รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมอง :โครงสร้างในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอน และการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ

(ภาษาอังกฤษ) Effect of chronic treatment of paracetamol on the pathological changes of cerebral endothelial cells : ultrastructure and proinflammatory cytokines released

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองค์
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช หรือ CU-CLUSTER-FUND
ประจำปีงบประมาณ 2553

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดีจากคณะบุคคลต่างๆ ดังนี้

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อนันต์ ศรีเกียรติขจร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน ที่ได้ให้คำแนะและข้อคิดเห็นต่างๆของการวิจัยมาโดยตลอด

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

คุณ ปรีชา เรืองเวชวรชัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการย้อมชิ้นเนื้อ พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์

คุณวิลาวัลย์ จิอู๋ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาด้วยจุลทรรศน์อิเลคตรอน

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการส่งเสริมการทำงานเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชหรือ CU-CLUSTER-FUND ประจำปีงบประมาณ 2553 แก่โครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองค์ และคณะ

ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมอง : โครงสร้างในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอน และการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ

บทคัดย่อภาษาไทย

การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลแบบต่อเนื่องต่อการเปลี่ยนแปลงหลอดเลือดสมองและการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอล โดยหนูในกลุ่มที่ได้รับพาราเซตตามอลได้รับการฉีดพาราเซตตามอล 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วัน ในขณะที่กลุ่มควบคุมได้รับ NSSแทน ทั้งสองกลุ่มทดลองแบ่งย่อยเป็นกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้งดีเพรสชั่น โดยปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดดิ้งดีเพรสชั่นนั้นถูกเหนี่ยวนำโดยการวางผลึกโพแทสเซียมคลอไรด์ขนาด 3 มิลลิกรัม ลงบนผิวสมอง สัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะถูกนำมาวัดการแสดงออกของของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมอง โดยเทคนิค immunohistochemistry และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองโดยเทคนิค Electron microscopy

ผลการศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานาน (30 วัน) ส่งผลเสียต่อหลอดเลือดสมอง โดยพบว่ามีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุม ดังแสดงได้จากการตรวจพบจำนวน pinocytic vesicle, microvilli ในเซลล์บุหลอดเลือดสมองเพิ่มขึ้น รวมถึง การบวมของเซลล์แอสโตรไซต์เพิ่มขึ้นในหนูกลุ่มนี้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ความผิดปกติของหลอดเลือดสมองที่พบนั้นมีความสอดคล้องกับการพบการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมองเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้นสามารถเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากขึ้น โดยกลไกที่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองนั้นน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมอง

คำสำคัญ : Cortical spreading depression, Paracetamol, Cerebral vessel, Ultrastructure , IL-1, TNF-alpha

Effect of chronic treatment of paracetamol on the pathological changes of cerebral endothelial cells : ultrastructure and proinflammatory cytokines released

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The present study aims to investigate the effect of chronic paracetamol administration on the alteration of the cerebral vessels and the expression of pro-inflammatory cytokines (IL-1, TNF alpha) induced by cortical spreading depression (CSD). The rats were divided into control and paracetamol treated groups. Paracetamol (200 mg/kg BW, intraperitoneally) was injected into the rat daily for a period of 30 days in paracetamol treated group, while normal saline at the same volume was injected into the rat in control group. In both groups the rats were further divided into two subgroups (with and without CSD activation). The CSD was induced by topical application of 3 mg solid KCl on the parietal cortex. After two hours of CSD induction, all rats were humanly killed and the brains were collected. The expression of IL-1 and TNF alpha were studied in cerebral cortex by immunohistochemical technique. The ultrastructural alteration of cerebral vessels were studied by electron microscopy

The results showed that chronic paracetamol exposure could induce an increase in the ultrastructural changes as compared with the control group. The results also demonstrated the increase in the expression of IL-1 and TNF-alpha in the rats with chronic treatment of paracetamol.

The results of the present study indicate that chronic paracetamol exposure can lead to an increase in the cerebrovascular responses to the CSD activation than the control. The increase in the production of the pro-inflammatory cytokines may be at least one mechanism responsible for this hyperexcitability.

Keywords: Cortical spreading depression, Paracetamol, Cerebral vessel, Ultrastructure , IL-1, TNF-alpha

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
Abstract (ไทย)	II
Abstract (English)	III
บทนำ	1
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการศึกษาวิจัย	8
วิจารณ์ผลการทดลอง	14
เอกสารอ้างอิง	17

สารบัญตาราง (List of Tables)

หน้า

ตารางที่ 1. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวน microvilli และ pinocytic vesicle ในเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมอง 9

ตารางที่ 2. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ IL-α ในบริเวณ cerebral cortex 11

ตารางที่ 3. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF-α ในบริเวณ cerebral cortex 13

สารบัญรูป (List of Figures)

หน้า

ภาพที่ 1. ภาพแสดงการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง 4

ภาพที่ 2. ภาพแสดงบริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride (sodium chloride) 6

ภาพที่ 3. ภาพแสดงโครงสร้างของหลอดเลือด capillary 8

ภาพที่ 4. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ IL-1α ในหลอดเลือดสมองบริเวณ cerebral cortex 10

ภาพที่ 5. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF-α ในหลอดเลือดสมองบริเวณ cerebral cortex 12

คำอธิบายสัญญาลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

BBB	: Blood Brain Barier
CGRP	: Calcitonin gene related peptide
CSD	: Cortical Spreading Depression
CSF	: Cerebrospinal fluid
IL-1α	: Interleukin-1 alpha
i.p.	: intraperitoneal
KCl	: Potassium Chloride
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein -1
MIP-1	: Macrophage inhibitory protein-1 factor
NaCl	: Sodium Chloride
NO	: Nitric Oxide
O^{-2}	: Superoxide
ONOO-	: Peroxynitrite
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PGH2	: Prostaglandin H2
SP	: Substance P
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor-alpha

บทนำ (Introduction)

พาราเซตตามอลจัดเป็นยาลดไข้บรรเทาปวดที่นิยมใช้ทั่วไปทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้ว และในประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งรวมถึงในประเทศไทย ที่พบว่า พาราเซตตามอลเป็นยาที่สะดวกในการซื้อ ราคาไม่แพง และมีผลข้างเคียงน้อย ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตนอกเมืองและในชนบท เนื่องจากสามารถซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไปโดยไม่จำเป็นต้องมาพบแพทย์ แต่ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยาพาราเซตตามอล ในการลดปวดมาเป็นเวลานาน แล้วก็ตาม แต่การศึกษากลไกการลดปวดของยานี้กลับมีน้อยมาก

ในประเทศไทยพบว่าการใช้ยาพาราเซตตามอล ในการลดปวดนั้นเป็นที่นิยมสูงมาก แทบทุกครัวเรือนมักจะมียาชนิดนี้ติดบ้านไว้เสมอ และในกลุ่มที่มีอาการปวดศีรษะหรือมีไข้ ยาพาราเซตตามอลก็จะเป็นตัวเลือกแรกที่จะนำมาใช้ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาวิจัยในคนไข้ของคณะผู้วิจัยในปี 1998 กลับพบว่าการได้รับยาลดปวดต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้น มีผลกระทบต่อสมดุลของสารเคมีที่หลั่งในสมองและ มีผลเสียต่ออาการปวดศีรษะของคนไข้ โดยพบว่าในคนไข้ที่ได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน มีปริมาณของแกรนูลทึบซึ่งเป็นแกรนูลที่เป็นแหล่งเก็บซีโรโตนิน ลดลงต่ำกว่าในกลุ่มคนไข้ปกติที่ไม่มีประวัติใช้ยาต่อเนื่อง โดยที่ซีโรโตนินซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มีสำคัญในการควบคุมความเจ็บปวด ดังนั้นการลดลงของแกรนูลทึบที่บรรจุซีโรโตนินในคนไข้กลุ่มนี้ บ่งชี้ว่าการได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องกัน น่าจะมีผลต่อระบบควบคุมความเจ็บปวด (Srikiatchachorn และ Anthony, 1996; Srikiatchachorn และคณะ, 1998)

จากผลการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (ทั้ง in vivo และ in vitro) ก็ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่ายานี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือกระตุ้นกระบวนการอักเสบ ดังผลการศึกษาวิจัยที่พบว่ายาพาราเซตตามอล ใน dose สูง (300 mg/kg) จะสามารถเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มระดับสารที่ส่งเสริมการอักเสบต่างๆ (pro– inflammatory mediators) เช่น Interleukin–1α, Tumor necrotic factor alpha (TNF-α), Macrophage inhibitory protein-1 factor (MIP-1) Monocyte chemoattractant protein -1 (MCP-1) ในขณะเดียวกัน ก็สามารถเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มปริมาณของสารยับยั้งการอักเสบ (anti–inflammation action) ต่างๆ เช่น interleukin-10 และ interleukin-13 ขึ้นมาด้วยเช่นกัน (Dambach และคณะ, 2006; Gardner และคณะ, 2003; Yee และคณะ, 2007)

จากการศึกษาวิจัยผลของยาพาราเซตตามอลพบว่าผลการวิจัยส่วนใหญ่บ่งชี้ถึงผลของยานี้ในด้านการปกป้องเซลล์ อย่างไรก็ดี จากรายงานของกลุ่มวิจัยหลายกลุ่มที่รายงานในช่วง 10 ปีหลังนี้ กลับบ่งชี้ว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ได้ เช่น ผลการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยง pneumocyte พบว่าเมื่อ incubate เซลล์ pneumocyte ร่วมกับพาราเซตตามอล ที่ระดับความเข้มข้นไม่ก่อให้เกิดพิษ (0.05–1 mM) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ glutathione ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระใน

เซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจบ่งชี้ถึงการเพิ่มระดับสารอนุมูลอิสระจนนำไปสู่ภาวะ oxidative stress ในเซลล์ได้ คณะวิจัยได้สรุปว่าการที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้น อาจส่งผลเสียให้กับเซลล์ pneumocyte และอาจเป็นหนึ่งในการเพิ่มปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหอบหืดได้ (Dimova และคณะ, 2005) และในการศึกษาวิจัยของ Posadas และคณะในปี 2010 (Posadas และคณะ, 2010) ซึ่งได้ทำการวิจัยถึงผลของพาราเซตตามอลต่อการตายของเซลล์ประสาท ซึ่งผลของงานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลของงานวิจัยที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ (Trigeminovascular nociceptive system) ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรัง (30 วัน) โดยผลการทดลองในปี 2542 พบว่า การที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน ทำให้ผลของยานี้ต่อการลดความเจ็บปวดจากการกระตุ้นด้วยความร้อนลดลง (Srikiatkhachorn และคณะ, 1999)

สมมุติฐานของการเปลี่ยนแปลงกระบวนการควบคุมความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองจากการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นได้รับการสนับสนุนจากผลการศึกษาวิจัยของคณะผู้วิจัยนี้ (จากโครงการวิจัยใหญ่) โดยพบว่าหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการตอบสนองของ cortical neurons ต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression (CSD) มากกว่ากลุ่มควบคุม (Supronsilpchai และคณะ, 2010a) (การกระตุ้นสัตว์ทดลองด้วยปรากฏการณ์ CSD นั้นเป็นการกระตุ้นต่อทั้งระบบหลอดเลือดสมอง และระบบประสาท trigeminal ซึ่งจัดว่าเป็นโมเดลสัตว์ทดลองที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายในการศึกษาวิจัยโรคปวดศีรษะไมเกรน) ผลการวิจัยในส่วนนี้ยังพบว่าภาวะ hypersensitivity ของ cortical neurons ในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้น เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT2A ทั้งในส่วนของ cerebral cortex และ trigeminal ganglia (Supornsilpchai และคณะ, 2010b) ซึ่งกลไกการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT2A นี้ น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการหลั่งสาร NO ด้วย ซึ่งความเกี่ยวข้องของ NO ในการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองที่มากกว่ากลุ่มควบคุมในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้น ได้รับการยืนยันจากผลการศึกษาในหนูทดลองที่พบว่ามีการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในเซลล์ประสาทบริเวณ cerebral cortex ในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังหลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression (CSD) มากกว่ากลุ่มควบคุม (ศุภางค์ และคณะ : งานวิจัยเสร็จสิ้นกำลังเขียน manuscript) และเป็นที่ทราบกันแล้วว่าการเกิดอาการปวดศีรษะนั้นเกิดจากการที่มีการกระตุ้นเส้นประสาท trigeminal ซึ่งจะทำให้ปลายประสาทที่พันรอบหลอดเลือดหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆ เช่น Calcitonin gene related peptide (CGRP) Substance P (SP) รวมถึง ไนตริกออกไซด์ (NO) ออกมารอบๆ บริเวณหลอดเลือด สารสื่อประสาทเหล่านี้มีคุณสมบัติทำให้หลอดเลือดขยายตัว และสามารถทำให้เกิดการอักเสบปลอดเชื้อ (neurogenic inflammation) ในบริเวณที่หลั่งออกมาได้ ปรากฏการณ์การอักเสบปลอดเชื้อ ที่เกิดขึ้นนี้สามารถกระตุ้นร่างแหประสาท trigeminal และสามารถส่งกระแสประสาทต่อไปจนในท้ายที่สุดสามารถแปล

เป็นความรู้สึกปวดศีรษะได้ โดยทฤษฎีการอักเสบปลอดเชื้อ ในพยาธิกำเนิดของโรคปวดศีรษะนี้มีผลงานวิจัยสนับสนุนหลายงานวิจัย (Moskowitz และคณะ, 1993; Munno และคณะ, 1998) เช่น ในการศึกษาวิจัยที่มีการตรวจพบว่าในคนไข้ไมเกรน มีระดับสาร pro-inflammatory cytokines และ adhesion molecule ชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบปลอดเชื้อ (Transforming growth factor–Beta, TNF alpha, IL-6 และ ICAM-1) เพิ่มขึ้นกว่าในกลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง (Moskowitz และคณะ, 1993; Munno และคณะ, 1998; Sarchielli และคณะ, 2006)

