รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: **ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง blood-brain barrier : การศึกษาในสัตว์ทดลองและในเซลล์เพาะเลี้ยง**

Effect of chronic paracetamol treatment on the alteration of blood-brain barrier integrity : in vivo and in vitro studies

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์ [1]
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนัญญา ทองตัน[2]
ศาสตราจารย์ นพ. อนันต์ ศรีเกียรติขจร[3]

[1]ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดีจากคณะบุคคลต่างๆ ดังนี้

ศาสตราจารย์นายแพทย์ อนันต์ ศรีเกียรติขจร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆของการศึกษาวิจัยมาโดยตลอด

ภาควิชาพยาธิวิทยา ภาคชีวเคมี ศูนย์เครื่องมือกลางและศูนย์สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

คุณปรีชา เรืองเวชวรชัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษาด้วยเทคนิค immunohistochemistry พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์

คุณวิลาวัลย์ จิอู๋ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ใช้ศึกษาด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2556 แก่โครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์ และคณะ

จุฬ
เลขหมู่ W 15
เลขทะเบียน 016186
วัน, เดือน, ปี 30 เม.ย. 57

ผลของการการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง blood-brain barrier : การศึกษาในสัตว์ทดลองและในเซลล์เพาะเลี้ยง (Effect of chronic paracetamol treatment on the alteration of blood-brain barrier integrity : in vivo and in vitro studies)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2555 จำนวนเงิน 600,000 บาท
ระยะการทำวิจัย 12 เดือน ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 ตุลาคม 2555

รายนามคณะผู้วิจัย 1. ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองค์[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ดร. ธนัญญา ทองตัน[2] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ยาพาราเซตตามอลเป็นยาได้รับความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยใช้เป็นยาลดไข้และบรรเทาอาการปวด ผลการวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่ยืนยันว่ายาพาราเซตตามอลมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์เมื่อใช้ยาในขนาดเพื่อการรักษา แต่อย่างไรก็ตาม ในช่วง 10 ปีมานี้เริ่มมีรายงานถึงผลเสียของการใช้ยาชนิดนี้แม้ว่าจะใช้ยาในขนาดเพื่อการรักษา ในหลายระบบ รวมถึงระบบไหลเวียนเลือด และในผลงานวิจัยของคณะเราก่อนหน้านี้พบว่า หนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน มีความไวของเซลล์ประสาทที่บริเวณผิวสมองต่อการกระตุ้นเพิ่มมากขึ้น รวมถึงมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเลือดในหลอดเลือดสมองด้วย ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นอาจจะสามารถนำไปสู่ความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือดสมองได้ ซึ่งยังไม่มีการศึกษาวิจัยมาก่อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ BBB integrity ในสมองหนูที่ได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน รวมถึงผลของยาต่อการแสดงออกของสารสื่อประสาท calcitonin gene related peptide (CGRP) จากเซลล์ประสาทใน trigeminal ganglion ซึ่งผลการวิจัยพบว่า หนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังไม่มีความผิดปกติต่อระดับเอนไซม์ตับ แต่กลับพบว่าหนูกลุ่มดังกล่าวมีความผิดปกติของหลอดเลือดสมองส่วน capillary โดยมีจำนวนของ microvilli และ pinocytic vesicles เพิ่มมากขึ้นกว่าหนูกลุ่มควบคุม และความผิดปกตินี้เพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชันร่วมด้วย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการพบการบวมของ astrocytic foot plate นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของ cell adhesion molecules (ICAM-1 และ VCAM-1) เพิ่มมากขึ้นในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชันซึ่งบ่งชี้ถึงภาวะความผิดปกติของหลอดเลือดในหนูกลุ่มดังกล่าว และผลการศึกษาโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ tight junction (ZO-1, ZO-1 และ occludin)ในหนูกลุ่มนี้ก็พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีนกลุ่มนี้ ลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลของยาพาราเซตตามอลยังทำให้เซลล์ประสาทใน trigeminal ganglion มีการแสดงออกของสารสื่อประสาท CGRP เพิ่มมากขึ้นด้วย

จากผลการวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่า การได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นส่งผลเสียต่อระบบสมดุลของหลอดเลือดสมอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาวะที่มีการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชันร่วมด้วย

Effect of chronic paracetamol treatment on the alteration of blood-brain barrier integrity : in vivo and in vitro studies

Supang Maneesri le Grand [1] Assistant professor Dr.: Department of pathology Faculty of Medicine Chulalongkorn University

Thananya Thongtan [2] Assistant professor Dr.: Department of biochemistry Faculty of Medicine Chulalongkorn University

Paracetamol (acetaminophen, APAP) is one of the most popular 'over-the-counter' drugs for the treatment of headaches and other pains. Accumulative evidences have confirmed that APAP at therapeutic doses has protective effects. However, in the last decade, adverse effects of APAP treatment have been revealed in several systems including the circulatory system. The previous study in the cortical spreading depression (CSD) animal headache model has demonstrated that chronic APAP treatment could induce the hyperexcitability of cortical neurons as well as the alteration of cerebra blood flow in the brain indicating the disturbance of the cerebral circulation. However the effect of APAP treatment on the cerebral vessels has never been study. Thus, in this study we aimed to investigate the effect of chronic APAP treatment (200 mg/kg bw) on the alteration of cerebral microvessels in the condition with and without CSD activation. The expression of vasoactive neuropeptide, calcitonin gene related peptide (CGRP), in the trigeminal ganglion was also monitored. The results have clearly demonstrated that chronic APAP treatment could increase the alterations of endothelial cells. The number of microvilli and pinocytic vesicles wer higher in the rat with chronic APAP treatment then those observed from control. We also found that the degree of astrocytic foot plate swelling as well as the ultrastrutural changes of endothelial cells in the APAP treated group were significant higher with the combination of CSD activation. Further, chronic APAP treatment could induce a higher expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the cerebral cortex than those observed in the non-APAP treatment group. These results indicate the abnormalbility of cerebral microvessels in the rat with chronic treatment of APAP. The result also demonstrated that tight junction proteins (ZO-1, ZO-2, and occludin) were significantly decreased in chronic APAP treatment groups (both of conditions with and without CSD activation). In the trigeminal ganglion, the number of CGRP immunoreactive neurons were significantly increased in the chronic APAP treatment than those observed in the control group. These results might indicate that the chronic APAP treatment can alter the BBB integrity, especially with the combination of CSD activation.

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... I

Abstract (ไทย)..... II

Abstract (English)..... III

บทนำ..... 1

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 5

วิธีดำเนินการวิจัย..... 25

ผลการศึกษาวิจัย..... 30

วิจารณ์ผลการทดลอง..... 40

สรุปและข้อเสนอแนะ..... 44

บรรณานุกรม..... 45

ภาคผนวก..... 59

ประวัติคณะผู้วิจัย..... 61

สารบัญตาราง (List of Tables)

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงภาวะผิดปกติต่างๆที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดความผิดปกติของ BBB..... 10

ตารางที่ 2 แสดงผลของการได้รับพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวน microvilli และ pinocytic vesicles ในหลอดเลือดสมองส่วน capillary..... 31

ตารางที่ 3 แสดงผลของการได้รับพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อค่าเฉลี่ยสัดส่วนระดับการบวมของ astrocytic foot plate..... 31

สารบัญภาพ (List of Illustration)

หน้า

ภาพที่ 1	โครงสร้างของ Blood Brain Barrier (BBB).....	6
ภาพที่ 2	โครงสร้างของยาพาราเซตตามอล.....	19
ภาพที่ 3	กลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PGH2 synthetase บริเวณ pox site.....	20
ภาพที่ 4	กลไกการออกฤทธิ์บรรเทาปวดของยาพาราเซตตามอล.....	22
ภาพที่ 5	แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง...	25
ภาพที่ 6	บริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride (sodium chloride) และบริเวณที่สอด glass microelectrode.....	27
ภาพที่ 7	ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวน microvilli และ astrocytic foot plate ของหลอดเลือดสมอง.....	32
ภาพที่ 8	ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนของ pinocytic vesicles ในเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง.....	34
ภาพที่ 9	ภาพแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน ICAM-1ในสมอง.....	35
ภาพที่ 10	ภาพแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในสมอง.....	36
ภาพที่ 11	ภาพแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน ZO-1ในสมอง.....	37
ภาพที่ 12	ภาพแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน ZO-2 ในสมอง.....	37
ภาพที่ 13	ภาพแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน occludin ในสมอง.....	38
ภาพที่ 14	ภาพแสดงผลการแสดงออกของ CGRP ในบริเวณ trigeminal ganglion (TG).....	39

คำอธิบายสัญญาลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

APAP	=	Acetaminophen
BBB	=	Blood brain barrier
BW	=	Body Weight
CGRP	=	Calcitonin Gene Related Peptide
CNS	=	Central Nervous System
CSD	=	Cortical Spreading Depression
5-HT	=	5-Hydroxytryptamine
KCl	=	Potassium Chloride
NaCl	=	Sodium Chloride
NOS	=	Nitric Oxide Synthase
NO	=	Nitric Oxide
NMDA	=	N-methy-D aspartate
iNos	=	Inducible Nitric Oxide Synthase
ICAM-1	=	Intercellcular Cell Adhesion Molecule
VCAM-1	=	Vascular Cell Adhesion Molecule
TG	=	Trigeminal Ganglion
TNF-α	=	Tumor necrosis factor-alpha
IL-1	=	Interlukin-1 alpha
ZO-1	=	Zona Occludens 1
ZO-2	=	Zona Occludens 2
NF-kB	=	Nuclear Factor-kappa B

บทนำ (Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ยาพาราเซตตามอลเป็นยาที่ได้รับความนิยมอยู่ในระดับต้นๆที่จะถูกเลือกใช้เมื่อมีอาการปวดหัว หรือเป็นไข้ เนื่องจากเป็นยาที่ราคาไม่แพง สามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาและร้านสะดวกซื้อทั่วไป โดยไม่จำเป็นต้องมีใบสั่งจ่ายยาจากแพทย์ อีกทั้งยังไม่มีรายงานผลเสียร้ายแรงของการได้รับยานี้ให้เห็นอย่างเด่นชัดนอกจากผลการเป็นพิษต่อตับ (Hepatotoxicity) ซึ่งจะเกิดขึ้นในกรณีที่ได้รับยาพาราเซตตามอลในปริมาณสูงมากหรือร่วมกับการดื่ม alcohol ซึ่งจัดเป็นการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันเท่านั้น จากผลการสำรวจการใช้ยาของคนไทยจากกลุ่มร้านขายยาทั่วไป ในปี 2552 พบว่ายอดขายยาพาราเซตตามอลทั้งที่อยู่ในรูปแบบของยาสำเร็จรูป (ยารักษาไข้หวัดและบรรเทาปวด) รวมถึงยาพาราเซตตามอลทั่วไปมียอดขายเพิ่มสูงขึ้นถึง15-20% เปรียบเทียบกับยอดขายยากลุ่มนี้ในปี 2551 โดยพบว่าพาราเซตตามอลจะเป็นยาในกลุ่มที่ได้รับความนิยมในการเลือกซื้อก่อนกลุ่มอื่นเสมอ (ไทยรัฐออนไลน์ , 2554 ; มานิตา เข็มทอง, 2540) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีความนิยมในการใช้ยาชนิดนี้แพร่หลายไปทั่วโลก แต่กลับพบว่ากลไกการออกฤทธ์ของยาชนิดนี้ยังไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจน โดยคณะผู้วิจัยหลายกลุ่มวิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยถึงกลไกการออกฤทธิ์ของยาและได้มีการเสนอสมมุติฐานแตกต่างกันไป เช่นการออกฤทธิ์ต่อระบบซีโรโตนินในระบบประสาทส่วนกลาง (Tjolsen และคณะ, 1991) การออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างพรอสตาแกลนดินโดยมีการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้ง COX-3 และฤทธิ์ต่อตัวรับ canabinoid (Anderson, 2008; Ottani และคณะ, 2006) รวมถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งไนตริกออกไซด์ (Bjorkman และคณะ, 1995) เป็นต้น

จากการศึกษาวิจัยผลของยาพาราเซตามอลพบว่าผลการวิจัยส่วนใหญ่บ่งชี้ถึงผลของยานี้ในด้านการปกป้องเซลล์ (Tripathy และคณะ, 2009a,b; Rork และคณะ, 2006 ; Baliga และคณะ, 2010; Van der Zee, 1988) ซึ่งผลของยาพาราเซตตามอลในการป้องกันเซลล์ดังกล่าวล้วนแล้วแต่เป็นผลจากการใช้ยาพาราเซตามอลใน dose ที่กำหนดและในช่วงระยะเวลาสั้นๆเท่านั้น

อย่างไรก็ดี จากรายงานของกลุ่มวิจัยหลายกลุ่มที่ศึกษาถึงผลกระทบของการใช้ยาพาราเซตตามอลต่อระบบร่างกายต่างๆในช่วง 10 ปีหลังนี้ กลับบ่งชี้ว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ได้ เช่น งานวิจัยที่พบว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลนั้นสามารถส่งผลให้มีการลดลงของระดับ glutathione ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์

pneumocytes ซึ่งคณะวิจัยนี้ได้สรุปว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้น อาจส่งผลเสียให้กับเซลล์ pheumocytes และอาจเป็นหนึ่งในการเพิ่มปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด ashma mobidityได้ (Dimova และคณะ, 2005) และผลจากงานวิจัยถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลติดต่อกันเป็นเวลา 4 อาทิตย์ พบว่ามีผลทำให้ระดับของซัลเฟตในซีรั่มลดลงนำไปสู่การชะลอการสร้าง cartilage ในหนูทดลอง (van der Kraan และคณะ, 1990) นอกจากนี้ผลงานวิจัยที่เพิ่งได้รับการเผยแพร่ล่าสุดในปี 2553 และในปี 2554 ได้แสดงให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลแม้ในdose ที่ไม่ก่อให้เกิดพิษต่อตับสามารถส่งผลให้เซลล์ประสาทมีภาวะผิดปกติและนำไปสู่การตายของเซลล์ประสาทนี้ได้ โดยสามารถพบผลเสียนี้ได้ทั้งในการวิจัยในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงและในหนูทดลอง (Posadas และคณะ, 2010) และผลการศึกษาของ Sudano และคณะในปี 2554 (Sudano และคณะ , 2011) ร่วมกับผลงานวิจัยซึ่งได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือดในคนไข้ที่ได้รับยาพาราเซตตามอลพบว่า ในคนไข้กลุ่มนี้มีระดับความดันเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมทำให้สามารถบ่งชี้ได้ว่ายาพาราเซตตามอลนั้น อาจมีผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ประสาทและระบบหลอดเลือดสมองได้ ซึ่งผลของงานวิจัยเหล่านี้สอดคล้องกับผลของงานวิจัยที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศรีษะ (Trigeminovascular nociceptive system) ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรัง (30 วัน) โดยผลการทดลองในปี 2542 พบว่า การที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน ทำให้ผลของยานี้ต่อการลดความเจ็บปวดจากการกระตุ้นด้วยความร้อนลดลง (Srikiatkhachorn และคณะ, 1999) และพบว่า หนูทดลองที่ได้รับยาพารา เซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการตอบสนองของ cortical neurons ต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression (CSD) มากกว่ากลุ่มควบคุม (Supronsilpchai และคณะ, 2010a) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_{2A} ทั้งในส่วนของ cerebral cortex และ trigeminal ganglia (Supornsilpchai และคณะ, 2010b) ซึ่งกลไกการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_{2A} นี้น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการหลั่งสาร NO ด้วย ซึ่งความเกี่ยวข้องของ NO ในการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองที่มากกว่ากลุ่มควบคุมในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นได้รับการยืนยันจากผลการศึกษาในหนูทดลองที่พบว่ามีการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในเซลล์ประสาทบริเวณบริเวณ cerebral cortex ในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังหลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression (CSD) มากกว่ากลุ่มควบคุม (ศุภางค์ และคณะ : งานวิจัยเสร็จสิ้น กำลังเขียน manuscript)

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าระบบหลอดเลือดสมองนั้นมีบทบาทสำคัญที่สุดในการปกป้องและควบคุมสมดุลสิ่งแวดล้อมในสมองให้มีความสมดุลและเหมาะสมกับการทำงานของเซลล์สมอง โดยจำเป็นต้องมีการทำงานประสานกันของเซลล์ต่างๆ ทั้งเซลล์สมองและเซลล์หลอดเลือด (neurovascular unit) ประกอบกันเป็นชั้นพิเศษที่เรียกว่า Blood Brain Barrier (BBB) การเปลี่ยนแปลงของระดับของซีโรโตนิน ตัวรับซีโรโตนิน และการกระตุ้นด้วยสาร inflammatory cytokines นั้น ล้วนแล้วมีผลกระทบต่อ BBB integrity ทั้งสิ้น (Maneesri และคณะ, 2010; Tsuge และคณะ, 2010; Wong และคณะ, 2004) ดังนั้น คณะวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นก็น่าจะส่งผลกระทบต่อ BBB ด้วยเช่นกัน ซึ่งผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานานต่อการเปลี่ยนแปลงของ BBB นั้นยังไม่มีการศึกษามาก่อน และเนื่องจาก BBB เป็นระบบ neurovascular ที่เซลล์หลอดเลือดสมอง มีความเกี่ยวพันกับเซลล์ประสาทและเซลล์อื่นๆที่ล้อมรอบหลอดเลือด เช่น เซลล์ไมโครเกลียอย่างแนบแน่น การเปลี่ยนแปลงหรือการกระตุ้นต่อเซลล์ไมโครเกลียให้หลั่งสารอักเสบต่างๆออกมาสามารถส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อ BBB ได้ ดังนั้นคณะวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษา ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลง BBB ทั้งในหนูทดลองและในเซลล์เพาะเลี้ยง endothelial โดยในงานวิจัยของช่วงปีแรกจะเป็นการศึกษาวิจัยในหนูทดลองโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลง BBB integrity ทั้งหมดโดยจะทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของการสร้างสาร neuropeptides ที่มีบทบาทมากในการเปลี่ยนแปลง BBB integrity ซึ่งคือ CGRP จาก trigeminal ganglion และศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB (endothelial cells, astrocyte) และ tight junction ในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอน รวมถึงจะศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ tight junction protein โดยจะทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างหนูที่ได้รับ และ ไม่ได้รับ การกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

สำหรับการศึกษาวิจัยในเซลล์เพาะเลี้ยงจะเป็นการศึกษาต่อเนื่องในโครงการวิจัยปีที่ 2 (2555-2556) โดยความรู้ที่ได้รับจากการศึกษานี้จะสามารถยืนยันถึงผลกระทบของการใช้ยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อ BBB integrity ของหลอดเลือดสมองและกลไกของการเกิดความผิดปกตินี้ได้และน่าจะสามารถตอบคำถามการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นในคนได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้

1. เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง ในความเข้มข้นต่างกัน ต่อการเปลี่ยนแปลงของ BBB integrity ในหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD
2. เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง ในความเข้มข้นต่างกัน ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนของเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB ในหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD
3. เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง ในความเข้มข้นต่างกัน ต่อการหลั่งสาร Calcitonin gene related peptide (CGRP) จาก trigeminal ganglion ในหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD
4. เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง ต่อการแสดงออกของสาร cell adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1) บนผิวหลอดเลือดสมอง

งานวิจัยนี้มีกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัยดังนี้

การได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานาน จะมีผลกระทบต่อภาวะสมดุลของ neurovascular unit ของ BBB โดยน่าจะมีผลในการเพิ่มปริมาณการหลั่งของสาร neuropeptides จากเซลล์ประสาทที่อยู่รอบหลอดเลือดซึ่งจะส่งผลกระทบต่อ เซลล์องค์ประกอบของ BBB ให้เกิดความเสียหายขึ้น ทั้งนี้ผลการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุหลอดเลือดสมองโดยอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อ tight junction protein ชนิดต่างๆ ซึ่งในท้ายที่สุดจะทำให้หลอดเลือดสมองเกิดความผิดปกติขึ้นมาได้

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

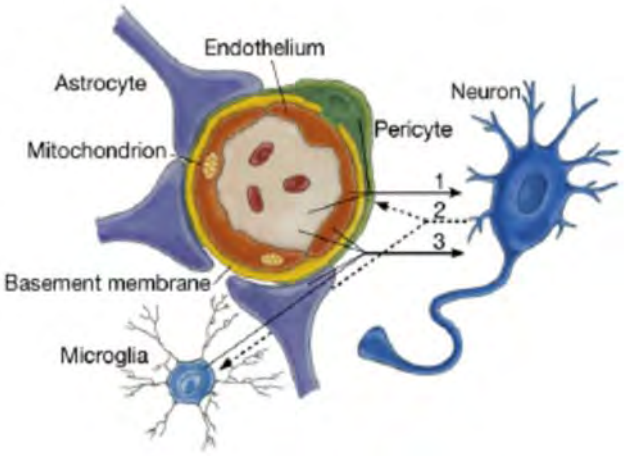
หลอดเลือดสมอง และ blood brain barrier

สมองและไขสันหลังเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญยิ่งในการทำงานของร่างกาย ดังนั้นร่างกายจึงได้พัฒนากลไกต่างๆ เพื่อช่วยรักษาอวัยวะเหล่านี้ให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากสมองและไขสันหลังต้องการเลือดไปเลี้ยงเป็นอัตราที่สูงกว่าอวัยวะอื่น ร่างกายจึงพัฒนาให้สมองมีระบบไหลเวียนเลือดซึ่งมีลักษณะพิเศษที่สามารถปรับอัตราการไหลของเลือด (cerebral blood flow) ให้มีค่าค่อนข้างคงที่ ไม่ขึ้นลงตามความดันเลือดของร่างกาย และมีอัตราการไหลเฉพาะที่ (regional cerebral blood flow) แปรไปตามการทำงานของเซลล์ประสาทในบริเวณนั้นๆ นอกเหนือจากลักษณะดังกล่าว หลอดเลือดในสมองส่วนใหญ่ยังมีคุณสมบัติที่ไม่ยอมให้มีการซึมผ่านของสารต่างๆได้โดยง่าย ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการควบคุมให้ลักษณะของของเหลวนอกเซลล์ (extracellular fluid) เช่น ความเข้มข้นของอิออนต่างๆ มีค่าคงที่ ไม่แปรเปลี่ยนไปตามการเปลี่ยนแปลงของระดับในเลือด คุณสมบัติดังกล่าว ทำให้หลอดเลือดสมองทำหน้าที่เสมือนผนังกั้นพิเศษ ระหว่างระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) และเลือดที่เรียกกันว่า Blood Brain Barrier (BBB)

จากผลการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ BBB มาจนถึงปัจจุบันนี้ พอจะสรุปหน้าที่ของ BBB ได้ดังนี้ (Cardoso และคณะ, 2010; Persidsky และคณะ, 2006a)

1. ควบคุมสมดุลของระบบประสาทส่วนกลาง โดยควบคุมให้สภาวะแวดล้อม ระดับความเข้มข้นของอิออนต่างๆ คงที่ เพื่อคงสภาพสมดุลในการทำงานของเซลล์สมอง
2. ปกป้องเซลล์สมองจากการเปลี่ยนแปลงภายนอกโดยไม่ปล่อยให้สิ่งแปลกปลอมเข้าสู่สมองได้ง่าย
3. ส่งผ่านสารอาหาร ออกซิเจน ให้แก่เซลล์สมองอย่างคงที่สม่ำเสมอ
4. ชักจูงเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบมายังบริเวณที่มีภาวะผิดปกติ

BBB นั้นถูกจัดเป็น neurovascular unit ที่ประกอบไปด้วยเซลล์จากทั้งระบบหลอดเลือดสมองและระบบประสาทที่ทำงานสนับสนุนกันอย่างใกล้ชิดดังรูปที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ Blood Brain Barrier (BBB) ที่ประกอบด้วยเซลล์ endothelium, neuron, astrocyte และ pericyte โดยเซลล์ endothelium และ pericyte แยกจากกันด้วย basement membrane บริเวณที่ทั้งสองเซลล์เชื่อมกันอยู่มีการสื่อสารกันผ่าน synapse-like peg-socket และมีเซลล์ astrocyte endfoot อยู่ถัดออกไป นอกจากนี้ยังมีเซลล์ microglia ที่อยู่ในระยะพักด้วย (Zlokovic, 2008)

เซลล์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของ BBB มีดังนี้

1. <u>เซลล์เอนโดธีเลียมในสมอง</u>

เซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดฝอยในระบบประสาทส่วนกลาง มีลักษณะทางโครงสร้างและการทำงานที่ต่างไปจากเซลล์เอนโดธีเลียมในหลอดเลือดฝอยในอวัยวะอื่นๆ (Davson และคณะ, 1987; Goldstein และ Betz, 1986; Goldstein และ Bets, 1992; Fishman, 1992; Betz และคณะ, 1994; Schilling และ Wahl, 1997) ความแตกต่างที่สำคัญ ได้แก่

- มีกระบวนการนำสารผ่านเซลล์โดยวิธี pinocytosis น้อย จากการศึกษาของ Dux และคณะ พบว่าเซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดสมองของหนูมี pinocytic vesicle เพียง 4 vesicle/ตารางไมโครเมตร (Dux และ Joó, 1982)
- เซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดสมอง มีจำนวนไมโตคอนเดรียสูงกว่าเซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดอื่น มีการทำงานที่ต้องอาศัยพลังงานมากกว่าเซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดอื่น
- มีระบบพิเศษเพื่อใช้ขนส่งสารผ่านผนังเซลล์ (facilitated transport system) โดยมีลักษณะที่สำคัญของระบบขนส่งนี้คือ มีความจำเพาะสำหรับสารแต่ละชนิด รวมไปถึง sterospecificity มีจุดอิ่มตัว (saturation kinetics) และมี competitive interation ระหว่างสารที่มีลักษณะคล้ายกัน สารที่ถูกขนส่งโดยใช้กระบวนการนี้ ได้แก่ กลูโคส, กรดอะมิโน และโคลีน เป็นต้น

