

ผลของเอ็น-(ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ต่อคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเพรสชัน ในหนูแรท

นางสาวสนทราภรณ์ หันตลา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสรีรวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF N-(2-PROPYLPENTANOYL) UREA ON CORTICAL
SPREADING DEPRESSION IN RATS

Miss Soontaraporn Huntula

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Physiology

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของเอ็น- (ฟู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ต่อคอรัติคัล สเปรดิง ดีเพรสชัน ในหนูแรท
โดย	นางสาวสุนทราภรณ์ หันตุลา
สาขาวิชา	สัตววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. บุญยงค์ ตันตีสิริระ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ อนันต์ ศรีเกียรติจักร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มยุรี ตันตีสิริระ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบุญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธาสินี บุญญโชติ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญยงค์ ตันตีสิริระ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ อนันต์ ศรีเกียรติจักร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. มยุรี ตันตีสิริระ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สัมพันธ์ ธรรมเจริญ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ ตีลกสกุลชัย)

สุนทรพจน์ หันตุลา : ผลของเอ็น-(ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ต่อคอร์ติคัล สเปรด ดิงดีเพรสชัน. (EFFECTS OF N-(2-PROPYLPENTANOYL) UREA ON CORTICAL SPREADING DEPRESSION IN RATS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ภก.ดร. บุญยงค์ ตันติสิระ , อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ศ.นพ.อนันต์ ศรีเกียรติ ขจร, รศ.ภญ.ดร. มยุรี ตันติสิระ, 97 หน้า.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเอ็น-(ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ต่อการเกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน การเปลี่ยนแปลงของระดับสารสื่อประสาทที่เป็นกรดอะมิโนบริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ และ การกระตุ้นระบบรับความเจ็บปวดในหนูแรทเพศผู้ ขนาดน้ำหนักตัว 200-300 กรัม สลบหนูแรทด้วยยูริเทรอนขนาด 1.5 กรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นยึดศีรษะหนูแรทไว้กับ stereotaxic frame เปิดผิวหนังที่บริเวณศีรษะของหนูแรทแล้วเจาะรู 2 รู โดยรูด้านหน้าใช้ในการบันทึกการทำงานและเก็บสารสื่อประสาทของซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ รูด้านหลังใช้สำหรับวางอิเล็กโทรดเชื่อมมวลโคลไรด์ขนาด 3 มิลลิกรัม หลังจากนั้นฝัง microdialysis probe และ glass electrode บริเวณรูด้านหน้า แล้วให้สารทดสอบ คือ คาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส(ซีเอ็มซี) ขนาด 1 มล/กก วาลโปรเอท(วีพีเอ) ขนาด 200 มก/กก และวีพียู ขนาด 70 และ 140 มก/กก ตามลำดับ โดย การฉีดเข้าทางช่องท้อง จากนั้นกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน โดยการวางอิเล็กโทรดเชื่อมมวลโคลไรด์ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 90 นาที ดูการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ได้กราฟและความสูงของดีโพลาร์ไรเซชันแต่ละครั้ง รวมทั้งระยะเวลา ระหว่างเกิดดีโพลาร์ไรเซชัน ความถี่ของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชัน และระยะเวลาของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันครั้งต่อไป นอกจากนี้ยัง เก็บระดับสารสื่อประสาททุกๆ 30 นาที นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสื่อประสาท ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography by Fluorescence Detector หลังจากนั้นนำเอาส่วนของสมองและไขสันหลังไปศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมี สหรีเพื่อประเมินการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์และกลุ่มเซลล์ประสาทโทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส จากผลการศึกษาพบว่าการกระตุ้นด้วยโปแตสเซียมโคลไรด์สามารถกระตุ้นให้เกิดดีโพลาร์ไรเซชันที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ โดยในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอและวีพียูพบว่า ความถี่ ความ สูงและพื้นที่ได้กราฟของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันจะลดลง แต่ช่วงระยะเวลาของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันครั้งถัดไปจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ไม่มีผลต่อระยะเวลาช่วงที่เกิดดีโพลาร์ไรเซชัน นอกจากนี้พบว่าระดับสารสื่อประสาทในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอและวีพียูมีระดับสารสื่อประสาททั้งชนิดกระตุ้น (กลูตาเมตและ แอสพาเทต) และชนิดยับยั้ง (กาบาและไกลซีน) ระบบประสาทส่วนกลางลดลง โดยเฉพาะระดับของกลูตาเมตที่มีระดับลดลงมากที่สุด สำหรับการศึกษานอิมมูโนฮิสโตเคมีสหรีของโปรตีนฟอสพบว่าวีพีเอและวีพียูสามารถลดระดับการแสดงออกของ โปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์และกลุ่มเซลล์ประสาทโทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิสได้

จากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าวีพีเอและวีพียูมีสามารถลดการเกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ลดระดับของกลูตาเมต และลดการทำงานของกลุ่มเซลล์ประสาทโทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส โดยที่วีพียูสามารถออกฤทธิ์ได้ดีกว่า วีพีเอ ซึ่งเป็นสารต้นแบบของวีพียู จึงควรที่จะมีการศึกษาต่อไปเพื่อพัฒนาวีพียูมาใช้ประโยชน์ในโรคไมเกรนเช่นเดียวกับวีพีเอ

สาขาวิชา : สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา : 2554 ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5287291220 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEYWORDS : N-(2-PROPYLPENTANOYL) UREA / VALPROIC ACID / CORTICAL SPREADING DEPRESSION / C-FOS

SOONTARAPORN HUNTULA: EFFECTS OF N-(2-PROPYLPENTANOYL) UREA ON CORTICAL SPREADING DEPRESSION IN RATS. ADVISOR: ASSOC. PROF. BOONYONG TANTISIRA, Ph.D., CO-ADVISOR: PROF. ANAN SRIKIATKHACHORN, M.D., ASSOC.PROF. MATUREE TANTISIRA, Ph.D., 97 pp.

This study aimed to investigate the effects of N-(2-propylpentanoyl) urea (VPU) on development of cortical spreading depression, the levels of cerebral amino acid neurotransmitters and trigeminal nociception during K^+ -evoked cortical spreading depression (CSD) in male Wistar rats (200-300 g). The rats were anesthetized by urethane (1.5 g/kg, i.p.) and then placed in stereotaxic frame. The scalps were cut open to expose the skulls and two burr holes were drilled on the right hemisphere. The anterior hole at frontal bone was to place microdialysis probe and glass microelectrode, whereas the posterior hole at the parietal bone was used for an application of solid KCl (3 mg). The animals were intraperitoneally injected of either 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) (1 ml/kg) or valproic acid (200 mg/kg) or VPU (70 and 140 mg/kg). CSD was induced by placing solid KCl onto the brain and observation was made for another 90 minutes. Variables regarding CSD wave included the area under the curve, amplitude, duration, number of peak and interpeak latency. In addition dialysates were collected every 30 minutes throughout the experimental period and being analyzed for amino acid neurotransmitters by HPLC-FLD. After completion of CSD, the animals were proceeded for the fos-immunohistochemistry. The results showed that application of potassium chloride resulted in series of depolarization activity for CSD. The development of these CSD wave was lower in the presence of VPA and VPU. Such decrease was noted on frequency, amplitude and AUC of CSD and increased interpeak latency. Duration showed no significant change. The levels of both cortical excitatory (glutamate and aspartate) and inhibitory (GABA and glycine) amino acid neurotransmitters in VPA and VPU-treated groups were significantly decreased in comparison to those of CMC-treated group at any observed times. However, the depression was greatest on glutamate. In addition, fos-immunohistochemistry in both VPA and VPU treated groups were significantly decreased in comparison to those of CMC-treated group.

The present study demonstrated that VPA and VPU decreased CSD, cortical glutamate and function of the neurons in trigeminal nucleus caudalis. VPU was found to be more active than its parent compound, VPA. Similar to VPA, VPU should be, therefore, further developed into a drug for the treatment of migraine.

Field of Study : Physiology Student's Signature

Academic Year : 2011 Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ภก. ดร. บุญยงค์ ตันตีสิริระ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ศ.นพ. อนันต์ ศรีเกียรติขจร , รศ. ภญ. ดร. มยุรี ตันตีสิริระ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทาง
ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านเพื่อให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ. สพ.ญ. ดร. สุทธาสินี บุญญโชติ ประธานหลักสูตรวิทยาศา
ศาสตรมหาบัณฑิต (รักษาการแทนผู้อำนวยการหลักสูตรสหสาขาวิชาสัตววิทยา) สาขาสัตววิทยา
(สหสาขาวิชา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ
ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทางตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ขอขอบพระคุณ ผศ. สพ.ญ. ดร. สฤณี กลั่นทกานนท์ ทองทอง ภาควิชาสัตววิทยา
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ในการเขียน
วิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.น.สพ. ดร. สัมพันธ์ ธรรมเจริญ และ รศ. ภญ. ดร. กนกวรรณ
ติลกสกุลชัย ที่กรุณามาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับ
มหาบัณฑิต

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาของข้าพเจ้าที่ท่านได้ให้การ
สนับสนุนในด้านการศึกษาและให้กำลังใจทั้งให้สิ่งที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมาและขอขอบคุณทุกท่านที่
ได้มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
สมมติฐานงานวิจัย.....	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
แผนงานวิจัย.....	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
อาการของโรคไมเกรน.....	6
สาเหตุการเกิดไมเกรน.....	8
กลไกการเจ็บปวดไมเกรน.....	9
การส่งกระแสประสาทของ dorsal horn ของไขสันหลัง.....	12
คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน.....	17
การแสดงออกของโปรตีนฟอส (c-fos expression).....	19
การป้องกันและการรักษาอาการปวดไมเกรน.....	20
กรดวาลโพรอิก (Valproic acid).....	21
N-(2-propylpentanoyl) urea.....	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
สัตว์ทดลอง.....	27
เครื่องมืออุปกรณ์.....	27

	หน้า
สารทดสอบ.....	30
การแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง.....	31
วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	43
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	44
4.1. แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีขนาด 1 มล/กก.....	45
4.2. แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก.....	45
4.3. แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก.....	46
4.4. แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 140 มก/กก.....	46
4.5. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ ความถี่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน.....	47
4.6. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป.....	49
4.7. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชัน.....	50
4.8. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ ความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน.....	51
4.9. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ พื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน.....	52
4.10. เปรียบเทียบผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก วีพียูขนาด 70 และ 140 มก/ กก ต่อการเกิดคอร์ติคัลสปรดดิ้ง ดีเพรสชัน.....	53
4.11. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เปรียบเทียบ เป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ ทดลอง.....	55
4.11. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับแอสพาเตตที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เปรียบเทียบ เป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของ	

สัตว์ทดลอง.....	57
4.12. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกาบาที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	59
4.13. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไกลซีนที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	61
4.10. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงสารสื่อประสาทจากระดับ baseline ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	63
4.11. เปรียบเทียบผลของวีพีเอและวีพียูต่อการลดลงของระดับสารสื่อประสาทกลูตาเมต แอสพาเตท กาบา และไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ โดยเปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	64
4.12. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCI) 3 มิลลิกรัม.....	66
4.13. ภาพแสดงผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์.....	67
4.14. ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์ไทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCI) 3 มิลลิกรัม.....	68
4.15. ภาพแสดงผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์ไทรจิมินัล	

	หน้า
นิเวศลีส คอดาลิส.....	69
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง.....	70
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	74
รายการอ้างอิง.....	75
ภาคผนวก.....	82
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	97

สารบัญญัตราจ

ตารางที่		หน้า
4.1	เปรียบเทียบผลของวีพีเอนขนาด 200 มก/กก วีพีเอนขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน เป็นเวลา 90 นาที.....	53
4.2	เปรียบเทียบผลของวีพีเอและวีพียูต่อการลดลงของระดับสารสื่อประสาท กลูตาเมต แอสพาเตท กาบา และไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ โดยเปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สาร ทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	64

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แสดงเส้นทางการส่งสัญญาณประสาทของเส้นประสาทโทโรจิมินัล.....	11
2.2	แสดงการส่งสัญญาณจากเส้นประสาทรับความรู้สึกให้กับเซลล์ประสาทในชั้น ต่างๆ บริเวณ dorsal horn.....	11
2.3	ภาพแสดงลักษณะของตัวรับกลูตาเมต (glutamate receptor).....	14
2.4	ภาพแสดงลักษณะของตัวรับ GABA _A (GABA _A receptor).....	16
2.5	ภาพแสดงลักษณะของตัวรับ GABA _B (GABA _B receptor).....	16
2.6	การกระจายของสัญญาณประสาทที่บริเวณซีรีบริลคอร์เท็กซ์ของกระต่าย.....	18
2.7	แสดงการสังเคราะห์ N-(2-propylpentanoyl) urea.....	24
2.8	สูตรโครงสร้างของ valproic acid, Barbiturate และ N-(2-propylpentanoyl) urea.....	25
3.1	แผนภูมิการทดลอง.....	32
3.2	แสดงการตรึงศีรษะสัตว์ทดลองใน Stereotaxic apparatus.....	33
3.3	แสดงตำแหน่ง anterior craniotomy และ posterior craniotomy.....	34
3.4	แสดงการบันทึก depolarization shift.....	34
3.5	แสดงการเก็บสารสื่อประสาทที่บริเวณซีรีบริล คอร์เท็กซ์.....	38
3.6	แสดงแผนภาพแสดงการเก็บสารสื่อประสาท.....	39
3.7	แสดงการวัด Depolarization shift และการเก็บสารสื่อประสาทตลอดการ ทดลอง.....	40
4.1	แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีขนาด 1 มล/กก.....	45
4.2	แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก.....	45
4.3	แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก.....	46
4.4	แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 140 มก/กก.....	46
4.5	ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความถี่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที.....	47

ภาพที่	หน้า
4.6 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที.....	49
4.7 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที.....	50
4.8 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที.....	51
4.9 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อพื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที.....	52
4.10 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที.....	55
4.11 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอสพาทะตที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที.....	57
4.12 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกาบาที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที.....	59
4.13 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไกลซีนที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที.....	61
4.14 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงสารสื่อประสาทจากระดับ baseline ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า	

ภาพที่	ที่
basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง.....	63
4.15 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม.....	66
4.16 ภาพแสดงผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม.....	67
4.17 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์ไทรามีนินิวเคลียส คอดาลิส เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม.....	68
4.18 ภาพแสดงผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์ไทรามีนินิวเคลียส คอดาลิส เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม.....	69

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

°C	Degree Celsius
%	Percentage
กก	กิโลกรัม
AMPA	Alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid
ANOVA	Analysis of variance
AUC	Area under the curve
C ₁	Cervical segment 1 of spinal cord
C ₂	Cervical segment 1 of spinal cord
Ca ²⁺	Calcium ion
CGRP	Calcitonin gene-related peptide
CMC	Carboxymethyl cellulose
CSD	Cortical spreading depression
CSF	Cerebrospinal fluid
DAB	Diaminobenzidine
EEG	Electroencephalography
et al.	et alli (and other)
g	Gram
GABA	Gamma aminobutyric acid
H ⁺	Hydrogen ion
HPLC	High performance liquid chromatography
i.p.	Intraperitoneal
IPSP	Inhibitory postsynaptic potential
K ⁺	Potassium
KCl	Potassium chloride
kg	Kilogram
mg	Milligram

min	Minute
mV	Millivolt
Na ⁺	Sodium ion
NaCl	Sodium Chloride
NMDA	N-methyl-D-aspartate
No	Number
OPA	O- Pthaldialdehyde
PBS	Phosphate buffer saline
S.D.	Standard deviation
Sec	Second
TG	Trigeminal ganglion
TNC	Trigeminal nucleus caudalis
µm	Micrometer
VPA	Valproic acid
VPU	N- (2 propylpentanoyl) urea

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไมเกรนเป็นโรคปวดศีรษะชนิดหนึ่ง มีลักษณะอาการที่สำคัญ คือ มีอาการปวดที่บริเวณขมับข้างเดียว ปัจจุบันการวินิจฉัยและการรักษาเป็นไปได้ยาก แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเกิดไมเกรนอาจเกิดขึ้นจากความผิดปกติทางระบบประสาท (abnormal neurological firing) โดยระบบประสาทส่งสัญญาณประสาทและหลังสารสื่อประสาทที่ผิดปกติ รวมทั้งมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงจากภายในร่างกายและสิ่งแวดล้อมภายนอกมากกว่าปกติ ส่งผลให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทและการส่งสัญญาณประสาทที่ผิดปกติของเซลล์ประสาทภายในสมองซึ่งจะเกิดขึ้นก่อนการปวดศีรษะ (prodrome) ที่ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยสมมติฐานเกี่ยวกับหลอดเลือดที่มีมาก่อนหน้านี้ ทำให้มีข้อสันนิษฐานการเกิดไมเกรนที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท (Pearce, 1984) โดยปรากฏการณ์นี้เรียกว่า คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน (Cortical spreading depression; CSD) เป็นปรากฏการณ์ของการเกิดดีโพลาไรเซชันของเซลล์ประสาทแล้วตามด้วยการยับยั้ง (suppression) การทำงานของเซลล์ประสาทนั้นๆ อย่างรวดเร็ว ซึ่งศึกษาโดย Leao เมื่อปี 1944 ได้มีการศึกษาต่อมาในสัตว์หลายสายพันธุ์และถูกเสนอว่าอาจเป็นสาเหตุของการเกิดออราหรืออาการนำ (prodrome) ที่เกี่ยวข้องกับการเริ่มต้นของการเกิดการปวดศีรษะไมเกรน โดยการเกิดดีโพลาไรเซชันนั้นจะเริ่มที่บริเวณถูกกระตุ้นครั้งแรกแล้วแพร่กระจายสัญญาณประสาทออกไปทางด้านหน้าในลักษณะการกระจายไปทุกทิศทุกทางทั่วบริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ ใช้ความเร็วในการแพร่กระจายสัญญาณประสาทประมาณ 2-3 มิลลิเมตรต่อนาที ระยะเวลาที่เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน นั้นจะมีการหลั่งสารสื่อประสาทเพิ่มมากขึ้นไปกระตุ้นไทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC) ที่ไขสันหลังบริเวณ C₁-C₂ ของไขสันหลัง (spinal cord) เมื่อ 1983 Lance และคณะ พบว่าการกระตุ้นไทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส ที่บริเวณไขสันหลังจะส่งผลให้มีการหลั่งสารที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (neurogenic dural inflammation) ได้แก่

CGRP, Substance P และ Neurokinin A ที่มีผลทำให้เกิดการอักเสบขึ้นได้ นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ทำให้ได้พบความสัมพันธ์ระหว่างเส้นประสาททริเจมินัล (trigeminal nerve) และระบบหลอดเลือดภายในกะโหลกศีรษะที่ส่งผลให้เกิดการปวดศีรษะไม่เกรนได้ จากที่กล่าวมาข้างต้นการเกิดคอร์ติคัลสเฟปรดิง ดีเพรสชัน นั้นก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลายๆอย่าง รวมทั้งการหลั่งสารสื่อประสาทที่ผิดปกติด้วย โดยเฉพาะการหลั่งกลูตาเมต ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทกระตุ้นการทำงานของสมองทำหน้าที่ส่งผ่านข้อมูลอย่างรวดเร็ว มีความสำคัญในการส่งสัญญาณประสาทไปยังไขสันหลัง ถ้าสารสื่อประสาทดังกล่าวหลังในปริมาณที่ลดลงหรือไม่สัมพันธ์กับปลายประสาทอีกเส้นหนึ่งความรู้สึกเจ็บปวดย่อมมีปริมาณลดลง

ในปัจจุบันกรดวาลโปรอิกหรือวีพีเอ (valproic acid; VPA) เป็นยารักษาลมชักที่มีประสิทธิภาพทั้งใน absence, generalized และ partial seizures โดยวีพีเอยังถูกนำมาใช้ในการรักษากลุ่มอาการอื่นๆ เช่น bipolar และ schizoaffective disorders จากการศึกษาใน whole brain ของสมองหนู พบว่าวีพีเอสามารถเพิ่มระดับของกาบา ประมาณ 15-45 เปอร์เซ็นต์ (Hariton และคณะ, 1984) ที่บริเวณ cortex, striatum, hippocampus และ cerebellum (Chapman และคณะ, 1982) โดยการยับยั้ง GABA transaminase และกระตุ้น glutamate acid decarboxylase (Silberstein, 2006) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าวีพีเอมีประสิทธิภาพในการป้องกันไม่เกรนทั้งที่มีออราและไม่มีออรา โดยพบว่าวีพีเอสามารถลดอาการปวดศีรษะในระดับที่รุนแรงหรือระดับปานกลางให้หายเป็นปกติได้ (Shahien และคณะ, 2010) ถึงแม้ในปัจจุบันจะมีการนำวีพีเอมาใช้อย่างกว้างขวาง แต่พบว่าวีพีเอสามารถก่อให้เกิดอาการข้างเคียงขึ้น คือ การเป็นพิษต่อตับและทารกในครรภ์ ด้วยเหตุนี้จึงมีนักวิจัยพยายามพัฒนาสูตรโครงสร้างของวีพีเอ เพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น มีความเป็นพิษข้างเคียงน้อยลง (Elmazar และคณะ, 1993; Tantisira และคณะ, 1997)

เอ็น-ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล ยูเรียหรือวีพียู (N- (2 propylpentanoyl) urea; VPU) เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี 1992 (Saisorn, 1992) โดยเป็น monoureide analog ของวีพีเอ จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ

วิจัยพบว่าวิจัยมีฤทธิ์ด้านซีกดีกว่าวิจัยเอและพบว่าผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ต่ำกว่าวิจัยเอ (Tantisira และคณะ, 1997; Kongsombat, 2008) ในการศึกษาโดยใช้วิธี microiontophoresis พบว่าวิจัยสามารถลดระดับของการกระตุ้นระบบประสาทที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์ (cerebral cortex) และซีรีเบลลัม คอर्टิกซ์ (cerebella cortex) ได้ (Khongsombat, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าวิจัยสามารถยับยั้งการทำงานของ NR1A/NR2B NMDA receptor ซึ่งเป็น subtype หนึ่งของกลูตาเมต โดยทำการศึกษานบนผนังเซลล์ของไขกบสายพันธุ์ *Xenopus laevis* โดยใช้เทคนิค voltage-clamp (Ponsup, 2003) ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาผลของวิจัยต่อการเปลี่ยนแปลงของการส่งสัญญาณประสาทรวมทั้งการหลั่งสารสื่อประสาทที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์ ในหนูแรท ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอริติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน โดยการวัดระดับของกลูตาเมต แอสพาเตท กาบามา และไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์และโปรตีนฟอส (c-fos) ที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์ (cerebral cortex) และในกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC) ผลดังกล่าวอาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วิจัยมาใช้ในการลดอาการปวดศีรษะไมเกรนต่อไป

สมมติฐานการวิจัย

เอ็น-ที-โพรพิลเพนทาโนอิล ยูเรีย หรือวิจัยสามารถลดการเกิดคอริติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันในหนูแรท โดย

- ลดการเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization) ที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์
- ลดระดับของสารสื่อประสาทกลูตาเมต และ /หรือ แอสพาเตท และ /หรือ เพิ่มระดับของสารสื่อประสาทกาบา และ/หรือ ไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์
- ลดระดับโปรตีนฟอส (c-fos) ที่บริเวณซีรีบรัม คอर्टิกซ์และในกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC)

