดในอวัยวะบางชนิดเช่นกล้ามเนื้อลายมีอัตราการไหลของเลือดค่อนข้างคงที่แม้มีการเปลี่ยนแปลงความดันในหลอดเลือดแดง ทั้งนี้เกิดจากหลอดเลือดเล็กๆบริเวณกล้ามเนื้อลายสามารถปรับขนาดตัวเอง (autoregulation) เช่นเมื่อความดันเลือดแดงที่ไปยังอวัยวะลดลงทำให้ความดันที่ผนังหลอดเลือดลดลง เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในอวัยวะจะคลายตัว (relaxation) ทำให้หลอดเลือดขยาย ความต้านทานต่อการไหลลดลง อัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามถ้าความดันเลือดแดงที่ไปยังอวัยวะเพิ่มขึ้น ทำให้ความดันที่ผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้น เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในอวัยวะจะหดตัว (contraction) ทำให้หลอดเลือดตีบตัว ความต้านทานต่อการไหลเพิ่มขึ้น อัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะไม่เพิ่มขึ้น

3.3.3.3 การเปลี่ยนแปลงระดับสาร metabolite ภายในเนื้อเยื่อ (local metabolites)

อวัยวะที่มีการทำงานเพิ่มขึ้นจะมี metabolism เพิ่มขึ้น ทำให้มีการสะสมของ metabolites เช่นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) กรดแลกติก (lactic acid) โพแทสเซียมไอออน (K^+) ไฮโดรเจนไอออน (H^+) รวมทั้งสารที่เกิดจากการสลายตัวของ ATP ได้แก่ ADP, AMP, adenosine หรือภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ทำให้หลอดเลือดบริเวณอวัยวะที่มีการทำงานเพิ่มขึ้นนั้นคลายตัว ทำให้อัตราการไหลของเลือดไปยังอวัยวะนั้นเพิ่มขึ้นเช่นกล้ามเนื้อลาย เป็นต้น

4. ผลของการตั้งครรภ์ต่อการทำงานของระบบไหลเวียนเลือดและหัวใจ

4.1 ผลต่อเลือด

การตั้งครรภ์มีผลทำให้มีปริมาณสารน้ำในร่างกายและน้ำเลือดเพิ่มขึ้นในคน (Chesley, 1975) และหนูแร้ท (Baylis, 1979; Atherton *et al.*, 1982; Slangen *et al.*, 1996) ปริมาณน้ำเลือดจะเริ่มเพิ่มมากขึ้นตั้งแต่เริ่มมีการปฏิสนธิและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงครบกำหนดคลอดโดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ 50 (Pritchard, 1965; Davison, 1984) หรืออาจมากถึงร้อยละ 30-80 ในหนูแร้ท (Atherton *et al.*, 1982; Barron *et al.*, 1984) และในกระต่าย (Nuwayhid, 1979) การเพิ่มขึ้นของสารน้ำนี้อาจเกิดจากผลของฮอร์โมนเอสโตรเจน deoxycorticosterone และ aldosterone (Nolten *et al.*, 1978) นอกจากนี้จะมีการเพิ่มน้ำเลือดแล้วยังเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดงด้วย (Pritchard & Adams, 1960)

4.2 ผลต่อหัวใจ

การตั้งครรภ์ในหนูแร้ทมีผลทำให้หัวใจบีบตัวแรงเพิ่มขึ้น (Pfeffer & Frohlichet , 1973; Smith & Hutchins, 1979; Slangen *et al.*, 1997a) และอัตราการเต้นหัวใจต่อนาทีเร็วขึ้น (Gilson *et al.*, 1992; Slangen *et al.*, 1997a) ส่งผลให้เพิ่มปริมาณเลือดที่ออกจากหัวใจต่อนาที (cardiac output) (Nuwayhid, 1979; Atherton *et al.*, 1982; Barron *et al.*, 1984; Gilson *et al.*, 1992; Slinger *et al.*, 1997a) ในระยะท้ายของการตั้งครรภ์ในหนูแร้ทมีอัตราการเต้นของหัวใจลดลง (Slinger *et al.*, 1997a) แต่ในสตรีตั้งครรภ์มีอัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นจนถึงระยะครบกำหนดคลอด (Ueland & Metcalfe, 1975) และมีปริมาณเลือดที่ออกจากหัวใจต่อนาทีเพิ่มขึ้นมากที่สุดในช่วง 2 ไตรมาสแรกและลดลงในไตรมาสที่ 3 แต่ยังคงมีปริมาณมากกว่าระยะก่อนตั้งครรภ์ (Ueland & Metcalfe, 1975; Mabie *et al.*, 1994)

4.3 ผลต่อหลอดเลือด

การตั้งครรภ์มีผลทำให้ความต้านทานของหลอดเลือด (total peripheral vascular resistance) ลดลง โดยลดตั้งแต่ระยะแรกของการตั้งครรภ์ในลิงบาบูน (Phippard *et al.*, 1986) กระต่าย (Nuwayhid, 1979) และคน (Bader *et al.*, 1955) การลดลงของความต้านทานของหลอดเลือดทำให้ความดันโลหิตไม่เพิ่มขึ้นแม้ว่าจะมีปริมาณเลือดเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเรายังไม่ทราบกลไกที่ทำให้เกิดการลดความต้านทานของหลอดเลือดขณะตั้งครรภ์

Mackness และ Dodson (1957) เป็นกลุ่มแรกที่ได้พยายามศึกษาหากลไกที่อาจเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการลดความต้านทานของหลอดเลือดส่วนปลายขณะตั้งครรภ์ เขาทำการศึกษาโดยการฉีด renin - extract เข้าไปทางหลอดเลือดดำแล้ววัดความดันที่เพิ่มขึ้นทางหลอดเลือดแดง เปรียบเทียบระหว่างหนูแร้ทไม่ตั้งครรภ์และหนูแร้ทตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอด พบว่าการตอบสนองในการเพิ่มความดันโลหิตของหนูแร้ทตั้งครรภ์ใกล้คลอดต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวนี้ให้ผลแบบเดียวกัน เมื่อใช้ synthetic angiotensin II แทน renin- extract เมื่อศึกษาในหนูแร้ท (Sicinska *et al.*, 1971; Paller, 1984) แพะ (Naden *et al.*, 1984) และกระต่าย (Berssenbrugge *et al.*, 1980; Lee *et al.*,

1982) แต่อย่างไรก็ตาม Abdul-Karim และ Assali (1961) ศึกษาสรีรวิทยาตั้งครรรภ์ปกติ พบว่า AII มีผลเพิ่มความดันโลหิต (pressor effect) น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ตั้งครรรภ์ Chesley *et al.* (1965) และ Gant *et al.* (1973) ได้ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดงต่อการตอบสนองต่อ AII ในสตรีตั้งครรรภ์ วัดการเพิ่มขึ้นของความดันโลหิตในขณะที่หยุด AII เข้าหลอดเลือดดำ และทดสอบเป็นระยะ จนถึงกำหนดคลอด พบว่าสตรีตั้งครรรภ์ปกติจะมีภาวะคือต่อ AII คือต้องใช้ปริมาณของ AII มากในการทำให้มีการเพิ่มความดันโลหิต ในขณะที่สตรีตั้งครรรภ์และมีภาวะความดันโลหิตสูง การเพิ่มความดันโลหิตต่อการตอบสนองต่อ AII กลับเป็นปกติ ในสตรีตั้งครรรภ์ปกติภาวะคือต่อ AII เกิดมากที่สุดในช่วงไตรมาสที่ 2 ของการตั้งครรรภ์แล้วจะลดลงในช่วงไตรมาสที่ 3 แต่ยังไม่กลับเป็นปกติ ในขณะที่สตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูงจะเพิ่มการตอบสนองต่อ AII (Gant *et al.*, 1973; Talledo *et al.*, 1968) และผลดังกล่าวเกิดขึ้นก่อนที่สตรีตั้งครรรภ์ผู้นั้นจะเริ่มมีความดันโลหิตสูงขึ้น (Gant *et al.*, 1973)

ในระหว่างตั้งครรรภ์ปกติพบว่ามีระดับ renin, renin substrate, renin activity และ AII ในพลาสมาเพิ่มขึ้นทั้งในคน (Brown *et al.*, 1965; Helmer & Judson, 1967) และหนูแร้ท (Fowler *et al.*, 1981) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการเพิ่มระดับ AII ในพลาสมา อาจทำให้เกิด down-regulation ต่อตัวรับของ AII ลดลง แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในสตรีตั้งครรรภ์ที่เป็นความดันโลหิตสูงพบว่าระดับ AII ในพลาสมามีทั้งลดลง (Weir *et al.*, 1973; Fievet *et al.*, 1983) เพิ่มขึ้นหรือไม่เปลี่ยนแปลง (Symonds *et al.*, 1975; Annat *et al.*, 1978)

การยับยั้งการสร้าง AII มีผลทำให้ลดความดันโลหิตเฉลี่ยในหนูตั้งครรรภ์ (Fowler *et al.*, 1981) แต่จากการศึกษาในแกะตั้งครรรภ์ (Siddigi *et al.*, 1983) และในหนูตั้งครรรภ์ 15 วัน (Paller, 1984) พบว่าการยับยั้งการสร้าง AII ไม่มีผลต่อการตอบสนองของ AII เว้นแต่การสร้างสารดังกล่าวเป็นเวลานาน จะมีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองต่อ AII

ในปีคส. 1982a Pedersen *et al.* รายงานว่าสตรีตั้งครรรภ์มีการเพิ่มการจับ PGE_2 ในปีสภาวะต่อมามีรายงานยืนยันว่าระหว่างตั้งครรรภ์ระดับ PGE_2 ในพลาสมาและปีสภาวะเพิ่มขึ้นในกระด้าย (Venuto & Donker, 1982) และหนูแร้ท (Paller, 1984; Chaudhuri *et al.* (1982) ทำให้เชื่อว่าการลดการตอบสนองต่อ AII ระหว่างตั้งครรรภ์อาจเป็นผลมาจากการคลายตัวของหลอดเลือดโดย PGE_2 Pipkin *et al.* (1984) รายงานว่าการให้ PGE_2 โดยการหยดเข้าทางหลอดเลือดดำในสตรีตั้งครรรภ์มีผลทำให้หลอดเลือดลดการตอบสนองต่อ AII พลาสมาของหนูแร้ทตั้งครรรภ์มีค่าเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการลดการสร้าง prostaglandin ด้วยการจำกัดกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid) ในอาหารของกระด้ายตั้งครรรภ์ (O'Brien & Pipkin, 1979) หรือการยับยั้งการสร้าง prostaglandins โดยการให้ indomethacin, aspirin, flurbiprofen หรือ meclofenamate ในสตรีตั้งครรรภ์ (Everett *et al.*, 1978) ในกระด้ายตั้งครรรภ์ (Sheehan *et al.*, 1983) และหนูแร้ท (Paller, 1984) มีผลทำให้การตอบสนองในการเพิ่มความดันเลือดโดย AII เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม Conrad และ Colpoys (1986) กลับพบว่าการยับยั้ง

การสร้าง prostaglandins โดย indomethacin หรือ meclofenamate ไม่มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองในการเพิ่มความดันเลือดโดย AII หรือ NA ในหนูตั้งครรรภ์

Lewis *et al.* (1980) รายงานว่าในสตรีตั้งครรรภ์ปกติระยะใกล้คลอดมีระดับ 6-keto-PGF_{1α} ในพลาสมาซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของการสลาย PGI₂ มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่าของสตรีไม่ตั้งครรรภ์ Ylikorkala และ Viinikka (1980) พบว่ามีการสร้าง TxA₂ เพิ่มขึ้นในสตรีตั้งครรรภ์ แต่อย่างไรก็ตาม Koullipalis *et al.* (1982) พบว่าระดับของ 6-keto-PGF_{1α} และ TxB₂ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของการสลาย TxA₂ ในสตรีตั้งครรรภ์มีค่าไม่แตกต่างจากสตรีไม่ตั้งครรรภ์ นอกจากนี้ระดับ 6-keto-PGF_{1α} ในพลาสมาลดลงหลังการตั้งครรรภ์ 33 สัปดาห์ (Spitz *et al.*, 1983) และมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างสตรีตั้งครรรภ์ปกติกับสตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูง (Ylikorkala *et al.*, 1981) การศึกษาต่อมาพบว่าทั้ง 6-keto-PGF_{1α} และ TxB₂ เพิ่มขึ้นในสตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูง (Koullipalis *et al.*, 1982) ในขณะที่ Ogino *et al.* (1986) พบว่าระดับ TxB₂ เพิ่มขึ้นแต่ระดับ 6-keto-PGF_{1α} ในพลาสมาลดลง ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าสัดส่วนของ PGI₂ และ TxA₂ อาจมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด

สำหรับการศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ NA Chesley *et al.* (1965) ทำการศึกษาแบบ *in vivo* โดยการฉีด AII เข้าทางหลอดเลือดดำ แล้วทำการวัดความดันโลหิตที่เพิ่มขึ้นเปรียบเทียบกับระหว่างสตรีตั้งครรรภ์และไม่ตั้งครรรภ์ พบว่าสตรีตั้งครรรภ์ปกติมีการตอบสนองต่อ NA ลดลง ในขณะที่สตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูงมีการตอบสนองของ NA เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสตรีตั้งครรรภ์ปกติ (Gant *et al.*, 1973)

ส่วนการศึกษาแบบ *in vitro* โดยการตัดหลอดเลือดออกมาศึกษานอกร่างกาย Dogterom และ Dejong (1974) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดแดงที่ห่างต่อ NA ของหนูแร้ที่ตั้งครรรภ์ต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ ในทำนองเดียวกัน Hardebo และ Edvinsson (1977) พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด extracranial artery ต่อ Adr และ phenylephrine ของกระต่ายตั้งครรรภ์ต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์แต่อย่างไรก็ตาม Hart *et al.* (1986) กลับพบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดแดงที่ห่างและ mesenteric artery ต่อการหลั่ง NA ไม่แตกต่างระหว่างหนูตั้งครรรภ์และหนูไม่ตั้งครรรภ์

ในปีคศ. 1978 McCarty และ Kopin รายงานว่าระดับ NA และ Adr ในพลาสมาของหนูแร้ที่ตั้งครรรภ์ 19-21 วันไม่แตกต่างจากหนูไม่ตั้งครรรภ์ Tunbridge และ Donnai (1981) วัดระดับ NA ในพลาสมาของสตรีตั้งครรรภ์พบว่าระดับ NA ลดลงมากขึ้นเมื่อการตั้งครรรภ์ดำเนินไป แต่ระดับ NA ในพลาสมาของสตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูงต่ำกว่าสตรีตั้งครรรภ์ปกติ แต่อย่างไรก็ตาม Pedersen *et al.* (1982b) รายงานว่าระดับ NA ในพลาสมาของสตรีตั้งครรรภ์ปกติกับสตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูงหรือสตรีไม่ตั้งครรรภ์ไม่มีความแตกต่าง ในขณะที่ Davey และ Macnab (1981) พบว่าสตรีตั้งครรรภ์ปกติมีระดับ NA และ Adr ในพลาสมาสูงกว่าสตรีตั้งครรรภ์ที่มีความดันโลหิตสูง

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของระยะการตั้งครรภ์ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta และหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstrictive agents) ได้แก่ โปแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) และสารกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก phenylephrine
2. ศึกษาบทบาทของเซลล์เอนโดทีเลียมต่อการทำงานของหลอดเลือด thoracic aorta และหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในช่วงตั้งครรภ์
3. ศึกษาบทบาทของ nitric oxide ต่อการทำงานของหลอดเลือด thoracic aorta และหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในช่วงตั้งครรภ์

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

สัตว์ทดลอง

ใช้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศเมียที่ยังไม่เคยผสมพันธุ์มาก่อน อายุ 3-4 เดือนซึ่งมีน้ำหนักในวันเริ่มต้น 220-250 กรัมจากเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลี้ยงในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้มีอาหารสำเร็จรูปและน้ำประปาตลอดเวลา แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆคือ

1. หนูแรทกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (non-pregnant control group)

เป็นกลุ่มสัตว์ทดลองที่มีวงสืบพันธุ์ในระยะอิสตรีสซึ่งจะคัดเลือกหนูแรทโดยวิธีการทำ vaginal smear

2. หนูแรทกลุ่มตั้งครรภ์ (pregnant group)

ทำการผสมหนูแรทโดยการนำหนูแรทเพศผู้ใส่ในกรงของหนูแรทเพศเมียที่มีวงสืบพันธุ์อยู่ในระยะโปรอิสตรีส (proestrous) และตรวจสอบสเปิร์มในเช้าวันรุ่งขึ้น โดยการทำให้ vaginal smear หนูแรทเพศเมียที่พบสเปิร์มจะนับเป็นวันที่ 0 (Day 0 ,D₀) ของการตั้งครรภ์ การทดลองแบ่งระยะการตั้งครรภ์ของหนูแรทเป็น 3 ระยะดังนี้

ตั้งครรภ์ 10 วัน (D₁₀) นับจาก D₀

ตั้งครรภ์ 15 วัน (D₁₅) นับจาก D₀

ตั้งครรภ์ 20 วัน (D₂₀) นับจาก D₀

อุปกรณ์

1. ชุดทำ vaginal smear

2. กล้องจุลทรรศน์

3. ชุดเครื่องมือผ่าตัด

4. เครื่องมือตัดคอหนู (guillotine)

5. ชุด isolated organ bath

ขนาด 20 มล. สำหรับใส่หลอดเลือด thoracic aorta

ขนาด 100 มล. สำหรับใส่หลอดเลือด mesenteric arterial beds

6. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat-heater-circulation), Model D1, HAAKE, ประเทศเดนมาร์ก
7. เครื่องปั๊มสารละลายต่อเนื่อง (peristaltic pump), Model Minipuls 3, Gilson, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่องโพลีกราฟ (polygraph), Model 7D พร้อมอุปกรณ์ประกอบด้วย tachograph, preamplifier (Model 7P44B), force transducer (Model FTO3) และ pressure transducer (Model Statham P2), Grass, ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องชั่งอย่างละเอียด Model AE200, Mettler, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
10. ไปเปตต์อัตโนมัติ (automatic pipettes) Model 5000, Nichiryo, ประเทศญี่ปุ่น
11. ก๊าซคาร์โบเจน (carbogen) ซึ่งเป็นก๊าซผสมของ 95 % O₂ + 5% CO₂

ยาและสารเคมี

1. สารละลายเครบส์ (Krebs' Heinsleit solution) เป็น physiological fluid (ภาคผนวก)
2. น้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 % NaCl (normal saline solution)
3. Phenylephrine hydrochloride (Phe), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. N^G-nitro-L-arginine (LNA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Acetylcholine chloride, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. Ascorbic acid, Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. Ethylenediaminetetracetic acid (EDTA), Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการ

ศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการตั้งครรภ์ระยะต่างๆ ทำการทดลองนอกร่างกาย (*in vitro*) โดยใช้หลอดเลือดแดงใหญ่บริเวณทรวงอก (thoracic aorta) และหลอดเลือดแดงบริเวณทางเดินอาหาร (mesenteric arterial beds) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ระยะต่างๆ ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ซึ่งเป็น depolarizing agent และ phenylephrine ซึ่งเป็น α_1 -adrenergic agonist ในภาวะต่างๆ ได้แก่การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA, การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม

ของหลอดเลือด thoracic aorta โดยวิธี mechanical disruption, การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ด้วย CHAPS

2.1 การเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับใช้ทดลอง (tissue preparation)

2.1.1 การเตรียมหลอดเลือด thoracic aorta

หนูแร้ททั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์จะถูกฆ่าโดยการตัดคอด้วยกิโยติน แล้วรีบเปิดช่องอกตัดเอาหลอดเลือด thoracic aorta เข้าไว้ในสารละลาย Krebs ใช้กรรไกรขนาดเล็กแกะเอาไขมันและเนื้อเยื่อบริเวณรอบๆหลอดเลือดออกจนหมด แบ่งหลอดเลือดออกเป็น 2 ท่อ ยาวท่อละประมาณ 0.5-0.7 ซม. ท่อหนึ่งเนื้อเยื่อจะถูกทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมโดยวิธี mechanical disruption โดยการสอด stainless steel ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 มม. เข้าไปในหลอดเลือด แล้วฉูผนังหลอดเลือดด้านในไปรอบๆประมาณ 3 ครั้ง เป็นเวลา 30 วินาทีตามวิธีของ Furchgott และ Zawadzki (1980) ส่วนหลอดเลือดอีกท่อหนึ่งให้คงสภาพเซลล์เอนโดทีเลียมไว้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำหลอดเลือดแต่ละท่อแยกใส่ใน organ bath ขนาด 20 มล. ที่มีสารละลาย Krebs บรรจุอยู่และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านตลอดเวลา โดยใช้ตาขอ 2 อันสอดเข้าไปในหลอดเลือดให้ตาขอข้างหนึ่งยึดติดอยู่ที่ก้นของ organ bath ส่วนตาขออีกอันหนึ่งผูกด้วยไหมยาวและต่อเข้ากับ force transducer ซึ่งต่ออยู่กับเครื่องโพลีกราฟโดยปรับให้มี basal tension 1 กรัม equilibrate หลอดเลือดที่ 37°C . เป็นเวลา 40 นาทีโดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs ใน organ bath ทุกๆ 10 นาที เพื่อให้เนื้อเยื่อปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ ทดสอบความสามารถในการตอบสนองของเนื้อเยื่อและความสามารถในการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมโดยการให้หลอดเลือดหดตัวด้วย phenylephrine ความเข้มข้น 3×10^{-7} M สำหรับหลอดเลือดที่ยังมีเซลล์เอนโดทีเลียมนานประมาณ 3 นาทีและความเข้มข้น 3×10^{-8} M สำหรับหลอดเลือดที่มีการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมนาน 5-7 นาที จากนั้นหยด acetylcholine (ACh) ความเข้มข้น 3×10^{-6} M ลงใน organ bath จะมีผลทำให้หลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมสามารถคลายตัวได้ร้อยละ 80-100 ส่วนหลอดเลือดที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายเมื่อหยด ACh ลงไปจะไม่มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว หลังจากนั้นเปลี่ยนสารละลาย Krebs ใน organ bath หลายๆครั้งแล้ว equilibrate ต่ออีก 40 นาที