- มีอัตราการทำงานของเอนไซม์บางชนิดสูงกว่าเซลล์เอนโดธีเลียมทั่วไป เอนไซม์ดังกล่าวได้แก่ ecto-nucleotidase, alkaline phosphatase, γ-GTP, p-glycoprotein และ Na-K-ATPase (Eisenberg และ Suddith, 1979)
- มีค่าศักย์ไฟฟ้าและความต้านทานระหว่างเซลล์เอนโดธีเลียมและเนื้อสมอง (transendothelial potential and resistance) สูง นอกจากนี้ค่าความต้านทานข้ามเซลล์เอนโดธีเลียม (tranendothial resistance) ของหลอดเลือดสมองยังมีค่าสูงมากเมื่อเทียบกับหลอดเลือดบริเวณอื่น กล่าวคือมีค่าระหว่าง 1500-2000 โอห์ม/ ตารางเซนติเมตร ค่าดังกล่าวสูงกว่าในหลอดเลือดอื่นๆถึงกว่าร้อยเท่า
- มีค่า reflection coefficient สูง และค่า hydraulic conductivity ต่ำ ตัวอย่างเช่นมีค่า reflection coefficient สำหรับซูโครสสูงกว่าหลอดเลือดอื่นๆ ประมาณ 10 เท่า
- มีโครงสร้างบริเวณรอยต่อของเซลล์เป็น tight junction ที่ประกอบไปด้วย tight junction protein หลายชนิด (ocludin, zona ocludin, claudin) โดยพบว่า tight junction นี้มีบทบาทสำคัญในการคงสภาพ BBB ให้ทำงานเป็นปกติได้ จากผลการศึกษาวิจัยพบว่า ถ้าระดับของ tight junction protein เหล่านี้ลดลง จะมีผลต่อ BBB integrity ได้ (Persidsky และคณะ, 2006a)

นอกจากลักษณะพิเศษของเซลล์เอนโดธีเลียมแล้ว หลอดเลือดฝอยในสมองยังมีโครงสร้างที่ต่างจากหลอดเลือดฝอยในบริเวณอื่นของร่างกาย โดยเซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดนี้เรียงชิดกันบนเยื่อ basement membrane (basal lamina) ซึ่งประกอบขึ้นจาก collagen โปรตีนอื่นๆ และ proteoglycan โครงสร้างนี้มีหน้าที่รองรับเซลล์เอนโดธีเลียม

2. <u>เซลล์ประสาทที่ล้อมรอบหลอดเลือด</u>

จากการที่เซลล์ประสาทมีการทำงานตลอดเวลาซึ่งจำเป็นต้องได้รับพลังงานและสารอาหารอย่างพอเพียง ซึ่งเป็นหน้าที่หลักของระบบไหลเวียนเลือดสมอง ผลจากการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัยได้บ่งชี้ว่า อัตราการไหลเวียนของเลือดในสมองเฉพาะที่นั้น (regional cerebral blood flow) แปรผันไปกับอัตราการทำงานของเซลล์ประสาทบริเวณนั้น (Paemeleire, 2002) อย่างไรก็ดี กลไกที่อยู่เบื้องหลังปรากฏการณ์นี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ความเกี่ยวพันระหว่าง BBB integrity และเซลล์ประสาทนั้น ถูกบ่งชี้จากการค้นพบว่าในขณะที่เกิดพยาธิสภาพของเซลล์สมองพบว่า BBB จะสูญเสียสภาพสมดุล ทำให้การไหลเวียนของเลือดในสมองบริเวณนั้นลดลง เช่นที่พบได้ในภาวะ ischemia, hemorrhage traumatic injury (Persidsky และคณะ, 2006a)

และจากโครงสร้างของระบบหลอดเลือดสมองที่ถูก innervated ด้วยแขนงของเซลล์ประสาทหลายชนิด เช่น Noradrenergic, Serotonergic และ GABAnergic (Vaucher และคณะ, 2000) นั้นน่าจะบ่งชี้ถึงบทบาทของเซลล์ประสาทเหล่านี้ในการควบคุม BBB permeability ได้ เช่นผลการวิจัยของ Tong และ Hamel ในปี 1999 ที่พบว่าการขาดหายไปของ cholinergic innervations บริเวณหลอดเลือดนั้นเกี่ยวข้องกับการเกิดความผิดปกติของระบบไหลเวียบเลือดในผู้ป่วย Alzheimer's disease (Tong และ Hamel, 1999) นอกจากนั้นผลงานวิจัยในเซลล์เพาะเลี้ยงในปี 2009 ที่ค้นพบว่ามีการแสดงออกของตัวรับ Glutamate ชนิด NMDA บนผิว เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง ซึ่งจะมีการแสดงออกของตัวรับนี้มากขึ้นในกรณีที่มี oxygen free radical และมีผลทำให้ BBB permeability เพิ่มขึ้น (Betzen และคณะ, 2009) ซึ่งผลการศึกษาวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ประสาทและ BBB

3. <u>เซลล์แอสโตรไซต์ (Astrocyte)</u>

เซลล์แอสโตรไซต์และเซลล์เอนโดธีเลียมถือว่าเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่ของ BBB การศึกษาโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์นอกร่างกายพบว่า เซลล์เอนโดธีเลียมของหลอดเลือดสมองจะมีการเรียงตัวหรือมีการสร้าง tight junction ซึ่งเป็นลักษณะของ blood brain barrier รวมถึงมีความสามารถในการควบคุมการซึมผ่านของสารอณูใหญ่ เมื่อมีการเพาะเลี้ยงเซลล์แอสโตรไซต์ร่วมด้วยเท่านั้น (Wolberg และคณะ, 1994; Grabb, 1995)

จากการศึกษาพบว่า astrocyte มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ proteoglycan ส่งผลให้เซลล์หลอดเลือดมีประจุเลือกผ่านเพิ่มมากขึ้นและยังเหนี่ยวนำ blood brain barrier ให้ทำหน้าที่ได้ (Yamagata และคณะ, 1997; Bernoud และคณะ, 1998) ซึ่งในกรณีที่มีการกำจัดเซลล์ astrocyte ออกจาก co-culture ร่วมกับเซลล์หลอดเลือดพบว่ามีผลให้สารขนาดเล็กผ่าน blood brain barrier ได้โดยการเปิดส่วนของ tight junction (Hamm และคณะ, 2004) และเมื่อศึกษาการคืนสภาพดังกล่าวโดยการเลี้ยงเซลล์หลอดเลือดร่วมกับ condition medium ของเซลล์ astrocyte พบว่าเซลล์ชนิดนี้มีการหลั่งสารบางอย่างออกมาใน medium สามารถกระตุ้นให้ tight junction proteins ทำงานได้ดีและลด permeability ของเซลล์หลอดเลือดได้ (Siddharthan และคณะ, 2007; Colgan และคณะ, 2008)

4. <u>เซลล์ไมโครเกลีย (Microglia)</u>

เซลล์ไมโครเกลียมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในระบบประสาทส่วนกลาง (Innate immune system) และมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดความผิดปกติของเซลล์ประสาท (neuronal damage) เซลล์ไมโครเกลียในระยะที่ไม่ได้รับการกระตุ้นมี ramified shape ที่มีตัวเซลล์ขนาดเล็กและ process ผอมยาว ในขณะที่เมื่อได้รับการกระตุ้นจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็น amoeboid ที่มีลักษณะ process สั้น และจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นเหมือน phagocytic cells ในที่สุด (Streit และคณะ, 1998) เซลล์ไมโครเกลียที่ได้รับการกระตุ้นนี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการป้องกันตัวเอง

ของโฮสต์และการอยู่รอดของเซลล์ประสาท แต่การที่มีเซลล์ชนิดนี้ในภาวะถูกกระตุ้นจำนวนมากจะทำให้เกิดผลกระทบต่อเซลล์ประสาทได้ โดยการการหลั่ง superoxide, nitric oxide และ TNF-α ออกมา (Block และคณะ, 2007; Zlokovic, 2008)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของ activated microglia ที่ได้รับการกระตุ้นโดย lipopolysaccharide ต่อการเปลี่ยนแปลงของ blood brain barrier พบว่า activated microglia ทำให้เกิดการหลั่ง reactive oxygen species ผ่าน NADPH oxidase ส่งผลให้ blood brain barrier สูญเสียหน้าที่ (Sumi และคณะ, 2010)

Blood brain barrier in pathology

จากการรวบรวมผลงานจากงานวิจัยหลายงานวิจัยพบว่าความผิดปกติของ BBB มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) หลายโรค เช่น โรค multiple sclerosis (Correale และ Villa, 2007) ภาวะออกซิเจนต่ำ (hypoxia) และขาดเลือดไปเลี้ยง (ischemia) (Kaur และ Ling, 2008) ภาวะบวม (edema) (Rosenberg และ Yang, 2007) โรคพาร์กินสันและอัลไซเมอร์ (Desai และคณะ, 2007; Zlokovic, 2008) โรคลมชัก (Remy และ Beck, 2006) เนื้องอก (Bronger และคณะ, 2005) ต้อหิน (Grieshaber และ Flammer, 2007) และโรคความผิดปกติทางพันธุกรรมที่มีการสะสมของสารในไลโซโซม (Begley และคณะ, 2008) ดังตารางที่ 1 อย่างไรก็ดีจากผลการศึกษาวิจัยเหล่านี้ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ BBB มีผลต่อการดำเนินของโรคหรือไม่ แต่การเปลี่ยนแปลงของ BBB นั้นมักพบว่าเป็นสาเหตุที่สนับสนุนให้อาการทางพยาธิสภาพแย่ลงได้ (Persidsky และคณะ, 2006a)

CNS pathology	BBB dysfunction	References
Stroke	Astrocytes secrete transforming growth factor-β (TGFβ), which downregulates brain capillary endothelial expression of fibrinolytic enzyme tissue plasminogen activator (tPA) and anticoagulant thrombomodulin (TM). Proteolysis of vascular basement membrane/matrix. Induction of aquaporin 4 (AQP4) mRNA and protein at BBB disruption. Treatment with arginine vasopressin V1 receptor antagonist reduced the increase in BBB permeability induced in stroke model.	Tran et al., 1999 Lo et al., 2003 Tomás-Camardiel et al., 2005 Vakili et al., 2005
Trauma	Bradykinin, a mediator of inflammation, is produced and stimulates production and release of interleukin-6 (IL-6) from astrocytes, which leads to opening of the BBB.	Schwaninger et al., 1999
Infectious or inflammatory processes	Examples include bacterial infections, meningitis, encephalitis and sepsis. The bacterial protein lipopolysaccharide (LPS) affects the permeability of BBB tight junctions. This is mediated by the production of free radicals, IL-6 and IL-1 β. Interferon-β prevents BBB disruption. Alterations in P-glycoprotein expression and activity in the BBB.	Gaillard et al., 2003 Veldhuis et al., 2003 Roberts and Goralski, 2008
Multiple sclerosis	Breakdown of the BBB. Tight junction abnormalities. Downregulation of laminin in the basement membrane. Selective loss of claudin3 (shown with antibody vs Cl 1/3) in experimental autoimmune encephalomyelitis.	Minagar and Alexander, 2003 McQuaid et al., 2009 Oki et al., 2004 Wolburg et al., 2003
HIV	BBB tight junction disruption.	Dallasta et al., 1999 Berger and Avison, 2004 Buckner et al., 2006
Alzheimer's disease	Decreased glucose transport, downregulation of glucose transporter GLUT1, altered agrin levels, upregulation of AQP4 expression. Accumulation of amyloid-β, a key neuropathological feature of Alzheimer's disease, by decreased levels of P-glycoprotein transporter expression. Altered cellular relations at the BBB, and changes in the basal lamina and amyloid-β clearance.	Berzin et al., 2000 Kalaria, 1999 Cirrito et al., 2005 Tai et al., 2009 Zlokovic, 2005 Bell and Zlokovic, 2009
Parkinson's disease	Dysfunction of the BBB by reduced efficacy of P-glycoprotein.	Kortekaas et al., 2005 Desai et al., 2007 Bartels et al., 2008
Epilepsy	Transient BBB opening in epileptogenic foci, and upregulated expression of P-glycoprotein and other drug efflux transporters in astrocytes and endothelium.	Abbott et al., 2002 Marroni et al., 2003 Lazarowski et al., 2007
Brain tumours	Breakdown of the BBB. Downregulation of tight junction protein claudin 3; redistribution of astrocyte AQP4 and Kir4.1 (inwardly rectifying K^+ channel).	Papadopoulos et al., 2004 Davies, 2002 Wolburg, 2006 Liebner et al., 2000 Warth et al., 2004
Pain	Inflammatory pain alters BBB tight junction protein expression and BBB permeability.	Huber et al., 2001 Willis and Davis, 2008
Glaucoma	Opening of the BBB, possibly through diffusion of endothelin-1 and matrix-metalloproteinase-9 into peri-capillary tissue.	Grieshaber and Flammer, 2007
Lysosomal storage diseases (LSD)	May show changes in BBB permeability, and/or transport, depending on specific LSD	Begley et al., 2008

ตารางที่ 1 แสดงภาวะผิดปกติต่างๆที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดความผิดปกติของ BBB (Abbott และคณะ, 2010)

บทบาทของ tight junction ในการคงสภาพของ BBB

ผลการศึกษาวิจัยพบว่า tight junction ระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองที่ประกอบไปด้วย tight junction protein หลายชนิด (ocludin, zona ocludin, claudin) มีบทบาทสำคัญในการคงสภาพ BBB ให้ทำงานเป็นปกติได้ โดยมีการศึกษาวิจัยพบว่าถ้าระดับของ tight junction protein เหล่านี้ลดลง จะมีผลต่อ BBB integrity ได้ ทั้งนี้ความสมบูรณ์ของ tight junction เป็นเสมือนสิ่งที่กำหนดระดับการผ่านเข้าออกของสารระหว่าง blood brain barrier tight junction proteins ประกอบด้วย integral transmembranous proteins หลายชนิด เช่น occludin, claudins และ JAMs. โดย tight junction protein เหล่านี้ จะเชื่อมต่อกับ actin cytoskeleton โดยใช้ anchoring proteins เช่น zona occludens (ZO-1, ZO-2) (Persidsky และคณะ, 2006b)

Occludin เป็น integral transmembranous proteins ขนาด 65 kDa พบในบริเวณ cell margin ของ brain microvascular endothelial cells เป็นจำนวนมาก (Wolburg และ Lippoldt 2002; Hawkins และ Davis 2005) ผลจากการศึกษาวิจัยใน endothelial cells อื่นๆที่ไม่ใช่ระบบประสาทส่วนกลางพบว่าจะมี occludin แสดงออกน้อยกว่า endothelial cells จากหลอดเลือดสมอง (Hirase และคณะ, 1997; Vorbrodt และ Dobrogowska, 2003) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า occludin เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของ blood brain barrier โดยการทดลองของ McCarthy และคณะ ในปี 1996 พบว่า หาก epithelial cell monolayers มีการแสดงของ occludin สูงจะมีค่า electrical resistance สูงด้วย แสดงถึงความแน่นของ tight junction ที่มากขึ้น (McCarthy และคณะ, 1996) occludin ประกอบด้วย transmembrane domains ซึ่งมีปลายด้านที่มีหมู่คาร์บอกซิลและปลายด้านที่มีหมู่อะมิโนอยู่ในไซโตพลาสซึม มี extracellular loops 2 แห่ง อยู่บริเวณ intercellular cleft (Furuse และคณะ, 1993)

ผลจากการศึกษาวิจัยพบว่าสารสื่อประสาทต่างๆที่หลั่งออกมาจากเซลล์ประสาท โดยเฉพาะกลูตาเมท มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ occludin โดยพบว่ากลูตาเมทสามารถ เพิ่มการเกิด tyrosine phosphorylation และลด threonine phosphorylation ของ brain microvascular endothelial cells ที่เพาะเลี้ยงได้ และเมื่อยับยั้ง NMDA และ AMPA/KA receptor ซึ่งเป็นตัวรับของกลูตาเมทแล้ว ระดับการเปลี่ยนแปลงก็ลดลงด้วย แสดงให้เห็นว่าตัวรับเหล่านี้มีผลต่อการ phosphorylation ของ occludin และรบกวนการทำงานของ blood brain barrier (András และคณะ, 2007)

จากการศึกษาภาวะผิดปกติของ ในโรคต่างๆหลายโรคที่มีความผิดปกติของ BBB พบว่าภาวะที่มีการลดลง ของ occludin มีความเกี่ยวข้องกับภาวะผิดปกติของ BBB (Bolton และคณะ, 1998; Dallasta และคณะ, 1999; Pesidsky และคณะ, 2006b)

Claudins เป็น integral transmembranous proteins ขนาด 20-24 kDa มีตำแหน่งอยู่ที่ cell margin เช่นเดียวกับ occludin จากการทดลองของ Kubota และคณะในปี 1999 พบว่า เมื่อ claudins มีการแสดงออกสูงขึ้นทำให้เกิดการชักนำให้เกิด cell aggregation และโครงสร้างที่คล้าย tight junctionได้ ผลจากการศึกษาวิจัยพบว่า claudins เป็นองค์ประกอบเริ่มแรกในการเกิด tight junction ส่วน occludin เป็นองค์ประกอบที่ช่วยทำให้ junction แน่นยิ่งขึ้น(Kubota และคณะ, 1999) โดย claudins ที่พบมากใน brain microvascular endothelial cells คือ claudins-3 และ claudins-5 (Nitta และคณะ, 2003; Hawkins และ Davis, 2005)

ZO-1 เป็น phosphoprotein ขนาด 220 kDa มีการแสดงออกบริเวณของ endothelial cell และ epithelial cell โดยเป็นองค์ประกอบของ tight junction ZO-1เป็นตัวเชื่อมต่อระหว่างtransmembranous proteins กับ actin cytoskeleton (Fanning และคณะ, 1998) หาก ZO-1 ไม่มีการทำงานเชื่อมต่อกับ junctional complex เหล่านี้ ทำให้ barrier permeability เพิ่มมากขึ้น (Mark และ Davis, 2002)

ZO-2 เป็น phosphoprotein ขนาด 160 kDa มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ ZO-1 (Itoh และคณะ, 1999) รวมทั้งมีการทำงานที่คล้ายคลึงกันด้วย ในแง่ของการเชื่อมต่อกับ transmembranous proteinsของ tight junction และพบว่ามี ZO-2 อยู่ที่นิวเคลียสขณะที่เซลล์เกิดภาวะกดดันและ proliferation (Islas และคณะ, 2002; Traweger และคณะ, 2003) นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจว่า ZO-2 สามารถทำหน้าที่ทดแทนการขาด ZO-1 ใน epithelial cell ที่เพาะเลี้ยงได้ (Umeda และคณะ, 2004)

บทบาทของ P-glycoprotein (P-gp) ในการคงสภาพของ BBB

P-glycoprotein (P-gp) เป็น membrane protein ที่มีขนาด 170 kDa ซึ่งมีส่วนของ multidrug resistance gene (MDR1) (Fardel และคณะ, 1996) อยู่บนด้าน apical surface ของเซลล์เอนโดธีเลียมของสมอง ทำหน้าที่นำสาร amphipatic compound ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 500 Da จากเซลล์เอนโดธีเลียมเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อป้องกันการสะสมของสารเหล่านั้นในสมอง (Ramakrishnan, 2003) P-gp มี substrate binding domain ที่หลากหลาย จึงมีคุณสมบัติในการจับกับสารตั้งต้นได้หลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นสารพิษ ยา หรือสารอื่นๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย (Pekcec และคณะ, 2009) P-gp ทำหน้าที่เป็นเสมือนตัวควบคุมการผ่านของยาเข้าสู่ (Loscher และ Potschka, 2005) แต่อีกด้านหนึ่งพบว่าหาก P-gp มีระดับลดลง จะทำให้สมองมีความไวต่อการกระตุ้นจากสารต่างๆ มากขึ้น ไม่เพียงแต่จะนำไปสู่ภาวะความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันเท่านั้น ยังส่งผลต่อความเสี่ยงในการเกิดโรคกลุ่ม neurodegenerative diseases ในระยะยาว เช่น อัลไซเมอร์ และพาร์กินสันอีกด้วย (Lee และ Bendayan, 2004) กลไกการทำงานของ P-gp ถูกควบคุมจากหลายๆ ปัจจัย เช่น ความแก่ชรา โดยพบว่าเมื่ออายุเพิ่มขึ้น ระดับของ P-gp จะลดลง (Mangoni, 2007) ดังเช่นการตรวจสอบด้วย Positron emission tomography (Bartels และคณะ, 2009; Toornvliet และคณะ, 2006) นอกจากนี้ P-gp ยังมีบทบาทในการขับสารพิษที่สะสมในสมองที่สามารถก่อให้เกิดโรค neurodegenerative diseases ออกจากสมองได้อีกด้วย (Pekcec และคณะ, 2009)

บทบาทของ Matrix metalloproteinase (MMPs family) **ในการคงสภาพของ BBB**

MMPs เป็นหนึ่งในกลุ่มยีนที่มีความสำคัญต่อการทำงานของสมองในภาวะปกติและภาวะที่มีพยาธิสภาพ (Yong, 1998; Rosenberg, 2002; Chandler และคณะ, 1997) โดย MMPs มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ เช่น BBB permeability (Aoki, 2002; Leppert และคณะ, 2000; Rosenberg และคณะ, 1992) การแทรกตัวของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันผ่านเนื้อเยื่อสมอง (Leppert และคณะ, 1995) การหลั่งของ cytokines (Chandler และคณะ, 1997) รวมทั้งมีผลโดยตรงต่อความเสียหายของเซลล์ทั้งในระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย (Créange และคณะ, 1999) ด้วยโครงสร้างของโปรตีนจึงสามารถแบ่ง MMPs ได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ คือ gelatinases (MMP-2 และ MMP-9), collagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-13, และ MMP-18), stromelysins (MMP-3, MMP-10, และ MMP-11), membrane-type MMPs

(MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, และ MMP-25), และ matrilysins (MMP-7 และ MMP-26) (Brinckerhoff และ Matrisian, 2002) จากงานวิจัยที่ผ่ายมาพบว่า MMPs มีการแสดงออกในภาวะขาดเลือด (ischemia) และกระบวนการอักเสบ (inflammation) ของสมอง (Rosenberg, 2002) นอกจากนี้ MMPs ยังมีความสำคัญต่อการสูญเสียการทำงานของ BBB การบวมน้ำ และการรั่วไหลของโปรตีนออกนอกหลอดเลือดด้วย (Rosenberg และคณะ, 2001; Gasche และคณะ, 1999) MMPs รบกวนการทำงานขององค์ประกอบใน BBB ไม่ว่าจะเป็น tight junctions ของเซลล์เอนโดธีเลียม, pericytes, astrocytic end feet และ basal lamina ที่ประกอบด้วย extracellular matrix (ECM) เช่น type IV collagen, laminin, และ fibronectin โมเลกุลเหล่านี้ล้วนเกี่ยวข้องกับ MMPs ทั้งสิ้น โดยเฉพาะ MMP-2 และ MMP-9 (Chandler และคณะ, 1997) เช่น โรค multiple sclerosis ที่เกิดการอักเสบในระบบประสานส่วนกลาง (Rosenberg, 2002; Lo, 2002) นอกจากนี้การกระตุ้นการทำงานของ MMPs จากภาวะ CSD ยังทำให้เกิด BBB permeability เพิ่มขึ้นอีกด้วย โดยพบว่าระดับของ MMP-9 เพิ่มขึ้นในcortex ข้างที่กระตุ้น (ipsilateral cortex) ให้เกิด CSD นำไปสู่การเกิดภาวะบวม (edema) และการรั่วของหลอดเลือด (vascular leakage) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้สามารถถูกยับยั้งได้ด้วย MMP inhibitor (Gursoy-Ozdemir และคณะ, 2004)

ระบบหลอดเลือดสมองและการปวดศีรษะ

ผลการศึกษาในผู้ป่วยปวดศีรษะไมเกรนพบว่าการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองมีความสัมพันธ์กับอาการปวดจากการศึกษาของ Ray และ Wolff พบว่า การกระตุ้นหลอดเลือดสมองสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ (Ray และ Wolff, 1940) และการศึกษาของ Sakai และ Mayer ในปี 1978 ซึ่งได้ทำการศึกษาปริมาณการไหลเวียนเลือดใน extracranial vessels และพบว่าในขณะที่มีอาการปวดศีรษะไมเกรนจะมีปริมาณเลือดเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 (Sakai และ Mayer, 1978) จากการศึกษาโดยวิธี single photon emission computerized tomography (SPECT) Lauritzen และคณะ (1994) พบว่าในช่วงที่มีผู้ป่วยมีอาการนำ (aura) จะมีการลดลงของปริมาณเลือดเฉพาะที่ (reginal cerebral blood flow) ปริมาณ 17% (โดยปริมาณเลือดอยู่ระหว่าง 41-66 มิลลิลิตร/เนื้อสมอง 1 กรัม/นาที) ซึ่งการลดลงของปริมาณเลือดนี้อาจสัมพันธ์กับการเกิดความผิดปรกติทางระบบประสาทที่พบได้ในผู้ป่วยไมเกรนขณะที่มีอาการ จากผลการศึกษาดังกล่าวทำให้มีผู้สันนิษฐานว่าอาการปวดเหล่านี้น่าจะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด (vascular headache)