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

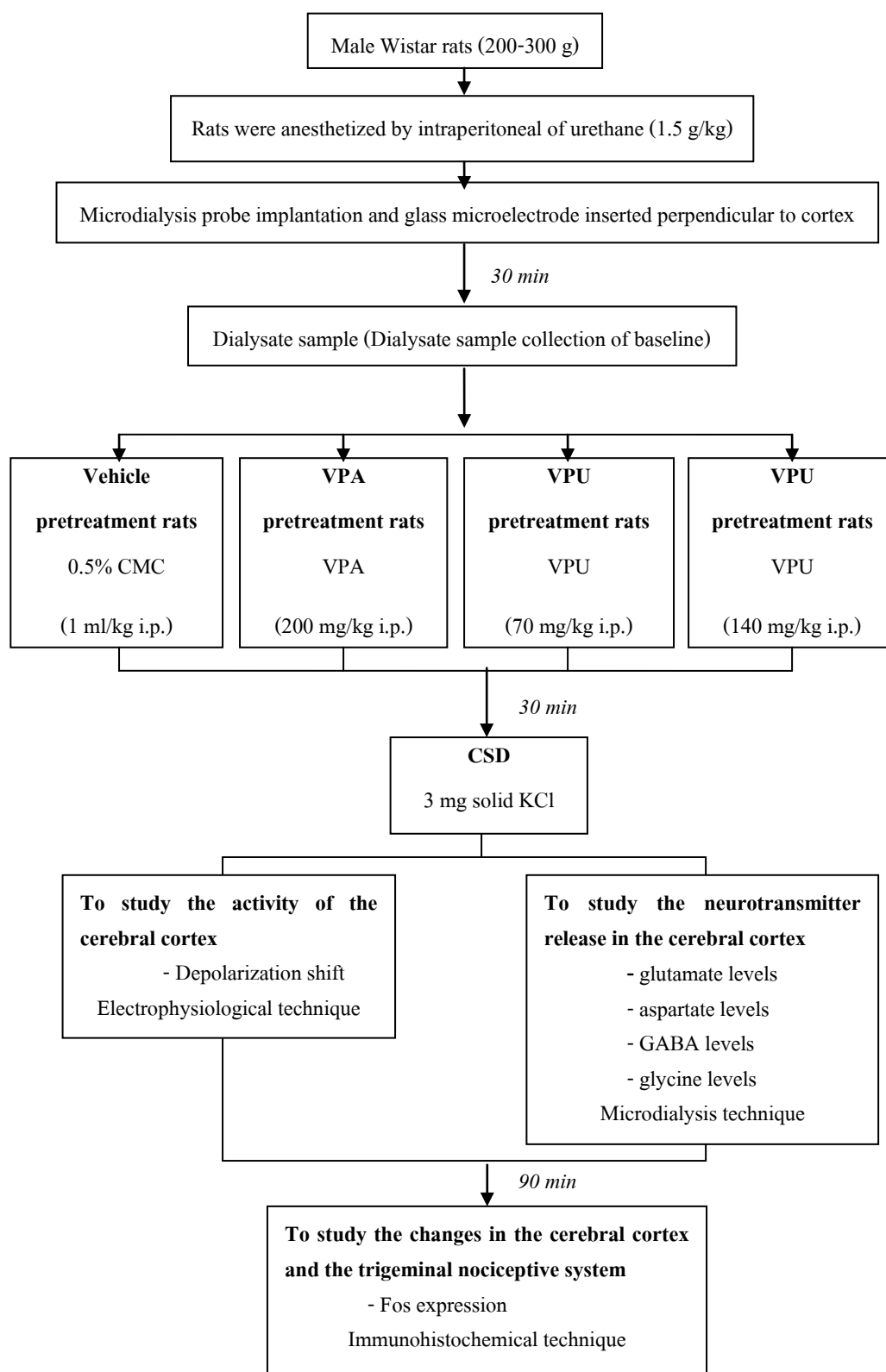
เพื่อศึกษาผลของวิปยุในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรตติง ดีเพรสชัน โดยดูการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ ต่อไปนี้

- การเกิดดีโพลาริเซชัน (depolarization) ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์
- ระดับของสารสื่อประสาทกลูตาเมต แอสพาเทท กาบา และไกลซีน ที่บริเวณ ซีรีบรัล คอร์เท็กซ์
- ระดับโปรตีนฟอส (c-fos) ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์และในกลุ่มเซลล์ไตรเจมินัล นิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลที่ได้จากงานวิจัยจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำวิปยุมาใช้ในการลดอาการปวดศีรษะไมเกรน

แผนงานวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไมเกรน คือ อาการปวดศีรษะชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่จะปวดบริเวณขมับศีรษะข้างเดียว ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์หรือทั้งสองข้างก็ได้ อาการปวดจะเกิดขึ้นเป็นพักๆ และมีระยะเวลาในการปวดแต่ละครั้งประมาณ 4-7 ชั่วโมง ซึ่งขณะปวดไมเกรนอาจพบอาการอื่นร่วมด้วย เช่น คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร อาจไวต่อแสงหรือเสียง (Stovner และคณะ, 2006) เป็นต้น

International Headache Society (IHS) ได้แบ่งไมเกรนออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. Migraine without aura หรือ common migraine ไมเกรนที่เกิดขึ้นโดยไม่มีอาการเตือน ผู้ป่วยเกิดอาการปวดศีรษะข้างเดียว ครั้งละ 4-7 ชั่วโมง โดยระหว่างปวดศีรษะจะพบอาการคลื่นไส้ อาเจียน ไม่สู้แสงหรือเสียงร่วมด้วย (Olesen และ Lipton, 1994)
2. Migraine with aura หรือ classical migraine ไมเกรนที่มีอาการผิดปกติเกิดขึ้นก่อนที่จะปวดศีรษะ เช่น การเห็นแสงวาบ โดยอาการเหล่านี้เกิดขึ้นร้อยละ 15-20 ของผู้ป่วยไมเกรนและมักเกิดก่อนประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นจะมีอาการเหมือน migraine without aura (Rasmussen และ Olesen, 1992)

อาการของไมเกรน

อาจแบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้

1. ระยะอาการนำ (Prodrome phase)

จะพบอาการภายใน 24 ชั่วโมงก่อนมีอาการปวดศีรษะ เช่น หงุดหงิด อารมณ์ หิว ท้องเดิน ไม่มีสมาธิ อ่อนเพลีย เหม็นกลิ่นอาหาร เป็นต้น ซึ่งจะมีอาการเหล่านี้ในผู้ป่วยที่ปวดศีรษะไมเกรนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยไมเกรนทั้งหมด

2. ระยะเวลา (Aura phase)

พบอาการก่อนการปวดศีรษะประมาณ 1 ชั่วโมง โดยมีอาการผิดปกติทางสายตา เช่น เกิดจุดเมื่อมองวัตถุ เห็นภาพผิดขนาด เห็นภาพเพียงครึ่งเดียว แสงซิกแซก มองเห็นเป็นเส้นคลื่น ซึ่งจะอาการเหล่านี้ในผู้ป่วยที่ปวดศีรษะไมเกรนประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยไมเกรน

3. ระยะเวลาปวดศีรษะ (Headache)

ในผู้ป่วยไมเกรนจะมีอาการปวดศีรษะดำเนินไปอย่างช้า ๆ โดยอาจจะใช้เวลาตลอดทั้งวัน และค่อย ๆ หายไป ความแตกต่างระหว่างอาการปวดศีรษะจากไมเกรนกับการปวดศีรษะทั่วไป คือ การปวดศีรษะในตำแหน่งต่าง ๆ นั้น สามารถเปลี่ยนหรือย้ายตำแหน่งได้ นอกจากนี้อาการปวดศีรษะจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเคลื่อนไหวของศีรษะ นอกจากนี้ยังพบอาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ท้องผูก ท้องเดิน รู้สึกเย็นปลายมือปลายเท้า กลัวแสงเสียง หงุดหงิด ปวดต้นคอ อ่อนเพลีย คัดจมูก หรือคล้ายจะเป็นลม อาการเหล่านี้ คือ อาการร่วมที่เกิดขึ้นขณะปวดศีรษะ ซึ่งเป็นอาการที่เกิดขึ้นจากการทำงานที่ผิดปกติของระบบประสาทและระบบประสาทอัตโนมัติ อาการร่วมเหล่านี้อาจเกิดขึ้นในระยะอาการนำสำหรับผู้ป่วยบางราย ผู้ป่วยไมเกรนแต่ละรายนั้นจะมีอาการที่แตกต่างกันรวมทั้งอาการในผู้ป่วยรายเดียวกันและการปวดศีรษะแต่ละครั้งก็มีอาการที่แตกต่างกันด้วย โดยปกติอาการปวดศีรษะจะหายไปหลังจากได้นอนพักเป็นเวลา 45 นาที ถึง 3 ชั่วโมง หลังการดื่มเครื่องดื่มร้อน ๆ หรือได้รับยาแก้ปวด

4. ระยะเวลาหายภายหลังจากหายปวดศีรษะ (Postdromes)

ในระยะนี้ผู้ป่วยมีอาการอ่อนเพลีย โดยบางรายจะมีอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อและปวดกล้ามเนื้อ อารมณ์ไม่แจ่มใส จึงควรที่จะนอนพัก ซึ่งอาการเหล่านี้จะอยู่นาน 1 ชั่วโมง ถึง 4 วัน

สาเหตุการเกิดไมเกรน

สามารถจำแนกออกเป็น 3 ทฤษฎี ดังนี้

1. ทฤษฎีเกี่ยวกับหลอดเลือด

Harold Wolff (Wolff, 1952) ทดลองวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือด บริเวณขมับด้านนอกกะโหลกศีรษะของผู้ป่วยไมเกรน พบการขยายตัวของหลอดเลือด แต่เมื่อผู้ป่วยได้รับยา ergotamine พบว่าช่วยบรรเทาอาการปวดและลดการขยายตัวของหลอดเลือดได้ (Graham และ Wolf, 1938) โดย Graham และ Wolf เชื่อว่าการขยายตัวของหลอดเลือด มีผลไปกระตุ้น stretch receptor ให้หลั่ง neuropeptide เช่น calcitonin gene-related peptide (CGRP) ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับความเจ็บปวด อย่างไรก็ตามทฤษฎีนี้ไม่สามารถอธิบายถึงสาเหตุของอาการต่าง ๆ ที่เกิดร่วมกับการปวดศีรษะไมเกรนได้

2. ทฤษฎีเกี่ยวกับระบบประสาท

ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยปัจจัยต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เช่น ความเครียด หรือ ความหิว เป็นต้น จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติของระบบประสาทบริเวณหลอดเลือดแดงที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ (Pearce, 1984) ทำให้เซลล์ประสาททำงานเพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดก่อนมีอาการปวดศีรษะที่ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยทฤษฎีเกี่ยวกับหลอดเลือด โดยปรากฏการณ์ความผิดปกติทางระบบประสาทนี้เรียกว่า Cortical spreading depression (CSD) หรือการเกิด depolarization ของเซลล์ประสาทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ ในสัตว์หลายๆ สายพันธุ์ (Pearce, 1984; Leao, 1944) พบว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุของการเกิดออราหรืออาการเริ่มต้นของการปวดศีรษะไมเกรน ซึ่งเกี่ยวข้องกับ sensory, motor และ visual symptoms จะมีความผิดปกติมากขึ้นเรื่อยๆ ส่วนใหญ่ความผิดปกติของการทำงานทางด้านระบบประสาทนี้มักจะเกิดที่บริเวณ visual cortex ของ occipital lobe จะส่งผลให้มองเห็นแสงวาบแล้วตามด้วยการมองเห็นเป็นจุดสีดำที่บริเวณภาพ

3. ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

ในภาวะที่เกิดไมเกรนบริเวณก้านสมองจะถูกกระตุ้นส่งผลให้การไหลเวียนของเลือดมีการเปลี่ยนแปลง Lance และคณะ (Lance และคณะ, 1983) จึงค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างเส้นประสาทไตรเจมินัล (trigeminal nerve) และระบบหลอดเลือดภายในกะโหลกศีรษะ โดย Moskowitz พบว่าที่เส้นประสาทไตรเจมินัลจะส่งแขนงมายังหลอดเลือดบริเวณชั้น pia mater และ dura mater เมื่อมีปัจจัยมากระตุ้นบริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ เส้นประสาท ไตรเจมินัลจะรับสัญญาณประสาทส่งไปยังไตรเจมินัล แกลงเกลีย และส่งต่อไปยังไตรเจมินัลนิวเคลียส คอคตาเลียส ที่บริเวณไขสันหลัง ซึ่งการนำกระแสประสาทนี้จะทำให้เกิดการหลั่ง vasoactive peptides ได้แก่ CGRP, Substance P และ Neurokinin A ที่มีผลทำให้เกิดการอักเสบขึ้นได้และส่งผลให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดพบปริมาณการไหลเวียนของเลือดบริเวณนี้เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Moskowitz, 1992)

กลไกการเจ็บปวดในไมเกรน

เนื่องจากในสมองไม่สามารถรับรู้สึกรู้สึกเจ็บปวดได้เอง ความเจ็บปวดที่เกิดขึ้นภายในศีรษะ จึงเป็นผลจากความผิดปกติของเส้นประสาท ไตรเจมินัลบริเวณหลอดเลือดในกะโหลกศีรษะ ชั้น dura mater (Martin และคณะ, 1993)

แขนงของเส้นประสาทไตรเจมินัล (trigeminal nerve) ประกอบด้วย (Snell, 1992)

1. *Ophthalmic division* เป็น first division ของ trigeminal nerve ประกอบด้วย sensory fiber ทั้งหมด นำ general somatic afferent (GSA) fiber จากผิวหนังบริเวณตา หน้าผาก หน้ตา และจมูก รวมทั้ง mucous membrane ของ paranasal sinus บางแห่ง มีทางเดินไปยัง orbit โดยผ่าน middle cranial fossa of skull ใน dura matter
2. *Maxillary division* ประกอบด้วย sensory fiber ซึ่งออกจาก middle ของ trigeminal ganglion นำ general somatic afferent (GSA) fiber จากผิวหนัง

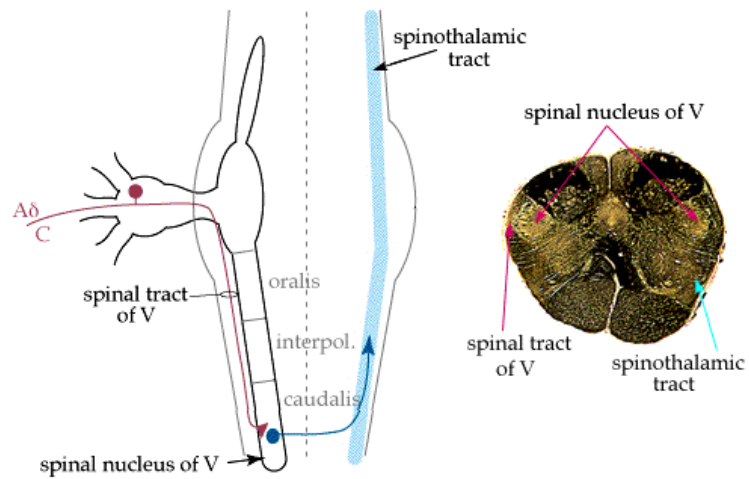
บริเวณแก้ม หน้ตาล่าง จมูก ริมฝีปากบน และ mucous membrane ของ maxillary sinus รวมทั้ง maxillary teeth (ฟันบนทั้งหมด) ทอดไปตาม lower part ของ lateral wall ของ cavernous sinus ออกจาก skull ทาง foramen rotundum เข้าสู่ orbit โดยผ่าน inferior orbital fissure

3. *Mandibular division* เป็นแขนงที่ใหญ่ที่สุดของ trigeminal nerve มีทั้ง sensory และ motor fibers โดยจะผ่านไปด้วยกันใน dura mater ของ middle cranial fossa ของ base ของ skull ไปยัง foramen ovale

การกระตุ้นเส้นประสาทรับความรู้สึกส่วนแขนง ophthalmic division ของเส้นประสาทไตรจิมินัลที่บริเวณหลอดเลือดในกะโหลกศีรษะ ซึ่งมีความสำคัญต่อการปวดศีรษะไมเกรน (Arban, 1986) โดยการนำกระแสประสาทไปยังไตรจิมินัล แกลงเกลีย ซึ่งอยู่ใน trigeminal cave (เป็น recess ใน dura mater ที่ปกคลุม trigeminal impression) ใกล้ apex ของ petrous part ของ temporal bone จะอาศัยเส้นประสาทชนิด myelinated (A δ) fiber และ unmyelinated (C) fiber จะทำให้มีการปล่อยสารสื่อประสาท neuropeptides เช่น substance P และ CGRP เป็นต้น (Just, 2006) จากนั้นสัญญาณประสาทถูกส่งเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางโดยสัมผัสกับเซลล์ในก้านสมอง คือ ไตรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis) จะอยู่ที่บริเวณ dorsal horn ในระดับ C₁-C₂ ของไขสันหลัง โดยที่ระดับไขสันหลัง จะมี spinal nucleus ของเส้นประสาทคู่ที่ 5 ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 บริเวณ คือ oralis, interpolaris, และ caudalis การนำสัญญาณประสาทที่เกี่ยวข้องกับความเจ็บปวดจะถูก synapse ใน subnucleus caudalis (ภาพที่ 2.1) จากนั้นถูกส่งไปตาม spinothalamic tract ไปยัง thalamus ตามลำดับ

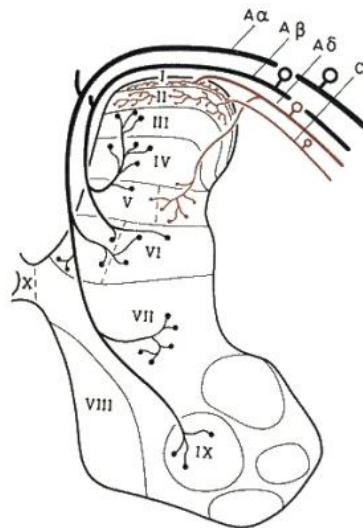
เซลล์ประสาทในไขสันหลังถือเป็นตำแหน่งแรกของระบบประสาทส่วนกลางที่รับสัญญาณประสาทจากเส้นประสาทสมองและไขสันหลัง กลุ่มเซลล์ประสาทรับความรู้สึกอยู่ในชั้นที่เป็นส่วนสีเทา (gray matter) เซลล์ประสาทที่ตอบสนองต่อ noxious stimuli มากที่สุดนั้นจะพบทั่วไปใน spinal gray matter และมีอยู่มากใน lamina ที่ได้รับ primary afferent nociceptors โดยตรงคือ ชั้นที่ I, II, และ V (ภาพที่ 2.2) โดยกลุ่มเซลล์ประสาทชั้นที่ 1 (marginal zone) และ 5

(spinal lamina V) จะรับสัญญาณประสาทจากใยประสาท A delta fiber ส่วนกลุ่มเซลล์ประสาท
ในชั้นที่ 2 (substantia gelatinosa) จะรับสัญญาณจากใยประสาท C fiber



ภาพที่ 2.1 แสดงเส้นทางการส่งสัญญาณประสาทของเส้นประสาทไตรจีมินัล

(Snell, 1992)



ภาพที่ 2.2 แสดงการส่งสัญญาณจากเส้นประสาทรับความรู้สึกให้กับเซลล์ประสาท

ในชั้นต่างๆบริเวณ dorsal horn (Raxed, 1952)

จากภาพที่ 2.2 แสดงการติดต่อระหว่างเซลล์ใน lamina I กับใยประสาท A δ และใยประสาท C โดยผ่านแขนงแอกซอนของเซลล์ stalk cell ซึ่งอยู่ใน lamina II ส่วนเซลล์ใน lamina V เป็น wide dynamic range neuron ซึ่งรับข้อมูลทั้งจากใยประสาท A δ และจาก nociceptor

เซลล์ส่วนใหญ่ใน lamina I นั้นตอบสนองสูงสุดต่อ noxious stimulation สามารถรับสัญญาณเข้าไปยัง lamina I โดยอาศัยเส้นประสาททั้งที่เป็น myelinated และ unmyelinated nociceptor (Basbaum, 2000) สำหรับ lamina II เซลล์ถูกกระตุ้นได้โดย noxious stimulation ทำหน้าที่เป็น interneurons และมีเซลล์ชนิดหนึ่ง เรียกว่า stalk cells ซึ่งส่ง axon เข้าไปใน lamina I สำหรับเซลล์ใน lamina V ตอบสนองมากที่สุดต่อ noxious stimuli มีลักษณะเป็น wide dynamic range ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าเซลล์ที่รับความเจ็บปวดนั้นกระจายตัวใน gray matter lamina I และ II เป็นบริเวณที่สำคัญในการรับ primary afferent nociceptor นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ใน lamina I และ V เกี่ยวข้องกับการส่งทอดความรู้สึกค่อนข้างชัดเจน คือ wide dynamic nociceptors ที่มีอยู่มากใน lamina V และ nociceptive-specific neurons ซึ่งมีอยู่จำนวนมากใน lamina I โดยการถูกกระตุ้นที่บริเวณดังกล่าวจะส่งผ่านสัญญาณประสาทขึ้นสู่ระบบประสาทระดับสูงโดยอาศัยวิถีประสาทสไปโนธาลามิก (spinothalamic tract) ซึ่งเป็นเส้นทางที่มีความสำคัญมากที่สุดทอดขึ้นไปสิ้นสุดที่กลุ่มเซลล์ ventral posterior medial และ ventral posterior lateral nuclei ของทาลามัส

การส่งสัญญาณประสาทใน dorsal horn ของไขสันหลัง

สารสื่อประสาท หรือ neurotransmitter คือสารเคมีที่สื่อให้สัญญาณประสาทต่อกัน ณ จุดสัมผัส (synapse) มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดความรู้สึกเจ็บปวด ถ้าสารดังกล่าวหลังในปริมาณที่ลดลงหรือไม่สัมผัสกับปลายประสาทอีกเส้นหนึ่ง ความรู้สึกเจ็บปวดย่อมมีปริมาณลดลง

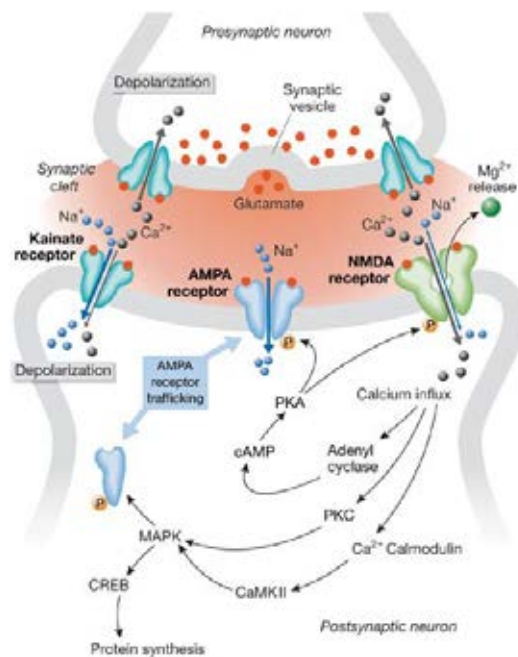
กลูตาเมท (Glutamate)

กลูตาเมทเป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้นที่มีหน้าที่เป็นสารสื่อประสาทชนิด fast excitatory neurotransmitter โดยเส้นประสาทรับความรู้สึกส่วนใหญ่จะอาศัยสารสื่อประสาทชนิดนี้ในการส่งสัญญาณประสาทไปยังระบบประสาทส่วนกลาง จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า กลูตาเมทมีส่วนสำคัญกับการปวดศีรษะไมเกรน โดยจะมีระดับของกลูตาเมทเพิ่มมากขึ้นในระบบประสาทส่วนกลาง (Peres, 2004) มีบทบาทสำคัญในการส่งผ่านสัญญาณประสาทไปยังไตรเจมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส (trigeminal nucleus caudalis) (Hill, 1982) กลูตาเมทมีตัวรับ 2 ประเภท คือ ionotropic receptor ซึ่งมีลักษณะเป็น ion channels ประกอบไปด้วย N-methyl-D-aspartate (NMDA), (\pm) - α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) และ kainate receptor และ metabotropic receptor มีลักษณะเป็น G-protein coupled receptor จะทำงานผ่านทาง G-protein (Kew และ Kemp, 2005) สำหรับ AMPA receptor สามารถแบ่งออกเป็น 4 subunits คือ GluR-A, GluR-B, GluR-C และ GluR-D สามารถพบตัวรับทั้ง 4 ชนิดนี้ในไขสันหลัง ซึ่งในแต่ละชั้นของไขสันหลังจะมีความหนาแน่นของแต่ละ subunit ที่แตกต่างกัน ตัวรับที่มีการแสดงออกมากที่สุดที่บริเวณ superficial dorsal horn คือ GluR-A ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าตัวรับชนิดนี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการนำส่งสัญญาณประสาทที่เกี่ยวข้องกับความเจ็บปวดบริเวณไขสันหลัง (Nagy และคณะ, 2004)

NMDA receptor มีบทบาทในการตอบสนองต่อการส่งสัญญาณความรู้สึกเจ็บปวด โดย NMDA receptor จะมีบทบาทสำคัญในการรับความรู้สึกเจ็บปวดที่เป็นแบบเฉียบพลัน (acute pain) ส่งไปยังไขสันหลัง โดยอาศัยเส้นประสาทชนิด C-fiber (Sandkuhler, 2000) จากการศึกษาใน CSD model พบว่าเมื่อให้สารปิดกั้นการทำงานของตัวรับกลูตาเมท เช่น MK-801 หรือ L-701,324 สามารถยับยั้งการเกิด CSD ได้ (Lauritzen และ Hansen, 1992; Obrenovitch และ Zilkha, 1996)

นอกจาก ionotropic glutamate receptor จะพบมากที่สุดบริเวณ postsynaptic แล้ว (Hwang และคณะ 2001; Lu และคณะ., 2002) ตัวรับของกลูตาเมททั้ง 3 ชนิด (AMPA, NMDA

และ kainate) นี้ยังสามารถพบที่บริเวณ presynaptic โดยจะมีการทำงานผ่าน kainate และ NMDA receptor โดยการกระตุ้นตัวรับ kainate receptor ที่บริเวณ presynaptic จะสามารถยับยั้งการหลั่งของกลูตาเมตที่บริเวณ presynaptic ได้ (Kerchner และคณะ, 2001b) สำหรับ NMDA receptor ที่บริเวณ presynaptic นั้น Liu และคณะ (1997) พบว่าการกระตุ้นการทำงานของตัวรับนี้สามารถกระตุ้นการหลั่งของ substance P และกลูตาเมต ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นที่บริเวณ postsynaptic ได้ อย่างไรก็ตามการหลั่งสารสื่อประสาทที่มีผลกระตุ้นหรือยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทนั้นก็ขึ้นอยู่กับขนาดและความแรงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization)