2.1.2 การเตรียมหลอดเลือด mesenteric arterial beds

หลังจากฆ่าสัตว์ทดลองและตัดหลอดเลือด thoracic aorta ออกไปแล้ว สอดท่อโพลีเอทิลีน (PE 50) เข้าไปในหลอดเลือด superior mesenteric artery และใช้ไหมผูกท่อ PE ไว้กับหลอดเลือดจากนั้นจึงฉีดน้ำเกลือ 0.9 % ผ่านหลอดเลือดอย่างช้าๆประมาณ 1-2 มล. ตัดส่วนของหลอดเลือดและทางเดินอาหารทั้งหมดออกจากสัตว์ทดลองโดยใช้กรรไกรขนาดเล็กตัดแยกเอาส่วนของกระเพาะและลำไส้ออกจากส่วนของ mesenteric arterial beds โดยระวังอย่าให้ปลายกรรไกรตัดถูกลำไส้เพราะจะทำให้กาก

อาหารและน้ำย่อยในลำไส้ได้ออกมา มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือด (McGregor, 1965) เมื่อเกาะส่วน mesenteric arterial beds ได้แล้วนำไปใส่ใน organ bath ขนาด 100 มล. ที่มีสารละลาย Krebs' solution อุณหภูมิที่ 37°C และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านตลอดเวลา นำปลายข้างหนึ่งของท่อ PE ซึ่งอีกด้านต่ออยู่กับ หลอดเลือด mesenteric arterial beds มาต่อเข้ากับท่อของเครื่องปั๊มสารละลาย (peristaltic pump) เพื่อปั๊มสารละลาย Krebs' solution อุณหภูมิ 37°C. ด้วยอัตราไหล 2 มล./นาที (Chu & Bielin, 1993; Le Marquer-Domagala & Finet, 1997) ให้ผ่าน mesenteric arterial beds ตลอดเวลา โดยที่ท่อปั๊มสารละลายนี้มีข้อต่อสามทางซึ่งต่อกับ pressure transducer (รูปที่ 2.1) และเครื่องโพลีกราฟ แล้ว equilibrate หลอดเลือด mesenteric arterial beds โดยปั๊มสารละลาย Krebs' solution ผ่านหลอดแก้วปรับสภาพความดันให้คงที่เป็นเวลา 20 นาทีแล้วเอาหลอดแก้วปรับความดันออกจะได้ค่าความดันเพอร์ฟิวชัน (basal perfusion pressure) ที่แท้จริงของหลอดเลือดและ equilibrate ต่ออีก 20 นาทีเพื่อให้เนื้อเยื่อปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่

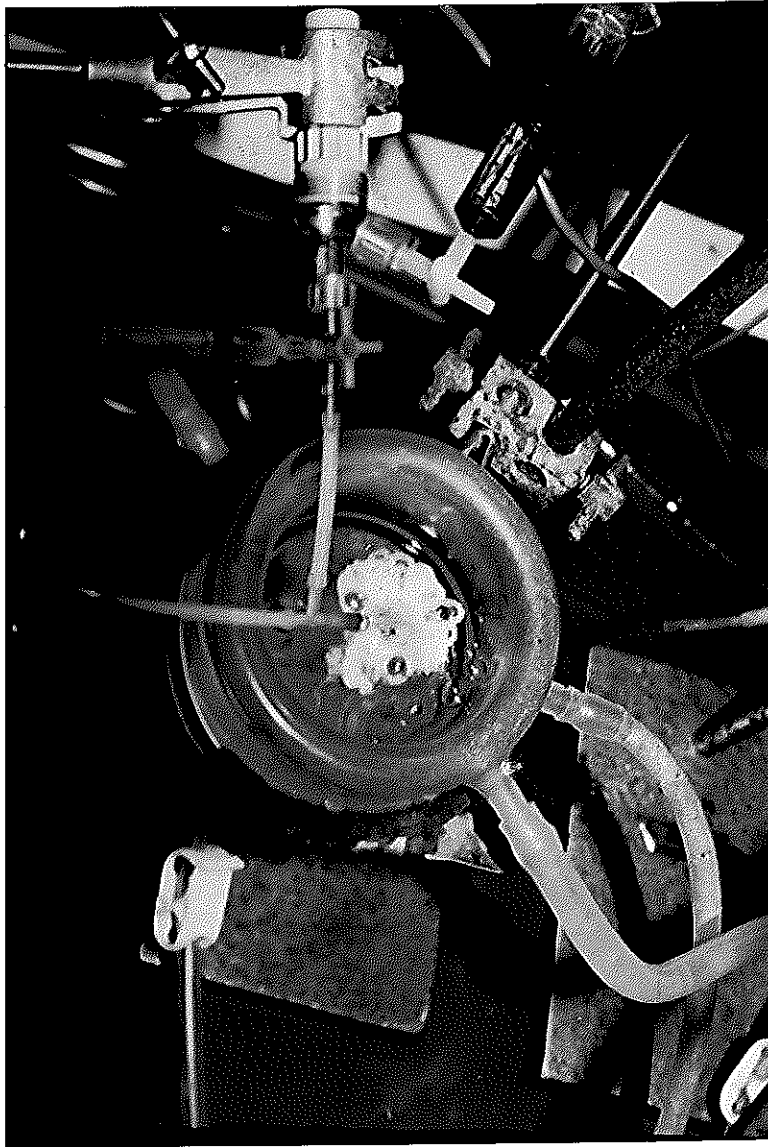
2.2 การทดลอง

2.2.1 ศึกษาผลของ N^G-nitro-L-arginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์โดยใช้หลอดเลือด thoracic aorta ที่เตรียมโดยวิธีในข้อ 2.1.1 นำมาศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ KCl แทนที่ NaCl ในสารละลาย Krebs' solution ให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 120 mM ทำการทดลองโดยให้สารละลาย Krebs' solution ที่มี KCl ความเข้มข้นต่างๆ สัมผัสกับเนื้อเยื่อ นาน 1-2 นาทีหรือมีการหดตัวตอบสนองเต็มที่ แล้วจึงล้างเนื้อเยื่อหลายๆครั้งด้วยสารละลาย Krebs' solution เพื่อให้เนื้อเยื่อกลับสู่สภาพปกติเป็นเวลา 5-10 นาที ก่อนที่จะเปลี่ยนสารละลาย KCl ในความเข้มข้นถัดไปจนครบทุกความเข้มข้น จากนั้น equilibrate หลอดเลือดต่อไปอีก 20 นาที เพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวเข้าสู่สภาพปกติโดยการล้างหลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs' solution ทุกๆ 10 นาที หลังจากนั้นจึง incubate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs' solution ที่มี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M นาน 45 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกการทดลองอีกครั้งโดยใช้สารละลาย KCl ทั้ง 4 ความเข้มข้นตามลำดับ โดยวิธีการเดียวกันซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะมี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M อยู่ด้วย คำนวณการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ตอบสนองต่อ KCl เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังให้ LNA

2.2.2 ศึกษาผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe แบบความเข้มข้นสะสม (cumulative dose-response curve) หลังจากเตรียม



รูปที่ 2.1 แสดง mesenteric arterial beds ใน organ bath

หลอดเลือดตามวิธีการในข้อ 2.1.1 โดยหยุด Phe ความเข้มข้นระหว่าง 10^{-8} - 3×10^{-5} M โดยเพิ่มความเข้มข้นครั้งละ $0.5 \log [M]$ ให้แต่ละความเข้มข้นของ Phe สัมผัสกับเนื้อเยื่อนาน 1-2 นาทีหรือมีการหดตัวตอบสนองเต็มที่ แล้วจึงหยุดความเข้มข้นสูงกว่าต่อไปโดยไม่ต้องล้างเนื้อเยื่อ เมื่อหยุด Phe ครบทุกความเข้มข้นแล้วจึงล้างเนื้อเยื่อหลายๆครั้งด้วยสารละลาย Krebs' equilibrate หลอดเลือดต่อไปอีก 20 นาที เพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวสู่สภาพปกติ โดยการล้างหลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs' ทุกๆ 10 นาที หลังจากนั้นจึง incubate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs' ที่มี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M นาน 45 นาที โดยการเปลี่ยนสารละลาย Krebs' ที่มี LNA ทุกๆ 15 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกผลการทดลองโดยใช้ Phe ที่ความเข้มข้นเดิม โดยวิธีเดียวกับที่กล่าวข้างต้น จำนวนการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ตอบสนองต่อ Phe เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังให้ LNA

2.2.3 ศึกษาผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ หลังจากเตรียมหลอดเลือด mesenteric arterial beds ตามวิธีการในข้อ 2.1.2 ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl โดยการปั๊มสารละลาย Krebs' ที่มี KCl ความเข้มข้นต่างๆแทนสารละลาย Krebs' โดยให้แต่ละความเข้มข้นของ KCl ไหลผ่านหลอดเลือดจนมีการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันสูงเต็มที่ จากนั้นเปลี่ยนมาปั๊มด้วยสารละลาย Krebs' เป็นเวลา 5-10 นาทีเพื่อให้หลอดเลือดกลับสู่สภาพปกติก่อนที่จะปั๊มสารละลาย KCl ในความเข้มข้นถัดไป ทำแบบเดียวกันนี้จนครบทุกความเข้มข้นของ KCl แล้วจึง equilibrate หลอดเลือดโดยการปั๊มสารละลาย Krebs' ต่อไปอีก 20 นาทีเพื่อให้หลอดเลือดปรับตัวสู่สภาพปกติ แล้วจึง incubate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs' ที่มี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M โดยปั๊มสารละลาย Krebs' ที่มี LNA ไหลผ่านหลอดเลือดเป็นเวลา 40 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกการทดลองอีกครั้งโดยปั๊มสารละลาย Krebs' ที่มี KCl ทั้งสี่ความเข้มข้นโดยวิธีการเดิม โดยที่แต่ละความเข้มข้นของ KCl มี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M ผสมอยู่ ด้วยจำนวนการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังให้ LNA

2.2.4 ศึกษาผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ ทำการทดลองเหมือนกันกับข้อ 2.2.3 ทุกประการเพียงแต่เปลี่ยนจาก KCl เป็น Phe ละลายอยู่ในสารละลาย Krebs' ความเข้มข้น 10^{-7} - 3×10^{-5} M โดยเพิ่มความเข้มข้นครั้งละ $0.5 \log [M]$ บันทึกการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ความเข้มข้นดังกล่าวภายหลังทั้งก่อนและหลัง incubate หลอดเลือดด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M จำนวนการเพิ่ม

ความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังการให้ LNA

2.2.5 ศึกษาผลการทำลายเซลล์เอนโดธีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ หลังจากเตรียมหลอดเลือดตามวิธีการในข้อ 2.1.2 บันทึกการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ความเข้มข้นต่างๆตามวิธีการเดียวกันกับข้อ 2.2.4 จากนั้น equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs อีก 20 นาที แล้วจึงป้อนสารละลาย Krebs ที่มี CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. เป็นเวลา 2 นาทีเพื่อทำลายเซลล์เอนโดธีเลียม แล้วจึง equilibrate หลอดเลือดต่ออีก 40 นาที จากนั้นจึงเริ่มบันทึกผลการทดลองการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ที่ความเข้มข้นดังกล่าวอีกครั้ง จำนวนการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังทำลายเซลล์เอนโดธีเลียมด้วย CHAPS

2.2.6 ศึกษาผลของ CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

ทำการทดลองทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ในทำนองเดียวกันกับข้อ 2.2.5 หลังจากเสร็จการบันทึกการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ความเข้มข้นต่างๆและ equilibrate หลอดเลือดด้วยสารละลาย Krebs อีก 20 นาที ป้อนสารละลาย Krebs ที่มี CHAPS ความเข้มข้น 3 มก./มล. ด้วยอัตรา 2 มล./นาที เป็นเวลา 2 นาที แล้ว equilibrate หลอดเลือดอีก 20 นาที หลังจากนั้นจึง incubate หลอดเลือดด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M ให้ไหลผ่านหลอดเลือดอีก 40 นาที แล้วจึงบันทึกผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ความเข้มข้นต่างๆที่มี LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M อยู่ด้วย จำนวนการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe เปรียบเทียบทั้งก่อนและหลังการให้ CHAPS และ LNA

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลองโดยดูความแตกต่างของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) ที่ได้จากค่าเฉลี่ย (mean \pm S.E.M.) ในแต่ละความเข้มข้นของ KCl และ Phe เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์โดยแต่ละการทดลองจะมีจำนวนหลอดเลือดของหนูแร้ทตั้งแต่ 5 ตัวขึ้นไป จำนวนหาค่า EC_{50} (effective

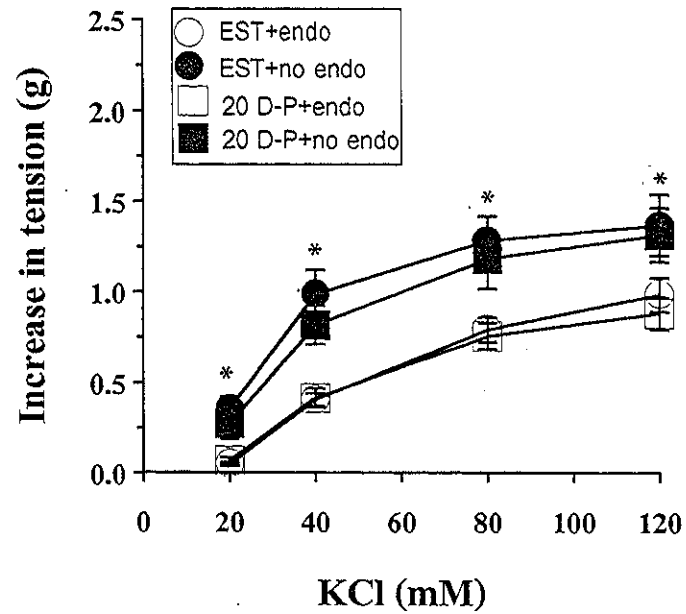
concentration) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของยาที่ทำให้มีการตอบสนองร้อยละ 50 ของการตอบสนองสูงสุด (maximal response) ของหลอดเลือดจากรูปความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว (Diem & Leutner, 1970) ส่วนการคำนวณค่าทางสถิติใช้ unpaired Student's *t*-test, Paired Student's *t*-test หรือ one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป โดยจะยอมรับค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลของการตั้งครรภ์และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl

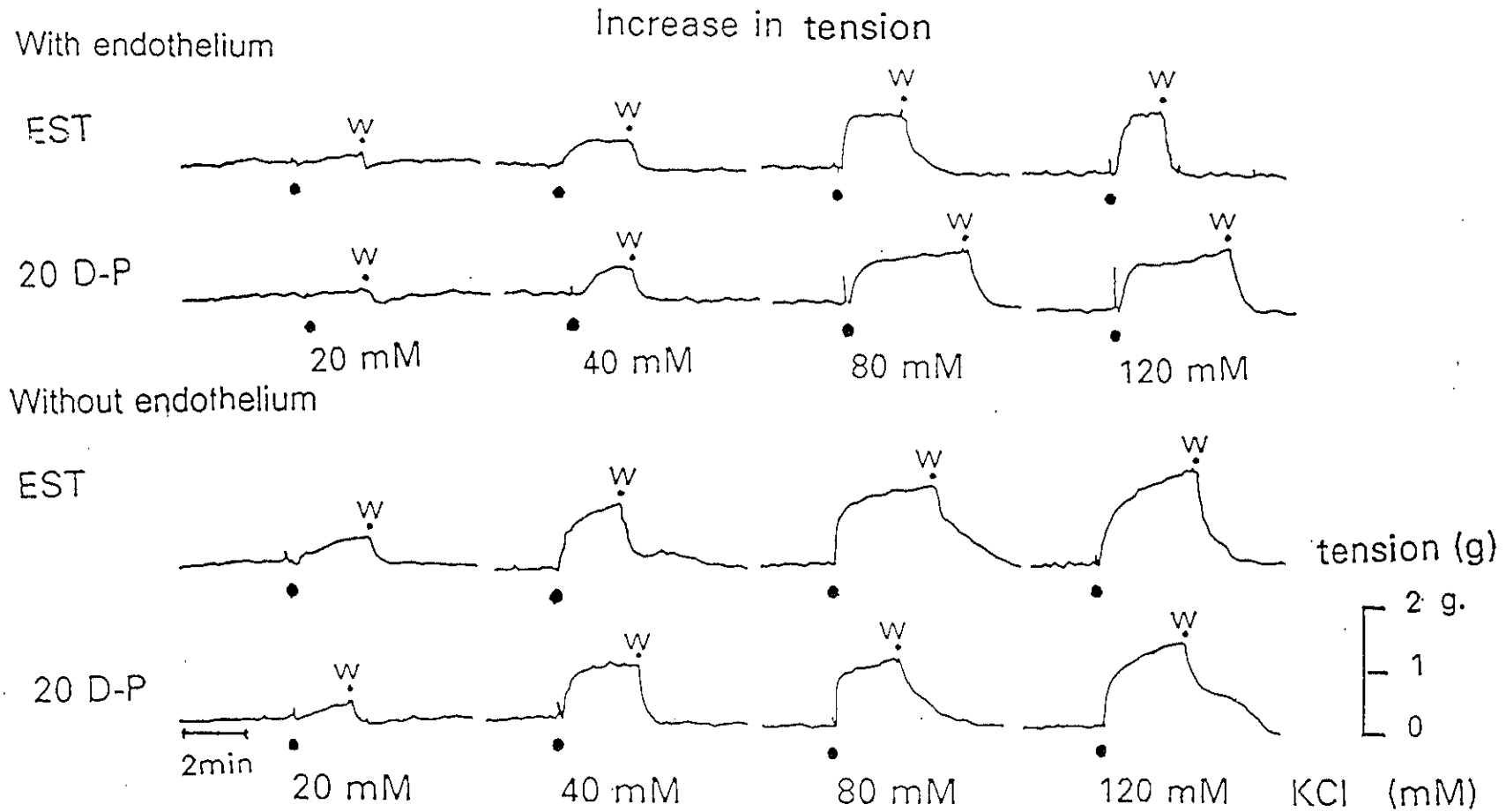
รูปที่ 3.1 แสดงการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.2 KCl มีผลทำให้หลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีการหดตัวโดยความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ KCl ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ในแต่ละความเข้มข้นของ KCl ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไว (sensitivity) และความแรงในการตอบสนองสูงสุด (reactivity) ของหลอดเลือดทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันเท่าๆกัน ความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดจากการตอบสนองของหลอดเลือดที่ความเข้มข้นต่ำสุดของ KCl พบว่าการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียมสูงกว่าของหลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.05 ± 0.012 กรัม, $n=7$, ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.357 ± 0.069 กรัม, $n=7$; กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.067 ± 0.018 กรัม, $n=6$, ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.275 ± 0.088 กรัม, $n=6$, $p<0.05$) สำหรับความแรงในการตอบสนองสูงสุด (reactivity) จากการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl พบว่าการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมมีผลทำให้เพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.986 ± 0.093 กรัม, $n=7$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 1.371 ± 0.168 กรัม, $n=7$; กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.883 ± 0.087 กรัม, $n=6$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 1.317 ± 0.149 กรัม, $n=6$, $p<0.05$) และค่า EC_{50} ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (ดังตารางที่ 3.1)

ในทำนองเดียวกันการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและความแรงในการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl ในขนาดเท่าๆกันระหว่างหลอดเลือด thoracic aorta ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และตั้งครรภ์ 20 วันไม่ว่าจะเป็นหลอดเลือดที่มีหรือไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม จึงทำให้ D-R curve ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันดังรูปที่ 3.3 และรายละเอียดดังตารางที่ 3.1



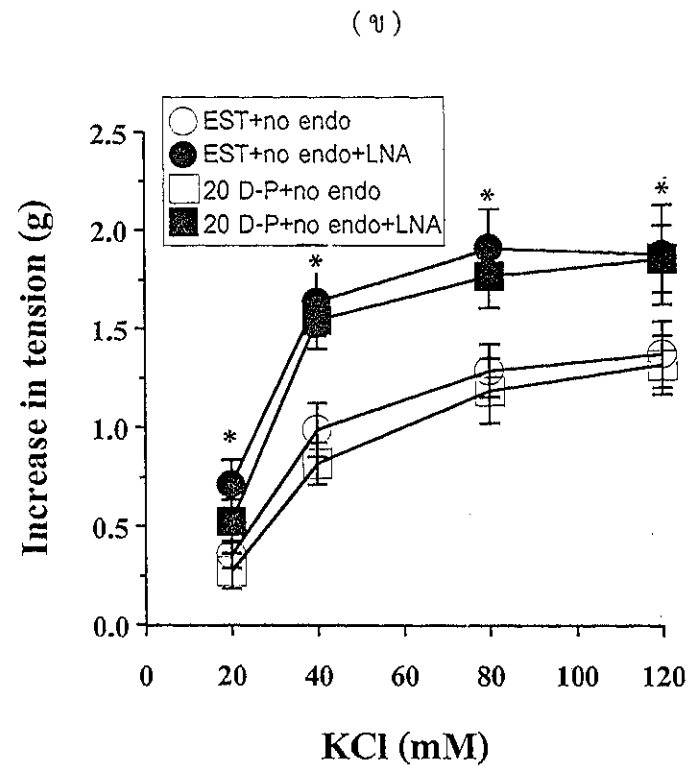
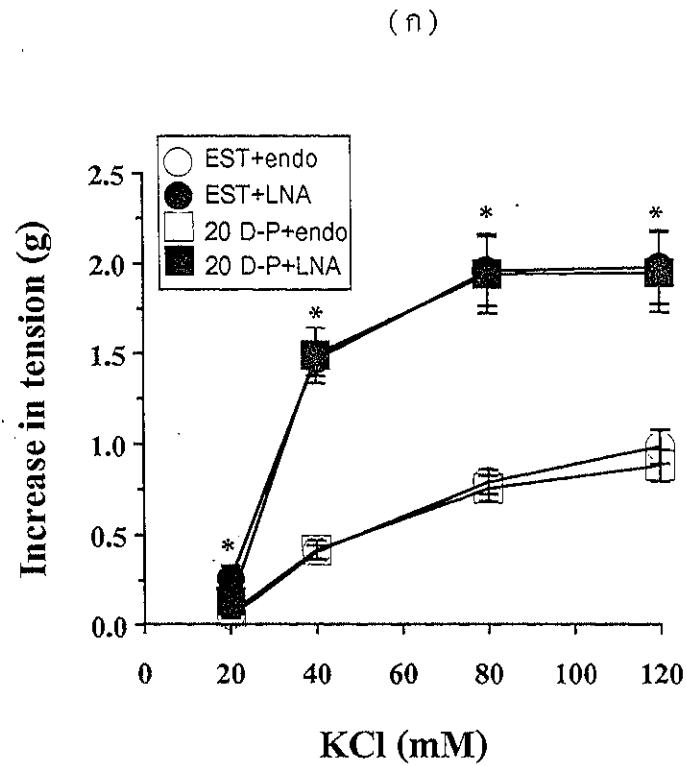
รูปที่ 3.1 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์ endothelium (endo) และไม่มีเซลล์ endothelium (no endo) ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P), n=6-7 แต่ละจุดแสดงค่า mean \pm S.E.M.

* สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 3.2 แสดงตัวอย่างผลการทดลองในการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอนโดทีเลียม (with endothelium) และไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม (without endothelium) ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ใส่สารละลาย Krebs ที่มี KCl , W คือ ล้างเนื้อเยื่อด้วยสารละลาย Krebs



รูปที่ 3.3 แสดงผลของ N^G-nitro-L-arginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์ endothelium (endo) (ก) และไม่มีเซลล์ endothelium (no endo) (ข) ต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P), n=6-7 แต่ละจุดแสดงค่า mean \pm S.E.M.

* สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 3.1 ค่า EC₅₀ และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด thoracic aorta ต่o KCl และ N^o-nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ท กลุ่มไม่ตั้งครรภ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ 20 วัน (20 D-P)

Treatment	EC ₅₀ (95% / C.I.) (mM)				Maximum Response (mean ± S.E.M.) increase in tension (g)	
	n	EST	n	20 D-P	EST	20 D-P
Thoracic aorta						
With endothelium						
KCl	7	36.7 (32.1 - 42.1)	6	37.3 (33.3 - 41.7)	0.98 ± 0.09	0.88 ± 0.09
KCl + LNA	7	32.7 (28.4 - 37.6)	6	33.9 (28.7 - 39.9)	1.98 ± 0.20 ^a	1.95 ± 0.22 ^a
Without endothelium						
KCl	7	28.2 (22.4 - 35.7)	6	31.0 (24.7 - 38.9)	1.37 ± 0.17 ^b	1.32 ± 0.15 ^b
KCl + LNA	7	23.3 (16.9 - 32.0)	6	25.1 (19.8 - 31.7)	1.88 ± 0.25 ^a	1.86 ± 0.17 ^a

^a สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^b สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกันก่อนถูกทำลาย endothelium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

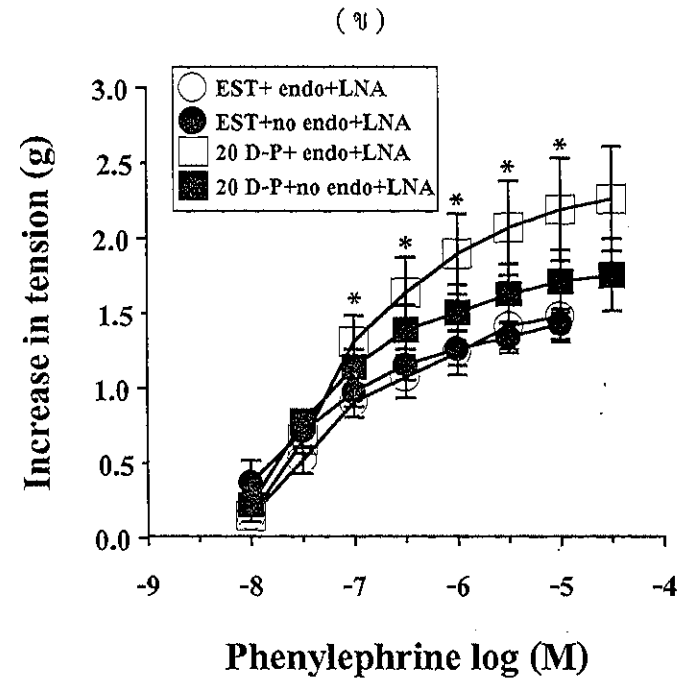
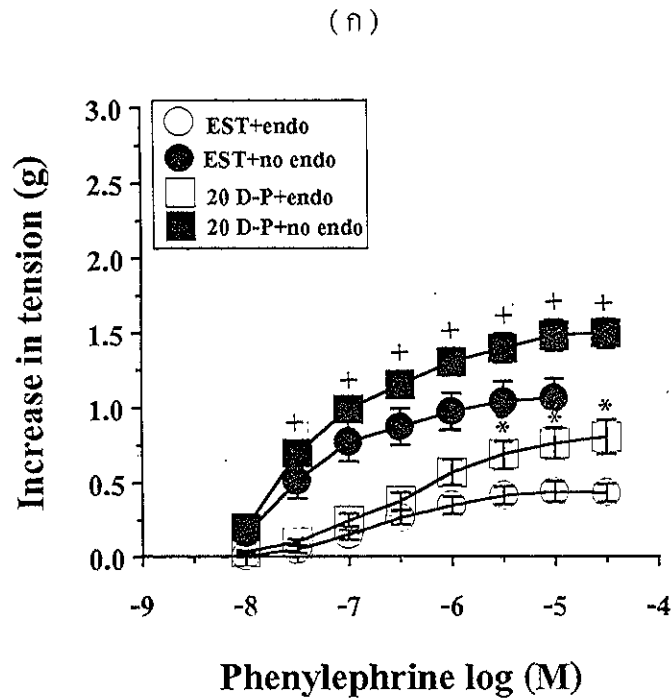
3.2 ผลของการตั้งครรภ์และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine (Phe)

รูปที่ 3.4 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันทั้งที่มีและไม่มีเซลล์เอนโคธิเลียมและทั้งก่อนและหลังการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA และตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.5 และ 3.6 Phe มีผลทำให้หลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีการหดตัวโดยความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Phe โดยที่ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันต่อ Phe ไม่แตกต่างกันในแง่ของความไวต่อการตอบสนอง (กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ 0.08 ± 0.009 กรัม, $n=6$; กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน 0.15 ± 0.042 กรัม, $n=7$) แต่ในแง่ของความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีค่าสูงกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ 0.44 ± 0.07 กรัม, $n=6$; กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน 0.81 ± 0.12 กรัม, $n=7$, $p<0.005$)

การทำลายเซลล์เอนโคธิเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ความไว กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ 0.158 ± 0.067 กรัม, $n=6$, กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน 0.225 ± 0.056 กรัม, $n=7$ และการตอบสนองสูงสุด กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ 1.07 ± 0.13 กรัม, $n=6$, กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน 1.5 ± 0.10 กรัม, $n=7$, $p<0.05$)

LNA มีผลทำให้เพิ่มในขนาดที่เท่าๆกันทั้งความไวและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโคธิเลียมซึ่งทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโคธิเลียมของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันยังคงสูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่สำหรับหลอดเลือดที่ถูกทำลายเซลล์เอนโคธิเลียม LNA มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์มากกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันเมื่อเทียบกับความแรงในการตอบสนองต่อ Phe ของกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งด้วย LNA ซึ่งมีผลทำให้หลังจากยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดที่ไม่มีเซลล์เอนโคธิเลียมไม่มีความแตกต่างกันระหว่างหลอดเลือดของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและกลุ่มไม่ตั้งครรภ์

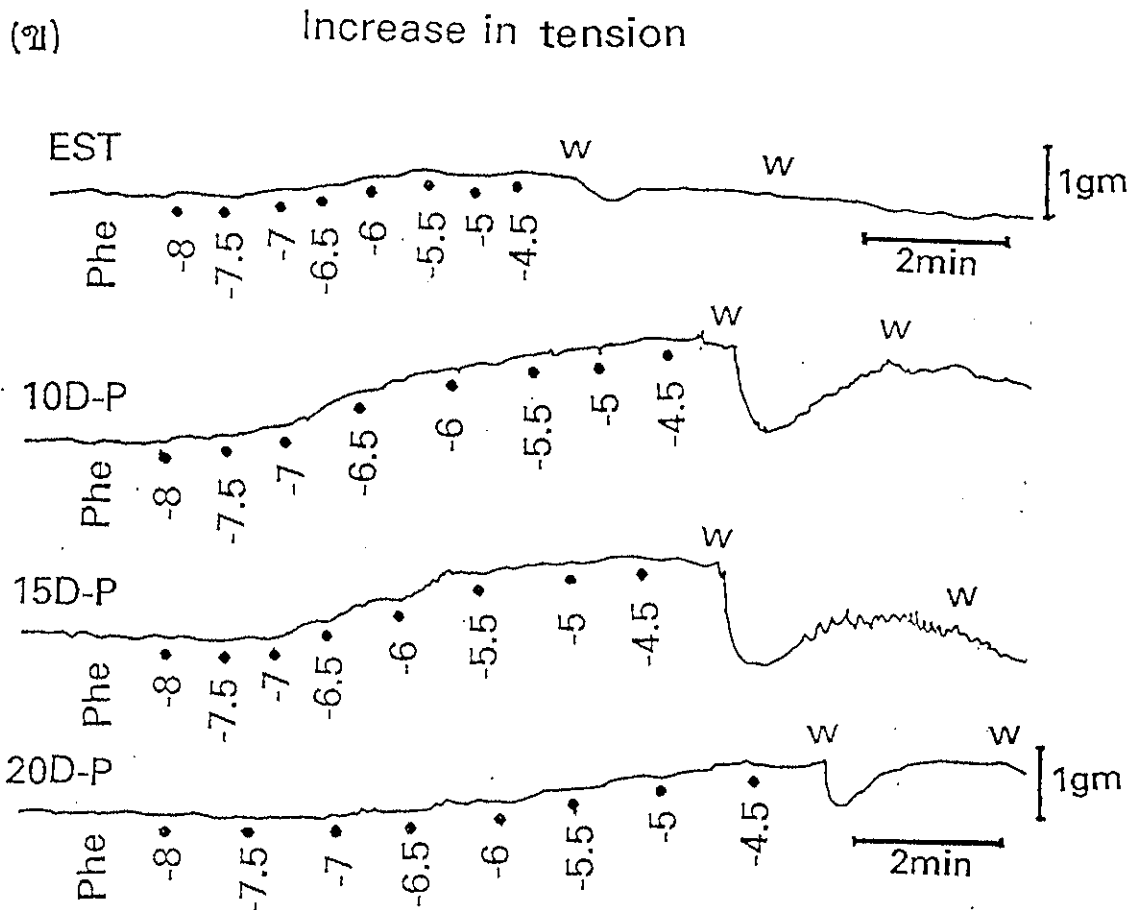
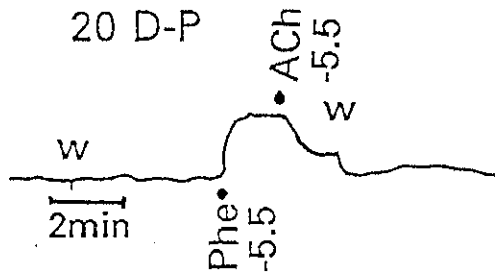
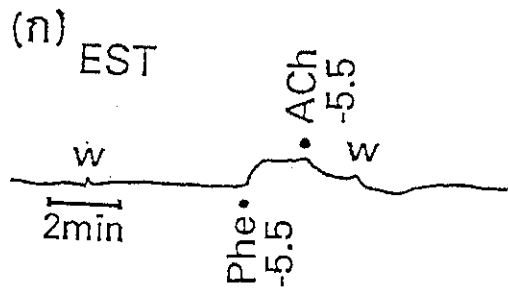
จากการทดลองพบว่าผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีค่าสูงกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อดูว่าการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดเริ่มเกิดขึ้นเมื่อใดของระยะตั้งครรภ์ จึงศึกษาเพิ่มเติมในระยะ 10 วันและ 15 วันของการตั้งครรภ์ รูปที่ 3.7 แสดงผลของอายุครรภ์ การทำลายเซลล์เอนโคธิเลียมและการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันและ 15 วันมีค่าใกล้เคียงกัน แต่สูงกว่าของ



รูปที่ 3.4 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์ endothelium (endo) และไม่มีเซลล์ endothelium (no endo) ต่อ phenylephrine ก่อน (ก) และหลังยับยั้ง (ข) การสร้าง NO ด้วย N^G-nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) , n=6-7 แต่ละจุดแสดงค่า mean ± S.E.M.

* สูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (เปรียบเทียบระหว่างหลอดเลือดที่มีเซลล์เอ็นโดทีเลียม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

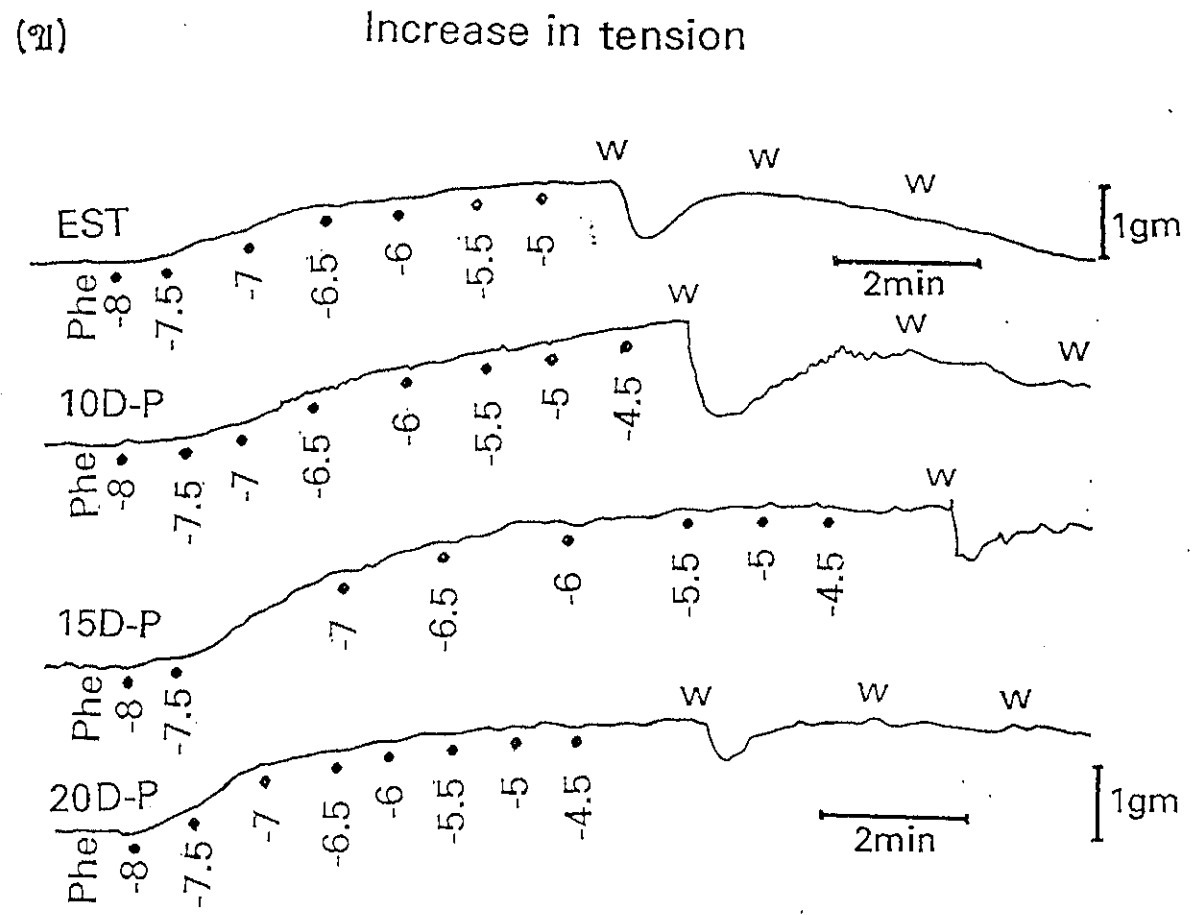
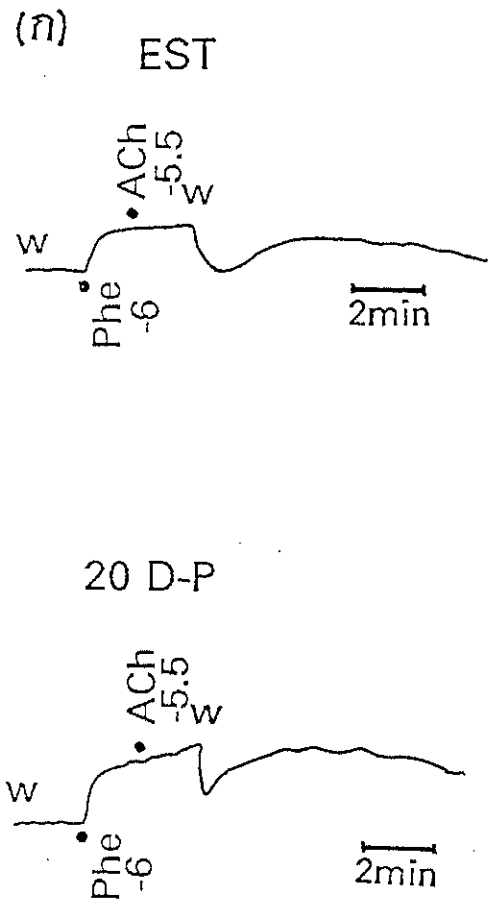
+ สูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (เปรียบเทียบระหว่างหลอดเลือดที่ไม่มีเซลล์เอ็นโดทีเลียม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 3.5(ก) แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอ็นโดทีเลียลที่ทำให้มีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine (Phe) ต่อ acetylcholine (ACh) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

(ข) แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่มีเซลล์เอ็นโดทีเลียลต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST), ตั้งครรภ์ 10 วัน, ตั้งครรภ์ 15 วันและตั้งครรภ์ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

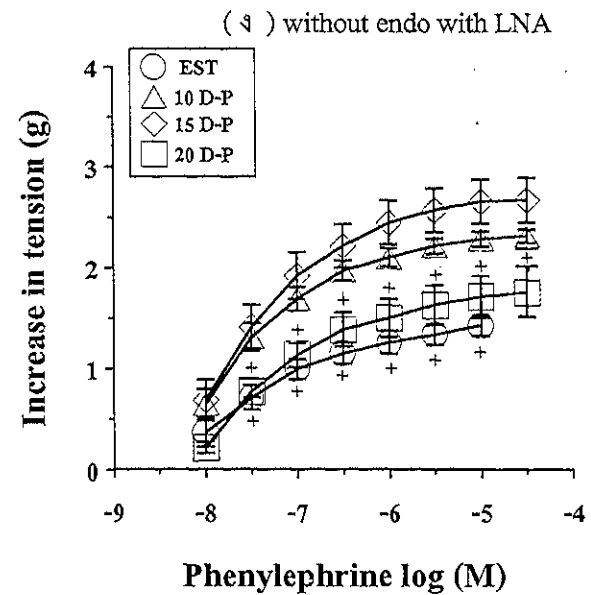
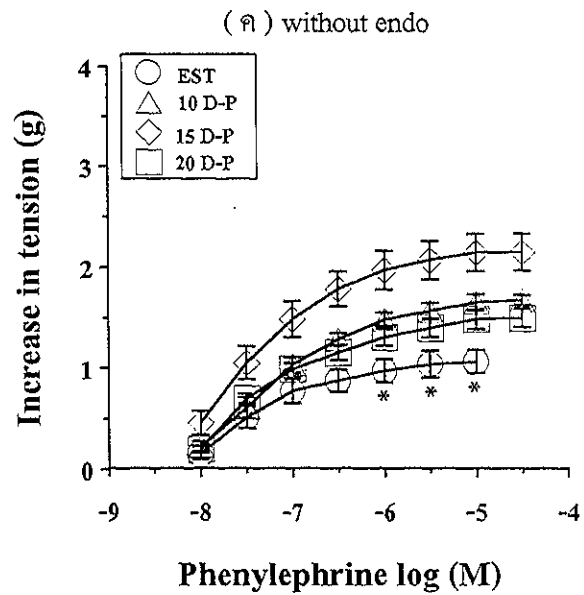
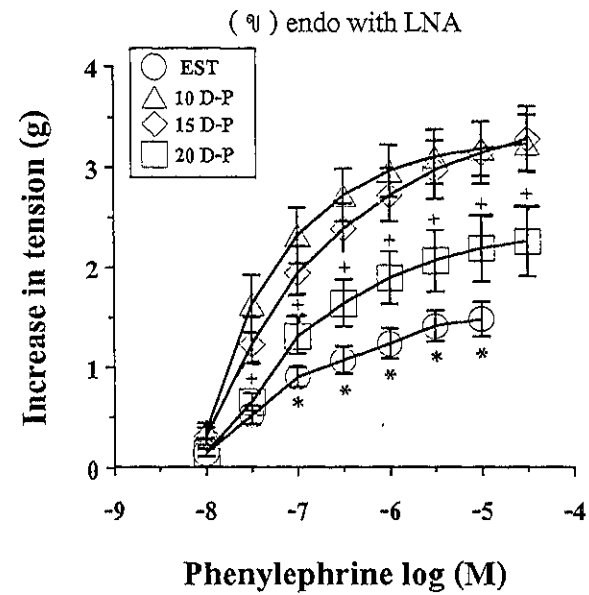
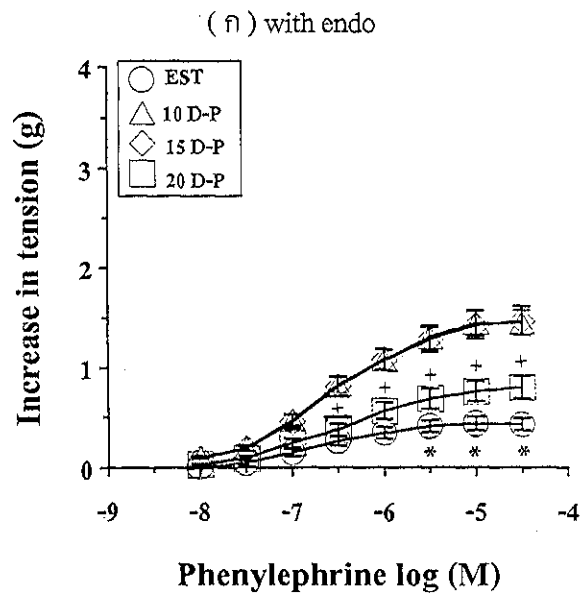
- คือ หยอด ACh หรือ Phe, W คือ ล้างเนื้อเยื่อด้วยสารละลายครบส์



รูปที่ 3.6 (ก) แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียลที่ทำให้มีการหดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine (Phe) ต่อ acetylcholine (ACh) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์(EST) และตั้งครรภ์ 20 วัน(20 D-P) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

(ข) แสดงตัวอย่างการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียลต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST), ตั้งครรภ์ 10 วัน, ตั้งครรภ์ 15 วันและตั้งครรภ์ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ หยด ACh หรือ Phe , W คือ ล้างเนื้อเยื่อด้วยสารละลายแครบส์



รูปที่ 3.7 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine ก่อน (ก) และหลัง (ข) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N^G-nitro-L-arginine (LNA) และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม (ค) และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมรวมกับการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA (ง) ของหนูแร้ท กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P), n=6-9 แต่ละจุดแสดงค่า mean ±S.E.M.