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานเกี่ยวกับการระบบหลอดเลือดภายในโพรงกะโหลกศีรษะ ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจถึงกลไกที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและปริมาณเลือดซึ่งเกิดขึ้นในขณะที่มีอาการปวดศีรษะไมเกรนว่ามีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาท trigeminovascular system (Del Rio และ Moskowitz, 2000) วงจรประสาทในระบบนี้มีหน้าที่ที่สำคัญ 2

ประการคือ (1) เป็นเส้นทางที่ผ่านกระแสประสาทที่เกิดจากการกระตุ้นตัวรับ nociceptor ที่อยู่รอบหลอดเลือดเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางและ (2) ใยประสาทที่ไปยังหลอดเลือดเหล่านี้ควบคุมการเกิดการอักเสบปลอดเชื้อที่เกิดจากการกระตุ้นเส้นประสาท (neurogenic sterile inflammation) ความผิดปรกติในการควบคุมทำงานของระบบนี้เป็นกลไกพื้นฐานที่นำไปสู่อาการปวดศีรษะไมเกรนได้

ปรากฏการณ์ cortical spreading depression

การศึกษาปรากฏการณ์นี้เริ่มจากการรายงานของ Leào ในปี 1944 โดยพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าสมองที่บันทึกได้จากสมองใหญ่โดย คลื่นของความเปลี่ยนแปลงนี้แผ่ขยายไปด้วยความเร็วประมาณ 2-3 มิลลิเมตรต่อนาที Leào ได้เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า cortical spreading depression (CSD) ผลจากการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัยบ่งชี้ว่าการเกิดปรากฏการณ์ CSD นี้เกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคปวดศีรษะไมเกรน โดยพบว่า การเปลี่ยนแปลงของลักษณะไฟฟ้าของผิวสมองใหญ่ที่เริ่มจากการกระตุ้น และตามด้วยการลดลงของการทำงานนี้เป็นลักษณะสำคัญของปรากฏการณ์ CSD ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางคลินิกที่พบในระยะออรา กล่าวคือ ระยะการกระตุ้นอาจทำให้เกิดอาการเชิงบวก เช่น การเห็นแสงเป็นเส้นหยักในลานสายตา ในขณะที่ระยะยับยั้งอาจเป็นพยาธิกำเนิดของอาการเชิงลบ เช่น การเกิดเงามืด เป็นต้น ดังนั้นจึงเชื่อว่าปรากฏการณ์ CSD น่าจะเป็นพยาธิสรีรกำเนิดของความผิดปกติทางระบบประสาทที่พบในระยะออรา

การกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD ในสมองสัตว์ทดลองนั้น สามารถกระทำได้โดยวิธีต่างๆ อาทิ การกระตุ้นด้วยไฟฟ้าหรือแรงกลที่ผิวสมองใหญ่ รวมถึงการกระตุ้นโดยใช้โปแตสเซียมที่มีความเข้มข้นสูง นอกจากบริเวณผิวสมองใหญ่แล้ว ปรากฏการณ์ CSD ยังสามารถเกิดได้ในสมองส่วนเนื้อเทา (gray matter) ตำแหน่งอื่นๆ อาทิ ฮิปโปแคมปัส (hippocampus) หรือสมองน้อย (cerebellum) เป็นต้น (Busija และคณะ, 2008)

CSD เหนี่ยวนำ neurogenic inflammation

ผลจากการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัยบ่งชี้ว่าการเกิดปรากฏการณ์ CSD สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะอักเสบปลอดเชื้อ (sterile neurogenic inflammation) ได้โดย CSD สามารถกระตุ้นใยประสาทที่พันรอบหลอดเลือดให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Substance P และ Calcitonin gene related peptide (CGRP) จากปลายประสาท และเกิดการอักเสบปลอดเชื้อนี่เองที่จะสามารถกระตุ้นระบบประสาท trigerminal vascular nociceptive system และเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ ซึ่งผลงานวิจัยในผู้ป่วยไมเกรนสนับสนุนทฤษฎีนี้ กล่าวคือในขณะที่ผู้ป่วยเกิดการปวดศีรษะจะมีระดับของสารสื่อประสาท CGRP เพิ่มขึ้น จากการตรวจวัดที่หลอดเลือดดำบริเวณศีรษะ (Goadsby และคณะ, 1990)

นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ของยารักษาโรคปวดศีรษะไมเกรน เช่น Sumatryptan มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งของสารสื่อประสาท CGRP และ SP ได้ จากการทดลองในคนไข้ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด plasma extravasation จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง (Moskowitz และ Cutrer, 1993)

ผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองในปี 2001 โดย Jander และคณะ ยืนยันว่าการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD โดย potassiam chrolide นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มปริมาณของ Tumor nacrosis Factor-α (TNF-α) และ Interleukin-1 (IL-1) มีปริมาณเพิ่มขึ้นในกลุ่มหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วย CSD (Jander และคณะ, 2001)

Calcitonin gene related peptide (CGRP)

CGRP เป็นสารสื่อประสาทที่ได้รับการยอมรับมานานแล้วว่ามีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดความรู้สึกปวด โดยมีผลการเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดเกิดการขยายตัว และมีบทบาทในการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ neurogenic inflammation (Moskowitz, 1993) ผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองยังพบว่าการกระตุ้นtrigeminal ganglion สามารถเหนี่ยวนำให้มีการหลั่ง CGRP ได้โดยผลจากการตรวจวัดระดับ CGRP ในหลอดเลือด external jugular vein พบว่ามีระดับสูงขึ้นหลังจากกระตุ้นtrigeminal ganglion ทำให้มีการสรุปว่า neuropeptide CGRP นี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง โดยในปัจจุบันนี้นักวิจัยหลายกลุ่มได้พยายามที่จะพัฒนาสาร CGRP receptor antagonist เพื่อใช้เป็นยาลดอาการปวดศีรษะไมเกรน (Geppelti และคณะ, 2005; Goadsby, 2005)

ผลการศึกษาในคนไข้ยืนยันบทบาทของ CGRP ในพยาธิกำเนิดของโรคปวดศีรษะไมเกรน คือการพบว่าในขณะที่มีการปวดศีรษะ ระดับของสารสื่อประสาท CGRP สูงกว่าปกติ ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นต่อ afferent fiber ของ trigerminal neuronให้มีการหลั่งสารสื่อประสาท CGRP ออกมา (Storer และคณะ, 2004; Bellamy et al., 2006) โดยมีผลยืนยันจากการศึกษาในคนไข้ที่ได้รับยา anti-migraine ผลจากการใช้ยา anti-migraine (sumatriptan) ในการรักษาคนไข้ พบว่าสามารถลดระดับของสาร CGRP ลงได้ (Lassen และคณะ, 2002)

นอกจากนั้นผลจากการทดลอง pre-clinical study ที่ทดลองใช้ยา Olcegepant (BIBN4096BS; Boehringer-Ingelhien) ซึ่งเป็น non-peptide CGRP antagonist พบว่า Olcegepant สามารถยับยั้งการเกิด neurogenic inflammation โดยไม่มีผลต่อความดันเลือดและการเต้นของหัวใจ (Doods และคณะ, 2002) นอกจากนั้นยังพบว่าสารนี้สามารถยับยั้งการกระตุ้นต่อเซลประสาทใน trigerminal nuclear caudalis ด้วย (Olensen และคณะ, 2004; Storer และคณะ, 2004 ; Fischer และคณะ, 2005) ซึ่งผลงานวิจัยเหล่านี้ก็แสดงให้เห็นถึงความเกี่ยวข้องของ CGRP กับอาการปวดศีรษะไมเกรนได้

กลไกการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในขณะที่เกิดปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression

จากการศึกษาวิจัยการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนของหลอดเลือดสมองในระดับที่เกิดปรากฏการณ์ CSD พบว่า ระบบไหลเวียนเลือดสมองจะมีอัตราการไหลเวียนของเลือดเพิ่มขึ้น ในขณะที่เกิดปรากฏการณ์ CSD คู่ไปกับการเพิ่มปริมาณของกลูตาเมท และโปแตสเซียมไอออน ภายนอกเซลล์ (Leao 1944; Hansen และ Zeuthen, 1981; Iijima และคณะ, 1988) การเปลี่ยนแปลงของอัตราการไหลของเลือดเนื่องจากปรากฏการณ์ CSD นี้สามารถพบได้ในการทดลองกับสัตว์หลายสปีชีย์ รวมถึง หนู กระต่าย ลิง และแมว ซึ่งบ่งชี้ว่าในขณะที่เกิดปรากฏการณ์ CSD นั้น หลอดเลือดสมองมีการขยายตัวขึ้น แม้ว่าในช่วงแรกของปรากฏการณ์นี้ จะมีการลดการไหลเวียนเลือดลงกว่าปกติ แต่การลดลงของอัตราการไหลเวียนของเลือดในสมองที่พบ ก็เป็นภาวะสั้นๆ เท่านั้น (Busija และคณะ, 2008; Yokota และคณะ, 2002) และผลของการศึกษาวิจัยถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือด ในขณะเกิดปรากฏการณ์ CSD พบว่าการเพิ่มปริมาณการไหลเวียนของเลือดในขณะที่เกิดปรากฏการณ์นี้ น่าจะเกิดขึ้นจากกลไกเหล่านี้

1. ตอบสนองต่อ NO
2. ตอบสนองต่อการกระตุ้นของ perivascular neurons
3. ตอบสนองต่อปริมาณของ โปแตสเซียมไอออน และ glutamate
4. ตอบสนองต่อ reactive oxygen species ที่เพิ่มขึ้น

1. <u>การตอบสนองต่อ NO</u>

บทบาทของ NO ในการเกิดการขยายตัวของหลอดเลือดจากปรากฏการณ์ CSD นั้น มีรายงานครั้งแรก โดย Goadsby และคณะ ในปี 1992 ที่พบว่าการยับยั้งการสร้าง NO สามารถยับยั้งการเพิ่มการไหลเวียนเลือดจากปรากฏการณ์ CSD ได้ (Goadsby และคณะ, 1992) และผลจากการทดลองในแมว (Wahl และคณะ, 1994; Read และคณะ, 1997) และในกระต่าย (Colonna และคณะ, 1994b) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และจากผลงานวิจัยที่พบว่าการให้ specific nNOS inhibitor นั้นให้ผลเช่นเดียวกับการให้ NOS inhibitor ทั้ง 3 isoform ทำให้ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่าแหล่งกำเนิดสำคัญของ NO ในขณะที่เกิดปรากฏการณ์ CSD คือ เซลล์ประสาท (neuron) หรือ glial cell เนื่องจากเป็นเซลล์ที่มีการแสดงออกของ neuronal NOS (nNOS) ทั้งคู่ (Colonna และคณะ, 1997) และ NO ที่หลั่งออกมาน่าจะมีผลกระตุ้นต่อการหลั่งของ CGRP ใน dura mater (Strecker และคณะ, 2002) ซึ่งเป็นปัจจัยในการเกิดความรุนแรงของอาการปวดศีรษะในคนไข้ไมเกรน

2. การตอบสนองต่อการกระตุ้นของ perivascular neurons

เนื่องจาก perivascular neurons มีบทบาทเกี่ยวข้องกับ vasodilator agent โดยเริ่มมีการศึกษาและเป็นที่ยอมรับตั้งแต่ปี 1994 การทดลองในกระต่ายของ Colonna และคณะ พบว่าเมื่อให้สารที่ยับยั้ง CGRP receptor แล้วทำให้มี cerebral hyperemia ลดลง 40-50% (Colonna และคณะ, 1994a) และการทดลองในแมว (Wahl และคณะ, 1994) และหนูแร็ท (Reuter และคณะ, 1998) รวมไปถึงการทำลาย sensory nerve ด้วย capsaicin (Bari และคณะ, 2000a; Bari และคณะ, 2000b) และการทำ chronic interruption กับเส้นประสาทที่มี CGRP ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน นอกจากนี้การทำ chronic sensory denervation โดยการตัด trigeminal nerve ที่ไปหล่อเลี้ยง cerebral arteries พบว่าทำให้ cerebral blood flow ที่เพิ่มขึ้นในภาวะ CSD ลดลงได้ (Reuter และคณะ, 1998) จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่า vasodilator ส่วนใหญ่ที่พบในภาวะ CSD คือ CGRP (Bari และคณะ, 2000b; Colonna และคณะ, 1994a; Reuter และคณะ, 1998; Wahl และคณะ, 1994) และเป็นสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับ NO ที่พบในกระต่ายและแมว (Colonna และคณะ, 1994b; Wahl และคณะ, 1994) ส่วน vasodilator อื่นๆ นั้นยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจน ค้นพบแต่เพียงว่าการรบกวนระบบ parasympathetic และการใช้ atropine เพื่อบดบัง muscarinic receptor สามารถลด cerebral hyperemia ซึ่งเกิดขึ้นในภาวะ CSDในหนูแร็ทได้ (Reuter และคณะ, 1998) ซึ่งผลกระทบเหล่านี้ไม่ได้เกี่ยวเนื่องกับ NO ที่สร้างมาจากเซลล์เอนโดธีเลียม (Shimizu และคณะ, 2002) โดย NO ปล่อยออกมาได้เมื่อกระตุ้น parasympathetic nerve ที่หล่อเลี้ยง cerebral arteries (Goadsby และคณะ, 1996) เป็นผลให้หลอดเลือดขยายตัว (Toda และ Okamura, 2003)

ทั้งนี้ภาวะ CSD ทำให้มีการกระตุ้น trigeminal afferent ผ่าน axon-reflex activation ของ trigeminal branch และ central-reflex activation ของ parasympathetic nerve ทำให้มีการปล่อย CGRP นำไปสู่การขยายตัวของหลอดเลือด และ neurogenic inflammation ในเยื่อหุ้มสมองตามลำดับ (Bolay และคณะ, 2002; Dalkara และคณะ, 2006; Edvinsson, 2007) สอดคล้องกับผลการทดลองในคนไข้ที่พบว่าการฉีด CGRP เข้าสู่กระแสเลือดโดยตรงในคนไข้ก็ทำให้เกิดอาการปวดหัวเช่นกัน (Iversen, 2001; Lassen และคณะ, 2002; 2008)

3. ตอบสนองต่อปริมาณของ โปแตสเซียมไอออน และ glutamate

ในขณะที่เกิดปรากฏการณ์ CSDนั้น โปแตสเซียมและ glutamate จะถูกหลั่งออกมาที่บริเวณผิวสมองซึ่งทั้งโปแตสเซียม และ glutamate นั้นเกี่ยวข้องในกระบวนการแพร่ของ spreading depression (Grafstein, 1956; Van Harreveld,1959) นอกจากนั้นโปแตสเซียมนั้นมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการขยายตัวของหลอดเลือดสมอง(Schuh-Hofer และคณะ, 2001) แต่บทบาทโดยตรงของโปแตสเซียมต่อ

การตอบสนองของหลอดเลือดสมองระหว่างปรากฏการณ์ CSD นั้นยังไม่ทราบชัดเจน ตัวกลางสำคัญที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวมักจะเกิดจากตัวกลางที่ไปกระตุ้น perivascular neurons มากกว่าผลจากโปแตสเซียมที่ซึมผ่านไปยัง vascular smooth muscle อย่างไรก็ตาม โปแตสเซียมก็น่าจะมีผลต่อการตอบสนองของ cerebral blood flow ระหว่างปรากฏการณ์ CSD ได้ 2 ทาง คือ 1. ระดับโปแตสเซียมที่เพิ่มสูงขึ้นระหว่างปรากฏการณ์ CSD น่าจะไปกระตุ้น perivascular neurons และในที่สุดจะส่งผลโดยอ้อมไปเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองของหลอดเลือดสมอง 2. ระดับโปแตสเซียมที่เพิ่มสูงขึ้นระหว่างปรากฏการณ์ CSD อาจจะไปลดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ dilator agents เช่น acetylcholine ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจาก parasympathetic nerves (Ayata และคณะ, 2004)

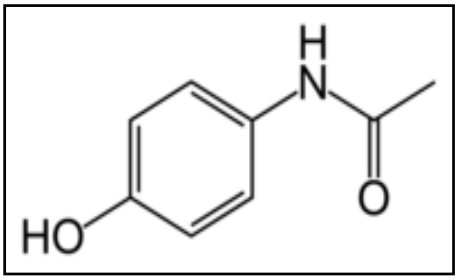
จากการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองโดยการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD พบว่า การทำให้หลอดเลือดขยายตัวอาจจะมาจาก glutamate NMDA รวมทั้งการผลิต Nitric oxide จาก cortical neurons และ/หรือจาก astroglia (Busija และคณะ, 2007) Nelson และ Colleague (Filosa และคณะ, 2006; Straub และ Nelson, 2007) ได้ทำการศึกษาพบว่า glutamate ที่เพิ่มมากขึ้นภายในเซลล์จะไปกระตุ้น metabotropic glutamate receptor บน astrocytes ทำให้ Ca^{+} ใน cytosol เพิ่มมากขึ้นและจะแพร่ผ่านไปยัง astrocytic endfeet ซึ่ง astrocytic endfeet นี้จะอยู่ใกล้กับ pial vessels และ parenchymal vessels

4. <u>ตอบสนองต่อreactive oxygen species ที่เพิ่มขึ้น</u>

มีการศึกษาวิจัยเพียงไม่กี่งานวิจัยที่ศึกษาบทบาทของ ROS และ adenosine ในกระบวนการเกิด hyperemia ในสมอง ระหว่างปรากฏการณ์ CSD โดยให้ผลไปในด้านลบ โดยพบว่า ROS scavengers ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงปรากฏการณ์ CSD ที่ไปเหนี่ยวนำการไหลเวียนเลือดในหนู rat และกระต่ายได้ (Duckrow และ Beard, 1992 ; Meng และ Busija, 1996) ถึงแม้ว่าการศึกษาบทบาทของ ROS ในกระบวนการการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองหรือ CBF ระหว่างปรากฏการณ์ CSD นั้นมีการศึกษาไม่มากแต่คาดว่า ปรากฏการณ์ CSD น่าจะทำให้เซลล์ถูกทำลายโดยไปกระตุ้นให้มีการสร้าง ROS มากขึ้น แต่ผลการศึกษาในหลอดเลือดสมองพบว่า ระดับของ ROS ที่เพิ่มมากขึ้นระหว่างปรากฏการณ์ CSD นั้นก็ไม่เพียงพอที่จะไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง vascular tone ของหลอดเลือดสมองได้ (Nagy และคณะ, 2004)

พาราเซตตามอล

พาราเซตตามอล หรืออีกชื่อหนึ่งว่าอะเซตตามิโนเฟน (acetaminophen, N-acetyl-para-aminophenol) ถูกค้นพบในปี1948 โดย Brodie และ Axelrod โดยค้นพบว่าเป็นอนุพันธ์ของ phenacelin และ acetanilide (Brodie และ Axelrod, 1948) โดยพาราเซตตามอลมีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างของยา paracetamol

พาราเซตตามอลมีคุณสมบัติเหมือนแอสไพรินคือ เป็นยาลดไข้และบรรเทาปวดที่นิยมใช้กันมานาน (ตั้งแต่ปี 1893) และในบางครั้งก็สามารถใช้ยานี้ร่วมกับยาอื่นในการรักษาอีกด้วย คุณสมบัติของพาราเซตตามอลในการลดปวดนั้น สามารถใช้เป็นยาระงับปวดได้จากหลายสาเหตุ เช่น อาการปวดหัว ปวดฟัน ปวดกล้ามเนื้อ รวมถึงอาการปวดประจำเดือน

สาเหตุที่พาราเซตตามอลเป็นยาลดปวดที่นิยมใช้ในปัจจุบันมาก เนื่องจากเป็นยาที่มีราคาไม่แพง สามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยาทั่วไป โดยไม่ต้องใช้ใบสั่งยาจากแพทย์ รวมทั้งการที่ไม่มีผลข้างเคียงของการใช้ยา และคุณสมบัติที่ไม่มีผลข้างเคียงในการระคายเคืองกระเพาะ คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้พาราเซตตามอลถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางทั้งในการใช้เป็นยาลดปวด และในการใช้เป็นยาลดไข้อย่างแพร่หลายทั่วไป

กลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอล

นักวิจัยหลายกลุ่มได้พยายามศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยานี้ ซึ่งพอจะสรุปได้ว่ายาพาราเซตตามอลนั้นมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสร้าง NO (Bjorkman และคณะ , 1994, Bujalska และคณะ, 2004) ออกฤทธิ์ผ่าน substance P หรือ N-methy-D aspartate (NMDA) ฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับซีโรโตนิน (Pickering, 2008) และการออกฤทธิ์ผ่าน canabinoid receptor (Hogestatt และคณะ, 2005; Ottani และคณะ, 2006)

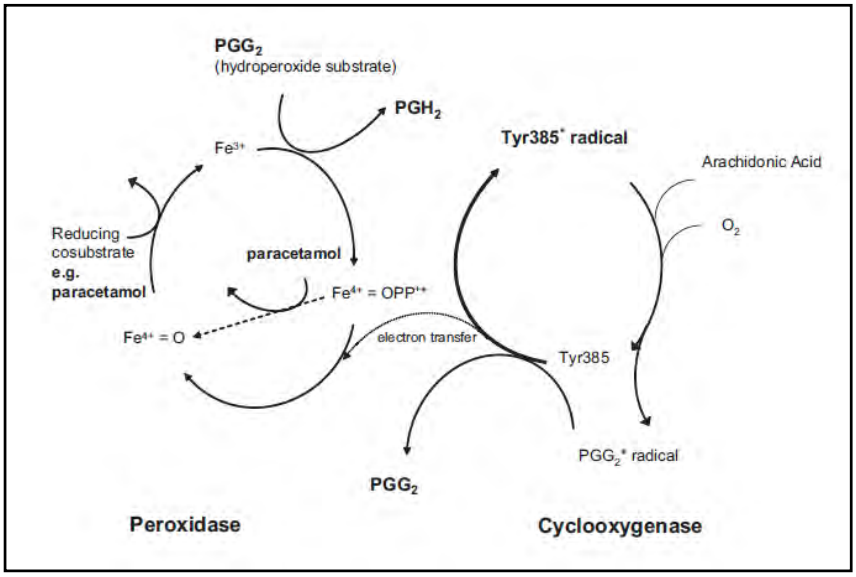
กลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับซีโรโตนิน

จากการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองบ่งชี้ว่าฤทธิ์ในการลดปวดของยาพาราเซตตามอลนั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการควบคุมความเจ็บปวดจากระบบประสาทส่วนกลางโดยซีโรโตนิน โดยมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_3 (Tjolsen และคณะ, 1991; Alloui และคณะ, 2002) ซึ่งผลในการวิจัยในคนก็ให้ผลที่สนับสนุนต่อทฤษฎีนี้ โดยพบว่าการที่ฉีด tropisetron หรือ granisetron ซึ่งเป็น 5-HT_3 receptor antagonist ร่วมกับยาพาราเซตตามอล จะสามารถยับยั้งผลในการลดปวดของยานี้ได้ทั้งหมด (Pickering และคณะ, 2006) และจากการศึกษาในปี 2007 (Garrone และคณะ, 2007) พบว่า ผลของยาพาราเซตามอลที่ให้ในหนู rat ที่มีความผิดปกติของระบบประสาทก็ให้ผลสอดคล้องกัน

ผลการทดลองต่างๆ เหล่านี้ยืนยันว่ากลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลนั้นน่าจะมีส่วนที่ออกฤทธิ์ผ่านการกระตุ้นต่อระบบซีโรโตนิน ซึ่งถือเป็นระบบที่ควบคุมความเจ็บปวดที่สำคัญระบบหนึ่ง

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ Prostaglandin H2 synthetase

เอนไซม์ Prostaglandin H2 synthetase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการเปลี่ยน arachidonic acid ให้เป็น prostaglandin H2 (PGH2) โดยผลการวิจัยแสดงว่า ยาพาราเซตตามอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PGH2 synthetase ในบริเวณเร่ง pox site โดยการรบกวนต่อการสร้าง Fe^{4+}=OPP ซึ่งเป็น co-substrate ดังอธิบายในภาพที่ 3 (Anderson และคณะ. 2008) นอกจากนี้ยังมีอีกหลายการวิจัย ที่สนับสนุนว่า ยาพาราเซตตามอลสามารถยับยั้งเอนไซม์ PGH2 synthetaseได้ (Boutaud และคณะ, 2002; Schidknecht และคณะ, 2008)



ภาพที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PGH2 synthetase บริเวณ pox site (Anderson และคณะ, 2008)

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-3

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-3 นั้นพบได้มากในระบบประสาทส่วนกลาง และผลการศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลโดย Flower และ Vane ในปี 1972 ที่พบว่ายาพาราเซตตามอลสามารถยับยั้ง COX activity brain homogenate ได้มากกว่าในม้าม ก็สนับสนุนทฤษฎีนี้ (Flower และ Vane, 1972)

ในปี 2002 Chandrasekharan และคณะ ได้ทำการศึกษาในสุนัขและพบว่าเอนไซม์ COX-3 ในบริเวณ cerebral cortex ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเหมือนกับเอนไซม์ COX subtype อื่นๆ และผลการทดลองยังพบอีกว่ายาพาราเซตามอลสามารถยับยั้งเอนไซม์ COX-3 นี้ได้ (Chandrasekharan และคณะ, 2002) อย่างไรก็ดีการศึกษาวิจัยต่อมาในคนได้บ่งชี้ว่าเอนไซม์ COX-3 ในคนและในหนู mice นั้นมีองค์ประกอบของโปรตีนที่แตกต่างไปจาก PGHS-1 หรือ PGHS-2 และไม่มี COX activity ซึ่งทำให้บทบาทของ COX-3 ในการเกิดอาการไข้และอาการปวดและในหนู mice ยังไม่สามารถยืนยันได้ (Bertolini และคณะ, 2006; Kis และคณะ, 2005; Anderson และคณะ, 2008)