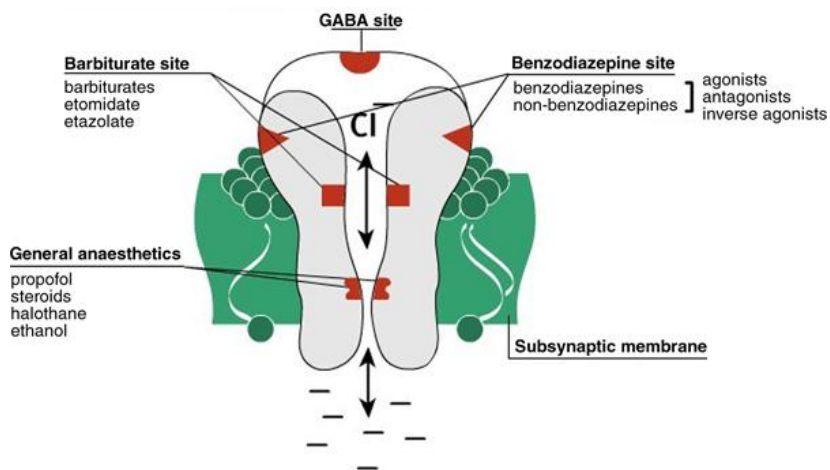
ภาพที่ 2.3 ภาพแสดงลักษณะของตัวรับกลูตาเมต (glutamate receptor)

(Voglis และ Tavernarakis, 2006)

กาบา (Gamma-aminobutyric acid; GABA) และไกลซีน (Glycine)

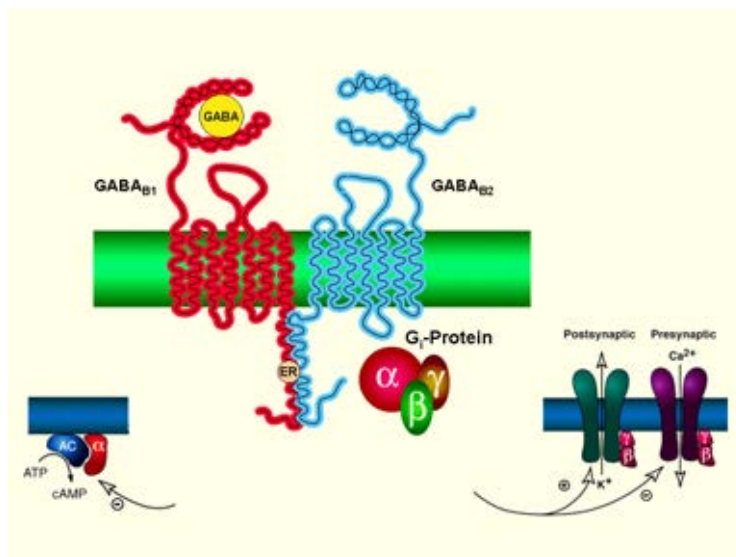
กาบาและไกลซีนเป็นสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนที่มีผลในการยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทที่มาจากบริเวณต่างๆ ไปยัง dorsal horn ของไขสันหลัง โดยสามารถยับยั้งการนำสัญญาณที่เป็นอันตราย (nociceptive afferent) เข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง (Narikawa และคณะ, 2000) การยับยั้งการทำงานของสัญญาณประสาทนั้นอาจมาจาก GABAergic และ Glycinergic fiber จาก rostral ventromedial medulla ที่ dorsal horn (Antal และคณะ, 1996) ผ่านทาง ligand gated ions channels ทำให้มีการยอมให้ chloride และ bicarbonate เข้าสู่เซลล์ส่งผลให้เกิดดีโพลาไรเซชันที่บริเวณ postsynaptic ลดลง และสามารถยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทชนิดกระตุ้นที่มายังไขสันหลัง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าไกลซีนเป็นสารสื่อประสาทหลักที่มีความสำคัญในการยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทที่บริเวณ gray matter of the spinal cord ในขณะที่การหลั่งของ GABA จะกระตุ้นการทำงานของ GABA_A receptors มีผลกระตุ้นการเปิดของ Cl channels พบมากที่ postsynaptic neurone โดยจับร่วมกับ benzodiazepine receptor ออกฤทธิ์แบบ IPSP และ GABA_B receptor พบที่บริเวณ presynaptic มีฤทธิ์ยับยั้ง Ca channels หรือกระตุ้น K channels เกิด IPSP (Chery และ Koninck, 1999) เมื่อทำการทดลองโดยการยับยั้งการทำงานของ GABAergic หรือ Glycinergic fiber พบว่าสามารถกระตุ้นระบบรับความเจ็บปวดที่บริเวณไขสันหลังได้ (Sivilotti และ Woolf, 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าเกิดการเกิด synaptic inhibition ที่ superficial dorsal horn มีความจำเป็นในการป้องกันการส่งสัญญาณความเจ็บปวดมายังระบบประสาทส่วนกลางได้ (Salomone และคณะ, 2009)



ภาพที่ 2.4 ภาพแสดงลักษณะของตัวรับ GABA_A (GABA_A receptor)

(Gommers และ Bakker, 2008)



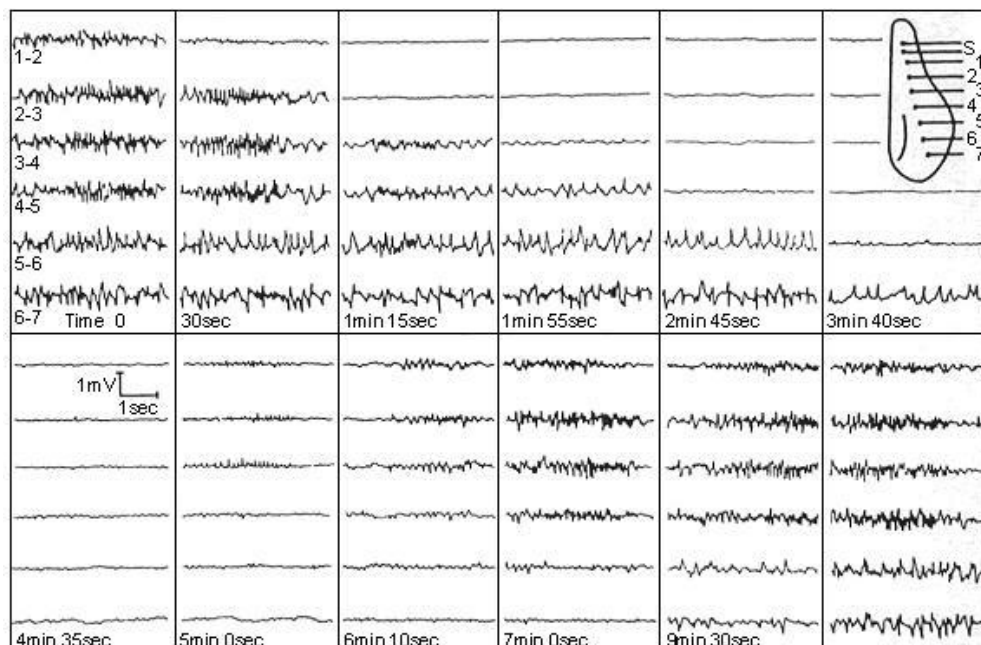
ภาพที่ 2.5 ภาพแสดงลักษณะของตัวรับ GABA_B (GABA_B receptor)

(U of Zurich, 2010)

คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน (Cortical spreading depression; CSD)

ปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน หรือ CSD เป็นปรากฏการณ์ของการเกิดดีโพลาไรเซชันของเซลล์ประสาทแล้วตามด้วยการยับยั้ง (suppression) การทำงานของเซลล์ประสาทนั้นๆ อย่างรวดเร็ว (Lauritzen, 2001) ซึ่งการเกิด คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน นั้นอาจเกิดขึ้นได้ที่บริเวณต่างๆ ในสมอง โดยส่วนใหญ่จะเกิดที่บริเวณเนื้อสีเทา (gray matter) ของบริเวณสมองนั้นๆ เช่น ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ ซีรีเบลลัมและฮิปโปแคมปัสของสิ่งมีชีวิตหลายๆ ชนิด (Bures และคณะ, 1974) คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดเวลาในภาวะที่เนื้อเยื่อมีความผิดปกติหรืออยู่ในภาวะ hypoglycemia, hypoxia หรือถูกกระตุ้นด้วยพลังงานกล สารเคมี และพลังงานไฟฟ้า นอกจากนี้ยังสามารถเกิดขึ้นได้เมื่อมีความผิดปกติบางอย่างเกิดขึ้นที่สมอง เช่น migraine, head injury, epilepsy และ cerebrovascular diseases เป็นต้น โดยการเกิดดีโพลาไรเซชันนั้นจะเริ่มที่บริเวณถูกกระตุ้นครั้งแรกแล้วแพร่กระจายออกไปทางด้านหน้าในลักษณะการกระจายไปทุกทิศทุกทางทั่วบริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ ใช้ความเร็วในการแพร่กระจายสัญญาณประสาทประมาณ 2-3 มิลลิเมตรต่อนาที การดีโพลาไรเซชันของ neuroglial ที่เกิดขึ้นนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของไอออนระหว่างนอกเซลล์และในเซลล์ของเส้นประสาท โดยพบว่าในระหว่างที่เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน จะมีการเคลื่อนที่ของ K^+ และ H^+ ออกนอกเซลล์ ในขณะที่มี Na^+ , Ca^{2+} และ Cl^- เข้าสู่เซลล์ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงในลักษณะต่างๆ เช่น เพิ่มการใช้กลูโคส, O_2 consumption และการเปลี่ยนแปลงของสารสื่อประสาท เป็นต้น

ปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน นั้นถูกค้นพบในปี 1944 โดย A.P. Leao นักศึกษาปริญญาเอกของภาควิชาสรีรวิทยา สถาบันแพทยศาสตร์ฮาร์วาร์ด Leao ได้ศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อสมองกระต่าย เมื่อกระตุ้นด้วยไฟฟ้าในระยะเวลาดสั้นๆ ประมาณ 1-5 วินาที แล้วทำการบันทึกคลื่นสมองด้วย electroencephalography (EEG) ที่บริเวณเปลือกสมองของกระต่าย จากการศึกษาของ Leao พบว่ามีสัญญาณของคลื่นไฟฟ้าได้แพร่ออกจากจุดที่ถูกกระตุ้นอย่างช้าๆ ในทุกทิศทุกทางด้วยอัตราเร็วประมาณ 3 มิลลิเมตรต่อนาที (Milner, 1958) และตามมาด้วยการค่อยๆ ลดลงของคลื่นไฟฟ้างดังกล่าว และกลับมา เป็นปกติเหมือนก่อนได้รับการกระตุ้นภายในระยะเวลา 10 ถึง 15 นาที (Lauritzen, 2001) (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 การกระจายของสัญญาณประสาทที่บริเวณซีรีบรัลคอร์เท็กซ์ของกระต่าย

(Leao, 1994)

ปัจจุบันคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเฟรสชัน ถูกนำมาใช้ศึกษาถึงพยาธิสภาพของผู้ป่วยไมเกรน ชนิดออรา เนื่องจากปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเฟรสชัน มีความคล้ายคลึงการทำงานของสัญญาณประสาทที่พบในผู้ป่วยไมเกรน ชนิดออรา พบประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยไมเกรน โดยการเกิดไมเกรน ชนิดออรา นี้ จะเกี่ยวข้องกับ sensory, motor และ visual symptoms โดยจะมีความผิดปกติมากขึ้นเรื่อยๆ ส่วนใหญ่ความผิดปกติของการทำงานทางด้านระบบประสาทนี้ มักจะเกิดที่บริเวณ visual cortex ของ occipital lobe จะส่งผลให้มองเห็นแสงวาบแล้วตามด้วยการมองเห็นเป็นจุดสีดำที่บริเวณภาพ

Lashley พบว่าการส่งสัญญาณประสาทที่ผิดปกติจะเริ่มจากบริเวณ visual cortex แล้วจะแผ่กระจายสัญญาณประสาทไปทั่วบริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ อย่างช้าๆ โดยใช้อัตราเร็ว 2-5 มิลลิเมตรต่อวินาที และจะหยุดการกระจายสัญญาณที่บริเวณ central sulcus (Andrew, 2004) หลังจากนั้นก็เข้าสู่กระบวนการ recovery กลับเข้าสู่ปกติหลังจากเวลาผ่านไป 30-60 วินาที (Michael และคณะ, 2001) จากนั้นจะมีการกระตุ้นไปยัง ไทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส (TNC) ที่ brainstem บริเวณ C₁- C₂ ของไขสันหลัง และจะปรากฏโปรตีนฟอสที่บริเวณไทรจิมินัลนิวเคลียส

คอตาเลียส ซึ่งพบว่าในระหว่างการเกิดไมเกรน ชนิด ออรา มีความสัมพันธ์กับการเกิดปรากฏการณ์
คอร์ติคัลเปรดดิ้ง ดีเพรสชันที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลอง

การแสดงออกของโปรตีนฟอส (C-fos expression)

โปรตีนฟอส (c-fos) เป็นโปรตีนที่จัดอยู่ในประเภท early-response gene ซึ่งสามารถ
ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายในเวลาอันรวดเร็ว เมื่อถูกกระตุ้นจะเกิดการตอบสนองขึ้นภายในเวลา
5 นาที และสามารถเกิดต่อเนื่องไปได้ถึง 15-20 นาที หลังจากที่ได้รับกระตุ้นหลายๆครั้ง จาก
งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าโปรตีนฟอสมีคุณสมบัติคล้ายกับ immunoreactivity ซึ่งถูกใช้เป็น marker
ของ neuronal activity เมื่อกระตุ้นสมองบริเวณ motor และ sensory cortex ด้วยไฟฟ้าจะทำให้
เกิดการแสดงออกของโปรตีนฟอส

เมื่อกระตุ้นโครงสร้างต่างๆ ทั้งภายนอกและภายในสมอง ที่ควบคุมด้วยระบบประสาท ไทร
จิมินัล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาเกี่ยวกับกับการเกิดไมเกรนด้วยการเหนี่ยวนำให้เกิด
คอร์ติคัลเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดออราในไมเกรน
หรือการกระตุ้นที่โครงสร้างบางอย่างภายในกะโหลกศีรษะ เช่น เยื่อหุ้มสมอง, trigeminal
ganglion และ superior sagittal sinus สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของ c-fos gene
ภายในเซลล์ของไตรจิมินัลนิวเคลียส คอตาเลียส (Ingvar, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าการ
กระตุ้นระบบประสาทส่วนรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดส่งผลให้มีโปรตีนฟอสที่บริเวณ lamina I และ II
ของ dorsal horns ในไขสันหลัง (spinal cord) ขึ้น จากการค้นพบการแสดงออกของโปรตีนฟอส
ทั้งสองบริเวณ คือ ไขสันหลังและบริเวณเปลือกสมองใหญ่ นั้นชี้ให้เห็นว่า การแสดงออกของ
โปรตีนฟอสสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกของ neuronal activity ได้ (Dimos, 2001) ดังนั้นการ
ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นหลายชนิดรวมทั้งกระบวนการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวด (nociception) จะมี
ปริมาณโปรตีนฟอสในเซลล์ประสาทเพิ่มขึ้นภายหลังการให้ตัวกระตุ้นที่ทำให้เกิดความเจ็บปวด

การป้องกันและการรักษาอาการปวดศีรษะไมเกรน

การป้องกันอาการปวดไมเกรนทำได้โดยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรม พยายามหลีกเลี่ยงต่อสิ่งกระตุ้นหรือสิ่งเร้าที่ทำให้อาการปวดกำเริบ เช่น คaffeine หรือ อาหารที่ใส่สารปรุงรส แดดร้อน ภาวะที่เคร่งเครียด เสียงดัง การพักผ่อนที่ไม่เพียงพอ เป็นต้น เมื่อผู้ป่วยไมเกรนเกิดอาการปวดศีรษะสามารถรักษาโดยการนอนหลับพักผ่อน-เย็น การอยู่นิ่งๆ และพักผ่อน เพื่อให้ร่างกายรู้สึกผ่อนคลาย หากยังมีอาการปวดอยู่ จึงค่อยใช้ยารักษาตามระดับความรุนแรงของการปวด (Modi และ Lowder, 2006) ซึ่งยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยไมเกรนนั้น สามารถจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ยารักษาแบบเฉียบพลันและแบบป้องกัน (Kaniecki และ Lucas, 2004; Ever, 2008)

1. ยารักษาอาการปวดไมเกรนแบบเฉียบพลัน

1.1 ยาแก้ปวด ได้แก่ พาราเซตามอล แอสไพริน nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) และยาแก้ปวดที่มีส่วนผสมของยาเสพติดให้โทษประเภท 3 เช่น Tylenol with Codeine แต่การใช้ยานี้พบว่าอาจทำให้มีนิ่วในไตได้และห้ามใช้ในเด็ก

1.2 ยากลุ่มเออร์กอต (Ergot-based drug) เนื่องจากยานี้มีผลข้างเคียงพอควร จึงควรใช้ในการรักษาอาการปวดไมเกรนที่รุนแรงและนาน ๆ เป็นสักครั้ง การใช้ยาบ่อย ๆ จะทำให้ปวดศีรษะมากขึ้นและติดยา

1.3 ยากลุ่มทริปแทน (Triptan) เป็นยาที่ใช้รักษาอาการปวดศีรษะไมเกรน คลื่นไส้ อาเจียน กลัวแสง กลัวเสียงได้ แต่มีราคาแพง การใช้ยานอนหลับชนิดต่าง ๆ เช่น ไดอะซีแพม ก็สามารถใช้ในการรักษาไมเกรนได้ แต่ไม่ควรใช้บ่อยเพราะจะมีปัญหาติดยาเกิดขึ้น

2. ยารักษาอาการปวดไมเกรนแบบป้องกัน

ใช้ในกรณีที่มีอาการปวดไมเกรนบ่อย เช่น เกิน 2 ครั้งต่อเดือน อาการปวดแต่ละครั้งรุนแรง หรือใช้กับผู้ป่วยในรายที่ไม่สามารถใช้อายากลุ่มที่รักษาอาการปวดไมเกรนแบบเฉียบพลันได้ ยาในกลุ่มนี้ไม่ใช่ยาแก้ปวดจึงไม่สามารถรักษาอาการปวดไมเกรนได้ แต่เป็นยาที่ใช้สำหรับการ

ป้องกันการเกิดไมเกรน โดยต้องรับประทานยาทุกวัน เป็นเวลา 4-6 เดือน หลังจากหยุดยาในกลุ่มนี้ อาการปวดศีรษะอาจหยุดไปเป็นเวลานาน ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่

2.1 β -blocker ได้แก่ โพรพราโนลอล มีประสิทธิภาพในการป้องกันไมเกรน 55-84%

2.2 Anti-serotonin ได้แก่ พิโซติเฟน ซึ่งเป็นยาที่ทำให้ผู้ป่วยรับประทานอาหารได้ดีขึ้น มีประสิทธิภาพในการป้องกันประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ แต่มีผลข้างเคียงคือทำให้อ้วนและง่วงนอน

2.3 Calcium antagonist ได้แก่ ฟลูนาริซีน เวราพราไมล ไนเฟดิปีน และ ไนโมดิปีน สามารถป้องกันอาการปวดศีรษะไมเกรนได้ ประสิทธิภาพใกล้เคียงกับยากกลุ่ม β -blocker

2.4 กลุ่มยา Tricyclic Antidepressants เช่นมีประโยชน์ในผู้ป่วยนอนไม่หลับและมีอาการซึมเศร้าร่วมด้วย

2.5 กลุ่มยากันชัก ปัจจุบันถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย ได้แก่ โซเดียมวาลโปรเอท โทพิราเมท และกาบ้าเพนติน โดยขนาดยาที่ใช้ป้องกันอาการปวดศีรษะไมเกรนนั้นจะน้อยกว่าที่ใช้ในการรักษาโรคลมชัก

กรดวาลโปรอิก (Valproic acid; VPA)

Valproic acid (VPA, วีพีเอ) เป็นสารเคมีที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในปี ค.ศ. 1882 โดย Burton และพบฤทธิ์ในการต้านชักโดยบังเอิญ เมื่อถูกนำมาใช้เป็นสารละลายในโปรแกรมการค้นคว้ายาใหม่ โดย Meunier และคณะ ในปี ค.ศ. 1963 (Johnston และ Slater, 1982; Rogawski และ Poster, 1990) วีพีเอประกอบด้วย short-branched fatty acid ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของวีพีเอนั้น อาจเกิดขึ้นได้หลายกลไก ได้แก่ วีพีเอช่วยลดการเกิด excitability ของเซลล์ประสาท โดยปกติการเกิด excitability ของเซลล์ประสาธนั้นมีสารสื่อประสาทกลูตาเมท เป็นสารสื่อประสาทหลักในการนำส่งสัญญาณประสาทชนิดกระตุ้น (fast excitatory neurotransmitter) ที่ระบบประสาท

ส่วนกลาง (Nagy และคณะ, 2004) นอกจากกลไกข้างต้นแล้วยังพบว่าวีพีเอสามารถยับยั้งการเกิด voltage-dependent Na^+ channels อีกด้วย (Akerman, 2008)

ปัจจุบันวีพีเอเป็นยารักษาโรคลมชักที่มีประสิทธิภาพ โดยวีพีเอถูกนำมาใช้ในการรักษา กลุ่มอาการอื่นๆ เช่น bipolar และ schizoaffective disorders (Winterer และ Hermann, 2000) ถึงแม้จะมีการใช้วีพีเอกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน แต่กลไกการออกฤทธิ์ของมันยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัด นักเภสัชวิทยาคาดว่ากลไกการออกฤทธิ์ของวีพีเออาจมีหลายกลไก ดังนี้

1. เพิ่มปริมาณของกาบา (Gamma aminobutyric acid; GABA) (Loscher, 1985; Rogawski และ Poster, 1990) โดยการไปยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายกาบา เช่น GABA aminotransferase succinic semialdehyde decarboxylase และ aldehyde reductase หรือ valproic acid มีผลเร่งการทำงานของ glutamate acid decarboxylase ซึ่งจำเป็นต่อการสร้างกาบา (Davis และคณะ, 1994; Rogawski และ Poster, 1990)
2. วีพีเอมีผลโดยตรงต่อผนังเซลล์ ลดการเกิด excitability ของเซลล์ประสาทลง โดยการยับยั้ง voltage-dependent Na^+ channels (Johnston, 1984) หรือไปมีผลต่อ sodium และ potassium conductance (Davis และคณะ, 1994)

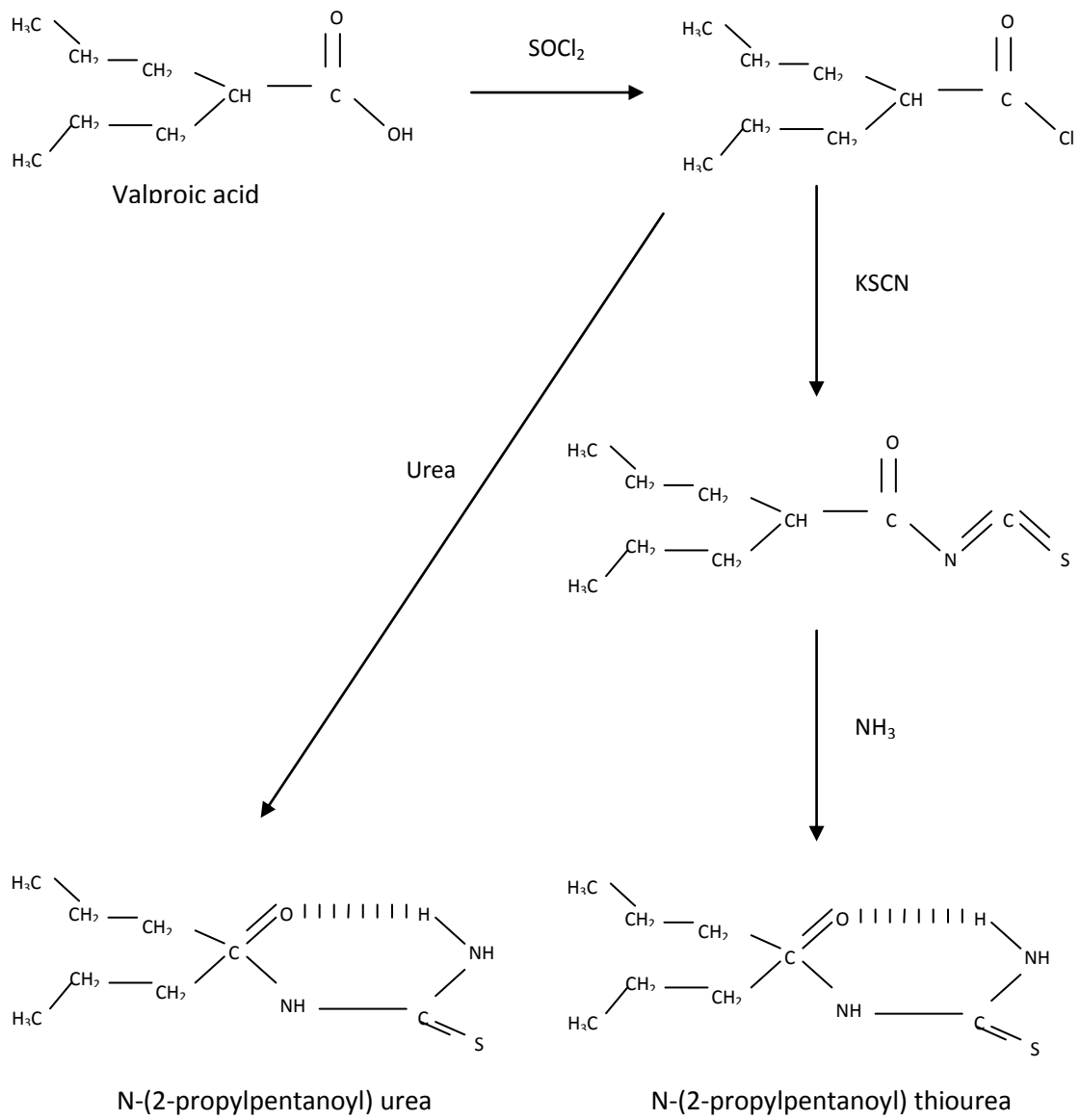
จากการนำวีพีเอมาใช้ในผู้ป่วยไมเกรนพบว่าวีพีเอมีประสิทธิภาพในการป้องกันอาการปวดศีรษะไมเกรนทั้งชนิดออราและไม่มีออรา โดยวีพีเอสามารถลดอาการปวดศีรษะในระดับปานกลางหรือระดับรุนแรงให้หายเป็นปกติได้ (Shahien และ Saleh, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าวีพีเอสามารถรักษาอาการปวดศีรษะชนิดเรื้อรัง (Mathew และ Ali, 1991) และสามารถลดอาการปวดศีรษะรุนแรงแบบข้างเดียวได้ (Hering และ Kurtizky, 1989) Cutrer และคณะพบว่าวีพีเอสามารถเพิ่มระดับกาบาในสมอง ซึ่งส่งผลให้ยับยั้งการส่งสัญญาณประสาทของเส้นประสาทไตรจีมินัลไปยังไตรจีมินัลนิวเคลียส คอคดาลิสได้ (Cutrer และคณะ, 1995)

