

บทบาทของเนื้อเยื่อบุผิวและอุณหภูมิต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่

โชติ วีระวงษ์*

ราตรี สุดทรวง**

ประสาน ธรรมอุปกรณ***

วิไล ชินธเนศ****

Werawong C, Sudsuang S, Dhumma-Upakorn P, Chentanez V. Roles of epithelium and temperature on the activity of chicken bronchial smooth muscle. Chula Med 1989 Oct; 33 (10) : 753-765

The roles of epithelium and temperature on the activity of bronchial smooth muscle have been investigated in eighty-one chicken. Both bronchi were dissected and prepared into zig-zag strips. The isolated tissues were contracted using acetylcholine and histamine at 37 and 45°C. Present and absent epithelial smooth muscle activities were recorded and compared. It was found that, at 45°C the activities of both preparations were declined. At 37 and 45°C, acetylcholine induced significantly more contraction of present epithelium than of absent preparation. Similarly isoprenaline, theophylline and KCl induced relaxation of present epithelium much more than in absent epithelium. Indomethacin increased contraction of both preparations. Low concentrations of histamine induced weak contraction mediated via H1 receptor. High concentration (10^{-3} M) produced initial contraction followed by relaxation mediated via prostaglandin. High dose of histamine (10^{-2} M) after indomethacin decreased relaxation mediated by contraction which was not mediated via H1 receptor nor prostaglandin. More studies are required to illuminate the detailed mechanism.

Reprint request : Sudsuang R, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. August 12, 1989.

* สหสาขาวิชาสรีรวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาเกี่ยวกับกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจ เพิ่งจะเริ่มสนใจศึกษาอย่างจริงจังในระยะ 4-5 ปีที่ผ่านมา ซึ่งพบว่ามียาหลายอย่างที่มีผลต่อการหดตัวและคลายตัว เช่น mediators ต่างๆ ระบบประสาทและเนื้อเยื่อบุผิว (epithelium) จากการศึกษาในคนที่ เป็นโรคหอบหืด พบว่ามีการทำลายของเนื้อเยื่อบุผิวทุกส่วนของทางเดินหายใจ⁽¹⁾ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด เช่น สุนัข⁽²⁾ หนูตะเภา⁽³⁾ หนูแรท⁽⁴⁾ และในคน⁽⁵⁾ เมื่อขาดเนื้อเยื่อบุผิวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจออก และให้สารที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวจะมีผลทำให้การหดตัวเพิ่มขึ้น มีผู้เสนอแนะว่าเนื้อเยื่อบุผิวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจน่าจะสร้างสารที่มีผลต่อการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจ ซึ่งมีรายงานว่าถ้าเพิ่มอุณหภูมิร่างกายของไก่สูงถึง 45° ซ. จะทำให้ไก่หายใจเร็วขึ้นมาก⁽⁷⁾ คณะผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาถึงภาวะที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวต่อการหดตัวและการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจในไก่ ซึ่งเป็นสัตว์ปีกที่ไม่มีผู้ใดเคยศึกษามาก่อน และศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการขาดเนื้อเยื่อบุผิวกับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่ ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่ในภาวะปกติ ซึ่งอาจนำไปเป็นแนวทางในการศึกษาต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง ใช้ไก่เล็กฮอร์น (leghorn) เพศผู้ อายุประมาณ 6-8 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 600-800 กรัม นำมาฉีดให้สลบโดยใช้ pentobarbital sodium 30 มก./กก. น้ำหนักตัว เปิดช่องอก ตัดเอาหลอดลม (primary bronchus) ออกทั้ง 2 ข้าง ขูดเนื้อเยื่อบุผิวเฉพาะข้างใดข้างหนึ่งโดยใช้ไม้พันสำลีถูเบา ๆ ยืนยันผลการขูดเนื้อเยื่อว่าหลุดหมดหรือไม่โดยหลังจากสิ้นสุดการทดลองแล้ว นำชิ้นเนื้อไปศึกษาทางวิทยาสโต ตัดหลอดลมเป็นรูป zig-zag⁽⁸⁾ แช่ใน water jacketed organ bath ภายในบรรจุด้วย modified Krebs-Hanseliet solution (MKH) ซึ่งประกอบด้วย NaCl = 113 mM, KCl = 4.8 mM, CaCl₂ = 2.5 mM, KH₂PO₄ = 1.2 mM, MgSO₄ = 1.2 mM, NaHCO₃ = 25 mM และ glucose = 5.5 mM มีออกซิเจน 95% และคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ผ่าน บันทึกการหดตัวด้วย Dynograph type R (Beckman) โดยใช้ isometric transducer ซึ่งปรับให้ตั้งขึ้นเนื้อด้วยน้ำหนัก 1 กรัม

2. สารที่ใช้ในการศึกษา

2.1 สารทำให้หลอดลมหดตัวได้แก่ acetylcholine (Ach) และ histamine

2.2 สารที่ทำให้หลอดลมคลายตัวได้แก่ isoprenaline, theophyllin และ KCl

2.3 สารที่ใช้เป็น antagonist ได้แก่ verapamil, indomethacin, propranolol และ diphenhydramine

3. วิธีการทดลอง

3.1 ศึกษาการหดตัวโดยใช้ Ach ที่อุณหภูมิ 37° ซ. ทำ cumulative dose-response curve โดยใช้เทคนิคของ Van Rossum⁽⁹⁾ หาค่า Ach ที่ทำให้เกิดการหดตัวสูงสุดซึ่งจะใช้ความเข้มข้นนี้เป็นมาตรฐานในการศึกษาสารที่ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวตามข้อ 2.2 ทำ cumulative dose-response curve ของสารแต่ละอย่างเช่นเดียวกัน

ต่อมาทำการทดลองซ้ำข้อ 3.1 แต่เปลี่ยนอุณหภูมิเป็น 45° ซ.

3.2 ศึกษาการหดตัวโดยใช้สารที่เป็น antagonist ก่อนให้ Ach ที่อุณหภูมิ 37° ซ. ทำ cumulative dose response curve ของ Ach ล้างออก 3-5 ครั้ง แซ่ทิ้งไว้ 30 นาที ใส่สารที่เป็น antagonist อย่างใดอย่างหนึ่งคือ indomethacin หรือ verapamil ก่อน 15 นาที แล้วใส่ Ach ทำ cumulative dose-response curve

ต่อมาทำการทดลองซ้ำที่อุณหภูมิ 45° ซ.

3.3 ศึกษาการหดตัวโดยใช้สาร histamine ทำ cumulative dose-response curve ที่อุณหภูมิ 37° ซ. และ 45° ซ.