ในปี 2005 Botting และ Ayoub ได้ทำการศึกษาในหนู mice ซึ่งผลสนับสนุนว่า กลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตามอลในการบรรเทาปวดและลดไข้นั้นออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-3 (แ Botting และ Ayoub, 2005)

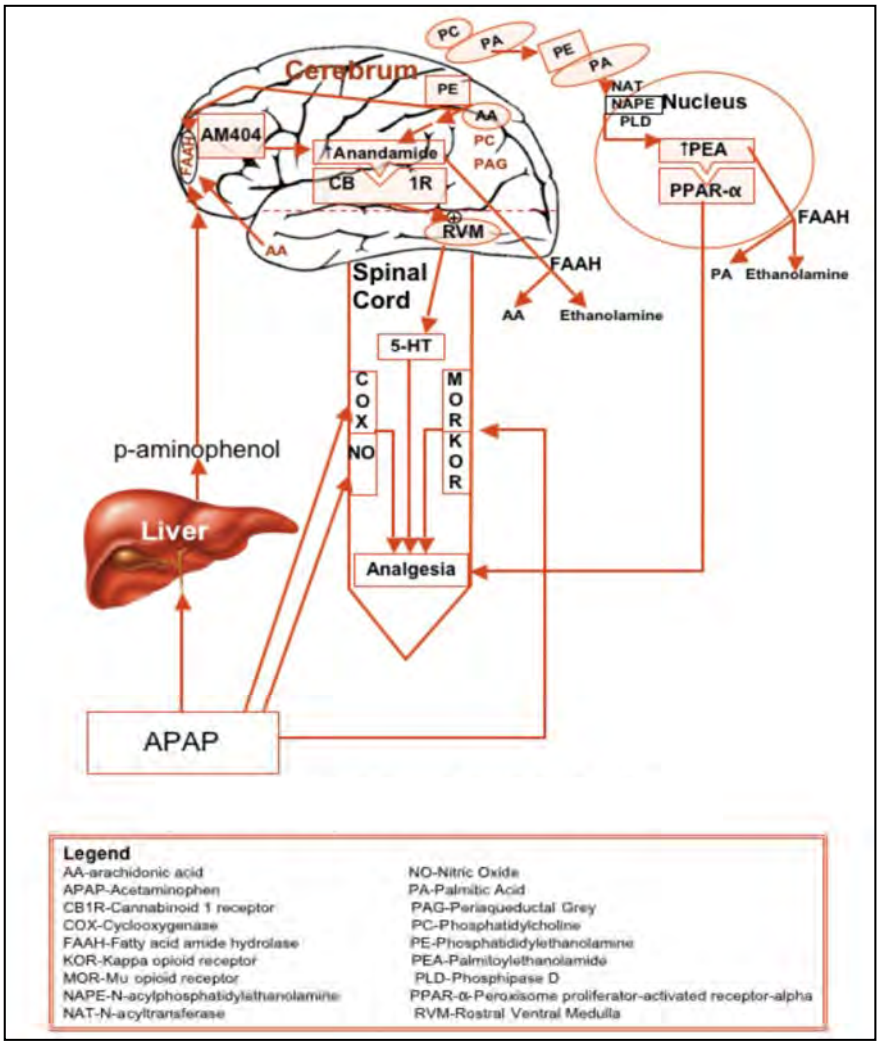
กลไกการออกฤทธิ์ผ่านตัวรับ Canabinoid

ผลการศึกษาวิจัยของคณะวิจัยหลายคณะพบว่า Fatty acid amide N- arachidonoyl phenolamine (AM404) ซึ่งเป็น active metabolite ของพาราเซตามอล นั้นมีบทบาทเหมือนกับ canabinoid (CB) ในการลดปวดและลดอุณหภูมิของร่างกาย (Bisogno และคณะ, 2008; Guhring และคณะ, 2002)

และเป็นที่ทราบกันดีว่า พาราเซตามอล นั้นจะถูกขับออกทางตับ ในรูปของ glucuronoid sulfate conjugate แต่ผลจากการศึกษาวิจัยในสมองและไขสันหลังของหนูทดลองพบว่า พาราเซตามอลสามารถถูก deacetyllated ไปเป็น p-aminophenal ได้ด้วย ซึ่ง p-aminophenal นี้สามารถ conjugate กับ arachidonic acid โดยเอนไซม์ fatty acid amide hydrolase ให้เป็น AM404 ได้ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า AM404 นั้นเป็นตัวกระตุ้นต่อตัวรับ vanilloid subtype 1 (TRPV1) (Zygmunt และคณะ, 2000) ซึ่ง TRPV1 นั้นเป็น ligand ต่อ CB1 receptor และ เป็นตัวยับยั้งต่อการนำ anandamine เข้าสู่เซลล์ ซึ่งจะทำให้ระดับของ CB ในเซลล์เพิ่มขึ้น และในปี 2005 Hogestatt และคณะได้ทำการศึกษาผลของยาพาราเซตามอลในสมอง ตับ ไขสันหลังและ dorsal root ganglion ของหนูก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น (Hogestatt และคณะ, 2005)

กลไกการออกฤทธิ์ ผ่านไนตริกออกไซด์

NO จัดเป็นสารสื่อประสาทที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวด (Ovadia และคณะ, 1995 ; Inoue และคณะ, 1998) และยาพาราเซตามอลรวมทั้ง NSAIDs มีผลในการยับยั้งการปวดโดยมีผลยับยั้งต่อการกระตุ้นตัวรับชนิด NMDA ในบริเวณไขสันหลังซึ่งเชื่อว่าผลในการลดปวดนี้เป็นผลเนื่องมาจากการยับยั้งการสร้าง NO ในบริเวณไขสันหลัง (Bjorkman และคณะ, 1995) อย่างไรก็ตาม Herrero และคณะ ได้รายงานในปี 2003 ว่า NO ที่หลั่งออกมาจากการได้รับ nitroparacetamol นั้นมีปริมาณน้อย และมีผลต่อการลดปวดในระดับ central pain mechanism น้อยแต่สามารถมีผลในการยับยั้งการเกิดการอักเสบได้ (anti-inflammation effect) (Herrero และคณะ, 2003) และจากงานวิจัยในปี 2004 ของ Ito และคณะ พบว่าในหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลมีการหลั่งของ NO ออกมาจาก iNOS และ NO เป็นตัวเหนี่ยวนำให้ parenchymal cell เกิดการบาดเจ็บและรบกวนการไหลเวียนของเลือดภายในตับ (Ito และคณะ, 2004) ดังนั้นกลไกในการลดปวดของยาพาราเซตตามอลอันเนื่องมาจากผลการยับยั้งต่อการสร้าง NO จึงยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้



ภาพที่ 4 กลไกการออกฤทธิ์บรรเทาปวดของยาพาราเซตตามอล (Smith, 2009)

การศึกษาวิจัยผลของยาพาราเซตตามอลที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดสมอง

จากการศึกษาวิจัยผลของยาพาราเซตามอลพบว่าผลการวิจัยส่วนใหญ่บ่งชี้ถึงผลของยานี้ในด้านการปกป้องเซลล์ เช่น ผลงานวิจัยในปี 2009 ของ Tripathy และ Grammas ซึ่งได้ทำการศึกษาในเซลล์หลอดเลือดสมอง โดยการ pre-treatmemt เซลล์หลอดเลือดสมองด้วยยาพาราเซตามอลและใช้ minadione กระตุ้นเซลล์ให้เกิดภาวะ oxidative stress พบว่า ยาพาราเซตามอลสามารถป้องกันหลอดเลือดสมองจากภาวะ oxidative stress ได้ (Tripathy และ Grammas, 2009a) และผลการศึกษาในเซลล์ประสาทโดยทีมคณะวิจัยเดียวกันพบว่ายาพาราเซตามอลสามารถลดการหลั่งสาร pro-inflammatory cytokines จากเซลล์ประสาทและป้องกันเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress ได้ (Tripathy และ Grammas, 2009b) จากการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองของ Rork และคณะ พบว่ายาพาราเซตามอลสามารถลดการเกิด peroxynitrite โดยลดการทำงานของ matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) ผ่านทาง troponin I (TnI) ในกล้ามเนื้อหัวใจของหนูตะเภาได้ (Rork และคณะ, 2006) และการศึกษาในหนู rat ที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดภาวะสมองขาดเลือด (cerebral ischemia) พบว่า ยาพาราเซตามอลสามารถลดการเสียหายของเนื้อเยื่อสมอง ลดการบวมและลดการสูญเสีย membrane potential ของไมโตคอนเดรียได้ และยังช่วยลดการทำงานของ caspase-9 ซึ่งถือเป็นการยับยั้งการเกิด apoptosis (Baliga และคณะ, 2010) นอกจากนี้จากการศึกษาวิจัยในคน พบว่า ยาพาราเซตามอลสามารถป้องกันการเกิด lipid peroxidation และการ รั่วของโปแตสเซียมจากเม็ดเลือดแดงจากการกระตุ้นด้วย t-butylhydroperoxide และ hydrogen peroxide ลงได้ (Van der Zee, 1988) ซึ่งผลของยาพาราเซตตามอลในการป้องกันเซลล์ดังกล่าวล้วนแล้วแต่เป็นผลจากการใช้ยาพาราเซตามอล อย่างเฉียบพลัน (acute effect) ทั้งสิ้น

Paracetamol and Inflammation

กระบวนการอักเสบมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา รวมถึงความเสียหายของเนื้อเยื่อเมื่อได้รับอันตรายจากยา acetaminophen การทดสอบยาชนิดนี้ที่ dose สูงในหนู mice มีผลทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อบริเวณ centrilobular ซึ่งสัมพันธ์กับผลการย้อมการแสดงออกของ inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ nitrotyrosine (James และคณะ, 2003) และยังพบว่า IL-1β มีการหลั่งออกมาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และสามารถเหนี่ยวนำ iNOS ได้ ซึ่งตรงข้ามกับผลการศึกษาในหนู mice ที่มีภาวะพร่องทั้ง IL-10 และ IL-4 ที่พบว่ามีความไวสูงมากต่อความเป็นพิษของยา acetaminophen โดยมีระดับของ glutathione ในตับลดต่ำลง แต่มีระดับของ pro-inflammatory cytokines เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก เช่น TNFα, MIP-1α และ IL-6 ซึ่งบทบาทของสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ ยืนยันได้จากการใช้ neutralizing antibodies ต่อ IL-6 ที่ให้ผลการศึกษาในทางตรงข้าม คือ หนูมีความไวต่อความเป็นพิษของยา acetaminophen เพิ่มขึ้นทันที (Bourdi และคณะ, 2007) ดังนั้นปริมาณของโปรตีนกลุ่ม pro-inflammatory cytokines จะถูกหลั่งมากขึ้น เมื่อได้รับยาชนิดนี้ที่ dose สูง

แต่มีบางงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า ยา acetaminophen ที่ dose ต่ำ สามารถลดอันตรายที่เกิดจาก pro-inflammatory cytokines ที่หลั่งออกมาจากเซลล์เพาะเลี้ยง brain endothelial cells ได้ (Tripathy และ Grammas, 2009a) ซึ่งให้ผลในแบบเดียวกับการศึกษาในเซลล์ประสาท (neurons) เพาะเลี้ยง ที่สามารถลดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ได้ โดยการลด transcription factor NF-kB ในกระบวนการอักเสบ (Bisaglia และคณะ, 2002) เช่นเดียวกับข้อมูลที่ยังไม่ได้รับการตีพิมพ์ที่ยืนยันว่า ยา acetaminophen ที่ dose ต่ำ สามารถลดการหลั่ง pro-inflammatory cytokines จากเซลล์ประสาทได้ (Tripathy และ Grammas, 2009b) และยังช่วยแก้ไขเรื่องความสามารถในการรู้คิด (cognitive performance) จากผลการทดสอบ Morris water maze ได้ (Ishida และคณะ, 2007)

สรุป :

จากการศึกษาทั้งหมดบ่งชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาท (CGRP) ระดับของอนุมูลอิสระ และระดับของสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบภายในสมอง ล้วนมีผลต่อการคงสภาพและการทำงานอย่างปกติ ของ BBBได้ และจากการศึกษาวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องทั้งหมด บ่งชี้ว่ายาพาราเซตตามอลมีฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและยับยั้ง สารเคมีหลายชนิดทีมีบทบาทในการควบคุม BBB integrity การได้รับยานี้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานอาจมีผลกระทบต่อทั้งระบบประสาท และระบบหลอดเลือดสมอง ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของการหลั่งสารสื่อประสาท หรือตัวรับสารสื่อประสาทต่างๆ และมีผลเพิ่มระดับของอนุมูลอิสระ และระดับของสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบภายในสมอง ซึ่งล้วนแล้วแต่มีผลต่อการคงสภาพของ BBB ได้

โครงการการวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาผลกระทบของยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการหลั่งสารเคมีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการอักเสบ และการเปลี่ยนแปลงเซลล์ที่ปันองค์ประกอบของ BBB เพื่อจะให้ได้ความรู้เกี่ยวกับผลเสียของการได้รับยาพาราเซตตามอล อย่างเรื้อรังต่อ หลอดเลือดสมอง

วิธีดำเนินการวิจัย (Materials & Method)

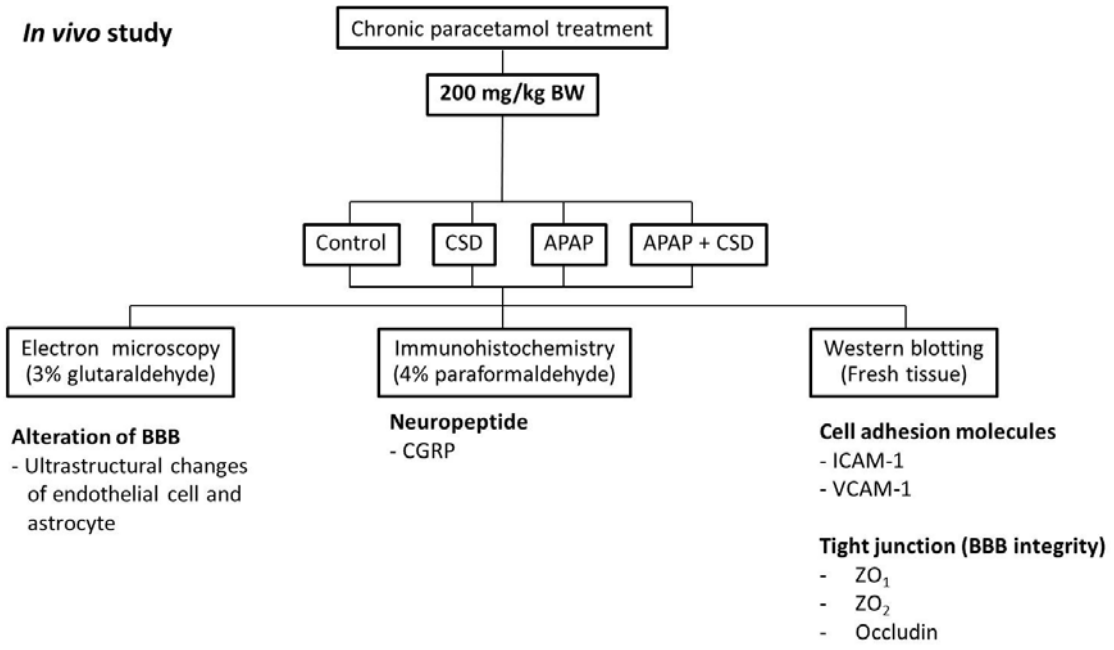
การวิจัยในปีแรกประกอบด้วยการศึกษาย่อยดังนี้

1. การศึกษาย่อยที่ 1

ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่ความเข้มข้น 200 mg/kg bw ต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB การเปลี่ยนแปลงของ tight junction protein ชนิดต่างๆ (ZO-1, ZO-2, ocludin) ในสมองส่วน cerebral cortex เมื่อถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน โดยศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับกระตุ้น

การเตรียมสัตว์ทดลอง

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้หนูพันธุ์ Wistar เพศผู้ โดยแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น4 กลุ่มย่อย ดังแสดงตามรูปที่ 5



ภาพที่ 5 แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง

การแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง

1. กลุ่มควบคุม (n =10)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติ และจะได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในปริมาณ 1 ml เป็นเวลา 30 วัน ทุกวันก่อนเริ่มการทดลอง

หลังจากนั้นจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณ คือ บริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride (3 mg) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ cortical spreading depression และในบริเวณ frontal bone เพื่อทำการสอด glass microelectrode เพื่อตรวจเช็ค activity ของเซลล์

2. กลุ่มควบคุมที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (n = 10)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติ และจะได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในปริมาณ 1 ml เป็นเวลา 30 วัน ทุกวัน ก่อนเริ่มการทดลอง และจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณ คือ บริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง **potassium chloride (3 mg)** ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน และในบริเวณ frontal bone เตรียม เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarlization shift (DC shift)

3. กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอล (n =20)

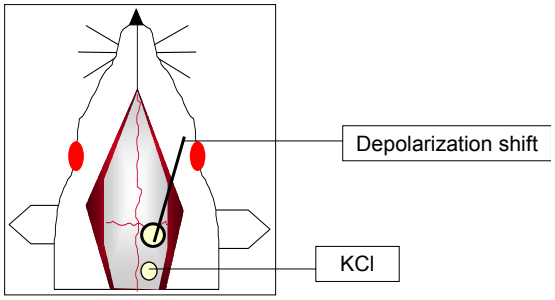
สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติ และจะได้รับการฉีดยาพาราเซตตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg bw เป็นเวลา 30 วัน ทุกวันก่อนเริ่มการทดลอง และจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณ คือ บริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride (3 mg) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ cortical spreading depression และในบริเวณ frontal bone เพื่อทำการสอด glass microelectrode เพื่อตรวจเช็ค activity ของเซลล์

4. กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลและได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (n = 20)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติ และจะได้รับการฉีดยาพาราเซตตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection)ในความเข้มข้น 200 mg/kg bw เป็นเวลา 30 วัน ทุวันก่อนเริ่มการทดลอง และจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณ คือ บริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง **potassium chloride (3 mg)** ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชันและในบริเวณ frontal bone เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarlization shift (DC shift)

ขั้นตอนการผ่าตัดเตรียมสัตว์ทดลองและเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน

ทำการศึกษาในหนูทดลองทุกกลุ่มโดยสัตว์ทดลองจะถูกนำมาทำให้สลบโดยใช้ sodium pentobarbital ขนาด 60 mg/kg bw ฉีดเข้าช่องท้อง หลังจากสัตว์สลบแล้วจะทำการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณตามที่แสดงไว้ในรูปที่ 6 โดยบริเวณ parietal bone เป็นบริเวณที่เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) หรือ สำหรับกลุ่มควบคุมใช้การวาง sodium chloride แทน potassium chlorideโดยในการเจาะกะโหลกศีรษะทั้งหมดจะใช้เทคนิค saline cooled drill ในการเจาะเพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบจากการเจาะ และความร้อนจากการ drill ต่อเซลล์ประสาท



ภาพที่ 6 บริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride (sodium chloride) และบริเวณที่สอด glass microelectrode

ขั้นตอนการตรวจเช็ค DC. Shift

หลังจากกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน โดยการวาง KCl ลงบนรูเปิดสมองแล้ว จะทำการวัดการเกิด depalorization shift ที่เกิดจากปรากฏการณ์ CSD โดยสอด glass microelectrode (เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 μm) ที่ภายในบรรจุ Nacl 4 M และมี ลวด Ag/AgCl สอดเป็นแกนกลางด้านใน โดยในการสอด glass microelectrode จะถูกควบคุมด้วย micromamipulater ควบคุมให้ electrode สอดลึกลงไปในเนื้อสมองให้มีความลึก 500 μm ส่วนบริเวณผิวหนังส่วนหลังของหนูจะถูกโกนขนและวาง Ag /AgCl Reference electrode สัญญาณที่ได้จาก glass microelectrode จะถูกผ่านเข้าเครื่อง amplifier เพื่อเปลี่ยนสัญญาณจาก analog แปลงเป็นสัญญาณ digital โดยใช้ data acquisition system (Biopac physiograph MP 100 A, Santa Barbara) สัญญาณไฟฟ้าที่ได้จะถูกบันทึกและ analyze โดย computer software Acknowledge version 3.4 (BioPac)

กระบวนการ perfusion เพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับ immunohistochemistry

หลังจากวาง potassium chloride หรือ sodium chloride เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ลงบนผิวสมอง หนูทดลองทุกตัวจะถูกทำการผ่าเปิดสัตว์ทดลอง ตั้งแต่ระดับช่องท้องจนถึงหัวใจ เจาะให้เข็มแทงผ่านตั้งแต่ส่วนยอดหัวใจ ผ่านหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) แล้วจึง perfuse ด้วย PBS ปริมาตรทั้งหมด 250 มิลลิลิตร ลงในท่อยางที่ต่อกับเข็มที่แทงไว้แล้ว ทำการ perfuse สัตว์ทดลองจนกระทั่ง PBS หมด จึงทำการ perfuse ต่อด้วย 4% paraformaldehyde ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผ่าตัดเปิดกะโหลกศีรษะ แยกฝากะโหลกศีรษะออก เก็บส่วน trigeminal ganglion ออกมา นำชิ้นเนื้อที่ได้มาทำการ post-fixation โดยการแช่ใน 4% paraformaldehyde ใน 0.1 M PBS (อุณหภูมิ 4ºC) เก็บไว้ข้ามคืน จากนั้นจึงนำมา dehydrate ลงในแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (70-100%) ก่อนฝังลงใน paraffin ตัด section ที่ความหนา 3 μm (longtitudinal section) ด้วยเครื่องไมโครโตมเพื่อเตรียมย้อมด้วย immunohistochemistry

Immunohistochemistry เพื่อศึกษาการแสดงออกของ CGRP

ทำการศึกษาในหนูทุกกลุ่ม โดยนำ slide มาทำการ deparaffinization แล้วเติม antigen retrieval (citrate buffer pH 6) ลงไป หลังจากนั้นทำการ block enodogenous peroxidase และ non-specific binding โดยใช้ 3%H_2O_2 และ normal horse serum ตามลำดับ บ่ม section ด้วย primary antibody ต่อ CGRP (1:6,000; Sigma, USA) ที่ 37ºC นาน 30 นาที ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นใช้ชุด ultraView Universal DAB Detection Kit (Ventana, USA) นำชิ้นเนื้อที่ทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วมาล้างและติดบน slide และปิดด้วย cover slip นำ slide ที่ได้มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ เซลล์ที่มี immunoreactivity ต่อแอนติบอดี้ที่ศึกษาจะติดสีน้ำตาลเข้ม หลังจากนั้นศึกษาตำแหน่งและการกระจายของเซลล์ immunoreactivity แล้วทำการนับจำนวนเซลล์ในบริเวณ TG ในหนูทุกกลุ่ม

กระบวนการ เตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

หลังจากวาง potassium chloride หรือ sodium chloride ลงบนผิวสมองเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เนื้อสมองในส่วน frontal cortex จะถูกแยกออกมาเพื่อเตรียมศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชิ้นเนื้อ frontal cortex ที่ตัดออกมาจะถูกตัดแบ่งเป็นชิ้นเล็ก ขนาด 1x1 ตารางมิลลิเมตร ทำการแช่ชิ้นเนื้อทั้งหมดลงในสารละลาย 3% glutaraldehyde ข้ามคืน หลังจากนั้นชิ้นเนื้อจะถูกถ่ายลงในสารละลาย osmium tetroxide 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อตัวอย่าง (dehydration) โดยการผ่าน alcohol ในความเข้มข้นต่างกันลงในชิ้นเนื้อตัวอย่าง (จาก 70% alcohol ถึง 100% alcohol) จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ปราศจากน้ำแล้วมาฝังในเบ้าพลาสติก (embedding mold) ด้วยสารละลายพลาสติก (epon 812) หลังจาก

นั้นตัวอย่างทั้งหมดจะถูกนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 คืน นำบล็อคตัวอย่างมาตัดให้มีความหนา 1 μm แล้วนำไปตรวจหาบริเวณที่มีเส้นเลือด capillary หลังจากนั้นทำการตัดตัวอย่างซ้ำเฉพาะบริเวณที่เลือกไว้ โดยทำการตัดชิ้นเนื้อให้มีความหนา 80-90 nm ชิ้นเนื้อที่ถูกตัดจะถูกวางบนตาข่ายทองแดงขนาดเล็ก (copper grid) แล้วจึงถูกนำไปย้อมด้วยสารละลายโลหะหนัก 2 ชนิด คือ uranyl acetate และ lead citrate นำชิ้นเนื้อที่ได้ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน เปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของหลอดเลือดในสัตว์ทดลองทุกกลุ่ม โดยทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนของ microvilli จำนวนของ pinocytic vesicle การเปลี่ยนแปลงรอยเชื่อมระหว่างเอนโดทีเลียมเซลล์และเซลล์แอสโตรไซต์ (astrocytic foot plate) ว่ามีภาวะการบวมหรือโป่งพองหรือไม่

การสกัดโปรตีนสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Western Blotting

หลังจากวาง potassium chloride หรือ sodium chloride ลงบนผิวสมองเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แยกสมองของสัตว์ทดลองส่วน cerebral cortex มาล้างด้วย ice-cold Tris buffer (5mM Tris-HCl buffer, pH 7.4) ก่อนแช่ใน liquid nitrogen จนแข็ง แล้วนำมาบดให้ละเอียดใน RIPA lysis buffer ที่มี protease/phosphatase inhibitor ลงไปเพื่อ resuspend แล้วนำไป centrifuge ที่ 12,000xg อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที เก็บส่วน supernatant ที่ได้ไว้ที่ -80 ºC เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