ถึงแม้ในปัจจุบันการนำวีพีเอมาใช้จะเกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง แต่พบว่าวีพีเอก็ถูกจัดไว้ในกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์ต้านชักปานกลาง เนื่องจากผ่าน blood-brain barrier ได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับยาต้านชักตัวอื่น เช่น phenobarbital, phenytoin และ carbamazepine นอกจากนี้วีพีเอยังทำให้

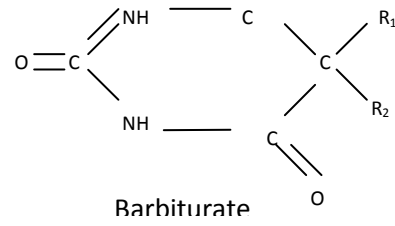
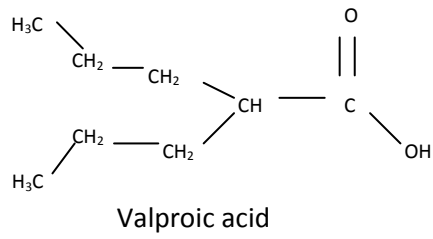
เกิดอาการพิษและฤทธิ์ข้างเคียงอยู่มากพอควร ได้แก่ ผลต่อทารกในครรภ์หรือตัวอ่อนในสัตว์และเป็นพิษต่อตับทั้งในคนและสัตว์ทดลอง (Davis และคณะ , 1994) ด้วยเหตุดังกล่าวจึงได้มีการพยายามปรับปรุงสูตรโครงสร้างของวีพีเอเพื่อให้ได้อุพันธ์ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาสูงขึ้นและอาการอันไม่พึงประสงค์น้อยลง (Bialer และคณะ, 1994)

N-(2-propylpentanoyl) urea

N-(2-propylpentanoyl) urea หรือ VPU หรือวีพียู เป็น monoureide analog ของวีพีเอ ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยนิสิตภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Saisorn และคณะ, 1992) มีลักษณะโมเลกุลด้านหนึ่งเป็นส่วนของวีพีเอและอีกด้านหนึ่งมีส่วนคล้าย barbiturate ซึ่งมีฤทธิ์ด้านชักเช่นกัน

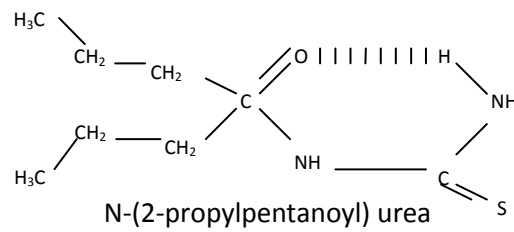


ภาพที่ 2.7 แสดงการสังเคราะห์ N-(2-propylpentanoyl) urea (Saisorn, 1992)



Pentobarbital: R1 = ethyl, R2 = 1-methylbutyl

Phenobarbital: R1=ethyl, R2 = phenyl



ภาพที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของ valproic acid, Barbiturate และ N-(2-propylpentanoyl) urea

(Saisorn, 1992)

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของวีฟิอูพบว่าวีฟิอูมีการต้านชักได้ดีกว่าวีฟิเอและมีผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ต่ำกว่าวีฟิเอ (Tantisira.และคณะ, 1997; Kongsombat และคณะ, 2008) จากการศึกษานี้ในปี 1995 โดยวิธี microdialysis พบว่าวีฟิอูมีกลไกการออกฤทธิ์ต่างจากวีฟิเอและอาจมีความเกี่ยวข้องกับสารสื่อประสาทกรดอะมิโนชนิดกระตุ้น เช่น กลูตาเมตและแอสพาเทต (Sooksawate, 1995) และเมื่อศึกษาโดยวิธี microiontophoretic พบว่าวีฟิอูสามารถลดระดับของการกระตุ้นระบบประสาทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์และซีรีเบลลา คอร์เทกซ์ได้ (Khongsombat และคณะ, 2005) นอกจากนี้วีฟิอูยังสามารถยับยั้งการทำงานของ NR1A/NR2B NMDA receptor บนผนังเซลล์ของไขกบสายพันธุ์ *Xenopus laevis* ซึ่ง NR1A/NR2B NMDA receptor เป็น subtype หนึ่งของ Glutamate receptor ที่สามารถให้ยาออกฤทธิ์ได้เป็นจำนวนมาก (Ponsup, 2003)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศผู้ พันธุ์ wistar น้ำหนักตัว 200-300 กรัม จากสำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม จะถูกนำมาเลี้ยงที่ศูนย์เลี้ยงสัตว์ทดลองของคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อย่างน้อยเป็นเวลา 1 สัปดาห์ในกรงพลาสติกขนาด 5 ตัวต่อ 1 กรง โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและน้ำสะอาด ในห้องซึ่งควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 25 ± 2 °C ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์และมีแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง

งานวิจัยนี้ได้ปฏิบัติตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2549 และผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์และมนุษย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Approval No. 12-33-008)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือ

1. Microdialysis probe (CMA/11, 2 mm membrane length, 0.24 mm diameter, 6 kDa cut-off) (Homofilter PNF-140, Asahi Medical CO., Tokyo, Japan)
2. Glass microelectrode (U.S.)
3. Stereotaxic Instrument (NARISHIGE, Japan)
4. Micropipette (Pipetman[®], Gilson, France)

5. Dental equipment (Dremel[®] Moto - Tool[®], Racine, U.S.A.)
6. Ag/AgCl wire (Medi-trace[™], U.S.A.)
7. Microelectrode amplifier (Nihon Kohden)
8. McIntosh computer (analog to digital converter and chart[™] V.3.4.2 software program) (ADInstruments, Australia)
9. Microinfusion pumps (CMA/100, Carnegie, Sweden)
10. Glass slide and cover slips (Menzel – Glaser, Germany)
11. Image Tool V.3.0
12. Automatic Mixer (Vortex, U.S.A.)
13. HPLC system
 - C₁ Reverse – phase, 250 x 4.6 mm. particle size 5 µm, Spherisorb ODS2. (Attech[®], U.S.A.)
 - Guard column with packing material, particle sized 5 µm, Spherisorb OD2. (Phenominex[®], U.S.A.)
 - Fluorescence detector (Water 470, U.S.A.)
 - Pump with gradient system (LC – 10AD; Shimadzu, Japan)
 - Analog to Digital Instruments (Maclab^{™/4}, AD Instruments, Australia)
 - Macintosh computer (Model LC 630, Apple computer, Inc., U.S.A.) with software programs (Maclab^{™/4}, AD Instruments, Australia); Chart[™] V3.2.8 for data recording system and Peak[™] V1.3 for data processing system

3.2.2 สารเคมี

1. N- (2-Propylpentanoyl) Urea (VPU was synthesized by Assist. Prof. Dr. Chamnan Patarapanich and co-worker at Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand.)
2. L-Aspartate acid (Sigma, USA)
3. Calcium chloride (CaCl_2) (Sigma, USA)
4. Gamma-Amino Butyric acid (GABA) (Sigma, USA)
5. Ethanol absolute (Merck, Germany)
6. Glucose (Sigma, USA)
7. L-Glutamate acid (Sigma, USA)
8. Glycine (Sigma, USA)
9. L-Homoserine (Sigma, USA)
10. Valproic acid (Sigma, USA)
11. Carboxymethyl cellulose (CMC) (Fluka, USA)
12. Normal saline (Klean & Kare, Thailand)
13. Potassium chloride (KCl) (Sigma, USA)
14. Urethane (Sigma, USA)
15. Sodium chloride (NaCl) (Sigma, USA)
16. Sodium bicarbonate (NaHCO_3) (Sigma, USA)
17. Magnesium sulfate (MgSO_4) (Sigma, USA)

18. Ophthaldialdehyde (OPA) (Sigma, USA)
19. Heparin (Leo Pharmaceutical, Denmark)
20. Paraformaldehyde (Sigma, USA)
21. Sucrose (Sigma, USA)
22. Methanol (Sigma, USA)
23. Hydrogen peroxide 30 % (Merck, Germany)
24. Diluents (Bio genex, USA)
25. Envision + System-HRP Labelled polymer Anti-Rabbit (Dako, USA)
26. Liquid DAB + Substrate buffer (Dako, USA)
27. Gelatin (Merck, Germany)
28. Goat anti-mouse IgG, antibody, biotin conjugate (Sigma, USA)
29. Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) (Sigma, USA)
30. Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) (Sigma, USA)
31. Sodium hydroxide (NaOH) (Sigma, USA)
32. 2-Mercaptoethanol (Sigma, USA)
33. C-Fos (Santa Cruz, USA)

3.3 สารทดสอบ

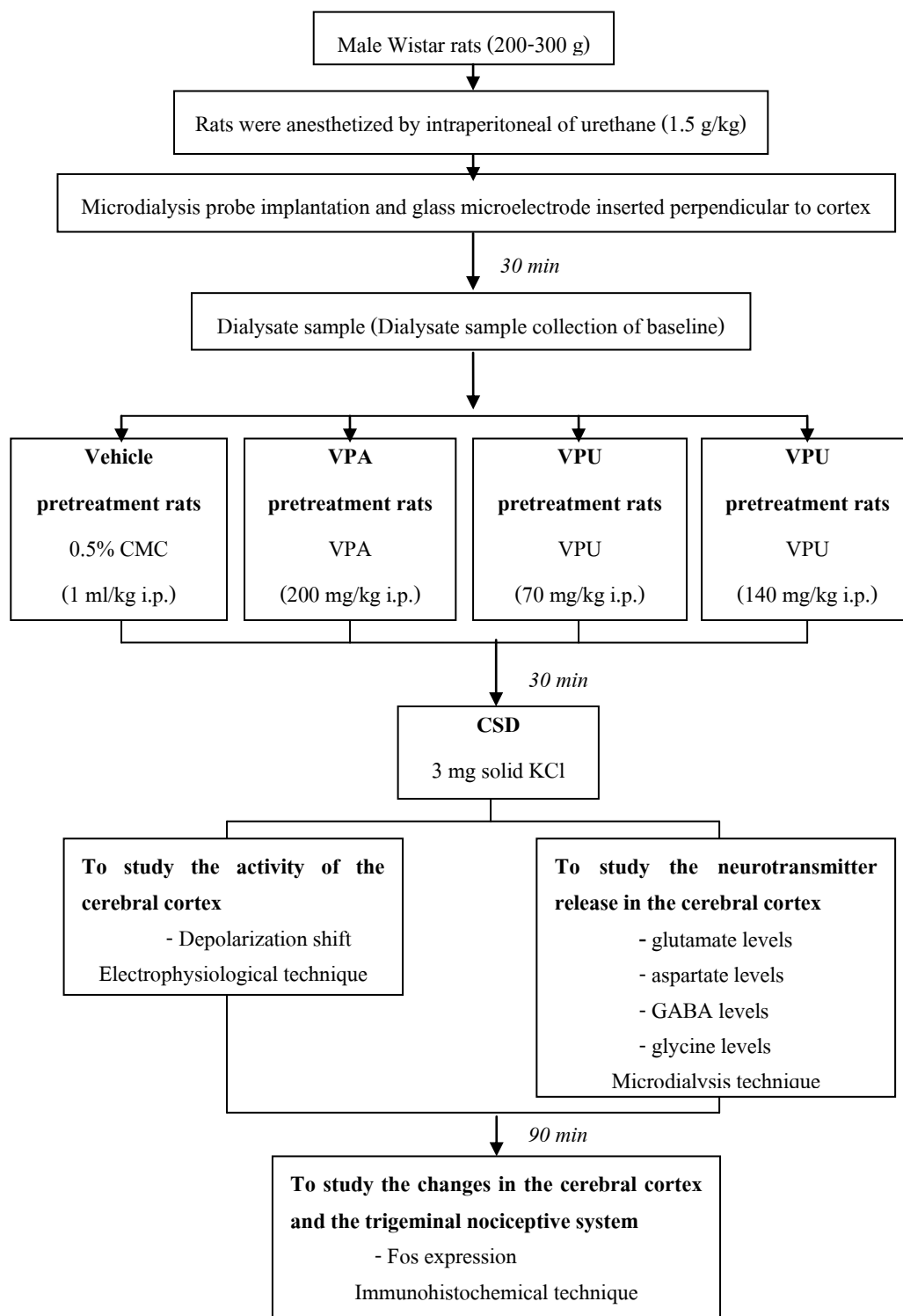
วีพียูจะถูกล้างด้วยน้ำในสารละลาย 0.5 % ของ carboxymethyl cellulose (CMC) และ วีพีเอจะถูกล้างด้วยน้ำในสารละลาย 0.5 % ของ carboxymethyl cellulose (CMC)

3.4 การแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มควบคุม (n=6) คือ กลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับสารละลาย 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) ใน Normal saline โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของสัตว์ทดลอง ในปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จากนั้น 30 นาที จึงเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน โดยการวางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัมที่ผิวซีรีบรัม คอร์เท็กซ์
2. กลุ่มที่ได้รับวีพีเอ (n=6) คือ กลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับวีพีเอ ซึ่งแขวนลอยอยู่ในสารละลาย 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) ใน Normal saline โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของสัตว์ทดลอง ในขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จากนั้น 30 นาที จึงเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน โดยการวางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัมที่ผิวซีรีบรัม คอร์เท็กซ์
3. กลุ่มที่ได้รับวีพียู (n=6) คือ กลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับวีพียู ซึ่งแขวนตะกอนอยู่ในสารละลาย 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) ใน Normal saline โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของสัตว์ทดลอง ในขนาด 70 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จากนั้น 30 นาที จึงเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน โดยการวางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัมที่ผิวซีรีบรัม คอร์เท็กซ์
4. กลุ่มที่ได้รับวีพียู (n=6) คือ กลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับวีพียู ซึ่งแขวนตะกอนอยู่ในสารละลาย 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) ใน Normal saline โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของสัตว์ทดลอง ในขนาด 140 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จากนั้น 30 นาที จึงเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน โดยการวางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัมที่ผิวซีรีบรัม คอร์เท็กซ์

3.5 วิธีดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 3.1 แผนภูมิการทดลอง

- การเตรียมสัตว์ทดลอง

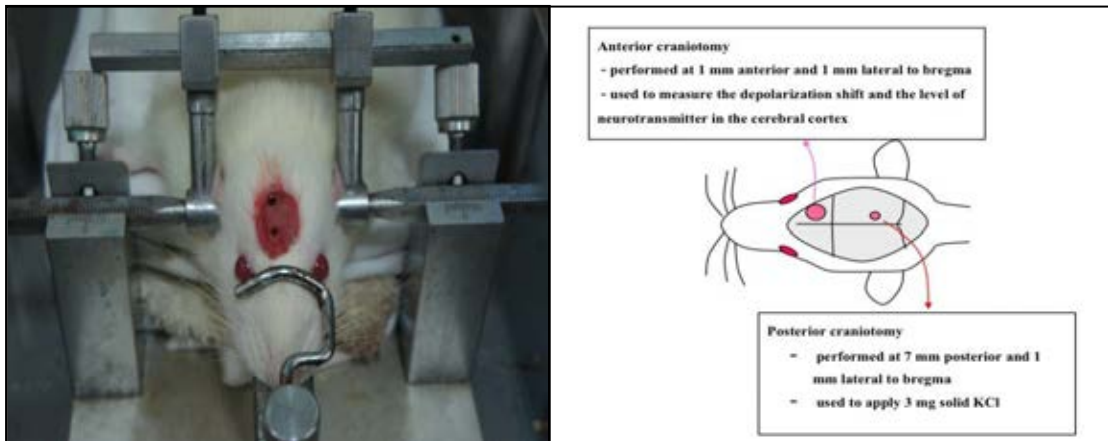
สลบสัตว์ทดลองด้วย Urethane (ethyl carbamate) ขนาด 1.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการฉีดเข้าช่องท้องของสัตว์ทดลอง จากนั้นนำสัตว์ทดลองตรึงศีรษะใน Stereotaxic apparatus



ภาพที่ 3.2 แสดงการตรึงศีรษะสัตว์ทดลองใน Stereotaxic apparatus

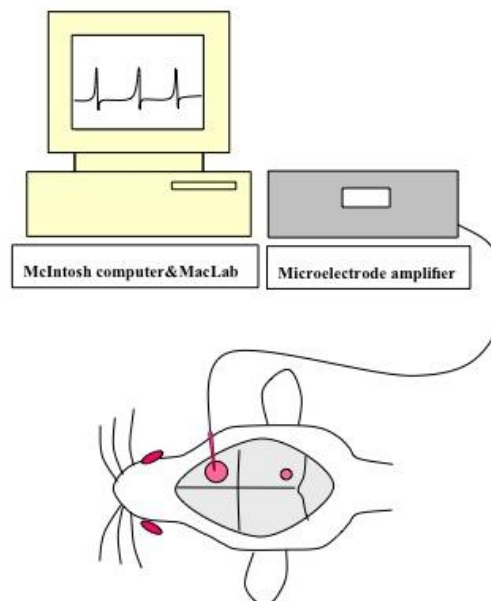
- การผ่าตัด

หลังจากที่ยึดศีรษะสัตว์ทดลองไว้กับ stereotaxic apparatus เรียบร้อยแล้ว ก็ใช้มีดหรือกรรไกรเปิดผิวหนังที่บริเวณศีรษะของสัตว์ทดลองตั้งแต่จุดหน้าสุดของรอยต่อกระดูกหน้าผากกับกระดูกจมูก (fronto-nasal suture) จนถึงคอ (neck) จากนั้นเจาะรู 2 รู บริเวณกะโหลกศีรษะ โดยใช้เครื่องมือพร้อมทั้ง saline-cooled โดยรูที่ 1 อยู่บริเวณ anterior ห่างจาก bregma 1 มิลลิเมตร และห่างจาก midline 1 มิลลิเมตร ซึ่งจะใช้วัดตีโพลาไรเซชันและระดับของสารสื่อประสาทที่ซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ สำหรับรูที่ 2 อยู่บริเวณ posterior ห่างจาก bregma ไปทางด้านหลัง 7 มิลลิเมตร และห่างจาก midline 1 มิลลิเมตร ซึ่งจะใช้วางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัม ดังแสดงในภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 แสดงตำแหน่ง anterior craniotomy และ posterior craniotomy

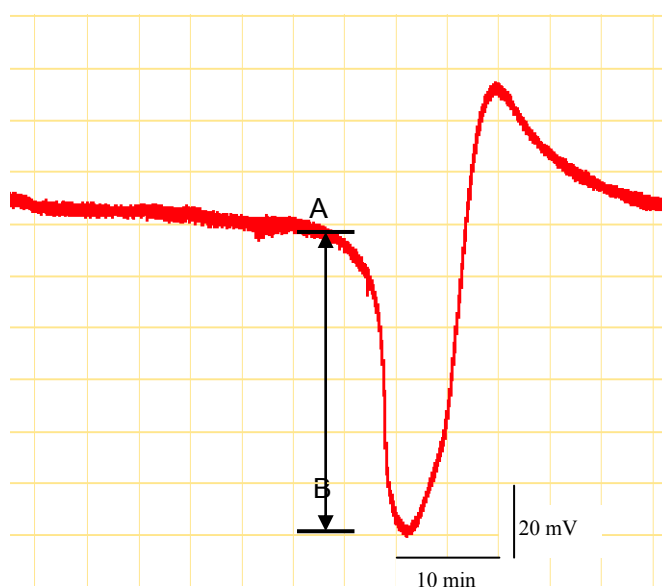
- การวัดการเปลี่ยนแปลงของดีโพลาไรเซชัน (Measurement of depolarization shift)



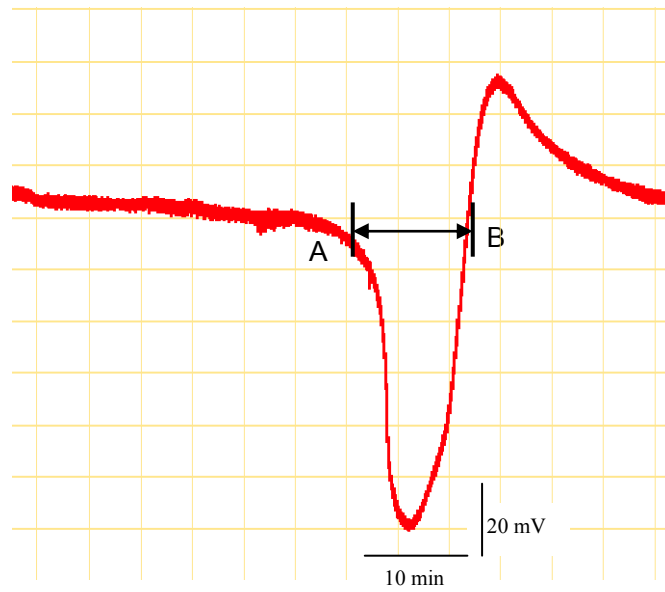
ภาพที่ 3.4 แสดงการบันทึก depolarization shift

หลังจากที่กระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรตดิง ดีเพรสชัน ด้วย KCl ขนาด 3 มิลลิกรัม (Ayata, 2006) แล้ว จะทำการวัดดีโพลาร์ไรเซชันโดยใช้ glass microelectrode (internal diameter 5 μm) ภายใน glass microelectrode บรรจุโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) สำหรับการวาง glass microelectrode ลงบนซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ของสัตว์ทดลองจะต้องวางในแนวตั้งฉากกับ ผิวสมองของสัตว์ทดลองด้วยความลึก 500 ไมโครเมตร และวาง Ag/AgCl wire ไว้บริเวณหลังของสัตว์ทดลองเพื่อใช้เป็นจุดอ้างอิง แล้วให้สังเกตค่า depolarization shift ที่เปลี่ยนแปลงใน microelectrode amplifier สำหรับการบันทึกข้อมูลจะบันทึกด้วยเครื่อง McIntosh computer กับ analog to digital converter และ chartTM V.3.4.2 software program โดยจะวัดการเปลี่ยนแปลงการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันเป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิด คอร์ติคัลสเปรตดิง ดีเพรสชัน เรียบร้อยแล้ว สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนำมาหาค่า ความถี่ของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชัน (frequency), ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันในแต่ละครั้ง (duration), ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชันครั้งต่อไป (interpeak latency), ความสูงของดีโพลาร์ไรเซชัน (amplitude) และพื้นที่ (peak area) ของการเกิดดีโพลาร์ไรเซชัน