3.4 ศึกษากลไกของการหดตัวและการคลายตัวจากการให้ histamine โดยใช้ cumulative dose-response curve ของ histamine ที่อุณหภูมิ 37° ซ. เป็นค่าควบคุม (control) ต่อจากนั้นศึกษาสารที่เป็น antagonist ที่ละลายได้แก่ propranolol, diphenhydramine, indomethacin และ indomethacin ร่วมกับ diphenhydramine

ผล

1. ผลของ Ach ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวที่อุณหภูมิ 37° ซ. และ 45° ซ. จากรูปที่ 1 จะเห็นว่าการหดตัวเริ่มมีขึ้นหลังจากให้ Ach ขนาด 10⁻⁷ M ที่อุณหภูมิ 37° ซ. และ 10⁻⁵ M ที่อุณหภูมิ 45° ซ. เมื่อเพิ่มขนาดขึ้นการหดตัวจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และหดมากที่สุด

ที่ขนาด 10^{-2} M ที่อุณหภูมิ 37°ซ. และ 45°ซ. กล้ามเนื้อที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังหดตัวได้น้อยกว่าที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังในอุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) ที่อุณหภูมิ

45°ซ. การหดตัวของกล้ามเนื้อทั้งที่มีเนื้อเยื่อผิวหนัง และไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 37°ซ. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) (รูปที่ 1)

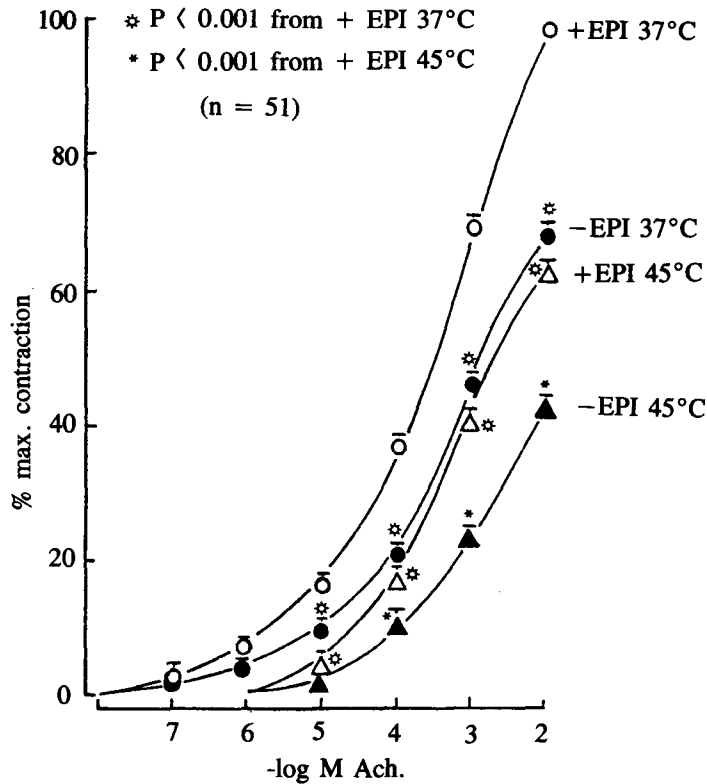


Figure 1. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by acetylcholine (Ach) at 27 and 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

2. ผลของสารที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวหลังจากทำให้หดตัวด้วย Ach ขนาด 10^{-2} M

2.1 ผลของ isoprenaline จากรูปที่ 2 จะเห็นว่า isoprenaline ขนาด 10^{-9} M เริ่มทำให้กล้ามเนื้อเรียบที่มีและไม่มีเยื่อผิวหนังคลายตัว และขนาด 10^{-5} M ทำให้คลายตัวมากที่สุด ที่อุณหภูมิ 37° และ 45°ซ. ก็ได้ผลเช่นเดียวกันแต่ที่อุณหภูมิ 37°ซ. และมีเนื้อเยื่อผิวหนังจะคลายตัวได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่างที่มีเยื่อผิวหนังและไม่มี พบว่ากล้ามเนื้อที่ไม่มีเยื่อผิวหนังจะคลายตัวน้อยกว่าที่มีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 45°ซ. ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน (รูปที่ 2)

2.2 ผลของ theophylline จากรูปที่ 3 จะเห็นว่า theophylline ขนาด 10^{-7} M ที่ 37°ซ. และ 10^{-6} M ที่ 45°ซ. ทำให้กล้ามเนื้อเรียบเริ่มคลายตัว และขนาด 10^{-3} M ทำให้คลายตัวได้มากที่สุดในกล้ามเนื้อทั้ง 4 กลุ่ม ที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังและที่อุณหภูมิ 37° และ 45°ซ. ที่อุณหภูมิ 37°ซ. กล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังจะคลายตัวได้มากที่สุด ซึ่งมากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 45°ซ. ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน (รูปที่ 3)

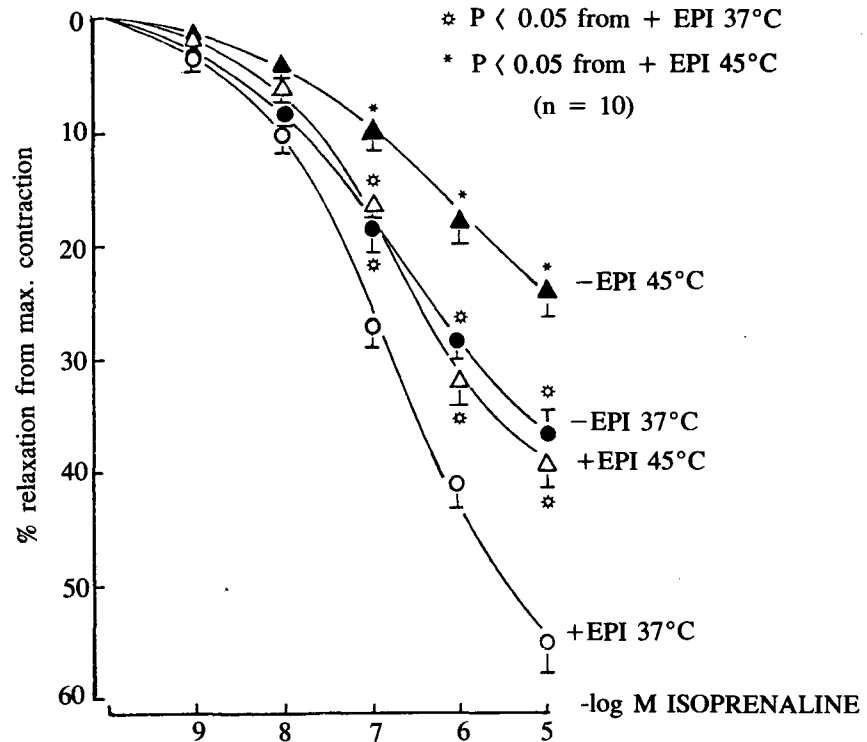


Figure 2. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by isoprenaline after maximal contraction by acetylcholine 10^{-2} M, at 37 and 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