วิเคราะห์ปริมาณ ICAM-1, VCAM-1, Zona ocluden-1(ZO-1), Zona ocluden-2 (ZO-2) และ occludin โดยวิธี Western blotting

นำโปรตีน 10-60 μg/μl ผสมกับ 4x loading dye ต้มที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 10 นาที ก่อนทำการแยกโปรตีนด้วย 7.5-10% sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS–PAGE) โดยใช้ความต่างศักย์ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 90-120 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการถ่ายโปรตีนจากเจลลงสู่ nitrocellulose membrane ที่ 350 mAmp นาน 90 นาที ด้วยเครื่อง Mini Trans-Blot® Electrophoresis Transfer Cell (BioRad, U.S.A) ทำการ block ส่วน non-specific binding บนแผ่นเมมเบรนด้วย 5% BSA ใน TBST ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ตามด้วย primary antibody ต่อ ICAM-1, VCAM-1, ZO-1, ZO-2 และ occludin ผสมใน 5% BSA ใน TBST ที่ 4 °C นานข้ามคืน เมื่อครบเวลาล้าง TBST 3 ครั้ง แล้วจึงบ่มต่อด้วย horseradish-peroxidase-conjugated secondary antibody ผสมใน 5% BSAใน TBST เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำแผ่นเมมเบรนที่มีโปรตีนให้ผลบวกไปตรวจผลด้วย SuperSignal® West Pico Chemiluminescent Substrate Kits (Pierce, U.S.A)

ผลการศึกษา (Results)

ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่ความเข้มข้น 200 mg/kg bw ต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ cell adhesion molecules และ tight junction protein ชนิดต่างๆ (ZO-1, ZO-2, occludin) รวมถึงการหลั่งของสารสื่อประสาท (CGRP) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน โดยศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับกระตุ้น

1. ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนโดทีเลียมในระดับ ultrastructure

ผลการทดลองพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง โดยพบว่า microvilli มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับการกระตุ้นให้สมองใหญ่เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 7 นอกจากนี้ ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังก็ทำให้บริเวณ astrocytic foot plate เกิดการบวมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่อร่วมกับการได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 7

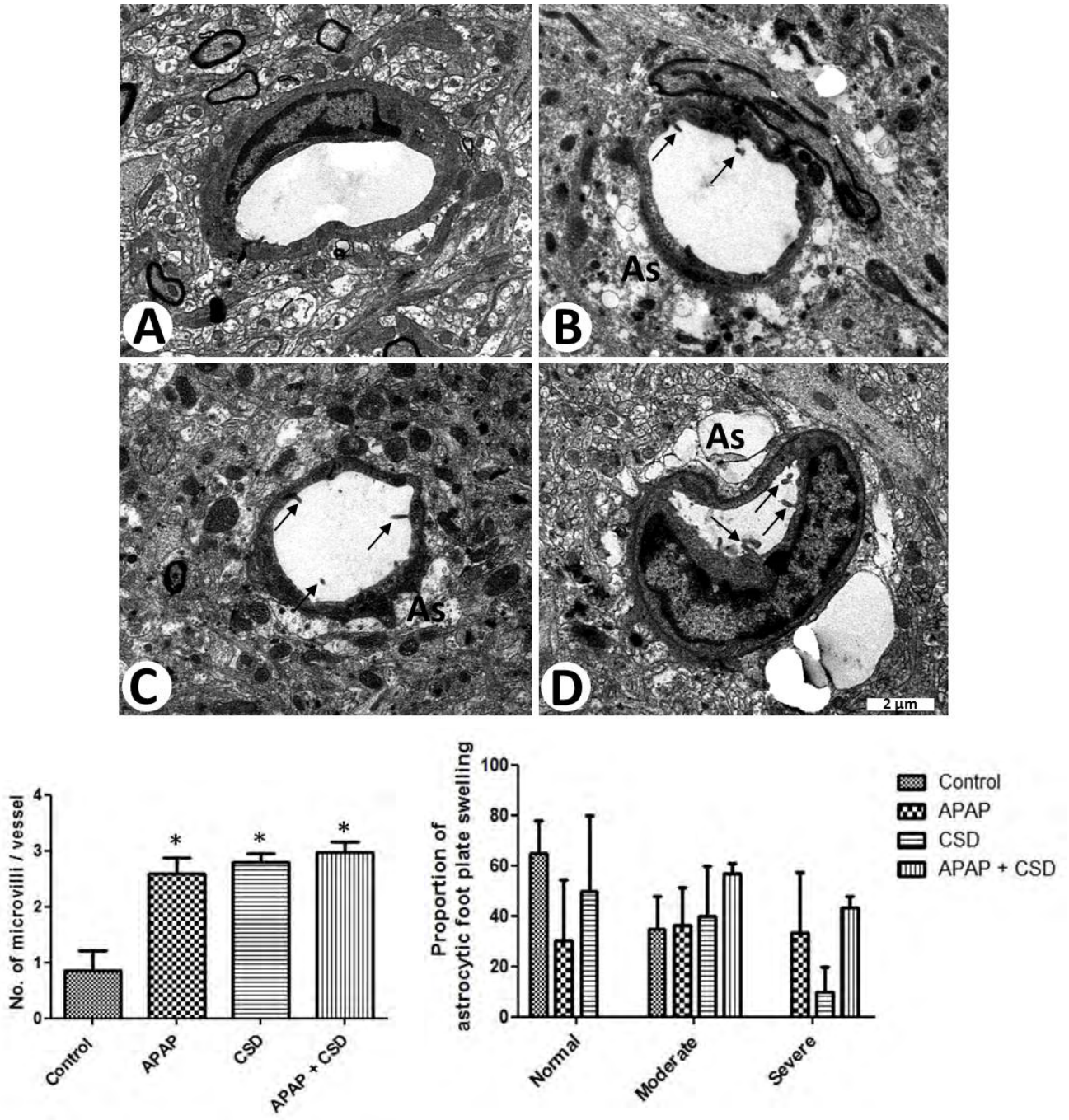
ตารางที่ 2 แสดงผลของการได้รับพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวน microvilli และ pinocytic vesicles ในหลอดเลือดสมองส่วน capillary (mean ± S.E.M.)

No. of microvilli/vessel			
Control	APAP	CSD	APAP + CSD
0.86±0.35	2.60±0.27	2.80±0.15	2.97±0.18

No. of pinocytic vesicles /μm^2			
Control	APAP	CSD	APAP + CSD
17.16±0.48	30.15±2.25	23.35±0.55	33.54±1.82

ตารางที่ 3 แสดงผลของการได้รับพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อค่าเฉลี่ยสัดส่วนระดับการบวมของ astrocytic foot plate

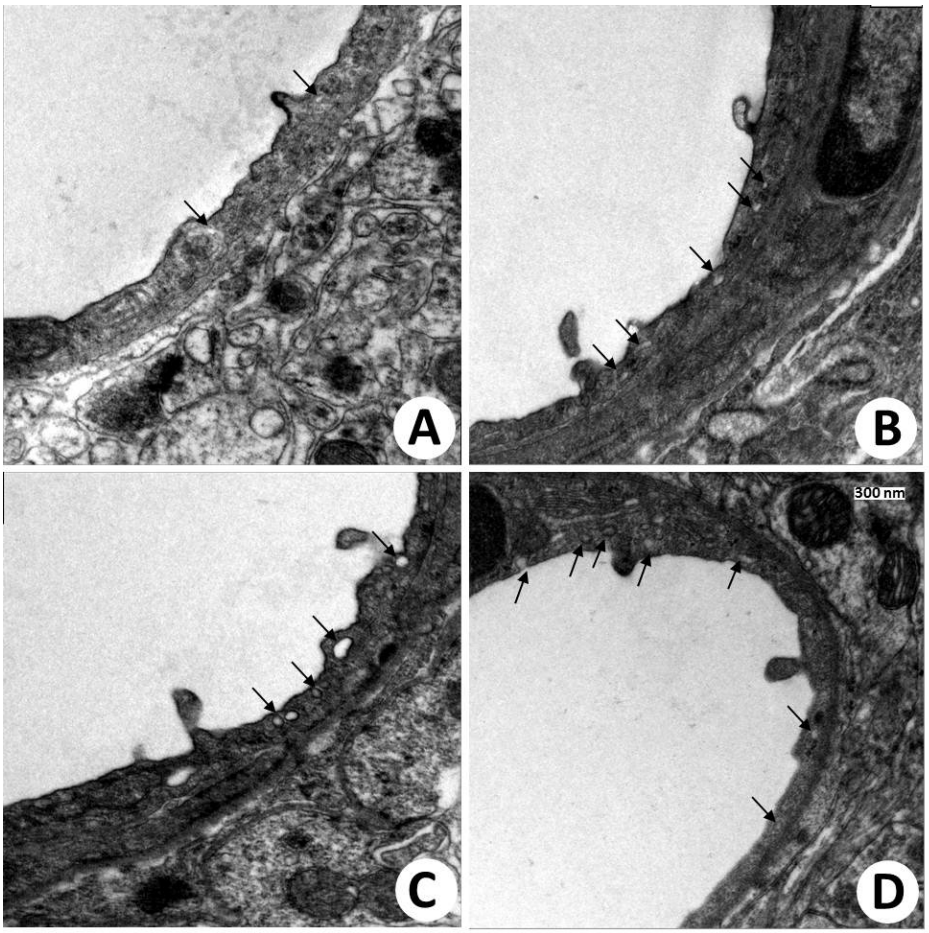
Proportion of astrocytic foot plate swelling (%)			
ระดับ / กลุ่ม	Normal	Moderate	Severe
Control	65	35	0
APAP	30.37	36.30	33.33
CSD	50	40	10
APAP + CSD	0	56.67	43.33

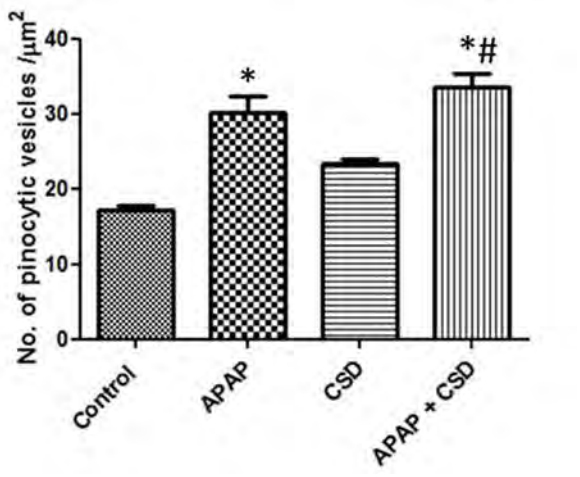


ภาพที่ 7 ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวน microvilli ของหลอดเลือดสมอง โดยพบว่า (บน) จำนวน microvilli (ลูกศร) เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (A) ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังเพียงอย่างเดียว (B) กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (C) และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (D) เช่นเดียวกับการบวมของ astrocytic foot plate (As) (ล่างซ้าย) กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของจำนวน microvilli ที่หลอดเลือด capillary (* $P < 0.05$ compared with control group)

(ล่างขวา) กราฟแสดงสัดส่วนของระดับการบวมของ astrocytic foot plate

ผลการทดลองยังพบว่า กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังทั้งที่มีการกระตุ้นและไม่มีการกระตุ้นให้สมองใหญ่เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน และกลุ่มที่มีการกระตุ้นให้สมองใหญ่เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน เพียงอย่างเดียว เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง โดยพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจำนวน pinocytic vesicles มากกว่ากลุ่มควบคุม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 8

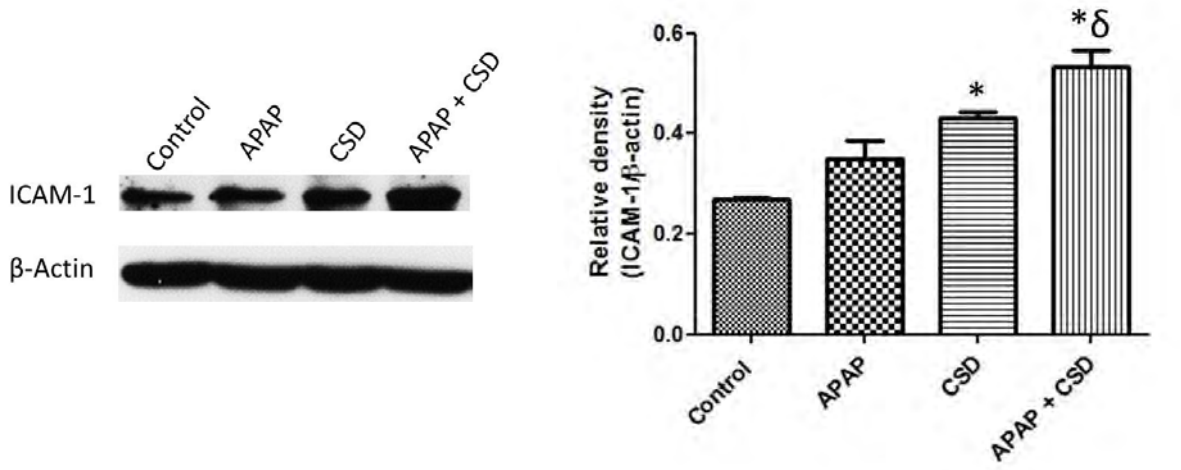




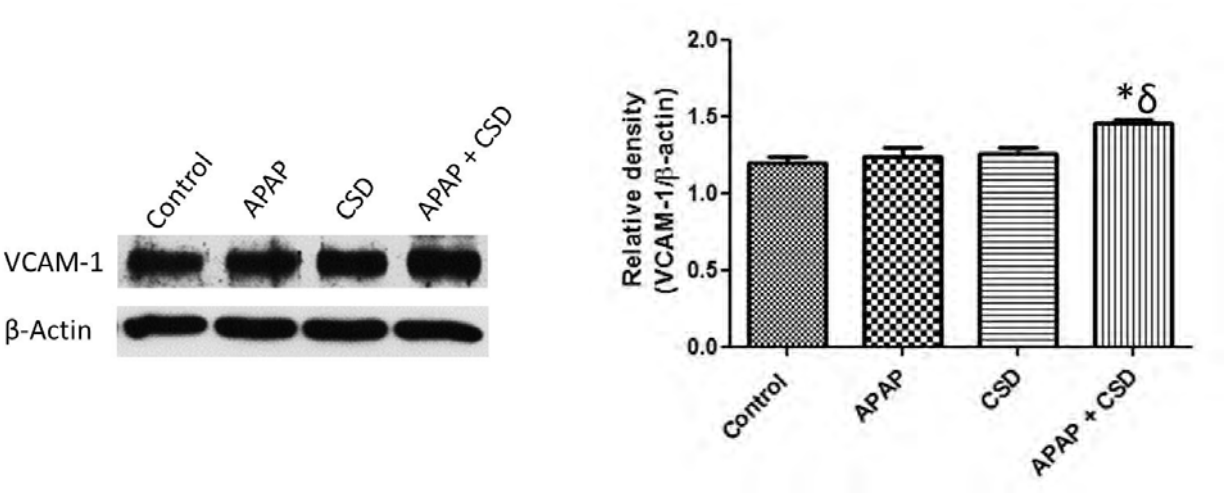
ภาพที่ 8 ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนของ pinocytic vesicles ของหลอดเลือดสมองส่วน capillary โดยพบว่า (บน) มีจำนวนของ pinocytic vesicles (ลูกศร) เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (A) ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังเพียงอย่างเดียว (B) กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (C) และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (D)
(ล่าง) กราฟแสดงจำนวนของ pinocytic vesicles ที่หลอดเลือด capillary (* $P < 0.05$ compared with control group, $^{\#}$ compared with CSD group)

2. ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของ cell adhesion molecules

ผลการทดลองพบว่า กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองส่วน cerebral cortex ซึ่งพบการเพิ่มขึ้นของ cell adhesion molecules ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ICAM-1 และ VCAM-1 โดยการแสดงออกของ ICAM-1 นั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นทั้งในกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้นให้สมองใหญ่เกิดปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน แต่ความผิดปกตินี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อได้รับการกระตุ้นร่วมกันทั้ง 2 ภาวะ เช่นเดียวกับการแสดงออกของ VCAM-1 ที่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อหนูได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน ดังแสดงในภาพที่ 9-10



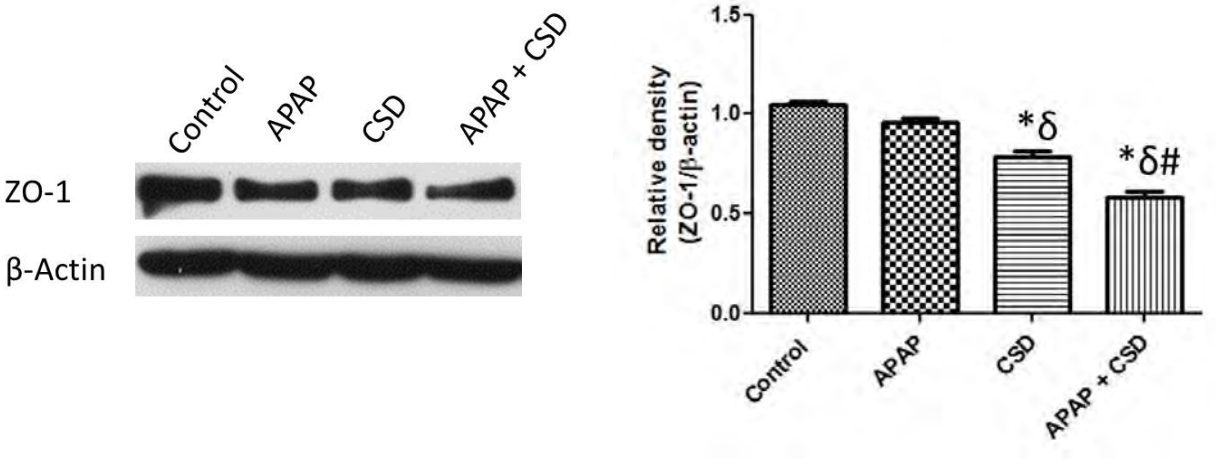
ภาพที่ 9 ภาพแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของโปรตีน ICAM-1 ในสมอง (ซ้าย) แถบโปรตีนของ ICAM-1 เปรียบเทียบกับ β-actin (ขวา) กราฟแสดงปริมาณโปรตีนของ ICAM-1 expression ที่สมองส่วน cerebral cortex โดยพบว่าเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีผลทำให้ ICAM-1 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และแสดงออกเพิ่มมากขึ้นเมื่อร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (* $P < 0.05$ compared with control group, $^{\delta}$ Compared with APAP group)



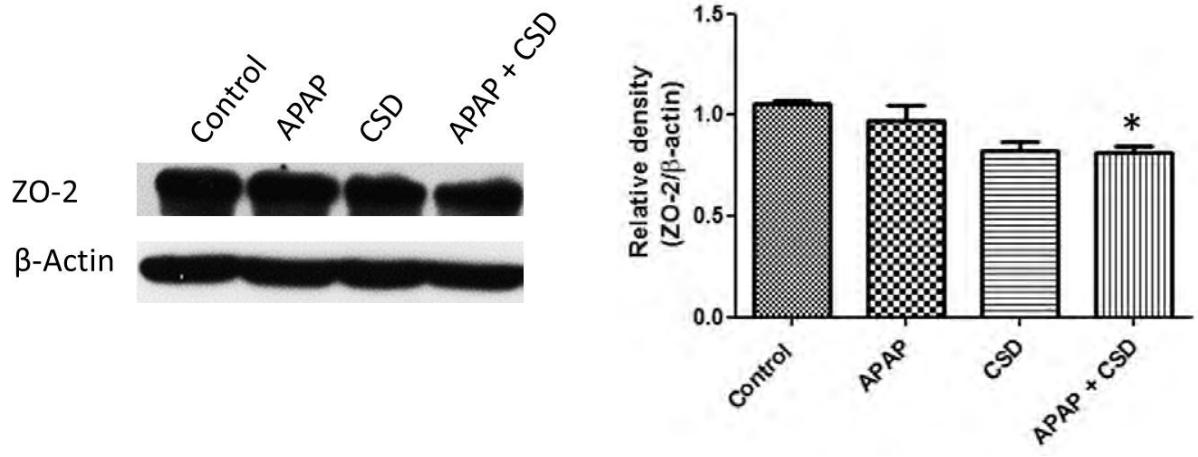
ภาพที่ 10 ภาพแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในสมอง (ซ้าย) แถบโปรตีนของ VCAM-1 เปรียบเทียบกับ β-actin (ขวา) กราฟแสดงปริมาณโปรตีนของ VCAM-1 expression ที่สมองส่วน cerebral cortex โดยพบว่าเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน มีผลทำให้ VCAM-1 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับยาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง และกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชันเพียงอย่างเดียว (* $P < 0.05$ compared with control group, $^{\delta}$ Compared with APAP group)

3. ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของ tight junction proteins

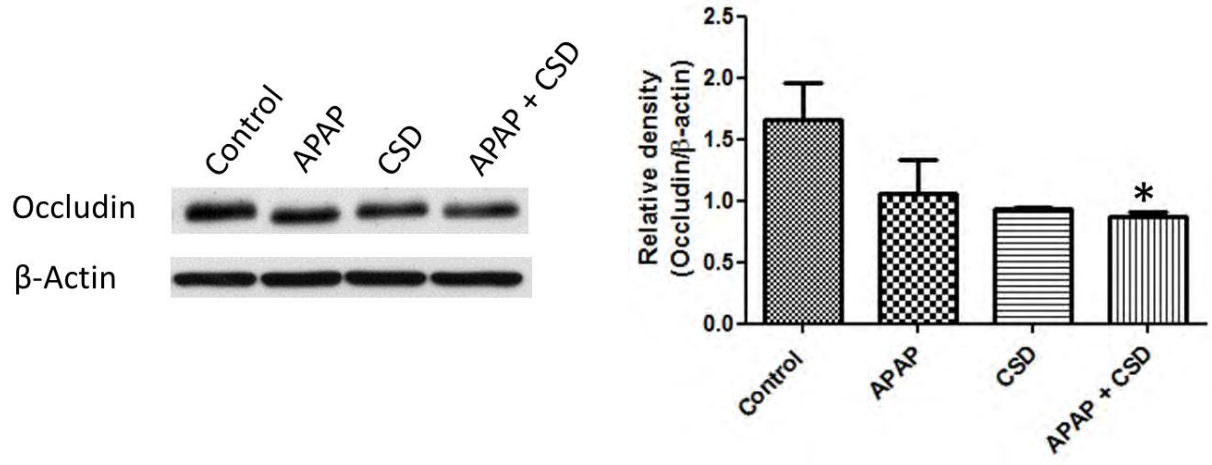
ผลการทดลองพบว่า กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองส่วน cerebral cortex ซึ่งพบความผิดปกติในการแสดงออกของ tight junction protein 3 ชนิด คือ ZO-1 ZO-2 และ occludin ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของ BBB และยังมีความสำคัญในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดสมองให้อยู่สภาวะปกติด้วย โดยพบว่าปริมาณของโปรตีนดังกล่าวลดลงเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง และความผิดปกตินี้พบมากขึ้นเมื่อร่วมกับการได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน ดังแสดงในภาพที่ 11-13



ภาพที่ 11 ภาพแสดงแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของโปรตีน ZO-1 ในสมอง (ซ้าย) แถบโปรตีนของ ZO-1 เปรียบเทียบกับ β-actin (ขวา) กราฟแสดงปริมาณโปรตีนของ ZO-1 expression ที่สมองส่วน cerebral cortex โดยพบว่าเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีผลทำให้ ZO-1 มีการแสดงออกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และลดลงมากขึ้นเมื่อร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (* $P < 0.05$ compared with control group, $^{\delta}$ Compared with APAP group, # Compared with CSD group)



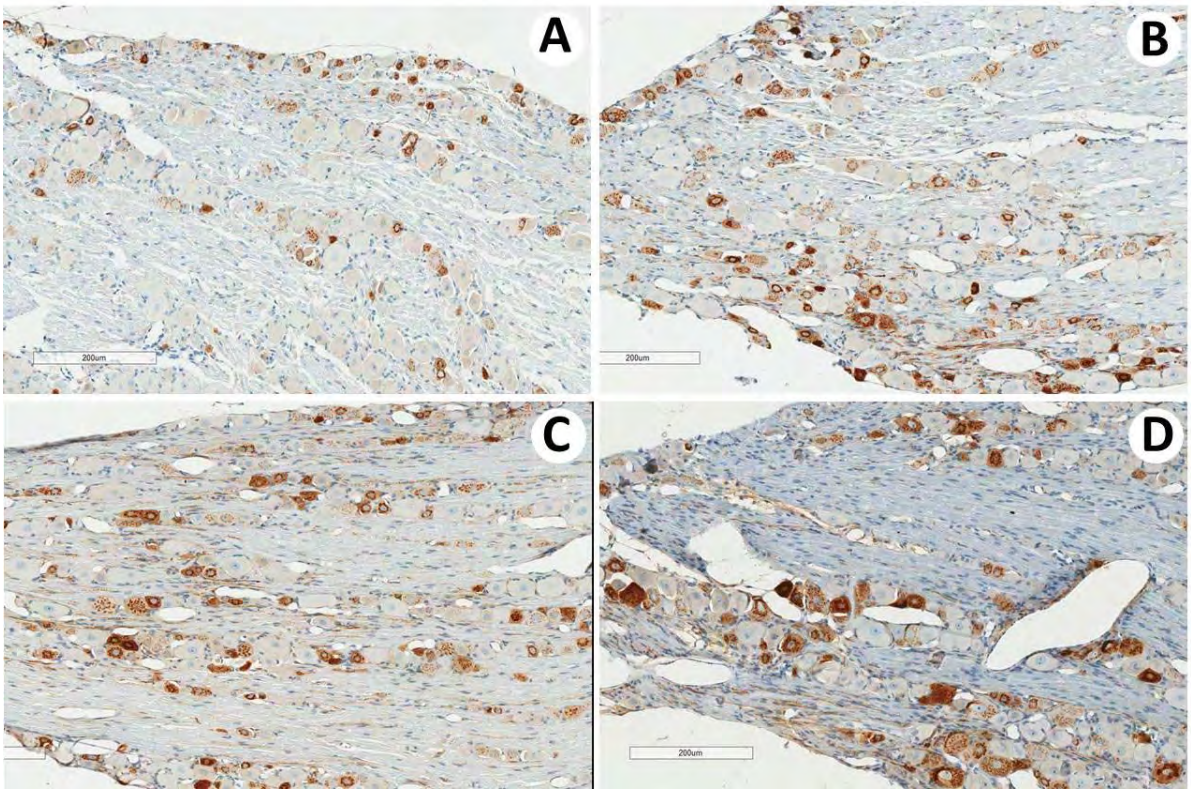
ภาพที่ 12 ภาพแสดงแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของโปรตีน ZO-2 ในสมอง (ซ้าย) แถบโปรตีนของ ZO-2 เปรียบเทียบกับ β-actin (ขวา) กราฟแสดงปริมาณโปรตีนของ ZO-2 expression ที่สมองส่วน cerebral cortex โดยพบว่าเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีผลทำให้ ZO-2 มีการแสดงออกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และลดลงมากขึ้นเมื่อร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (* $P < 0.05$ compared with control group)

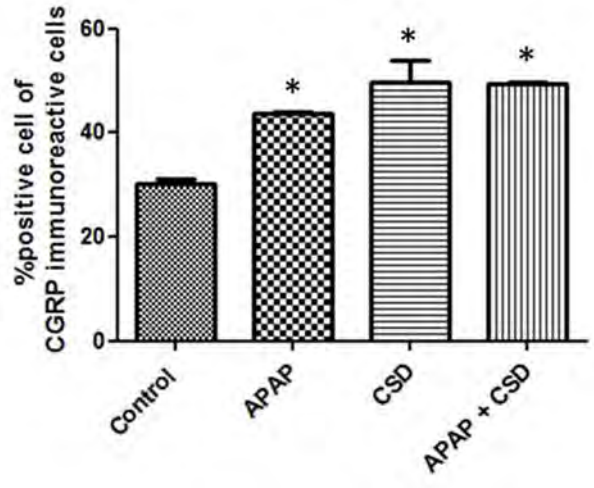


ภาพที่ 13 ภาพแสดงแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของโปรตีน occludin ในสมอง (ซ้าย) แถบโปรตีนของ occludin เปรียบเทียบกับ β-actin (ขวา) กราฟแสดงปริมาณโปรตีนของ occludin expression ที่สมองส่วน cerebral cortex โดยพบว่าเมื่อได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีผลทำให้ occludin มีการแสดงออกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และลดลงมากขึ้นเมื่อร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน (* P < 0.05 compared with control group)

4. ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการหลั่งสารสื่อประสาท CGRP จากเซลล์ประสาทใน trigeminal ganglion

ผลการทดลองพบว่า เซลล์ประสาทใน trigeminal ganglion ของกลุ่มหนูที่ได้รับการกระตุ้นจากการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง มีการแสดงออกของสารสื่อประสาท CGRP เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) และการแสดงออกของสารสื่อประสาทนี้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเปรสชัน ร่วมด้วย โดยเซลล์ที่พบการหลั่งสารสื่อประสาทนี้อยู่ในกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กถึงขนาดกลาง (small and mediam size neurons) ดังแสดงในภาพที่ 14





ภาพที่ 14 ภาพแสดงแสดงผลการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของ CGRP ในบริเวณ trigeminal ganglion (TG) (บน) การกระจายตัวของสื่อประสาท CGRP (ติดสีน้ำตาลเข้ม) ในเซลล์ประสาทบริเวณ trigeminal ganglion โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่มีการหลั่ง CGRP มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (A) ทั้งในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังเพียงอย่างเดียว (B) กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD (C) และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D)

(ล่าง) กราฟแสดงจำนวนเซลล์ประสาทที่มีการหลั่ง CGRP ใน trigeminal ganglion (* $P < 0.05$ compared with control group)

วิจารณ์ผลการทดลอง (Discussion)

ผลการศึกษาวิจัยในโมเดลโรคปวดศรีษะไมเกรน(CSD model) ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าระบบหลอดเลือดสมอง(cerebral circulation) มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ต่างกันระหว่างกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเฉียบพลัน และเรื้อรัง โดยพบว่ากลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานาน (30 วัน) กลับมีผลเสียต่อระบบของหลอดเลือดสมอง โดยพบว่ามีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากขึ้น ดังแสดงได้จากการตรวจพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์เอนโดทีเลียมในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนเพิ่มขึ้น(จำนวน pinocytic vesicle และmicrovilli) มีการแสดงออกของ I CAM-1 และVCAM-1 ในหลอดเลือดสมองเพิ่มขึ้นในหนูกลุ่มนี้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองซึ่งเป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ที่เป็นชนิด tight junction ก็แสดงผลในทิศทางเดียวกันโดยพบว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานาน (30 วัน) มีการแสดงออกของ โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ tight junction ลดลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน นอกจากนี้งานวิจัยครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานานมีผลต่อการแสดงออกของสารสื่อประสาท CGRP ใน TG ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม

การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือดสมองในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่พบในการศึกษาวิจัยนี้ สนับสนุนและเห็นพ้องกับผลการศึกษาวิจัยของคณะวิจัยหลายคณะที่บ่งชี้ว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานานแม้จะในขนาดที่ไม่ก่อให้เกิดพิษ ก็สามารถส่งผลเสียให้แก่ระบบหลอดเลือดได้ เช่น ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกในกลุ่มคนที่มีการใช้ยาพาราเซตตามอล 500 mg/วัน เป็นประจำ โดยผลการวิจัยก็พบว่าในกลุ่มที่ได้รับยาตัวนี้เป็นประจำ มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดความดันโลหิตสูงมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาถึง 2 เท่า (Curhan และคณะ, 2002; Dedier และคณะ, 2002; Forman และคณะ, 2007) นอกจากนี้ผลการศึกษาของ Sudano และคณะในปี 2010 ยังพบว่า การที่คนไข้ที่มีภาวะของ coronary heart disease ได้รับยาพาราเซตตามอลใน dose 1g/วัน เพิ่มจากยาที่ได้รับปกติจะส่งผลให้คนไข้ในกลุ่มนี้มีระดับของความดันโลหิตเพิ่มสูงขึ้นได้ทั้งใน systolic และ diastolic pressure ซึ่งผลการศึกษาวิจัยเหล่านี้ ชี้ให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นแม้จะเป็น dose ที่อยู่ในช่วงการรักษา (ไม่มีผลต่อตับ) แต่หากได้รับเป็นระยะเวลานานติดต่อกันก็สามารถส่งผลเสียต่อระบบไหลเวียนเลือดได้

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้ที่ตรวจพบความผิดปกติของระบบหลอดเลือดสมองนั้นสนับสนุนทฤษฎีของกลุ่มวิจัยต่างๆ ข้างต้น และในการศึกษาวิจัยของเรานั้นยังได้ยืนยันว่า การที่หนูได้รับยาพาราเซตตามอล (200 mg/kg) นั้นไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของตับ ซึ่งเป็น target organ ของยานี้ เนื่องจากเอนไซม์ที่บ่งชี้ถึงภาวะการทำงานของตับ (AST, ALT, ALP) ในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปมากกว่ากลุ่มควบคุม (ข้อมูลไม่ได้แสดงในผลการทดลอง) แสดงให้เห็นว่าผลความผิดปกติของหลอดเลือดสมองที่พบในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังไม่ได้มีความเกี่ยวข้องกับภาวะ

hepatotoxicity แต่เป็นผลกระทบของการใช้ยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองโดยตรง

เป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่ายาพาราเซตตามอลนั้นมีคุณสมบัติที่สามารถผ่าน BBB ได้ ดังนั้นเมื่อมีการซึมผ่านของยานี้เข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดของสมองแล้ว ยานี้จะสามารถซึมผ่านเซลล์เอนโดทีเลียมของสมองและเข้าสู่เซลล์ต่างๆ ที่ประกอบกันเป็น neurovascular unit ของ BBB ได้โดยตรง (Kumpulainen และคณะ, 2007) และจากการสืบค้นของเราพบว่า ภายในเซลล์ต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของ neurovascular unit นั้นล้วนแต่มีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP2E1 ทุกเซลล์ รวมถึงเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองด้วย (Hansson และคณะ, 1990; Haorah และคณะ, 2005; Posadas และคณะ, 2010) เอนไซม์ CYP2E1 นั้นมีคุณสมบัติที่สามารถเปลี่ยนรูปของยาพาราเซตตามอลให้เป็นสารตัวกลางที่สำคัญคือ N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) โดย NAPQI ที่เกิดขึ้นนั้นมีผลเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถจับกันกับโปรตีนภายในเซลล์ (ไมโตคอนเดรีย) และส่งผลเสียให้เกิดขึ้นกับเซลล์โดยสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์ตายได้ (Manyike และคณะ, 2000) ดังนั้นระบบร่างกายจึงต้องรีบทำการกำจัด NAPQI ทันที โดยในภาวะที่มี NAPQI มากจะส่งผลให้เกิดภาวะ glutathione depletion ซึ่งภาวะที่มีการพร่องของระดับ glutathione นี้จะทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งท้ายที่สุดก็จะส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่อวัยวะนั้นๆ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ภาวะที่ร่างกายได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นระยะเวลานานน่าจะส่งผลให้มีการซึมผ่านของยาตัวนี้เข้าสู่สมองผ่านเซลล์เอนโดทีเลียมอย่างต่อเนื่อง และเนื่องจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB นั้นมีเอนไซม์ CYP2E1 อยู่จึงทำให้เซลล์เหล่านี้ทำการเปลี่ยนยาพาราเซตตามอลให้เป็น NAPQI ออกมาอย่างต่อเนื่องเช่นกัน ภาวะที่มี NAPQI สะสมคั่งอยู่ในบริเวณรอบๆ หลอดเลือดนั้นน่าจะส่งผลกระทบโดยตรงต่อเซลล์เอนโดทีเลียมโดย NAPQI สามารถจับกับโปรตีนภายในเซลล์และทำให้เซลล์อยู่ในภาวะผิดปกติ (cell damage) ขึ้นได้ นอกจากนั้น glutathione ที่มีอยู่ในสมองจะถูกนำมาใช้ในการจับทำลาย NAPQI มากจนสามารถก่อให้เกิดภาวะพร่อง glutathione และมีการคั่งของสารอนุมูลอิสระ (oxidative free radical) มากขึ้น

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้ที่พบว่า เซลล์หลอดเลือดสมองของกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้งดีเพรสชันมากกว่ากลุ่มควบคุมแสดงให้เห็นว่า หลอดเลือดสมองในกลุ่มหนูทดลองนี้มีความไวต่อการกระตุ้นมากกว่ากลุ่มหนูปกติ จะเห็นได้จากผลการศึกษาวิจัยด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่พบว่า กลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามลอย่างเรื้อรังมีจำนวนของ microvilli และ pinocytic vesicle สูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ความผิดปกติของหลอดเลือดสมองที่พบอีกอย่างคือมีการบวมของ astrocytic foot plate ในหนูกลุ่มนี้มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างชัดเจน โดยพบว่าความผิดปกติเหล่านี้จะพบได้มากขึ้นเมื่อหนูในกลุ่มนี้ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างต่างๆของหลอดเลือดสมองที่พบเป็นตัวบ่งชี้ว่าหลอดเลือดสมองของกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการซึมผ่านมากกว่ากลุ่มหนูปกติ

นอกจากนี้ผลของการศึกษาการแสดงออกของ ICAM-1 และ VCAM-1 ซึ่งเป็น cell adhesion molecule ที่บ่งชี้ให้เห็นถึงภาวะความผิดปกติของหลอดเลือดก็พบว่า การได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นมีผลต่อการแสดงออกของโมเลกุลเหล่านี้ โดยผลการศึกษาการแสดงออกของ ICAM-1 นั้นพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน จะเห็นว่ากลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นมีการแสดงออกของ ICAM-1 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยา และเมื่อดูผลของการแสดงออกของ VCAM-1 ก็จะเห็นชัดเจนว่ามีเพียงกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน เท่านั้นที่มีการแสดงออกของโมเลกุล VCAM-1 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการแสดงออกของ VCAM-1 นั้นถือว่ามีนัยสำคัญ เนื่องจาก VCAM-1 เป็นโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อภาวะความผิดปกติของหลอดเลือด (Sultan และคณะ, 2004) การที่พบว่ามีการแสดงออกของโมเลกุลเหล่านี้มากขึ้นในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอล หลังจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชันนั้น แสดงถึงความผิดปกติของหลอดเลือดสมองในหนูกลุ่มนี้ ซึ่งผลการศึกษาวิจัยถึงการแสดงออกของ tight junction protein โดยเทคนิค western blotting ได้ยืนยันสมมุติฐานนี้ จากการพบว่ากลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีปริมาณของ tight junction protein (ZO-1, ZO-2 และ occludin) ต่ำกว่าหนูกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าการเกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติของ BBB ได้ โดยผลจากการศึกษาวิจัยของ Gursoy-Ozdemir และคณะ ในปี 2004 และ Moskowitz และคณะ ในปี2007 บ่งชี้ว่ามีการรั่วของโปรตีนออกมานอกหลอดเลือดสมองหลังจากที่มีการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ซึ่งเป็นการบ่งชี้ให้เห็นถึงผลกระทบของปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ต่อ BBB

ในการศึกษาวิจัยนี้ผลการวิจัยทั้งในส่วนของกลุ่มเซลล์เอนโดทีเดียมและการแสดงออกของ tight junction protein เมื่อได้รับยาพาราเวตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชัน ส่งผลทำให้ BBB ผิดปกติมากขึ้นไปอีก โดยภาวะความผิดปกติของหลอดเลือดสมองนั้นอาจเกิดจากการที่มีระดับของสาร NAPQI หรือการที่มีระดับของสารอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นในสมอง อันเนื่องมาจากภาวะพร่อง glutathione ที่กล่าวถึงในข้างต้น แต่เนื่องจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์คอร์ติคัล สเปรดดิ้ง ดีเพรสชันนั้น สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆ ออกมาบริเวณรอบๆ หลอดเลือดและมีผลโดยตรงต่อหลอดเลือดสมอง โดยบรรดาสารสื่อประสาทต่างๆ ที่หลั่งออกมานั้น CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide) ถือว่าเป็นสารสื่อประสาทที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองเป็นอย่างมาก เนื่องจาก CGRP ถือว่าเป็นสารสื่อประสาทที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดภาวะ neurogenic inflammation และการเปลี่ยนแปลงของ BBB (Busija และคณะ, 2008) มีการศึกษาวิจัยพบว่าในภาวะที่มี CGRP สูงจะส่งผลต่อ BBB ทำให้มีการสูญเสีย BBB integrity (Wahl และคณะ, 1994) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งมั่นที่จะศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของ CGRP ใน TG ด้วย

โดยผลการศึกษาวิจัยของเราครั้งนี้ก็เห็นได้ชัดเจนว่า การได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นมีผลต่อทำให้การแสดงออกของ CGRP ใน TG เพิ่มขึ้น โดยกลไกที่ทำให้มีการแสดงออกของ CGRP เพิ่มขึ้นนั้นน่าจะเกิดจากภาวะไวต่อการกระตุ้นของเซลล์ผิวสมองในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง ทำให้มีการกระตุ้นกลับสู่ TG จาก trigeminal nerve มากกว่ากลุ่มหนูปกติ นอกจากนี้ภาวะความผิดปกตินี้อาจเกิดได้จากมีการเปลี่ยนแปลงโดยตรงใน TG ที่ทำให้มีการแสดงออกของ CGRP ในหนูกลุ่มนี้มากกว่าปกติ โดยอาจมีความเกี่ยวข้องกับ NO หรืออนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นในสภาวะที่หนูได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังได้

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป ผลงานศึกษาวิจัยนี้บ่งชี้ว่าการที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นส่งผลเสียต่อระบบสมดุลของหลอดเลือดสมองได้ โดยหากร่วมกับภาวะที่มีการกระตุ้นต่อระบบหลอดเลือดสมองเพิ่มขึ้นไปอีก เช่น ในภาวะที่มีอาการปวดศีรษะหรือจากการกระตุ้นอื่นๆ จะสามารถส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติของระบบหลอดเลือดสมองซึ่งจะสามารถนำไปสู่การเกิดผลเสียต่อการทำงานของเซลล์ต่างๆ ในสมองได้

โดยประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ดังนี้

1. สามารถเข้าใจถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานาน ต่อภาวะสมดุลของการทำงานเซลล์สมองว่ามีการหลั่งสารสื่อประสาท CGRP มากผิดปกติหรือไม่
2. สามารถเข้าใจถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานาน ต่อภาวะสมดุลของการทำงานเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ BBB ว่ามีความ ผิดปกติไปอย่างไร

ในขณะนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการรวบรวมผลการวิจัยเขียนเป็น manuscript เพื่อเผยแพร่ในวารสารวิชาการ

ส่วนการศึกษายืนยันถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องต่อเซลล์บุหลอดเลือดสมองและกลไกที่เกี่ยวข้องนั้น ทีมวิจัยได้วางแผนที่จะทำการศึกษาวิจัยต่อในการศึกษาวิจัยต่อเนื่องในปีที่ 2556-2557 ซึ่งเป็นการศึกษาวิจัยในเซลล์เพาะเลี้ง เอนโดทีเลียลเซลล์

บรรณานุกรม

มานิตา เข็มทอง. พฤติกรรมบริโภคยาเกินความจำเป็นมีแนวโน้มสูงขึ้น. นิตยสารผู้จัดการ. 2540.

ยาพาราเซตามอลเป็นอันตราย หากกินบ่อยเป็นเวลานานๆ. ไทยรัฐออนไลน์. 2554

ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองค์ วีระ สุพรศิลป์ชัย และอนันต์ ศรีเกียรติขจร. ภาวะผิดปกติของกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง จากการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง. ในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2553.

Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. Neurobiol Dis. 2010; 37:13-25.

Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C, Cloarec A, Eschalier A. Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats. Eur J Pharmacol. 2002; 443:71-7.

Anderson B. Paracetamol (acetaminophen): mechanism of action. Pediatr Anesth. 2008; 18: 915-21.

András IE, Deli MA, Veszelka S, Hayashi K, Hennig B, Toborek M. The NMDA and AMPA/KA receptors are involved in glutamate-induced alterations of occludin expression and phosphorylation in brain endothelial cells. J Cereb Blood Flow Metab. 2007; 8: 1431-43.

Aoki T, Sumii T, Mori T, Wang X, Lo EH. Blood-brain barrier disruption and matrix metalloproteinase-9 expression during reperfusion injury: mechanical versus embolic focal ischemia in spontaneously hypertensive rats. Stroke. 2002; 33: 2711–17.

Ayata C, Shin HK, Salomone S, Ozdemir-Gursoy Y, Boas DA, Dunn AK, et al. Pronounced hypoperfusion during spreading depressionin mouse cortex. J Cereb Blood Flow Metab. 2004; 24: 1172–82.

Baliga SS, Jaques-Robinson KM, Hadzimichalis NM, Golfetti R, Merrill GF. Acetaminophen reduces mitochondrial dysfunction during early cerebral postischemic reperfusion in rats. Brain Res. 2010; 1319: 142–54.

Bari F, Paprika D. Changes in cerebrovascular reactivity after stimulation and depletion of sensory fibers in rats. In: Fukuuchi Y, Tomita M, Koto A, editors, Ischemic Blood Flow in the Brain. Tokyo:Springer Publishers; 2000a. p.289-95.

Bari F, Paprika D, JancsoÂ G, Domoki F. Capsaicin-sensitive mechanisms are involved in cortical spreading depression-associated cerebral blood flow changes in rats. 2000b; Neurosci Lett; 292: 17-20.

Bartels AL, Kortekaas R, Bart J, Willemsen AT, de Klerk OL, de Vries JJ, et al. Blood–brain barrier P-glycoprotein function decreases in specific brain regions with aging: a possible role in progressive neurodegeneration. Neurobiol Aging. 2009; 11: 1818-24.

Begley DJ, Pontikis CC, Scarpa M. Lysosomal storage diseases and the blood–brain barrier. Curr Pharm Des. 2008; 14: 1566-80.

Bellamy JL, Cady RK, Durham PL. Salivary Levels of CGRP and VIP in Rhinosinussitis and Migraine Patients. Headache. 2006; 46 : 24-33.

Bernoud N, Fenart L, Benistant C, Pageaux JF, Dehouck MP, Moliere P, et al. Astrocytes are mainly responsible for the polyunsaturated fatty acid enrichmentin blood–brain barrier endothelial cells in vitro. J Lipid Res. 1998; 39: 1816-24.

Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. CNS Drug Rev. 2006; 12: 250-75.

Betz AL, Goldstein GW, Katzman R. Blood-brain-cerebrospinal fluid barriers. In Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Molinoff PB, editors. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects. 5th ed. New York: Raven Press; 1994. p. 681-99.

Betzen C, White R, Zehendner CM, Pietrowski E, Bender B, Luhmann HJ, et al. Oxidative stress upregulates the NMDA receptor on cerebrovascular endothelium. Free Radic Biol Med. 2009; 47: 1212-20.

Bisaglia M, Venezia V, Piccioli P, Stanzione S, Porcile C, Russo C. Acetaminophen protects hippocampal neurons and PC12 cultures from amyloid beta-peptides induced oxidative stress and reduces NF kappa B activation. Neurochem Int. 2002; 41: 43–54.

Bisogno T. Endogenous cannabinoids structure and metabolism. J Neuroendocrinol. 2008; 20(Suppl 1): 1-9.

Bjorkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. Acta Anaesthesiol Scand Suppl. 1995; 103: 1-44.

Björkman R, Hallman KM, Hedner J, Hedner T, Henning M. Acetaminophen blocks spinal hyperalgesia induced by NMDA and substance P. Pain. 1994; 57: 259-64.

Block ML, Zecca L, Hong J. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. Nature Rev Neurosci. 2007; 8: 57-69.

Bolay H, Reuter U, Dunn AK, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. Nat Med. 2002; 8: 136-42.

Bolton S, Anthony D, Perry V. Loss of tight junction proteins occludin and zonula occludens-1 from cerebral vascular endothelium during neurophil induced blood–brain barrier breakdown in vivo. Neuroscience. 1998; 86: 1245-57.

Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2005; 72: 85-7.

Bourdi M, Eiras DP, Holt MP, Webster MR, Reilly TP, Welch KD, et al. Role of IL-6 in an IL-10 and IL-4 double knockout mouse model uniquely susceptible to acetaminophen-induced liver injury. Chem Res Toxicol. 2007; 20: 208-16.

Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnett LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H_2 synthases. National Acad Sciences. 2002; 99: 7130-35.

Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002; 3: 207-14.

Brodie BB, Axelrod J. The estimation of acetanilide and its metabolic products, aniline, N-acetyl p-aminophenol and p-amino-phenol, free and total conjugated, in biological fluidsand tissues. J Pharmacol Exp Ther. 1948; 1: 22-8.

Bronger H, König J, Kopplow K, Steiner HH, Ahmadi R, Herold-Mende C, et al. ABCC drug efflux pumps and organic anion uptake transporters in human gliomas and the blood–tumor barrier. Cancer Res. 2005; 65: 11419-28.

Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. Pol J Pharmacol. 2004; 56: 605-10.

Busija DW, Bari F, Domoki F, Horiguchi T, Shimizu K. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of cortical spreading depression. Prog Neurobiol. 2008; 86: 379-95.

Busija DW, Bari F, Domoki F, Louis T. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of N-methyl-D-aspartate in cerebral cortex. Brain Res Rev. 2007; 56: 89-100.

Cardoso FL, Brites D, Brito MA. Looking at the blood-brain barrier: molecular anatomy and possible investigation approaches. Brain Res Rev. 2010; 64: 328-63.

Chandler S, Miller KM, Clements JM, Lury J, Corkill D, Anthony DC, et al. Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview J Neuroimmunol 1997; 72: 155-61.

Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99: 13926-931.

Colgan OC, Collins NT, Ferguson G, Murphy RP, Birney YA, Cahill PA, et al. Influence of basolateral condition on the regulation of brain microvascular endothelial tight junction properties and barrier function. Brain Res. 2008; 1193: 84-92.

Colonna DM, Meng W, Deal DD, Busija DW. Calcitonin gene-related peptide promotes cerebrovascular dilation during cortical spreading depression in rabbits. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1994a; 266: 1095-102.

Colonna DM, Meng W, Deal DD, Busija DW. Nitric oxide promotes arteriolar dilation during cortical spreading depression in rabbits. Stroke. 1994b; 25: 2463-70.

Colonna DM, Meng W, Deal DD, Gowda M, Busija DW. Neuronal NO promotes cerebral cortical hyperemia during cortical spreading depression in rabbits. Am J Physiol Heart Circ Physiol 1997; 272: H1315-22.

Correale J, Villa A. The blood-brain-barrier in multiple sclerosis: functional roles and therapeutic targeting. Autoimmunity. 2007; 40 : 148-60.