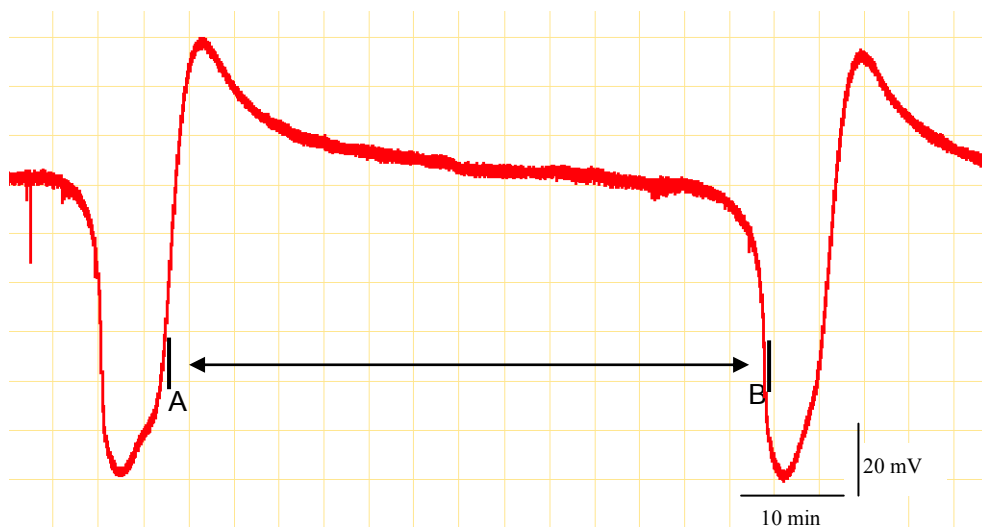
- ความสูงของ depolarization shift จะวัดการเปลี่ยนแปลงของ peak ในแนว vertical จาก baseline ถึงจุดต่ำสุดของ peak ของแต่ละ depolarization shift (จากจุด A ถึงจุด B)



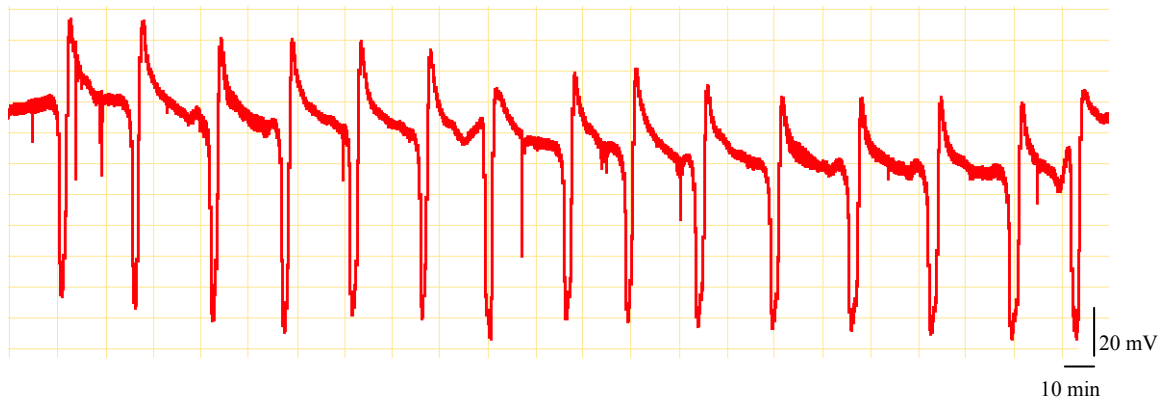
- ระยะเวลาของ depolarization shift จะวัดการเปลี่ยนแปลงของ peak ในแนว horizontal จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของแต่ละ depolarization shift (จากจุด A ถึงจุด B)



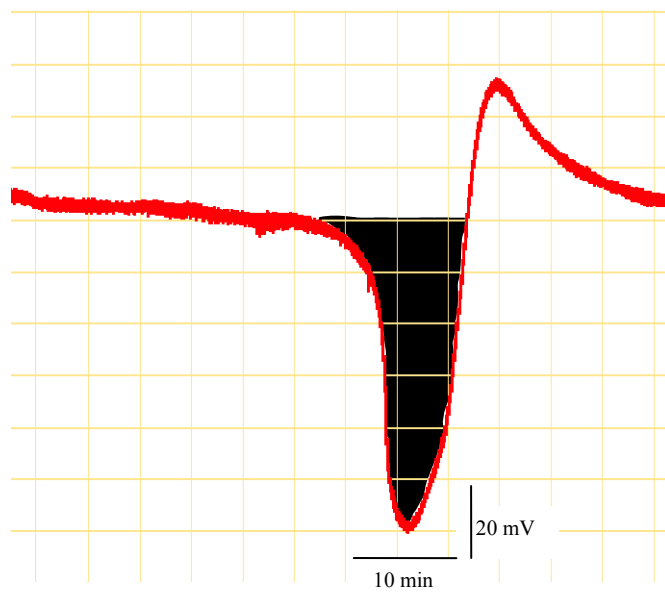
- ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันถัดไป (interpeak latency) วัดความแตกต่างระหว่าง peak 2 peak ในการเกิด cortical spreading depression (จากจุด A ถึงจุด B)



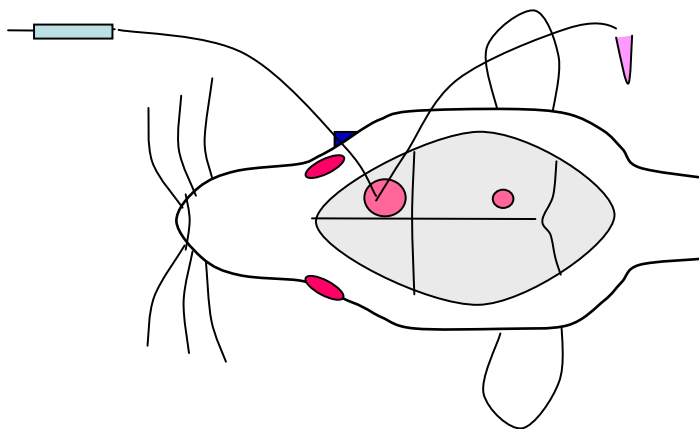
- ความถี่ depolarization shift วัดจำนวนการเกิด depolarization shifts เป็นเวลา 90 นาที



- พื้นที่ (peak area) ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน วัดพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ ะ depolarization shift

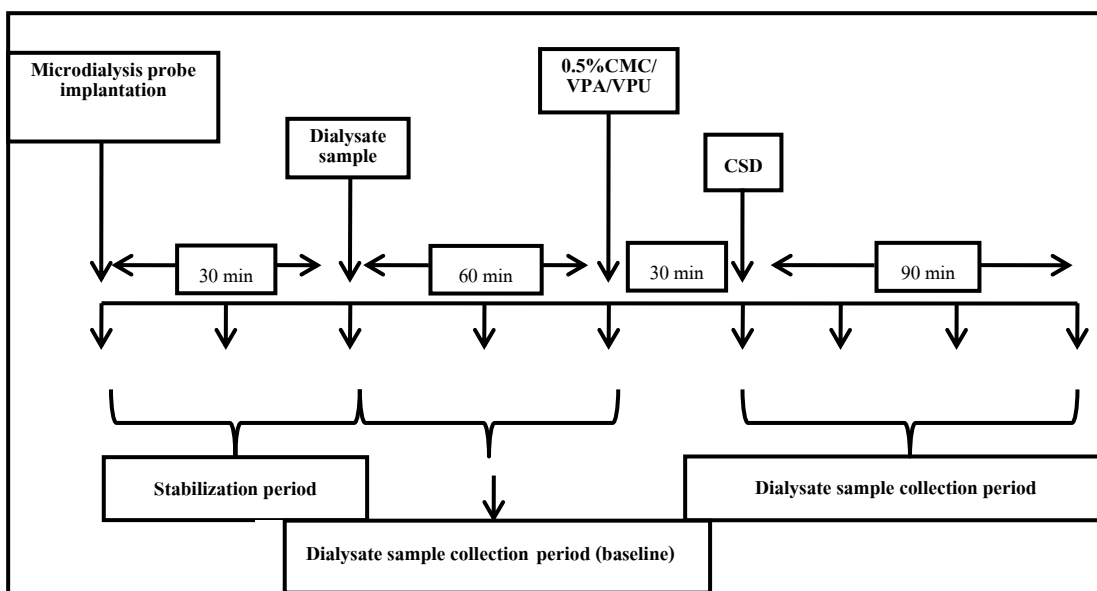


- การวัดระดับของสารสื่อประสาท



ภาพที่ 3.5 แสดงการเก็บสารสื่อประสาทที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์

หลังจากผ่าตัดเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำ microdialysis probe (CMA/11, 2 mm membrane length, 0.24 mm diameter, 6 kDa cut-off) สอดลงในรูบริเวณ anterior ด้วยความลึก 1.5 มิลลิเมตร จากผิวของสมองส่วนซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ โดยใช้บันทึกตั้งแต่ baseline ไปจนถึงปริมาณสารสื่อประสาทที่หลังเมื่อมีการกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันเรียบร้อยแล้ว ภายใน microdialysis probe จะบรรจุด้วย artificial cerebrospinal fluid (aCSF; NaCl 120 mM, NaHCO₃ 15 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 1.5 mM, MgSO₄ 1 mM, glucose 6 mM, pH 7.4) โดยใช้ อัตราเร็วในการไหลของ aCSF เท่ากับ 2 ไมโครลิตรต่อนาที ด้วยเครื่อง microinfusion pumps ในการเก็บตัวอย่างสารสื่อประสาทจะเริ่มจาก perfuse aCSF หลังจากวาง microdialysate probe 30 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่าง dialysate เพื่อใช้เป็น baseline ทุก 30 นาที 2 ครั้ง แล้วจึงให้สารทดสอบทิ้งไว้ 30 นาที และเริ่มเก็บ dialysate ต่อไปทุก 30 นาทีเป็นเวลา 90 นาที ดังแสดงในแผนภาพการเก็บสารสื่อประสาท ภาพที่ 3.6 และเครื่องมือที่ใช้ในการบันทึกการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าและการเก็บสารสื่อประสาทแสดงไว้ในภาพที่ 3.7 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.6 แผนภาพแสดงการเก็บสารสื่อประสาท

จากนั้นนำ dialysate ที่เก็บได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสื่อประสาท โดยนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสื่อประสาทด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ใช้วิธี precolumn fluorescence derivatization with o- Pthaldialdehyde (OPA) ซึ่งเสนอโดย Lindroth และ Mopper ในปี 1979 โดย mobile phase ใช้ gradient run ของสารละลายซึ่งประกอบด้วย 0.05 M phosphate buffer, pH 7.3 กับ methanol สารละลายเหล่านี้จะถูก degassed ด้วย Helium gradient run ของสารละลายที่ผ่านเข้าสู่ HPLC column ทำโดยการเพิ่มอัตราส่วนของ methanol ใน phosphate buffer ตั้งแต่ 20 % ไปจนถึง 60 % โดยเพิ่มในอัตรา 2 % ต่อนาที จากนั้นก็จะลดอัตราส่วนของ methanol กลับลงมาจนเหลือ 20 % ภายใน 5 นาที อัตราการไหลของ mobile phase ผ่าน HPLC column เท่ากับ 0.8-1 มิลลิลิตร/นาที

วิเคราะห์หาอัตราส่วนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสื่อประสาทโดยเปรียบเทียบกับ homoserine ซึ่งทราบปริมาณแน่นอน ใช้เป็น internal standard สารละลายที่จะฉีดเข้าใน HPLC column ประกอบด้วยตัวอย่างที่เก็บได้จากสมองกับ homoserine สารละลาย OPA โดยมีอัตราส่วนของปริมาตรเป็น 1:1:5 โดยผสมกันเป็นเวลา 2 นาที ก่อนฉีดเข้าสู่ HPLC column

ปริมาณสารสีประสาทจะวัดโดยเครื่อง fluorescence detector ซึ่งปรับให้มี emission wavelength 418 นาโนเมตร และ excitation wavelength 330 นาโนเมตร ผลที่ fluorescence detector วัดได้จะถูกเปลี่ยนเป็น digital data โดยใช้เครื่อง Maclab และบันทึกลงใน chart program V3.2.8 ของเครื่อง Macintosh computer ปริมาณสารสีประสาทจะหาได้โดยการวัดพื้นที่ใต้กราฟของ peak ของสารสีประสาทชนิดต่างๆ



ภาพที่ 3.7 แสดงการวัด depolarization shift และการเก็บสารสีประสาทตลอดการทดลอง

การวิเคราะห์โปรตีนฟอส (c-fos expression) โดยวิธี immunohistochemistry

การเตรียมสัตว์ทดลองและเนื้อเยื่อ

หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน เป็นเวลา 90 นาที แล้วสัตว์ทดลองจะถูกนำไปศึกษาการแสดงออกโปรตีนฟอส โดยวิธี immunohistochemistry โดยเริ่มจากการเปิดช่องอกถึงหัวใจใช้เข็มเบอร์ 27 ขนาด 0.5 นิ้ว ซึ่งมี heparin 2 ไมโครลิตร ฉีดเข้าบริเวณ apex ของหัวใจ จากนั้น เจาะหรือตัดบริเวณหลอดเลือดเอออร์ตาแล้ว perfuse ด้วย 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) ขนาด 300 มิลลิลิตร และตามด้วย 4 % paraformaldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) ขนาด 300 มิลลิลิตร หลังจากนั้นแยกเก็บสมองและไขสันหลังระดับ C₁-C₂ ทันทีก็นำมาผ่านกระบวนการ postfixing ใน 4 % paraformaldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) ตลอดคืนที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นจะเก็บเนื้อเยื่อไว้ใน 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อถึงเวลาที่จะนำ section มาตัดต้องนำมาแช่ใน 30 % sucrose ก่อนเป็นเวลา 1 คืน

การตัด Section

หลังจากนำ section แช่ใน 30% sucrose เป็นเวลา 1 คืนแล้ว นำ section ดังกล่าวมาตัดโดยเลื่อย 2 บริเวณ คือบริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ และกลุ่มเซลล์ไทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC) ที่บริเวณ C₁-C₂ ของไขสันหลัง (approximately -1 to -6 mm from obex) ในแนวระนาบ (coronal section) หนา 50, 20 ไมโครเมตร (μm) ตามลำดับด้วยเครื่อง cryostat นำ section ที่ตัดเรียบร้อยแล้วแช่ใน 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) เพื่อนำไปย้อม immunohistochemistry โดยใช้เทคนิค free floating

การย้อมโปรตีนฟอส

นำ section ทั้งหมด ใส่ใน vial ล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำไป incubated ด้วย 3 % hydrogen peroxide ใน 50 % ethanol นาน 30 นาที แล้วล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เมื่อล้างเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำ section ไป incubated ด้วยสาร diluent ประมาณ 6 หยด ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น incubated ด้วย anti- fos polyclonal antibody ด้วยอัตราส่วน 1:1,000 ใน diluent เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วล้างออกด้วย 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำไป incubated ใน Envision + HRP anti rabbit ประมาณ 45 นาที แล้วล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที section ที่ล้างเสร็จแล้วนำไป incubated ใน liquid DAB เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แช่ไว้ประมาณ 5-10 นาที หลังจากนั้นนำ section วางบน gelatin-coated slide ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วปิด coverslipped ด้วย permount

เมื่อย้อมโปรตีนฟอส (c-fos) ด้วยวิธี immunohistochemistry เสร็จเรียบร้อยแล้ว นำ section ทั้งหมดไปศึกษาการแสดงออกของโปรตีนฟอสด้วยกล้องจุลทรรศน์และถ่ายรูปโดยใช้โปรแกรม Image Tool V.3.0 ในสัปดาห์ทดลอง 1 ตัว จะนำมานับจำนวนนิวเคลียส โดยใช้ทั้งหมด 10 section ซึ่งในแต่ละ section จะเห็นจำนวนนิวเคลียสที่ติดสีเป็นสีน้ำตาลเข้มที่บริเวณ lamina I และ lamina II ของ cervical spinal dorsal horn โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนนิวเคลียสที่นับได้ในสัปดาห์ทดลองแต่ละตัว ส่วนที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ จะกำหนดขอบเขตของการนับจำนวนนิวเคลียสที่ติดสีน้ำตาลเข้ม โดยใช้ขนาด 250 x 250 ไมโครเมตร (μm) ที่ layer 3 ถึง layer 5 โดยจะคิดเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนนิวเคลียสที่นับได้ในสัปดาห์ทดลองแต่ละตัวต่อพื้นที่ 6.25×10^4 ตารางไมโครเมตร (μm^2)

3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean \pm standard deviation, S.D.) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ one – way analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Least Significant Difference test (LSD) พิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

บทที่ 4

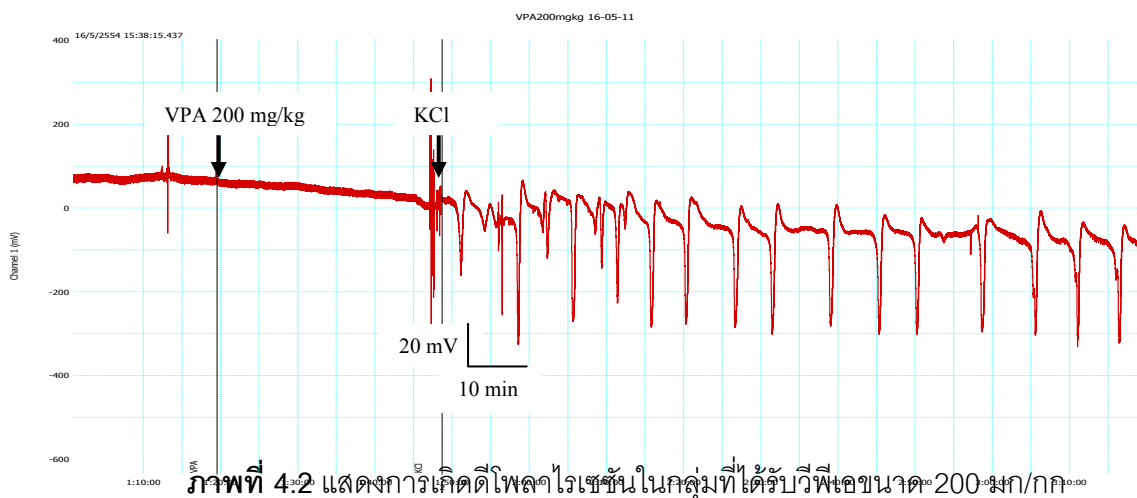
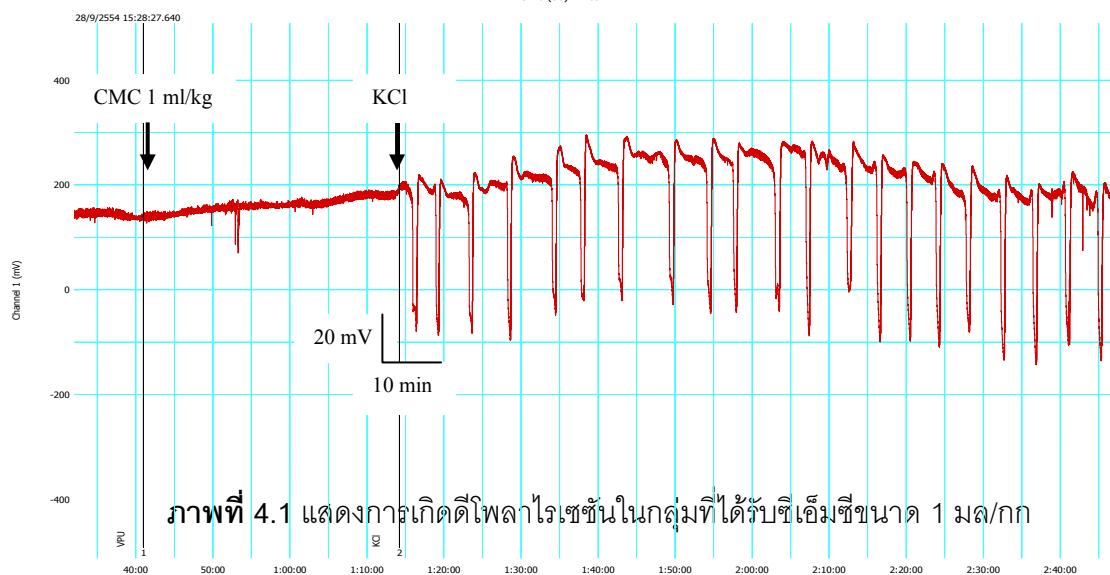
ผลการทดลอง

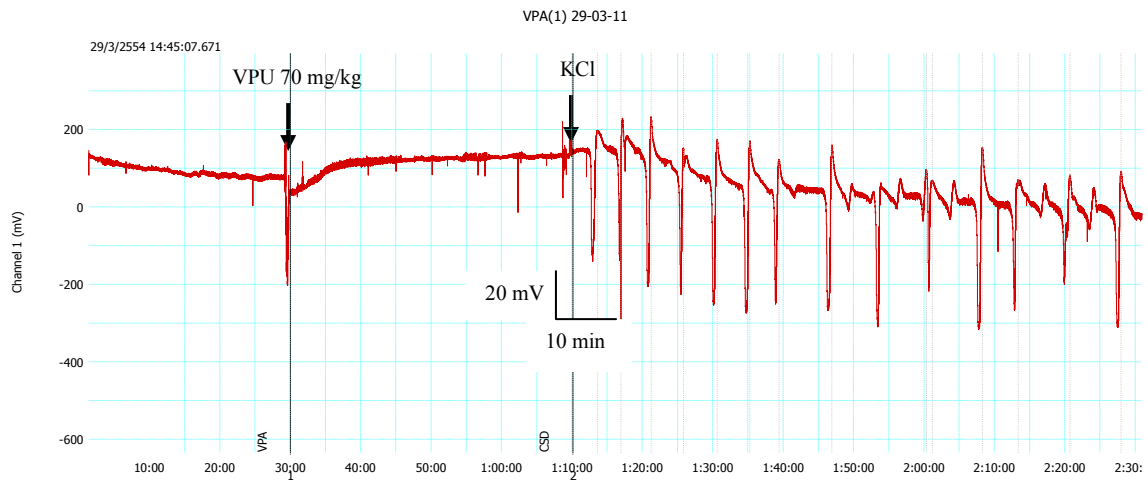
ผลการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

1. ผลต่อการเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization) ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์
2. ผลต่อระดับของสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ได้แก่ กลูตาเมตกับแอสพาเตท และระดับของสารสื่อประสาทชนิดยับยั้งระบบประสาทส่วนกลาง ได้แก่ กาบากับไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์
3. ผลต่อระดับโปรตีนฟอส (c-fos) ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ (cerebral cortex) และในกลุ่มเซลล์ไทรเจมินัลนิวเคลียส คอคาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC)

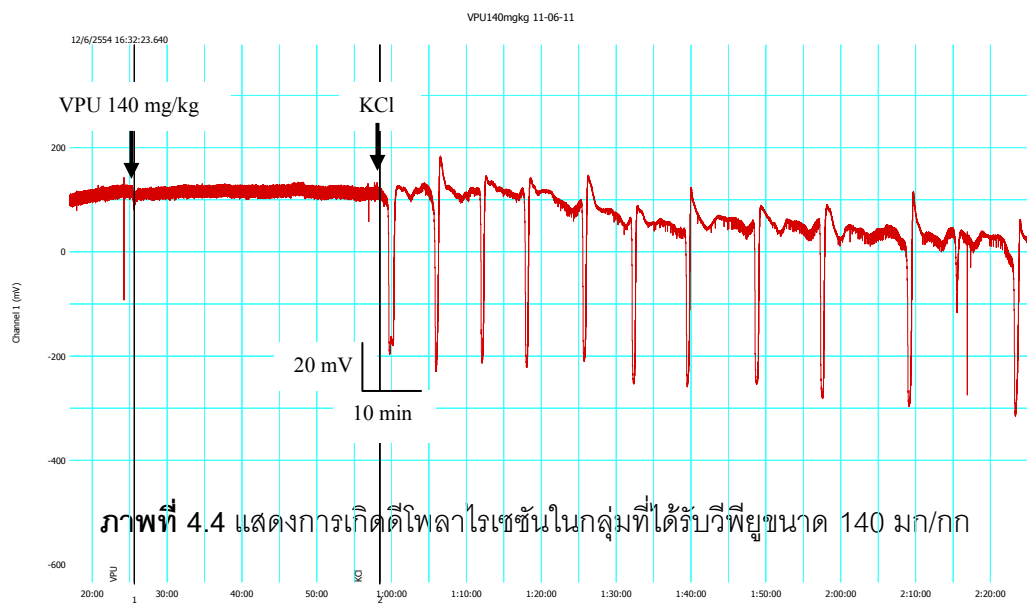
4.1 ผลต่อการเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization) ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์

การเกิดดีโพลาไรเซชัน (depolarization shift) ที่เกิดขึ้นในแต่ละกลุ่ม (ภาพที่ 4.1-4.4) จะนำมาศึกษาถึงผลของสารทดสอบต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่ (frequency) ของการเกิดดีโพลาไรเซชันแต่ละครั้ง, ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป (interpeak latency), ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง (duration), ความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน (amplitude) และขนาดพื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน (peak area)