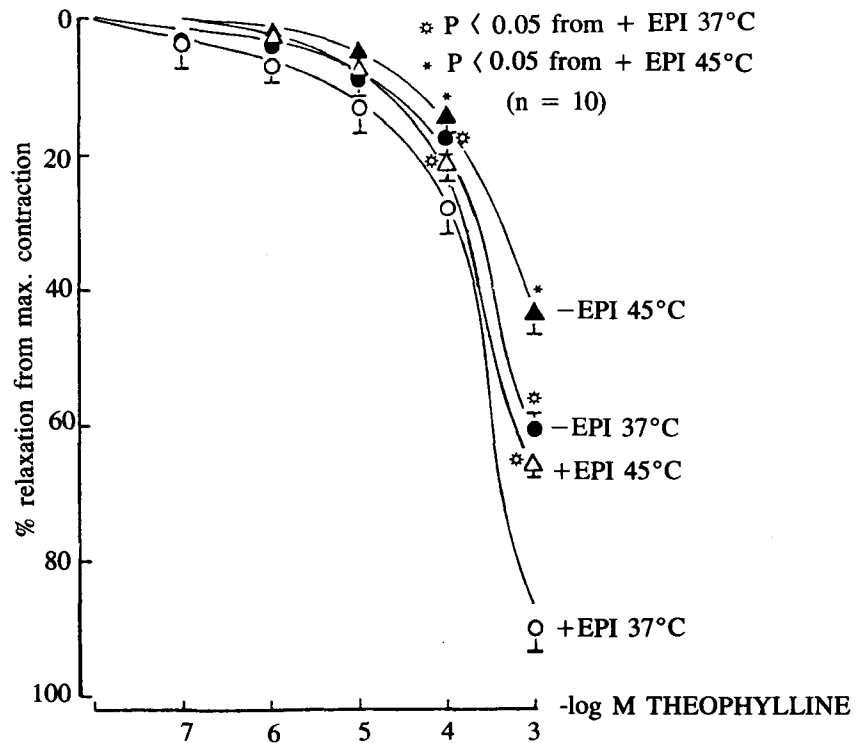


Figure 3. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by theophylline after maximal contraction by acetylcholine 10^{-2} M, at 37 and 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

2.3 ผลของ KCl พบว่า KCl ขนาด 10 mM ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวและคลายตัวมากที่สุดที่ขนาด 100 mM ที่อุณหภูมิ 37°ซ. กล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังจะคลายตัวได้มากที่สุด มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 mM ที่อุณหภูมิ 45°ซ. ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน (รูปที่ 4)

3. ผลของการให้สาร antagonist ก่อนให้ Ach แบบ cumulative dose

3.1 ผลของ indomethacin พบว่าการให้ indomethacin ก่อนให้ Ach ที่อุณหภูมิ 37°ซ. ทำให้การหดตัวที่เกิดจาก Ach เพิ่มมากขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ให้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และการหดตัวของกล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังจะมากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้นของ Ach 10^{-4} ถึง 10^{-2} M (รูปที่ 5) ปฏิกิริยาการหดตัวเกิดขึ้นคล้ายคลึงกันในอุณหภูมิ 45°ซ. (รูปที่ 6) แต่ความแรงของการหดตัวน้อยกว่า

3.2 ผลของ verapamil พบว่าการให้ verapamil ก่อนให้ Ach ที่อุณหภูมิ 37°ซ. ทำให้การหดตัวที่เกิดจาก Ach ลดน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ให้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้นของ Ach 10^{-5} ถึง 10^{-2} M (รูปที่ 7) ปฏิกิริยาการหดตัวเกิดขึ้นคล้ายคลึงกันที่อุณหภูมิ 45°ซ. (รูปที่ 8) แต่ความแรงของการหดตัวน้อยกว่า

4. ผลของ histamine ต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ จากรูปที่ 9 จะเป็นว่ากล้ามเนื้อเริ่มหดตัวเมื่อได้รับ histamine 10^{-6} M ที่ 37°ซ. และ 10^{-5} M ที่ 45°ซ. ที่ความเข้มข้น 10^{-3} M กล้ามเนื้อเรียบทั้งสองกลุ่มจะหดตัวและตามด้วยการคลายตัวทันที (biphasic response) และที่ความเข้มข้น 10^{-2} M กล้ามเนื้อจะคลายตัวได้มากที่สุด และยังพบว่ากล้ามเนื้อเรียบที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังของทั้งสองกลุ่มหดตัวหรือคลายตัวได้น้อยกว่ากล้ามเนื้อเรียบที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

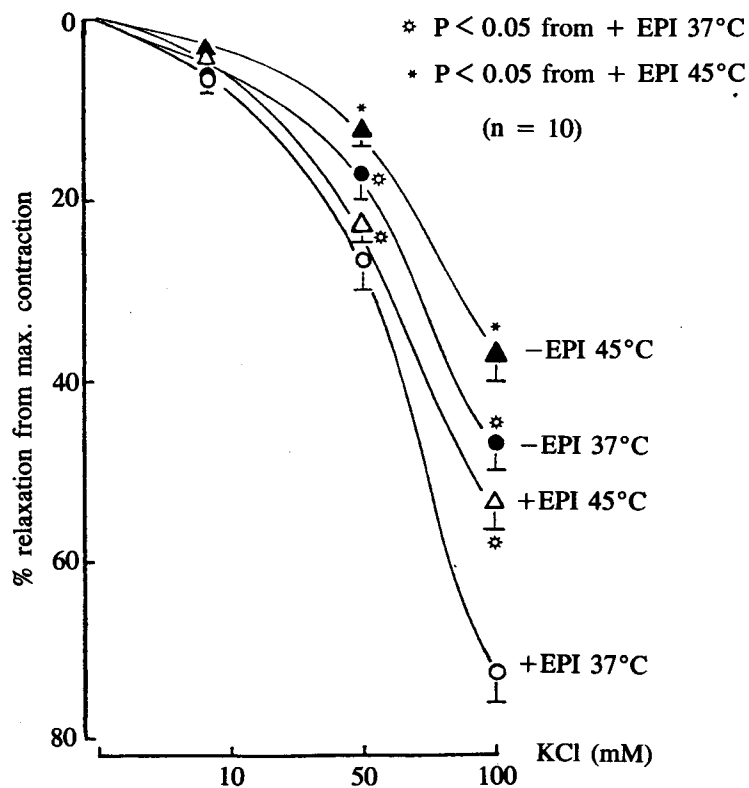


Figure 4. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by KCl after maximal contraction by acetylcholine 10^{-2} M, at 37 and 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

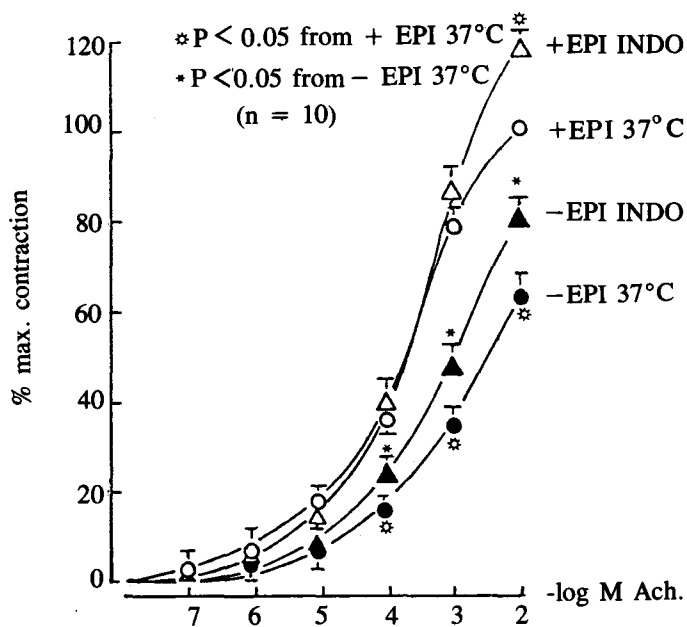


Figure 5. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by acetylcholine (Ach) alone and Ach after indomethacin 10^{-2} M, at 37°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