Créange A, Sharshar T, Planchenault T, Christov C, Poron F, Raphaël JC, et al. Matrix metalloproteinase-9 is increased and correlates with severity in Guillain-Barré syndrome. Neurology. 1999; 53: 1683-91.

Curhan GC, Willett WC, Rosner B, Stampfer MJ. Frequency of analgesic use and risk of hypertension in younger women. Arch Intern Med 2002; 162: 2204-8.

Dalkara T, Zervas NT, Moskowitz MA. From spreading depression to the trigeminovascular system. Neurol Sci. 2006; 27:S86-90.

Dallasta LM, Pisarov LA, Esplen JE, Werley JV, Moses AV, Nelson JA, et al. Blood–brain barrier tight junction disruption in human immunodeficiency virus-1 encephalitis. Am J Pathol. 1999; 155: 1915-27.

Davson H, Welch K, Segal MB, editor.The Physiology and Pathophysiology of Cerebrospinal Fluid. New York: Churchill Livingstone; 1987.

Dedier J, Stampfer MJ, Hanskinson SE, Willett WC, Speizer FE, Curhan GC. Nonnarcotic analgesic use and the risk of hypertension in US women. Hypertension. 2002; 40: 604-8.

Del Rio MS, Moskowitz MA. The trigeminal system. In: Olsen J, Teflt-Hansen P, Welch KMA, editor. The Headaches. Second edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. 141-49.

Desai BS, Monahan AJ, Carvey PM, Hendey B. Blood–brain barrier pathology in Alzheimer's and Parkinson's disease: implications for drug therapy. Cell Trans. 2007; 16: 285-99.

Dimova S, Hoet PH, Dinsdale D, Nemery B. Acetaminophen decreases intracellular glutathione levels and modulates cytokine production in human alveolar macrophages and type II pneumocytes in vitro. Int J Biochem Cell Biol. 2005; 37: 1727-37.

Doods H, Hallermayer P, Wu D, Entzeroth M, Rudolf K, Engel W, et al. Phamacological profile of BIBN4096BS, the first selective small molecule CGRP antagonist. Br J Pharmacol. 2002; 129: 420-23.

Duckrow RB, Beard DC. Cortical hypoperfusion following spreading depression is not altered by tirilazad mesylate (U-74006F) in awake rats. Brain Res. 1992; 572: 296-99.

Dux E, Joó F. Effect of histamine on brain capillaries. Fine structural and immuno-histochemical studies after intracarotid infusion. Exp Brain Res. 1982; 47: 252-58.

Edvinsson L. Novel migraine therapy with calcitonin gene-regulated peptide receptor antagonists. Expert Opin Ther Targets. 2007; 11: 1179-88.

Eisenberg HM, Suddith RL. Cerebral vessels have the capacity to transport sodium and potassium. Science. 1979; 206: 1083-6.

Fanning AS, Jameson BJ, Jesaitis LA, Anderson JM. The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton. J Biol Chem. 1998; 273: 29745-53.

Fardel O, Lecureur V, Guillouzo A. The P-glycoprotein multidrug transporter. Gen Pharmacol. 1996; 27:1283-91.

Forman JP, Rimm EB, Curhan GC. Frequency of analgesic use and risk of hypertension among men. Arch Inter Med. 2007; 167: 394-9.

Filosa JA, Bonev AD, Straub SV, Meredith AL, Wilkerson MK, Aldrich RW, et al. Local potassium signaling couples neuronal activity to vasodilation in the brain. Nature Neurosci. 2006; 9: 1397-403.

Fischer MJ, Koulchitsky S, Messlinger K. The Nonpeptide Calcitonin Gene-Related Peptide Receptor Antagonist BIBN4096BS Lowers the Activity of Neurons with Meningeal Input in the Rat Spinal Trigeminal Nucleus. J Neurosci. 2005; 25: 5877-83.

Fishman RA. Blood-brain barrier. In: Fishman RA. Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1992. p.43-69.

Flower RJ, Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-puretic activity of paracetamol (4-acetamidophenol). Nature. 1972; 240: 410-11.

Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. J Cell Biol. 1993; 123: 1777-88.

Garrone B, Polenzani L, De Santi S, moreci W, Guglielmotti A. Paracetamol reduces neuropathic pain-like behaviour in rats by potentiaing serotonergic neurotransmission. Int J Integr Biol. 2007; 1: 196-205.

Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. J Cereb Blood Flow Metab. 1999; 19: 1020-28.

Geppetti P, Capone JG, Trevisani M, Nicoletti P, Zagli G, Tola MR. CGRP and migraine: neurogenic inflammation revisited. J Headache Pain. 2005; 6: 61-70.

Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. Ann. Neurol. 1990; 28: 183-87.

Goadsby PJ. The oligemic phase of cortical spreading depression is not blocked by tirilazad (U-74006F). Brain Res. 1992; 588: 140-43.

Goadsby PJ, Uddman R, Edvinsson L. Cerebral vasodilatation in the cat involves nitric oxide from parasympathetic nerves. Brain Res. 1996; 707: 110-18.

Goadsby PJ. Calcitonin gene-related peptide antagonists as treatments of migraine and other Primary headaches. Drugs. 2005; 65(18): 2557-67.

Goldstein GW, Betz AL. The blood-brain barrier. Sci Am. 1986; 255: 70-9.

Grabb G. Neoplastic and pharmacological influence on the permeability of an in vitro blood-brain barrier. J Neurosurg. 1995; 82: 1053–8.

Grafstein B. Mechanism of spreading cortical depression. J Neurophysiol. 1956; 19: 154-71.

Grieshaber MC, Flammer J. Does the blood–brain barrier play a role in glaucoma? Sur Ophthalmol. 2007; 52: S115-21.

Guhring H, Hamza M, Sergejeva M. A role for endocannabinoids in indomethacin-induced spinal antinociception. Eur J Pharmacol. 2002; 454: 153-63.

Gursoy-Ozdemir Y, Qiu J, Matsuoka N, Bolay H, Bermpohl D, Jin H, et al. Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. J Clin Invest. 2004; 113: 1447-55.

Hamm S, Dehouck B, Kraus J, Wolburg-Buchholz K, Wolburg H, Risau W, et al. Astrocyte mediated modulation of blood-brain barrier permeability does not correlate with a loss of tight junction proteins from the cellular contacts. Cell Tissue Res. 2004; 315: 157-66.

Hansen AJ, Zeuthen T. Extracellular ion concentration during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. Acta Physiol Scand. 1981; 113: 437-45.

Hansson T., Tindberg N., Ingelman-Sundberg M. and Köhler C. Regional distribution of ethanol-inducible cytochrome P450 IIE1 in the rat central nervous system. Neuroscience. 1990; 34: 451-63.

Haorah J., Knipe B., Leibhart J., Ghorpade A. and Persidsky Y. Alcohol-induced oxidative stress in brain endothelial cells causes blood-brain barrier dysfunction. J Leukoc Biol. 2005; 78: 1223-32.

Hawkins BT, Davis TP. The blood–brain barrier/neurovascular unit in health and disease. Pharmacol Rev. 2005; 57: 173-85.

Herrero JF, Romero-Sandoval EA, Gaitan G, Mazario J. Antinociception and the new COX inhibitors: research approaches and clinical perspectives. CNS Drug Rev. 2003; 9: 227-52.

Hirase T, Staddon JM, Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, et al. Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in endothelial cells. J Cell Sci. 1997; 110: 1603-13.

Högestätt ED, Jönsson BA, Ermund A, Andersson DA, Björk H, Alexander JP, et al. Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. J Biol Chem. 2005; 280: 31405-12.

Iijima T, Shimase C, Iwao Y, Sankawa H. Relationships between glutamate release, blood flow and spreading depression: real-time monitoring using an electroenzymatic dialysis electrode. Neurosci Res. 1998; 32: 201-07.

Inoue T, Mashimo T, Shibata M, Shibuta S, Yoshiya I. Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model. Brain Res. 1998; 792: 263-70.

Ishida T, Sato T, Irifune M, Tanaka K, Nakamura N, Nishikawa T. Effect of acetaminophen, a cyclooxygenase inhibitor, on Morris water maze task performance in mice. J Psychopharmacol. 2007; 21: 757-67.

Islas S, Vega J, Ponce L, Gonzalez-Mariscal L. Nuclear localizationof the tight junction protein ZO-2 in epithelial cells. Exp Cell Res. 2002; 274: 138-48.

Ito Y, Abril ER, Bethea NW, McCuskey RS. Role of nitric oxide in hepatic microvascular injury elicited by acetaminophen in mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2004; 286: G60-7.

Itoh M, Morita K, Tsukita S. Characterization of ZO-2 as a MAGUK family member associated with tight as well as adherens junctions with a binding affinity to occludin and α-catenin. J Biol Chem. 1999; 274: 5981-6.

Iversen HK. Human migraine models. Cephalalgia. 2001; 21: 781-5.

James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatoxicity. Drug Metab Dispos. 2003; 31:1499-506.

Jander S, Schroeter M, Peters O, Witte OW, Stoll G. Cortical spreading depression induces proinflammatory cytokine gene expression in the rat brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2001; 21: 218-25.

Kis B, Snipes JA, Busija DW. Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainties. J Pharmacol Exp Ther. 2005; 315: 1-7.

Kubota K, Furuse M, Sasaki H, Sonoda N, Fujita K, Nagafuchi A, et al. Ca^{2+}-independent cell-adhesion activity of claudins, a family of integral membrane proteins localized at tight junctions. Curr Biol. 1999; 9: 1035-8.

Kumpulainen E, Kokki H, Halonen T, Heikkinen M, Savolainen J, Laisalmi M. Paracetamol (acetaminophen) penetrates readily into the cerebrospinal fluid of children after intravenous administration. Pediatrics. 2007; 119: 766-71.

Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. Cephalalgia. 2002; 22: 54-61.

Lassen LH, Jacobsen VB, Haderslev PA, Ssperling B, Iversen HK, Olesen J, et al. Involvement of calcitonin gene-related peptide in migraine: regional cerebral blood flow and blood flow velocity in migraine patients. J Headache Pain. 2008; 9: 151-7.

Lauritzen M, Olesen J. Regional cerebral blood flow during migraine attacks by Xenon-133 inhalation and emission tomography. Brain. 1984; 107: 447-61.

Leao AA. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol. 1944; 7: 359-90.

Lee G, Bendayan R. Functional expression and localization of Pglycoprotein in the central nervous system: relevance to the pathogenesis and treatment of neurological disorders. Pharm Res. 2004; 21: 1313-30.

Leppert D, Waubant E, Galardy R, Bunnett NW, Hauser SL. T cell gelatinases mediate basement membrane transmigration in vitro. J Immunol. 1995; 154: 4379-89.

Leppert D, Leib SL, Grygar C, Miller KM, Schaad UB, Holländer GA. Matrix metalloproteinase MMP-8 and MMP-9 in cerebrospinal fluid during bacterial meningitis: association with blood brain barrier damage and neurological sequelae. Clin Infect Dis. 2000; 31: 80-4.

Lo EH, Wang X, Cuzner ML. Extracellular proteolysis in brain injury and inflammation: role for plasminogen activators and matrix metalloproteinases. J Neurosci Res. 2002; 69: 1-9.

Loscher W, Potschka H. Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. Prog Neurobiol. 2005; 76: 22-76.

Maneesri S, Supornsilpchai W, Pleumsamran J, Saengjareontham C, Srikiatkhachorn A. Effect of the serotonin depletion on the cortical spreading depression evoked cerebrovascular changes. Asian Biomedicine. 2010; 4:731-8.

Mangoni AA, The impact of advancing age on P-glycoprotein expression and activity: current knowledge and future directions. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2007; 3: 315-20.

Manyike P.T., Kharasch E.D., Kalhorn T.F. and Slattery J.T. Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. Clin Pharmacol Ther. 2000; 67: 275-82.

Mark KS, Davis TP. Cerebral microvascular changes in permeability and tight junctions induced by hypoxia-reoxygenation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 282: H1485-94.

McCarthy KM, Skare IB, Stankewich MC, Furuse M, Tsukita S, Rogers RA, et al., Occludin is a functional component of the tight junction. J Cell Sci. 1996; 109: 2287-98.

Meng W, Busija DW. Oxygen radicals do not play a role in arteriolar dilation during cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab. 1996; 16: 175-9.

Moskowitz MA. Genes, proteases, cortical spreading depression and migraine: impact on pathophysiology and treatment. Funct Neurol. 2007; 22: 133-6.

Moskowitz MA, Cutrer FM. SUMATRIPTAN: a receptor-targeted treatment for migraine. Annu Rev Med. 1993; 44: 145-54.

Nagy K, Kis B, Rajapakse NC, Bari F, Busija DW. Diazoxide preconditioning protects against neuronal cell death by attenuation of oxidative stress upon glutamate stimulation. J Neurosci Res. 2004; 76: 697-704.

Nitta T, Hata M, Gotoh S, Seo Y, Sasaki H, Hashimoto N, et al. Size-selective loosening of the blood–brain barrier in claudin-5-deficient mice. J Cell Biol. 2003; 161: 653-60.

Olesen J, Diener HC, Husstedt IW, Goadsby PJ, Hall D, Meier U, et al. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine. N Engl J Med 2004; 350: 1104-10.

Ottani A, Leone S, Sandrini M, Ferrari A, Bertolini A. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. Eur J Pharmacol. 2006; 531: 280-1.

Ovadia H, Wohlman A, Mechoulam R, Weidenfeld J. Characterization of the hypothermic effect of the synthetic cannabinoid HU-210 in the rat. Relation to the adrenergic system and endogenous pyrogens. Neuropharmacology. 1995; 34: 175-80.

Paemeleire K. The cellular basis of neurovascular metabolic coupling. Acta Neurol Belg. 2002; 102: 153-7.

Pekcec A, Schneider EL, Baumgärtner W, Stein VM, Tipold A, Potschka H. Age-dependent decline of blood-brain barrier P-glycoprotein expression in the canine brain. Neurobiol Aging. 2009; 32: 1477-85.

Persidsky Y, Ramirez SH, Haorah J, Kanmogne GD Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions. J Neuroimmune Pharmacol. 2006a; 1: 223-36.

Pesidsky Y, Heilman D, Haorah J, Zelivyanskay M, Persidsky R, Weber G, et al. Rho-mediated regulation of tight junctions during monocyte migration across blood–brain barrier in HIV-1 encephalitis (HIVE). Blood. 2006b; 107: 4720-30.

Pickering G, Estève V, Loriot MA, Eschalier A, Dubray C. Acetaminophen reinforces descending inhibitory pain pathways. Clin Pharmacol Ther. 2008; 84: 47-51.

Pickering G, Loriot MA, Libert F, Eschalier A, Beaune P, Dubray C. Analgesic effect of acetaminophen in humans: first evidence of a central serotonergic mechanism. Clin Pharmacol Ther. 2006; 79: 371-8.

Posadas I, Santos P, Blanco A, Muñoz-Fernández M, Ceña V. Acetaminophen Induces Apoptosis in Rat Cortical Neurons. PLoS ONE. 2010; 5: e15360.

Ramakrishnan P. The Role of P-glycoprotein in the Blood-Brain Barrier. Einstein Quart J Bio Med. 2003; 19: 160-65.

Ray BS, Wolff HG. Experimental studies on headache: Pain-sensitive structures of the head and their significance in headache. Arch Surg. 1940; 41: 813-56.

Read SJ, Smith MI, Hunter AJ, Parsons AA. Enhanced nitric oxide release during cortical spreading depression following infusion of glyceryl trinitrate in the anaesthetized cat. Cephalalgia. 1997; 17: 159-65.

Remy S, Beck H. Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. Brain. 2006; 129: 18-35.

Reuter U, Weber JR, Gold L, Arnold G, Wolf T, Dreier J, et al. Perivascular nerves contribute to cortical spreading depression-associated hyperemia in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1998; 43: H1979-87.

Rork TH, Hadzimichalis NM, Kappil MA, Merrill GF. Acetaminophen attenuates peroxynitrite-activated matrix metalloproteinase-2-mediated troponin I cleavage in the isolated guinea pig myocardium. J Mol Cell Cardiol. 2006; 40: 553-61.

Rosenberg GA, Yang Y. Vasogenic edema due to tight junction disruption by matrix metalloproteinases in cerebral ischemia. Neurosurg. Focus. 2007; 22: E4.

Rosenberg GA, Kornfeld M, Estrada E, Kelley RO, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. TIMP-2 reduces proteolytic opening of blood-brain barrier by type IV collagenase. Brain Res. 1992; 576: 203-7.

Rosenberg GA, Cunningham LA, Wallace J, Alexander S, Estrada EY, Grossetete M, et al. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases in reperfusion injury to rat brain: activation of MMP-9 linked to stromelysin-1 and microglia in cell cultures. Brain Res. 2001; 893: 104-12.

Rosenberg G.A. Matrix metalloproteinases in neuroinflammation. Glia. 2002; 39: 279-91.

Sakai F, Mayer JS. Regional cerebral hemodynamics during migraine and cluster headache measured by the 133Xe inhalation method. Headache. 1978; 18: 122-32.

Schildknecht S, Daiber A, Ghisla S, Cohen RA, Bachschmid MM. Acetaminophen inhibits prostanoid synthesis by scavenging the PGHS-activator peroxynitrite. The FASEB Journal. 2008; 22: 215-24.

Schilling L, Wahl M. Brain edema: Pathogenesis and therapy. Kidney Int. 1997; 51(suppl 59): S69-75.

Schuh-Hofer S, Lobsien E, Brodowsky R, Vogt J, Dreier JP, Klee R, The cerebrovascular response to elevated potassium-role of nitric oxide in the in vitro model of isolated rat middle cerebral arteries. Neurosci Lett. 2001; 306: 61-4.

Siddharthan V, Kim YV, Liu S, Kim KS. Human astrocytes/astrocyte-conditioned medium and shear stress enhance the barrier properties of human brain microvascular endothelial cells. Brain Res. 2007; 1147: 39-50.

Shimizu K, Miller AW, Erdos B, Bari F, Busija DW. Role of endothelium in hyperemia during cortical spreading depression. Brain Res. 2002; 928: 40-49.

Srikiatkhachorn A, Tarasub N, Govitrapong P. Acetaminophen-induced antinociception via central 5-HT2A receptors. Neurochem Int. 1999; 34: 491-8.

Storer R.J, Akerman S, Goadsby PJ. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) modulates nociceptive trigeminovascular transmission in the cat. Br J Pharmacol. 2004; 142:1171-81.

Strecker T, Dux M, Messlinger K. Nitric oxide releases calcitonin-gene-related peptide from rat dura mater encephali promoting increases in meningeal blood flow. J Vasc Res. 2002; 39: 489-96.

Straub SV, Nelson, MT. Astrocytic calcium signaling: the information currency coupling neuronal activity to the cerebral microcirculation. Trends Cardiovasc Med. 2007; 17: 183-90.

Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW. Functional Plasticity of microglia: a review. Glia. 1988; 1: 301-7.

Sudano I, Flammer AJ, Périat D, Enseleit F, Hermann M, Wolfrum M, et al. Acetaminophen increases blood pressure in patients with coronary artery disease. Circulation. 2010; 122: 1789-96.

Sultan S., Gosling M., Nagase H. and Powell J.T. Shear stress-induced shedding of soluble intercellular adhesion molecule-1 from saphenous vein endothelium. FEBS Lett. 2004; 564: 161-5.

Sumi N, Nishioku T, Takata F, Matsumoto J, Watanabe T, Shuto H., et al. Lipopolysaccharide-activated microglia induce dysfunction of the blood-brain barrier in rat microvascular endothelial cells co-cultured with microglia. Cell Mol Neurobiol. 2010; 30: 247-53.

Supornsilpchai W, le Grand SM, Srikiatkhachorn A. Cortical hyperexcitability and mechanism of medical overuse headache. Cephalalgia. 2010a; 30: 1101-9.

Supornsilpchai W, le grand SM, Srikiatkhachorn A. Involvement of pro-nociceptive 5-HT2A receptor in the pathogenesis of medication-overuse headache. Headache. 2010b; 50: 185-97.

Tjolsen A, Lund A, Hole K. Antinociceptive effect of paracetamol in rats is partly dependent on spinal serotonergic systems. Eur J Pharmacol .1991; 193: 193-201.

Toda N. Okamura T. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels. Pharmacol Rev. 2003; 55: 271-324.

Tong XK, Hamel E. Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in Alzheimer's disease. Neuroscience. 1999; 92: 163-75.

Toornvliet R, van Berckel BN, Luurtsema G, Lubberink M, Geldof AA, Bosch TM, et al. Effect of age on functional P-glycoprotein in the blood–brain barrier measured by use of (R)-[(11)C] verapamil and positron emission tomography. Clin Pharmacol Ther. 2006; 79: 540-8.

Traweger A, Fuchs R, Krizbai IA, Weiger TM, Bauer HC, Bauer H. The tight junction protein ZO-2 localizes to the nucleus and interacts with the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein scaffold attachment factor-B. J Biol Chem. 2003; 278: 2692-700.

Tripathy D, Grammas P. Acetaminophen protects brain endothelial cells against oxidative stress. Microvasc Res. 2009a; 77: 289-96.

Tripathy D, Grammas P. Acetaminophen inhibits neuronal inflammation and protects neurons from oxidative stress. J Neuroinflammation. 2009b; 6: 10.

Tsuge M, Yasui K, Ichiyawa T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, et al. Increase of tumor necrosis factor-alpha in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. Microbiol Immunol. 2010; 54: 417-24.

Umeda K, Matsui T, Nakayama M, Furuse K., Sasaki H, Furuse M, et al. Establishment and characterization of cultured epithelial cells lacking expression of ZO-1. J Biol Chem. 2004; 279: 44785-94.

Van der Kraan PM, Vitters EL, De Vries BJ, van den Berg WB, van de Putte LB. The effect of chronic paracetamol administration to rats on the glycosaminoglycan content of patellar cartilage. Agent and Actions. 1990; 29: 218-23.

Van der Zee J. Acetaminophen protects human erythrocytes against oxidative stress. Chem BioL Interactions. 1988; 65: 15-23.

Van Harreveld A. Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. J Neurochem. 1959; 3: 300-15.

Vaucher E, Tong, XK, Cholet N, Lantin S, Hamel E. GABA neurons provide a rich input to microvessels but not nitric oxide neurons in the rat cerebral cortex: A means for direct regulation of local cerebral blood flow. J Comp Neurol. 2000; 421: 161-71.

Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial barriers: electron microscopist's view. Brain Res Rev. 2003; 42: 221-42.

Wahl M, Schilling L, Parsons AA, Kaumann A. Involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and nitric oxide (NO) in the pial artery dilation elicited by cortical spreading depression. Brain Res. 1994; 637: 204-10.

Wolburg H, Lippoldt A. Tight junctions of the blood–brain barrier: development, composition and regulation. Vascul Pharmacol. 2002; 38: 323-37.

Wolberg H, Neuhaus J, Kniesel U, Krauss B, Schmid EM, Ocalan M, et al. Modulation of tight junction structure in blood-brain barrier endothelial cells. Effects of tissue culture, second messengers and cocultured astrcyte. J Cell Sci. 1994; 107: 1347-534.

Wong D, Dorovini-Zis K, Vincent SR. Cytokines, nitric oxide, and cGMP modulate the permeability of an in vitro model of the human blood–brain barrier. Experimental Neurology. 2004; 190: 446-55.

Yamagata K, Tagami M, Nara Y, Mitani M, Kubota A, Fujino H, et al. Astrocyte-conditioned medium induces blood–brain barrier properties in endothelial cells. Clin Exp Pharmacol Physiol 1997; 24: 710-13.

Yokota C, Kuge Y, Hasegawa Y, Tagaya M, Abumiya T, Ejima N, et al. Unique profile of spreading depression in a primate model. J Cereb Blood Flow Metab. 2002; 22: 835-42.

Yong VW, Krekoski CA, Forsyth PA, Bell R, Edwards DR. Matrix metalloproteinases and diseases of the CNS. Trends Neurosci. 1998; 21: 75-80.

Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. Neuron. 2008; 57: 178-201.

Zygmunt PM, Chuang H, Movahed P, Julius D, Högestätt ED. The anandamide transport inhibitor AM404 activates vanilloid receptors. Eur J Pharmacol. 2000; 396: 39-42.

ภาคผนวก

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้รับการตอบรับให้เข้าร่วมเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์ (poster presentation) ในงานประชุม FENS Featured Regional Meeting ณ กรุงปราก สาธารณรัฐเช็ก ระหว่างวันที่ 11-14 กันยายน 2556

หนังสือตอบรับการนำเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์

FENS Featured Regional Meeting

NEUROSCIENCE IN PRAGUE

11–14 September 2013 | Prague, Czech Republic

Dear Waranurin Yisarakun,

It is our pleasure to inform you that your abstract "Effect of acute and chronic paracetamol treatment on cerebral microvessels in CSD-induced rats" (ID 263) has been **accepted** for a **POSTER** presentation at the FENS Featured Regional Meeting to be held from 11 to 14 September 2013 in Prague, Czech Republic.

The detailed programme and instructions for poster preparation will be available on the Meeting website at the end of June.

In case you have not paid your registration fee for the Meeting yet, please do so immediately otherwise your presentation will be removed from the programme. Further details about the registration can be found here.

With best regards,

FENS Featured Regional Meeting Secretariat
GUARANT International spol. s r.o.
Na Pankráci 17, 140 21 Prague 4, Czech Republic
Tel.: +420 284 001 444 | E-mail: fensrmprague@guarant.cz

www.fensrmprague2013.com

This email is not intended to be spam or to go to anyone who wishes not to receive it. If you do not wish to receive this newsletter and wish to remove your email address from our database please reply to this message with "Unsubscribe" in the subject line.

บทคัดย่อสำหรับการเข้าร่วมเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์

Title:	**Effect of acute and chronic paracetamol treatment on cerebral microvessels in CSD-induced rats**
Authors:	Yisarakun W[1], Supornsilpchai W[2], Chantong C[1], Srikiatkhachorn A[3], Maneesri-le Grand S[1]
Institution:	[1] Chulalongkorn University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, , Bangkok, Thailand; [2] Chulalongkorn University, Faculty of Dentistry, Department of Physiology, , Bangkok, Thailand; [3] Chulalongkorn University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, , Bangkok, Thailand
Preferred presentation form:	Poster
Preferred topic:	E Homeostatic and neuroendocrine systems
Preferred subtopic:	E.9 Brain blood flow, metabolism, and homeostasis
Status:	Abstract submitted

Paracetamol (APAP) is one of the most popular 'over-the-counter' drugs for the treatment of headaches and other pains. Accumulative evidences have confirmed that APAP at therapeutic doses has protective effects. However, in the last decade, adverse effects of APAP treatment have been revealed in several organs. The previous study in the cortical spreading depression (CSD) animal headache model has demonstrated that chronic APAP treatment could induce the hyperexcitability of cortical neurons as well as the hyperemia in the brain. The results indicated that the chronic APAP treatment might sensitize the trigeminovascular nociception in both vascular and neural compartments. However, the mechanism underlying the deterioration of the trigeminovascular nociceptive system has not been clarified. Thus, in this study we aimed to investigate the effect of acute and chronic APAP treatment on the alteration of cerebral microvessels in the condition with and without CSD activation. Rats were separated into the control and APAP treated group. A single dose (200 mg/kg bw) or daily APAP treatment for 30 days was intraperitoneally injected into the rats in the APAP treated group while 0.9% normal saline was given to the control groups. Each group of rats was subdivided into 2 subgroups; with and without CSD activation group. CSD was induced by topical application of solid KCl (3 mg) onto the surface of the right parietal cortex while NaCl (3 mg) was used in the non-CSD induced groups. The results have demonstrated that chronic APAP treatment with CSD activation could induce a higher expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the cerebral cortex than those observed in the non-APAP treatment groups. Further, increase in the alterations of endothelial cells (microvilli, pinocytic vesicles) and astrocytic foot-plate swelling were clearly demonstrated in the APAP treated with CSD activation group as well.

The results might indicate that the effect of chronic APAP treatment can alter the BBB integrity, especially with the combination of CSD activation.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์

(ภาษาอังกฤษ) Supang Maneesri le Grand, Ph.D.

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 5099 00722 44 2

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e- mail

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 66 2256 4000 ต่อ 3519

โทรสาร 66 2652 4208

e-mail le.grand.maneesri.s@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	ปี พ.ศ.ที่สำเร็จ	สถาบันการศึกษา
ปริญญาเอก (สรีรวิทยา)	2546	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาโท (วิทยาศาสตร์การแพทย์)	2540	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาตรี (เทคนิคการแพทย์)	2530	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุ สาขาวิชาการ

-Electron microscopy

-Pathophysiology

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดย ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ผลของไนตริกออกไซด์และไนตริกออกไซด์อินฮิบิเตอร์ ต่อการปรับเปลี่ยนระบบ รับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง (Effect of nitric

oxide and nitric oxide synthase inhibitor on the modulation of trigeminovascular nociception)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สานักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา : 2548-2550

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว

มีผลงานตีพิมพ์แล้ว 2 เรื่อง

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ผลของวิตามินซีต่อการเกิดพยาธิสภาพของเอนโดทีเลียลเซลล์ในหลอดเลือดสมองในหนูเบาหวาน (Effect of vitamin C supplementation on the pathological changes of cerebral endothelial cells on the diabetic rats)

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี : 2549

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ภาวะผิดปกติของกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง จากการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (Abnormality in trigeminovascular nociception: analgesic abuse headache in chronic paracetamol treatment)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ระยะเวลา : 2552-2553

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว

มีผลงานตีพิมพ์แล้ว 1 เรื่อง และกำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่ 1 เรื่อง

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดเลือดสมอง (Pilot Study)

แหล่งทุนที่สนับสนุน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลา : 2554-2555

สถานภาพโครงการ กาลังดาเนินงานวิจัย

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง บทบาทของไนตริกออกไซด์ต่อการหลั่ง calcitonin gene related peptide (CGRP) และการเปลี่ยนแปลงของ blood brain barrier จากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression ในหนูแรทที่มีภาวะพร่องซีโรโตนิน (Role of nitric oxide on the release of calcitonin gene related peptide and alteration of blood brain barrier induced by cortical spreading depression in serotonin depleted rat)

แหล่งทุนที่สนับสนุน ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา : 2554-2555

สถานภาพโครงการ กำลังดาเนินงานวิจัย

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง blood-brain barrier : การศึกษาในสัตว์ทดลองและในเซลล์เพาะเลี้ยง (Effect of chronic paracetamol treatment on the alteration of blood-brain barrier integrity : in vivo and in vitro)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ระยะเวลา : 2556-2557

สถานภาพโครงการ กำลังดำเนินงานวิจัย

7.2.1. เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง การศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของ blood-brain barrier: บทบาทของ inflammatory cytokines (The study of chronic paracetamol treatment on the alteration of blood-brain barrier integrity: roles of inflammatory cytokines)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สานักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา : 3 ปี

สถานภาพโครงการ กำลังดำเนินงานวิจัย

7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย :

7.1.1. เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง พิษงูแมวเซาและการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงมนุษย์ในหลอดทดลอง

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ. 2537)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 1 เรื่อง

7.1.1. เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง Relationship between serotonin and nitric oxide in control of trigeminovascular system: potential role in migraine pathogenesis

แหล่งทุนที่สนับสนุน สานักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ. 2540 ถึง พ.ศ. 2543)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 2 เรื่อง

7.1.1. เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง บทบาทของ nociception ต่อระบบ ไทรเจมมินาลที่กระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ. 2550 ถึง พ.ศ. 2551)

สถานภาพโครงการ กาลังดาเนินการ

กาลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่ 1 เรื่อง

7.1.1. ชื่อโครงการผู้วิจัยหลัก “การตรวจสอบการตายแบบออโตฟาจีของเซลล์ไมโครเกลียที่ ติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี”

แหล่งทุน กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปี 2555

7.3 ผลงานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

<u>ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่</u>

1. Chatchaisak D, Srikiatkhachorn A, Maneesri-le Grand S, Govitrapong P, Chetsawang B. The role of calcitonin gene-related peptide on the increase in transient receptor potential vanilloid-1 levels in trigeminal ganglion and trigeminal nucleus caudalis activation of rat. J Chem Neuroanat. 2013; 47: 50-6.
2. Maneesri-le Grand S*, Supornsilpchai W, Pleumsamran J, Sangchareontham C, Srikiatkhachorn A. Effect of the serotonin depletion on the cortical spreading depression evoked cerebrovascular changes. Asian Biomedicine. 2010; 4: 731-8.
3. Maneesri-le Grand S, Supornsilpchai W, Sangchareontham C, Srikiatkhachorn A*. The Involvement of NO in the facilitation of trigeminovascular nociception induced by the cortical spreading depression in the serotonin depleted state. Headache. 2011 Jun 7. [Epub ahead of print]
4. Supornsilpchai W, le Grand SM, Srikiatkhachorn A. Cortical hyperexcitability and mechanism of medical-overuse headache. Cephalalgia. 2010 Sep;30(9):1101-9. Epub 2010 Mar 19.
5. Chentanez V, Thanomsridejchai N, Duangmardphon N, Agthong S, Kaewsema A, Huanmanop T, Maneesri S. Ganglioside GM1 (porcine) ameliorates paclitaxel-induced neuropathy in rats. J Med Assoc Thai. 2009 Jan;92(1):50-7.
6. Supornsilpchai W, le Grand SM, Srikiatkhachorn A. Involvement of Pro-Nociceptive 5-HT(2A) Receptor in the Pathogenesis of Medication-Overuse Headache. Headache. 2010 Feb;50(2):185-97.
7. Maneepak M, le Grand S, Srikiatkhachorn A*. Serotonin depletion increases nociception-evoked trigeminal NMDA receptor phosphorylation. Headache. 2009 Mar;49(3):375-82.
8. Kaewwongse M, le Grand SM, Srikiatkhachorn A*. Involvement of 5-HT2A receptor in chronic inflammatory pain. Chula Med J 2007 Nov-Dec; 51(11): 471 – 81.

9. Le Grand Maneesri S , Patumraj S, Phansuwan-Pujito P, Srikiatkhachorn A*. Melatonin inhibits cortical spreading depression-evoked trigeminal nociception. Neuroreport. 2006 Nov 6;17(16)1709-13.
10. Levy MJ, Classey JD, Maneesri S, Meeran K, Powell M, Goadsby PJ*. The relationship between neuropeptide Y expression and headache in pituitary tumours. Eur J Neurol. 2006 Feb;13(2): 125-9.
11. Supornsilpchai W, Sanguanrangsirikul S, Maneesri S, Srikiatkhachorn A* Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception. Headache. 2006 Jan;46(1):34-9
12. Levy MJ, Classey JD, Maneesri S, Meeran K, Powell M, Goadsby PJ. The association between calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P and headachein pituitary tumours. Pituitary. 2004;7(2):67-71
13. Maneesri S, Patamanont J, Patumraj S, Srikiatkhachorn A. Cortical spreading depression, meningeal inflammation and trigeminal nociception. Neuroreport. 2004; 15 (10): 163-7.
14. Phupong V, Shuangshoti S, Sutthiruangwong P, Maneesri S, Nuayboonma P, Shotelersuk V. Prenatal diagnosis of Pompe disease by electron microscopy. Arch Gynecol Obstet. 2005; 271: 259-61.
15. Shotelersuk V, Shuangshoti S, Chotivitayatarakorn P, Chouwsrikul W, Wattanasirmkit V, Maneesri S, Nuayboonma P, Viratchai C, Suwangool P. Clinical, pathological, and electron microscopic findings in two Thai children with Pompe disease. J Med Assoc Thai. 2002 ; 85(Suppl 1): S271-9.
16. Patumraj S, Tewit S, Amatyakul S, Jariyapongskul A, Maneesri S, Kasantikul V, Shepro D.Comparative effects of garlic and aspirin on diabetic cardiovascular complications. Drug Deliv. 2000; 7(2):91-6.
17. Srikiatkhachorn A, Anuntasethakul T, Maneesri S, Phansuwan-Pujito P, Patumraj S, Kasantikul V.Hyposerotonin-induced nitric oxide supersensitivity in the cerebral microcirculation. Headache. 2000; 40(4):267-75.
18. Anuntasethakul T, Srikiakhachorn A, Maneesri S, Patumraj S, Kasantikul V. Ultrastructural changes in endothelial cells of cerebral microvessels after exposure to nitric oxide donor. Neuropahology 1999; 19: 249-58.
19. Napathorn S, Tejachokviwat M, Maneesri S, Kasantikul V, Sitprija V. Effects of Russell's viper venom on human erythrocytes in vitro. J Nat Toxins. 1998; 7(1):73-85.

20. Srikiatkhachorn A, Maneesri S, Govitrapong P, Kasantikul V. Derangement of serotonin system in migrainous patients with analgesic abuse headache: clues from platelets. Headache. 1998; 38(1):43-9.

<u>รางวัลวิจัยที่เคยได้รับ (ด้านวิชาการโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับงานวิจัย)</u>

1. รางวัล Kaplan Award จากการประชุม American headache society ณ ประเทศอเมริกา ในปี 2540
2. รางวัลชนะเลิศการประกวดในรูปแบบโปสเตอร์ จากการนาเสนอผลงานเรื่อง Molecular Evidence of Melatonin Receptor in Cerebral Vessels and Potential Anti-Migraine Effect of Melatonin จากการประชุม The sixth European Headache Congress ของสมาพันธ์ศึกษาโรคปวดศีรษะแห่งภาคพื้นยุโรป (European Headache Federation) ณ นครอิสตันบุล ประเทศตรุกี ในระหว่างวันที่ 27-30 มิถุนายน 2545
3. รางวัลชนะเลิศการประกวดผลงานวิจัยของนิสิตหลักสูตรดุษฎีบัณฑิต ในหัวข้อ THE EFFECT OF MELATONIN ON THE CONTROL OF CEREBROVASCULAR NOCICEPTIVE SYSTEM จากการประกวดผลงานวิจัยของนิสิตหลักสูตรดุษฎีบัณฑิต ในการประชุมวิชาการประจาปีพุทธศักราช 2547 ครั้งที่ 45 เมื่อวันที่ 6 กุมภาพันธ์ 2547
4. รางวัลทุนการศึกษา ปราณี ใจอาจ จากการประกวดผลงานวิทยานิพนธ์ นิสิตปริญญาโท-เอก ในการประชุมวิชาการประจาปี ครั้งที่ 33 สรีรวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย เมื่อวันที่ 6 พฤษภาคม 2547
5. รางวัลเสนอผลงานยอดเยี่ยมแบบโปสเตอร์ จากการประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว. เมื่อวันที่ 12-14 ตุลาคม 2549
6. รางวัลเสนอผลงานยอดเยี่ยมแบบโปสเตอร์ จากการประชุม The 10th Biennial Meeting of the Asia Pacific Society of Neurochemistry ที่จังหวัดภูก็ต ประเทศไทย วันที่ 17-20 ตุลาคม 2553
7. รางวัล Travel award จากการประชุม The 8th International Brain research Organization (IBRO) World Congress ที่นคร Florence ประเทศอิตาลี วันที่ 14-18 กรกฎาคม 2554
8. รางวัล Young Investigator Visiting Programmed Poster Award จากการประชุม The 8th International Brain research Organization (IBRO) World Congress ที่นคร Florence ประเทศอิตาลี วันที่ 14-18 กรกฎาคม 2554
9. รางวัล Travel award จากการ The 23rd Biennial Meeting of the International Society of Neurochemistry ที่นคร Athens ประเทศกรีซ วันที่ 28 สิหาคม -1 กันยายน 2554

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ดร. ธนัญญา ทองตัน

(ภาษาอังกฤษ) Thananya Thongtan, Ph.D.

2. เลขหมายประจาตัวประชาชน 3 1005 00269 98 3

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e- mail

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 66 22564482 ต่อ 4114

โทรสาร 66 22564482

e-mail: tthongtan@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	ปี พ.ศ.ที่สำเร็จการศึกษา	สถาบันการศึกษา
ปริญญาเอก (อณูพันธุศาสตร์และพันธุ-วิศวกรรมศาสตร์)	2546	สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ปริญญาโท (Biochemistry & Biophysics)	2540	Oregon State University ประเทศสหรัฐอเมริกา
ปริญญาตรี (ชีวเคมี)	2536	คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

Molecular biology of infectious diseases

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดย ระบุสถานภาพในการทาการวิจัยว่าเป็นผู้อานวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

7.1.1. ชื่อโครงการ “การศึกษาเชิงจลนศาสตร์ในการตอบสนองของเซลล์ไมโครเกลียต่อการติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบ Japanese encephalitis”

แหล่งทุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2549)

7.1.2. ชื่อโครงการ “การวิเคราะห์และศึกษาการแสดงออกของโมเลกุลตัวรับบนผิวเซลล์ไมโครเกลียในเซลล์เพาะเลี้ยงและในสัตว์ทดลองเพื่อยับยั้งการติดเชื้อและการตายแบบ ทาลายตัวเองของเซลล์จากไวรัสไข้สมองอักเสบ Japanese encephalitis”
แหล่งทุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ปี 2552-2553)

7.1.3. ชื่อโครงการผู้วิจัยหลัก “การตรวจสอบการตายแบบออโตฟาจีของเซลล์ไมโครเกลียที่ติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี”
แหล่งทุน กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปี 2555

7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย:

7.2.1. ชื่อโครงการ “การศึกษาลักษณะการแสดงออกของโปรตีนในเซลล์เพาะเลี้ยงทีลิมโฟซด์ ด้วยเทคนิคโปรติโอมิกส์ในสภาวะที่ได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีจีพีโอเวียร์แซดต้นแบบชนิดเดี่ยว สามชนิด”
แหล่งทุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ปี 2552)

7.2.2. ชื่อโครงการ “ผลของโปรตีนวีพีอาร์จากเชื้อเอชไอวีลูกผสมที่พบใหม่ในประเทศไทยต่อ การทาลายตนเองของเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดทีลิมโฟไซท์
แหล่งทุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ปี 2549-2550)

7.2.3. ชื่อโครงการ “ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของ เซลล์บุหลอดเลือดสมอง: โครงสร้างระดับ ultrastructure และการหลั่งสาร proinflammatory cytokines”
แหล่งทุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2553)

7.2.4. ชื่อโครงการ “บทบาทของไนตริกออกไซด์ต่อการหลั่ง calcitonin gene related peptide (CGRP) และการเปลี่ยนแปลงของ blood brain barrier จากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression ในหนูแรทที่มีภาวะพร่องซีโรโตนิน”
แหล่งทุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2554)

7.2.5. ชื่อโครงการ “การศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความเป็นพิษต่อตับเนื่องจากการได้รับยาเนวิราฟีนอย่างต่อเนื่องในผู้ป่วยและในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2”
แหล่งทุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ปี 2555-2556)

7.2.6. ชื่อโครงการ “ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง blood-brain barrier: การศึกษาในสัตว์ทดลองและในเซลล์เพาะเลี้ยง” แหล่งทุน สานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (2555-2556)

7.2.7. ชื่อโครงการ “การศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อ การเปลี่ยนแปลงของ blood-brain barrier: บทบาทของ inflammatory cytokines” แหล่งทุน สานักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (3 ปี)

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

1. Thongtan T, Thepparit C, Smith DR. The involvement of microglial cells in by Japanese encephalitis infections. Clin Dev Immunol. 2012; 4: 615-23.
2. Thongtan T, Wikan N, Wintachai P, Rattanarungsan C, Srisomsap C, Cheepsunthorn P, and Smith DR. (2011). Characterization of putative Japanese encephalitis virus receptor molecules on microglial cells. J Med Virol (manuscript submitted)
3. Thongtan T, Cheepsunthorn P, Chaiworakul V, Rattanarungsan C, Wikan N and Smith DR. (2010). Highly permissive infection of microglial cells by Japanese encephalitis virus: a possible role as a viral reservoir. Microbes Infect. 12(1):37-45.
4. Thongtan T, Panyim S and Smith DR. (2004). Apoptosis in dengue virus infected liver cell lines HepG2 and Hep3B. J Med Virol. 72(3):436-44.
5. Cheng R, Ford BL, O'Neal PE, Mathews CZ, Bradford CS, Thongtan T, Barnes DW, Hendricks JD, Bailey GS. (1997). Zebrafish (Danio rerio) p53 tumor suppressor gene: cDNA sequence and expression during embryogenesis. Mol Mar Biol Biotechnol. 6(2):88-97.

7.4 Abstracts and proceedings :

1. Wongtrakul J, Janphen K, Thongtan T, Roytrakul S, Supparatpinyo K, Smith DR. Detection of potential biomarkers associated with Nevirapine-induced long-term liver toxicity in HepG2 cells using MALDI-TOF-MS. 7 th International Symposium of Protein Society of Thailand, 2 9 -3 1 August 2012, Bangkok, Thailand.
2. Wattanaprasert J, Maneesri-le Grand S, Thongtan T. Japanese encephalitis virus induces autophagy in microglial cells. 3 8 th Congress on Science and Technology of Thailand, 1 7 -1 9 October 2012, Chiang Mai, Thailand.

3. Wongtrakul J, Praparattanapan J, Dantrakul A, Thongtan T. (2008). Effect of Vpr variants from new HIV-1 circulating recombinant forms on the induction of human lymphoblastoid T cell death. Chiang Mai Med J 47(3) (suppl):5.

<u>รางวัลวิจัยที่เคยได้รับ (ด้านวิชาการโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับงานวิจัย)</u>

1. รางวัลเสนอผลงานยอดเยี่ยมแบบโปสเตอร์ จากการประชุม The 10th Biennial Meeting of the Asia Pacific Society of Neurochemistry ที่จังหวัดภูก็ต ประเทศไทย วันที่ 17-20 ตุลาคม 2553
2. รางวัล Travel award จากการประชุม The 8th International Brain research Organization (IBRO) World Congress ที่นคร Florence ประเทศอิตาลี วันที่ 14-18 กรกฎาคม 2554
3. รางวัล Young Investigator Visiting Programme Poster Awardจากการประชุม The 8 th International Brain research Organization (IBRO) World Congress ที่นคร Florence ประเทศอิตาลี วันที่ 14-18 กรกฎาคม 2554

ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นพ. อนันต์ ศรีเกียรติขจร

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Anan Srikiatkhachorn, M.D.

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์ ระดับ 11

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e- mail

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 02-2564267 ext 113
e-mail: fmedask@md2.md.chula.ac.th

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในต่างประเทศ (ปี 2000 - ปัจจุบัน)

1. Srikiatkhachorn A., Anuntasethakul T., Maneesri S., Phansuwan-Pujito P., Patumraj S., Kasantikul V. Hyposerotonin-induced nitric oxide supersensitivity in the cerebral microcirculation. Headache. 2000; 40: 267-275.
2. Govitrapong P., Chagkutip J., Turakitwanakan W., Srikiatkhachorn A. Platelet 5-HT(2A) receptors in schizophrenic patients with and without neuroleptic treatment. Psychiatry Res. 2000; 96: 41-50.
3. Srikiatkhachorn A., Tarasub N., Govitrapong P. Effect of chronic analgesic exposure on the central serotonin system: a possible mechanism of analgesic abuse headache. Headache. 2000; 40: 343-350.
4. Srikiatkhachorn A., Anuntasethakul T., Phansuwan-Pujito P., Patumraj S., Kasantikul V. Effect of serotonin depletion on nitric oxide induced cerebrovascular nociceptive response. Neuroreport. 2001; 12: 967-971.
5. Srikiatkhachorn A. Pathophysiology of chronic daily headache. Curr Pain Headache Rep. 2001; 5: 537-544.
6. Anomasiri W., Sanguanrungsirikul S., Srikiatkhachorn A., Chuntavan P. Changes of immune system in military recruits after the training program. J Med Assoc Thai. 2002; 85 Suppl 1: S327-S335.
7. Srikiatkhachorn A. Chronic daily headache: a scientist's perspective. Headache. 2002; 42: 532-537.
8. Srikiatkhachorn A., Suwattanasophon C., Ruangpattanatawee U., Phansuwan-Pujito P. Wolff Award. 5 -HT2A receptor activation and nitric oxide synthesis: a possible mechanism determining migraine attacks. Headache. 2002; 42: 566-574.

9. Chucharoen P., Chetsawang B., Srikiatkhachorn A., Govitrapong P. Melatonin receptor expression in rat cerebral artery. Neurosci Lett. 2003; 341: 259-261.
10. Suwanwela N., Srikiatkhachorn A., Tangwongchai S., Phanthumchina K., Suwanwela N. Mutation of the Notch 3 gene in a Thai cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy family. J Med Assoc Thai. 2003; 86:178-182.
11. Suwattanasophon C., Phansuwan-Pujito P., Srikiatkhachorn A. 5-HT(1B/1D) serotonin receptor agonist attenuates nitroglycerin-evoked nitric oxide synthase expression in trigeminal pathway. Cephalalgia. 2003; 23: 825-832.
12. Maneesri S., Patamanont J., Patumraj S., Srikiatkhachorn A. Cortical spreading depression, meningeal inflammation and trigeminal nociception. Neuroreport. 2004; 15: 1623-1627.
13. le Grand S.M., Patumraj S., Phansuwan-Pujito P., Srikiatkhachorn A. Melatonin inhibits cortical spreading depression-evoked trigeminal nociception. Neuroreport. 2006; 17: 1709-1713.
14. Srikiatkhachorn A. Towards the better understanding about pathogenesis of chronic daily headache. J Med Assoc Thai. 2006; 89 Suppl 3: S234-S243.
15. Supornsilpchai W., Sanguanrangsirikul S., Maneesri S., Srikiatkhachorn A. Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception. Headache. 2006; 46: 34-39.
16. Chucharoen P., Chetsawang B., Putthaprasart C., Srikiatkhachorn A., Govitrapong P. The presence of melatonin receptors and inhibitory effect of melatonin on hydrogen peroxide-induced endothelial nitric oxide synthase expression in bovine cerebral blood vessels. J Pineal Res. 2007; 43: 35-41.
17. Maneepak M., le Grand S., Srikiatkhachorn A. Serotonin depletion increases nociception-evoked trigeminal NMDA receptor phosphorylation. Headache. 2009; 49: 375-382.
18. Supornsilpchai W., le Grand S.M., Srikiatkhachorn A. Involvement of pro-nociceptive 5-HT2A receptor in the pathogenesis of medication-overuse headache. Headache. 2010; 50: 185-197.
19. Supornsilpchai W., le Grand S.M., Srikiatkhachorn A. Cortical hyperexcitability and mechanism of medication-overuse headache. Cephalalgia. 2010; 30: 1101-1109.
20. Saleewong T, Srikiatkhachorn A, Maneepark M, Chonwerayuth A, Bongsebandhu-phubhakdi S. Quantifying altered long-term potentiation in the CA1 hippocampus. J Integr Neurosci. 2012; 11(3): 243-64.

21. Bongsebandhu-phubhakdi S, Srikiatkhachorn A. Pathophysiology of medication-overuse headache: implications from animal studies. Curr Pain Headache Rep. 2012; 16(1): 110-5.
22. Chatchaisak D, Srikiatkhachorn A, Maneesri-le Grand S, Govitrapong P, Chetsawang B. The role of calcitonin gene-related peptide on the increase in transient receptor potential vanilloid-1 levels in trigeminal ganglion and trigeminal nucleus caudalis activation of rat. J Chem Neuroanat. 2013; 47: 50-6.