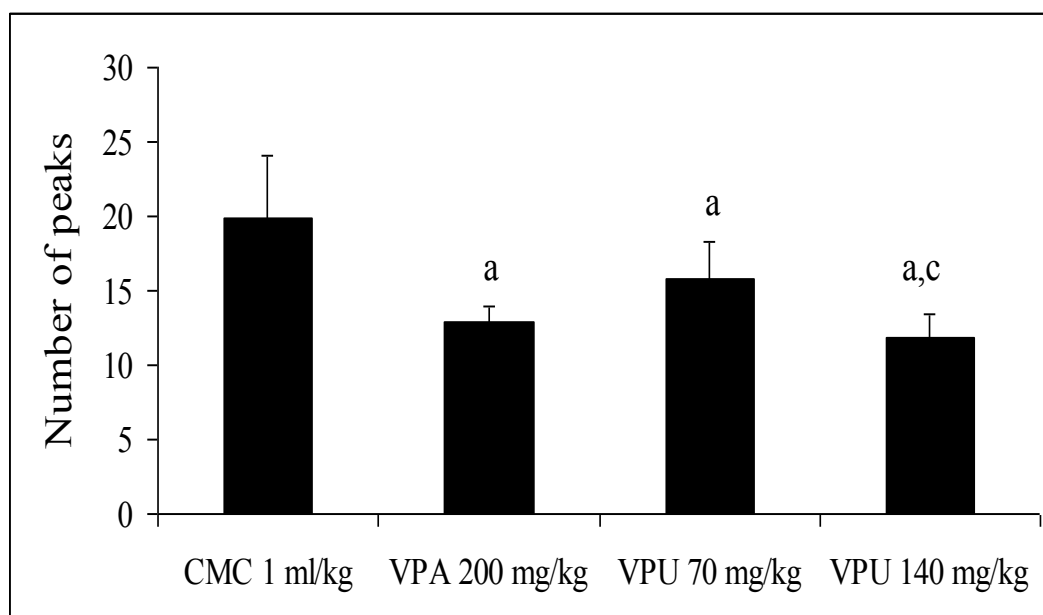


ภาพที่ 4.3 แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวิฟิยูนขนาด 70 มก/กก



ภาพที่ 4.4 แสดงการเกิดดีโพลาไรเซชันในกลุ่มที่ได้รับวิฟิยูนขนาด 140 มก/กก

ผลของสารทดสอบวีพีพีขนาด 200 มก/กก และวีพีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีขนาด 1 มล/กก เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเพรสชัน ด้วยการวางโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัม ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ โดยบันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 90 นาที แสดงในภาพที่ 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 และ 4.9



ภาพที่ 4.5 ผลของวีพีพีขนาด 200 มก/กก และวีพีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความถี่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

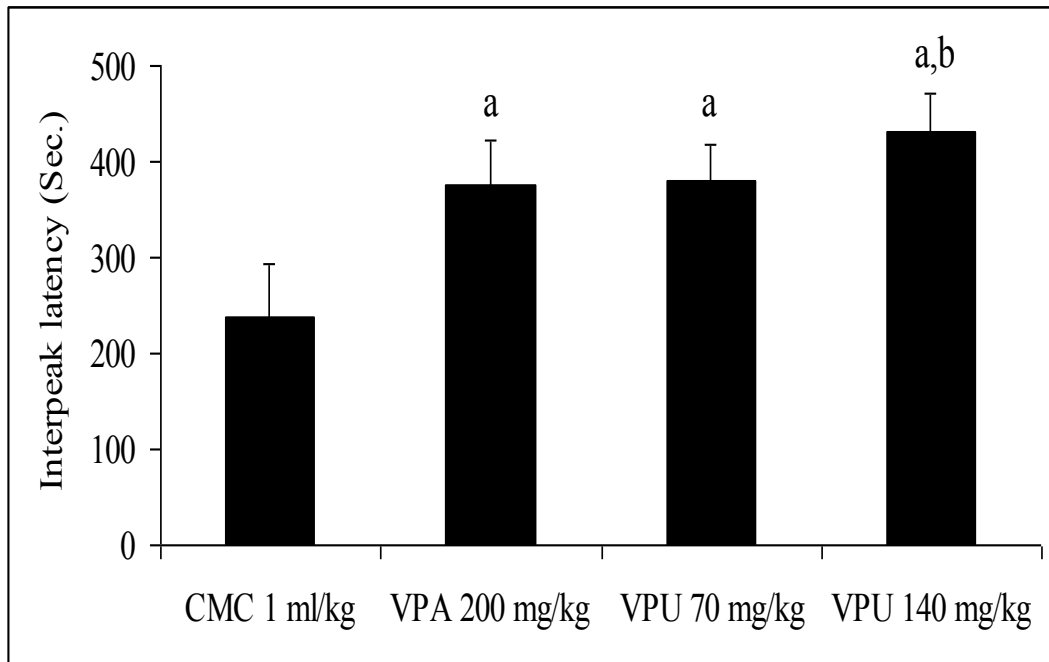
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีพีขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากภาพที่ 4.5 พบว่าความถี่ (frequency) ของการเกิดดีโพลาไรเซชันแต่ละครั้งในกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับซีเอ็มซีมีค่าเท่ากับ 19.83 ± 4.31 ครั้ง ส่วนกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (12.83 ± 1.17 , 15.83 ± 2.40 และ 11.83 ± 1.60 ครั้ง) ตามลำดับ โดยวีพียูจะเปลี่ยนแปลงความถี่ของการเกิดดีโพลาไรเซชันในลักษณะที่มีการแปรตามขนาดของสารที่ให้ ในขณะที่ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป (interpeak latency) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 237.46 ± 55.19 , 375.17 ± 46.54 , 380.36 ± 38.10 และ 430.37 ± 41.06 วินาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

ระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง (duration) นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มมีค่าเท่ากับ 38.73 ± 3.77 , 42.03 ± 5.61 , 35.29 ± 5.76 และ 39.68 ± 7.79 วินาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) ส่วนความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน (amplitude) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (36.32 ± 1.83 , 27.64 ± 4.92 , 36.11 ± 3.64 และ 24.92 ± 3.87 มิลลิโวลต์) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8) นอกจากนี้ยังสามารถลดพื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน (peak area) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเท่ากับ 92.71 ± 4.13 , 67.61 ± 22.50 , 72.32 ± 11.99 และ 61.19 ± 13.50 มิลลิโวลต์-วินาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9)

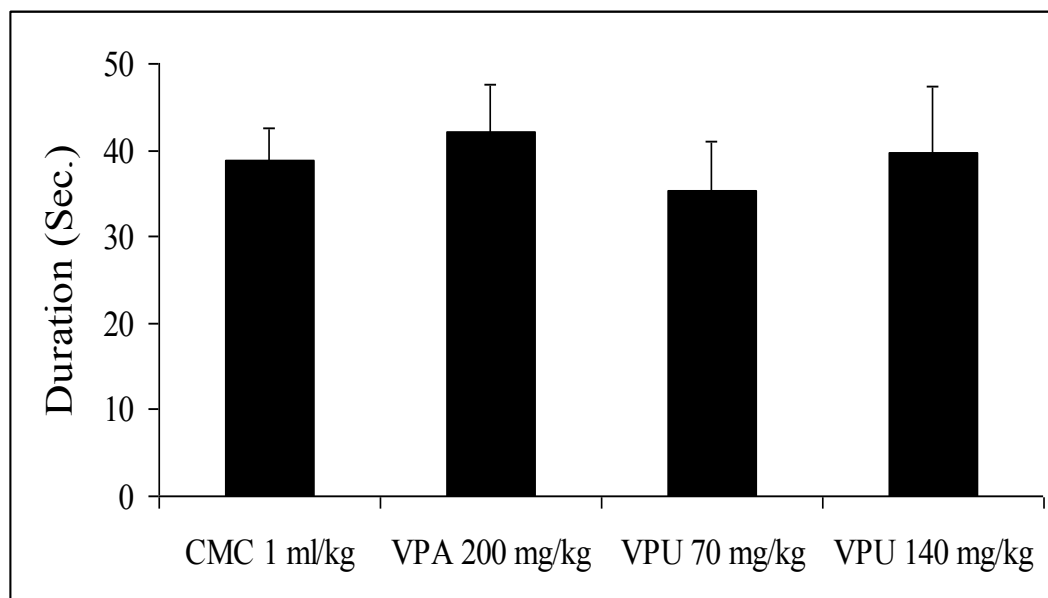


ภาพที่ 4.6 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

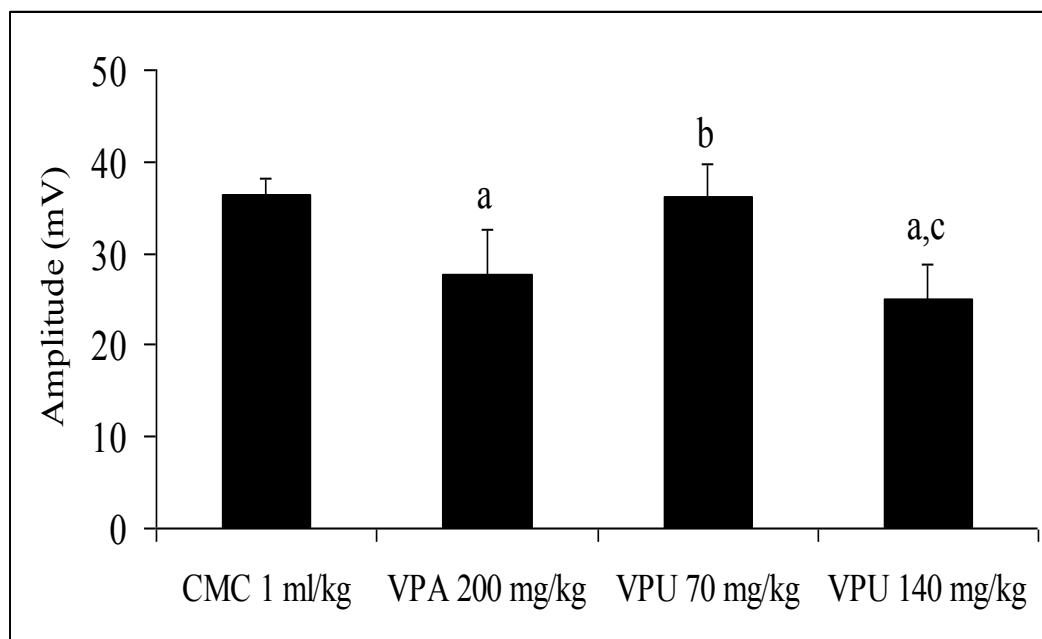
^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.7 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโฟลาโรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05)



ภาพที่ 4.8 ผลของวีพีไอขนาด 200 มก/กก และวีพีไอขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

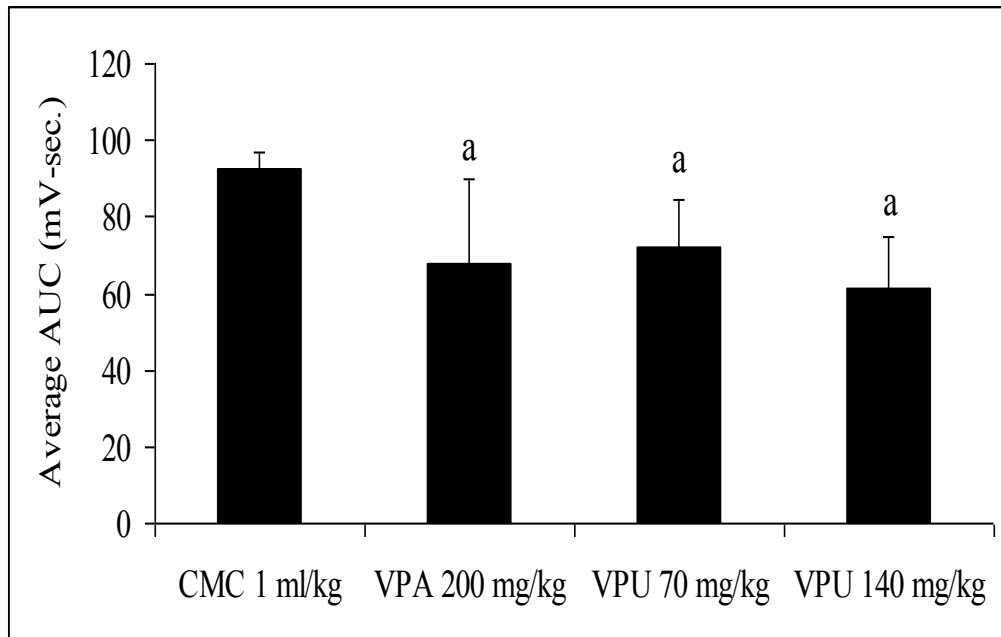
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีไอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีไอขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.9 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อพื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เปรียบเทียบผลของวีพีขนาด 200 มก/กก วีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเฟรสชัน

Groups (N= 6)	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
Frequency (Number of peak)	19.83 ± 4.31	12.83 ± 1.17 ^a	15.83 ± 2.40 ^a	11.83 ± 1.60 ^{a,c}
Duration (Sec.)	38.73 ± 3.77	42.03 ± 5.61	35.29 ± 5.76	39.68 ± 7.79
Interpeak latency (Sec.)	237.46 ± 55.19	375.17 ± 46.54 ^a	380.36 ± 38.10 ^a	430.37 ± 41.06 ^{a,b}
Amplitude (mV)	36.32 ± 1.83	27.64 ± 4.92 ^a	36.11 ± 3.64 ^b	24.92 ± 3.87 ^{a,c}
Peak Area (mV-Sec.)	92.71 ± 4.13	67.61 ± 22.50 ^a	72.32 ± 11.99 ^a	61.19 ± 13.50 ^a

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบผลของวีพีขนาด 200 มก/กก วีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเฟรสชัน เป็นเวลา 90 นาที

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

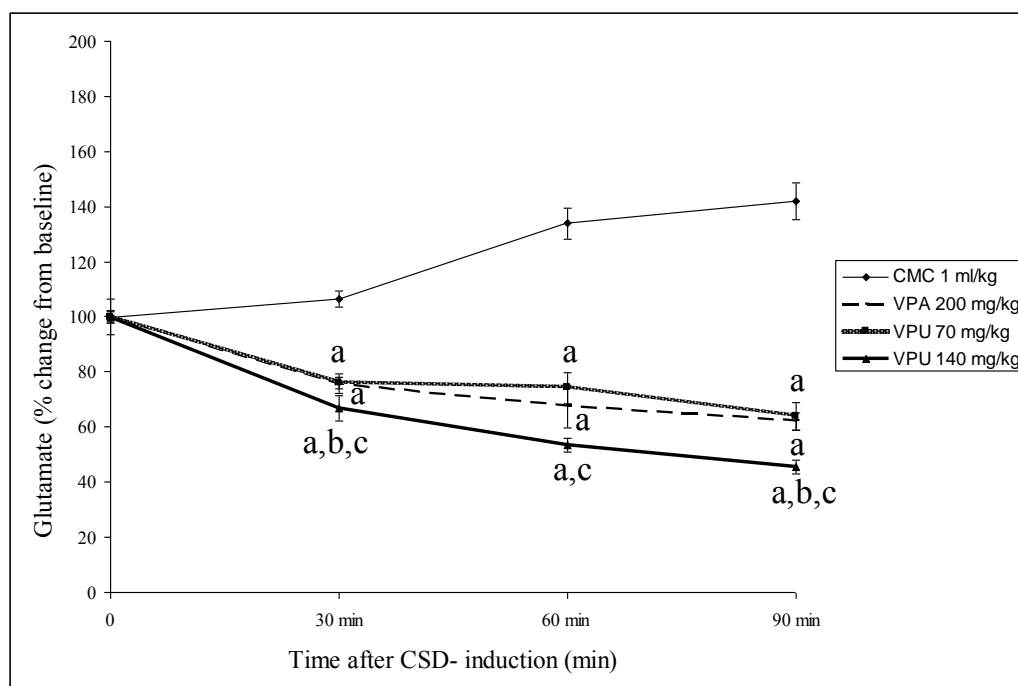
(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2 ผลของวีพีเอและวีพียูต่อการเปลี่ยนแปลงการหลั่งสารสื่อประสาทกรดอะมิโน
ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันด้วย
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ขนาด 3 มิลลิกรัม



ภาพที่ 4.10 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

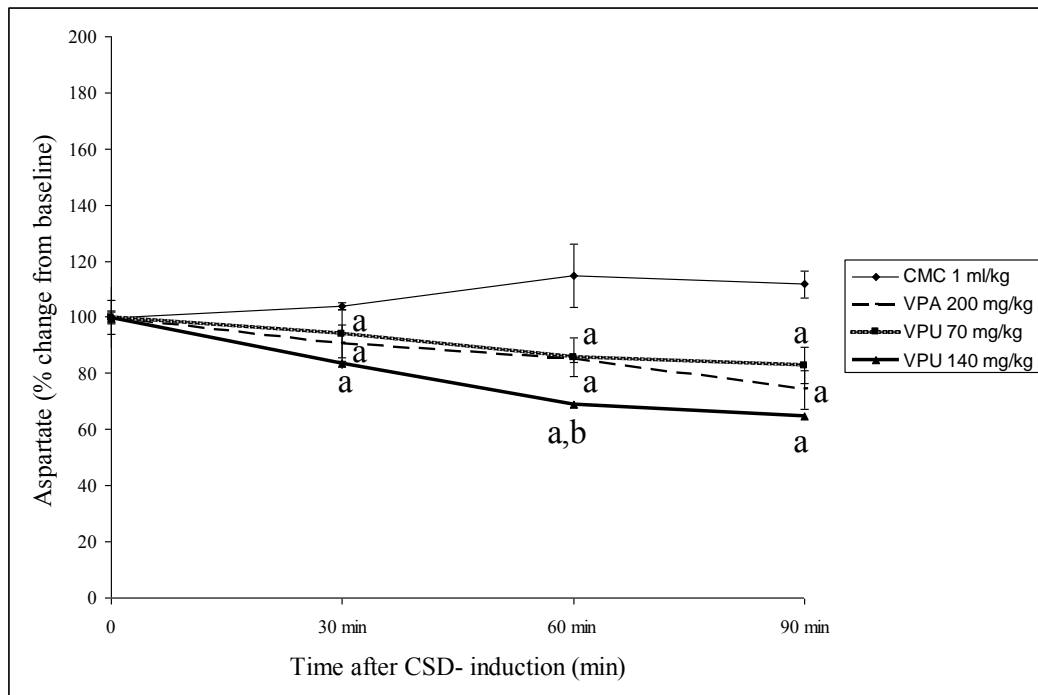
(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากภาพที่ 4.10 พบว่ากลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีขนาด 1 มล/กก มีระดับกลูตาเมทเพิ่มขึ้นตลอดการทดลองในนาที่ที่ 30, 60 และ 90 โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 106.53 ± 2.96 , 133.89 ± 5.71 และ 141.93 ± 6.86 % ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 200 มก/กก มีระดับของกลูตาเมทลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเท่ากับ 75.73 ± 3.61 , 67.53 ± 7.65 และ 62.06 ± 3.10 % ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก มีการลดระดับของกลูตาเมทลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเท่ากับ 75.96 ± 2.07 , 74.20 ± 5.71 และ 63.93 ± 5.16 % ตามลำดับ และกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 140 มก/กก มีค่าลดระดับของกลูตาเมทลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเท่ากับ 66.76 ± 4.44 , 53.30 ± 2.46 และ 45.55 ± 2.44 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าในนาที่ที่ 30 และ 90 กลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 140 มก/กก มีการลดระดับของกลูตาเมทลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 200 มก/กก และกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 140 มก/กก มีการลดระดับของกลูตาเมทลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก ในนาที่ที่ 30, 60 และ 90 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.11 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับแอสพาเตทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

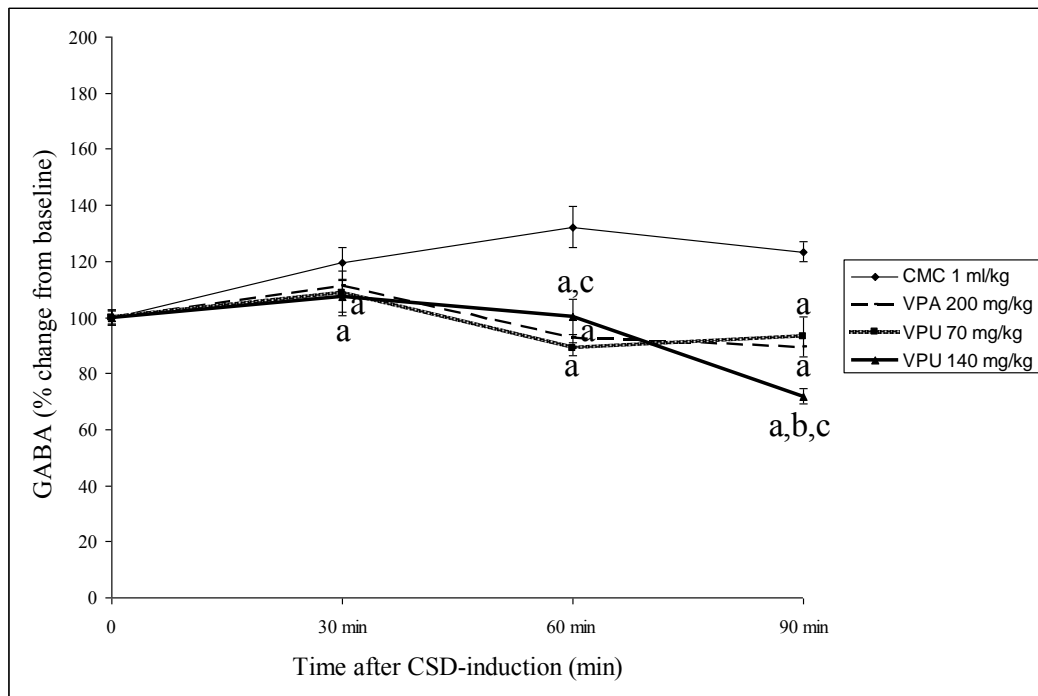
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของการเปลี่ยนแปลงระดับของแอสพาเททเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (ภาพที่ 4.11) (103.90 ± 1.33 , 114.79 ± 11.29 และ 111.75 ± 4.92 %) ตามลำดับ ขณะที่มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอและวีพีเอ โดยกลุ่มที่ได้รับวีพีเอมีค่าลดลงเท่ากับ 90.81 ± 6.61 , 85.25 ± 1.36 และ 74.24 ± 6.95 % ตามลำดับ สำหรับกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก มีค่าลดระดับของแอสพาเททลงเท่ากับ 94.15 ± 8.42 , 85.75 ± 7.03 และ 82.88 ± 6.50 % ตามลำดับ และกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 140 มก/กก มีค่าเท่ากับ 83.34 ± 1.86 , 68.87 ± 1.34 และ 64.73 ± 1.03 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความถี่ของการเปลี่ยนแปลงตามขนาดของสารทดสอบที่ได้รับ (70 และ 140 มก/กก)



ภาพที่ 4.12 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกาบาที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

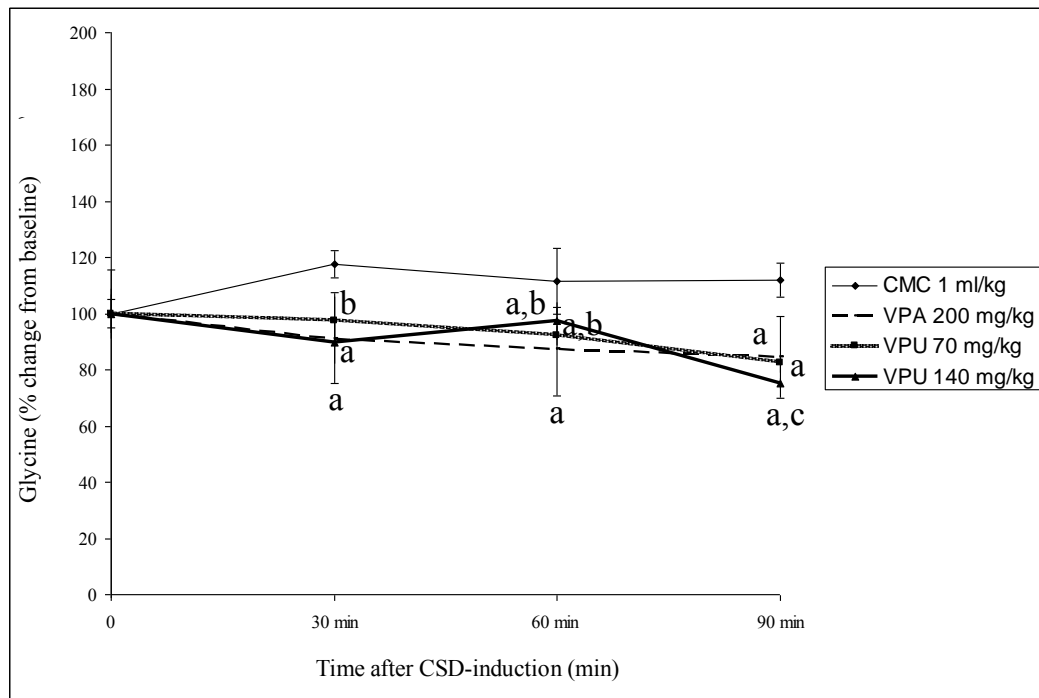
(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากภาพที่ 4.12 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของระดับกาบาในกลุ่มที่ได้รับวีพีเอฟพบว่าในนาที่ที่ 60 และ 90 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (92.48 ± 1.86 และ 89.46 ± 1.55 %) ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับวีพีเอฟขนาด 70 มก/กก มีการลดระดับของกาบาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (108.65 ± 8.12 , 88.71 ± 2.15 และ 93.12 ± 7.13 %) สำหรับกลุ่มที่ได้รับวีพีเอฟขนาด 140 มก/กก มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (107.53 ± 5.68 , 100.26 ± 6.26 และ 71.84 ± 2.79 %)



ภาพที่ 4.13 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพีเอขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับไกลซีนที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