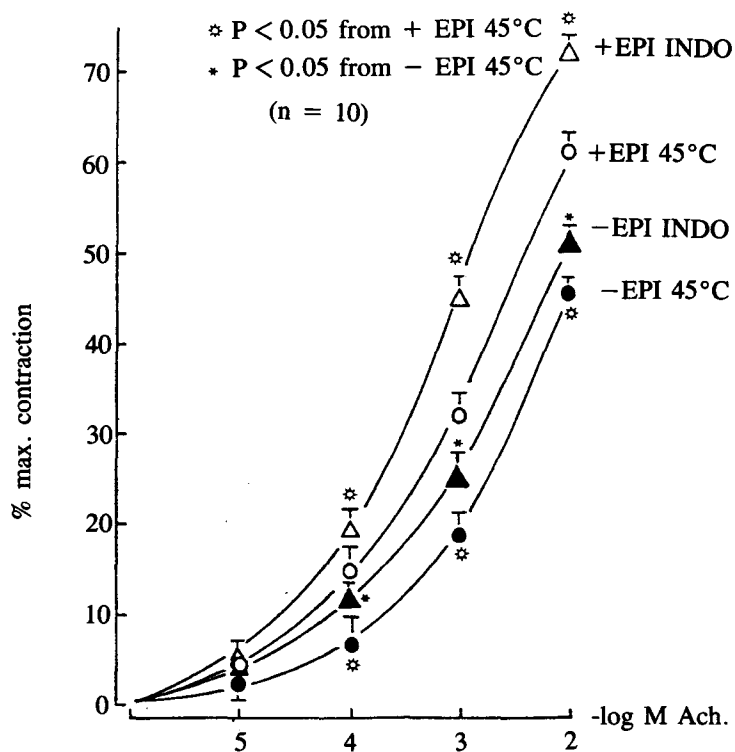


Figure 6. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by acetylcholine (Ach) alone and Ach after indomethacin 10^{-2} M, at 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE. % max. contraction used from 37°C.

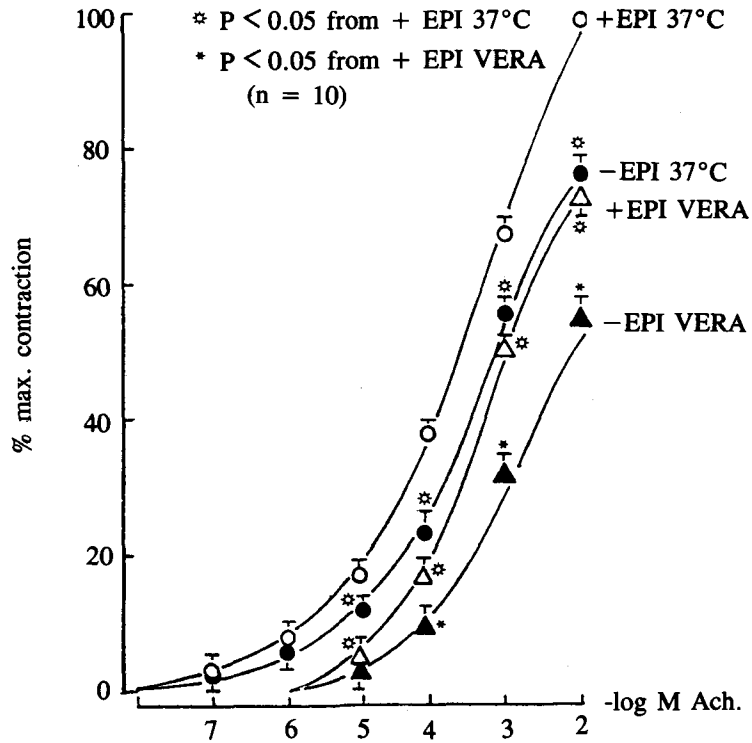


Figure 7. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by acetylcholine (Ach) alone and Ach after verapemil (VERA) 10^{-6} M, at 37°C. Bar graphs represent mean \pm SE.

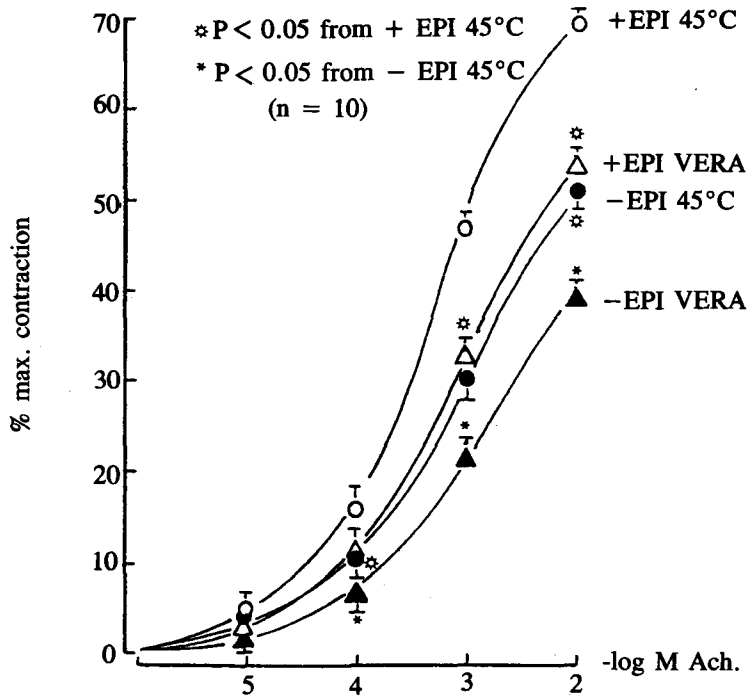


Figure 8. Cumulative log dose-response curve recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by acetylcholine (Ach) alone and Ach after verapemil (VERA) 10^{-6} M, at 45°C. Bar graphs represent mean \pm SE. % max contraction used from 37°C.

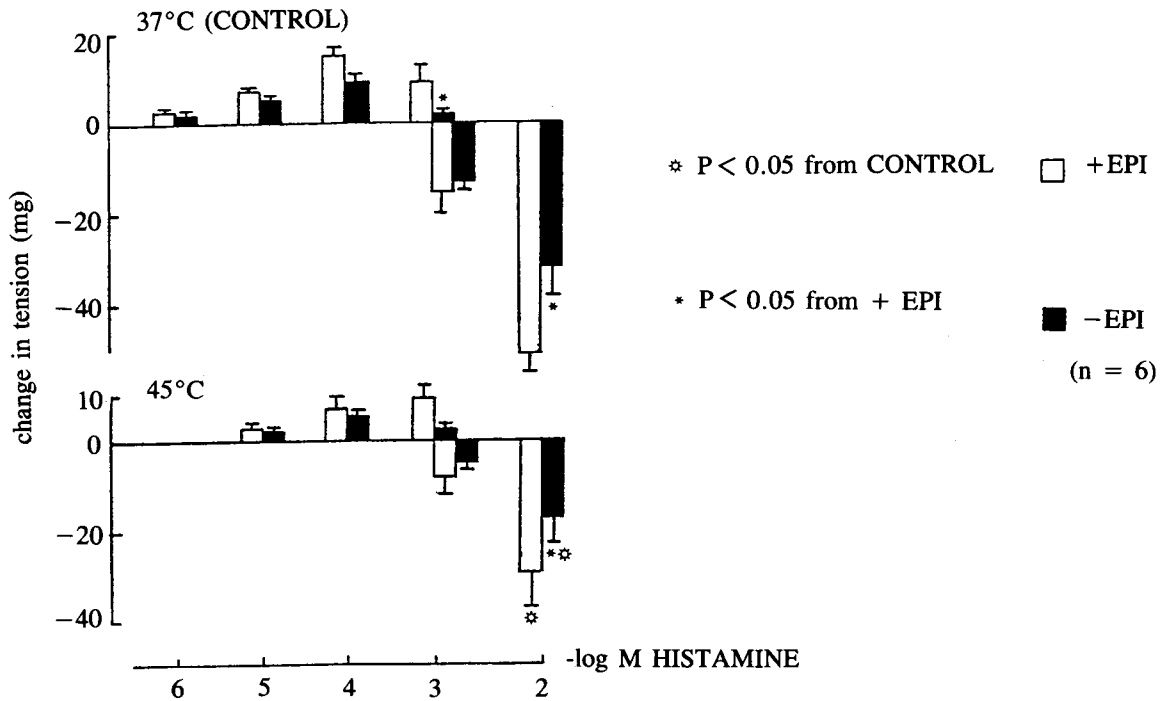


Figure 9. Cumulative log dose-response histogram recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by histamine at 37°C (above) and 45°C (below). Bar graphs represent mean ± SE.

5. ศึกษากลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก histamine ที่อุณหภูมิ 37°C. โดยให้ antagonist ก่อนให้ histamine แบบ cumulative dose

5.1 ผลของ propranolol การให้ propranolol ขนาด 10⁻⁵ M ก่อนให้ histamine ปรากฏว่าได้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม

5.2 ผลของ diphenhydramine จากรูปที่ 10 จะเห็นว่า การให้ diphenhydramine ขนาด 10⁻⁵ M ก่อนให้ histamine ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อทั้งที่มีเนื้อเยื่อบุผิวและไม่มีลดลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) แต่การคลายตัวไม่เปลี่ยนแปลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

5.3 ผลของ indomethacin จากรูปที่ 11 จะเห็นว่า การให้ indomethacin ก่อนให้ histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 10⁻⁶ - 10⁻⁴ M ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 10⁻³ M จะคลายตัวได้น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(p < 0.05) และขนาดความเข้มข้น 10⁻² M พบว่ากล้ามเนื้อเรียบทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวจะคลายตัวและตามด้วยการหดตัวทันที (biphasic response) และการคลายตัวจะน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) กล้ามเนื้อที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวคลายตัวน้อยกว่าที่มีเนื้อเยื่อบุผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การหดตัวที่ตามมาหลังการคลายตัวในขนาดความเข้มข้น 10⁻² M นี้จะพบเฉพาะในกลุ่มทดลองเท่านั้น

5.4 ผลของ indomethacin ร่วมกับ diphenhydramine จากรูปที่ 12 จะเห็นว่า การให้สาร 2 ตัวนี้ร่วมกันก่อนให้ histamine ทำให้ทั้งการหดตัวและการคลายตัวของกล้ามเนื้อทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวลดลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) และที่ขนาดความเข้มข้น 10⁻² M พบว่ากล้ามเนื้อเรียบทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวจะคลายตัวและตามด้วยการหดตัวทันที ซึ่งการหดตัวที่ขนาดความเข้มข้นนี้จะพบในกลุ่มทดลองเท่านั้น

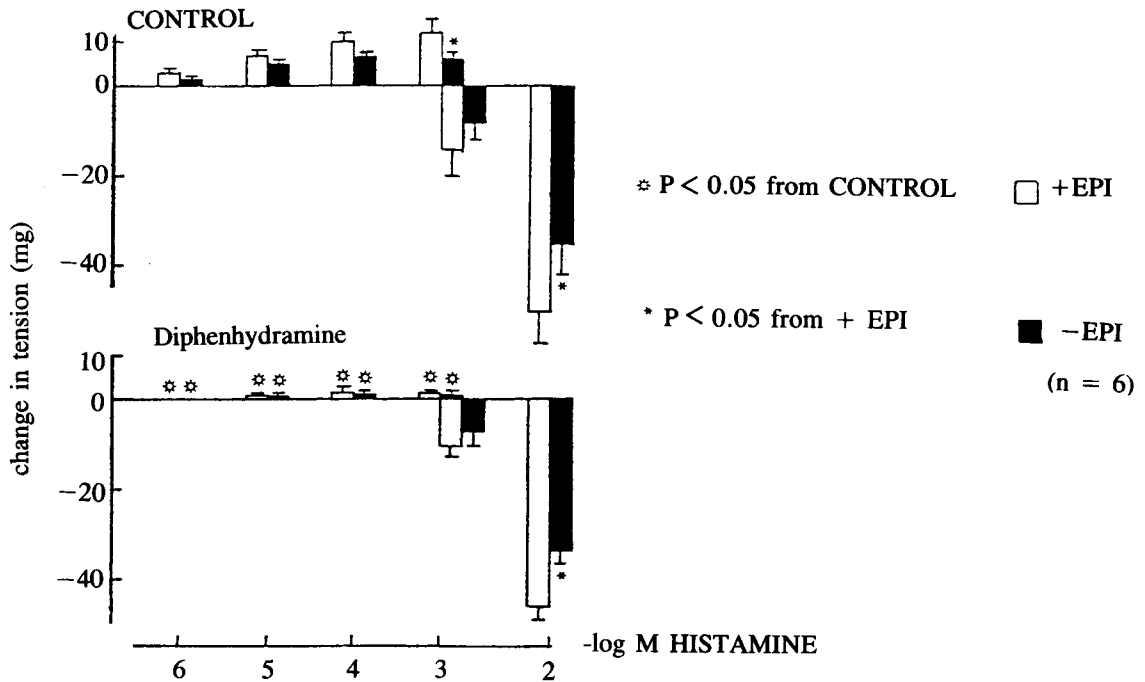


Figure 10. Cumulative log dose-response histogram recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by histamine alone (above) and histamine after diphenhydramine 10^{-5} M (below), at 37°C . Bar graphs represent mean \pm SE.

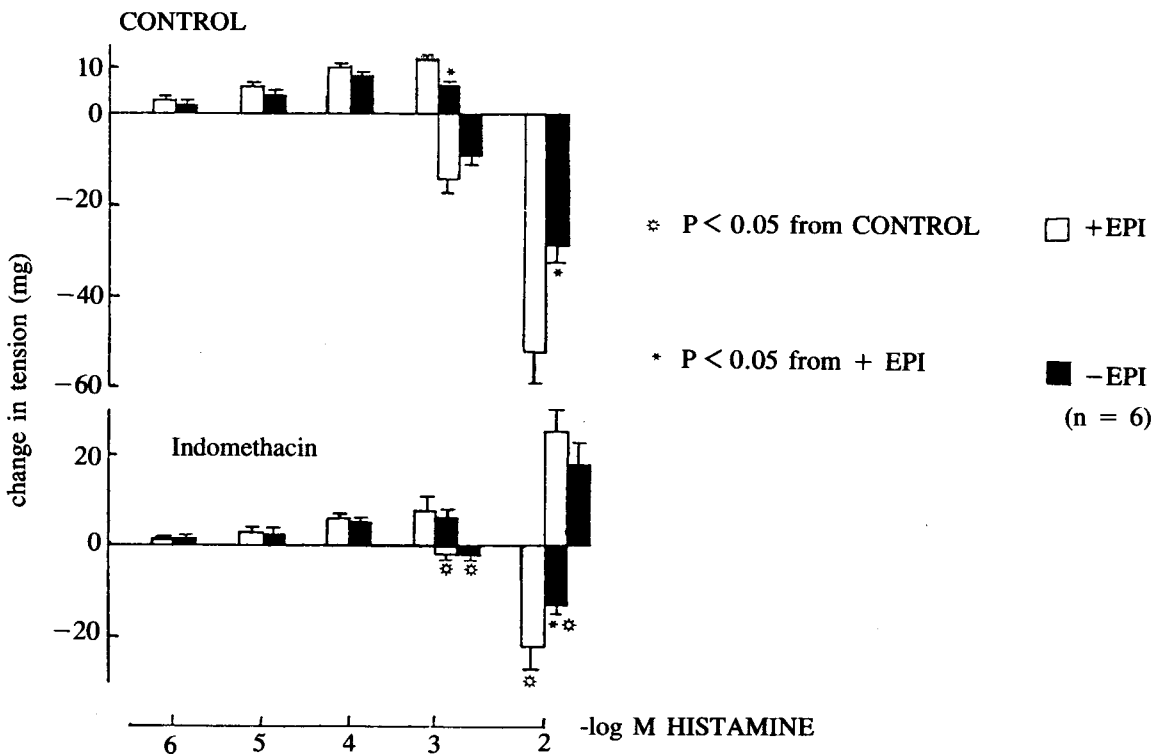


Figure 11. Cumulative log dose-response histogram recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by histamine alone (above) and histamine after indomethacin 10^{-5} M (below), at 37°C . Bar graphs represent mean \pm SE.

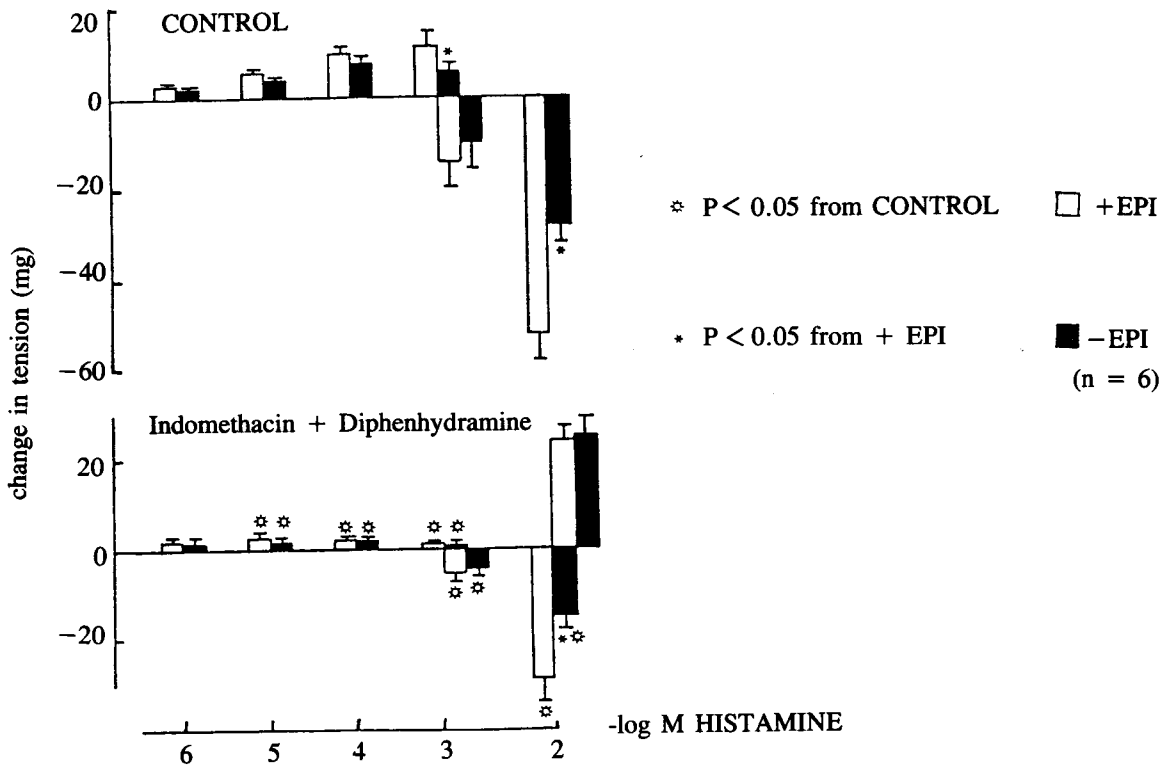


Figure 12. Cumulative log dose-response histogram recorded from stimulation of chicken bronchial smooth muscle which present (+ EPI) and absent (- EPI) epithelium by histamine alone (above) and histamine after diphenhydramin 10^{-5} M plus indomethacin 10^{-5} M, at 37°C . Bar graphs represent mean \pm SE.

วิจารณ์

จากการทดลองพบว่าทั้ง Ach และ histamine ทำให้หลอดลมไก่หดตัว (รูปที่ 1,9) กลไกในการหดตัวเชื่อว่าผ่านทางระบบ phosphoinositide ตามที่ Leff⁽¹⁰⁾ ได้แนะนำไว้ การขูดเนื้อเยื่อบุผิวออกทำให้หลอดลมหดตัวและคลายตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1-12) เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าเนื้อเยื่อบุผิวมีหน้าที่ป้องกันสารและสิ่งแปลกปลอมที่จะมาระคายเคืองต่อกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินหายใจ เช่น พวกแบคทีเรียหรือไวรัส ดังนั้นเมื่อขูดเนื้อเยื่อบุผิวออกกล้ามเนื้อเรียบรวมทั้งเซลล์ประสาทที่มาเลี้ยงจะถูกกระทบได้ง่ายขึ้น ในผู้ป่วยที่เป็นโรคหอบหืดพบว่าเนื้อเยื่อบุผิวถูกทำลายอย่างมาก⁽¹⁾ จากการค้นพบว่าเนื้อเยื่อบุผิวมีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจ จึงมีผู้เสนอแนะว่า เนื้อเยื่อบุผิวน่าจะสร้างและหลั่งสารบางอย่างที่มีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อ⁽¹¹⁾ ต่อมาเมื่อพบว่าเนื้อเยื่อบุผิวหลั่ง prostaglandin E₂ (PGE₂) ซึ่งมีผลลดการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นประสาทเวกัส⁽¹²⁾ นอกจากนี้ยังหลัง

สารพวก eicosanoid ซึ่งมีผลทางอ้อมต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจ⁽¹³⁾ ตัวอย่างเช่น 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็น lipoxin ที่มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว⁽¹²⁾ จากการศึกษากล้ามเนื้อเรียบที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น โค หนูตะเภา กระต่าย และคน พบว่าสารที่ทำให้เกิดการหดตัว เช่น acetylcholine, 5-hydroxytryptamine และ histamine ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวเพิ่มขึ้น แต่ KCl ทำให้กล้ามเนื้อเรียบที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวหดตัวได้ไม่แตกต่างกัน มีหลายรายงานพบว่า indomethacin สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจที่มีเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าไม่มีเนื้อเยื่อบุผิว^(2,15,16) เช่นเดียวกับผลการทดลองในหลอดลมไก่จากการศึกษานี้ (รูปที่ 5,6) แต่มีบางรายงานที่ขัดแย้ง เช่น พบว่าในหนูตะเภา indomethacin ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมที่มีเนื้อเยื่อบุผิวหดตัวน้อยกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิว⁽¹⁷⁾ ดังนั้นจึงมีผู้เสนอแนะว่าเนื้อเยื่อบุผิวน่าจะสร้างและหลั่งสารที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดและคลายตัว

อยู่รวมกัน⁽⁶⁾ ซึ่งมีรายงานที่สนับสนุน เช่น จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบุผิวในคนและสุนัข พบสารที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวได้แก่ PGE_2 และสารที่ทำให้หดตัวได้แก่ $PGF_2 \alpha$, TxB_2 ⁽¹⁸⁾ และ leukotriene⁽¹³⁾ การศึกษาเกี่ยวกับ receptor พบว่าหลอดลมหนูตะเภาที่มีเนื้อเยื่อบุผิวมี beta receptor มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้หลอดลมที่มีเนื้อเยื่อบุผิวคลายตัวได้มากกว่าเมื่อให้ isoprenaline⁽³⁾ จากการทดลองนี้พบว่า การให้ isoprenaline ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่ทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวคลายตัว แต่กล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อบุผิวจะคลายตัวได้มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิว (รูปที่ 2) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่เนื้อเยื่อบุผิวของหลอดลมไก่สามารถสร้างสารที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวและคลายตัว ซึ่งน่าจะเป็น mediators ต่าง ๆ และนอกจากนี้เนื้อเยื่อบุผิวน่าจะมี receptor ต่าง ๆ มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิว จึงสามารถตอบสนองต่อสารต่าง ๆ ได้มากกว่า

เกี่ยวกับอุณหภูมิพบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่ทำงานลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และต้องใช้ความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นเนื้อเยื่อจึงจะเริ่มตอบสนอง (รูปที่ 1-4, 6, 8 และ 9) มีรายงานว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ resting membrane potential ของหลอดลมหนูตะเภาที่มีค่าเป็นลบมากขึ้น ดังนั้นกล้ามเนื้อเรียบจะตอบสนองต่อสารต่าง ๆ ลดลง^(19,20) และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลต่อการสร้างและหลัง mediators บางอย่างเช่น prostaglandin และ leukotriene ด้วย⁽¹⁹⁾

การให้ theophylline ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่คลายตัวโดยที่กล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อบุผิวจะคลายตัวได้มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อบุผิว และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้น ทำให้การคลายตัวลดลง (รูปที่ 3) กลไกในการคลายตัวที่เกิดจาก theophylline ยังไม่มีผู้ใดอธิบายกลไกระดับเซลล์ได้แน่ชัด แต่มีรายงานว่า theophylline ด้านฤทธิ์ของ adenosine triphosphate⁽²¹⁾ และมีผลต่อการเคลื่อนย้ายของแคลเซียมในเซลล์ ซึ่งทำให้กล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจคลายตัว⁽¹⁰⁾ การให้ KCl ก็ได้ผลคล้ายกันคือทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่คลายตัว (รูปที่ 4) ซึ่งต่างจากรายงานอื่นที่ศึกษาในสัตว์ชนิดอื่น ยกเว้นหลอดลมกระต่าย⁽⁵⁾ การที่มีผลแตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของเนื้อเยื่อในสัตว์แต่ละชนิด (species different) ซึ่งกลไกที่แท้จริงยังไม่สามารถอธิบายได้เช่นเดียวกับ theophylline

การให้ indomethacin ทำให้หลอดลมไก่ทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวหดตัวเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 5,6) จากการศึกษานี้ในคนและสุนัขพบว่าเนื้อเยื่อบุผิวหลัง mediator หลายอย่างรวมทั้ง PGE_2 ด้วย^(22,23) ในหลอดลมหนูตะเภา Ach กระตุ้นให้มีการหลั่ง PGE_2 และ PGF_2 ^(24,25) ดังนั้นอาจอธิบายได้ว่า prostaglandin น่าจะมีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวเมื่อให้ indomethacin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง prostaglandin ทำให้ยับยั้งการคลายตัวฤทธิ์การหดตัวจึงเด่นชัดขึ้น

การให้ verapamil ทำให้ลดการหดตัวของหลอดลมทั้งที่มีและไม่มีเนื้อเยื่อบุผิวที่เกิดจากการให้ Ach (รูปที่ 7,8) เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าแคลเซียมเป็นสารที่สำคัญในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ verapamil ซึ่งมีผลในการยับยั้งไม่ให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์⁽²⁶⁾ จึงทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้ลดลง

การให้ histamine ร่วมกับ propranolol ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดลมไก่ที่เกิดจากการให้ histamine อย่างเดียว แสดงว่า histamine ไม่น่าจะมีผลทำให้เกิดการหลั่ง catecholamine เหมือนอย่างที่มียารายงานในต่อมหมวกไตของสุนัข⁽²⁷⁾ หรือกระเพาะอาหารของหนูตะเภา⁽²⁸⁾ แต่การให้ diphenhydramine ซึ่งเป็น H_1 receptor antagonist สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการให้ histamine แต่การคลายตัวไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 10) การให้ indomethacin ร่วมกับ histamine สามารถลดการคลายตัวที่เกิดจาก histamine ขนาดความเข้มข้นสูง ๆ (รูปที่ 11) มีรายงานว่า histamine กระตุ้นให้มีการหลั่ง PGE_2 และ PGF_2 จากหลอดลมของหนูตะเภา⁽²⁴⁾ แต่ไม่มีรายงานว่า histamine ทำให้เกิด biphasic response เหมือนการทดลองในหลอดลมไก่นี้ การให้ indomethacin ร่วมกับ histamine ในขนาดความเข้มข้น 10^{-2} M ทำให้หลอดลมหดตัวหลังจากการคลายตัว ซึ่งคิดว่าอาจเกิดเนื่องจากการกระตุ้นผ่านทาง H_1 receptor จึงให้ diphenhydramine ร่วมไปด้วยดังรูปที่ 12 แต่พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวที่เกิดหลังจากการให้ histamine ขนาด 10^{-2} M แสดงว่าการหดตัวในขนาดนี้ไม่ได้ผ่านทาง H_1 receptor และ prostaglandin ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าการหดตัวที่เกิดจาก histamine ความเข้มข้นต่ำ ๆ น่าจะผ่านทาง H_1 receptor โดยไม่ผ่านทาง beta receptor ที่ความเข้มข้น 10^{-3} M เกิด biphasic response อาจเนื่องจากการกระตุ้นให้สร้างสาร

ที่ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวและคลายตัวอยู่ร่วมกัน ความเข้มข้น 10^{-2} M ก็เช่นเดียวกัน แต่สารที่มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวน่าจะมีมากกว่าซึ่งอาจเป็นสารกลุ่ม prostaglandin เนื่องจากสามารถยับยั้งได้ด้วย indomethacin ซึ่งทำให้ฤทธิ์การหดตัวเด่นชัดขึ้น สารที่ทำให้เกิดการหดตัวอาจเป็นพวก neuropeptides หรือ mediators อื่น ๆ ก็ได้โดยเฉพาะ leukrienes ซึ่งน่าจะได้มีการศึกษาวิจัยต่อไป

สรุป

จากการศึกษาบทบาทของเนื้อเยื่อผิวหนังและอุณหภูมิ ต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่ พบว่าที่อุณหภูมิ 45° C. การทำงานของกล้ามเนื้อเรียบทั้งสองสภาวะลดลง

อ้างอิง

- Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985 Apr; 131(4) : 599-606
- Flavahan NA, Aarhus LL, Rimele TJ, Vanhoutte PM. Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J Appl Physiol* 1985 Mar; 58(3) : 834-8
- Goldie RG, Papadimitriou JM, Paterson JW, Rigby PJ, Self HM, Spina D. Influence of the epithelium on responsiveness of guinea-pig isolated trachea to contractile and relaxant agonists. *Br J Pharmacol* 1986 Jan; 87(1) : 5-14
- Frossard N, Muller F. Epithelial modulation of tracheal smooth muscle responses to antigenic stimulation. *J Appl Physiol* 1986 Apr; 61(4) : 1449-56
- Raeburn D, Hay DW, Farmer SG, Fedan JS. Epithelium removal increases the reactivity of human isolated tracheal muscle to methacholine and reduces the effect of verapamil. *Eur J Pharmacol* 1986 Apr; 123(3) : 451-3
- Cuss FM, Barnes PJ. Epithelial mediators. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136 Suppl; s33-s35
- Bell DJ, Freeman BM. *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. London; Academic Press, 1971. 1115-45
- Emmerson J, Mackay D. The zig-zag tracheal strip. *J Pharm Pharmacol* 1979 Nov; 31(11) : 798
- Van Rossum JM, Hurkmans JAM, Wolters CJJ. Cumulative dose-responses. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameter. *Arch Int Pharmacodyn* 1963; 143(3-4) : 299-30
- Leff AR. Endogenous regulation of bronchomotor tone 1-3. *Am Rev Respir Dis* 1988 May; 137(5) : 1198-216
- Nadel JA. Some epithelial metabolic factors affecting airway smooth muscle. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138 Suppl; s22-s23
- Walters EH, O'Byrne PM, Fabbri LM, Graf PD, Holtzman MJ, Nadel JA. Control of neurotransmission by prostaglandins in canine trachealis smooth muscle. *J Appl Physiol* 1984 Jul; 57(1) : 129-34
- Holtzman MJ, Aizawa H, Nadel JA, Goetzl EJ. Selective generation of leukotriene B₄ by tracheal epithelial cells from dogs. *Biochem Biophys Res Commun* 1983 Aug 12; 114(3) : 1071-6
- Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B. Lipoxins: novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 Sep; 81(17) : 5335-9
- Holroyde MC. The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. *Br J Pharmacol* 1986 Mar; 87(3) : 501-7

กล้ามเนื้อที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังสามารถหดตัวได้มากกว่าที่ไม่มีเนื้อเยื่อผิวหนังถ้าให้ acetylcholine การให้ isoprenaline, theophylline และ KCl ทำให้กล้ามเนื้อเรียบที่มีเนื้อเยื่อผิวหนังคลายตัวได้มากกว่าที่ไม่มี Histamine ที่ความเข้มข้น 10^{-6} ถึง 10^{-4} M ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว แต่ความเข้มข้น 10^{-3} M กล้ามเนื้อหดตัวและตามด้วยการคลายตัว ความเข้มข้น 10^{-2} M กล้ามเนื้อคลายตัวอย่างเดียว กลไกเชื่อว่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ เกิดจากการกระตุ้น H₁ receptor และการคลายตัวน่าจะผ่านทาง prostaglandin ที่ความเข้มข้น 10^{-2} M หลังการให้ indomethacin จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวลดลงแล้วตามด้วยการหดตัวทันที ซึ่งเชื่อว่าจะไม่ได้ผ่านทาง H₁ receptor หรือ prostaglandin แต่อาจเกิดจาก mediator อื่น ๆ

16. Hay DW, Farmer SG, Raeburn D, Robinson VA, Fleming WW, Fedan JS. Airway epithelium modulates the reactivity of guinea-pig respiratory smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1986 Jan; 129(1) : 11-8
17. Murlas C. Effects of mucosal removal on guinea-pig airway smooth muscle responsiveness. *Clin Sci* 1986 Jun; 70(6) : 571-5
18. Leikauf GD, Ueki IF, Nadel JA, Widdicombe JH. Bradykinin stimulates Cl^- secretion and prostaglandin E_2 release by canine tracheal epithelium. *Am J Physiol* 1985 Jan; 248(1 pt 2); F48-F55
19. Souhrada JF, Presley D, Souhrada M. Mechanisms of the temperature effect on airway smooth muscle. *Respir Physiol* 1983 Aug; 53(2) : 225-37
20. Souhrada M, Souhrada JF. Role of electrogenic Na^+ pump in the response of sensitized airway smooth muscle to antigen. *Respiration* 1985; 48(1) : 37-45
21. Bukowskyj M, Nakatsu K, Munt PW. Theophylline reassessed. *Ann Intern Med* 1984 Jul; 101(1) : 63-73
22. Leikauf GD, Ueki IF, Nadel JA, Widdicombe JH. Release of cyclooxygenase products from cultured epithelium derived from human and dog trachea. *Fed Proc* 1985; 44 : 1920
23. Leikauf GD, Ueki IF, Widdicombe JH, Nadel JA. Alternation of chloride secretion across canine tracheal epithelium by lipoxygenase products of arachidonic acid. *Am J Physiol* 1986 Jan; 250 (1 pt 2) ; F47-F53
24. Orehek J, Douglas JH, Lewis AJ, Bouhuys A. Prostaglandin regulation of airway smooth muscle tone. *Nature* 1973 Sep 7; 245(5419) : 84-85
25. Orehek J, Douglas JS, Bouhuys A. Contractile response of the guinea-pig trachea in vitro: modification by prostaglandin synthesis-inhibiting drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1975 Sep; 194 (3) : 554-64
26. Vanhoutte MP. Epithelium derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138 Suppl : s24-s30
27. Robinson RL, Jochim KE. Histamine and anaphylaxis on adrenal medullary secretion in dogs. *Am J Physiol* 1960 Sep; 199 (3); 429-32
28. Paton WD, Vane JR. An analysis of the responses of the isolated stomach to electrical stimulation and to drugs. *J Physiol* 1963 Jan; 165(1) : 10-46