

บทนำ

โรคปวดศีรษะจากหลอดเลือด (vascular headache) โดยเฉพาะไมเกรน (migraine) เป็นปัญหาทางประสาทวิทยาที่พบได้บ่อย โดยมีอุบัติการณ์เฉลี่ยในประเทศต่างๆประมาณ ร้อยละ 8 ในประชากรเพศชาย และร้อยละ 20 ในประชากรเพศหญิง ซึ่งในสภาพสังคมปัจจุบันมีแนวโน้มว่าโรคปวดศีรษะนี้จะมีอุบัติการณ์เพิ่มขึ้น โดยผลจากการศึกษาถึงอุบัติการณ์การเกิดโรคนี้พบว่าอุบัติการณ์สูงขึ้นถึงร้อยละ 49 เมื่อศึกษาในคลินิกเฉพาะโรค (Srikiatkachorn and Phantumchinda, 1992) และแม้ว่าโรคไมเกรนไม่ทำให้ผู้ป่วยเกิดความทุพพลภาพ แต่ก็ทำให้เกิดอาการปวดศีรษะที่มีความรุนแรงค่อนข้างมาก ยังความทุกข์ทรมานแก่ผู้ป่วย นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอันเนื่องมาจากการขาดงาน ซึ่งผลการศึกษาพยากรณ์กำเนิดของโรคปวดศีรษะนี้พบว่า การเกิดอาการปวดศีรษะมีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติในระบบการควบคุมความเจ็บปวด ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ (trigeminovascular system) ซึ่งเป็นระบบที่มีความเกี่ยวพัน ระหว่างวงจรประสาทที่ส่งผ่านความรู้สึกเจ็บปวด ที่เกิดขึ้นจากหลอดเลือดบริเวณศีรษะ

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสาเหตุของการเกิดอาการปวดศีรษะ เกิดจากการที่มีการกระตุ้นเส้นประสาท trigeminal ซึ่งจะทำให้ปลายประสาทที่พันรอบหลอดเลือดหลังสารสื่อประสาทต่างๆ เช่น CGRP (Calcitonin gene related peptide) SP (substance P) รวมถึง ไนตริกออกไซด์ (NO) ออกมารอบๆบริเวณหลอดเลือด สารสื่อประสาทเหล่านี้มีคุณสมบัติ ทำให้หลอดเลือดขยายตัว และสามารถทำให้เกิดการอักเสบหลอดเลือด (neurogenic inflammation) ในบริเวณที่หลังออกมาได้ ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้สามารถกระตุ้นร่างแหประสาท trigeminal ได้ (Geppetti et al., 2005) โดยกระแสประสาทที่เกิดขึ้นจะผ่านเข้าสู่ปลาย central axon (orthodromic conduction) และสิ้นสุดโดยสัมผัสกับเซลล์ประสาทในกลุ่มเซลล์ trigeminal nucleus caudalis ซึ่งทำหน้าที่คล้าย dorsal horn ของไขสันหลัง และในบริเวณนี้จะมีการปรับเปลี่ยนกระแสประสาทก่อนจะผ่านไปยัง thalamus และ somatosensory cortex เพื่อแปลเป็นความรู้สึกปวดศีรษะต่อไป ดังนั้นคุณสมบัติของยาที่จะสามารถใช้เป็นยาลด หรือ ระงับอาการปวดศีรษะได้จึงจำเป็นต้องมีคุณสมบัติที่จะสามารถยับยั้งกระบวนการกระตุ้นต่อระบบควบคุมความเจ็บปวด ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะได้ ยาลดอาการปวดศีรษะไมเกรนมีหลายชนิด เช่น ergotamine sumatriptan naratriptan รวมถึง acetaminophen หรือ พาราเซตามอล

พาราเซตามอลจัดเป็นยาลดไข้บรรเทาปวดที่นิยมใช้ทั่วไปทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้ว และในประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งรวมถึงในประเทศไทย ที่พบว่า พาราเซตามอลเป็นยาที่สะดวกในการซื้อ ราคาไม่แพง และมีผลข้างเคียงน้อย ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตนอกเมืองและในชนบท เนื่องจากสามารถซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไปโดยไม่จำเป็นต้องมา

พบแพทย์ แต่ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยาพาราเซตามอล ในการลดปวดมาเป็นเวลานาน แล้วก็ตาม แต่การศึกษากลไกการลดปวดของยานี้กลับมีน้อยมาก

ในประเทศไทยพบว่าการใช้ยาพาราเซตามอล ในการลดปวดนั้นเป็นที่นิยมสูงมาก แทบทุกครัวเรือนมักจะมียาชนิดนี้ติดบ้านไว้เสมอ และในกลุ่มที่มีอาการปวดศีรษะหรือมีไข้ ยาพาราเซตามอลก็จะเป็นตัวเลือกแรกที่จะนำมาใช้ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาวิจัยในคนไข้ของคณะผู้วิจัย ในปี 1998 กลับพบว่า การได้รับยาลดปวดต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้น มีผลกระทบต่อสมดุลของสารเคมีที่หลังในสมองและ มีผลเสียต่ออาการปวดศีรษะของคนไข้ โดยพบว่าในคนไข้ที่ได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน มีปริมาณของแกรนูโลทิบซึ่งเป็นแกรนูโลทิบเป็นแหล่งเก็บซีโรโตนิน ลดลงต่ำกว่าในกลุ่มคนไข้ปกติที่ไม่มีประวัติไข้ยาต่อเนื่อง โดยที่ซีโรโตนินซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มีสำคัญในการควบคุมความเจ็บปวด ดังนั้นการลดลงของแกรนูโลทิบที่บรรจุงูซีโรโตนินในคนไข้กลุ่มนี้ บ่งชี้ว่าการได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องกัน น่าจะมีผลต่อระบบควบคุมความเจ็บปวด (Srikiatchachorn และ Anthony 1996: Srikiatchachorn และคณะ., 1998)

ซึ่งภาวะผิดปกติของระบบควบคุมความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะที่พบว่า การได้รับยาระงับปวดเป็นเวลานานสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ เป็นที่ยอมรับกันในระดับนานาชาติแล้วว่า อาการนี้เป็นกลุ่มอาการปวดหัวอีกชนิดหนึ่ง ที่ถูกเรียกว่า Medication overused headache (Headache classification subcommittee of the international Headache society, 2004 :Cupini และ Calabresi, 2005) อย่างไรก็ตาม การศึกษาวิจัยในกลไกของการเกิดภาวะผิดปกติของกระบวนการควบคุมความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะจากการได้รับยาระงับปวดต่อเนื่องนั้นยังมีการศึกษาวิจัยน้อยมาก มีเพียงผลการศึกษาวิจัยที่บ่งชี้ว่าการได้รับยาระงับปวด (พาราเซตามอล) ต่อเนื่องเป็นเวลานานมีผลกระทบต่อ ระบบซีโรโตนินให้ผิดปกติ (Hering และคณะ., 1993; Pini และคณะ., 1994) โดยพบว่าปริมาณตัวรับซีโรโตนินชนิด 2A เพิ่มขึ้นขึ้นทั้งในสมอง และ ใน เกร็ดเลือด (Srikiatchachorn และคณะ., 1998 ,2000)

จากการศึกษาระบบการควบคุมความเจ็บปวด ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ (trigenovascular system) พบว่าเป็นระบบที่มีความเกี่ยวพันระหว่างวงจรประสาทที่ส่งผ่านความรู้สึกรู้สึกเจ็บปวด (trigeminal nerve) กับหลอดเลือดบริเวณศีรษะ ทั้งยังมีความเกี่ยวข้องกับสารเคมีอื่นๆที่หลังเมื่อมีการกระตุ้นระบบควบคุมความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ นอกเหนือไปจากซีโรโตนินด้วย ดังนั้นภาวะผิดปกติของระบบนี้จึงน่าจะเป็นผลร่วมกันของ ความผิดปกติของระบบหลอดเลือดบริเวณศีรษะ และความผิดปกติของเซลล์ประสาทซึ่งจะก่อให้เกิดความผิดปกติในการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง ซึ่งภาวะความผิดปกติเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษาวิจัยมาก่อน โครงการวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นโดยใช้โมเดลโรคปวดศีรษะที่นิยมใช้ในการวิจัย คือโมเดลคลอรัลคัลสเปรดดั้งเดิม

เพอร์สซัน (CSD model) โดยการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD (cortical spreading depression) บนผิวสมองของสัตว์ทดลองด้วยการวาง Potassium chloride (KCl) ลงบนผิวสมองของสัตว์ทดลองโดยในการศึกษาวิจัยมีวัตถุประสงค์ของการวิจัยดังนี้

1. ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อการเปลี่ยนแปลง ต่อการเปลี่ยนแปลงระบบรับรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง โดยการใช้การแสดงออกของ Fos โปรตีนเป็นตัวบ่งชี้ถึงการได้รับการกระตุ้น โดยศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ
2. ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการสร้าง NO ทั้งในบริเวณสมองและใน ไขสันหลัง โดยการตรวจหาปริมาณของเอนไซม์ ไนตริกออกไซด์ซินเทส (Nitric oxide synthase)
3. ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง โดยศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ Vascular Cell Adhesion Molecules (V-CAM 1) บนผิวหลอดเลือดสมองในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ระบบหลอดเลือดสมองและการปวดศีรษะ

ผลการศึกษาในผู้ป่วยปวดศีรษะไมเกรนพบว่าการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองมีความสัมพันธ์กับอาการปวดศีรษะ ความสัมพันธ์ดังกล่าวมีรากฐานจากลักษณะทางอาการวิทยา อาทิ อาการปวดศีรษะที่มีลักษณะตื้อๆตามการเต้นของชีพจร (pulsating headache) การศึกษาโดยการกระตุ้นหลอดเลือดด้วยวิธีต่างๆ เช่น ขยายหลอดเลือดเฉพาะที่ การกระตุ้นด้วยไฟฟ้า หรือการจี้ด้วยความร้อนต่อบริเวณส่วนต้นของหลอดเลือดแดงในเยื่อหุ้มสมองชั้น pia เยื่อหุ้มสมอง dura บริเวณที่ชัดเจนที่ชิดกับหลอดเลือดแดงของเยื่อหุ้มสมองหรือ dura sinuses สามารถทำให้เกิดอาการปวดศีรษะในตำแหน่งต่างๆกัน (Penfield and McNaughton, 1940 ; Feindel และคณะ., 1960) จากการศึกษาของ Wolff และคณะพบว่า การกระตุ้นหลอดเลือดสมองสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ โดยเฉพาะส่วนต้นของหลอดเลือดแดงของสมอง (arterie) และหลอดเลือดในเยื่อหุ้มสมอง (dural arteries การศึกษาทางสรีรวิทยาของการไหลเวียนของเลือดในสมองด้วยวิธีต่างๆในระยะต่อม้าว้นสนับสนุนถึงความสำคัญของระบบหลอดเลือดในพยาธิสรีรวิทยาของอาการปวดศีรษะ อาทิ การศึกษาของ Sakai และ Mayer ในปี 1978 ซึ่งได้ทำการศึกษาปริมาณการไหลเวียน

เลือดใน extracranial vessels และพบว่าในขณะที่มีอาการปวดศีรษะไมเกรนจะมีปริมาณเลือดเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 (Sakai and Mayer, 1978) จากการศึกษาโดยวิธี single photon emission computerized tomography (SPECT) Lauritzen และคณะ(1994) พบว่าในช่วงที่มีผู้ป่วยมีอาการนำ (aura) จะมีการลดลงของปริมาณเลือดเฉพาะที่ (regional cerebral blood flow) ปริมาณ 17% (โดยปริมาณเลือดอยู่ระหว่าง 41-66 มิลลิลิตร/เนื้อสมอง 1 กรัม/นาที) ซึ่งการลดลงของปริมาณเลือดนี้อาจสัมพันธ์กับการเกิดความผิดปกติทางระบบประสาทที่พบได้ในผู้ป่วยไมเกรนขณะที่มีอาการ จากผลการศึกษาดังกล่าวทำให้มีผู้สันนิษฐานว่าอาการปวดเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด (vascular headache)

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานเกี่ยวกับการระบบหลอดเลือดภายในโพรงกะโหลกศีรษะ ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างหลอดเลือดและระบบประสาท ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจถึงกลไกที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและปริมาณเลือด ซึ่งเกิดขึ้นในขณะที่มีอาการปวดศีรษะไมเกรน กระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญยิ่งคือการทำงานของระบบประสาท trigeminovascular system (del Rio and Moskowitz, 1993) วงจรประสาทในระบบนี้มีหน้าที่ที่สำคัญ 2 ประการคือ (1) เป็นเส้นทางที่ผ่านกระแสประสาทที่เกิดจากการกระตุ้นตัวรับ nociceptor ที่อยู่รอบหลอดเลือดเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางและ (2) ใยประสาทที่ไปยังหลอดเลือดเหล่านี้ควบคุมการเกิดการอักเสบปลอดเชื้อที่เกิดจากการกระตุ้นเส้นประสาท (neurogenic sterile inflammation) ความผิดปกติในการควบคุมทำงานของระบบนี้เป็นกลไกพื้นฐานที่นำไปสู่อาการปวดศีรษะไมเกรนและ cluster นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับประสาทเวสทิซวิทยาของสารสื่อประสาทในระบบนี้ยังเป็นเป้าหมายสำคัญในการพัฒนายาสำหรับบรรเทาอาการปวดศีรษะในกลุ่มโรคนี้

ระบบรับการกระตุ้น nociception ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ (nociceptive system of cranial vessel)

โดยรอบของหลอดเลือดขนาดใหญ่ในบริเวณฐานกะโหลก หลอดเลือดขนาดเล็กในชั้น pia และหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ภายในโพรงกะโหลกศีรษะ มีร่างแหของใยประสาท (perivascular nerve plexus) พักอยู่ในชั้น adventitia โดยการศึกษาด้วยวิธี Immunohistochemistry พบว่าบางส่วนของภายในใยประสาทเหล่านี้มีเปปไทด์ เช่น substance P (SP) (Liu-chen และคณะ., 1983) และ calcitonin gene related peptide (CGRP) (Uddman และคณะ., 1985) จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าใยประสาท SP-immunoreactive fiber ที่ประกอบกันเป็นร่างแห adventitia เป็นเส้นใยประสาทขนาด C-fiber และไม่มีปลอก myelin ห่อหุ้ม (Liu-Chen และคณะ., 1986) อันเป็นลักษณะของ nociceptive fiber

ใยประสาท trigeminal ที่กระจายตัวเป็นร่างแหพันรอบหลอดเลือดถูกเรียกว่า trigeminovascular fiber ใยประสาทเหล่านี้กระจายตัวเป็นร่างแหพันรอบหลอดเลือดแดง internal carotid (pericarotid plexus) ความหนาแน่นของใยประสาท nociceptive trigeminovascular fiber เหล่านี้จะค่อยๆลดลง เมื่อหลอดเลือดนั้นอยู่ในตำแหน่งที่ไกลออกไป ส่วนหลอดเลือดในระบบ vertebro-basilar system นั้นรับใยประสาท nociceptive จากที่มีกำเนิดจากเซลล์ในปมประสาทไขสันหลังส่วนคอ (upper cervical ganglia) และหลอดเลือดแดง basilar ยังรับใยประสาท SP-immunoreactive ที่มาจากปมประสาท superior vagal ganglia (Keller et al 1985) การศึกษาในระยะหลังพบว่า นอกจากปมประสาทเหล่านี้แล้ว เซลล์ประสาทที่สร้าง SP และ CGRP ยังพบได้ในปมประสาทขนาดเล็ก (miniganglia) ที่กระจายอยู่ตามแนวของหลอดเลือดแดง carotid ในบริเวณ carotid canal และให้ใยประสาท nociceptive ไปยังหลอดเลือดในชั้น pia (Mione และคณะ 1988) สำหรับหลอดเลือดที่อยู่ติดเยื่อ dura ซึ่งเป็น pain-sensitive structure ที่สำคัญนั้น จะได้รับใยประสาท nociceptive ทั้งที่เป็นส่วนของเส้นประสาท trigeminal และเส้นประสาทไขสันหลัง (Feindel และคณะ 1960) ใยประสาท trigeminovascular fiber เหล่านี้มาจากแขนงทั้งสามของเส้นประสาท trigeminal หลอดเลือดแดง middle meningeal artery จะรับใยประสาท nociceptive fiber มาจากแขนง ophthalmic ของเส้นประสาท trigeminal ในด้านเดียวกัน ในขณะที่หลอดเลือดดำ superior sagittal sinus จะรับจากแขนงของเส้นประสาท trigeminal ทั้งสองด้าน สำหรับเยื่อ dura ที่หุ้มด้านในของกะโหลกบริเวณต่าง ๆ นั้น จะรับใยประสาท nociceptive จากแขนงต่าง ๆ กัน โดยใยประสาท nociceptive เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดความรู้สึกลึกปวดเมื่อมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นกับหลอดเลือดบริเวณศีรษะ

ปรากฏการณ์ cortical spreading depression

การศึกษาปรากฏการณ์นี้เริ่มจากการรายงานของ Leão ในปี 1944 โดยพบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าสมองที่บันทึกได้จากสมองใหญ่ของกระต่าย การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวประกอบด้วยระยะการกระตุ้นเซลล์ประสาท และตามด้วยการลดลงในขนาดของคลื่นไฟฟ้าสมองในบริเวณนั้น คลื่นของความเปลี่ยนแปลงนี้แผ่ขยายไปด้วยความเร็วประมาณ 2-3 มิลลิเมตรต่อนาที Leão ได้เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า cortical spreading depression (CSD) การเปลี่ยนแปลงของลักษณะไฟฟ้าของผิวสมองใหญ่ที่เริ่มจากการกระตุ้น และตามด้วยการลดลงของการทำงานนี้เป็นลักษณะสำคัญของปรากฏการณ์ CSD ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางคลินิกที่พบในระยะออรา กล่าวคือ ระยะการกระตุ้นอาจทำให้เกิดอาการเชิงบวก เช่น การเห็นแสงเป็นเส้นหยักในลานสายตา ในขณะที่ระยะยับยั้งอาจเป็นพหุอาการกำเนิดของอาการเชิงลบ 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 การศึกษาในเยื่อสมองใหญ่ของมนุษย์ที่ตัดแยกออกจากตัวพบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าที่มีลักษณะของ CSD ได้ (Avoli และคณะ., 1991) หลักฐานนี้บ่งว่า โครงสร้างของสมองใหญ่ของมนุษย์เอื้อต่อการเกิด CSD ได้เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในสมองใหญ่ของสัตว์

กระบวนการเกิด CSD เริ่มต้นจากการเกิด depolarization ของเซลล์ประสาทและเซลล์เกลีย ซึ่งทำให้เกิดลักษณะ spike activity เมื่อบันทึกด้วยเครื่องบันทึกคลื่นไฟฟ้าสมอง การกระตุ้นนี้จะคงอยู่เพียงระยะเวลาดสั้นๆ (เป็นวินาที) จากนั้นเซลล์ประสาทบริเวณดังกล่าวจะทำงานลดลง ซึ่งแสดงด้วยการลดลงของคลื่นไฟฟ้าสมอง (electrical silence) การลดลงในการทำงานนี้จะคงอยู่นานประมาณ 15 ถึง 30 นาที การเปลี่ยนแปลงนี้เป็นผลให้ศักย์ไฟฟ้ากระแสตรง (direct current potential) ของสมองใหญ่ลดลง การเกิด depolarization ของเซลล์ประสาทและเซลล์เกลียจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของออสโมนและสารสื่อประสาทต่างๆ (Lauritzen, 1994 ; Lauritzen, 2000 ; James และคณะ., 2001) กล่าวคือ ในตำแหน่งที่เกิด CSD จะมีการเพิ่มขึ้นของโปแตสเซียมออสโมนภายนอกเซลล์ $[K^+]_o$ โปแตสเซียมออสโมนที่สูงขึ้นจะกระตุ้นให้เซลล์ประสาทในบริเวณข้างเคียงเกิด depolarization ทำให้โซเดียมออสโมนจะผ่านเข้าสู่เซลล์มากขึ้น การผ่านเข้าสู่เซลล์ของโซเดียมจะส่งผลให้ออสโมนของน้ำผ่านเข้าเซลล์ตามจนทำให้เซลล์ประสาทเกิดการบวมน้ำ และปริมาตรของเซลล์ประสาทที่อยู่ในระยะ depolarization จะปลดปล่อยสารสื่อประสาทกลูตาเมตจากปลายแอกซอน (Scheller และคณะ., 1990 ; Szerb, 1991) สารกลูตาเมตที่ถูกปล่อยเหล่านี้นี้จะจับกับตัวรับชนิด NMDA (Avoli et al., 1995) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นช่องทางออสโมนที่ยอมให้โซเดียมและแคลเซียมผ่านเป็นผลให้ระดับของโซเดียมออสโมนและแคลเซียมออสโมนภายในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นสูงขึ้น แคลเซียมออสโมนจะกระตุ้นเอนไซม์ nitric oxide synthase และทำให้อัตราการสร้างไนตริกออกไซด์สูงขึ้น เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราการไหลของเลือดในสมองบริเวณนั้น

การเกิดปรากฏการณ์ CSD สามารถกระตุ้นใยประสาท nociceptor ในระบบ trigeminovascular pathway โดยจะเห็นได้จากการพบการเพิ่มขึ้นของ Fos-immunoreactive neuron ในสัตว์ทดลองที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์นี้ การกระตุ้นใยประสาท nociceptor น่าจะเป็นผลของการเพิ่มขึ้นของโปแตสเซียมออสโมนและกลูตาเมตในสารน้ำนอกเซลล์ เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าโปแตสเซียมออสโมนสามารถกระตุ้น (activate) ใยประสาท nociceptor ได้โดยตรง ในขณะที่สารต่างๆที่เกิดขึ้นในระหว่างการอักเสบ อาทิ bradykinin สามารถลดระดับ threshold ของการกระตุ้นลง ทำให้ใยประสาท nociceptor สามารถถูกกระตุ้นได้โดยสิ่งกระตุ้นที่มีลักษณะเป็น

subthreshold stimulus รวมทั้งตอบสนองมากขึ้นต่อตัวกระตุ้นที่เป็น subthreshold stimulus เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า receptor sensitization การเกิด sensitization ทั้งในระดับของตัวรับ nociceptor ที่เรียกว่า peripheral sensitization และระดับของ higher-order neuron อาทิ trigeminal nucleus caudalis neurons หรือเซลล์ประสาทใน thalamus ที่เรียกว่า central sensitization เป็นปรากฏการณ์ที่น่าจะมีความสำคัญในการเกิดอาการปวดศีรษะในผู้ป่วยโรคปวดศีรษะไมเกรน

หลอดเลือดสมอง : ลักษณะทางกายวิภาคและสรีรวิทยาของเซลล์เอนโดทีเลียม

สมองและไขสันหลังเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญยิ่งในการทำงานของร่างกาย ดังนั้นร่างกายจึงได้พัฒนากลไกต่างๆ เพื่อช่วยรักษาอวัยวะเหล่านี้ให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากสมองและไขสันหลังต้องการเลือดไปเลี้ยงเป็นอัตราที่สูงกว่าอวัยวะอื่น ร่างกายจึงพัฒนาให้สมองมีระบบไหลเวียนเลือดซึ่งมีลักษณะพิเศษที่สามารถปรับอัตราการไหลของเลือด (cerebral blood flow) ให้มีค่าค่อนข้างคงที่ ไม่ขึ้นลงตามความดันเลือดของร่างกาย และมีอัตราการไหลเฉพาะที่ (regional cerebral blood flow) แปรไปตามการทำงานของเซลล์ประสาทในบริเวณนั้นๆ นอกเหนือจากลักษณะดังกล่าว หลอดเลือดในสมองส่วนใหญ่ยังมีคุณสมบัติที่ไม่ยอมให้มีการซึมผ่านของสารต่างๆ ได้โดยง่าย ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการควบคุมให้ลักษณะของของเหลวนอกเซลล์ (extracellular fluid) เช่น ความเข้มข้นของไอออนต่างๆ มีค่าคงที่ ไม่แปรเปลี่ยนไปตามการเปลี่ยนแปลงของระดับในเลือด คุณสมบัติดังกล่าวเป็นที่มาของแนวคิดเรื่อง blood-brain barrier จากการศึกษาที่ผ่านมาทำให้สามารถสรุปได้ว่า โครงสร้างที่ทำหน้าที่เป็น blood-brain barrier คือ เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง

ลักษณะของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดสมอง

เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดฝอยในระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของ blood-brain barrier มีลักษณะทางโครงสร้างและการทำงานที่ต่างไปจากเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดฝอยในอวัยวะอื่นๆ (Davson และคณะ., 1987 ; Goldstein and Betz, 1986 ; Goldstein and Betz, 1992 ; Fishman, 1992 ; Betz และคณะ., 1994) ความแตกต่างที่สำคัญ ได้แก่

- มีโครงสร้างบริเวณรอยต่อของเซลล์เป็น tight junction (zonular occludens) จากการศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า เซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดฝอยสมองเรียงชิดกันโดยไม่มีรอยต่อระหว่างเซลล์ ในขณะที่หลอดเลือดอื่นมีช่องว่างระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมที่เรียกว่า gap junction จากลักษณะโครงสร้างดังกล่าวทำให้สารที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ไม่สามารถแทรกผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ออกไปได้

- มีกระบวนการนำสารผ่านเซลล์โดยวิธี pinocytosis น้อย จากการศึกษาของ Dux และคณะพบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองของหนูมี pinocytic vesicle เพียง 4 vesicle/ตารางไมโครเมตร (Dux and Joo, 1982)
- เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมอง มีจำนวนไมโทคอนเดรียสูงกว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดอื่น มีการทำงานที่ต้องอาศัยพลังงานมากกว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดอื่น
- มีระบบพิเศษเพื่อใช้ขนส่งสารผ่านผนังเซลล์ (facilitated transport system) โดยมีลักษณะที่สำคัญของระบบขนส่งนี้คือ มีความจำเพาะสำหรับสารแต่ละชนิด รวมไปถึง stereospecificity, มีจุดอิ่มตัว (saturation kinetics), และมี competitive interaction ระหว่างสารที่มีลักษณะคล้ายกัน สารที่ถูกขนส่งโดยใช้กระบวนการนี้ ได้แก่ กลูโคส, กรดอะมิโน และ โคเลสเตอรอล เป็นต้น
- มีอัตราการทำงานของเอนไซม์บางชนิดสูงกว่าเซลล์เอนโดทีเลียมทั่วไป เอนไซม์ดังกล่าว ได้แก่ ecto-nucleotidase, alkaline phosphatase, γ -GTP, p-glycoprotein และ Na-K-ATPase (Eisenberg and Suddith, 1979)
- มีค่าศักย์ไฟฟ้าและความต้านทานระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมและเนื้อสมอง (transendothelial potential and resistance สูง) นอกจากนี้ค่าความต้านทานข้ามเซลล์เอนโดทีเลียม (transendothelial resistance) ของหลอดเลือดสมองยังมีความสูงมากเมื่อเทียบกับหลอดเลือดบริเวณอื่น กล่าวคือมีค่าระหว่าง 1500-2000 โอห์ม/ ตารางเซนติเมตร ค่าดังกล่าวสูงกว่าในหลอดเลือดอื่นๆถึงกว่าร้อยเท่า

นอกจากลักษณะพิเศษของเซลล์เอนโดทีเลียมแล้ว หลอดเลือดฝอยในสมองยังมีโครงสร้างที่ต่างจากหลอดเลือดฝอยในบริเวณอื่นของร่างกาย โดยเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดนี้เรียงชิดกันบนเยื่อ basement membrane (basal lamina) ซึ่งประกอบขึ้นจาก collagen, โปรตีนอื่นๆและ proteoglycan โครงสร้างนี้มีหน้าที่รองรับเซลล์เอนโดทีเลียม

โครงสร้างที่อยู่ชิดกับเยื่อ basement membrane ทางด้านนอก (abluminal side) ของหลอดเลือดฝอย คือเซลล์เพอริไซต์ (pericyte) เนื่องจากเซลล์มีตำแหน่งชิดกับเยื่อ basement membrane จึงเชื่อกันว่าจะทำหน้าที่สร้างสารที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อ basement membrane, เก็บกิน (phagocytosis) สารแปลกปลอมที่อยู่รอบหลอดเลือด, รักษาโครงสร้างของหลอดเลือดฝอย และควบคุมการเจริญของเซลล์เอนโดทีเลียม ทั้งนี้อาจรวมไปถึงบทบาทในการควบคุมอัตราการไหลของเลือดในหลอดเลือดฝอยด้วย

หลอดเลือดฝอยของสมองมีความสัมพันธ์กับเซลล์นิวโรเกลียอย่างใกล้ชิด กล่าวคือผนังด้านนอกของหลอดเลือดถูกหุ้มด้วยส่วน foot process ของเซลล์แอสโตรไซต์ (astrocyte) การศึกษาโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์นอกร่างกายพบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองจะมีการเรียงตัวหรือมีการสร้าง tight junction ซึ่งเป็นลักษณะของ blood-brain barrier รวมถึงมีความสามารถในการควบคุมการซึมผ่านของสารอณูใหญ่ เฉพาะเมื่อมีการเพาะเลี้ยงเซลล์แอสโตรไซต์ร่วมด้วยเท่านั้น (Wolberg และคณะ, 1994) ผลการศึกษาดังกล่าวบ่งชี้ว่าเซลล์แอสโตรไซต์มีบทบาทสำคัญยิ่งในการเหนี่ยวนำให้เซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดสมองมีลักษณะของ blood-brain barrier

บทบาทของเซลล์เอนโดทีเลียมในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด

กระบวนการควบคุมการไหลของเลือดในสมอง (cerebral blood flow) และความตึงตัวของหลอดเลือดในสมองเป็นกระบวนการที่ซับซ้อน ทั้งนี้เนื่องจากสมองเป็นอวัยวะที่ต้องการเลือดเป็นปริมาณสูงกว่าอวัยวะอื่น คือประมาณ 50 มิลลิลิตร/100 กรัมของเนื้อสมอง/นาที ในภาวะปกติอัตราการไหลของเลือดที่ไปยังสมองโดยรวมจะมีค่าค่อนข้างคงที่และไม่แปรไปตามการเปลี่ยนแปลงของความดันเลือด ซึ่งเรียกระบบการควบคุมนี้ว่า autoregulation

เซลล์เอนโดทีเลียมมีบทบาทอย่างสูงในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular tone) หลอดเลือดสมองที่ขาดเซลล์เซลล์เอนโดทีเลียมจะสูญเสียการทำงานในหลายลักษณะ เซลล์เอนโดทีเลียมควบคุมการหดหรือการขยายตัวของหลอดเลือดโดยอาศัยการหลั่งสารเคมีชนิดต่างๆ ที่มีฤทธิ์ต่อหลอดเลือด (vasoactive substances) สารที่หลั่งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด (endothelial derived relaxing factors หรือ EDRFs) เช่น พรอสตาซัยคลิน (prostacyclin), อะดีโนซีน (adenosine) และอนุพันธ์, ไนตริกออกไซด์ (NO) (Faraci and Brian, 1994 ; Dalkara and Moskowitz, 1997) สำหรับสารที่หลั่งจากเซลล์เอนโดทีเลียมและมีผลกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด (endothelial-derived contractile factors (EDCFs) ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญ คือ เอนโดทีลิน (endothelin) นอกจากนี้เซลล์เอนโดทีเลียมยังมีเอนไซม์ angiotensin converting enzyme ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน angiotensin I ให้เป็น angiotensin II ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์แรงในการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด

ไนตริกออกไซด์เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (Dalkara and Moskowitz, 1997) ลักษณะที่แตกต่างระหว่างบทบาทของไนตริกออกไซด์ในหลอดเลือดของระบบประสาทส่วนกลางและอวัยวะในระบบอื่น คือ ในสมองและไขสันหลังมีเซลล์หลายชนิดที่สามารถสร้างไนตริกออกไซด์ได้ นอกจากเซลล์เอนโดทีเลียมแล้ว เซลล์ประสาทในเนื้อสมองหรือในปมประสาทต่างๆ โดยเฉพาะปมประสาทพาราซิมพาเทติกต่างสามารถสร้างไนตริกออกไซด์ได้ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ประสาทเหล่านั้นมีเอนไซม์ nitric oxide synthase (neuronal NOS

หรือ nNOS) เซลล์ประสาทที่สามารถสร้าง NO เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการปรับอัตราไหลของเลือดให้เหมาะสมกับการทำงานของเซลล์ประสาท (Iadecola, 1993)

ความผิดปกติของเซลล์เอนโดทีเลียม

โดยลักษณะพิเศษของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดฝอยของสมอง ทำให้สารน้ำและสารที่ละลายในน้ำซึมผ่านผนังหลอดเลือดได้อย่างจำกัด ซึ่งกระบวนการดังกล่าวทำหน้าที่ควบคุมให้ปริมาณของสารน้ำภายในและภายนอกหลอดเลือดมีปริมาณที่เหมาะสม เมื่อสมองมีพยาธิสภาพบางประการเกิดขึ้น การทำงานของ blood-brain barrier จะเสียไป กล่าวคือผนังหลอดเลือดยอมให้สารซึ่งมีขนาดอนุภาคต่างๆ เคลื่อนที่ผ่านได้มากกว่าปกติ

การศึกษาโดยการฉีดสารทึบอิเล็กตรอน (electron dense material) เช่น horseradish peroxidase และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เอนโดทีเลียมในพยาธิสภาพต่างๆ เช่น สมองขาดเลือด บ่งชี้ว่าการเพิ่มการขนส่งผ่าน vesicular transport อาจเป็นกลไกสำคัญในการหลั่งของสารที่มีอนุภาคใหญ่ (macromolecule) จากหลอดเลือด (Beggs and Waggener, 1976) พยาธิสภาพที่ทำให้เซลล์เอนโดทีเลียมยอมให้สารอนุภาคใหญ่ผ่านได้มากกว่าปกติ ได้แก่ การได้รับสารที่มี Osmolality สูง (osmotic injury), ความดันโลหิตสูง, ภาวะช็อก, ภาวะสมองขาดเลือดหรือออกซิเจน, พิษจากคาร์บอนไดออกไซด์, พิษจากตะกั่ว (lead encephalopathy), ภาวะสมองผิดปกติจากไตวาย (uremic encephalopathy), การเพิ่มขึ้นของ permeability ของหลอดเลือดจนเกิดการรั่วในภาวะเหล่านี้เชื่อว่าอาจเกิดจากสารเคมีบางชนิด โดยเฉพาะกลุ่มออตาซอยด์ (autacoid) ซึ่งหลังจากเซลล์ที่มีพยาธิสภาพ เช่น แบรดีไคนิน (bradykinin), ฮิสตามีน (histamine), อนุพันธ์ของกรดอะแรคมิโคนิก (arachidonic acid) หรือกลุ่มอนุมูลิสรระ เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide: NO)

ไนตริกออกไซด์: ลักษณะทางชีวเคมี

ไนตริกออกไซด์เป็นก๊าซอนุพันธ์อิสระที่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ได้ง่าย เป็นที่ทราบกันเป็นเวลานานว่าสารนี้สามารถถูกสร้างขึ้นภายในร่างกายและมีบทบาทสำคัญยิ่งในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด ตัวอย่างเช่น ยาขยายหลอดเลือดกลุ่มไนตริก เช่น nitroprusside, nitroglycerin ซึ่งออกฤทธิ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง cyclic guanosine monophosphate (cGMP) เป็นผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดตลอดจนอวัยวะอื่นๆ นั้น ในปัจจุบันพบว่ายาในกลุ่มดังกล่าวออกฤทธิ์โดยผ่านการทำงานของไนตริกออกไซด์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เช่น adenosine triphosphate, adenosine diphosphate, thrombin, bradykinin and histamine ต่างออกฤทธิ์ผ่านการทำงานของไนตริกออกไซด์ทั้งสิ้น (Johns, 1991)

การสร้างไนตริกออกไซด์ในสมอง

การสร้างไนตริกออกไซด์ภายในสมองถูกสร้างจากเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ เช่นเดียวกับในอวัยวะอื่นๆ เซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดสมองสามารถสร้างไนตริกออกไซด์ (Moncada และคณะ., 1991) โดยอาศัยเทคนิคทาง immunohistochemistry พบว่าภายในชั้น intimal ของหลอดเลือดสมองขนาดต่างๆพบ NOS immunoreactivity เซลล์ไมโครเกลีย (ซึ่งทำหน้าที่คล้ายเซลล์แมคโครฟาจในเนื้อเยื่ออื่นๆ) ที่ถูกกระตุ้นเป็นเซลล์อีกชนิดหนึ่งที่สามารถสร้างไนตริกออกไซด์ โดยพบว่าเอนไซม์ NOS ที่พบในเซลล์ไมโครเกลียเป็นชนิด inducible (Boje and Arora, 1992) นอกจากเซลล์ไมโครเกลียแล้วเอนไซม์ NOS ยังพบในเซลล์เกลียประเภทอื่นๆด้วย เช่น เซลล์แอสโตรไซต์ เป็นต้น

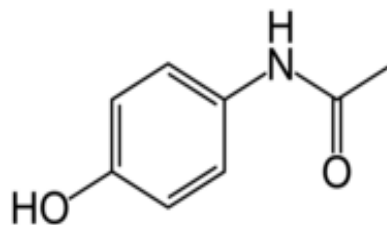
บทบาทของไนตริกออกไซด์ในพยาธิกำเนิดของภาวะไมเกรน

ได้มีผู้ตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับบทบาทของไนตริกออกไซด์ในพยาธิกำเนิดของโรคปวดศีรษะไมเกรน ทั้งนี้เนื่องจากผลของไนตริกออกไซด์ที่มีต่อหลอดเลือดสมองมีลักษณะที่ต่างจากหลอดเลือดบริเวณอื่น จากการศึกษาของ Iversen พบว่าหลอดเลือดบริเวณศีรษะจะตอบสนองต่อไนตริกออกไซด์มากกว่าหลอดเลือดบริเวณอื่น นอกจากนี้ระหว่างการให้ไนตริกออกไซด์หยดเข้าทางหลอดเลือดดำยังทำให้อาสาสมัครเกิดอาการปวดศีรษะ ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับอาการปวดศีรษะที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยไมเกรน (Iversen, 1989) ในระยะหลังได้มีผู้ศึกษาความสัมพันธ์ของไนตริกออกไซด์และพยาธิกำเนิดของโรคไมเกรนในคน ในปี 1993 Thomsen และคณะได้ศึกษาฤทธิ์ของ nitroglycerin (ซึ่งออกฤทธิ์โดยการเปลี่ยนเป็นไนตริกออกไซด์) โดยการหยดเข้าหลอดเลือดดำและศึกษาผลในการกระตุ้นให้เกิดอาการปวดศีรษะตลอดจนเปลี่ยนแปลงของอัตราการไหลเวียนของเลือดภายในกะโหลกศีรษะ (ศึกษาโดยใช้ transcranial Doppler) ผลการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยโรคไมเกรนจะมีการขยายตัวของหลอดเลือดรวมทั้งอาการปวดศีรษะมากกว่ากลุ่มควบคุม (Thompson และคณะ., 1993) ซึ่งผลการศึกษาบ่งชี้ว่าผู้ป่วยไมเกรนน่าจะมีความไวต่อไนตริกออกไซด์มากกว่าในคนปกติ (NO supersensitivity) และความผิดปกตินี้อาจเป็นกลไกสำคัญในการเกิดอาการปวดศีรษะ (Olesen และคณะ., 199-) การศึกษาในสัตว์ทดลองโดยกระตุ้นให้เกิด spreading depression (ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ทางสรีรวิทยาที่เชื่อว่าเป็นรากฐานของการเกิดอาการนำในภาวะไมเกรน) ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) และศึกษาปริมาณของเอนไซม์ NOS ในเซลล์เอนโดทีเลียม ผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มขึ้น (up-regulation) ของ NOS ในเซลล์ดังกล่าวทั้งที่สมองส่วน cerebral cortex และ striatum (Chopp และคณะ., 1993) นอกจากนี้ยังพบว่ายาในกลุ่ม 5-HT_{1B/1D} agonist สามารถลดการกระตุ้น NOS และปริมาณของ NO ที่เกิดขึ้นเมื่อกระตุ้นให้สมองเกิด CSD ผลการศึกษานี้บ่งชี้ถึงบทบาทของเซลล์เอนโดทีเลียมและ NO ในการเกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่เกิดตามหลังภาวะ CSD นอกจากนี้การศึกษาทาง immunohistochemistry ยืนยันว่าเซลล์

ประสาทในกลุ่มเซลล์ trigeminal มีเอนไซม์ NOS ซึ่งแสดงว่าไนตริกออกไซด์มีบทบาทในกระบวนการรับความเจ็บปวดจากอวัยวะบริเวณศีรษะ (Dohrn and Beits, 1994) รวมไปถึงกระบวนการเกิด central sensitization จากหลักฐานทั้งในสัตว์ทดลองและในคนดังที่กล่าวข้างต้นต่างบ่งชี้ถึงบทบาทของไนตริกออกไซด์ในการเกิดภาวะไมเกรน

พาราเซตามอล

พาราเซตามอล หรืออีกชื่อหนึ่งว่าอะเซตามิโนเฟน (acetaminophen, N-acetyl-para-aminophenol) ถูกค้นพบในปี 1948 โดย Brodie และ Axelrod โดยค้นพบว่าเป็นอนุพันธ์ของ phenacelin และ acetanilide (Brodie และ Axelrod, 1948) โดยพาราเซตามอลมีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1. โครงสร้างของยา paracetamol

พาราเซตามอลมีคุณสมบัติเหมือนแอสไพรินคือ เป็นยาลดไข้และบรรเทาปวดที่นิยมใช้กันมานาน (ตั้งแต่ปี 1893) และในบางครั้งก็สามารถใช้นี้ร่วมกับยาอื่นในการรักษาอีกด้วย คุณสมบัติของพาราเซตามอลในการลดปวดนั้น สามารถใช้เป็นยาระงับปวดได้จากหลายสาเหตุ เช่น อาการปวดหัว ปวดฟัน ปวดกล้ามเนื้อ รวมถึงอาการปวดประจำเดือน

สาเหตุที่พาราเซตามอลเป็นยาลดปวดที่นิยมใช้ในปัจจุบันมาก เนื่องจากเป็นยาที่มีราคาไม่แพง สามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยาทั่วไป โดยไม่ต้องใช้ใบสั่งยาจากแพทย์ รวมทั้งการที่ไม่มีผลข้างเคียงของการใช้ยา และคุณสมบัติที่ไม่มีผลข้างเคียงในการระคายเคืองกระเพาะ คุณสมบัติเหล่านี้เองทำให้พาราเซตามอลถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางทั้งในการใช้เป็นยาลดปวด และในการใช้เป็นยาลดไข้อย่างแพร่หลายทั่วไป

กลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตามอล

นักวิจัยหลายกลุ่มได้พยายามศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยานี้ ซึ่งพอจะสรุปได้ว่ายาพาราเซตามอลนั้นมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสร้าง NO (Bjorkman และคณะ. 1994, Bujalska และคณะ. 2004) ออกฤทธิ์ผ่าน substance P หรือ N-methyl-D aspartate (NMDA) ฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับซีโรโตนิน (Pickering 2008) และการออกฤทธิ์ผ่าน cannabinoid receptor (Hogestatt และคณะ. 2005, Ottani และคณะ. 2006)

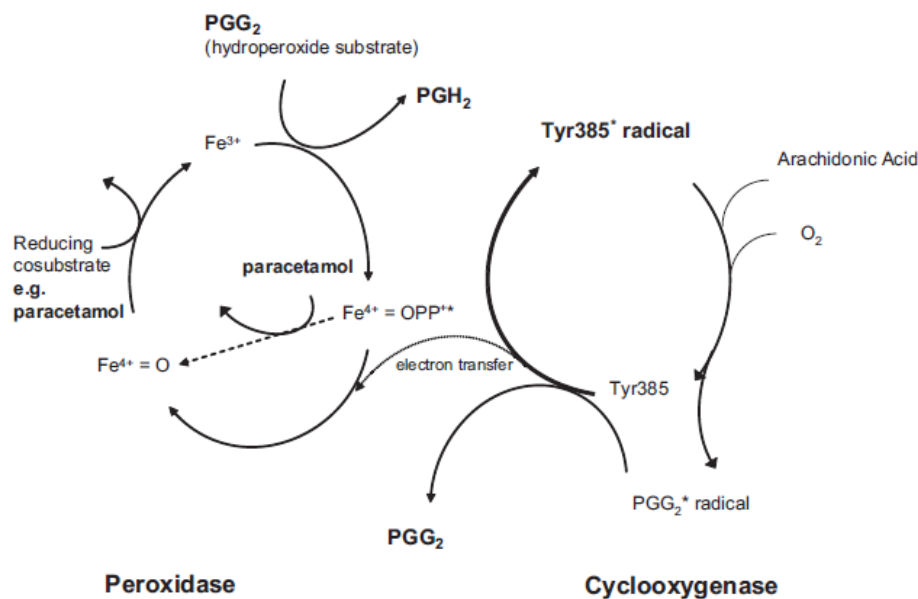
กลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับซีโรโตนิน

จากการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองบ่งชี้ว่าฤทธิ์ในการลดปวดของยาพาราเซตามอลนั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการควบคุมความเจ็บปวดจากระบบประสาทส่วนกลางโดยซีโรโตนิน โดยมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT₃ (Tjolsen และคณะ. 1991, Alloui และคณะ. 2002) ซึ่งผลในการวิจัยในคนก็ให้ผลที่สนับสนุนต่อทฤษฎีนี้ โดยพบว่าการที่ฉีด tropisetron หรือ granisetron ซึ่งเป็น 5-HT₃ receptor antagonist ร่วมกับยาพาราเซตามอล จะสามารถยับยั้งผลในการลดปวดของยานี้ได้ทั้งหมด (Pickering และคณะ. 2006)

ผลการทดลองต่างๆ เหล่านี้ยืนยันว่ากลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตามอลนี้น่าจะมีส่วนที่ออกฤทธิ์ผ่านการกระตุ้นต่อระบบซีโรโตนิน ซึ่งถือเป็นระบบที่ควบคุมความเจ็บปวดที่สำคัญระบบหนึ่ง

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ Prostaglandin H2 synthetase

เอนไซม์ Prostaglandin H2 synthetase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการเปลี่ยน arachidonic acid ให้เป็น prostaglandin H2 (PGH2) โดยผลการวิจัยแสดงว่ายาพาราเซตามอล สามารถยับยั้งเอนไซม์ PGH2 synthetase ได้โดยลดการเกิด oxidize form ของเอนไซม์นี้ในบริเวณ pox site โดยการรบกวนต่อการสร้าง $Fe^{4+}=OPP^{**}$ ซึ่งเป็น co-substrate ต่อการสร้าง PGG2 ดังอธิบายในรูปแทรก 1 (Anderson และคณะ. 2008).



รูปแทรก 1. แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาพาราเซตามอลโดยการรบกวนต่อการสร้าง $Fe^{4+}=OPP^{**}$ (Anderson และคณะ. 2008).

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-3

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ COX-3 นั้นพบได้มากในระบบประสาทส่วนกลาง และผลการศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ของยาพาราเซตามอลโดย Flower และ Vane ในปี 1972 ที่พบว่ายาพาราเซตามอลสามารถยับยั้ง COX activity brain homogenate ได้มากกว่าในม้าม ก็สนับสนุนทฤษฎีนี้ (Flower and Vane 1972)

ในปี 2002 Chandrasekharan และคณะได้ทำการศึกษาในสุนัขและพบว่าเอนไซม์ COX-3 ในบริเวณ cerebral cortex ซึ่งพบว่า มีฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเหมือนกับเอนไซม์ COX subtype อื่นๆ และผลการทดลองยังพบอีกว่ายาพาราเซตามอลสามารถยับยั้งเอนไซม์ COX-3 นี้ได้

(Chandrasekharan และคณะ. 2002) อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยต่อมาในคนได้บ่งชี้ว่าเอนไซม์ 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).

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านตัวรับ Canabinoid

ผลการศึกษาวิจัยของคณะวิจัยหลายคณะพบว่า fatty acid amide N- arachidonoyl phenolamine (AM440 ซึ่งเป็น active metabolite ของพาราเซตามอล นั้นมีบทบาทเหมือนกับ canabinoid (CB) ในการลดปวดและลดอุณหภูมิของร่างกาย (Bisogno และคณะ. 2008; Guhring และคณะ. 2002)

และเป็นที่ทราบกันดีว่า พาราเซตามอล นั้นจะถูกขับออกทางตับ ในรูปของ glucuronoid sulfate conjugate แต่ผลจากการศึกษาวิจัยในสมองและไขสันหลังของหนูทดลองพบว่าพาราเซตามอลสามารถถูก deacetyllated ไปเป็น p-aminophenol ได้ด้วย ซึ่ง p-aminophenol 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

กลไกการออกฤทธิ์ ผ่านไนตริกออกไซด์

NO จัดเป็นสารสื่อประสาทที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวด (Ovadia และคณะ. 1995 Inoue และคณะ. 1998) และยาพาราเซตามอลรวมทั้ง NSAIDs มีผลในการยับยั้งการปวด โดยมีผลยับยั้งต่อการกระตุ้น ตัวรับชนิด NMDA ในบริเวณไขสันหลังซึ่งเชื่อว่าผลในการลดปวดนี้เป็นผลเนื่องมาจากผลการยับยั้งต่อการสร้าง 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) ดังนั้นกลไกในการลดปวดของยาพาราเซตามอลอันเนื่องมาจากผลการยับยั้ง ต่อการสร้าง NO จึงยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้

Pharmacokinetic ของ Paracetamol

พาราเซตามอลมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อนที่มี pKa ที่ 9.5 ตัวยาจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหาร และจะมีระดับสูงสุดในพลาสมาหลังจากทานยาประมาณ 40 ถึง 60 นาที (Dordoni และคณะ, 1973) ยาพาราเซตามอลกระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว ไม่จับกับพลาสมาโปรตีน จากการศึกษาพบว่าใน dose 90 mg/L การจับกับโปรตีนมีได้แค่ 5% เท่านั้น (Gazzard และคณะ, 1973)

ใน dose ที่ใช้ในการรักษา ยาพาราเซตามอลจะถูกขับออกทางปัสสาวะโดยไม่เปลี่ยนรูปเพียง 5% เท่านั้น ส่วนใหญ่ของปริมาณยา (95%) จะถูกทำลายที่ตับ โดยจะถูก conjugate กับ sulphate และ glycoconide อาจมีบางส่วน (น้อย) จะเปลี่ยนเป็น highly reactive metabolites ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบ mercapturic acid โดยจับกับ glutathion ในกรณีที่ dose สูงมาก (เป็นพิษ) จะมีส่วนของยาที่จับกับ glutathion มาก ซึ่งจะสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนและสารประกอบ polymeric nucleic ได้สารที่มีคุณสมบัติก่อมะเร็ง (Nanra, 1980).

สรุป :

จากการศึกษาทั้งหมด บ่งชี้ว่า การเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาท และสารเคมีต่างๆ ภายในสมอง หรือการเปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวรับของสารสื่อประสาท ที่เกี่ยวข้องกับระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง จะมีผลทำให้เกิดการเสียสมดุลของระบบรับรู้ความเจ็บปวด ซึ่ง การได้รับยาลดปวดต่อเนื่องเป็นเวลานาน น่าจะมีผลกระทบต่อกระบวนการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวด รวมถึงอาจจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวรับสารสื่อประสาทต่างๆ ซึ่งในท้ายที่สุดอาจก่อให้เกิดภาวะเสียสมดุลต่อการหลั่งสารสื่อประสาทเหล่านี้ ซึ่งอาจส่งผลเสียไม่เพียงแต่ระบบควบคุมการรับรู้ความเจ็บปวดเท่านั้น แต่อาจมีผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ประสาท ซึ่งในท้ายที่สุด อาจเป็นสาเหตุในการเกิดการความผิดปกติของสมอง และหรือความรู้สึกเจ็บปวดอื่นๆ ได้

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยประกอบด้วยการศึกษา 3 การศึกษา คือ

1. ศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองโดยศึกษาการแสดงออกของ Fos โปรตีนใน brainstem neurons หลังจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD
2. ศึกษาบทบาทของ nitric oxide ต่อกระบวนการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองผลในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันเปรียบเทียบกับบทบาทของ nitric oxide ในภาวะที่ได้รับยาอย่างเรื้อรัง จากการถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดยทำการศึกษการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ประสาทที่แสดง เอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ดังนี้
 - 10.2.1 ศึกษาปริมาณเซลล์ประสาทที่แสดง เอนไซม์ (NOS) บนผิวสมอง
 - 10.2.2 ศึกษาปริมาณเซลล์ประสาทที่แสดง เอนไซม์ (NOS) ใน brainstem neurons ในไขสันหลังระดับ C1-C2
3. ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง โดยศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ Vascular Cell Adhesion Molecules (V-CAM 1) บนผิวหลอดเลือดสมองในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติด้วย

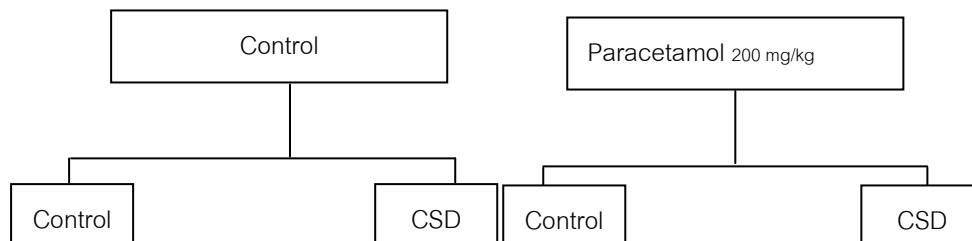
โดยในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีการแบ่งกลุ่ม และ เตรียมสัตว์ทดลองดังนี้

1. กลุ่มทดลองที่ต้องการศึกษาผลของยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน (n = 20)
 2. กลุ่มทดลองที่ต้องการศึกษาผลของยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง (n = 20)
- และในแต่ละกลุ่มทำการแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น กลุ่มย่อยใหญ่ดังแสดงตามแผนภาพ

1. กลุ่มทดลองที่ต้องการศึกษาผลของยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน

ในการศึกษาถึงผลของยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันทำการ

แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่มย่อยดังแสดงตามแผนภาพที่ 2 คือ



ภาพที่ 2 แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน

1.1 กลุ่มควบคุม (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณโดยบริเวณเจาะเพื่อวาง sodium chloride ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF กลุ่มบริเวณที่เจาะไว้ โดยทำการควบคุม ความดัน และ blood gas ให้คงที่เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion ต่อไป

1.2 กลุ่มควบคุมที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone เตรียม เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarization shift (DC shift) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

1.3 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล (n=8)

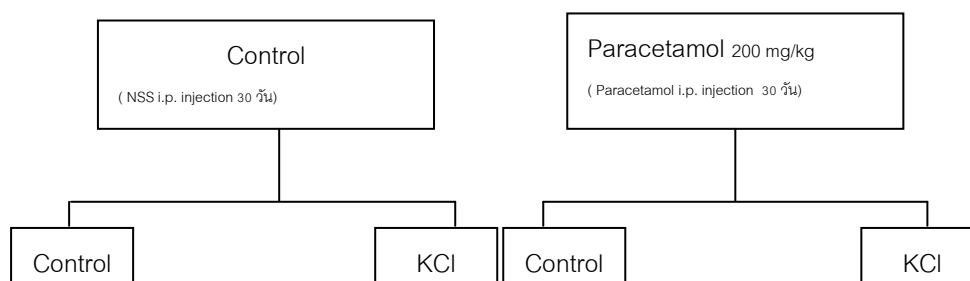
สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เพื่อวาง sodium chloride และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้ โดยก่อนที่จะวาง sodium chloride 1 ชั่วโมง สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับยาพาราเซตามอล โดยจะทำการฉีดยาพาราเซตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BW ทำการตรวจวัด ความดัน และ blood gas เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion ต่อไป

1.4 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลและได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone เตรียม เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarization shift (DC shift) โดย ก่อนที่จะวาง potassium chloride สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับยาพาราเซตามอล โดยจะทำการฉีดยาพาราเซตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BW ก่อนที่จะวาง potassium chloride 1 ชั่วโมงเพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarization shift (DC shift) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

2. กลุ่มทดลองที่ต้องการศึกษาผลของยาพาราเซตามอลอย่างเร่งด่วน (n = 20)

ในการศึกษาถึงผลของยาพาราเซตามอลอย่างเร่งด่วนทำการแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่มย่อยดังแสดงตามแผนภาพที่ 3 คือ



ภาพที่ 3 แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเร่งด่วน

2.1 กลุ่มควบคุม (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในปริมาณ 1 ml เป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองหลังจากนั้นจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone แล้วหยด artificial CSF คลุมบริเวณที่เจาะไว้เป็นเวลา 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) ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone เตรียม เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarization shift (DC shift) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

1.3 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล (n = 8)

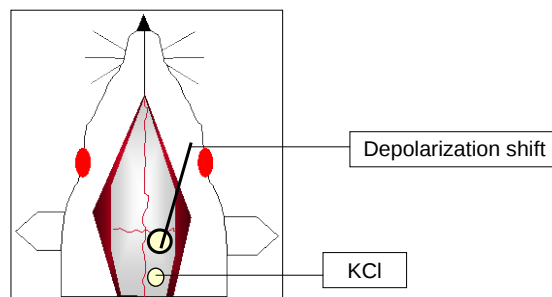
สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดยาพาราเซตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BWเป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองและได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง sodium chloride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

1.4 กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลและได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (n = 8)

สัตว์ทดลองในกลุ่มนี้จะได้รับอาหารและน้ำดื่มตามปกติและจะได้รับการฉีดยาพาราเซตามอลเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneally injection) ในความเข้มข้น 200 mg/kg BWเป็นเวลา 30 วัน ก่อนเริ่มการทดลองและจะได้รับการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) 2 บริเวณโดยบริเวณ parietal bone เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD และในบริเวณ frontal bone เตรียม เพื่อสอด glass microelectrode เพื่อทำการตรวจวัดการเกิด depolarization shift (DC shift) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วจึงนำสัตว์ทดลองผ่านกระบวนการ perfusion

การผ่าตัดเตรียมสัตว์ทดลองและเหนี่ยวนำให้เกิดปรากฏการณ์ CSD

ทำการทดลองในหนูทุกกลุ่มโดยสัตว์ทดลองจะถูกนำมาทำให้สลบโดยใช้ pentobarbital ขนาด 60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมฉีดเข้าช่องท้อง หลังจากสัตว์สลบแล้วทำการเจาะคอและใส่ท่อช่วยหายใจ หลังจากนั้นทำการผ่าตัดเจาะกะโหลกศีรษะ (craniotomy) โดยเจาะ 2 บริเวณตามที่แสดงไว้ในภาพ 4 โดยบริเวณ parietal bone เป็นบริเวณที่เจาะเพื่อวาง potassium chloride (3 mg) หรือ สำหรับกลุ่มควบคุมใช้การวาง sodium chloride แทน potassium chloride โดยในการเจาะกะโหลกศีรษะ ทั้งหมดจะใช้เทคนิค saline cooled drill ในการเจาะเพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบจากการเจาะ และความร้อนจากการ drill ต่อเซลล์ประสาท



ภาพที่ 4 แสดง บริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride(sodium chloride) และ บริเวณที่สอด glass microelectrode

ขั้นตอนการตรวจเช็ค DC. Shift

หลังจากกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์ CSD โดยการวาง KCl ลงบนรูเปิดสมอง A แล้วทำการวัด การเกิด depolarization shift ที่เกิดจากปรากฏการณ์ CSD โดยสอด Glass microelectrode. (เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 μm) ที่ภายในบรรจุ NaCl 4 M และมี ลวด Ag/ AgCL สอดเป็นแกนกลางด้านใน โดยในการสอด Glass microelectrode จะถูกควบคุมด้วย micromanipulator 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)

การ perfusion เพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับ immunohistochemistry

หลังจากวาง potassium chloride หรือ artificial CSF ลงบนผิวหนังสมองเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หนูทดลองทุกตัวจะถูก perfuse ด้วย PBS ปริมาตรทั้งหมด 250 มิลลิลิตร โดยจะทำการผ่าเปิดสัตว์ทดลอง ตั้งแต่ ระดับช่องท้องจนถึงหัวใจ เจาะให้เข็มแทงผ่านตั้งแต่ส่วนยอดหัวใจ ผ่านหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) แล้วจึงผ่าน PBS ลงในท่อยาง ที่ต่อกับเข็มที่แทงไว้แล้ว ทำการ perfuse สัตว์ทดลองจนกระทั่ง PBS หมด จึงทำการ perfuse ต่อด้วย 4% paraformaldehyde ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผ่าตัดเปิดกะโหลกศีรษะ แยกผ่ากะโหลกศีรษะออก ตัดแยกสมองและไขสันหลังส่วนคอ (cervical spinal cord) แล้วจึงนำชิ้นเนื้อที่ได้มาทำการ postfixation โดยการแช่ใน 0.1 M PBS (อุณหภูมิ 4°C) เพื่อเตรียมตัดและย้อม ด้วยวิธี immunohistochemistry free floating method ต่อไป

การ ย้อม Fos ใน ชิ้นเนื้อไขสันหลังระดับ C1-C2 และการย้อม NOS protein ในชิ้นเนื้อสมองและ ไขสันหลังด้วยวิธี immunohistochemistry free floating method

การศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ NOS และ โปรตีน fos

นำชิ้นเนื้อที่ตัดได้มาล้างด้วย PBS 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำมาแช่ใน PBS ที่เติม 1% hydrogen peroxide เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อลด endogenous peroxidase จากนั้นนำชิ้นเนื้อมา incubate ใน 5% normal rabbit serum ใน PBS-A (PBS+ 1% BSA + 0.3% Triton X 100) เป็นเวลา 30 นาที เพื่อลด non-specific binding แล้วจึงนำมา incubate กับ specific primary antibody (rabbit anti-cfos antiserum and rabbit anti NOS antiserum, dilution 1:1000) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ชิ้นเนื้อทำปฏิกิริยากับ primary antibody จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ทำปฏิกิริยาขึ้นต้นแล้วมาล้างด้วย PBS-B (PBS + 0.25% BSA + 0.1% Triton X-100) 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที แล้วนำไปทำปฏิกิริยาขั้นที่ 2 กับ biotinylated mouse anti- rabbit IgG (dilution 1:200) ใน PBS-B เป็นเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วล้างด้วย PBS นำชิ้นเนื้อไปทำให้เกิดสีโดยวิธี ABC complex ด้วย ABC-streptavidin horseradish peroxidase complex (dilution 1:250) ใน PBS แช่ชิ้นเนื้อเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นล้างทั้ง แล้วนำชิ้นเนื้อที่ได้ไปทำปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายโดยแช่ในสารละลาย tris-HCL buffer ที่เติม 0.25% diaminobenzidine (DAB) และ 0.01% hydrogen peroxide เป็นเวลา 7 นาที นำชิ้นเนื้อที่ทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วมาล้างและติดบน slide และปิดด้วย cover slip นำ slide ที่ได้มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ เซลล์ที่มี NOS-like immunoreactivity (NOS-IR) จะติดสีน้ำตาลเข้มในบริเวณ cytoplasm ส่วนเซลล์ที่มี fos-like immunoreactivity (fos-IR) จะติดสีน้ำตาลเข้มในบริเวณ nucleus ศึกษาตำแหน่งและการกระจายของกลุ่มเซลล์ที่มี NOS-IR และกลุ่มเซลล์ที่มี fos-IR และทำการนับจำนวนเซลล์ทั้งสองในหนูทดลองทุกกลุ่ม

กระบวนการ immunohistochemistry เพื่อศึกษา การแสดงออกของ VCAM-1

ทำการศึกษาในหนูทุกกลุ่มโดยนำชิ้นเนื้อสมอง จะถูกนำมาแช่ใน 4% paraformaldehyde ข้ามคืนในอุณหภูมิ 4°C จากนั้นจึงนำชิ้นเนื้อสมองมาผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ โดยผ่านกระบวนการ dehydration ใน alcohol infiltration และ embed ใน พาราฟิน หลังจากนั้นทำการตัดโดยใช้เครื่อง Microtome โดยตั้งความหนาของ ชิ้นเนื้อ ที่ 4 micrometer วางชิ้นเนื้อที่ตัดลงบนสไลด์ เพื่อเตรียม ย้อม ด้วย immunohistochemistry นำชิ้นเนื้อที่ตัดได้มาล้างด้วย PBS 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำมาแช่ใน PBS ที่เติม 1% hydrogen peroxide เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อลด endogenous peroxidase จากนั้นนำชิ้นเนื้อมา incubate ใน 5% normal rabbit serum ใน PBS-A (PBS+ 1% BSA + 0.3% Triton X 100) เป็นเวลา 30 นาที เพื่อลด non-specific binding แล้วจึงนำมา incubate กับ specific anti VCAM-1 antiserum (1: 100) เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง เพื่อให้ชิ้นเนื้อทำปฏิกิริยากับ anti

VCAM-1 antibody จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ทำปฏิกิริยาขั้นต้นแล้วมาล้างด้วย PBS-B (PBS + 0.25% BSA + 0.1% Triton X-100) 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที แล้วนำไปทำปฏิกิริยาขั้นที่ 2 กับ biotinylated rabbit anti- IgG (dilution 1:400) ใน PBS เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วล้างด้วย PBS นำชิ้นเนื้อไปทำให้เกิดสีโดยวิธี ABC complex ด้วย ABC–streptavidin horseradish peroxidase complex (dilution 1:250) ใน PBS แช่ชิ้นเนื้อเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นล้างทิ้ง แล้วนำชิ้นเนื้อที่ได้ไปทำปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายโดยแช่ในสารละลาย tris-HCL buffer ที่เติม 0.25% diaminobenzidine (DAB) และ 0.01% hydrogen peroxide เป็นเวลา 30 นาที นำชิ้นเนื้อที่ทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วมาล้างและติดบน slide และปิดด้วย cover slip นำ slide ที่ได้มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ เซลล์ที่มี VCAM-1-like immunoreactivity (VCAM-1-IR) จะติดสีน้ำตาลเข้ม ศึกษาตำแหน่งและการกระจายของหลอดเลือดที่มี VCAM-1-IR และทำการนับจำนวนหลอดเลือดที่มี VCAM-1-IR ในหนูทุกกลุ่ม

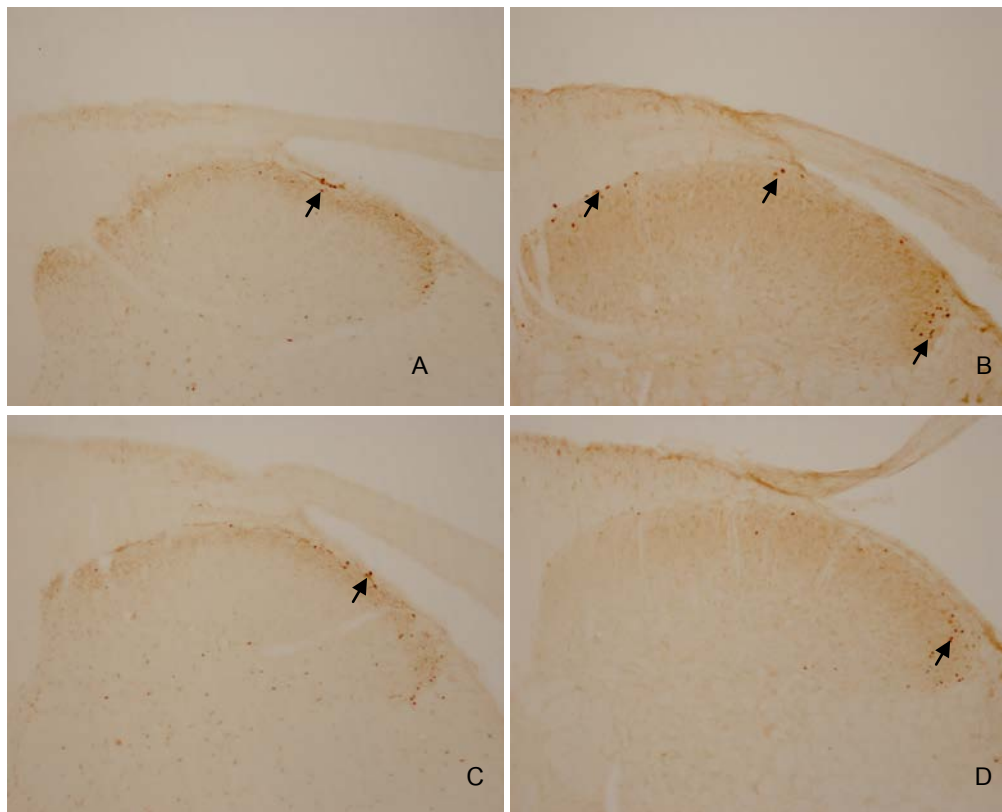
ผลการศึกษา

ผลการศึกษาวิจัยจากการศึกษาที่ 1

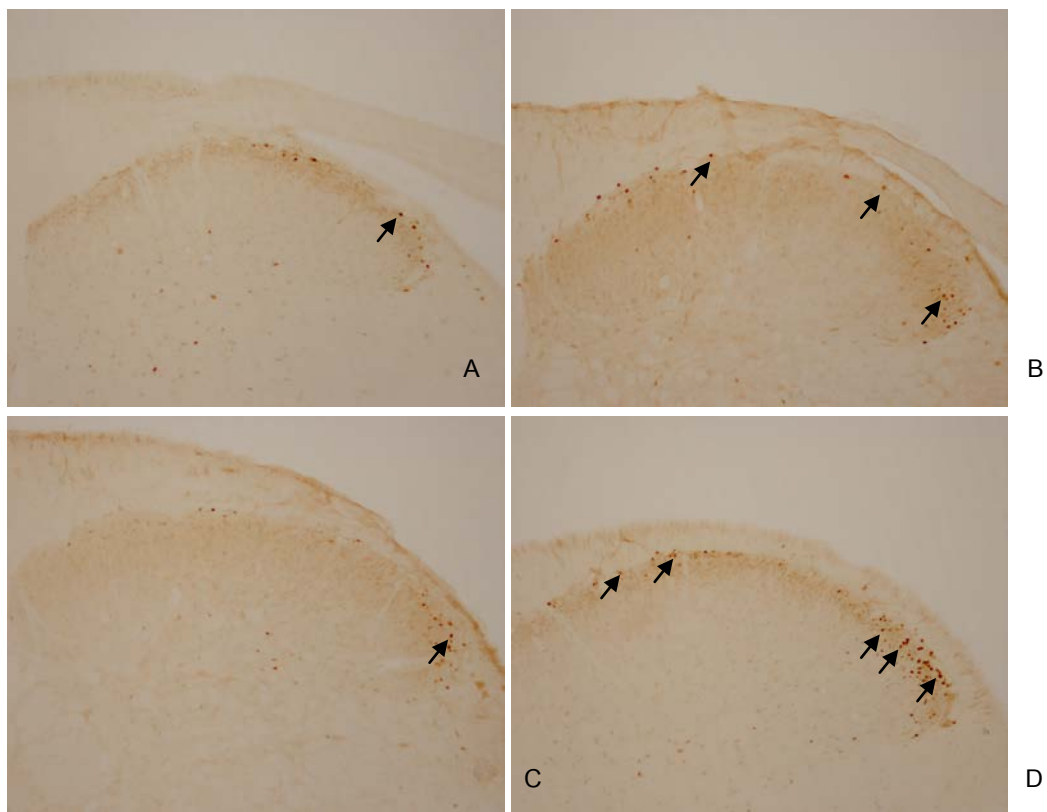
ศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองโดยศึกษาการแสดงออกของ Fos โปรตีนใน brainstem neurons หลังการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

ผลการทดลองพบว่าการกระตุ้นให้สมองใหญ่เกิดปรากฏการณ์ CSD สามารถกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง โดยพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ใน dorsal hornของไขสันหลังในระดับ C1-C2 (ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่รับผิดชอบต่อส่งกระแสประสาทขึ้นไปสู่สมองเมื่อมีการกระตุ้นบริเวณใบหน้าและศีรษะ)ในหนูทดลองที่ได้รับการกระตุ้นมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติบ่งชี้ว่าการกระตุ้นระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองจากปรากฏการณ์ CSD และเมื่อทำการศึกษาในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ โปรตีน fos ในชั้นเนื้อไขสันหลังในระดับ C1-C2ในบริเวณ dorsal horn มีจำนวนลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 7.5 ± 3 เซลล์ ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (15 ± 3 เซลล์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แต่เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ใน ในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง เทียบกับกลุ่มหนูปกติ (กลุ่มควบคุม) กลับพบว่า การกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD เหนียวนาให้มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ใน dorsal hornของไขสันหลังในระดับ C1-C2 ไขสันหลัง ของกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างอย่างเรื้อรัง มากกว่ากลุ่มหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างอย่างเรื้อรังเท่ากับ 27 ± 4 เซลล์ซึ่งมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSDที่ไม่ได้รับยา (18 ± 3 เซลล์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 5- 6



ภาพที่ 5. จากภาพการศึกษาในบริเวณ Laminar I และ II ของซีกเนื้อไขสันหลัง แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาล (arrow) มากกว่าในกลุ่มหนูปกติ (A) และการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สามารถลดจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ลงได้ (D) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ (A) พบว่าการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันอย่างเดียว (C) ไม่มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ของซีกเนื้อไขสันหลังเลย



ภาพที่ 6. จากภาพการศึกษาในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลัง แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ซึ่งเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาล (arrow) มากกว่าในกลุ่มหนูปกติ (A) การศึกษาส่วนนี้ยังพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos (D) มากกว่ากลุ่มที่รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD แต่เพียงอย่างเดียว (B) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ (A) พบว่าการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังอย่างเดียว (C) ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงต่อการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลังเลย

ตารางที่ 1. แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ใน ชั้นเนื้อไขสันหลังในระดับ C1-C2 ในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอล

Group	Acute treatment study	Chronic treatment study
Control	8 ± 3	10 ± 2
Control with CSD	$15 \pm 3^*$	$18 \pm 3^*$
Paracetamol treatment	7.5 ± 3	13 ± 2
Paracetamol with CSD	$7 \pm 3^\#$	$27 \pm 4^{*\#}$

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control ($p < 0.05$)

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม CSD ($p < 0.05$)

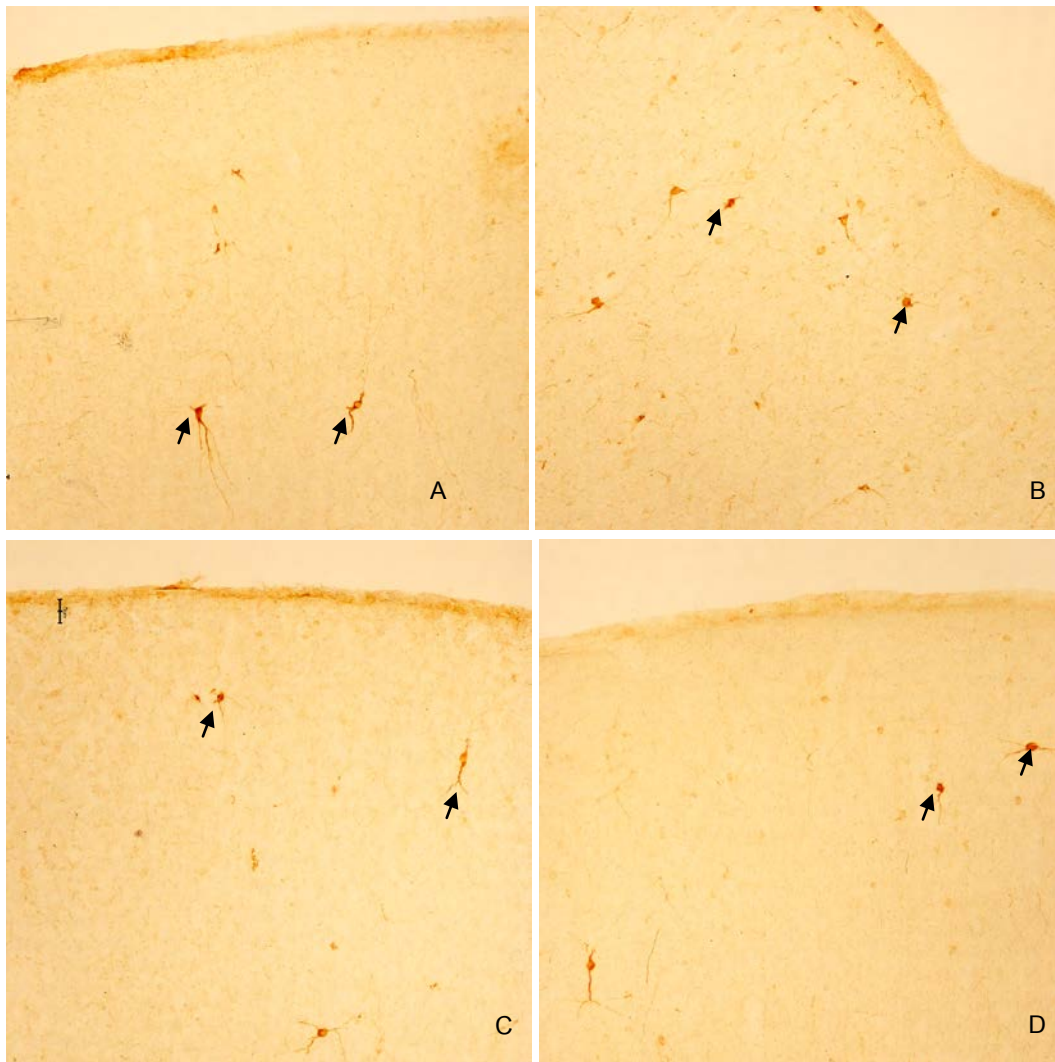
ผลการศึกษาวิจัยจากการศึกษาที่ 2

ศึกษาบทบาทของ nitric oxide ต่อกระบวนการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองผลในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันเปรียบเทียบกับบทบาทของ nitric oxide ในภาวะที่ได้รับยาอย่างเรื้อรัง จากการถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

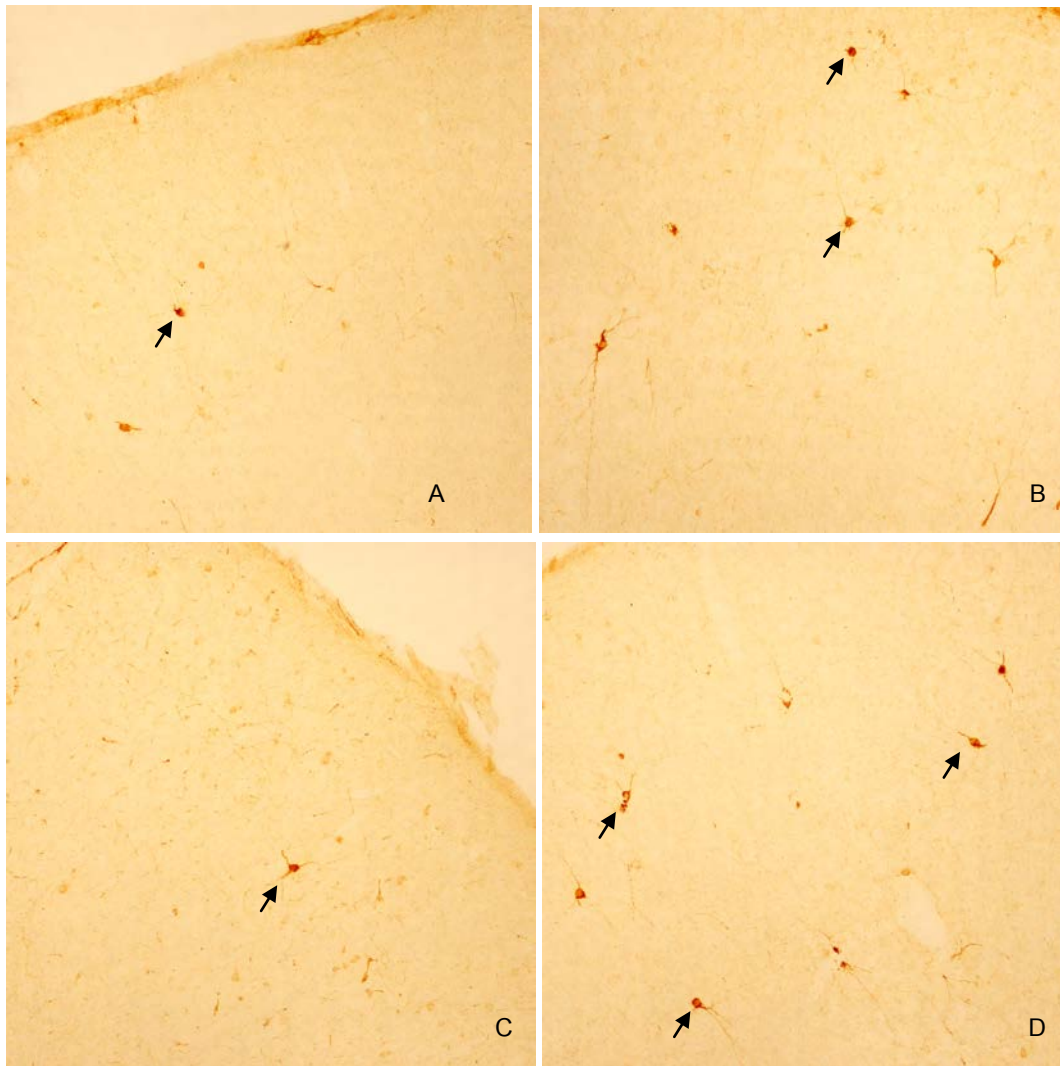
หลังจากที่นำชิ้นเนื้อทำในส่วนของสมอง และไขสันหลัง นำมาผ่านกระบวนการย้อม NOS-Immunohistochemistry เรียบร้อยแล้ว จึงนำชิ้นเนื้อทั้งหมดที่อยู่บนสไลด์มาผ่านกระบวนการ Scan slide ด้วยเครื่องมือ Scan scope จากนั้นจึงทำการนับเซลล์ที่ให้ผลบวกกับการย้อม NOS-Immunohistochemistry (NOS-IR cell) โดยสังเกตได้จากการติดสีน้ำตาลเข้มในส่วนของไซโตพลาสซึม โดยใช้โปรแกรม Scan Scope Image ทำการนับจำนวน NOS-IR cell ในบริเวณ cerebral cortex โดยการวางกริดขนาด $1 \times 1 \text{ mm}^2$ บนภาพแล้วจึงทำการนับจำนวน NOS-IR cell และรายงานผลเป็น จำนวน NOS-IR cell ต่อพื้นที่ 5 mm^2 ในทุกๆชิ้นเนื้อส่วนใน Spinal cord ทำการนับจำนวน NOS-IR cell ในบริเวณ ของ lamina I+II เท่านั้น โดยรายงานผลการนับเป็นจำนวน NOS-IR cell ต่อชิ้นเนื้อ

ผลการศึกษา

1. ผลของการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในบริเวณ cerebral cortex เปรียบเทียบระหว่างภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน และ ในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง
จากการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในสมองของหนูกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันพบว่าไม่มีความแตกต่างของจำนวน NOS-IR cell ในชิ้นเนื้อสมองระหว่างกลุ่มเลย (ตารางที่ 2) แต่การศึกษาในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังกลับพบว่าปริมาณของ NOS-IR cell ในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังร่วมกับถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD นั้น มีจำนวนของ NOS-IR cell เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมและมากกว่ากลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ไม่ได้รับยา ดังผลแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 7-8



ภาพที่ 7. จากภาพการศึกษาใน บริเวณ cerebral cortex ของชั้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างของ จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ซึ่งเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม (arrow) ระหว่างกลุ่มของหนูปกติ (A) หนูปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) หนูที่ได้รับยา พาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน (C) และ หนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันร่วมกับถูก กระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D) เลย



ภาพที่ 8. จากภาพการศึกษาใน บริเวณ cerebral cortex ของชิ้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังร่วมกับถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD(D) นั้น มีจำนวนของ NOS-IR cell ซึ่งจะเป็เซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม (arrow) เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม(A) และมากกว่ากลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ไม่ได้รับยา (B)และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง (C) อย่างชัดเจน

ตารางที่ 2. แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ในบริเวณ cerebral cortex ในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอล อย่างเฉียบพลัน (acute treatment) และอย่างเรื้อรัง (chronic treatment) หลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

Group	Acute treatment Study (cells/5mm ²)	Chronic treatment study(cells/5mm ²)
Control	19 $\pm$ 3	21 $\pm$ 3
Control with CSD	25 $\pm$ 5	26 $\pm$ 4
Paracetamol treatment	18 $\pm$ 4	24 $\pm$ 3
Paracetamol with CSD	24 $\pm$ 4	35 $\pm$ 6 ^{*#}

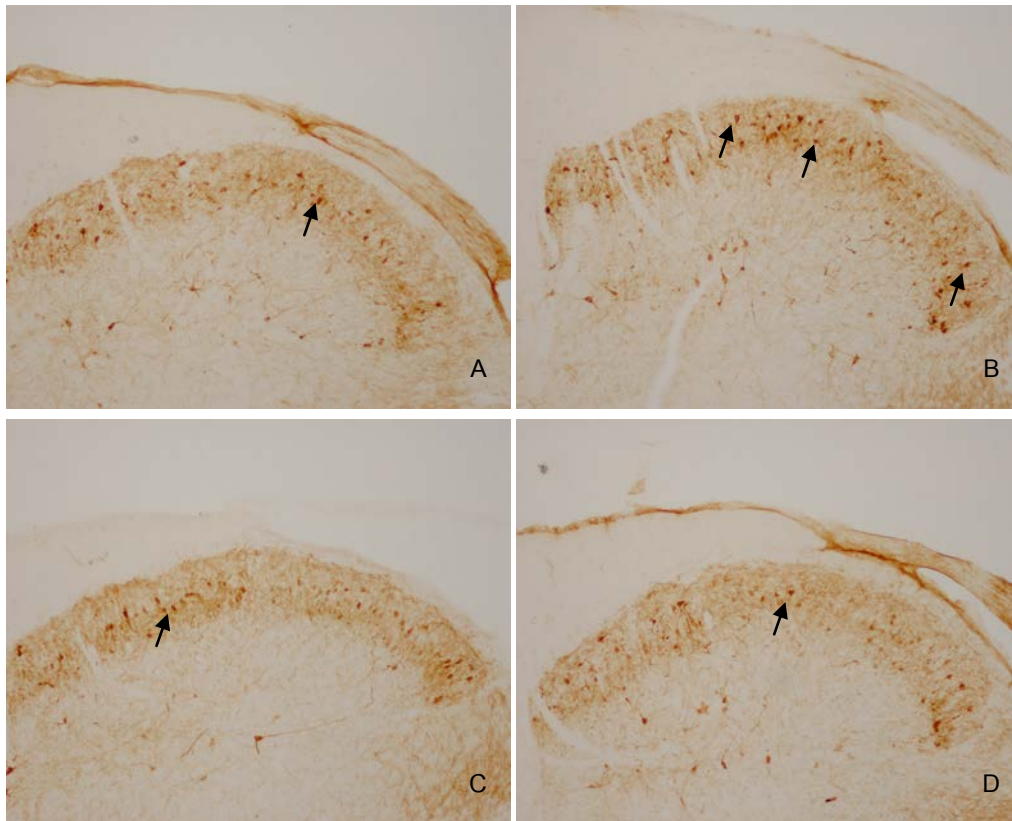
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control (p< 0.05)

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม CSD (p< 0.05)

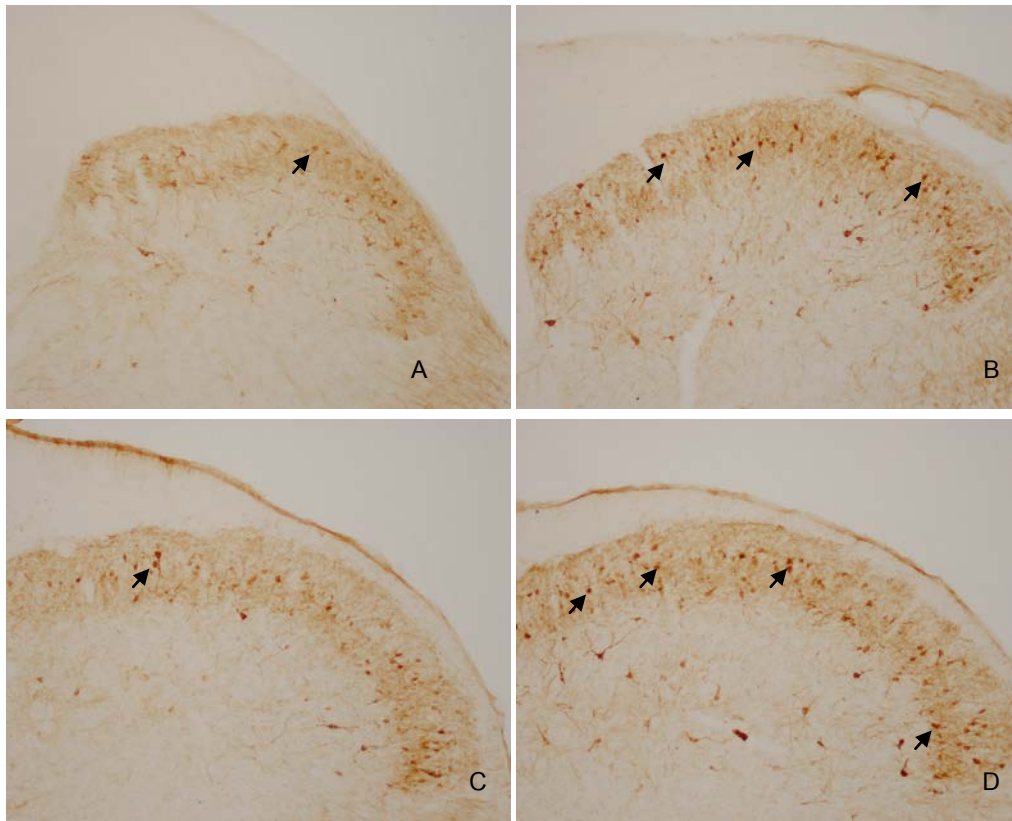
2. ผลของการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ NOS ในบริเวณ Lamina I+II ในชิ้นเนื้อตัวอย่างจากไขสันหลังระดับ C1-C2 เปรียบเทียบระหว่างภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน และ ในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง

เมื่อทำการศึกษาในชิ้นเนื้อตัวอย่างจากไขสันหลังในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันพบว่า การกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สามารถเหนี่ยวนำให้ NOS-IR cell มีจำนวนที่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน สามารถลดจำนวนของ NOS-IR cell ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ลงได้

ส่วนการศึกษาถึงจำนวนของ NOS-IR cell ในภาวะที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง กลับพบว่า การที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง (30 วัน) ก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD จะสามารถเหนี่ยวนำให้ มีการแสดงออกของ NOS-IR cell มากกว่า ในหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดยไม่ได้รับยาพบว่าจำนวนของ NOS-IR cell ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง ร่วมกับได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มีจำนวนมากกว่า แต่ความแตกต่างนั้นยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังผลแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 9-10



ภาพที่ 9. จากภาพการศึกษาในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลัง แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม (arrow) มากกว่าในกลุ่มหนูปกติ (A) และพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สามารถลดจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ลงได้ (D) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ (A) พบว่าการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันอย่างเดียว (C) ไม่มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน NOS ในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลังเลย



ภาพที่ 10. จากภาพการศึกษาในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลัง แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม (arrow) มากกว่าในกลุ่มหนูปกติ (A) การศึกษาส่วนนี้ยังพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังร่วมกับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS (D) มากกว่ากลุ่มที่รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD แต่เพียงอย่างเดียว (B) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ (A) พบว่าการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังอย่างเดียว (C) ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงต่อการแสดงออกของโปรตีน NOS ในบริเวณ Laminar I และ II ของชั้นเนื้อไขสันหลังเลย

ตารางที่ 3. แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ในบริเวณ Lamina I+II ของชั้นเนื้อไขสันหลังระดับ C1-C2 ในหนูปกติเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน (acute treatment) และอย่างเรื้อรัง (chronic treatment) หลังจากถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