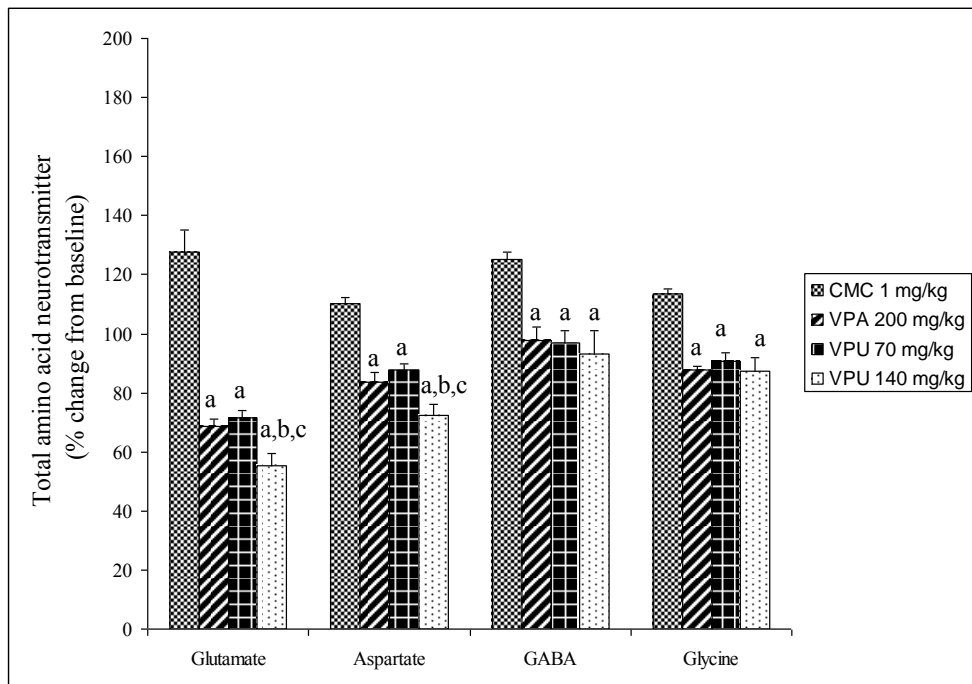
(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีพบการเปลี่ยนแปลงของระดับไกลซีนเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยตลอดการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 117.48 ± 4.84 , 111.43 ± 11.63 และ 112.07 ± 6.09 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13) กลุ่มที่ได้รับวีพีเอ็มซีมีการลดระดับของไกลซีนลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (91.08 ± 16.57 , 87.40 ± 14.89 และ 84.64 ± 14.20 %) ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก พบการเปลี่ยนแปลงในนาที่ที่ 60 และ 90 เท่ากับ 92.21 ± 3.54 และ 82.28 ± 3.31 % สำหรับกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 140 มก/กก มีการลดระดับของไกลซีนลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (89.62 ± 7.71 , 97.48 ± 6.83 และ 75.11 ± 1.95 %) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.14 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงสารสื่อประสาทจากระดับ baseline ที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที เปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

Amino acid neurotransmitter	% Decrease of rat cortical amino acid		
	VPA (mg/kg)	VPU (mg/kg)	
	200	70	140
Excitatory amino acids			
Glutamate	31.56 ± 2.81 ^a	28.64 ± 2.65 ^a	44.79 ± 4.38 ^{a,b,c}
Aspartate	16.57 ± 3.44 ^a	12.41 ± 2.39 ^a	27.69 ± 3.99 ^{a,b,c}
Inhibitory amino acids			
GABA	2.33 ± 4.78 ^a	3.18 ± 4.28 ^a	6.79 ± 7.70 ^a
Glycine	12.30 ± 1.32 ^a	9.44 ± 3.10 ^a	12.59 ± 4.63 ^a

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบผลของวีพีเอและวีพียูต่อการลดลงของระดับสารสื่อประสาท กลูตาเมต แอสพาเตท กาบมา และไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ โดยเปรียบเทียบเป็นร้อยละ ของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

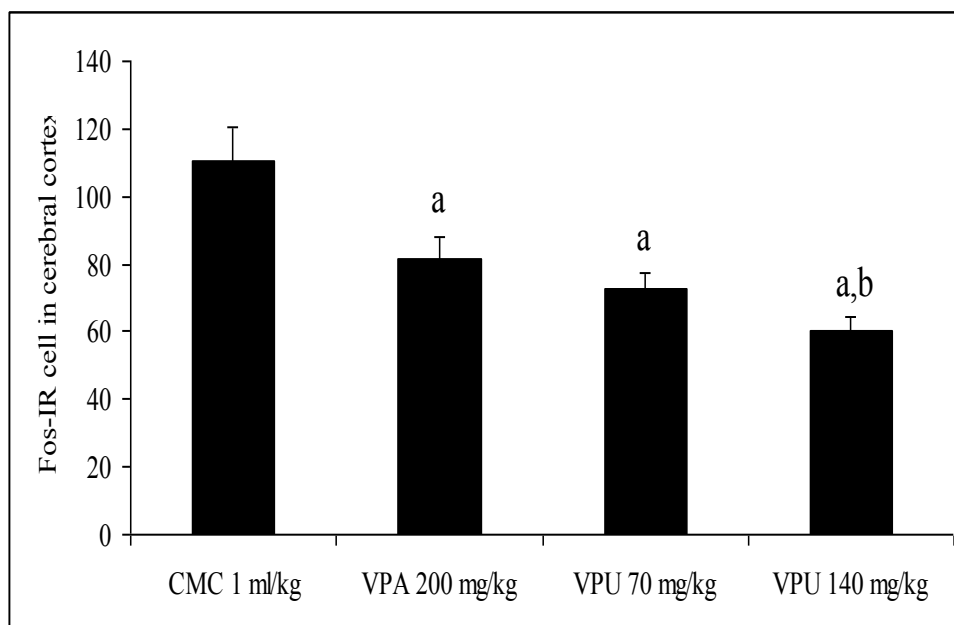
^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากภาพที่ 4.14 และตารางที่ 4.2 พบว่าสารทดสอบทั้งวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก มีผลลดลงสารสื่อประสาททั้งที่เป็น สารสื่อประสาททั้งที่มีฤทธิ์กระตุ้น (กลูตาเมตและแอสพาเตท) และยับยั้ง (กาบาและไกลซีน) ที่พบในระบบประสาทส่วนกลาง โดยที่วีพีเอขนาด 70 และ 140 มก/กก จะมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่มีการแปรตามขนาดของสารที่ให้ จากตารางที่ 4.2 พบว่าระดับกลูตาเมตลดลงมากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบวีพียูขนาด 140 มก/กก (44.79 ± 4.38 %) กาบาลดลงน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบวีพีเอ (2.33 ± 4.78 %) ดังนั้นสารทดสอบทำให้มีการลดการหลั่งสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้นได้มากกว่าสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง

4.3 ผลของระดับโปรตีนฟอส (c-fos) ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์และในกลุ่มเซลล์ ไทรเจมินัลนิวเคลียส คอดาลิส (trigeminal nucleus caudalis; TNC)

หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชัน เป็นเวลา 90 นาที สัตว์ทดลองจะถูกนำไปศึกษา fos expression โดยวิธี immunohistochemistry โดย section ทั้งหมดจะถูกนำไปศึกษาการแสดงออกของโปรตีนฟอสด้วยกล้อง microscope และถ่ายรูปโดยใช้โปรแกรม Image Tool V.3.0 โดยจะเห็นเป็นจุดกลมๆเล็กๆในนิวเคลียส สำหรับการนับโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ จะกำหนดขอบเขตของการนับโดยใช้ $250 \times 250 \mu\text{m}$ ที่ชั้นที่ 3 ถึง ชั้นที่ 5 ของซีรีบรัล คอร์เทกซ์ ผลการทดลองที่ได้จะเป็นจำนวนของเซลล์ที่นับได้ต่อ $6.25 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ แสดงในภาพที่ 4.15



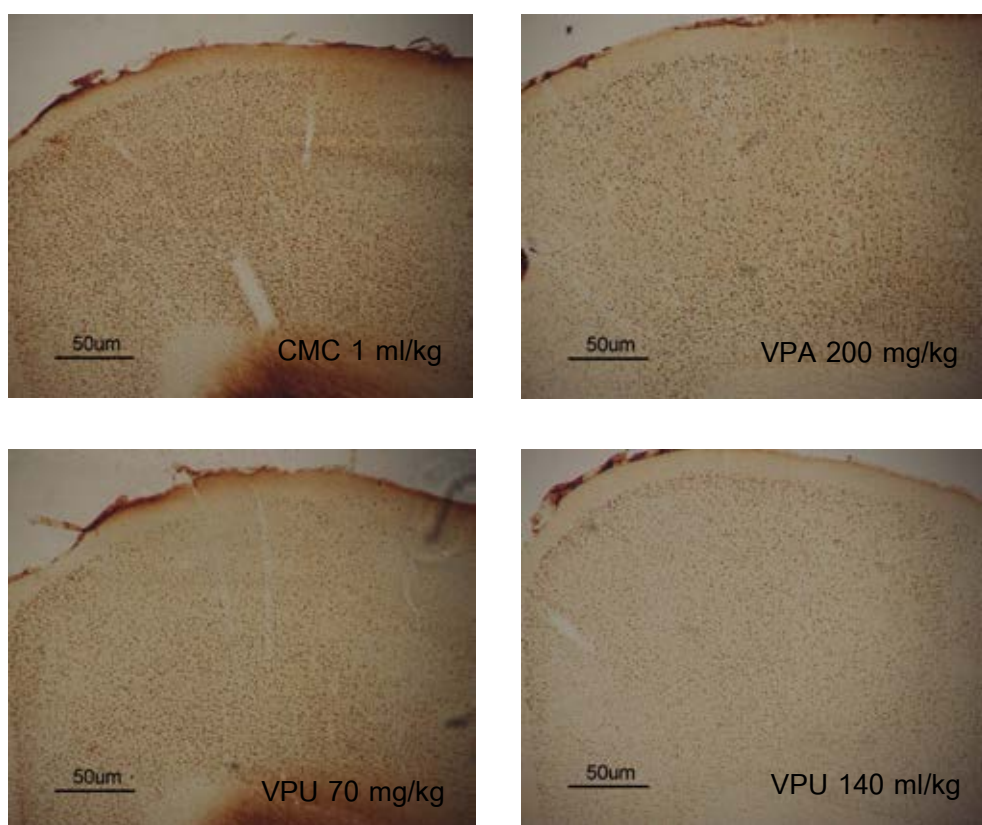
ภาพที่ 4.15 ผลของวียูขนาด 200 มก/กก และวียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอสขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

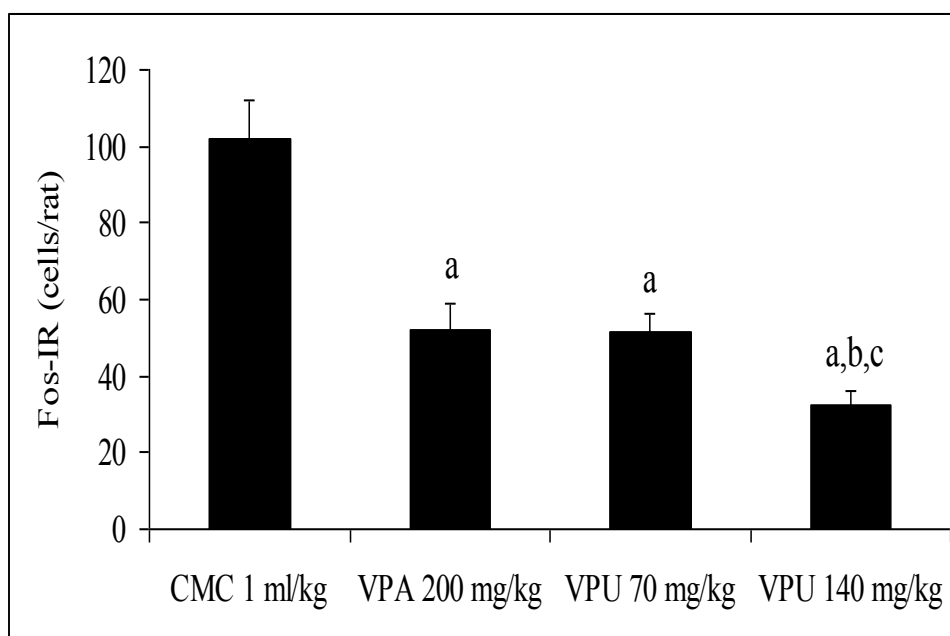


ภาพที่ 4.16 ภาพแสดงผลของวีพีเอสขนาด 200 มก/กก และวีพีเอสขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

จากภาพที่ 4.15 และ 4.16 พบว่าการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ ในกลุ่มควบคุมคือกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีจะมีค่า 110.67 ± 13.72 % สำหรับกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบ

วีพีเอจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี (81.33 ± 6.35 %) และในกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก จะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซี โดยมีค่าเท่ากับ 72.67 ± 8.24 และ 60.33 ± 6.50 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 140 มก/กก การแสดงออกของโปรตีนฟอสลดลงมากกว่ากับกลุ่มที่ได้รับวีพีเอ

สำหรับการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส ในกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีมีค่าเท่ากับ 102.00 ± 9.82 % ซึ่งพบว่ามีค่าแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอและวีพียู โดยกลุ่มที่ได้รับวีพีเอกับวีพียูมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับซีเอ็มซีเท่ากับ 52.17 ± 6.91 , 51.33 ± 4.97 และ 32.33 ± 3.88 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าวีพียูมีฤทธิ์ลดระดับโปรตีนฟอสในลักษณะที่แปรผันตามขนาดของสารที่ให้ (ภาพที่ 4.17-4.18)



ภาพที่ 4.17 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

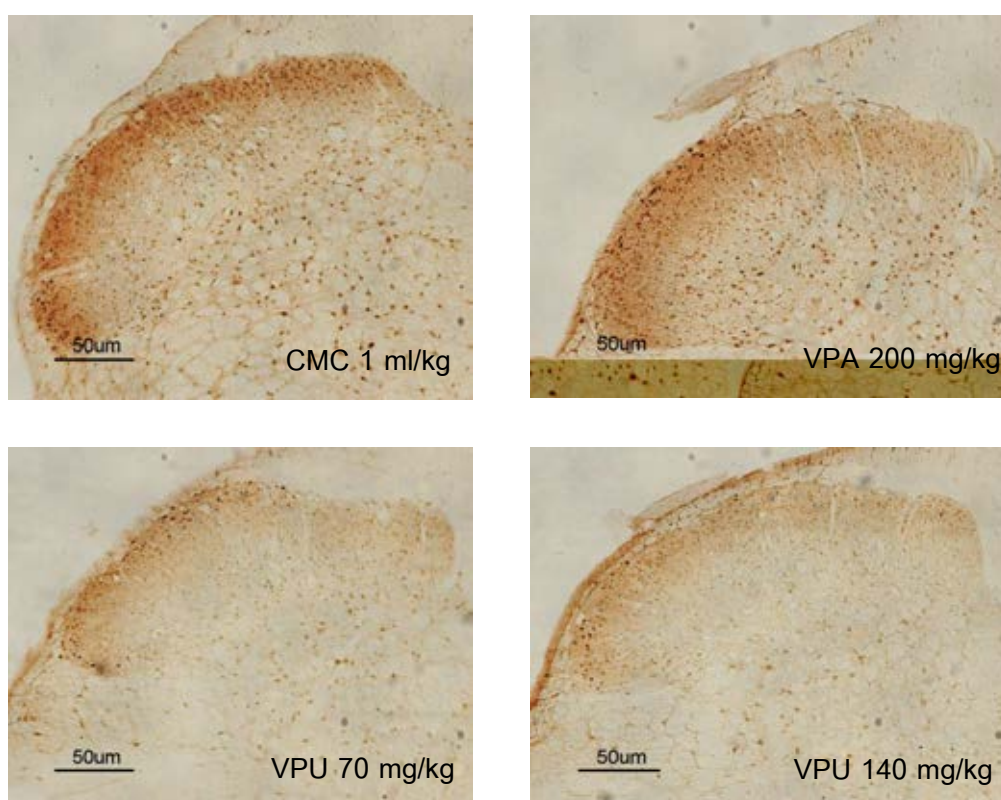
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 200 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.18 ภาพแสดงผลของวีพีขนาด 200 มก/กก และวีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอส ที่บริเวณกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอดาเลีย เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้พบว่าวีพีเอและวีพียูสามารถลดความถี่ของคลื่น (frequency), ความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง (amplitude) พื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของการเกิดดีโพลาไรเซชันได้ และสามารถเพิ่มระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป (interpeak latency) แต่ไม่มีผลต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันแต่ละครั้ง (duration) พร้อมทั้งลดระดับสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น (กลูตาเมตและแอสพาเทต) และชนิดยับยั้ง (กาบาและไกลซีน) นอกจากนี้ยังสามารถลดการแสดงออกของโปรตีนฟอสโฟบริเวจซีรีบรัล คอร์เทกซ์และกลุ่มเซลล์โทรจิมินัล นิวเคลียส คอคดาลิส

พบว่าการวางผลึกโปแตสเซียมคลอไรด์ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ สามารถกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุอื่น เช่น อาจเกิดจากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Kunkler และ Kraig, 2003; Lauritzen และคณะ, 1982) หรือแรงกล เช่น การสะกิดหรือการตีหมัดด้วยของมีคม เป็นต้น (Lambert, 1999) ในบริเวณต่างๆ ของสมอง เช่น ซีรีบรัล คอร์เทกซ์ (cerebral cortex), ซีรีเบลลัม (cerebellum) และฮิปโปแคมปัส (hippocampus) (Sugaya และคณะ, 1975) โดยเบื้องต้นเชื่อว่าในขณะที่เกิดคอร์ติคัลสปรดดิ้ง ดีเพรสชัน นั้นจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไอออนต่างๆ (Hansen และ Xeuthen, 1981) รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงสารสื่อประสาท (Davies และคณะ, 1995) ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์ โดยมีการกระตุ้นโซเดียม (Na^+) คลอไรด์ (Cl^-) ไอออนเข้าสู่เซลล์มากขึ้น (Pietrobon และ Striessnig, 2003) ทำให้ voltage-gated Ca^{2+} channel บน presynaptic membrane เปิด Ca^{2+} จากนอกเซลล์แพร่เข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นกระตุ้นให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทออกจาก vesicle ทำให้มีการเพิ่มระดับของกลูตาเมตซึ่งเป็นสารสื่อประสาทหลักที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (Larrosa และคณะ, 2006) (ภาพที่ 4 .10) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือปิดกั้นการทำงานของตัวรับกลูตาเมต ได้แก่

MK-801 ซึ่งเป็น non-competitive antagonist of the N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor สามารถลดการเกิดคอรัติคัลสเปรดิง ดีเพรสชันได้ (Iijima และคณะ, 1992; Gill และคณะ, 1992)

ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวีพีไอสามารถลดความถี่ของคลื่น (frequency), ความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง (amplitude), พื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของการเกิดดีโพลาไรเซชันได้ รวมทั้งเพิ่มระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป (interpeak latency) (ภาพที่ 4.5-4.9) ในขณะที่มีการลดลงของคอรัติคัลสเปรดิง ดีเพรสชันดังกล่าวมาข้างต้นนี้ พบว่าวีพีไอยังมีผลระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน อันได้แก่ กลูตาเมต แอสพาเทท กาบา และไกลซีน โดยจะลดระดับของกลูตาเมตได้มากกว่าสารสื่อประสาทชนิดอื่นๆ เนื่องจากกลูตาเมตเป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้นที่มีความสำคัญในระบบประสาทส่วนกลางโดยเฉพาะอย่างยิ่งในวิถีประสาทที่เกี่ยวกับความเจ็บปวด (Nagy และคณะ, 2004) ดังนั้นจึงอาจจะเป็นเหตุผลของการลดลงของสัญญาณทางไฟฟ้าต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนั้นจากการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าวีพีไอสามารถลด excitability ของเซลล์ประสาทได้ โดยมีกลไกเกี่ยวกับการยับยั้ง voltage-dependent Na^+ channels (Poster, 1990; Akerman, 2008) หรือมีผลต่อ sodium และ potassium conductance (Davis และคณะ, 1994) ดังนั้นจึงอาจเป็นกลไกการออกฤทธิ์อีกกลไกหนึ่งของวีพีไอที่ส่งผลไปทำให้ความถี่คลื่น (frequency) ของการเกิดดีโพลาไรเซชันลดลง (Bogdanov และคณะ, 2011) ถึงแม้ว่าจะมีรายงานอื่นก่อนหน้านี้นี้ที่พบว่าของวีพีไอสามารถเพิ่มระดับกาบา ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดยับยั้งการทำงานของระบบประสาท (Loscher และ Vetter, 1985) โดยการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายกาบา เช่น GABA aminotransferase, succinic dehydrogenase และการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutamic acid decarboxylase (Shehien และคณะ, 2011) แต่จากการศึกษานี้พบว่าวีพีไอมีผลลดระดับของกาบา (ภาพที่ 4.12) เช่นเดียวกันกับที่มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้นี้โดย Khongsombat และคณะ (2008) ซึ่งอาจจะเกิดขึ้นได้หากกาบาที่เพิ่มขึ้นจับกับ GABA_B autoreceptor ทำให้มีการหลั่งกาบาที่ presynaptic ลดลงได้ (Loscher และคณะ, 1981; Gobbi และ Janiri, 2006) หรือวีพีไออาจมีฤทธิ์ยับยั้งการปลดปล่อยกาบาได้โดยตรงเนื่องจากมีผลในการลด excitability ของเซลล์ประสาท

วียูซึ่งเป็นสาร monoureide analog ของวียูเอ วียูสามารถลดความถี่ของคลื่น (frequency), ความสูงของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง (amplitude) และพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน และสามารถเพิ่มระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชันครั้งถัดไป (interpeak latency) ได้คล้ายคลึงกับวียูเอแต่จะมีฤทธิ์แรงกว่า และการสนองที่เกิดขึ้นจะแปรตามขนาดของสารที่สัตว์ทดลองได้รับ (ภาพที่ 4. 5-4.9) จากการศึกษาในปี 1995 โดยวิธี microdialysis พบว่าวียูมีกลไกการออกฤทธิ์ต่างจากวียูเอและอาจมีความเกี่ยวข้องกับสารสื่อประสาทกรดอะมิโนชนิดกระตุ้น เช่น กลูตาเมตและแอสพาเตท (Sooksawat และคณะ, 1995) และเมื่อศึกษาโดยวิธี microiontophoretic พบว่าวียูสามารถลดระดับของการกระตุ้นระบบประสาทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์และซีรีเบลลัม คอร์เทกซ์ได้ (Khongsombat และคณะ, 2005) โดยลดระดับสารสื่อประสาททั้งชนิดกระตุ้นและยับยั้งระบบประสาทส่วนกลางในขณะกระตุ้นให้เกิดการชักด้วย pilocarpine (Khongsombat และคณะ, 2008) จึงเป็นไปได้ว่าการลดดีโพลาไรเซชันของปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน อาจเป็นผลมาจากการลดลงของระดับสารสื่อประสาทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เทกซ์เช่นเดียวกับที่พบจากวียูเอ นั่นคือ วียูมีผลลดระดับสารสื่อประสาท ทั้งกลูตาเมต แอสพาเตท กาบาและไกลซีน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยออกฤทธิ์ลดระดับกลูตาเมตได้มากกว่าการลดระดับของสารสื่อประสาทชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 4.1 4, ตารางที่ 4. 2) นอกจากนี้การที่วียูมีผลยับยั้งการทำงานของ NR1A/NR2B NMDA receptor ซึ่ง เป็น subtype หนึ่งของ Glutamate receptor (Ponsup, 2003) ก็อาจส่งผลไปลดการดีโพลาไรเซชันของเซลล์ประสาทที่บริเวณซีรีบรัลคอร์เทกซ์ได้ เช่นเดียวกับที่พบว่า การปิดกั้นการทำงานของ NMDA receptor โดย antagonist ต่างๆ เช่น MK-801, D-AP5, L-701,324 และ Memantine สามารถลดการเกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชันในสัตว์ทดลองซึ่งเป็นแบบจำลองของการปวดศีรษะไมเกรนชนิดออราได้ (Lauritzen และ Hansen, 1992; Obrenovitch, 1996; Nelligard, 1992)

Kunkler และคณะ (Kunkler และ Kraig, 2003) พบว่าการเกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน สามารถกระตุ้นระบบรับความเจ็บปวดที่กลุ่มเซลล์ไทรจิมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส บริเวณไขสันหลังได้และจะมีการแสดงออกของโปรตีนฟอสฟอไรเนตเพิ่มขึ้นในขณะที่ได้รับกระตุ้น (Moskowitz, 1993; Kunkler และ Kraig, 2003) โดยการกระตุ้น A δ และ C- fiber จากไทรจิมินัล