* ต่ำกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

+ ต่ำกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและกลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (การตอบสนองสูงสุด กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน 1.46 ± 0.13 กรัม, $n=8$, กลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน 1.48 ± 0.15 กรัม, $n=9$, กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน 0.81 ± 0.12 กรัม, $n=7$, กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ 0.44 ± 0.07 กรัม, $n=6$, $p<0.05$) การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta มีผลเพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดต่อ Phe อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันและ 15 วัน (ความไว กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.10 ± 0.02 กรัม, $n=8$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.23 ± 0.05 กรัม, $n=8$ และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.09 ± 0.01 กรัม, $n=9$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 0.46 ± 0.12 กรัม, $n=9$ และการตอบสนองสูงสุด กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน มีเซลล์เอนโดทีเลียม 1.46 ± 0.13 กรัม, $n=8$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 1.67 ± 0.08 กรัม, $n=8$ และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน มีเซลล์เอนโดทีเลียม 1.48 ± 0.15 กรัม, $n=9$; ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม 2.15 ± 0.20 กรัม, $n=9$, $p<0.05$) ดังรูปที่ 3.7 อย่างไรก็ตามการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมมีผลทำให้ความแรงในการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe แตกต่างกันระหว่างกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันและ 15 วันโดยหลอดเลือด thoracic aorta ของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วันตอบสนองต่อ Phe ได้สูงกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ Phe ได้สูงที่สุดในขณะที่กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน แต่ยังคงสูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด thoracic aorta มีผลทำให้ค่า EC_{50} ของหลอดเลือดต่อ Phe ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบในหนูแร้ทุกกลุ่มเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกัน (ดังตารางที่ 3.2)

การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M มีผลเพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ทั้งที่มีและไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม แต่อย่างไรก็ตามความแรงในการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้แต่ละกลุ่มแตกต่างกัน สำหรับหลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโดทีเลียม LNA มีผลเพิ่มความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ในขนาดที่ใกล้เคียงกัน จึงยังคงทำให้การตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ทั้งสามกลุ่มสูงกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ โดยกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันและ 15 วันมีค่าใกล้เคียงกันและยังคงสูงกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ส่วนหลอดเลือด thoracic aorta ที่ไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม LNA มีผลเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ในกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วันน้อยกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน จึงทำให้ dose-response curve ของกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันเคลื่อนขึ้นไปมีค่าใกล้เคียงกับของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 วันและมีค่าสูงกว่าของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและกลุ่มไม่ตั้งครรภ์

อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเพิ่มความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe โดยการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมและหรือโดยการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA มีผลทำให้ลดค่า EC_{50}

ตารางที่ 3.2 ค่า EC₅₀ และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ phenylephrine (Phe) และ N^G-nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ)

Treatment	EC ₅₀ (95% / C.I.) (nM)								Maximum Response (mean ± S.E.M.) increase in tension (g)			
	n	EST	n	10 D-P	n	15 D-P	n	20 D-P	EST	10 D-P	15 D-P	20 D-P
With endothelium												
Phe	6	180.0 (75.1 - 432)	8	267.0 (153 - 465)	9	358.0 (209 - 615)	7	282.0 (149 - 534)	0.44 ± 0.07 ^a	1.46 ± 0.13 ^c	1.48 ± 0.15 ^c	0.81 ± 0.12 ^c
Phe + LNA	6	48.0 ^a (34.3- 67.2)	8	21.2 ^a (5.3 - 84.1)	9	99.5 ^a (60.5 - 164)	7	69.5 ^a (50.2 - 96.2)	1.48 ± 0.17 ^d	3.24 ± 0.28 ^{c,d}	3.28 ± 0.32 ^{c,d}	2.26 ± 0.35 ^{c,d}
Without endothelium												
Phe	6	36.0 ^b (21.0- 61.4)	8	71.3 ^b (51.9- 98.1)	9	78.5 ^b (46.2 - 133)	7	44.8 ^b (35.1 - 57.2)	1.07 ± 0.13 ^e	1.67 ± 0.08 ^{c,e}	2.15 ± 0.2 ^{c,e}	1.50 ± 0.1 ^{c,e}
Phe + LNA	6	30.9 (18.3- 52.4)	8	33.7 (19.6- 58.0)	9	67.7 (38.2 - 120)	7	45.8 (33.2 - 63.2)	1.43 ± 0.10 ^d	2.32 ± 0.07 ^{c,d}	2.67 ± 0.22 ^{c,d}	1.76 ± 0.24 ^{c,d}

^a ต่ำกว่า EC₅₀ ในกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

^b ต่ำกว่า EC₅₀ ในกลุ่มเดียวกันก่อนถูกทำลาย endothelium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

^c สูงกว่า maximum response ของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

^d สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

^e สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกันก่อนถูกทำลาย endothelium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

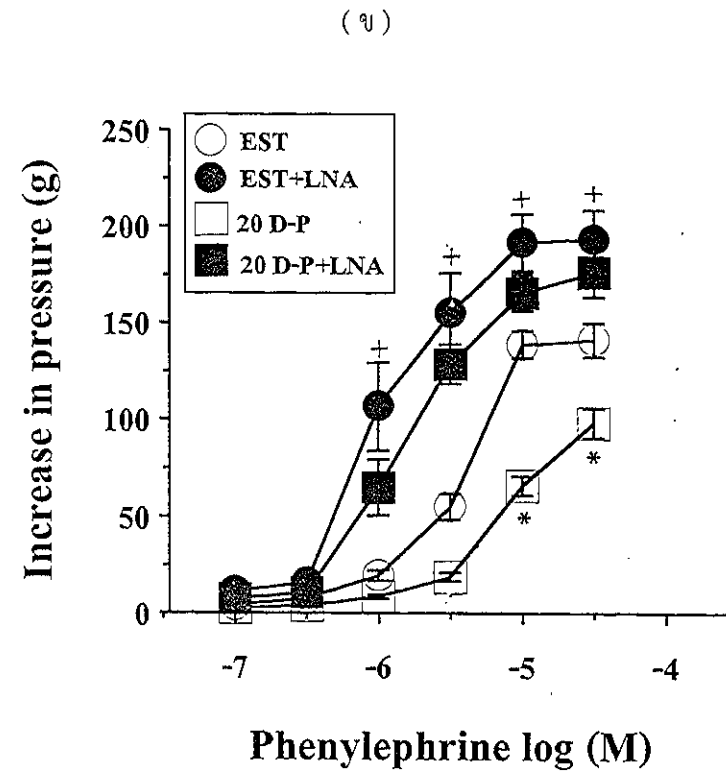
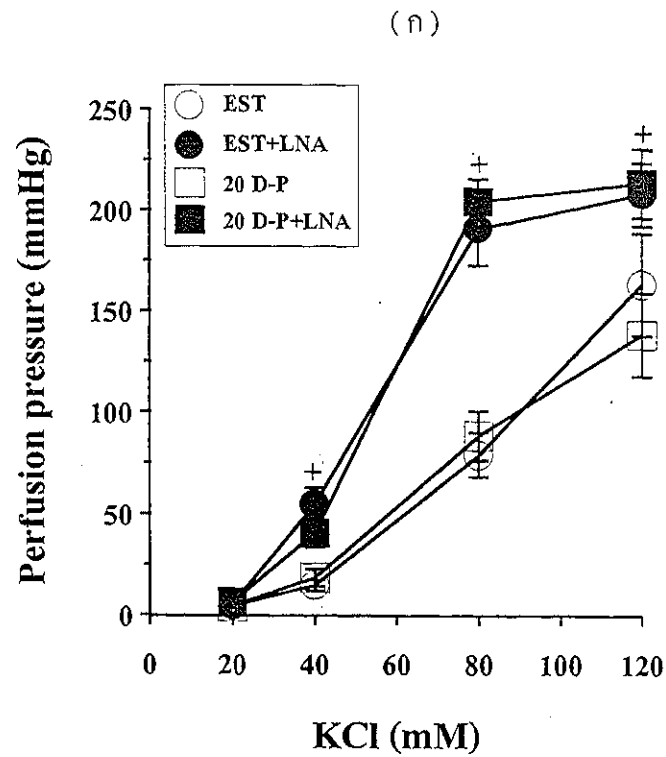
ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ทั้ง 3 กลุ่มเมื่อเปรียบเทียบในหนูเรื้อรังกลุ่มเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน

3.3 ผลของการตั้งครรภ์และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl

รูปที่ 3.8 ก. แสดงผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds (ดูจากการเพิ่มขึ้นของความดันเพื่อรีฟิวชั่นต่อ KCl ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน KCl มีผลทำให้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีการหดตัว โดยความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ KCl ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือดต่อ KCl ทั้ง 2 กลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน การยับยั้งการสร้าง NO โดย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M มีผลเพิ่มความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันในขนาดที่ใกล้เคียงกัน จึงทำให้ทั้งความไว (ความไวของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ก่อนให้ LNA 4.286 ± 1.527 มม.ปรอท, $n=7$, หลังให้ LNA 5.07 ± 0.533 มม.ปรอท, $n=7$, กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันก่อนให้ LNA 4.167 ± 0.913 มม.ปรอท, $n=6$, หลังให้ LNA 6.25 ± 1.369 มม.ปรอท, $n=6$) และความแรงในการตอบสนองสูงสุด (ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ก่อนให้ LNA 163.214 ± 25.404 มม.ปรอท, $n=7$, หลังให้ LNA 207.857 ± 15.673 มม.ปรอท, $n=7$, กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ก่อนให้ LNA 138.333 ± 20.708 มม.ปรอท, $n=6$, หลังให้ LNA 213.333 ± 17.301 มม.ปรอท, $n=6$, $p < 0.05$) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ไม่มีความแตกต่างกันหลังจากให้ LNA การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA มีผลทำให้ลดค่า EC_{50} ในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มเดียวกันก่อนให้ LNA (ดังตารางที่ 3.3)

3.4 ผลของการตั้งครรภ์และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine (Phe)

สำหรับการศึกษาผลของการตั้งครรภ์และ LNA, CHAPS และ CHAPS ร่วมกับ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe หลอดเลือดของหนูเรื้อรังทดลองทุกกลุ่มได้ศึกษาผลต่อ Phe เพื่อเป็นกลุ่มควบคุมก่อนทุกครั้งก่อนที่จะมีการศึกษาผลของ LNA, CHAPS หรือ CHAPS ร่วมกับ LNA ในลำดับถัดไปและพบว่าผลในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมของแต่ละกลุ่มหนูทดลองได้ผลใกล้เคียงกันในทุกแบบของการศึกษา จึงได้นำเอาผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม



รูปที่ 3.8 แสดงผลของ N^o-nitro-L-arginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl (ก) และ phenylephrine (ข) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P), n=6-19 แต่ละจุดแสดงค่า mean \pm S.E.M.

* ต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

+ สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3.3 ค่า EC₅₀ และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial bed ต่อ KCl และ N^G-nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P)

Treatment	EC ₅₀ (95% / C.I.)				Maximum Response (mean ± S.E.M.)	
	(mM)				Increased in perfusion pressure (mmHg)	
	n	EST	n	20 D-P	EST	20 D-P
Mesenteric arterial bed						
KCl	7	70.5 (61.1 - 81.3)	6	64.8 (56.0 - 75.0)	163.2 ± 25.4	138.3 ± 20.7
KCl + LNA	7	43.2 (38.1 - 49.0) ^a	6	45.5 (40.0 - 51.9) ^a	207.8 ± 15.7 ^b	213.3 ± 17.3 ^b

^a ต่ำกว่า EC₅₀ ในกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

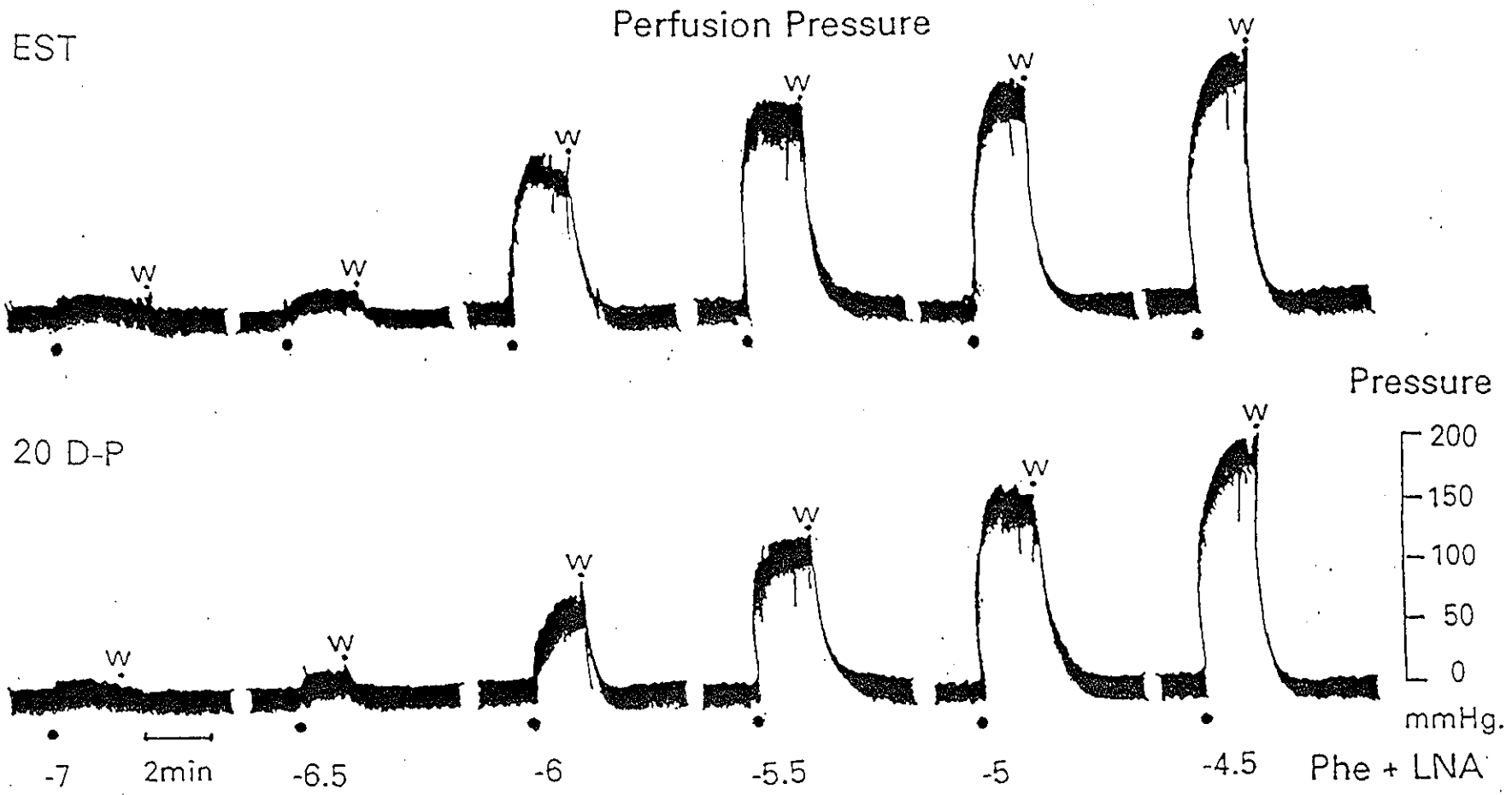
^b สูงกว่า maximum response ในกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

คุมของแต่ละการทดลองของหนูแร้ท์กลุ่มเดียวกันมารวมกันซึ่งทำให้มีจำนวนสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมเพิ่มเป็น 17-19 ตัว (n=17-19)

รูปที่ 3.8 ข. แสดงผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน และตัวอย่างของผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟแสดงไว้ในรูปที่ 3.9 Phe มีผลทำให้หลอดเลือด mesenteric arterial beds ทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันมีการหดตัว โดยความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Phe ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การยับยั้งการสร้าง NO โดย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M มีผลเพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดทั้งกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ในขนาดไม่เท่ากัน จึงทำให้ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดหลังได้รับ LNA ทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน (ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ก่อนให้ LNA 141.18 ± 8.76 มม.ปรอท, n=17; หลังให้ LNA 193.33 ± 15.14 มม.ปรอท, n=6; กลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ก่อนให้ LNA 98.16 ± 7.47 มม.ปรอท, n=7; หลังให้ LNA 176.43 ± 12.98 มม.ปรอท, n=7, $p < 0.05$)

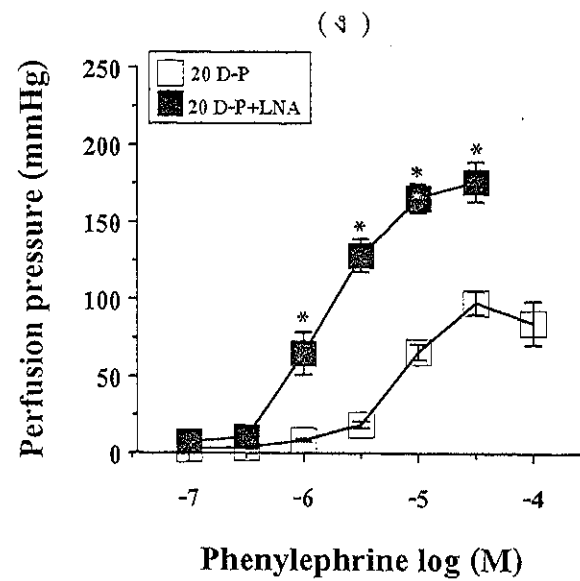
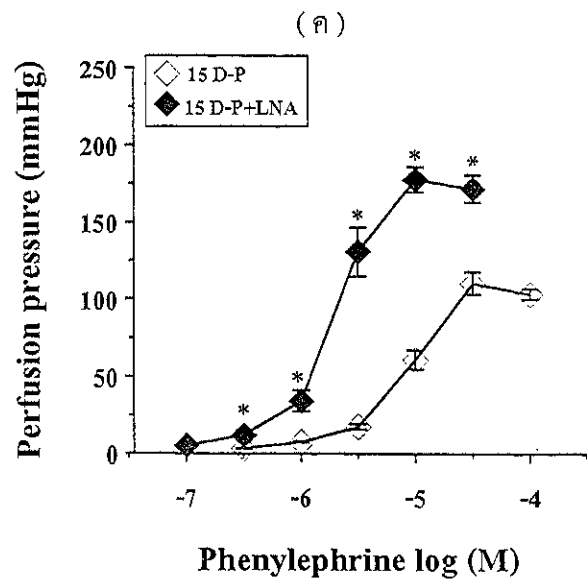
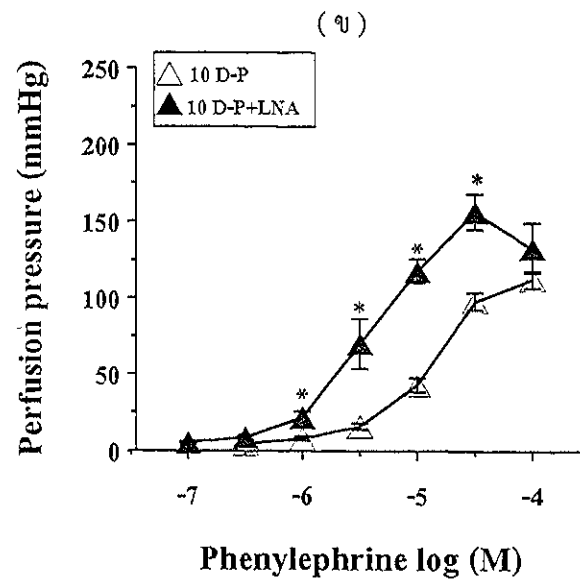
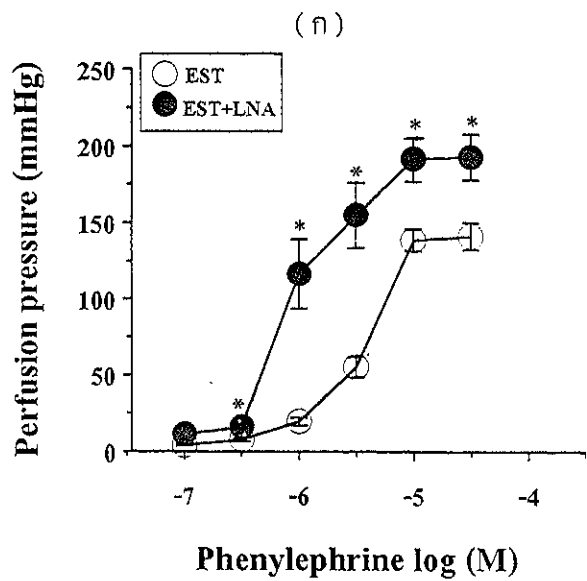
ผลของอายุครรภ์และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe แสดงไว้ในรูปที่ 3.10 และ 3.13 ก.และ ข. ความแรงในการหดตัวของหลอดเลือด mesenteric arterial beds เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Phe การตั้งครรภ์มีผลลดทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ซึ่งเริ่มตั้งแต่อายุครรภ์ 10 วันจนถึงใกล้กำหนดคลอด (ตั้งครรภ์ 20 วัน)

การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดทุกกลุ่มที่ทำการทดลอง โดยทำให้ D-R curve ของทุกกลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายพร้อมกับทำให้ค่า EC_{50} ลดลงประมาณ 3 เท่า และทำให้ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วันมีค่าไม่แตกต่างไปจากกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่สำหรับกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันแม้ว่าจะมีค่าความแรงในการตอบสนองสูงสุดใกล้เคียงกับกลุ่มตั้งครรภ์อื่นๆ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ตั้งครรภ์มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ความแรงในการตอบสนองสูงสุดกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน ก่อนให้ LNA 112.06 ± 5.80 มม.ปรอท, n=18; หลังให้ LNA 156.67 ± 11.63 มม.ปรอท, n=6; กลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน ก่อนให้ LNA 110.59 ± 7.35 มม.ปรอท, n=17; หลังให้ LNA 178.0 ± 8.31 มม.ปรอท, n=5, $p < 0.05$) ดังตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.9 แสดงตัวอย่างผลของ N^o-nitro-Larginine (LNA) ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine (Phe) ของหนูแร้ท กลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ

- คือ ป้อนสารละลายครบสัที่มี Phe , W คือ ป้อนสารละลายครบสั



รูปที่ 3.10 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N^G-nitro-L-arginine (LNA) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) (ก.), กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน (10 D-P) (ข), กลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน (15 D-P) (ค) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) (ง), n=6-19 แต่ละจุดแสดงค่า mean ± S.E.M.

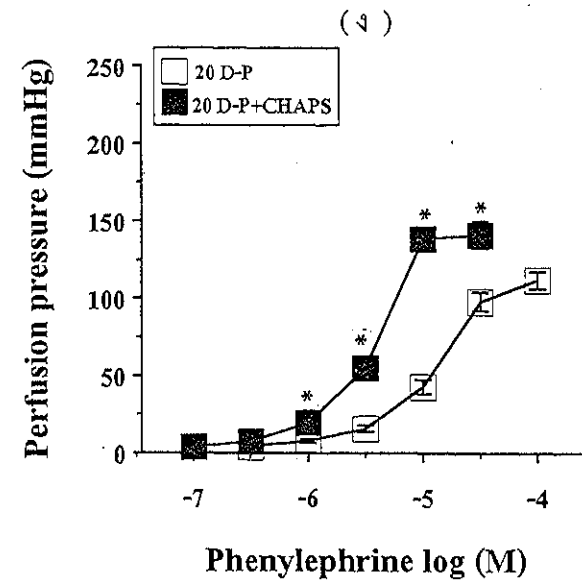
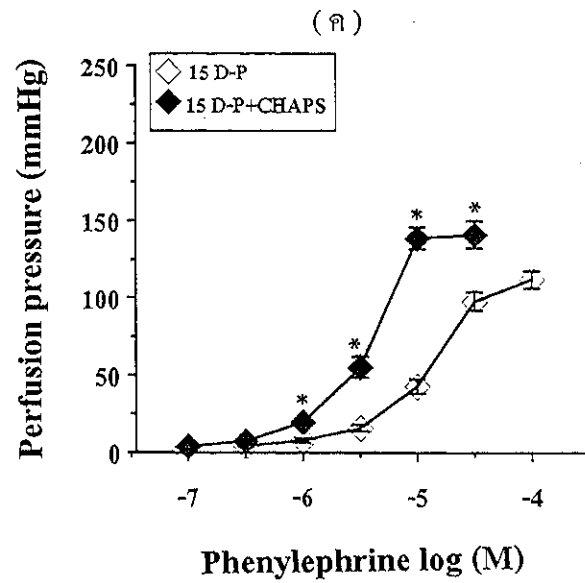
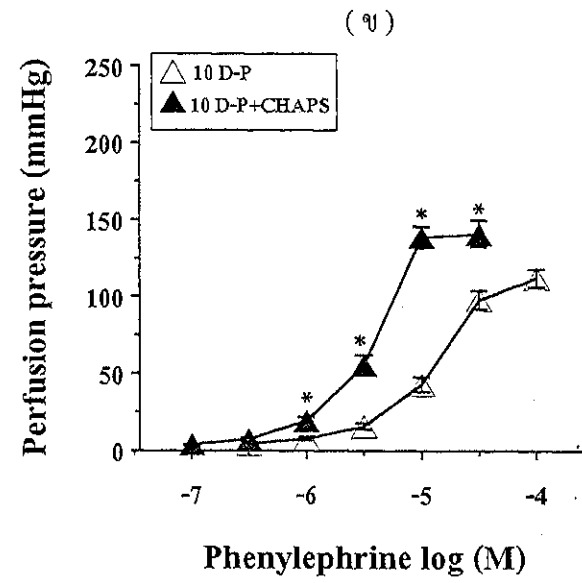
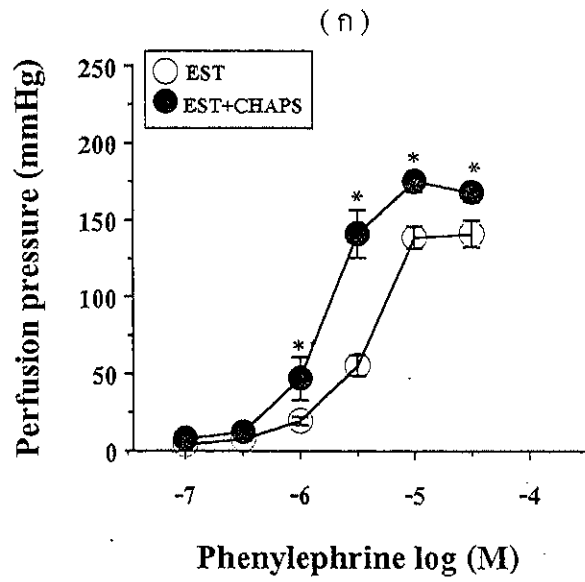
* สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3.5 ผลของการตั้งครรภ์และ CHAPS ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

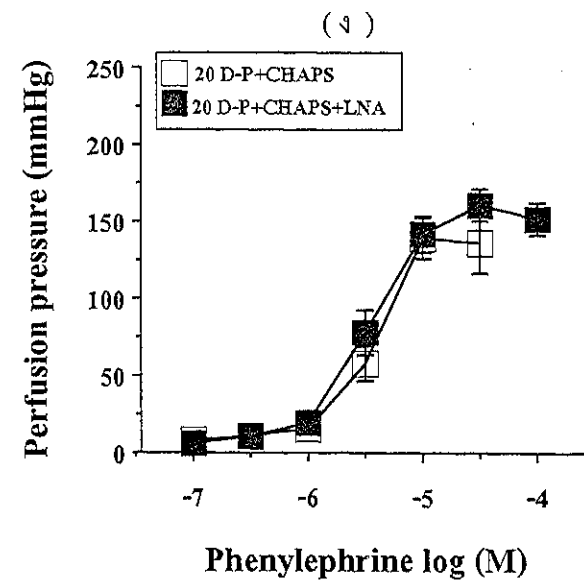
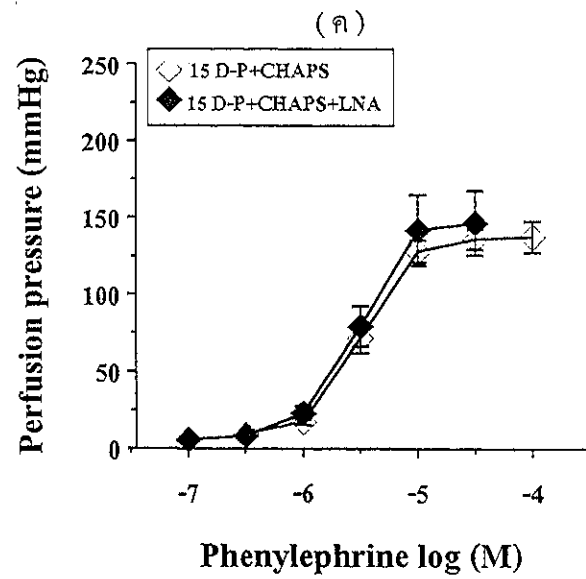
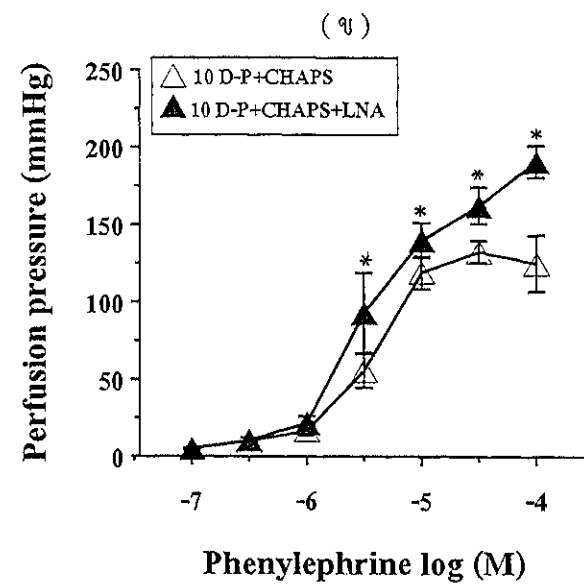
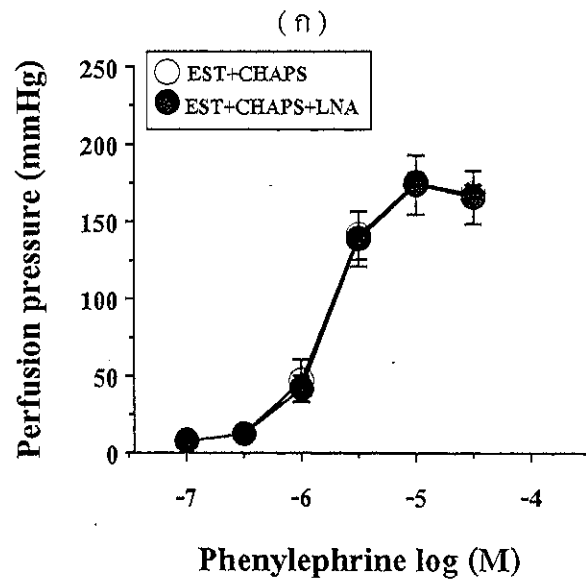
รูปที่ 3.11 และ 3.13 ค. แสดงผลของการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe CHAPS มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe โดยทำให้ D-R curve เคลื่อนไปทางซ้ายและมีค่า EC_{50} ลดลงประมาณ 2 เท่า (ดังตารางที่ 3.4) ในขนาดที่ใกล้เคียงกันทั้งหลอดเลือดของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่ม ดังนั้นหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS แล้ว D-R curve ต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วันยังคงมีค่าต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันแม้ว่าความแรงในการตอบสนองสูงสุดใกล้เคียงกับกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน แต่ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มไม่ตั้งครรภ์

3.6 ผลของการตั้งครรภ์, CHAPS และ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine

รูปที่ 3.12 และ 3.13 ง. แสดงผลของการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่ถูกทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS ต่อ Phe การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ความเข้มข้น 3×10^{-4} M ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds หลังจากทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS ไม่มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ทั้งในกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน แต่มีผลทำให้เพิ่มความไวและความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ของหนูแร้ที่ตั้งครรภ์ 10 วัน จากผลดังกล่าวจึงทำให้หลังจากที่มีการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS และยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA มีผลทำให้การตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดต่อ Phe ของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วันต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ในขณะที่กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันมีค่าสูงขึ้นจนมีขนาดใกล้เคียงกับกลุ่มไม่ตั้งครรภ์



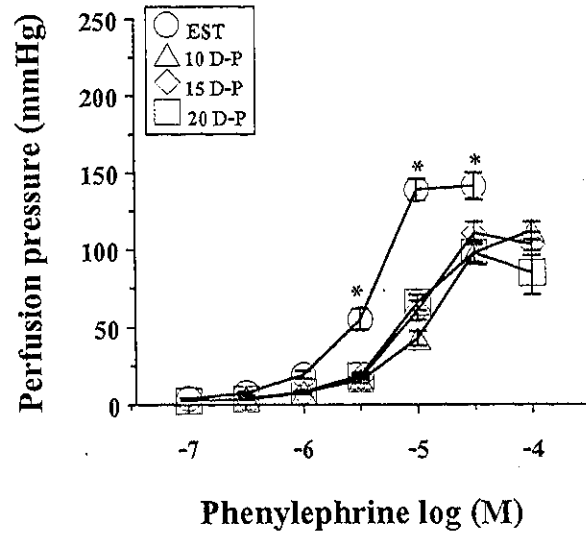
รูปที่ 3.11 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อนและหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) (ก),กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน (10 D-P) (ข), กลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน (15 D-P) (ค) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) (ง), n=6-19 แต่ละจุดแสดงค่า mean \pm S.E.M.
* สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



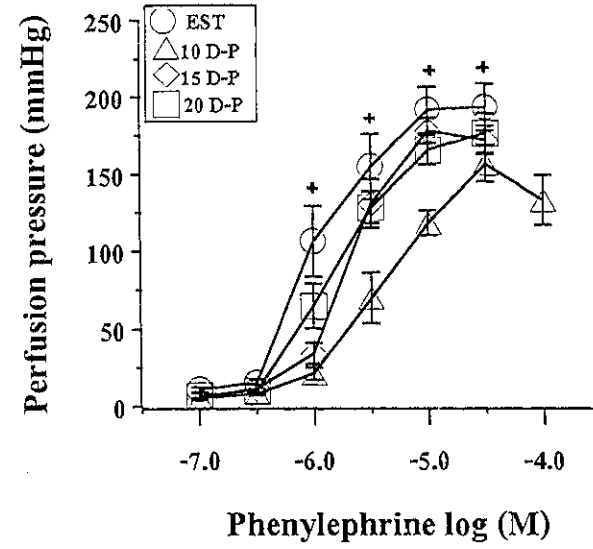
รูปที่ 3.12 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่ถูกทำลายเซลล์เอ็นโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS) ต่อ phenylephrine ก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย N^G-nitro-L-arginine(LNA) ของหนูแร้ทุกกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) (ก) , กลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน (10 D-P) (ข) , กลุ่มตั้งครรภ์ 15 วัน (15 D-P) (ค) และกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน (20 D-P) (ง) , n=6-7 แต่ละจุดแสดงค่า mean ± S.E.M.

* สูงกว่ากลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

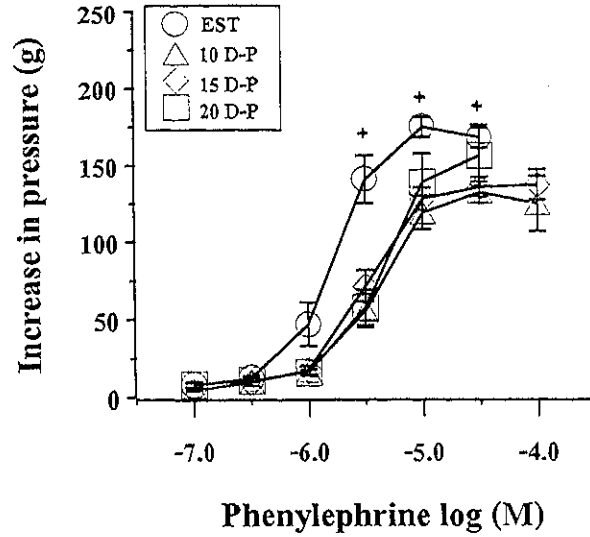
(㉑) endothelium



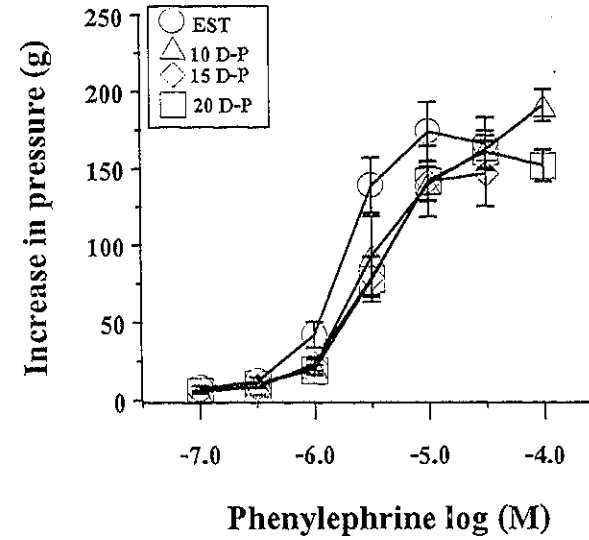
(㉒) LNA



(㉓) CHAPS



(㉔) CHAPS and LNA



รูปที่ 3.13 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ phenylephrine ก่อน (ก) และ หลัง (ข) การยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA และ หลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS) (ค) และหลังการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย 3-[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS) ร่วมกับการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA (ง) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P), n=6-19 แต่ละจุดแสดงค่า mean \pm S.E.M.

* สูงกว่ากลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

+ สูงกว่ากลุ่มหนูตั้งครรภ์ 10 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.4 ค่า EC₅₀ และการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่ phenylephrine (Phe), N^o-nitro-L-arginine (LNA) และ 3[(cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propane sulfonate (CHAPS) ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ (EST) และกลุ่มตั้งครรภ์ 10, 15 และ 20 วัน (10 D-P, 15 D-P และ 20 D-P ตามลำดับ)

Treatment	EC ₅₀ (95% / C.I.) (μ M)								Maximum Response (mean \pm S.E.M.) increase in perfusion pressure (mmHg)			
	n	EST	n	10 D-P	n	15 D-P	n	20 D-P	EST	10 D-P	15 D-P	20 D-P
Phe	17	3.1 (2.6 - 3.7)	18	10.4 ^a (8.6 - 12.4)	17	7.4 ^a (5.7 - 9.7)	19	5.3 ^a (4.4 - 6.5)	141.18 \pm 8.76	112.06 \pm 5.80 ^e	110.59 \pm 7.35 ^e	98.16 \pm 7.47 ^e
Phe + LNA	6	0.7 ^b (0.2 - 2.1)	6	3.8 ^{a,b} (2.9 - 5.1)	5	2.2 ^b (1.5 - 3.2)	7	1.5 ^b (1.0 - 2.2)	193.33 \pm 15.14 ^f	156.67 \pm 11.63 ^{e,f}	178.00 \pm 8.31 ^f	176.43 \pm 12.89 ^f
Phe + CHAPS	6	1.4 ^c (1.1 - 1.9)	6	3.3 ^{a,c} (2.6 - 4.2)	6	2.9 ^{a,c} (2.4 - 3.4)	7	3.6 ^a (2.7 - 4.7)	175.0 \pm 6.61 ^g	132.50 \pm 7.17 ^{e,g}	137.50 \pm 10.07 ^{e,g}	156.43 \pm 19.78 ^g
Phe+ LNA + CHAPS	6	1.8 (1.2 - 2.7)	6	3.8 ^d (2.6 - 5.4)	6	2.7 ^d (1.9 - 3.7)	5	3.2 ^d (2.5 - 4.0)	174.0 \pm 19.07 ^h	191.0 \pm 10.37 ^h	146.67 \pm 21.10 ^h	161.0 \pm 10.37 ^h

- ^a สูงกว่า EC₅₀ ของกลุ่มไม่ตั้งครรภอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^b ต่ำกว่า EC₅₀ ของกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^c ต่ำกว่า EC₅₀ ของกลุ่มเดียวกันก่อนถูกทำลาย endothelium ด้วย CHAPS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^d ต่ำกว่า EC₅₀ ของกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA และก่อนถูกทำลาย endothelium ด้วย CHAPS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^e ต่ำกว่า maximum response ของกลุ่มไม่ตั้งครรภอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^f สูงกว่า maximum response ของกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^g สูงกว่า maximum response ของกลุ่มเดียวกันก่อนถูกทำลาย endothelium ด้วย CHAPS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)
- ^h สูงกว่า maximum response ของกลุ่มเดียวกันก่อนยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA และก่อนถูกทำลาย endothelium ด้วย CHAPS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

4. วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการตั้งครรภ์มีผลทำให้เพิ่มความแรงในการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองต่อ KCl เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ทั้งในหลอดเลือดที่มีและไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียม ผลการศึกษานี้สนับสนุนผลการศึกษาของ Jansakul *et al.* (1989; 1990) และ St-Louis และ Sicotte (1992) แต่แตกต่างจากการศึกษาของ Honda *et al.* (1996) และ Jain *et al.* (1998) ซึ่งพบว่าการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ในระยะใกล้คลอด (near term pregnant rat) ต่อ KCl และ NA ต่ำกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่ไม่พบความแตกต่างต่อการตอบสนองต่อ Phe ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากวิธีการทำการทดลองที่แตกต่างกันเนื่องจากการศึกษานี้ใช้ basal tension 1 กรัม ในขณะที่ Honda *et al.* (1996) ใช้เพียง 0.5 กรัม นอกจากนี้การศึกษานี้ทำการศึกษาดose-response curve ต่อ Phe และ KCl แต่การศึกษาของ Honda *et al.* (1996) ใช้เพียง 1 ความเข้มข้นของ NA หรือ KCl เท่านั้นซึ่งอาจทำให้ได้การตอบสนองสูงสุดไม่ใช่ค่าสูงสุดที่แท้จริง นอกจากนี้การตอบสนองสูงสุดต่อ Phe และ KCl ของการศึกษานี้มีค่ามากกว่าการศึกษาของ Honda *et al.* (1996) ถึง 2 เท่า แม้ว่าการศึกษาของ Jain *et al.* (1998) ได้ศึกษาผลของ Phe และ KCl ที่ความเข้มข้นหลายขนาด แต่ใช้ basal tension 1.5 กรัม และหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 22 วัน ดังนั้นความแตกต่างของ basal tension ที่ใช้และอายุครรภ์ที่แตกต่างนี้อาจจะมีผลทำให้ผลการศึกษาแตกต่างกัน

การศึกษาที่ผ่านมาในช่วงเกือบ 20 ปีทำให้ทราบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองของหลอดเลือดในภาวะต่างๆ โดยสร้างและหลั่งสารที่มีผลต่อการหดตัวหรือคลายตัวของหลอดเลือดนอกเหนือจากการปรับตัวทางหน้าที่ (functional adaptation) หรือการปรับตัวทางโครงสร้าง (structural adaptation) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ของหนูแร้ทตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอดอาจเกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนด้านโครงสร้างหรือการเปลี่ยนแปลงการสร้างและหลั่งสารจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ดังกล่าวนี้จึงทำการศึกษาโดยใช้หลอดเลือด thoracic aorta ที่มีและไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียมของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันเปรียบเทียบกับของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ และหาความสัมพันธ์ของ dose-response curve ต่อ Phe และ KCl ทั้งก่อนและหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA พบว่า LNA มีผลเพิ่มความไวและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ KCl ทั้งในหลอดเลือดที่มีและไม่มีเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ในขนาดใกล้เคียงกัน ผลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงการหลั่งได้เองของ NO จากเซลล์เอนโดทีเลียมหรือเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของ

หลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน แต่อย่างไรก็ตามการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันสูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ไม่ว่าจะหลอดเลือดยังคงมีเซลล์เอนโคธิเลียมอยู่หรือไม่ก็ตาม ซึ่งผลการศึกษาที่ยืนยันการศึกษาของ Jansakul *et al.* (1989) ซึ่งพบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันสูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ Jansakul *et al.* (1990) ได้รายงานต่อว่าเซลล์เอนโคธิเลียมมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองของหลอดเลือด แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ α_1 -adrenergic receptor affinity ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน ดังนั้นการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดต่อ Phe ในหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นหรือการปรับตัวของหลอดเลือดต่อการเพิ่มปริมาณน้ำเลือดในช่วงตั้งครรภ์ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ดังกล่าวจึงได้ศึกษาผลของ LNA ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ทั้งก่อนและหลังการทำลายเซลล์เอนโคธิเลียมของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ พบว่าสำหรับหลอดเลือดที่มีเซลล์เอนโคธิเลียม LNA มีผลทำให้เพิ่มทั้งความไวและการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดในขนาดที่เท่าๆกันทั้งของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ จึงยังคงทำให้การตอบสนองของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันสูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่สำหรับหลอดเลือดที่ถูกทำลายเซลล์เอนโคธิเลียม LNA มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์สูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน จึงทำให้ความแรงในการตอบสนองสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันและของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอาจจะมีกลไกการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด อย่างไรก็ตามการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันไม่น่าเกิดจากการปรับตัวทางหน้าที่ของหลอดเลือดซึ่งเป็นผลจากการเพิ่มปริมาณน้ำเลือดในระยะใกล้คลอด เนื่องจากการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์และหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ไม่มีความแตกต่างกัน ไม่ว่าจะหลอดเลือดจะยังคงมีเซลล์เอนโคธิเลียมอยู่หรือไม่ก็ตาม ซึ่งถ้ามีการเพิ่มขนาดของหลอดเลือดระหว่างตั้งครรภ์ การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ KCl ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ควรจะสูงกว่าหนูกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ผลการทดลองครั้งนี้สนับสนุนผลการศึกษาของ Slangen *et al.* (1997b) ที่พบว่าทั้งพื้นที่หน้าตัดและความหนาของชั้นกลางของหลอดเลือด aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันไม่แตกต่างจากของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์

การตั้งครรภ์มีผลเพิ่มปริมาณน้ำเลือด (Gant *et al.*, 1987; Magness & Gant, 1994) Jansakul *et al.* (1989) รายงานว่าปริมาณน้ำเลือดของหนูแร้ทตั้งครรภ์เริ่มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ตั้งครรภ์ได้ 6 วันและจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงวันที่ 20 ของการตั้งครรภ์ ดังนั้นการเพิ่มของปริมาณน้ำเลือดในระหว่างตั้งครรภ์ทำให้เกิดการปรับตัวและมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดซึ่งอาจส่งผลให้มีการตอบสนองของหลอดเลือด

เลือดแตกต่างกันที่อายุครรภ์ต่างกัน จึงได้ศึกษา dose-response curve ของ Phe ของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน พบว่าการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe เพิ่มขึ้นตั้งแต่อายุครรภ์ 10 วัน คงอยู่จนอายุครรภ์ 15 วันและลดลงเมื่อตั้งครรภ์ได้ 20 วัน แต่ยังคงสูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาของ Jain *et al.* (1998) ซึ่งพบว่าหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 8 วันตอบสนองต่อ Phe ต่ำกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่เมื่ออายุครรภ์เพิ่มขึ้นไม่พบความแตกต่างในการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe เมื่อเปรียบเทียบกับหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ความแตกต่างระหว่างผลการทดลองครั้งนี้กับของ Jain *et al.* (1998) อาจเป็นเพราะสัตว์ทดลองที่ใช้ศึกษาเป็นคนละสายพันธุ์ การศึกษาครั้งนี้ใช้หนูสายพันธุ์ Wistar แต่การศึกษาของ Jain *et al.* (1998) ใช้หนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley

Honda *et al.* (1996) รายงานว่าระดับโปรเจสเทอโรนในพลาสมาเพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะแรกของการตั้งครรภ์และเพิ่มถึงระดับสูงสุดประมาณวันที่ 14 ของการตั้งครรภ์ หลังจากนั้นจะลดลงเล็กน้อยและคงอยู่ตลอดการตั้งครรภ์ ในขณะที่ระดับเอสโตรเจนในพลาสมาเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มการตั้งครรภ์จนถึงวันสุดท้ายของการตั้งครรภ์ ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน (เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์หรือของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน) อาจได้รับอิทธิพลจากการเพิ่มของระดับโปรเจสเทอโรนในพลาสมา หลังการตั้งครรภ์วันที่ 16 ระดับโปรเจสเทอโรนในพลาสมาลดลงเล็กน้อย แต่ระดับเอสโตรเจนในพลาสมา ยังคงเพิ่มสูงขึ้น อาจเป็นปัจจัยที่ทำให้หลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วันตอบสนองสูงสุดต่ำกว่าของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 และ 15 วัน แต่ยังคงสูงกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ อย่างไรก็ตามเพื่อพิสูจน์สมมติฐานดังกล่าวจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ผลการศึกษานี้เป็นการสนับสนุนอีกครั้งว่าการเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มต่อ Phe เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ไม่น่าเกิดจากการปรับตัวทางโครงสร้างของหลอดเลือด (structural adaptation) ซึ่งหากเป็นเช่นนั้นจริงการเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe น่าจะมีการเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามอายุครรภ์ที่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำเลือด

การยับยั้งการสร้าง NO โดย LNA มีผลทำให้ dose-response curve ต่อ Phe ของหลอดเลือด thoracic aorta ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์อายุครรภ์ต่างๆที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมเคลื่อนไปทางซ้ายในขนาดที่เท่าๆกัน แต่การทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมทำให้มีการเคลื่อนของ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันน้อยกว่าของหนูแร้ทกลุ่มอื่น จึงทำให้ dose-response curve ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันมีค่าใกล้เคียงกับของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 20 วัน แต่หลังจากที่ให้ LNA ทำให้ dose-response curve ของหนูแร้ททุกกลุ่มเคลื่อนไปในขนาดที่ไม่เท่ากัน จึงทำให้ความแรงในการตอบสนองสูงสุดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทั้ง 3 กลุ่มไม่แตกต่างกันแต่มีค่าสูงกว่าของหนู

แร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ผลการทดลองนี้แสดงว่าปริมาณการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแตกต่างกันที่อายุครรภ์ต่างกัน

สำหรับหลอดเลือด mesenteric arterial beds พบว่าการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชัน (perfusion pressure) ของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ Phe ของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มต่ำกว่าของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ผลการทดลองนี้สนับสนุนการศึกษาของ Ralevic และ Burnstock (1996) ซึ่งศึกษาในหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร่ทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ตั้งครรภ์ 21 วัน โดยการป้อนสารละลายครบสี่ด้วยอัตราการใช้ 5 มล.ต่อนาที พบว่าการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันต่อการตอบสนองต่อ methoxamine ของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ต่ำกว่าของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และมีแนวโน้มลดการตอบสนองต่อ NA ด้วย ในปีค.ศ. 1993 Chu และ Beilin รายงานผลการศึกษาในหลอดเลือด mesenteric artery ของหนูแร่ทสายพันธุ์ Wistar-Kyoto ตั้งครรภ์ 18 - 20 วัน โดยใช้เลือดจากสัตว์ทดลองเองป้อนเข้าไปทาง superior mesenteric artery ในอัตรา 5 มล.ต่อนาที พบว่าการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันต่อการตอบสนองต่อการฉีด NA เข้าทางหลอดเลือดแดงลดลงในหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ต่ำกว่าของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ D'Angelo และ Osol (1993) ก็รายงานการเปลี่ยนแปลงทำนองเดียวกันนี้โดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความดันในหลอดเลือด mesenteric artery ที่ตัดออกมาศึกษานอกร่างกายในการตอบสนองต่อ Phe และ KCl พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric artery ต่อ Phe ของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ลดลง 3 เท่า แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองต่อ KCl เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ Parent *et al.* (1990) ศึกษาโดยใช้ mesenteric arterial ring และวัดความตึงของหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ NA และ Phe พบว่าความไวในการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าวของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ 21 วันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ และ Crandall *et al.* (1990) ศึกษาหลอดเลือด mesenteric artery ขนาดเล็ก (resistance size) ของหนูแร่ทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ตั้งครรภ์ 7 วัน และ 18-20 วัน พบว่าหลอดเลือดของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอด (อายุครรภ์ 18-20 วัน) มีความไวต่อ NA ลดลง 1.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ 7 วันและของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แต่อย่างไรก็ตาม Pascoal *et al.* (1995) กลับพบว่าหลอดเลือด mesenteric artery ขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 200 ไมครอน) ของหนูแร่ทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ระยะใกล้คลอดตอบสนองในการเพิ่มความตึงตัวของหลอดเลือดต่อ Phe ไม่แตกต่างจากของหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ข้อขัดแย้งของผลการทดลองครั้งนี้กับการศึกษาของ Pascoal *et al.* (1995) อาจเป็นเพราะหลอดเลือดที่ใช้ทดลองมีขนาดแตกต่างกัน

McLaughlin และ Keve (1986) และ Mackey *et al.* (1992) รายงานว่าหลอดเลือด mesenteric artery ของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ระยะใกล้คลอดมีความสามารถในการถูกยืด (distensibility) ลดลงในขณะที่ความแข็ง (stiffness) เพิ่มขึ้น แต่ไม่พบความแตกต่างของหนูแร่ทกลุ่มตั้งครรภ์ 7 วันและ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับหนูแร่ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ Ralevic และ Burnstock (1996) ศึกษาการเปลี่ยนแปลง

basal perfusion pressure ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds โดยการบีบสารละลาย Krebs เข้าไปในหลอดเลือดด้วยอัตราการไหลต่างๆกัน พบว่าที่อัตราการไหล 5 มล.ต่อนาทีไม่พบความแตกต่างของ basal perfusion pressure ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ระยะใกล้คลอดและหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ แต่เมื่อเพิ่มอัตราไหลทีละขั้นจาก 5 เป็น 10, 15, 20 และ 24 มล.ต่อนาทีตามลำดับ พบว่าการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์เกิดขึ้นน้อยกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ แต่อย่างไรก็ตามการลดการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในระหว่างตั้งครรรภ์ของการศึกษาครั้งนี้ไม่น่าจะเกิดจากการปรับตัวทางโครงสร้าง (anatomical adaptation) ของหลอดเลือด ซึ่งถ้าเป็นเช่นนี้จริงการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์จะลดลงเรื่อยๆเมื่ออายุครรรภ์เพิ่มขึ้น และการลดการตอบสนองของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ควรจะแสดงผลแบบไม่จำเพาะ (non-specific) นั่นคือการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ KCl ก็น่าจะลดลงด้วย แต่ไม่พบผลเช่นนี้ในการศึกษาครั้งนี้

Nichols *et al.* (1985) รายงานว่าส่วนของ mesenteric artery ของหนูแร้ทได้รับเลือดประมาณ 1 ใน 5 ของปริมาตรเลือดที่ออกจากหัวใจต่อนาที การตั้งครรรภ์มีผลทำให้เพิ่มการไหลของเลือดไปยังทางเดินอาหาร (Abokas *et al.*, 1984) มีรายงานว่าใน guinea pig การตั้งครรรภ์มีผลเพิ่มการไหลเวียนเลือดใน mesentery ประมาณร้อยละ 75 (Peeters *et al.*, 1980) ดังนั้นการเพิ่มการไหลเวียนเลือดใน mesentery ในระหว่างตั้งครรรภ์อาจกระตุ้นการหลั่ง NO และส่งผลทำให้ลดการตอบสนองของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรรภ์ เพื่อพิสูจน์สมมติฐานนี้จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ของ dose-response curve ต่อ Phe และ KCl หลังจากยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA ดังแสดงในผลการทดลอง LNA มีผลทำให้ dose-response curve ต่อ KCl เคลื่อนไปทางซ้ายในขนาดที่เท่าๆกันระหว่างของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วัน กับของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ ดังนั้น dose-response curve ต่อ KCl ของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วันยังคงไม่แตกต่างจากของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ แต่ LNA มีผลทำให้ dose-response curve ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วันและของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์เคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดของหนูแร้ททั้งสองกลุ่ม และในที่สุดทำให้การตอบสนองสูงสุดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วันมีค่าใกล้เคียงกับของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ LNA มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดของกลุ่มหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 15 วันในทำนองเดียวกับของกลุ่มตั้งครรรภ์ 20 วัน อย่างไรก็ตามสำหรับหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 10 วันหลังได้รับ LNA หลอดเลือดยังคงมีความไวและการตอบสนองสูงสุดต่อ Phe ต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ จากผลการทดลองดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าไม่มีการเพิ่มการหลั่งได้เองของ NO จากหลอดเลือด mesenteric arterial beds ในระหว่างตั้งครรรภ์ แต่อย่างไรก็ตามการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นของหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรรภ์ 15 และ 20 วันสูงกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรรภ์ เนื่องจาก KCl ไม่

กระตุ้นให้มีการหลั่ง NO แต่ Phe มีผลกระตุ้นการหลั่ง NO (Cock & Angus, 1983; Kaneko & Sunano, 1993) ผลการทดลองครั้งนี้สนับสนุนการศึกษาของ Chu และ Beilin (1993) ที่ศึกษาในหลอดเลือด mesenteric artery ของหนูแร้ทสายพันธุ์ Wistar-Kyoto ตั้งครรภ์ 18 - 20 วัน โดยใช้เลือดจากสัตว์ทดลองเองป้อนเข้าไปทาง superior mesenteric artery ในอัตรา 5 มล.ต่อนาที พบว่าการลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันต่อ NA ในหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์หายไปเมื่อหลอดเลือดได้รับ LNA ในทำนองเดียวกัน Pascoal *et al.* (1995) ศึกษาโดยการวัดความตึงตัวของหลอดเลือด mesenteric arteries ขนาดเล็ก พบว่าการตั้งครรภ์ไม่ได้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งได้เองของ NO แต่เพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นด้วย ACh จากหลอดเลือด small mesenteric artery จากการศึกษาพบว่าหลังยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA การตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันยังคงต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ อาจเป็นไปได้ว่าอายุครรภ์ช่วงต้นๆอาจมีการกระตุ้นให้มีการสร้างและ/หรือหลั่งสารชนิดอื่นที่มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดจากหลอดเลือดเอง

ปัจจุบันพบว่า NO สามารถถูกสร้างและหลั่งได้ทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังนั้นการเพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นในระหว่างตั้งครรภ์อาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากทั้งเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เพื่อพิสูจน์สมมติฐานนี้จึงได้ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายด้วยสารเคมีคือ CHAPS (Bhardwaj & Moore, 1988; Parsons *et al.*, 1994) ทำการทดลองโดยการป้อน CHAPS ความเข้มข้น 3 มก.ต่อมล.เป็นเวลา 2 นาทีซึ่งเป็นขนาดที่มีผลทำลายการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้น้อยที่สุดตั้งรายงานของ Jansakul และ Hirunpun (1999) CHAPS มีผลทำให้ dose-response curve ในการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มเคลื่อนไปทางซ้ายและเพิ่มการตอบสนองสูงสุดในขนาดที่เท่าๆกัน ดังนั้นหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ทุกกลุ่มยังคงตอบสนองต่อ Phe ต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ หลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่ถูกทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS ก่อนแล้วพบว่าทำให้ LNA ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน แต่สำหรับหลอดเลือดของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วัน LNA มีผลเพิ่มทั้งความไวและการตอบสนองสูงสุดต่อ Phe เมื่อเปรียบเทียบกับของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน ผลการทดลองนี้แสดงว่าไม่มีการเพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด mesenteric arterial beds ของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน ในขณะที่หลอดเลือดของหนูตั้งครรภ์ 10 วันมีการเพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในปริมาณมากพอและส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด จากผลการทดลองดังกล่าวนี้แสดงว่าการเพิ่มการหลั่ง

NO โดยการถูกกระตุ้นระหว่างตั้งครรภ์เกิดขึ้นที่เซลล์เอนโดทีเลียมยกเว้นในช่วงตั้งครรภ์ 10 วันที่มีการเพิ่มการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดด้วย

จากการทดลองที่พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่มีเซลล์เอนโดทีเลียมต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันยังคงต่ำกว่าของหนูแร้ทกลุ่มไม่ตั้งครรภ์และกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน แม้ว่าจะมีการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA แต่หลังจากที่ทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมด้วย CHAPS การตอบสนองของหลอดเลือดของกลุ่มตั้งครรภ์ 10 วันเพิ่มขึ้นมาใกล้เคียงกับของกลุ่มตั้งครรภ์ 15 และ 20 วัน แม้ว่าจะยังคงต่ำกว่าของกลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แสดงว่าในช่วงตั้งครรภ์ 10 วันอาจมีการเพิ่มการสร้างและ/หรือหลั่งสารที่มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวชนิดอื่น นอกเหนือจาก NO จากเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด ส่งผลให้ลดการตอบสนองในการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันของหลอดเลือด mesenteric arterial beds ต่อ Phe แต่อย่างไรก็ตามจากการที่พบว่าแม้ว่าจะมีการยับยั้งการสร้าง NO ด้วย LNA แก่หลอดเลือด mesenteric arterial beds ที่เซลล์เอนโดทีเลียมถูกทำลายด้วย CHAPS แล้วการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าวต่อ Phe ของหนูแร้ทกลุ่มตั้งครรภ์ยังคงมีความไวในการตอบสนองต่ำกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ แม้ว่าความแรงในการตอบสนองสูงสุดไม่แตกต่างกัน แสดงว่าในระหว่างตั้งครรภ์นอกจากจะมีการเปลี่ยนแปลงและ/หรือหลั่งสารบางอย่างจากเซลล์เอนโดทีเลียมแล้วยังอาจมีการเปลี่ยนแปลงการสร้างและหลั่งสารบางอย่างที่มีผลต่อการทำงานของหลอดเลือดและ/หรือเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเองต่อการถูกกระตุ้นด้วย สำหรับกลไกที่เกี่ยวข้องเป็นอย่างไรจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

5. สรุป

การตั้งครรภ์มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดแตกต่างกันระหว่างหลอดเลือดต่างชนิดกัน สำหรับหลอดเลือด thoracic aorta ซึ่งเป็นหลอดเลือดขนส่ง พบว่าการตั้งครรภ์มีผลทำให้เพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อ KCl การเพิ่มการตอบสนองของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ Phe เริ่มตั้งแต่อายุครรภ์ 10 วัน คงอยู่จนถึงอายุครรภ์ 15 วันและลดลงเล็กน้อยเมื่ออายุครรภ์ 20 วันซึ่งเป็นระยะใกล้กำหนดคลอด แต่ยังคงสูงกว่ากลุ่มไม่ตั้งครรภ์ ในขณะที่หลอดเลือด mesenteric arterial beds ซึ่งเป็นหลอดเลือดด้านทาน การตั้งครรภ์มีผลทำให้ลดการตอบสนองในการเพิ่มความดันเพอร์ฟิวชันต่อ Phe แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงต่อการตอบสนองต่อ KCl การเปลี่ยนแปลงนี้พบตั้งแต่อายุครรภ์ 10 วัน ไปจนถึงอายุครรภ์ 20 วัน การตั้งครรภ์ไม่ได้ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการหลั่งได้เองของ NO จากหลอดเลือด แต่มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นทั้งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและ/หรือเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดซึ่งแตกต่างกันที่อายุครรภ์ต่างกันระหว่างหลอดเลือดทั้งสองชนิดที่ได้ศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง NO โดยการถูกกระตุ้นของหลอดเลือดในระหว่างตั้งครรภ์ NO มิได้เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phe แต่อาจมีปัจจัยอื่นๆเช่นการเปลี่ยนแปลงการสร้างและ/หรือหลั่งสารชนิดอื่นจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเองในระหว่างตั้งครรภ์มาเกี่ยวข้องด้วยซึ่งปัจจัยอื่นๆเหล่านี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Abdul-karim, K. and Assali, N. S. 1961. Pressor response to angiotensin in pregnant and nonpregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **82** :246.
- Abe, T., Takechi, 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.
- Ahokas, R. A., Anderson, G. D. and Lipshitz, J. 1983. Effect of dietary restriction, during the last week only or throughout gestation, on cardiac output and uteroplacental blood flow in pregnant rats. *J. Nutr.* **113** :1766-1776.
- Ahokas, R.A., Reynolds, S.L., Anderson, G.D. and Lipshitz, J. 1984. Maternal organ distribution of cardiac output in the diet-restricted pregnant rat. *J. Nutr.* **114(12)** : 2262-2268.
- Ahokas, R.A. and Sibai, B.M. 1992. Endothelium-derived relaxing factor inhibition augments vascular angiotensin II reactivity in the pregnant rat hind limb. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **167** : 1053-1058.
- Andersen, H.L., Weis, J.U., Fjalland, B. and Korsgaard, N. 1999. Effect of acute and long-term treatment with 17 β -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.
- Annat, G., Ravdrant, D., Chappe, J., Vincent, M., Thoulon, J., Dumont, M. and Sassard, J. 1978. Maternal and fetal plasma renin and dopamine-p-hydroxylase activities in toxemic pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **52** : 219-224.
- Aprill, E.W. 1990. Circulation system. In *Anatomy*. 2nd ed., pp.31-38., Harwal Publishing Company, Malvern, Pennsylvania, USA.
- 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. Bio. Chem.* **267**: 12468-12474.
- Armstead, W.M. 1997. Brain injury impairs ATP-sensitive K⁺ channel function in piglet cerebral arteries. *Stroke.* **28** : 2273-2280.

- Arnold, W. P., Mittal, C. K., Katsuki, S. and Murad, F. 1987. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74 :3203-3207.
- Atherton, J. C., Dark, J. M., Garland, H. D., Morgan, M. R. A., Pidgeon, J. and Soni, S. 1982. Changes in water and electrolyte balance, plasma volume and composition during pregnancy in the rat. *J. Physiol. Lond.* 330 :81-93.
- Bader, K. A., Bader, M. E., Rose, D. J. and Braunwald, E. 1955. Hemodynamics at rest and during exercise in normal pregnancy as studied by cardiac catheterization. *J. Clin. Invest.* 34 :1524-1536.
- Bakkar, 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.
- Barron, W. M., Stamoutsos, B. A. and Lindheimer, M. D. 1984. Role of volume in the regulation of vasopressin secretion during pregnancy in the rat. *J. Clin. Invest.* 73 :923-932.
- Batra, S. 1990. Influence of chronic oestrogen treatment on the density of muscarinic cholinergic receptors and calcium channels in the rabbit uterus. *J. Endocrinol.* 125 : 185-189.
- 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.
- Baylis, C. 1979. Effect of early pregnancy on glomerular filtration rate and plasma volume in the rat. *Renal. Physiol.* 2 :333-339.
- Berne, R.M. and Levy, M.N. 1993. The cardiovascular system. In *Physiology*. 3rd ed. (Bern, R.M. and Levy, M.N., eds.), pp. 465-493., Mosby-year book. Inc.
- Berridge, M.J. 1993. Inositol triphosphate and calcium signalling. *Nature.* 361: 315.
- Berssenbrugge, A. D., Goodfriend, T. L., Ball, D. L. and Rankin, J. H. G. 1980. The effect of pregnancy on the angiotensin II pressor response in the rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136 :762-767.
- Bhalla, R.C., Toth, K.F., Bhatta, R.A., Thompson, L.P. and Sharma, R.V. 1997. Estrogen reduced proliferation and agonist-induced calcium increase in coronary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 272(Heart Circ. Physiol. 41) :H1996-H2003.

- Bhardwaj, R. and Moor, P.K. 1988. Endothelium-derived relaxing factor and the effects of acetylcholine and histamine on resistance blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* **95** : 835-843.
- 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.
- Brock, J.A., McLachlan, E.M. and Rayner, S.E. 1997. Contribution of α -adrenoceptors to depolarization and contraction evoked by continuous asynchronous sympathetic nerve activity in rat tail artery. *Br. J. Pharmacol.* **120**: 1513-1521.
- Brody, T.M., Lerner, J. and minnerman, K.P. 1998. Human Pharmacology:Molecular to Clinical. 3rd 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.
- Brown, J. J., Davies, D. L. and Lever, A. R. 1965. Plasma renin concentration in human hypertension:I. Relationship between renin, sodium and potassium. *Br. Med. J.* **3** :144-148.
- Bruce, N.W. 1976. The distribution of blood flow to the reproductive organs of rats near term. *J. Reprod. Fert.* **46** :359-362.
- 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(Cell 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.
- Chang, W.C., Nakao, J., Orimo, H. and Murota, S.I. 1980. Stimulation of prostaglandin cyclooxygenase and prostacyclin synthase activities by estradiol in rat aortic smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Acta.* **620** : 472-482.
- 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.

- Chaudhuri, B., Barone, P., Lianos, E., Hurd, M., Lele, A. and Venuto, R. 1982. Uterine and peripheral blood concentrations of vasodilator prostaglandins in conscious pregnant rabbits. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **144** :760-767.
- 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, G., Suzuki, H. and Weston, A.H. 1988. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* **95** : 1165-1174.
- Chen, L., Salafranca, M.N. and Mehta, J.L. 1997. Cyclooxygenase inhibition decrease nitric oxide synthase activity in human platelets. *Am. J. Physiol.* **273**(Heart Circ. Physiol. **42**) :H1854-H1859.
- Chesley, L. C., Talledo, E., Bohler, C. S. and Zuspan, F. P. 1965. Vascular reactivity to angiotensin II and norepinephrine in pregnant and nonpregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **91** :837-842.
- Chesley, L.C. 1975. Cardiovascular change in pregnancy. *Obstet. Gynecol. Annu.* **4** :71-97.
- 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, Z.M. and Beilin, L.J. 1993. Mechanisms of vasodilatation in pregnancy:studies of the role of prostaglandins and nitric oxide in changes of vascular reactivity in the in situ blood perfused mesentery of pregnant rats. *Br. J. Pharmacol.* **109** : 322-329.
- Claycombe, K.J., Lee, D.W. and MillerIII, H.A. 1995. Proportions of rat ANP-secreting cells that are cardiomyocytes and that synthesize the hormone. *Am. J. Physiol.* **268**(Heart Circ. Physiol. **37**) : H265-H270.
- 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.
- Cocks, T.M. and Angus, J.A. 1983. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature.* **305** : 627-630.
- Conrad, K.P. and Clopoys, M.C.1986. Evidence against the hypothesis that prostaglandins are the vasodepressor agents of pregnancy :serial studies in chronically instrumented, conscious rats. *J. Clin. Invest.* **77** :236-245.

- Conrad, K.P., Joffe, G.M., Kruszyna, H, Kruszyna R, Rochelle, L.G., Smith, R.P., Chavez, J.E. and Mosher, M.D. 1993. Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEB J.* 7 : 566-571.
- Crandall, M.E., Keve, T.M. and McLaughlin, M.K. 1990. Characterization of norepinephrine sensitivity in the maternal splanchnic circulation during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162 : 1296-1301.
- Cusson, J.R., Gutkowska, J., Rey, E., Michon, N., Boucher, M. and Larochelle, P. 1985. Plasma concentration of atrial natriuretic factor in normal pregnancy. *N. Eng. J. Med.* 313 : 1230-1231.
- D'Angelo, G. and Osol, G. 1993. Regional variation in resistance artery diameter responses to alpha-adrenergic stimulation during pregnancy. *Am. J. Physiol.* 264 : H78-H85.
- Davey, D.A. and Macnab, M.F. 1981. Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in pregnancy hypertension. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 88 : 611-618.
- Davies, P.F. and Barbee, K.A. 1994. Endothelial cell surface imaging: Insights into hemodynamic force transduction. *NIPS.* 9 : 153-157.
- Davison, J.M. and Dunlop, W. 1984. Changes in renal hemodynamics and tubular function induced by normal human pregnancy. *Seminars in Nephrology.* 4 : 198-207.
- Davisson, R.L., Possas, O.S., Murphy, S.P. and Lewis, S.J. 1997. Neurogenically derived nitrosyl factor mediate sympathetic vasodilation in the hindlimb of the rat. *Am. J. Physiol.* 272(Heart Circ. Physiol. 41) : H2369-H2376.
- Diczfalusy, E. and Troen, P. 1961. Endocrine functions of the human placenta. *Vitam. Horm.* 19 : 229.
- Diem, K. and Leutner, C. 1970. Documenta Geigy Scientific Tables. 7th ed., Basle. J.R., Geigy.
- Dogterom, J. and De Jong, W. 1974. Diminished pressor response to noradrenaline of the perfused tail artery of pregnant rats. *Eur. J. Pharmacol.* 25 : 267-273.
- 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.
- 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.

- Everett, R., Worley, R. J., MacDonald, P. C. and Gant, N. F. 1978. Effect of prostaglandin synthase inhibitors on pressor response to angiotensin II in human pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **46** : 1007-1010.
- Falcone, J.C. 1995. Endothelial cell calcium and vascular control. *Med. Sci. Sports. Exerc.* **27** : 1165-1169.
- 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.
- Farley, D.B. and Ford, S.P. 1992. Evidence for declining extracellular calcium uptake and protein kinase C activity in uterine arterial smooth muscle during gestation in gilts. *Biol. Reprod.* **46** : 315-321.
- Fievet, P., Pleskov, L., Desailly, I., Carayon, A., DeFrenont, J.F., Coevoet, B., Comoy, E., Demory, J.E., Verhoest, P., Boulanger, J.C. and Fournier, A. 1983. Plasma renin activity, blood uric acid and plasma volume in pregnancy-induced hypertension. *Proc. EDTA.* **20** : 520-529.
- Fowler, Jr, W. L., Johnson, J. A., Kurz, K. D., Kilfoil, J., Love, S. and Payne, C. G. 1981. Role of the renin-angiotensin system in maintaining arterial pressure in conscious pregnant rats. *Endocrinology.* **109** : 290-295.
- Friedman, E.A. and Neff, R.K. 1976: Pregnancy outcome as related to hypertension, edema and proteinuria. In Lindheimer MD, Katz AI, Zuspan FP. (eds) Hypertension in pregnancy. New York, Wiley; p13.
- 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.
- 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.
- Gallery, E.D.M., Hunyor, S.N. and Gyory, A.Z. 1979. Plasma volume contraction: a significant factor in both pregnancy-associated hypertension (pre-eclampsia) and chronic hypertension in pregnancy. *Quart. J. Med.* **XLVIII** : 593-602.

- 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. 18th ed., pp. 536-601, a Lange medical book, USA.
- Gant, N.F., Daley, G.L., Chand, S., Whalley, P.J. and MacDonald, P.C. 1973. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J. Clin. Invest.* **52** : 2682-2689.
- Gant, N.F., Whalley, P.J., Everett, R.B., Worley, R.J. and Mac Donald, P.C. 1987. Control of vascular reactivity in pregnancy. *Am. J. Kidney. Dis.* **9** :303-307.
- 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.
- 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.
- Garland, J.P. 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.
- 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.
- Gilligan, D.M., Quyyumi, A.A., Cannon III, R.O., Johnson, G.B. and Schenke, W.H. 1994. Effects of physiological levels of estrogen on coronary vasomotor function in postmenopausal woman. *Circulation.* **89** : 2545-2551.
- Gilson, G.J., Mosher, M.D. and Conrad, K.P. 1992. Systemic hemodynamics and oxygen transport during pregnancy in chronically instrumented, conscious rats. *Am. J. Physiol.* **263(Heart Circ. Physiol. 32)** : H 1911-H1918.
- Goldstein, D.S., Levinson, P. and Keiser, H.R. 1983. Plasma and urinary catecholamines during the human ovulatory cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **146** : 824-829.
- Grassi, G., Servalles, G., Calhoun, D.A. and Mancia, G. 1994. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension.* **23** : 294-301.

- Gray, D.W. and Marshall, I. 1992. Novel signal transduction pathway mediating endothelium-dependent β -adrenoceptor vasorelaxation in rat thoracic aorta. *Br. J. Pharmacol.* **107** :684-690.
- Griffith, O.W. and Stuech, D.J. 1995. Nitric oxide synthase: Properties and catalytic mechanism. *Annu. Rev. Physiol.* **57** : 707-736.
- Griffith, T.M., Edwards, D.H., Davies, R.L.I., Harrison, T.J. and Evans, K.T. 1987. EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels. *Nature.* **329** : 442-445.
- Griggs, K.C., Conrad, K.P., Mackey, K. and McLaughlin, M.K. 1993. Endothelial modulation of renal interlobar arteries from pregnant rats. *Am. J. Physiol.* **265** : F309-F315.
- 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.
- 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.
- 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.
- Gutkowska, J., Antunes-Rodrigues, J., and McCann, S.M. 1997. Atrial natriuretic peptide in brain and pituitary gland. *Physiol. Rev.* **77** : 465-515.
- 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.
- Hansen, P.R. and Olesen, S.P. 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.

- Hardebo, J.E. and Edvinsson, L. 1977. Reduced sensitivity to alpha and beta adrenergic receptor agonists on intra- and extracranial vessels during pregnancy. Relevance to migraine. *Neurol. Scand. suppl.* 64 : 204-205.
- Hart, J.L., Freas, W. and Muldoon, S.M. 1986. Neurovascular function in the rat during pregnancy. *Am. J. Physiol.* 251 : H1000-H1008.
- Hata, T., Hashimoto, M., Kaneneshi, K., Akiyama, M., Yanagihar, T. and Masumura, S. 1999. Maternal circulating nitrite levels are decreased in both normal normotensive pregnancies and pregnancies with preeclampsia. *Gynecol. Obstet. Invest.* 48(2) : 93-97.
- Hedlund, P., Alm, P. and Andersson, K. 1999. NO synthesis in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol.* 126 : 349-360.
- Helmer, O.M. and Judson, W.E. 1967. Influence of high renin substrate levels on renin-angiotensin system in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 99 : 9-17.
- Henry, Y., Lepoivre, M., Drapier, J. C., Ducrocq, C., Boucher, J. C. and Guissami, A. 1993. EPR characterisation of molecular target for NO in mammalian cells and organelles. *FASEB. J.* 1 : 1124-1134.
- Hill, C.E., Kirton, A., Wu, D.D. and Vanner, S.J. 1997. Role of maxi-K⁺ 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 Ca²⁺ sensitivity in rabbit pulmonary artery smooth muscle. *Pflugers. Arch.* 417 : 21-28.
- 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.
- Honda, H., Kaneko, H., Kondo, M. and Kogo, H. 1996. Comparison of endothelium-derived relaxing factor activity between nonpregnant and pregnant rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 114c(3) : 193-196.
- Hong, S.L. and Deykin, D. 1982. Activation of phospholipase A₂ and C pig aortic endothelial cells synthesizing prostacyclin. *J. Biol. Chem.* 257 : 7151-7154.

- 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., 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.
- 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.
- Jain, V., Vedernikov, Y.P., Saade, G.R., Chwalisz, K. and Garfield, R.E. 1998. Effect of gestational age on in-vitro responses of pregnant rat aorta. *Human. Reprod.* **13** : 214-219.
- 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.
- Jansakul C., Boura A.L.A. and King R.G. 1989. Effects of endothelial cell removal on constrictor and dilator responses of aortae of pregnant rats. *J. Auton. Pharmac.* **9** : 93-101.
- Jansakul, C. and Hirunpun, 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.
- Jansakul, C., King, R.G. and Boura, L.A. 1990. Effect of endothelium cell removal on α -adrenoceptor-mediated responses of aorta of pregnant rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **17** :147-156.
- 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.

- Joannides, R., Haefeili, 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.
- 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.
- Kaneko, K. and Sunano, S. 1993. Involvement of α -adrenoceptors in the endothelium-dependent depression of noradrenaline-induced contraction in rat aorta. *Eur. J. pharmacol* **240**: 195-200.
- Katzung, B.G. 1992a. The gonadal hormones and inhibitors. In *Basic and Clinical Pharmacology*, 5th ed., pp. 559-568, a Lange medical book. USA.
- Katzung, B.G. 1992b. The eicosanoids. In *Basic and Clinical Pharmacology*, 5th ed., pp. 263-271, a Lange medical book. USA.
- Kim, T.H., Weiner, C.P. and Thompson, L.P. 1994. Effect of pregnancy on contraction and endothelium mediated relaxation of renal and mesenteric arteries. *Am. J. Physiol.* **267** (Heart Circ Physiol. **36**) : H41- H47.
- Kitazono, T., Faraci, F.M., Taguchi, H. and Heistad, D.D. 1995. Role of potassium channels in cerebral blood vessels. *Stroke*. **26** : 1717-1723.
- Koller, A., Dornyei, G. and Kaley, 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.
- 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.
- Koullapis, E.N., Nicolaides, K.H., Collins, W.P., Rodeck, C.H. and Campbell, S., 1982. Plasma prostanoids in pregnancy-induced hypertension. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **89** : 617-621.
- Langub, M.C. and Watson, R.E. 1992. Estrogen receptor-immunoreactive Glia, endothelial 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.

- Learmont, J.G., Cockell, M.P., Knock, G. and Poston, L. 1996. Myogenic and flow-mediated response in isolated mesenteric small arteries pregnant and nonpregnant rat. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **174** : 1631-1636.
- Lee, M.I., Oakes, G.K., Lam, R. and Hobel, C.J. 1982. The rabbit : a suitable model for investigation of vascular responsiveness during pregnancy. *Clin. Exper. Hyper. Hyper. In Pregnancy.* **B1 (4)** : 429-439.
- Leffler, C.W. 1997. Prostanoids: intrinsic modulators of cerebral circulation. *News. Physiol. Sci.* **12** : 72-77.
- Le Marquer-Domagala, F. and Finet, M. 1997. Comparison of nitric oxide and cyclo-oxygenase pathway in mesenteric resistance vessels of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.* **121** : 588-594.
- 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.
- Lewis, P.J., Boylan, P., Friedman, L.A., Hensby, C.N. and Downing, I. 1980. Prostacyclin in pregnancy. *Br. Med. J.* **280** : 1581-1582.
- Lin, C.C., Lindheimer, M.D., River, P. and Moawad, A.H. 1982. Fetal outcome in hypertensive disorder of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **142** : 255-260.
- 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.L., Dinerman, J.L. and Snyder, S.H. 1994. Nitric oxide: A physiology messengers. *Ann. Intern. Med.* **120** : 227-237.
- Mabie, W.C., Disessa, T.G., Crock, L.G., Sibai, B.M. and Arheart, K.L. 1994. A longitudinal study of cardiac output in normal human pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **170(3)** : 849-856.
- Mackness, G.B. and Dodson, L.F. 1957. The pressor response to renin during pregnancy in the rat. *Br. J. Exp. Pathol.* **38** : 628-634.

- Mackey, K., Meyer, M.C., Stirewalt, W.S., Starcher, B.C. and McLaughlin, M.K. 1992. Composition and mechanics of mesenteric resistance arteries from pregnant rats. *Am. J. Physiol.* **263** : R2-R8.
- Magness, R.R., Shaw, C.E., Phernetton, T.M., Zheng, J. and Bird J.M. 1997. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. II. Pregnancy effects on NO synthase expression. *Am. J. Physiol.* **272(4Pt2)** : H1730-H1740.
- Magness, R.R. and Gant, N.F. 1994. Control of vascular reactivity in pregnancy : the basis for therapeutic approaches to prevent pregnancy-induced hypertension. *Semi-Perinatol.* **18(2)** : 45-69.
- McGregor, D.D. 1965. The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor response in perfused mesenteric blood vessels of the rat. *J. Physiol. Lond.* **171** : 21-30.
- Majumdar, N.G., Anumba, d., Robinson, S.C. and Ford, G.A. 1999. Contribution of nitric oxide to β_2 -adrenoceptor mediated vasodilatation in human forearm arterial vasculature. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **47** : 173-177.
- Marieb, E.N. 1992. The cardiovascular system: blood vessels. In *Human Anatomy and Physiology*. 2nd ed., pp. 633-678, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- 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.
- 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, C.M., Beltran-del-rio, A., Albrecht, A., Lorenz, R.R. and Joyner, M.J. 1996. Local cholinergic mechanisms mediate nitric oxide-dependent flow-induced vasorelaxation *in vitro*. *Am. J. Physiol.* **270 (Heart. Circ. Physiol. 39)** : H 442-H446.
- 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.
- McCarty, R. and Kopin, I. J. 1978. Pregnancy: its effects on blood pressure, heart rate and sympatho-adrenal activity in spontaneously hypertensive rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **158** : 242-244.
- McLaughlin, M.K. and Conrad, K.P. 1995. Nitric oxide biosynthesis during pregnancy: implications for circulatory changes. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **22(2)** : 164-171.

- McLaughlin, M.K. and Keve, T.M. 1986. Pregnancy-induced changes in resistance blood vessels. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **155** : 1296-1299.
- 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 Vanhoutte, P.M. 1990. 17β -estradiol augments endothelium-dependent contraction to arachidonic acid in rabbit aorta. *Am. J. Physiol.* **258** : R1502-R1507.
- Miller, V.M. and Vanhoutte, P.M. 1991. Progesterone and modulation of endothelium-dependent responses in canine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* **261**: R1022-R1027.
- Miller, V.M., Aarhus, L.L. and Vanhoutte, P.M. 1987. Estrogen modulates endothelium-dependent responses to oxytocin in ovarian arteries of rabbits (Abstract). *Fed. Proc.* **46** : 828.
- Ming, Z., Parent, R. and Lavalley, M. 1997. β_2 -adrenergic dilation of resistance coronary vessels involves K_{ATP} channels and nitric oxide in conscious dogs. *Circulation.* **95** : 1568-1576.
- Mitchell, D. and Tyml, K. 1996. Nitric oxide release in rat skeletal muscle capillary. *Am. J. Physiol.* **270(Heart Circ. Physiol. 39)** : H1696-H1703.
- 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.
- Mitsubishi, 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.
- Moore, K.L. 1992. Blood vessels and the cardiovascular system:overview of anatomy. In *Anatomy.*, 3rd ed., pp.23-25, William and Wilkins.

- Moore, P.K., Al-Swayeh, O.A., Chong, N.W.S., Evans, R.A. and Gibson, A. 1990. L-N^G-nitro arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium- dependent vasodilatation *in vitro*. *Br. J. Pharmacol.* **99** : 408-412.
- Mukoyama, M., Nakao, K., Hosoda, K., Suga, S., Sato, 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.
- Mulvany, M.J. and Kalkjaer, C. 1990. Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.* **70** : 921-953.
- Murad, F. 1986. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J. Clin. Invest.* **78** : 1-5.
- Naden, R.P., Gant, Jr, N.F. and Rosenfeld, C.R. 1984. The pressor response to angiotensin II: the roles of peripheral and cardiac responses in pregnant and nonpregnant sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **148** :450-457.
- Nagao, T. and Vanhoutte, P.M. 1992. Hyperpolarization as a mechanism for endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery. *J. Physiol.* **445** : 355-365.
- 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.
- Nathan, C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB. J.* **6** :3051- 3064.
- Nathan, L., Cuevas, J. and Chaudhuri, G. 1995. The role of nitric oxide in the altered vascular reactivity of pregnancy in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **114** : 955-960.
- Nelson, M.T., Patlak, J.B., Worley, J.F. and Standen, N.B. 1990. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependance of arterial smooth muscle tone. *Am. J. Physiol.* **259** : C3-C18.
- Newby, A.C. and Henderson, A.H. 1990. Stimulus-secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu. Rev. Physiol.* **52** : 661-674.

- Nichols, A.J., Wilson, A.C. and Hiley, C.R. 1985. Effects of chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine on cardiac output and its distribution in the rats. *Eur. Pharmacol.* **109** : 263-268.
- Nichols, K., Staines, W., Rubin, S. and Krantis, A. 1994. Distribution of nitric oxide synthase activity in arterioles and venules of rat and human intestine. *Am. J. Physiol.* **267**(Gastrointest. Liver Physiol. **30**) :G270-G275.
- 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.
- Nobunaga, T., Tokugawa, Y., Hashimoto, K., Kimura, T., Matsuzaki, N., Nitta, Y., Fujita, T., Kidoguchi, K.I., Azuma, C. and Saji, F. 1996. Plasma nitric oxide levels in pregnant patients with preeclampsia and essential hypertension. *Gynecol. Obstet. Invest.* **41**(3) : 189-193.
- Nolten, W.E., Lindheimer, M.D., Oparil, S. and Ehrlich, E.N. 1978. Desoxycorticosterone in normal pregnancy:I. Sequential studies of the secretory pattern of desoxycorticosterone, aldosterone, and cortisol. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **132** : 414-420.
- Nuwayhid, B. 1979. Hemodynamic changes during pregnancy in the rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **135** : 590-596.
- O'Brien, P.M.S. and Pipkin, F.B. 1979. The effects of deprivation of prostaglandin precursors on vascular sensitivity to angiotensin II and on the kidney in the pregnant rabbit. *Br. J. Pharmacol.* **65** : 29-34.
- Ogino, M., Abe, Y., Jimbo, T. and Okahara, T. 1986. Plasma thromboxane and prostacyclin:comparison during normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension. *Endocrinol. Japon.* **33** : 197-202.
- 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.
- Orimi, 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.

- Otsuki, Y., Okamoto, E., Iwata, I., Nishino, E., Mitsuda, N., Mori, M., Takagi, T., Sugita, N. and Tanizawa, O. 1987. Changes in concentration of human atrial natriuretic peptide in normal pregnancy and toxemia. *J. Endocrinol.* **114** : 325-328.
- 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.
- Paller, M.S. 1984. Mechanism of decreased pressor responsiveness to ANG II, NE, and vasopressin in pregnant rats. *Am. J. Physiol.* **247** :H100-H108.
- Palmer, R.M., Ferrige, A.G. and Moncada, S. 1987. Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* **327** : 524-526.
- Palmer, R.M., Rees, D.D., Ashton, D.S. and Moncada, S. 1988. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153** :1251-1256.
- Pan, Z. Lindheimer, M.D., Bailin, J. and Barro, W.M. 1990. Regulation of blood pressure. *Am. J. Physiol.* **258** : H 1559-H1572.
- 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.
- Parent A., Schiffrin E.L. and St-Louis J. 1990. Role of the endothelium in adrenergic responses of mesenteric artery rings of pregnant rats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **163** : 229-234.
- 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.
- Parkington, 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.
- Parsons, S.J.W., Hill, A., Waldron, G.J., Plane, F. and Garland, C.J. 1994. The relative importance of nitric oxide and nitric oxide-dependent mechanisms in acetylcholine-evoked dilation of the rats mesenteric bed. *Br. J. Pharmacol.* **113** : 1275-1280.

- Pascoal, I.F., Lindheimer, M.D., Nalbantian-Brandt, C. and Umans, J.G. 1995. Contraction and endothelium-dependent relaxation in mesenteric microvessels from pregnant rats. *Am. J. Physiol.* 269 : H1899-H1904.
- Pedersen, E.B., Christensen, N.J., Christensen, P., Johannesen, P., Kornerup, H.J., Kristensen, S., Lauritsen, J.G., Leyssac, P.P., Rasmussen, A.B. and Wohlerl, M. 1982a. Prostaglandins, catecholamines, renin and aldosterone during hypertensive and normotensive pregnancy. *Clin. Exper. Hyper.-Theory and Practice.* A4 (9&10) :1453-1467.
- Pedersen, E.B., Rasmussen, A.B., Christensen, N.J., Johannesen, P., Lauritsen, J.G., Kristensen, S. and Wohlerl, M. 1982b. Plasma noradrenaline and adrenaline in pre-eclampsia, essential hypertension in pregnancy and normotensive pregnant control subjects. *Acta Endocrinol.* 99 :594-600.
- Peeters, L.L.H., Grutters, G. and Martin, C.R. 1980. Distribution of cardiac output in the unstressed pregnant guinea-pig. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 138 :1177-1184.
- 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.
- Pfeffer, M.A. and Frohlich, E.D. 1973. Hemodynamic and myocardial function in young and old normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 32(suppl.1) :28-35.
- Phippard, A.F., Horvath, J.S., Glynn, E.M., Garner, M.G., Fletcher, P. J., Duggin, G. G. and Tiller, D. J. 1986. Circulatory adaptation to pregnancy-serial studies of hemodynamics, volume pressure, renin and aldosterone in the baboon (*Papio hamadryas*). *J. Hypertens.* 44 :773-779.
- Pipkin, F.B., Hunter, J.C., Turner, S.R. and O'Brien, P.M.S. 1984. The effect of prostaglandin E₂ upon the biochemical response to infused angiotensin II in human pregnancy. *Clin. Science.* 66 :399-406.
- 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.
- Pohl, U., Holtz, J., Busse, R. and Bassenge, E. 1986. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increase flow *in vivo*. *Hypertension.* 8 :37-44.

- Polderman, K.H., Steouwer, C.D.A., Van Kamp, G.P., Dekker, G.A., Verheugkt, F.W.A and Gooren, L.J.G. 1993. Influence of sex hormones on plasma endothelin levels. *Ann. Intern. Med.* **118** : 429-432.
- Pollock, D.M., Keith, T.L. and Highsmith, R.F. 1995. Endothelin receptors and calcium signaling. *FASEB.* **9** : 1196-1204.
- Priest, R.M., Hucks, D. and Ward, J.P.T. 1997. Noradrenaline, β -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 E₂ and prostacyclin inhibit the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **269** : 11938-11944.
- Pritchard, J. A. 1965. Change in the blood volume during pregnancy and delivery. *Anesthesiology.* **26** :393-399.
- Pritchard, J.A. and Adams, R.H. 1960. Erythrocyte production and destruction during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **79** : 750.
- 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. and Burnstock, G. 1996. Mesenteric arterial function in the rat in pregnancy: role of sympathetic and sensory-motor perivascular nerves, endothelium smooth muscle, nitric oxide and prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.* **117** :1463-1470.
- Ramsay, B., Johnson, M.R., Leone, A.M. and Steer, P.J. 1995. The effect of exogenous estrogen on nitric oxide production in woman:a placebo controlled crossover study. *Br. J. Obstet. Gynecol.* **102** : 417-419.
- Rapoport, R.M. and Murad, F. 1983. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ. Res.* **52** :352-357.
- Razandi, M., Pedram, A., Rubin, T. and Levin, E.R. 1996. PGE₂ and PGI₂ inhibit ET-1 secretion from endothelial cells by stimulating particulate guanylate cyclase. *Am. J. Physiol.* **270**(Heart Circ. Physiol. **39**) : H1342-H1349.

- Reis, S.E., Gloth, S.T., Blumenthal, R.S., Resar, J.R., Zacur, H.A., Gerstenblith, G. and Brinker, J.A. 1994. Ethinyl estradiol acutely attenuates abnormal coronary vasomotor responses to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation*. **89** : 52-60.
- Reynolds, E.E. and Mok, L.L.S. 1990. Role of thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor in the vasoconstrictor response of rat aorta to endothelin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252** : 915-921.
- Rosselli M., Imthurn B., Macas E., Keller P.J., and Dubey R.K. 1994. Circulating nitrite/nitrate levels increase with follicular development: indirect evidence for estradiol mediated NO release. *Biochem. Biophys. Res. Com.* **202(3)** : 1543-1552.
- 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.
- Rushmer, R.F. 1976. Structure and function of the cardiovascular system., 2nd ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company.
- Rutherford, A.J., Anderson, J.V., Elder, M.G. and Bloom, S.R. 1987. Release of atrial natriuretic peptide during pregnancy and immediate puerperium. *Lancet* . **1** : 928-929.
- 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.
- 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.
- Shan, J., Resnick, L.M., Liu, Q., Wu, X., Barbagallo, M. and Pang, P.K.T. 1994. Vascular effects of 17 β -estradiol in male Sprague-Dawley rats. *Am. J. Physiol.* **266(Heart Circ. Physiol. 35)** : H967-H973.
- Sheehan, T.J., Pipkin, F.B. and O'Brien, P.M.S. 1983. Prostaglandins, angiotensin and blood pressure in pregnant rabbits. *Clin. Exper. Hyper.-Hyper. in Pregnancy.* **B2 (2)** :307-315.
- 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.

- Sibai, B.M. 1988. Preeclampsia-eclampsia:maternal and perinatal outcome. *Contemporary. Ob/Gyn.* 32 :109-118.
- Sicinska, J., Bailie, M.D. and Rector, Jr.F.C. 1971. Effects of angiotensin on blood pressue and renal function in pregnant and non-pregnant rats. *Nephron.* 8:375-381.
- Siddigi, T.A., Austin, J.E., Holroyd, J.C. and Clark, K.E. 1983. Modulation of angiotensin II pressor responsiveness by circulating levels of angiotensin II in pregnant sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 145 : 458-464.
- Simonson, M.S. and Dunn, M.J. 1990. Cellular signaling by peptide of the endothelin gene family. *FASEB.* 4 : 2989-3000.
- 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.
- Slangen, B.F.M., Out, I.C.M., Verkeste, C.M. and Peeters, L.L.H. 1996. Hemodynamic change in early pregnancy in chronically instrumented, conscious rats. *Am. J. Physiol.* 270 : H 1779-H1784.
- Slangen, B.F.M., Out, I.C.M., Janssen, B.J.A. and Peeters, L.L.H. 1997a. Blood pressure and heart rate variability in early pregnancy in rats. *Am. J. Physiol.* 273 : H1794-H1799.
- Slangen, B.F.M., Van Ingen Schenau, D.S., Van Gorp, A.W., De Mey, J.G.R. and Peeters, L.L.H. 1997b. Aortic distensibility and compliance in conscious pregnant rats. *Am. J. Physiol.* 272 : H1260-H1265.
- Smalt, R., Mitchell, F.T., Howard, R.L. and Chambers, T.J. 1997. Induction of NO and prostaglandin E₂ 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.
- Smith, T.L. and Hutchins, P.M. 1979. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. *Hypertension. Dallas.* 1 :508-517.

- Smits, P., Williams, S.B., Lipson, D.E., Banitt, P., Rongen, G.A. and Creager, M.A. 1995. 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.
- Spitz, B., Deckmyn, H., Van Assche, F.A. and Vermylen, J. 1983. Prostacyclin production in whole blood throughout normal pregnancy. *Clin. Exper. Hyper.-Hyper. In pregnancy*. **B2**(2) : 191-202.
- Stice, S.L., Ford, S.P., Rosazza, J.P. and Van Orden, D.E. 1987. Interaction of 4-hydroxylated estradiol and potential-sensitive Ca^{2+} channels in altering uterine blood flow during the estrous cycle and early pregnancy in gilts. *Biol. Reprod.* **36** : 369-375.
- St-Louis, J. and Massicotte, G. 1985. Chronic decrease of blood pressure by rat relaxin in spontaneously hypertensive rats. *Life. Sci.* **37** : 1351-1357.
- St-Louis, J. and Sicotte, B. 1992. Prostaglandin- or endothelium-mediated vasodilation is not involved in the blunted responses of blood vessels to vasoconstrictors in pregnant rats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **116** : 684-692.
- 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.
- 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.
- Symonds, E.M. 1980. Aetiology of pre-eclampsia: a review. *J. Royal. Soc. Med.* **73** : 871-875.
- Symonds, E.M., Pipkin, F.B. and Craven, D.J. 1975. Changes in the renin-angiotensin system in primigravidae with hypertensive disease of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.* **82** : 643-650.
- Talledo, O.E., Chesley, L.C. and Zuspan, F.P. 1968. Renin-angiotensin system in normal and toxemic pregnancies III: differential sensitivity to angiotensin II and norepinephrine in toxemia of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **100** : 218-221.

- 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.
- Teeuw, A.H. and De jong, W. 1973. Time course of decrease in blood pressure and in blood pressure response to vasopressor agent during pregnancy in the rat. *Pfluegers. Arch.* 341:197-203.
- Toda, N. and Okamura, T. 1992. Regulation by nitroergic 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.
- Tseng, L. and Gurside, E. 1975. Effects of progestin on estradiol receptor levels in human endometrium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41 : 402.
- Tunbridge, R.D.G. and Donnai, P. 1981. Plasma noradrenaline in normal pregnancy and in hypertension of late pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 88 :105-108.
- Ueland, K. and Metcalfe, J. 1975. Circulatory change in pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 18 :41-50.
- Umans, J.G., Lindheimer, M.B. and Barron, W.M. 1990. Pressure effect of endothelium-derived relaxing factor inhibition in conscious virgin and gravid rats. *Am. J. Physiol.* 259 :F293-F296.
- 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.
- 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.
- Vatner, S.F., Knight, D.R. and Hintze, T.H. 1985. Norepinephrine-induced β_1 -adrenergic peripheral vasodilation in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 249(Heart Circ. Physiol. 18) : H49-H56.
- Venuto, R.C. and Donker, A.J.M. 1982. Prostaglandin E₂, plasma renin activity, and renal function throughout rabbit pregnancy. *J. Lab. Clin. Med.* 99 :239-246.

- 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.
- 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.
- Wakasugi, M., Noguchi, T., Kazama, Y.I., Kanemaru, Y. and Onay, T. 1989. The effects of sex hormones on the synthesis of prostacyclin (PGI₂) by vascular tissues. *Prostaglandins.* **37** : 401-410.
- Walter, E. 1977. The heart: a target organ for estradiol. *Science.* :319-321.
- 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, X., Shibamoto, T. and Miyahara, T. 1997b. Endothelin-1 selectively contracts portal vein through both ET_A and ET_B receptors in isolated rabbit liver. *Am. J. Physiol.* **273(Gastrointes. Liver Physiol. 36)** : G1036-G1043.
- 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.
- Weiner, C., Martinez, E., Zhu, L.K., Ghodsi, A. and Chestnut, D. 1989. *In vitro* release of endothelium-derived relaxing factor by acetylcholine is increased during the guinea-pig pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **161**:1599-1605.
- Weir, R.J., Brown, J.J., Fraser, R., Kraszewski, A., Lever, A.F., McIlwaine, G.M., Morton, J.J., Robertson, J.I.S. and Tree, M. 1973. Plasma renin, renin substrate, angiotensin II and aldosterone in hypertension disease of pregnancy. *Lancet.* **1** : 291-294.
- Weishaar, R.E., Panek, R.L., Major, T.C., Simmerman, J., Papundalo, 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.

- Williams, S.P., Shackelford, D.P., Iams, S.G. and Mustafa, S.J. 1988. Endothelium-dependent relaxation in estrogen-treated spontaneously hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* **145** : 205-207.
- Wynsberghe, D.V., Noback, C.R. and Carola, R. 1995. Human Anatomy and Physiology., 3rd ed., McGraw-Hill, Inc.
- Xu, D.L., Martin, P.Y., St-John, J., Tsai, P., Summer, S.N., Ohara, M., Kim, J.K. and Schrier, R.W. 1996. Upregulation of endothelial and neuronal constitutive nitric oxide synthase in pregnant rats. *Am. J. Physiol.* **271(6Pt2)** : R1739-R1745.
- 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.
- Yallampalli, C., Izumi, H., Byam-Smith, M. and Garfield, R. E. 1993. An L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate system exists in the uterus and inhibits contractility during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **170** : 175-185.
- 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. *et al.* 1988. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* **332** :411-415.
- Yang, D., Lang, U., Greenberg, S.G., Myatt, L. and Clark, K.E. 1996. Elevation of nitrate levels in pregnant ewes and their fetuses. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **174(2)** :573-577.
- 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.
- Ylikorkala, O. and Viinikka, L. 1980. Thromboxane A₂ in pregnancy and puerperium. *Br. Med. J.* **281** : 1601-1602.

- Ylikorkala, O., Makila, U. M. and Viinikka, L. 1981. Amniotic fluid-prostacyclin and thromboxane in normal, pre-eclamptic and some other complicated pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **141**:487-492.
- Yoshinaga, M., Chijiwa, Y., Misawa, T., Harada, N. and Nawata, H. 1992. Endothelin B 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.
- 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_2 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. 17β -estradiol attenuates voltage-dependent Ca^{2+} currents in A7r5 vascular smooth muscle cell line. *Am. J. Physiol.* **266**(Cell Physiol. **35**) : C975-C980.
- Zhang, R., Guth, P.H., Scremin, O.U., Singh, R., Pervin, S. and Chaudhuri, G. 1997. Regulation of endometrial blood flow in ovariectomized rats: assessment of the role of nitric oxide. *Am. J. Physiol.* **273**(Heart Circ. Physiol. **41**) : 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.
- Zhao, Y., Zang, W. and Wang, L. 1998. Changes of plasma nitric oxide and endothelin levels in normal pregnant women and pregnancy induced hypertension. *Chung. Hua. I. Hsueh. Tsa. Chih.* **78**(6) : 457-459.
- 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.

- Zimmerman, E.A., Nilaver, G., Hou-Yu, A. and Silverman, A.J. 1984. Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in central nervous system. *Fed. Proc.* **43** : 91.
- 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 α_1 - and α_2 - adrenoceptor activation. *J. Appl. Physiol.* **82**(6) : 1918-1925.
- 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., Edward, 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 ₂	1.9	mM
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.45	mM
KH ₂ PO ₄	1.18	mM
NaH ₂ CO ₃	25	mM
D-glucose	11.66	mM
Na ₂ EDTA	0.024	mM
Ascorbic acid	0.09	mM

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

	20 mM	40 mM	80 mM	120 mM
KCl (กรัมต่อลิตร)	1.491	2.982	5.694	8.946
NaCl (กรัมต่อลิตร)	5.997	4.830	2.490	1.580

3. Phenylephrine และ CHAPS ละลายด้วยสารละลายที่ประกอบด้วย

NaCl	6.62	กรัมต่อลิตร
NaH ₂ CO ₃	2.1	กรัมต่อลิตร
Ascorbic acid	0.009	กรัมต่อลิตร

4. N^G-nitro-L-arginine (LNA) ละลายด้วยสารละลายเครบส์

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางบุษยา ต่านเคชา

วัน เดือน ปีเกิด 7 มีนาคม 2510

วุฒิการศึกษา

วุฒิ

ชื่อสถาบัน

ปีที่สำเร็จการศึกษา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (พยาบาลและผดุงครรภ์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2531

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน พยาบาลวิชาชีพ หออภิบาลผู้ป่วย รพ.สงขลานครินทร์