สืบเนื่องจากงานวิจัยของ Supronsilpchai และคณะ ที่พบว่าการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นส่งผลให้มีภาวะ hyperexcitability ของ cortical neurons โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT2A ซึ่งมีผลทำให้มีการกระตุ้นต่อระบบ trigeminovascular nociceptive system ซึ่งเป็นระบบที่มีความเกี่ยวข้องกันอย่างแนบแน่นของระบบประสาท (trigeminal nerve) และระบบหลอดเลือดสมอง (cerebral circulation) มากกว่ากลุ่มหนูปกติ และเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าระบบหลอดเลือดสมองนั้นมีบทบาทสำคัญที่สุดในการปกป้องและควบคุมสมดุลสิ่งแวดล้อมในสมองให้มีความสมดุลและเหมาะสมกับการทำงานของเซลล์สมองโดยจำเป็นต้องมีการทำงานประสานกันของเซลล์ต่างๆ ทั้งเซลล์สมอง และเซลล์หลอดเลือด (neurovascular unit) ประกอบกับเป็นชั้นพิเศษที่เรียกว่า Blood Brain Barrier (BBB) การเปลี่ยนแปลงของระดับของซีโรโตนิน ตัวรับซีโรโตนิน และการกระตุ้นด้วยสาร inflammatory cytokines นั้น ล้วนแล้วมีผลกระทบต่อ BBB integrity ทั้งสิ้น (Maneesri และคณะ, 2010; Tsuge และคณะ, 2010; Wong และคณะ, 2004) ดังนั้น การได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นก็น่าจะส่งผลกระทบต่อ BBB ด้วยเช่นกัน **ซึ่งผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอล เป็นเวลานานต่อการเปลี่ยนแปลงของ BBB นั้นยังไม่มีการศึกษามาก่อน ดังนั้นคณะวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษา ผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนของหลอดเลือดสมอง และการแสดงออกของสาร pro-inflammatory cytokines (TNF alpha และ IL-1) ในหนูทดลองที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD**

โดยความรู้ ที่ได้รับจากการศึกษานี้จะสามารถยืนยันถึงผลกระทบของการใช้ยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองและการหลั่งสารเคมีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบในสมองได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองโดยศึกษาโครงสร้างเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

2.เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (IL-1α, TNF-α) ในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย (Materials & Method)

งานวิจัยประกอบด้วยการศึกษา 2 การศึกษา คือ

1.ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองโดยศึกษาโครงสร้างเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

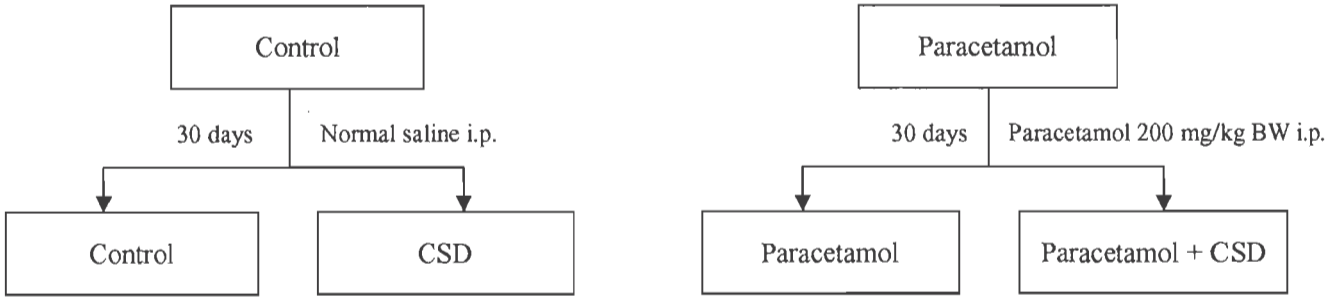
2.ศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (IL-1α, TNF-α) ในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

โดยในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีการแบ่งกลุ่ม และ เตรียมสัตว์ทดลองดังนี้

1.กลุ่มควบคุม

2.กลุ่มทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลความเข้มข้น 200 mg/kg BW อย่างเรื้อรัง

และในแต่ละกลุ่มทำการแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น กลุ่มย่อย ดังแสดงในรูป



ภาพที่ 1 แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง

1.1 กลุ่มควบคุม (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในปริมาณ 1 ml เป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองหลังจากนั้นจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride **ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่**ทำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้ เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

1.2 กลุ่มควบคุมที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในปริมาณ 1 ml เป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) ซึ่งเป็น**สารเคมีที่สามารถกระตุ้น**ให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้ เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

2.1 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอล (n = 8)

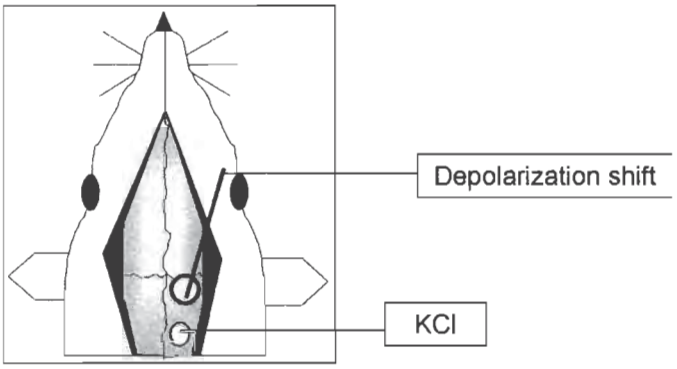
สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดยาพาราเซตตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BWเป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองและได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride **ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่**ทำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้ เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

2.2 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลและได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดยาพาราเซตตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BW เป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) ซึ่งเป็น**สารเคมีที่สามารถกระตุ้น**ให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

การผ่าตัดเตรียมสัตว์ทดลองและเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD

ทำการทดลองในหนูทุกลุ่ม โดยสัตว์ทดลองจะถูกนำมาทำให้สลบโดยใช้ pentobarbital ขนาด 60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมฉีดเข้าช่องท้อง หลังจากสัตว์สลบแล้วทำการเจาะคอและใส่ท่อช่วยหายใจ หลังจากนั้นทำการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณตามที่แสดงไว้ในภาพที่ 2 โดยบริเวณ parietal bone เป็นบริเวณที่เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) หรือสำหรับกลุ่มควบคุมใช้การวาง sodium chloride แทน potassium chlorideโดยในการเจาะกะโหลกศีรษะ ทั้งหมดจะใช้เทคนิค saline cooled drill ในการเจาะเพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบจากการเจาะ และความร้อนจากการ drill ต่อเซลล์ประสาท



ภาพที่ 2 แสดงบริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride (sodium chloride)

การ perfusion เพื่อเก็บตัวอย่าง

หลังจากวาง potassium chloride หรือ artificial CSF ลงบนผิวสมองเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หนูทดลองที่ต้องการศึกษาด้วยเทคนิค immunohistochemistry ทุกตัวจะถูก perfuse ด้วย PBS ปริมาตรทั้งหมด 250 มิลลิลิตร โดนจะทำการผ่าเปิดสัตว์ทดลอง ตั้งแต่ ระดับช่องท้องจนถึงหัวใจ เจาะให้เข็มแทงผ่านตั้งแต่ส่วนยอดหัวใจ ผ่านหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) แล้วจึงผ่าน PBS ลงในท่อยาง ที่ต่อกับเข็มที่แทงไว้แล้ว ทำการ perfuse สัตว์ทดลองจนกระทั่ง PBS หมด จึงทำการ perfuse ต่อด้วย 4% paraformaldehyde ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผ่าตัดเปิดกะโหลกศีรษะ แยกฝากะโหลกศีรษะออก ตัดแยกสมองออกมา แล้วจึงนำสมองที่ได้มาทำการ postfixation โดยการแช่ใน 4% paraformaldehyde ข้ามคืน ในอุณหภูมิ 4 °C จากนั้นจึงนำมาผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ (Dehydration, infiltration, embedding) จนได้พาราฟินบล็อค หลังจากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อสมองที่ได้โดยใช้เครื่อง microtome (Microm HM 50 N) โดยตัดในแนว coronal plane สำหรับส่วนสมอง โดยตั้งความหนาของชิ้นเนื้อที่ 3 ไมโครเมตร วางชิ้นเนื้อที่ตัดได้บนสไลด์ supcr frost plus เพื่อเตรียมย้อมด้วย immunohistochemistry

การศึกษาลักษณะของเซลล์บุหลอดเลือดสมองด้วยวิธี Electron microscopy

ตัดชิ้นเนื้อสมองที่ผ่านการ perfusion เป็นชิ้นขนาด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร แช่ลงใน 3% glutaldehyde ข้ามคืน ล้างชิ้นเนื้อด้วย phosphate buffer นาน 10 นาที 3 ครั้ง และดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วย ethanol series ตามลำดับ ดังนี้ 50% cthanol นาน 5 นาที 2 ครั้ง 70%, 80%, 95% cthanol นาน 10 นาที 2 ครั้ง และ100% ethanol นาน 10 นาที 3 ครั้ง จากนั้นแช่ตัวอย่างใน 100% propylene oxide นาน 10 นาที 3 ครั้ง แล้วเปลี่ยนเป็น 100% propylene oxide : Epon resin อัตราส่วน 1:1 นาน 1-3 ชั่วโมง จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็น 100% Epon resin นานข้ามคืน นำตัวอย่างที่ผ่านการ infiltration ใน Epon resin มาวางลงในแม่พิมพ์พลาสติก ให้อยู่ในตำแหน่งตรงกลางและหน้าตัดขนานกับด้านล่างค่อยๆเติม Epon resin ลงไปประมาณ ¾ ของแม่พิมพ์ จัดตำแหน่งตัวอย่างให้เหมาะสมอีกครั้ง จากนั้นนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C นาน 48 ชั่วโมง ตัด thick scction เพื่อเลือกบริเวณที่สนใจ แล้วจึงตัด thin section ลงบน copper grid ย้อมด้วย uranyl acetate และ lead citrate นำตัวอย่างไปศึกษา tight junction ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนชนิดส่องผ่าน

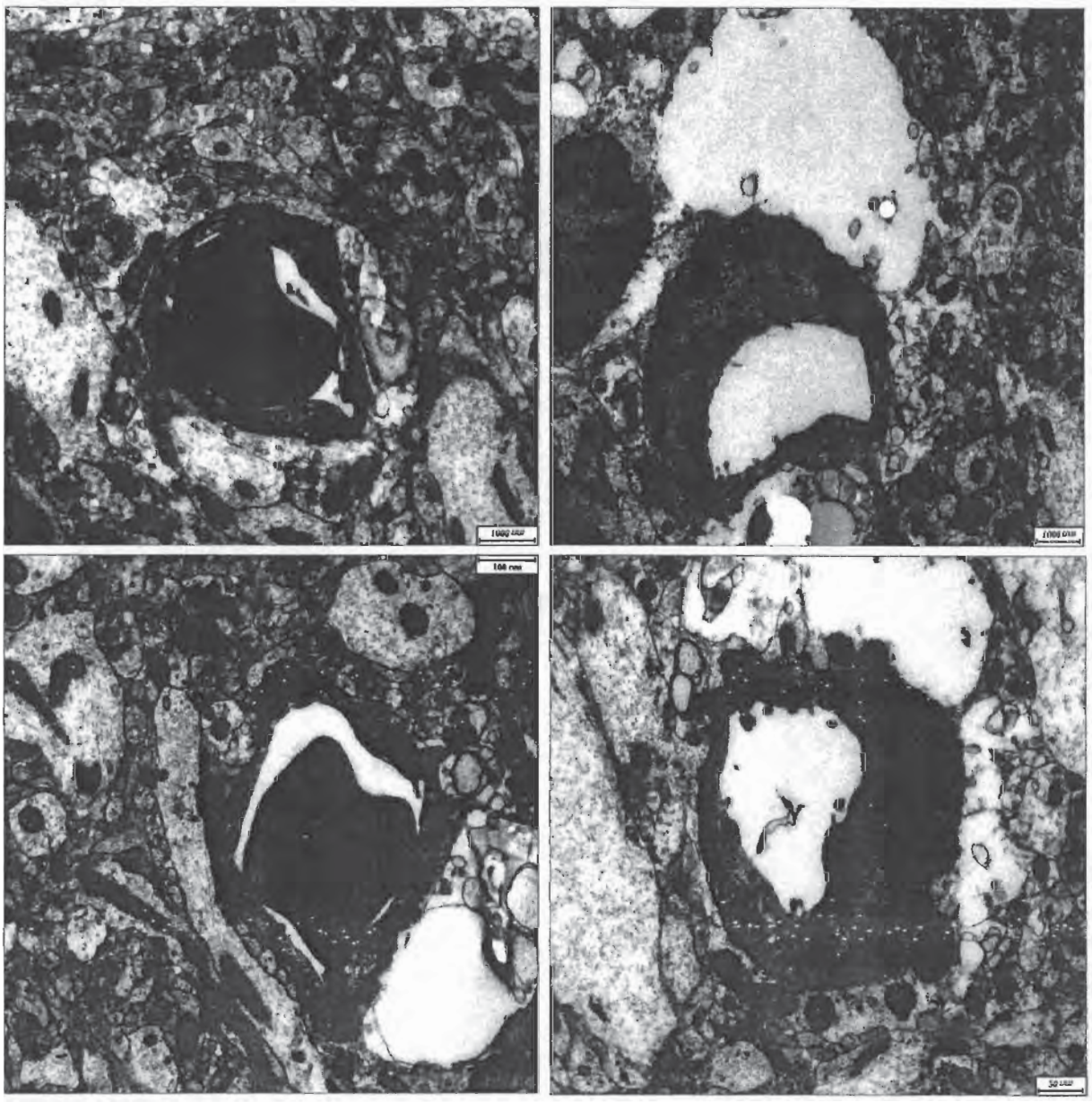
กระบวนการ immunohistochemistry เพื่อศึกษาการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ(IL-1α, TNF-α)

ทำการศึกษาในหนูทุกกลุ่มโดยนำ slide ชิ้นเนื้อที่ได้มาผ่านกระบวนการนำพาราฟินออก และ rehydrated ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นแช่สไลด์ใน citrate buffer pH 6.0 (Dako, Denmark) แล้วให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จากนั้นหยด 3% hydrogen peroxide ลงบน section นาน 5 นาที เพื่อลด endogenous peoxidase เมื่อครบเวลาล้างด้วย phosphate buffer (PBS) นำชิ้นเนื้อมา incubate ใน antibody diluents นาน 10 นาที เพื่อลด non-specific binding แล้วจึงนำมา incubate ด้วย primary antibody (IL-1α, TNF-α) (Santa Cruz Biotechnology, U.S.A.) ใน dilution 1: 200 ที่ 4°C นานข้ามคืน จากนั้นจึงล้าง PBS แล้วบ่มต่อใน secondary antibody (Dako, Denmark) ซึ่งมี horseradish peroxidaseใน dilution ที่เหมาะสม นาน 30 นาที แล้วบ่มด้วย 3,3'-Diaminobenzidine (Sigma) ที่มี hydrogen peroxide เป็นองค์ประกอบ จากนั้นย้อม section ด้วย hematoxylin ล้างและปิดด้วย cover slip นำ slide ที่ได้มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเซลล์ที่มี IL-1α immunoreactive cells หรือเซลล์ที่มี TNF-α immunoreactive cells จะติดสีน้ำตาลเข้มในบริเวณไซโตพลาสซึม และทำการนับจำนวน positive cells ในสมองบริเวณ cortex ในหนูทุกกลุ่ม

ผลการวิจัย (Results)

ผลการศึกษาวิจัยจากการศึกษาที่ 1

ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองโดยศึกษาโครงสร้างเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองในระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD



ภาพที่ 3. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแสดงโครงสร้างของหลอดเลือด capillary ในหนูปกติ (A) หนูปกติที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression (B) หนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (C) หนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression (D). Bar = 1000 nm.

ผลการศึกษายังพบว่าในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง มีการเปลี่ยนแปลงของ endothelial cell ของหลอดเลือดสมองหลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical spreading depression มากกว่าหนูปกติ โดยพบว่าในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง หลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression มีการเปลี่ยนแปลงด้านโครงสร้างของหลอดเลือด capillary อย่างชัดเจน โดยพบว่าสามารถตรวจพบการบวมของเซลล์แอสโทรไซต์ (astrocytic foot plate) ซึ่งเกาะอยู่รอบๆหลอดเลือดได้มากกว่ากลุ่มหนูที่ไม่ได้รับยาพาราเซตตามอล ดังแสดงในภาพที่ 1

นอกจากนั้นการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลง microvilli ในหลอดเลือด capillary พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน microvilli ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง ร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression มีค่าเท่ากับ 3.7± 1.3 microvilli/หลอดเลือด ซึ่งมากกว่ากลุ่มหนูที่ไม่ได้รับยาพาราเซตตามอล (1.7 ± 0.8 microvilli/หลอดเลือด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบค่าของ pinocytic vesicle ในเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองจากหนูทั้งหมด พบว่า pinocytic vesicle ในหนูกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression (45±8 vesicle / ตารางไมโครเมตร) มากกว่าจำนวน pinocytic vesicle ของหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับยาพาราเซตตามอล (32 ± 9 vesicle / ตารางไมโครเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 1 และตารางที่ 1

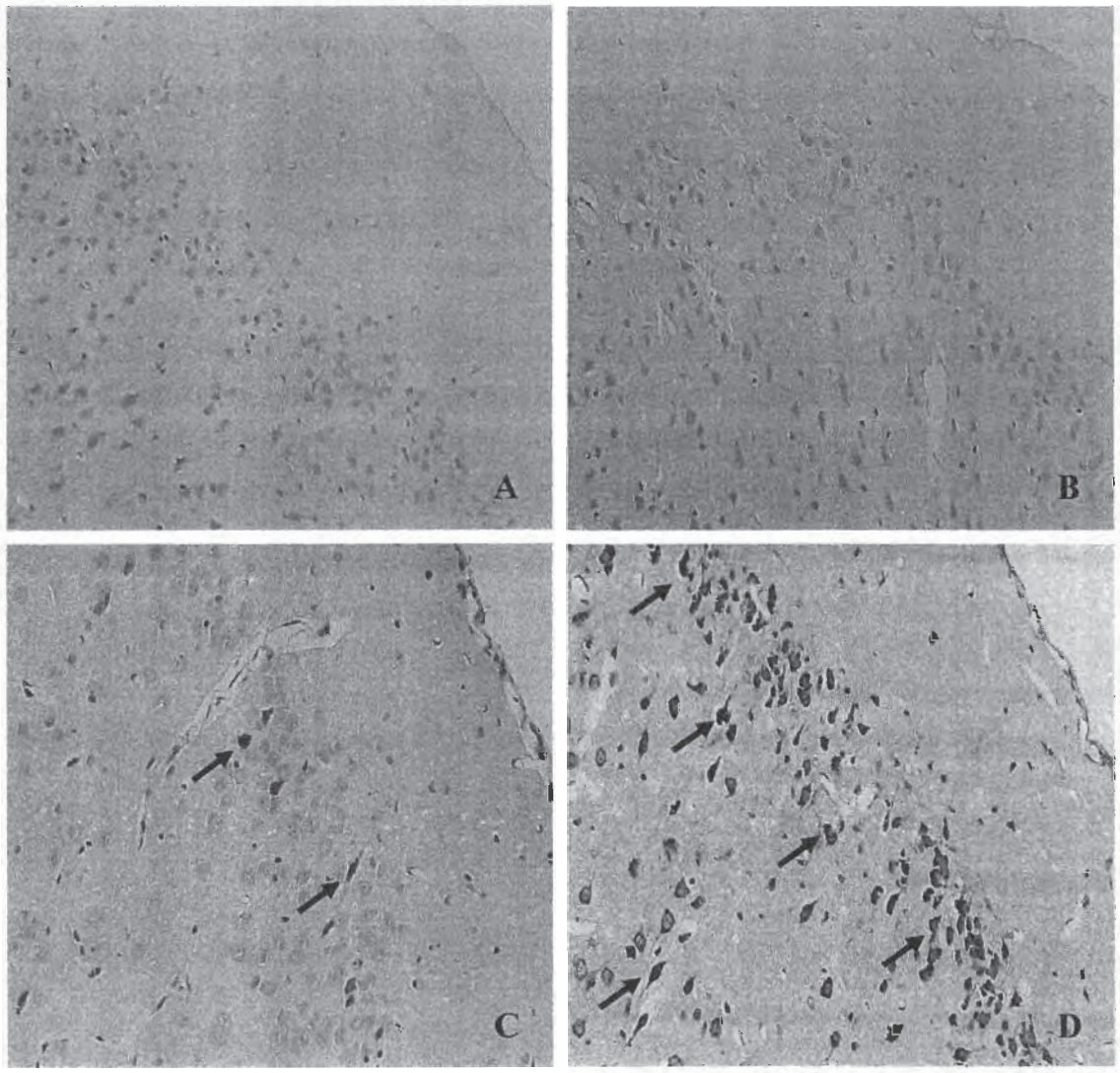
ตารางที่ 1. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวน microvilli และ pinocytic vesicle ในเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (chronic treatment) ร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

Group	Microvilli	Pinocytic vesicles
Control	1.5 ± 0.7	20 ± 11
CSD	1.7 ± 0.8	24 ± 10
Paracetamol	1.8 ± 0.9	32 ± 9
Paracetamol with CSD	3.7 ± 1.3*	45 ± 8*

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control ($p< 0.05$)

ผลการศึกษาวิจัยจากการศึกษาที่ 2

ศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (IL-1α, TNF-α) ในหนูที่ได้รับ/ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD



ภาพที่ 4. จากภาพการศึกษาในบริเวณ cerebral cortex ของชิ้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D) นั้น มีจำนวนของ IL-1α immunopositive cells ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม (arrow) เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม (A) และมากกว่ากลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ไม่ได้รับยา (B) และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (C)

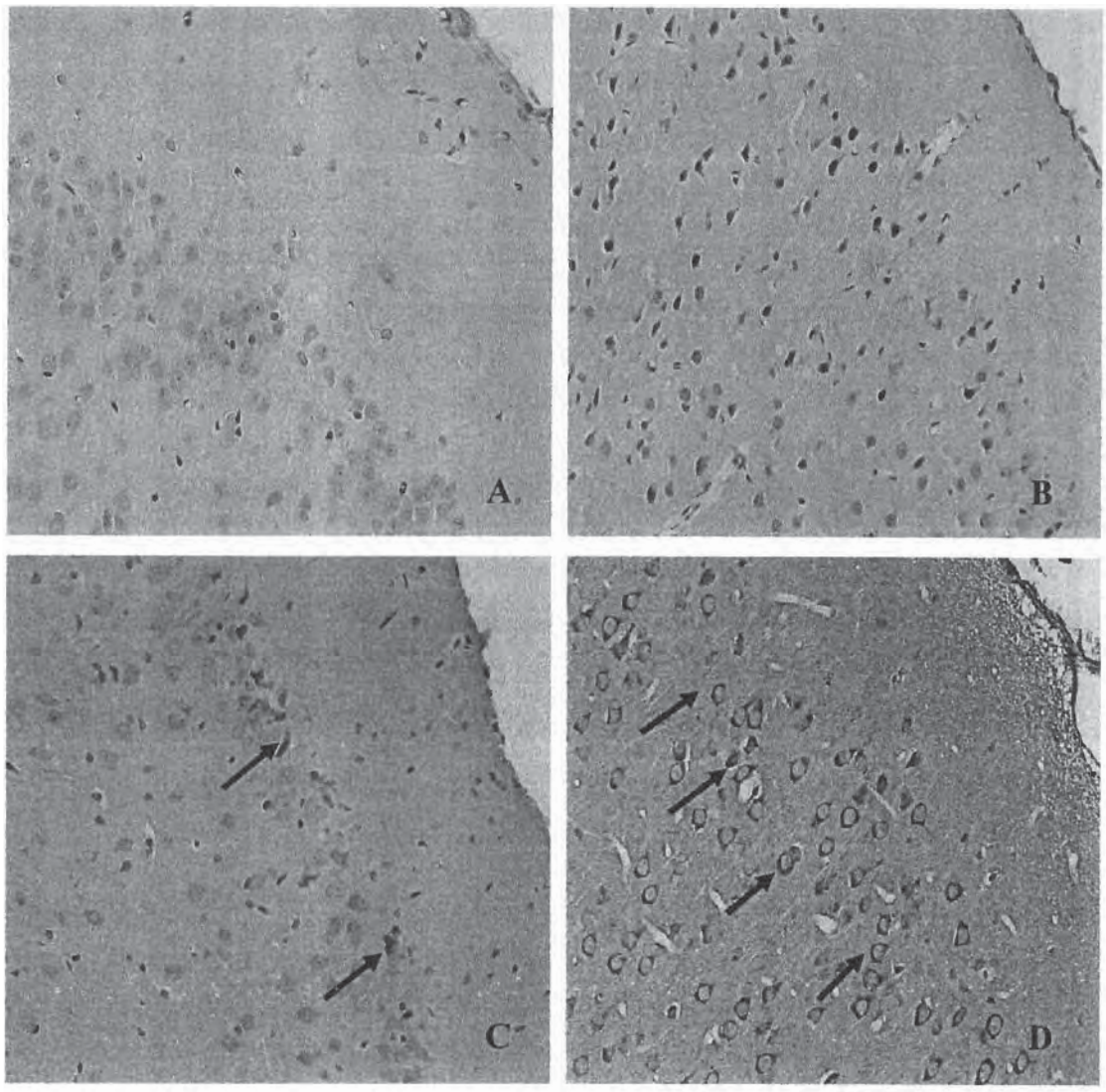
เมื่อทำการศึกษาการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบในชิ้นเนื้อตัวอย่างในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตตามอลลอย่างเรื้อรัง ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (30 วัน) และหนูกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังโดยไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ IL-1α มากกว่าในหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSDโดยไม่ได้รับยาพาราเซตตามอล พบว่า ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังโดยไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ IL-1 มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSDโดยไม่ได้รับยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังผลแสดงในภาพที่ 2 และตารางที่ 2

ตารางที่ 2. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ IL-1α ในบริเวณ cerebral cortex ในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (chronic treatment) ร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

Group	**Chronic treatment study (cells/100μm^2)**
Control	2.42 ± 0.64
Control with CSD	2.61 ± 0.92
Paracetamol treatment	5.11 ± 0.59*#
Paracetamol with CSD	5.84 ± 0.26*#

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control ($p< 0.05$)

\# แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม CSD ($p< 0.05$)



ภาพที่ 5. จากภาพการศึกษาในบริเวณ cerebral cortex ของชิ้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D) นั้น มีจำนวนของ TNF-α immunopositive cells ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซม (arrow) เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม (A) และมากกว่ากลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ไม่ได้รับยา (B) และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (C)

เมื่อทำการศึกษาการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบในชิ้นเนื้อตัวอย่างในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตตามอลลออย่างเรื้อรัง ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (30 วัน) สามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF-α มากกว่าในหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดยไม่ได้รับยาพาราเซตตามอล พบว่า ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบมากกว่าในกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดยไม่ได้รับยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังผลแสดงในภาพที่ 3 และตารางที่ 3

ตารางที่ 3. แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF-α ในบริเวณ cerebral cortex ในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง (chronic treatment) ร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

Groups	**Chronic treatment study (cells/100μm^2)**
Control	2.11 ± 0.27
Control with CSD	2.22 ± 0.38
Paracetamol treatment	2.49 ± 0.34
Paracetamol with CSD	4.23 ± 0.67*#

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control ($p< 0.05$)

\# แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม CSD ($p< 0.05$)

อภิปราย/วิจารณ์ (Discussion)

ผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือดสมอง (Trigemino vascular system) มีการตอบสนองที่ต่างกันระหว่างการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยพบว่า การได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานาน (30 วัน) กลับส่งผลเสียต่อหลอดเลือดสมอง โดยพบว่ามีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากขึ้น ดังแสดงได้จากการตรวจพบจำนวน pinocytic vesicle, microvilli ในเซลล์บุหลอดเลือดสมองเพิ่มขึ้นรวมถึง การบวมของเซลล์แอสโตรไซต์เพิ่มขึ้นในหนูกลุ่มนี้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ความผิดปกติของหลอดเลือดสมองที่พบนั้นมีความสอดคล้องกับการพบการแสดงออกของสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมองเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรัง

ยาพาราเซตตามอล จัดว่าเป็นยาลดไข้บรรเทาปวดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมาเป็นเวลานาน แต่ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยานี้มาเป็นเวลานาแล้วก็ตาม กลไกการออกฤทธิ์ของยานี้กลับยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากผลการวิจัยของคณะวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ลดปวดของยาพาราเซตตามอลนั้นมีข้อสรุปเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยานี้ว่าอาจออกฤทธิ์ผ่านกลไกต่างๆ กัน เช่น การออกฤทธิ์ผ่านกลไกการต้านการสร้างสาร prostaglandin H2 (PGH2) การออกฤทธิ์ผ่านระบบซีโรโตนิน (Tjolsenและคณะ, 1991) การออกฤทธิ์ผ่านตำรับ canabinoid (Ottaniและคณะ, 2006) รวมถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งไนตริกออกไซด์ (Bjorkman และคณะ, 1995) เป็นต้น

จากผลการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตตามอลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (ทั้ง in vivo และ in vitro) ก็ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่ายานี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือกระตุ้นกระบวนการอักเสบ ดังผลการศึกษาวิจัยที่พบว่ายาพาราเซตตามอล ใน dose สูง (300 mg/kg) จะสามารถเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มระดับสารกระตุ้นการอักเสบต่างๆ (pro– inflammatory mediators) เช่น Interleukin–1α, Tumor necrotic factor alpha (TNF-α), Macrophage inhibitory protein-1 factor (MIP-1) Monocyte chemoattractant protein -1 (MCP-1) ในขณะเดียวกัน ก็สามารถเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มปริมาณของสารยับยั้งการอักเสบ (anti–inflammation action) ต่างๆ เช่น interleukin-10 และ interleukin-13 ขึ้นมาด้วยเช่นกัน (Dambach และคณะ, 2006; Gardner และคณะ, 2003; Yee และคณะ, 2007)

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่า กลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นมีการแสดงออกของ TNF alpha และ IL-1 ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการการอักเสบในสมองมากกว่ากลุ่มหนูควบคุม โดยจะมีการแสดงออกมากขึ้นเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดยกลไกของการกระตุ้นการแสดงออกของ TNF alpha และ IL-1ในสมองของหนูกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นยังไม่สามารถสรุปได้จากผลการวิจัยในครั้งนี้ แต่คณะวิจัยคาดว่าน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองของ cortical neurons ร่วมกับ

การเพิ่มขึ้นของแสดงออกของ NOS ในสมองของหนูกลุ่มนี้ เนื่องจากผลการศึกษาก่อนหน้านี้ของคณะวิจัยพบว่าหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีการตอบสนองของ cortical neurons ต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุม และภาวะ hypersensitivity ของ cortical neurons นี้เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT2A ทั้งในส่วนของ cerebral cortex และ trigeminal ganglia (Supornsilpchai และคณะ,2010) ซึ่งกลไกการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_{2A} นี้ มีความเกี่ยวข้องกับการหลั่งสาร NO ด้วย (Srikiatkhachorn และคณะ, 2002) ซึ่งความเกี่ยวข้องของ NO ในการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองที่มากกว่ากลุ่มควบคุมในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังนั้นได้รับการยืนยันจากผลการศึกษาในหนูทดลองที่พบว่ามีการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในเซลล์ประสาทบริเวณ cerebral cortex ในหนูที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังหลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression (CSD) มากกว่ากลุ่มควบคุม (ศุภางค์ และคณะ : งานวิจัยเสร็จสิ้น กำลังเขียน manuscript)

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าปรากฏการณ์ CSD นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารเคมีหลายชนิดออกมาจาก cortical neuron สารเคมีเหล่านี้รวมถึง Glutamate และ NO (Davies และคณะ, 1995) ซึ่งเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่าทั้ง CGRP และ NO ต่างเป็นสารเคมีที่มีบทบาทสำคัญต่อการตอบสนองของระบบหลอดเลือดสมอง

ซึ่งผลที่พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังมีภาวะ hypersensitivity ของ cortical neurons เมื่อถูกกระตุ้นให้เกิด CSD โดยมีการเกิด CSD ในความถี่ที่มากกว่ากลุ่มควบคุมนั้น แสดงว่าในหนูกลุ่มนี้มีการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆรวมถึง CGRP, Glutamate และ NO ออกมามากกว่าในกลุ่มควบคุม และเป็นที่ทราบกันดีว่า CGRP และการกระตุ้นตัวรับ NMDA นั้นสามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดการหลั่ง NO ออกมาได้ ซึ่งจะทำให้มีปริมาณของ NO ในบริเวณผิวสมองของกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตตามอลเรื้อรังมากกว่ากลุ่มอื่นๆ NO เมื่อถูกหลั่งออกมาจะสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ O^{-2} (Superoxide) ได้เป็นสารอนุมูลอิสระ ONOO- (Peroxynitrite)

Peroxynitrite เป็นโมเลกุลอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ต่างๆรวมถึง endothelial cell ด้วย โดยมีการรายงานถึงบทบาทของ peroxynitrite ต่อความผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือดเช่นการเปลี่ยนแปลงการไหลเวียนเลือด การเกิดการรั่วของโปรตีนออกนอกหลอดเลือด เป็นต้น (Darvesh และคณะ, 2005) ซึ่งความเกี่ยวข้องของการเพิ่มปริมาณ NO ในสมองกับภาวะความผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือดในสมองนั้นได้รับการสนับสนุนจากผลการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัย (Mayhan 1996, 1999, 2000, Kumar และคณะ, 2008)

ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของ NO ที่พบในกลุ่มที่ได้รับยาลดปวดนี้ต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน จึงน่าจะเป็นเหตุผลหนึ่งในการที่จะอธิบายการเกิดภาวะกระตุ้นต่อการสร้างสารกระตุ้นการอักเสบ TNF alpha และ IL-1 ในสมองเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในท้ายที่สุดจะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลอดเลือดสมองมากกว่ากลุ่มควบคุม

อย่างไรก็ดีการที่จะสามารถสรุปถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลอย่างเรื้อรังต่อการเกิดความผิดปกติของระบบหลอดเลือดสมองนั้นยังจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมถึงการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆออกมาเมื่อมีเกิดความผิดปกติของหลอดเลือด ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไมโครเกลีย (microglia) เซลล์เอสโตรไซต์ (astrocyte) และเซลล์ประสาทที่ล้อมรอบหลอดเลือด (neurons) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของ Blood Brain Barrier รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ tight junction protein หากเซลล์เหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงก็จะบ่งบอกถึงการสูญเสียการทำงานของ BBB integrity ตามมาด้วย

ประโยชน์ในทางประยุกต์ของงานวิจัยที่ได้

1.สามารถเข้าใจถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานานต่อการเปลี่ยนแปลงของ blood brain barrier ทั้งผลกระทบต่อเซลล์หลอดเลือดสมอง

2.สามารถเข้าใจถึงผลกระทบของการได้รับยาพาราเซตตามอลเป็นเวลานานต่อการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokine) ในสมองเมื่อได้รับการกระตุ้น

เอกสารอ้างอิง

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

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.

Dambach DM, Durham SK, Laskin JD, Laskin DL. Distinct roles of NF-kappa B p50 in the regulation of acetaminophen-induced inflammatory mediator production and hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006; 211: 157-165.

Darvesh AS, Yamamoto BK, Gudelsky GA. Evidence for the Involvement of Nitric Oxide in 3,4-Methylenedioxymethamphetamine-Induced Serotonin Depletion in the Rat Brain. J Pharmacol Exp Ther. 2005; 312: 694-701.

Davies JA, Annels SJ, Dickie BG, Ellis Y, Knott NJ. A comparison between the stimulated and paroxysmal release of endogenous amino acids from rat cerebellar, striatal and hippocampal slices: a manifestation of spreading depression? *J Neurol Sci.* 1995; 131: 8–14.

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.

Gardner CR, Laskin JD, Dambach DM, Chiu H, Durham SK, Zhou P, Bruno M, Gerecke DR, Gordon MK, Laskin DL. Exaggerated hepatoxicity of acetaminophen in mice lack tumor necrosis factor receptor-1. Potential role of inflammatory mediators. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003; 192: 118–130.

Kumar P, Tewari RK, Sharma PN. Modulation of copper toxicity induced oxidative damage by excess supply of iron in maize plants. *Plant Cell Rep*.2008; 27: 399-409.

Mayhan WG. Nitric oxide donor-induced increase in permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res.* 2000; 866:101-108.

Mayhan WG. Role of nitric oxide in histamine-induced increases in permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res*. 1996; 743:70-76.

Mayhan WG. VEGF increases permeability of the blood-brain barrier via a nitric oxide synthase/cGMP-dependent pathway. *Am J Physiol.*1999; 276: C1148-C1153.

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; 4:731-738.