แกลงเกลีย (trigeminal ganglia) (Zhang และคณะ, 2009) สิ่งกระตุ้นหลายชนิดสามารถทำให้เกิดการแสดงออกของ c-fos gene ในไตรเจมินัลนิวเคลียส คอคดาลิสได้ ด้วยเหตุนี้จึงชี้ให้เห็นว่าการแสดงออกของโปรตีนฟอสสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกของ neuronal activity ได้ (Dimos, 2001) ในขณะที่การแสดงออกของโปรตีนฟอสที่ลดลงก็สามารถบ่งบอกถึงการลดลงของการกระตุ้นระบบรับรู้สัมผัสเจ็บปวดที่บริเวณไตรเจมินัลนิวเคลียส คอคดาลิสได้เช่นกัน (Ingvarlsen และคณะ, 1997)

จากการวิจัยนี้พบว่าวีพียูในขนาด 70 และ 140 มก/กก สามารถลดการแสดงออกของโปรตีนฟอสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 4.1 5, 4.1 7) สอดคล้องกับการลดลงของระดับกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ ระดับของกลูตาเมตที่เพิ่มมากขึ้นในระบบประสาทส่วนกลางในภาวะที่เกิดไมเกรนนั้น (Peres, 2004) มีความสำคัญในการส่งผ่านสัญญาณประสาทไปยังไตรเจมินัลนิวเคลียส คอคดาลิส (Hill และ Salt, 1982) เมื่อวีพียูสามารถลดระดับของกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ได้ จึงส่งผลให้การกระตุ้นตัวรับที่บริเวณ superficial dorsal horn ได้น้อยลง ดังนั้นการแสดงออกของโปรตีนฟอสจึงน้อยลงและน่าจะสามารถลดการกระตุ้นระบบรับรู้สัมผัสเจ็บปวดและลดอาการปวดศีรษะไมเกรนได้

เมื่อศึกษาผลของวีพีเอและวีพียูในปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ซึ่งเป็นโมเดลที่ใช้ศึกษาพยาธิสภาพของไมเกรนชนิดออรา พบว่าวีพีเอและวีพียูสามารถเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ต่างๆไปในทางที่ดี และวีพียูสามารถออกฤทธิ์ได้ดีกว่าวีพีเอ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นมีความสอดคล้องกับการที่พบว่าสารทดสอบทั้งสองชนิดนี้สามารถลดระดับของกลูตาเมตซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มีฤทธิ์กระตุ้นและมีความสำคัญเกี่ยวกับการนำความรู้สึกเจ็บปวด รวมทั้งลดการแสดงออกของโปรตีนฟอสจึงควรที่จะมีการศึกษาในขั้นต่อไปเพื่อพัฒนาวีพียูมาใช้เป็นยาลดอาการปวดศีรษะไมเกรน

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

เอ็น-(ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย หรือวีฟิยู สามารถลดความถี่ (frequency), ความสูงของการเกิดดีโพลาริเซชันในแต่ละครั้ง (amplitude) และพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของการเกิดดีโพลาริเซชัน และสามารถเพิ่มระยะเวลาของการเกิดดีโพลาริเซชัน ครั้งถัดไป (interpeak latency) แต่ไม่มีผลต่อระยะเวลา (duration) ของการเกิดดีโพลาริเซชันในแต่ละครั้ง นอกจากนี้ยังสามารถลดระดับสารสื่อประสาทที่เป็นกรดอะมิโนทั้งชนิดกระตุ้น (กลูตาเมตและแอสพาเตต) และชนิดยับยั้ง (กาบาและไกลซีน) ระบบประสาทส่วนกลาง ทั้งยังลดการแสดงออกของโปรตีนฟอสโฟบริเวจซีวีบีวัล คอรัเท็กซ์ และกลุ่มเซลล์โทรจิมินัลนิวเคลียส คอตาเลียสได้ด้วย อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาในครั้งนี้ก็เป็นข้อมูลส่วนหนึ่งที่สนับสนุนให้มีการพัฒนาสาร เอ็น-(ทู-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย หรือวีฟิยู เพื่อให้ประโยชน์ในการป้องกันการปวดศีรษะไมเกรนได้ นอกจากนี้ควรมีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารวีฟิยูให้ชัดเจนและควรศึกษาถึงผลของวีฟิยูต่อสมองบริเวณอื่นที่สามารถกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชันได้

รายการอ้างอิง

- Akerman, S. Mechanically- induced cortical spreading depression associated regional cerebral blood flow changes are blocked by Na⁺ ion channel blockade. Brain Res 12(29)(2008): 27-36.
- Andrew, A. Cortical spreading depression: Its Role in migraine Pathogenesis and Possible Therapeutic intervention strategies. Curr Pain Headache Rep 8(2004): 410-416.
- Antal, M., Petko, M., Polgar, E., Heizmann, C.W., and Storm-Mathisen, J. Direct evidence of an extensive GABAergic innervation of the spinal dorsal horn by fibres descending from the rostral ventromedial medulla. Neuroscience 73(2)(1996): 509-518.
- Arban, M.D., Wiklund, L., and Svendgaard, N.A. Origin and distribution of cerebral vascular innervations from superior cervical, trigeminal and spinal ganglia investigated with retrograde and anterograde WGA-HRP tracing in the rat. Neuroscience 19(1986): 695-701.
- Ayata, C., Jin, H., Kudo, C., Dalkara, T., and Moskowitz, M.A. Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis. Ann Neurol 59(2006): 652-661.
- Basbaum, A.I., and Jessel, T.M. The perception of pain. In Kendel ER, Schwartz JH, Jessel TM, editor. Principles of neuroscience. New York: McGraw Hill (2000): 472-490.
- Bialer, M., Haj-Yehia, A., Badir, K., and Hadad, S. Can we develop improved derivatives of valproic acid. Pharmacy World&Science 16(1994): 2-6.

- Bures, J., Buresova, O., and Krivanek, J. The mechanism and applications of Leao's spreading depression of electroencephalographic activity. Praque: Academia (1974).
- Chery, N., and Koninck, Y.D. Junctional versus extrajunctional glycine and GABA(A) receptor-mediated IPSCs in identified lamina I neurons of the adult rat spinal cord. J Neurosci 19(17)(1999): 7342-7355.
- Cutrer, F.M., Limmroth, V., Ayata, G., and Moskowitz, M.A. Valproate reduces c-fos expression in trigeminal nucleus caudalis (TNC) after noxious meningeal stimulation. Cephalgia 15(14)(1995): 96-104.
- Davis, R., Peters, D.H., and McTavish, D. Valproic acid: A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. Drugs 47(1994): 332-372.
- Dimos, D. Receptor system mediating c-fos expression within trigeminal nucleus caudalis in animal model of migraine. Brain Res 35(2001): 20-35.
- Ever, S. Treatment of migraine with prophylactic drugs. Expert opinion on pharmacotherapy 9(15)(2008): 2565-73.
- Graham, J.R., and Wolf, H.G. Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. Arch. Neurol. Psychiatry 39(1938): 367-375.
- Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. Cephalalgia 24(1)(2004): 9-160.
- Hering, R., and Kuritzky, A. Sodium valproate in the treatment cluster headache: an open clinical trial. Cephalgia 9(1989): 195-198.

- Hill, R.G., and Salt, T.E. An ionophoretic study of the responses of rat caudal trigeminal nucleus neurons to non-noxious mechanical sensory stimuli. J Physiol 327(1982): 65-78.
- Hwang, S.J., Pagliardini, S., Rustioni, A., and Valtschanoff, J.G. Presynaptic kainite receptors in primary afferents to the superficial laminae of the rat spinal cord. J Comp Neurol 436(2001): 275-289.
- Ingvarsdson, B.K., Laursen, K., Olsen, U.B., and Hansen, A.J. Possible mechanism of c-fos expression in trigeminal nucleus caudalis following cortical spreading depression. Pain 72(1997): 407-415.
- Johnson, D., and Slater, G.E. Sodium Valproate: Mechanisms of action. In: antiepileptic Drugs. Woodbury, D.M., Penry, J.K., and Pippenger, C.E., (eds.). Raven Press (1982): 611-616.
- Johnson, D. Valproate: Update on its mechanism of action. Epilepsia 25(1)(1984): S1-S4.
- Just, S., Arndt, K., Weiser, T., and Doods, H. Pathophysiology of migraine: A role for neuropeptides. Pain 3(3)(2006): 327-333.
- Kaniecki, R., Lucas, S. Treatment of primary headache: preventive treatment of migraine. Standards of care for headache diagnosis and treatment. Chicago: National Headache Foundation (2006): pp. 40-52.
- Kerchner, G.A., Wilding, T.J., Li, P., Zhuo, M., and Huettner, J.E. Presynaptic kainate receptors regulate spinal sensory transmission. J Neurosci 21(2001b): 59-66.
- Kew, J.N., and Kemp, J.A. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. Psychopharmacology 179(1)(2005): 4-29.
- Kongsombat, O., Watanabe, H., Tantisira, B., Patarapanich, C., and Tantisira, M.H. Acute effects of N-(2-propylpentanoyl) urea on hippocampal amino acid

- neurotransmitters in pilocarpine-induced seizure in rats. Epilepsy Res 79(2-3)(2008): 151-7.
- Khongsombat, O., Patarapanich, C., Tantisira, M.H., and Tantisira, B. Effect of Valproyl Urea on neurons of the cerebral cortex and cerebellar Purkinje cells in rats. Thai J of Pharmacol 27(2005): 2-3.
- Lance, J.W., Lambert, G.A., Goadsby, P.J., and Duckworth, J.W. Brainstem influences on the cephalic circulation: experimental data from cat and monkey of relevance to the mechanism of migraine. Headache 23(6)(1983): 258-265.
- Lashley, K.S. Pattern of cerebral integration indicated by scotomas of migraine. Arch Neurol Psychiat 46(1941): 331.
- Lauritzen, M. Cortical spreading depression in migraine. Cephalalgia 21(7)(2001): 757-760.
- Lauritzen, M., and Hansen, A.J. The effects of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab 12(1992): 223-9.
- Leao, A.A.P. Spreading depression of activity in cerebral cortex. J Neurophysiol 7(1944): 359-390.
- Loscher, W. GABA mimetics in animal models of seizure states. In G. Bartholini, L. Bossi K.G. Lloyd, and P.L. Morselli. Epilepsy and GABA agonist New York: Raven Press (1985): 109-119.
- Lu, C.R., Hwang, S.J., Phend, K.D., Rustioni, A., and Valtschanoff, J.G. Primary afferent terminals in spinal cord express presynaptic AMPA receptors. J Neurosci 22(2002): 9522-9529.

- Martin, P.R., Milech, D., and Nathan, P.R. Towards a functional model of chronic headaches: investigation of antecedents and consequences. Headache 33(9)(1993): 461-470.
- Mathew, P.R., and Ali, S. Valproate in the treatment of persistent chronic daily headache: an open label study. Headache 31(1991): 71-74.
- Michael, F., James., Justin, M., Smith., simon, J., Boniface., Christopher, L.H., Huand., and Ronald, A. Cortical spreading depression and migraine: new insights from imaging?. Trends Neurol Sci 24(5)(2001): 266-271.
- Milner, P.M. Note on a possible correspondence between the scomas of migraine and spreading depression of Leao. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 10(4)(1958): 705.
- Modi, S., and Lowder, D.M. Meddications for migraine prophylaxis. American Family Physician 73(1)(2006): 72-78.
- Moskowitz, M.A. Trigeminovascular system. Cephalagia 12(1992): 127.
- Nagy, G.G., Al-Ayyan, M., Andrew, D., Fukaya, M., Watanabe, M., and Todd, A.J. Widespread expression of the AMPA receptor GluR2 subunit at glutamatergic synapses in the rat spinal cord and phosphorylation of GluR1 in response to noxious stimulation revealed with an antigen-unmasking method. J Neurosci 24(25)(2004): 5766-5777.
- Narikawa, K., Furue, H., Kumamoto, E., and Yoshimura, M. In vivo patch-clamp analysis of IPSCs evoked in rat substantia gelatinosa neurons by cutaneous mechanical stimulation. J Neurophysiol 84(4)(2000): 2171-2174.
- Obrenovitch, T.P., and Zilkha, E. Inhibition of cortical spreading depression by L-701,324, a novel antagonist at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor complex. Br J Pharmacol 117(1996): 931-7.

- Olesen, J., and Lipton, R.B. Migraine classification and diagnosis. International Headache Society criteria. Neurology 44(4)(1994): S6-10.
- Pearce, J.M. Migraine: a cerebral disorder. Lancet 2(8394)(1984): 86-89.
- Peres, M.F., Zukerman, E., Senne Soares, C.A., Alonso, E.O., Santos, B.F., and Faulhaber, M.H. Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine. Cephalalgia 24(9)(2004): 735-9.
- Ponsup, P. Effects of N-(2-propylpentanoyl) urea (VPU) on NMDA receptors subtype NR1A/NR2B expressed in *Xenopus laevis* oocyte. Master's thesis, Inter-department Program of Physiology, Graduate School, Chulalongkorn University. (2003).
- Rasmussen, B.K. and Olesen, J. Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study. Cephalalgia 12(4)(1992): 221-8.
- Rogawski, M.A., and Porter, R.J. Antiepileptic drugs: Pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental state compounds. Pharmacol Rev 42(1990): 223-286.
- Saisorn, B., Patarapanich, C., and Janwitayanuchit, W. Synthesis of monoureide analog of valproic acid. Thai J Pharm Sci 16(2)(1992): 145-150.
- Salomone, S., Caraci, F., and Capasso, A. Migraine: an overview. Open Neurol J 3(2009): 64-71.
- Sandkuhler, J. Learning and memory in pain pathways. Pain 88(2000): 113-118.
- Shahien, R., and Saleh, S.A. Intravenous sodium valproate aborts migraine headaches rapidly. Acta Neurologica Scand 123(2010): 257-265.

- Sivilotti, L., and Woolf, C.J. The contribution of GABAA and glycine receptors to central sensitization: disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. J Neurophysiol 72(1994): 169-179.
- Snell, R.S. The cranial nerve nuclei and their central connections. In: Snell RS, editor. Clinical neuroanatomy for medical students. Brown and company: Little (1992): 430.
- Sooksawate, T. Anticonvulsant effects of N-(2-propylpentanoyl) urea. Master's thesis, Inter-department Program of Physiology, Graduate School, Chulalongkorn University (1995).
- Stovner, L.J., Zwart, J.A., Hagen, K., Terwindt, G.M., and Pascual, J. Epidemiology of headache in Europe. European journal of neurology 13(2006): 333-345.
- Tantisira, B., Tantisira, M.H., Patarapanich, C., Sooksawate, T., and Chunngam, T. Preliminary evaluation of the anticonvulsant activity of a valproic acid analog: N-(2-propylpentanoyl) urea. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 97(2)(1997): 151-164.
- Winterer, G., and Hermann, W.M. Valproate and the symptomatic treatment of schizophrenia spectrum patients. Pharmacopsychiatry 33(2000): 182-188.
- Wolft, H.G., and Tunis, M.M. Analysis of cranial artery pulse waves in patients with vascular headache of the migraine type. American Journal of the Medical Sciences 224(5)(1952): 565-568.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของวีพีขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความถี่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเฟรซชันเป็นเวลา 90 นาที

Groups	Frequency (Number of peaks)
CMC 1 ml/kg	19.83 ± 4.31
VPA 200 mg/kg	12.83 ± 1.17 ^a
VPU 70 mg/kg	15.83 ± 2.40 ^a
VPU 140 mg/kg	11.83 ± 1.60 ^{a,c}

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชัน ในแต่ละครั้ง เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิงดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

Groups	Duration (Sec.)
CMC 1 ml/kg	38.73 ± 3.77
VPA 200 mg/kg	42.03 ± 5.61
VPU 70 mg/kg	35.29 ± 5.76
VPU 140 mg/kg	39.68 ± 7.79

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย
(n=6)

ตารางที่ 3 ผลของวีพีพีขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อระยะเวลาของการเกิดดีโพลาไรเซชัน ครั้งถัดไป เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรตดิ้ง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

Groups	Interpeak latency (Sec.)
CMC 1 ml/kg	237.46 ± 55.19
VPA 200 mg/kg	375.17 ± 46.54 ^a
VPU 70 mg/kg	380.36 ± 38.10 ^a
VPU 140 mg/kg	430.37 ± 41.06 ^{a,b}

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีพีขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพียูขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อความ สูงของการเกิดดีโพลาไรเซชันในแต่ละครั้ง เมื่อกระตุ้นให้เกิดควอติคัล ลสเปรดิง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

Groups	Amplitude (mV)
CMC 1 ml/kg	36.32 ± 1.83
VPA 200 mg/kg	27.64 ± 4.92 ^a
VPU 70 mg/kg	36.11 ± 3.64 ^b
VPU 140 mg/kg	24.92 ± 3.87 ^{a,c}

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5 ผลของวีพีขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว และวีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อพื้นที่ของการเกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชันเป็นเวลา 90 นาที

Groups	AUC (mV-Sec.)
CMC 1 ml/kg	92.71 ± 4.13
VPA 200 mg/kg	67.61 ± 22.50 ^a
VPU 70 mg/kg	72.32 ± 11.99 ^a
VPU 140 mg/kg	61.19 ± 13.50 ^a

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลของวีพีขนาด 200 มก/กก วีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเกิดคอร์ติคัลสเปรตติง ดีเฟรสชัน เป็นเวลา 90 นาที

Groups (N= 6)	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
Frequency (Number of peaks)	19.83 ± 4.31	12.83 ± 1.17 ^a	15.83 ± 2.40 ^a	11.83 ± 1.60 ^{a,c}
Duration (Sec.)	38.73 ± 3.77	42.03 ± 5.61	35.29 ± 5.76	39.68 ± 7.79
Interpeak latency (Sec.)	237.46 ± 55.19	375.17 ± 46.54 ^a	380.36 ± 38.10 ^a	430.37 ± 41.06 ^{a,b}
Amplitude (mV)	36.32 ± 1.83	27.64 ± 4.92 ^a	36.11 ± 3.64 ^b	24.92 ± 3.87 ^{a,c}
Peak Area (mV-Sec.)	92.71 ± 4.13	67.61 ± 22.50 ^a	72.32 ± 11.99 ^a	61.19 ± 13.50 ^a

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีขนาด 70 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 7 ผลของวีพีขนาด 200 มก/กก และวีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูตาเมตที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

Glutamate				
Time	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
baseline	100.00 \pm 1.87	100.00 \pm 6.58	100.00 \pm 2.10	100.00 \pm 0.78
30 min	106.53 \pm 2.96	75.73 \pm 3.61	75.96 \pm 2.07	66.76 \pm 4.44
60 min	133.89 \pm 5.71	67.53 \pm 7.65	74.20 \pm 5.71	53.30 \pm 2.46
90 min	141.93 \pm 6.86	62.06 \pm 3.10	63.93 \pm 5.16	45.55 \pm 2.44

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

ตารางที่ 8 ผลของวีพีเอขนาด 200 มก/กก และวีพีเอขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับแอสพาร์เตทที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

Aspartate				
Time	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
baseline	100.00 ± 2.11	100.00 ± 2.07	100.00 ± 6.07	100.00 ± 10.88
30 min	103.90 ± 1.33	90.81 ± 6.61	94.15 ± 8.42	83.34 ± 1.86
60 min	114.79 ± 11.29	85.25 ± 1.36	85.75 ± 7.08	68.87 ± 1.34
90 min	111.75 ± 4.92	74.24 ± 6.95	82.88 ± 6.50	64.73 ± 1.08

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

ตารางที่ 9 ผลของวีพีขนาด 200 มก/กก และวีพีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับกาบาที่บริเวณซีรีบรัม คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิด คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

GABA				
Time	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
baseline	100.00 ± 2.25	100.00 ± 1.46	100.00 ± 2.93	100.00 ± 2.93
30 min	119.30 ± 5.48	111.07 ± 3.14	108.65 ± 8.12	107.53 ± 5.68
60 min	132.27 ± 7.50	92.48 ± 1.86	88.71 ± 2.15	100.26 ± 6.26
90 min	123.32 ± 3.61	89.46 ± 1.55	93.12 ± 7.13	71.84 ± 2.79

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

ตารางที่ 10 ผลของวี่พีขนาด 200 มก/กก และวี่พีขนาด 70 และ 140 มก/กก ต่อ การเปลี่ยนแปลงของระดับไกลซีนที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปอร์ดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

Glycine				
Time	CMC 1 ml/kg	VPA 200 mg/kg	VPU 70 mg/kg	VPU 140 mg/kg
baseline	100.00 ± 5.23	100.00 ± 15.76	100.00 ± 9.00	100.00 ± 6.96
30 min	117.48 ± 4.84	91.08 ± 16.57	97.18 ± 8.93	89.62 ± 7.71
60 min	111.43 ± 11.63	87.40 ± 14.89	92.21 ± 3.54	97.48 ± 6.83
90 min	112.07 ± 6.09	84.64 ± 14.20	82.28 ± 3.31	75.11 ± 1.95

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลของวีพีเอและวีพียูต่อการลดลงของระดับสารสื่อประสาท ได้แก่ กลูตาเมต แอสพาเตท กาบามา และไกลซีน ที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เมื่อเปรียบเทียบเป็นร้อยละของค่า basal value จากตัวอย่างที่เก็บก่อนให้สารทดสอบของสัตว์ทดลอง

Amino acid neurotransmitter	% Decrease of rat cortical amino acid		
	VPA (mg/kg)	VPU (mg/kg)	
	200	70	140
Excitatory amino acids			
Glutamate	31.56 ± 2.81 ^a	28.64 ± 2.65 ^a	44.79 ± 4.38 ^{a,b,c}
Aspartate	16.57 ± 3.44 ^a	12.41 ± 2.39 ^a	27.69 ± 3.99 ^{a,b,c}
Inhibitory amino acids			
GABA	2.33 ± 4.78 ^a	3.18 ± 4.28 ^a	6.79 ± 7.70 ^a
Glycine	12.30 ± 1.32 ^a	9.44 ± 3.10 ^a	12.59 ± 4.63 ^a

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 12 ผลของวีพีเอและวีพียู ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอสที่บริเวณซีรีบรัล คอร์เท็กซ์ เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

Groups	Fos'cells (cerebral cortex)
CMC 1 ml/kg	110.67 ± 13.72
VPA 200 mg/kg	81.33 ± 6.35 ^a
VPU 70 mg/kg	72.67 ± 8.24 ^a
VPU 140 mg/kg	60.33 ± 6.50 ^{a,b}

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 13 ผลของวีพีเอและวีพียู ต่อการแสดงออกของโปรตีนฟอส ที่บริเวณกลุ่มเซลล์ ไทรจิมินัลนิวเคลียส คอคาเลียส เป็นเวลา 90 นาที หลังจากกระตุ้นให้เกิดคอร์ติคัลสเปรดิง ดีเพรสชัน ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 3 มิลลิกรัม

Groups	Fos'cells (trigeminal nucleus caudalis)
CMC 1 ml/kg	102.00 ± 9.82
VPA 200 mg/kg	52.17 ± 6.91 ^a
VPU 70 mg/kg	51.33 ± 4.97 ^a
VPU 140 mg/kg	32.33 ± 3.88 ^{a,b,c}

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

(n=6)

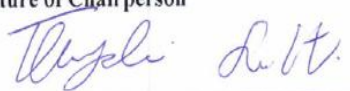
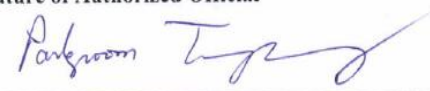
^a แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพีเอขนาด 200 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^c แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวีพียูขนาด 70 มก/กก น้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



Chulalongkorn University Animal Care and Use Committee

Certificate of Project Approval	<input type="checkbox"/> Original	<input type="checkbox"/> Renew
Animal Use Protocol No. 12-33-008	Approval No. 12-33-008	
Protocol Title Effects of N-(2-Propylpentanoyl) urea on cortical spreading depression in rats		
Principal Investigator Boonyong Tantisira, Ph.D.		
Certification of Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) This project has been reviewed and approved by the IACUC in accordance with university regulations and policies governing the care and use of laboratory animals. The review has followed guidelines documented in Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animals for Scientific Purposes edited by the National Research Council of Thailand.		
Date of Approval January 30, 2012	Date of Expiration January 30, 2015	
Applicant Faculty/Institution Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Phyathai Rd., Pathumwan BKK-THAILAND. 10330		
Signature of Chairperson 	Signature of Authorized Official 	
Name and Title THONGCHAI SOOKSAWATE, Ph.D. Chairman	Name and Title PARKPOOM TENGAMNUAY, Ph.D. Associate Dean (Research and Academic Service)	
<p><i>The official signing above certifies that the information provided on this form is correct. The institution assumes that investigators will take responsibility, and follow university regulations and policies for the care and use of animals.</i></p> <p><i>This approval is subjected to assurance given in the animal use protocol and may be required for future investigations and reviews.</i></p>		

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุนทรภรณ์ หันตุลา เกิดเมื่อวันที่ 24 มิถุนายน พ.ศ. 2528 ศึกษาในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา (สหสาขา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552

นำเสนอผลงาน เรื่อง “Effects of Valproate on Cerebral Amino Acid Neurotransmitters during K^+ - Evoked Cortical Spreading Depression in Rats” ในวารสารเภสัชวิทยาฉบับที่ 1 ปีที่ 34, 2555 (*Thai Journal of Pharmacology*, Vol 34 (1), 2012) และร่วมงานประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 34 สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ระหว่างวันที่ 22-23 มีนาคม พ.ศ. 2555 ณ ตึก 90 ปี สมเด็จพระเจ้าคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย