

ผลของไนตริกออกไซด์ และไนตริกออกไซด์ซินเทสอินฮิบิเตอร์ ต่อการปรับเปลี่ยนระบบรับความเจ็บปวดจาก

หลอดเลือดสมอง

ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองค์, วีระ สุพรศิลป์ชัย และ อนันต์ ศรีเกียรติขจร*

a: ภาควิชาพยาธิวิทยา b: ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ c: ภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330 ประเทศไทย

วัตถุประสงค์— เพื่อศึกษาบทบาทของ NO ต่อกระบวนการรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง จากปรากฏการณ์ Cortical Spreading Depression ในภาวะพร่องซีโรโดนิน

วิธีศึกษาวิจัย— การศึกษาวิจัยนี้ใช้หนูพันธุ์ Wistar เพศผู้ โดย แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ กลุ่มหนูควบคุม กลุ่มหนูควบคุมที่ได้รับสาร nitric oxide synthase inhibitor กลุ่มหนูทดลองที่มีภาวะพร่องซีโรโดนิน และ กลุ่มหนูทดลองที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินที่ได้รับสาร nitric oxide synthase inhibitor โดยภาวะพร่องซีโรโดนิน ถูกเหนี่ยวนำโดยการฉีดสาร para-chlorophenylalanine (PCPA) ในความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/กิโลกรัม เข้าในช่องท้อง เป็นเวลา 3 วันก่อนจะนำไปศึกษาทดลอง และกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับสาร nitric oxide synthase inhibitor จะได้รับ สาร L-NAME ในความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/กิโลกรัม ผ่านทางหลอดเลือดหลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression และเกิดคลื่นไฟฟ้าบนผิวสมอง (Depolarization shift, DC shift) แล้ว 2 คลื่น ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดสมองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และทำการทำการศึกษารายการแสดงออกของโปรตีน Fos และ NOS ด้วยวิธี immunohistochemistry และทำการทำการศึกษารายการแสดงออกของโปรตีน Fos และ NOS และการแสดงออกของโปรตีน CGRP และ NOS ด้วยวิธี double immunohistochemistry.

ผลการทดลอง— การกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression ในหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินก่อให้เกิดการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองมากกว่าในหนูปกติ โดยพบว่าในหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนิน มีการเปลี่ยนแปลงของ endothelial cell ของหลอดเลือดสมองในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการทดลองยังพบว่า การได้รับสาร L-NAME สามารถลดการเปลี่ยนแปลง ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression ในกลุ่มหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินลงได้ โดยผลการศึกษาในหลอดเลือดพบว่า โดยพบว่าจำนวน microvilli และ pinocytic vesicle ในหนูกลุ่มหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินที่ได้รับสาร L-NAME มีจำนวนน้อยกว่าหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินที่ไม่ได้รับสาร L-NAME อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการทดลองยังพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในกลุ่มหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินที่ได้รับสาร L-NAME เท่ากับ 19 ± 3 เซลล์ ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนินที่ไม่ได้รับสาร L-NAME 25 ± 1 เซลล์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การได้รับสาร L-NAME ยังสามารถลดจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ลงจาก 32 ± 3 เซลล์ ในกลุ่มหนูที่มีภาวะพร่องซีโรโดนิน เป็น 23 ± 1 เซลล์ ในกลุ่มหนูพร่องซีโรโดนินที่ได้รับสาร L-NAME นอกจากนี้ผลจากการศึกษาการแสดงผลการแสดงออกของโปรตีน Fos และ NOS และการแสดงออกของโปรตีน CGRP และ NOS ด้วยวิธี double immunohistochemistry พบว่า เซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS นั้นอยู่ร่วมในบริเวณเดียวกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน Fos และ CGRP ในหนูทดลองทุกกลุ่ม

สรุป: จากการที่การยับยั้งการสร้าง nitric oxide สามารถลดการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองในหนูที่มีระดับซีโรโดนินต่ำได้ ดังนั้นการเพิ่มการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองในภาวะที่มีซีโรโดนินต่ำจึงน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการมีระดับของ NO เพิ่มขึ้นกว่าปกติในภาวะที่มีซีโรโดนินต่ำ

Effect of NO and Nitric oxide synthase inhibitor on the modulation of the trigeminovascular nociceptionle Grand SM^a, Supornsilpchai W^b and Srikiatkachorn A^c

a: Department of Pathology, b: Department of Physiology Faculty of Medicine

c: Department of Physiology Faculty of Dentistry Chulalongkorn University, Bangkok 10330 Thailand

Objective – To investigate the involvement of nitric oxide in the process of trigeminovascular nociceptive facilitation induced by serotonin depletion.

Methods – Male Wistar rats were separated into the control, control with L-NAME treatment, and low serotonin with and without nitric oxide synthase (NOS) inhibitor. Serotonin was depleted by administration of para-chlorophenylalanine (100 mg/kg bw) 3 days prior the experiment. Cortical spreading depression (CSD) was used to activate trigeminal nociception. N-nitro-L-arginine Methyl Ester (L-NAME) was given to the rats in the low serotonin with NOS inhibitor group after the second wave of the CSD. The ultrastructure of cerebral endothelial cells was studied using electron microscopy. The number of Fos and NOS-immunoreactive neurons in trigeminal nucleus caudalis were monitored. The co-localization of NOS and Fos and the co-localization of NOS and CGRP were studied by the double immunohistochemistry.

Results – Depletion of serotonin caused an enhancement of the trigeminovascular nociception in response to the CSD activation as indicated by the increase in the ultrastructural changes of the cerebral vessels and increase in the number of the fos-immunoreactive neurons in the TNC. These vascular changes as well as CSD-evoked Fos expression in the TNC were attenuated by the treatment with L-NAME. The numbers of pinocytotic vesicles and microvilli in arteriole were significant lower in the group receiving PCPA and L-NAME. The number of Fos-IR cells observed in TNC of low serotonin rats with and without L-NAME treatment were 19±3 and 25±1 cells/section, respectively ($p < 0.05$). Treatment with L-NAME also significantly minimized the number of NOS-immunoreactive cells in TNC (23±1 and 32±3 cells/slide for those serotonin depleted rats with and without L-NAME, respectively, $p < 0.05$). The results from the double labeling immunohistochemical studies had further demonstrated that the expression of NO was in the same area with Fos and CGRP expression.

Conclusion: Inhibition of nitric oxide production can attenuate the trigeminovascular nociception induced by serotonin depletion. Therefore, the increase in the production of nitric oxide is likely to involve in the increment of trigeminal nociception in serotonin depleted state.