Moskowitz MA, Cutrer FM. SUMATRIPTAN: a receptor-targeted treatment for migraine. Annu Rev Med. 1993; 44:145-154.

Munno I, Damiani S, Scardapane R, Lacedra G, Megna M, Patimo C, Megna GF. Evaluation of hypothalamic-pituitary-adrenocortical hormones and inflammatory cytokines in patients with persistent vegetative state. Immunopharmacol Immunotoxicol. 1998; 20: 519-529.

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; 531:280–281.

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

Sarchielli P, Gallai V. Nerve growth factor and chronic daily headache: a potential implication for therapy. Expert Rev Neurother. 2004; 4: 115-127.

Srikiatkhachorn A, Antony M. Serotonin receptor adaptation in patients with analgesic-induced headache. *Cephalalgia.* 1996; 16: 419-422.

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: 43-49.

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.

Srikiatkhachorn A, Tarasub N, Govitrapong P. Acetaminophen-induced antinociception via central 5-HT2A receptors. Neurochemistry International. 1999; 34:491-498.

Supornsilpchai W, le Grand SM, Srikiatkhachorn A. Cortical hyperexcitability and mechanism of medical overuse headache. Cephalalgia. 2010a; 30:1101-1109.

Supornsilpchai W, le grand SM, Srikiatkhachorn A. Involvement of pro-nociceptive 5-HT2A receptor in the pathogenesis of medication-overuse headache. Headache. 2010b; 50:185-197.

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.

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: 417-424.

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; 190:446–455.

Yee SB, Bourdi M, Masson MJ, Pohl LR. Hepatoprotective role of endogenous interleukin-13 in a murine model of acetaminophen-induced liver disease. *Chem. Res. Toxicol.* 2007;20:734–744.

ประวัติผู้วิจัย

ผู้วิจัยหลัก

1. ชื่อ : ผศ. ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์

: Dr. Supang Maneesri le Grand

2. ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ประจำภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

3. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

: ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมายเลขโทรศัพท์ 0-2252-8181 ext 3519

e-mail smedsms@md2.md.chula.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

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

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ :

5.1 Electron microscopy for the ultrastructural study

5.2 ประสาทวิทยา(โรคปวดศรีษะ)

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

6.2.1 เป็นผู้วิจัยหลักเรื่อง ผลของไนตริกออกไซด์และไนตริกออกไซด์อินฮิบิเตอร์ ต่อการปรับเปลี่ยนระบบ รับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง (Effect of nitric oxide and nitric oxide synthase inhibitor on the modulation of trigeminovascular nociception)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา : 2548-2550

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่

โดยผลงานส่วนหนึ่ง ได้นำเสนอในการประชุม นักวิจัยรุ่นใหม่ พบ เมธีวิจัยอาวุโส สกว วันที่ 12 ตุลาคม – 14 ตุลาคม 2549 ประเทศไทย ในหัวข้อเรื่อง Serotonin depletion enhances the trigeminal nociception: vascular vs. neuronal mechanism และได้รับรางวัลการเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ยอดเยี่ยม

6.2.2 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 กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่

6.2.3 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง บทบาทของ nociceptin ต่อระบบ ไทรเจมมินาลที่กระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2550 ถึง พ.ศ 2551)

สถานภาพโครงการ กำลังดำเนินการ

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

แหล่งทุนที่สนับสนุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2540 ถึง พ.ศ 2543)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 2 เรื่อง

6.2.5 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง พิษงูแมวเซาและการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงมนุษย์ในหลอดทดลอง

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2537)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 1 เรื่อง

6.3 ผู้ร่วมโครงการวิจัย

6.3.1 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง พิษงูแมวเซาและการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงมนุษย์ในหลอดทดลอง

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2537)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 1 เรื่อง

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

แหล่งทุนที่สนับสนุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2540 ถึง พ.ศ 2543)

สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 2 เรื่อง

6.3.3 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง บทบาทของ nociceptin ต่อระบบ ไทรเจมมินาลที่กระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2550 ถึง พ.ศ 2551)

สถานภาพโครงการ กำลังดำเนินการ

กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่ 1 เรื่อง

6.4 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

6.4.1 ผลของไนตริกออกไซด์และไนตริกออกไซด์อินฮิบิเตอร์ ต่อการปรับเปลี่ยนระบบ รับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง (Effect of nitric oxide and nitric oxide synthase inhibitor on the modulation of trigeminovascular nociception)

แหล่งทุนที่สนับสนุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์ ในวารสาร Headache

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

แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์ ในวารสารที่เหมาะสม

7. ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ :

1. **Maneesri-le Grand S***, Chatthong C , Pleumsamran J, Sangchareontham C, Srikiatkhachorn A. The inhibition of the expression of calcitonin gene related peptide by melatonin in rats with nitric oxide donor infusion. (manuscript submitted).
2. **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] และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.642
3. **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 . vol 4, No 5 Oct 2010; 731-38.
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. และมีค่า impact factor เท่ากับ 4.265
5. 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. และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.642
6. 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.
7. Maneepak M, **le Grand S**, Srikiatkhachorn A*. Serotonin depletion increases nociception-evoked trigeminal NMDA receptor phosphorylation. Headache. 2009 Mar; 49(3):375-82. และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.642
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. และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.137

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. และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.437

11. Supornsilpchai W, Sanguanrangsirikul S, Maneesri S, Srikiatkhachorn A. Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception. Headache. 2006 Jan;46(1):34-9 และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.740

12. Levy MJ, Classey JD, **Maneesri S**, Meeran K, Powell M, Goadsby PJ. The association between calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P and headache in 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. และมีค่า impact factor เท่ากับ 2.351

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.

21. Kasantikul V, Keelawat S, **Maneesri S,** Panichabhongse V. Moderately differentiated neuroendocrine carcinoma (atypical carcinoid) of the larynx. J Med Assoc Thai. 1997; 80(6):396-401.

22. Srikiatkhachorn A, Kasantikul V, **Maneesri S**, Govitrapong P. Alteration of serotonergic transmission in migraine patients with analgeseics abuse headkache. In: Proceeding of the Chulalongkorn University 80th Anniversary Research Conference. Bangkok, Chulalongkorn University Press 1997; 527-38.

23. Kasantikul V, Triratanachart S, **Maneesri S**, Panichabhongse V. Primary ovarian carcinoid: a mixture of insular, trabecular and mucinous components. J Med Assoc Thai. 1996; 79(3):200-4.

24. Kasantikul V, Punyavoravut V, **Maneesri S,** Panichabhongse V. Mucin-producing malignant meningioma with papillary and glandular patterns. J Med Assoc Thai. 1995; 78(11):635-40.

25. Kasantikul V, **Maneesri S,** Lerdlum S, Panichabhongse V. Calcified cystic pituitary prolactinoma.J Med Assoc Thai. 1995; 78(9):497-501.

26. Kasantikul V, Maneesri S, Lerdlum S. Lipoblastic meningioma: a light and electron microscopic study. J Med Assoc Thai. 1995; 78(5):276-80.

27. Kasantikul V, **Maneesri S**, Panichabhong V, Lerdlum S. Adenosquamous carcinoma of the thyroid: a case report and review of the literature. J Med Assoc Thai. 1995; 78(4):197-203. Review.

28. Kasantikul V, Maneesri S, Sriwatana S, Vajarapongse K. Congenital hemihypertrophy with adrenocortical adenoma. J Med Assoc Thai. 1994; 77(11):612-6. Review.