Group	Acute treatment study	Chronic treatment study
Control	20 $\pm$ 5	25 $\pm$ 5
Control with CSD	35 $\pm$ 3*	38 $\pm$ 4*
Paracetamol treatment	21 $\pm$ 3	26 $\pm$ 4
Paracetamol with CSD	25 $\pm$ 6 [#]	43 $\pm$ 9*

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control (p< 0.05)

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม CSD (p< 0.05)

ผลการศึกษาวิจัยจากการศึกษาที่ 3

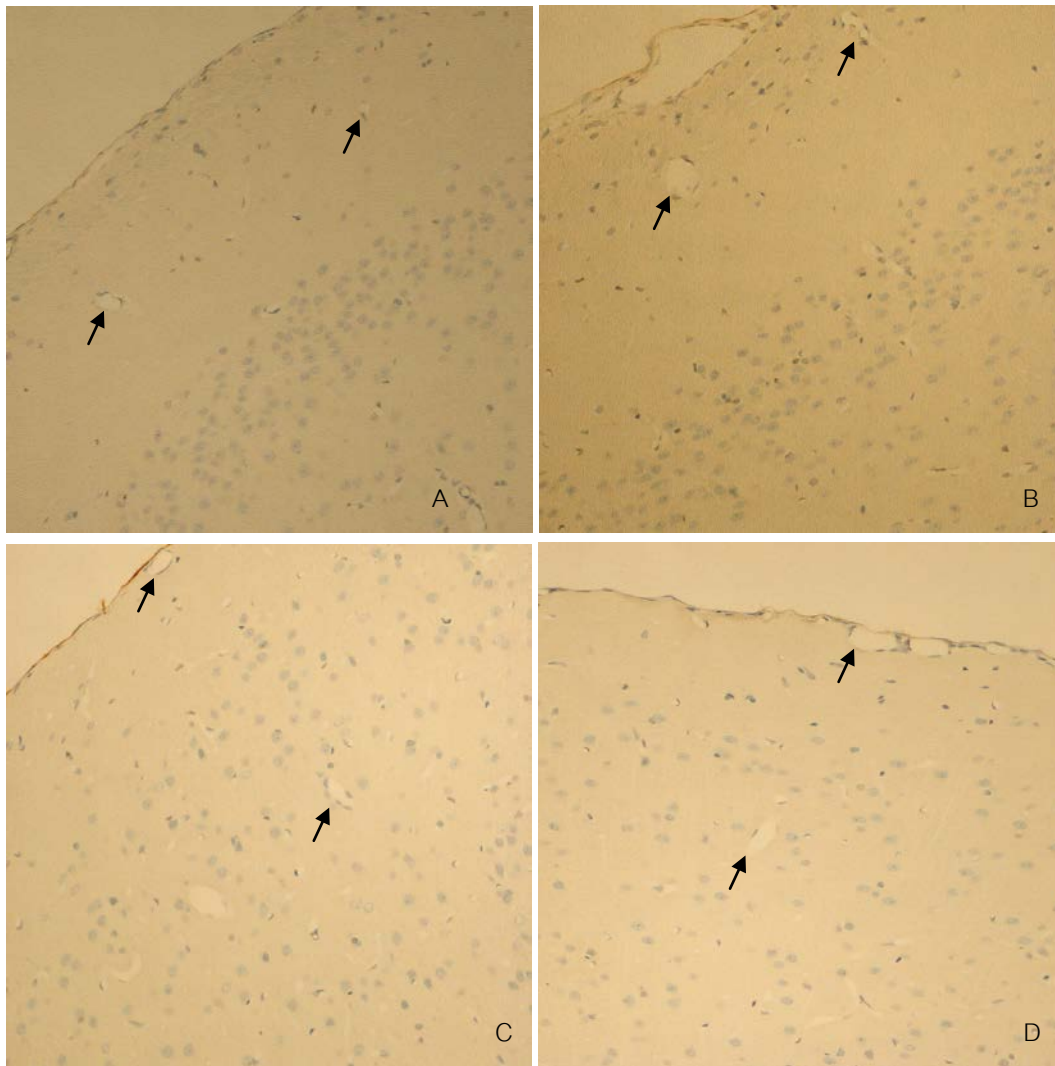
การศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมอง

- 3.1 ผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันต่อการแสดงออกของ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมองหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

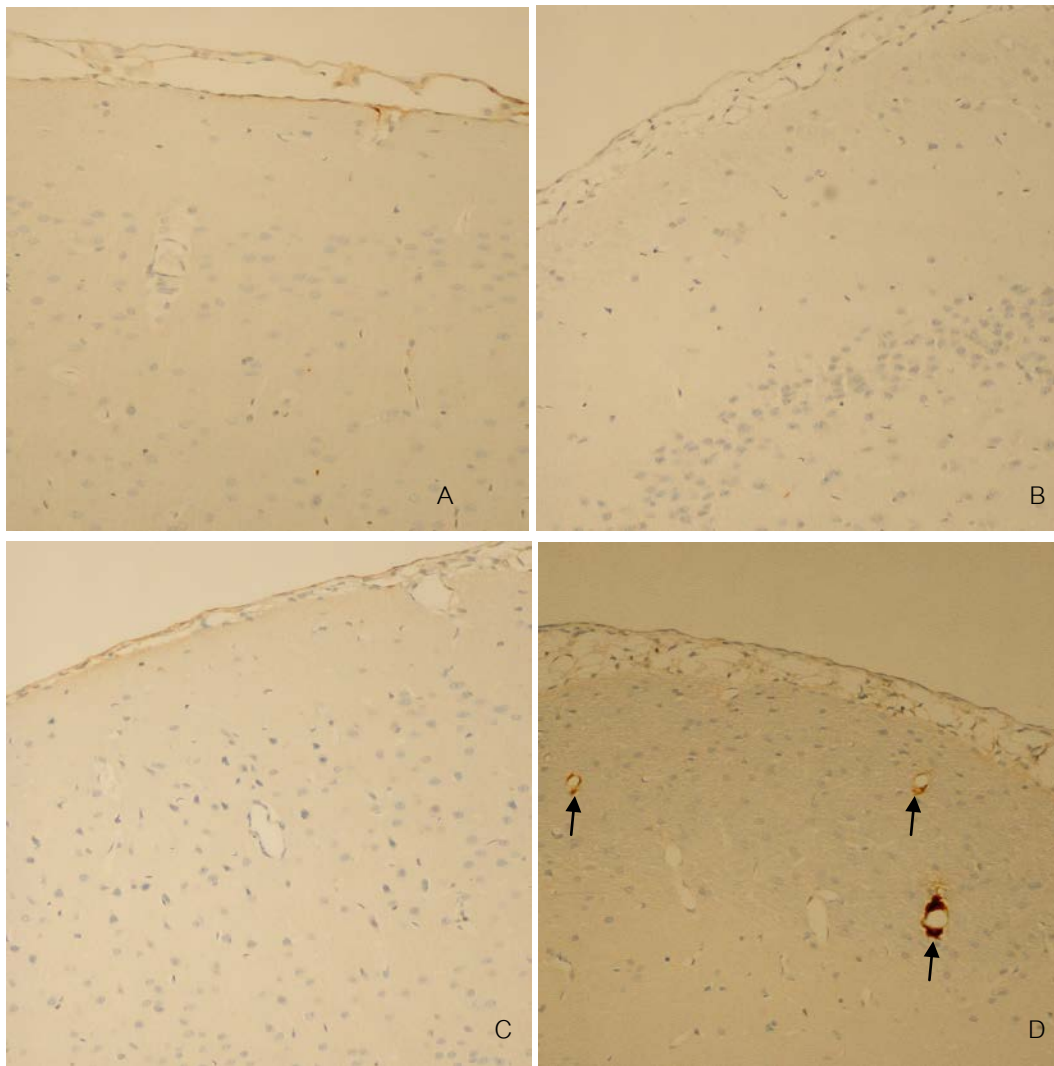
ผลการทดลองพบว่า ไม่พบความแตกต่าง ของการแสดงออกของ V-CAM-1 บนหลอดเลือดสมองระหว่างกลุ่มควบคุม, ควบคุมที่ถูกกระตุ้นด้วย CSD, กลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล และกลุ่มที่ได้รับทั้งยาพาราเซตามอลและการกระตุ้นด้วย CSD ดังแสดงผลในภาพที่ 11

- 3.2 ผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังต่อการแสดงออกของ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมอง

หลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ผลการทดลองพบว่ามีเพียง กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังเป็นเวลา 30 วันร่วมกับถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD เท่านั้นที่มีของหลอดเลือดที่มีผล positive ต่อการย้อม V-CAM-1-Immunohistochemistry โดยพบว่าจากการตรวจเช็คหลอดเลือดสมอง ทั้งสิ้น 100 หลอดเลือดในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอล อย่างเรื้อรังร่วมกับการถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD พบว่ามีหลอดเลือดที่ให้ผลบวกต่อการย้อม V-CAM-1-Immunohistochemistry ทั้งสิ้น 20 หลอดเลือด ในขณะที่กลุ่มอื่นๆ นั้น ไม่พบหลอดเลือดให้ผลบวกต่อการย้อมเลยดังแสดงผลในภาพที่ 12



ภาพที่ 11. จากภาพการศึกษาหลอดเลือดสมอง (arrow) ใน บริเวณ cerebral cortex ของชิ้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างของการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมอง ระหว่างกลุ่มของหนูปกติ (A) หนูปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (B) หนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน (C) และ หนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันร่วมกับถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D) เลย โดยไม่พบการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองในทุกกลุ่มการทดลองนี้



ภาพที่ 12. จากภาพการศึกษาใน บริเวณ cerebral cortex ของชั้นเนื้อสมอง แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังร่วมกับถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD (D) นั้น มีการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองซึ่งจะพบว่าการติดสีน้ำตาลเข้มในบริเวณเซลล์ที่บุหลอดเลือด (arrow) ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุม(A) กลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังแต่เพียงอย่างเดียว(C) และกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ที่ไม่ได้รับยา (B) ซึ่งไม่พบการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองเลย

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง (Trigemino vascular system) มีการตอบสนองที่ต่างกันระหว่างการได้รับยาพาราเซตามอลเฉียบพลัน และเรื้อรัง โดยพบว่าการได้รับยาพาราเซตามอลเฉียบพลันสามารถลดการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากปรากฏการณ์ CSD ลงได้ แต่ในทางกลับกันการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังติดต่อกันเป็นเวลานาน (30 วัน) กลับส่งผลเสียต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมอง โดยพบว่าการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากขึ้น ดังแสดงได้จากการตรวจพบจำนวน Fos-IR cell และการตรวจพบการแสดงออกของ VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองเพิ่มขึ้นเพิ่มขึ้นในหนูกลุ่มนี้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ยาพาราเซตามอล จัดว่าเป็นยาลดไข้บรรเทาปวดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมาเป็นเวลานาน แต่ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยานี้มาเป็นเวลานานแล้วก็ตาม กลไกการออกฤทธิ์ของยานี้กลับยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันสามารถยับยั้งการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองโดยปรากฏการณ์ CSD ลงได้ โดยวัดจากจำนวนเซลล์ที่มี fos expression ในบริเวณ lamina I-II ของชั้นเนื้อ spinal cord ระดับ C1-C2 ลดลง จากผลการวิจัยของคณะวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ลดปวดของยาพาราเซตามอลนั้นมีข้อสรุปเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยานี้ว่าอาจออกฤทธิ์ผ่านกลไกต่างๆ กัน เช่น การออกฤทธิ์ผ่านกลไกการต้านการสร้างสาร prostaglandin H2 (PGH2) การออกฤทธิ์ผ่านระบบซีโรโทนิน (Tjolsen และคณะ, 1991) การออกฤทธิ์ผ่านตัวรับ cannabinoid (Ottani และคณะ, 2006) รวมถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งไนตริกออกไซด์ (Bjorkman และคณะ, 1995) เป็นต้น

ผลการวิจัยของเราขึ้นจนถึงฤทธิ์ในการลดปวดของยาพาราเซตามอลโดยผ่านการยับยั้ง NO จากผลการศึกษาวิจัยที่พบว่าในกลุ่มหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้มีจำนวนของ NOS-IR เซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันพบว่าจำนวนของ NOS-IR เซลล์ในชั้นเนื้อ spinal cord ของหนูกลุ่มนี้มีจำนวนลดลง ซึ่งผลการวิจัยส่วนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bjorkman และคณะในปี 1995 ที่ระบุว่าผลในการระงับปวดของยาพาราเซตามอลนั้นมีฤทธิ์โดยผ่านกลไกการยับยั้งการหลั่ง NO ในบริเวณ spinal cord ด้วย (Bjorkman และคณะ, 1995)

ส่วนการศึกษาวิจัย ถึงผลในการลดปวดของยาพาราเซตามอลในกรณีที่ได้รับยานี้อย่างเรื้อรัง (30 วัน) กลับให้ผลที่แตกต่างกันโดยพบว่าจำนวนของ Fos-IR เซลล์ หลังจากกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง มีจำนวนมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยา และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน ซึ่งเป็นผลที่สอดคล้องกับผลการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง ในปี 1999 พบว่า การที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วันทำให้ผลในการลดปวดของยานี้ต่อการกระตุ้นด้วยความร้อน

ลดลง (Srikiatkachorn และคณะ 1999) และคณะวิจัยยังพบอีกว่า ในหนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องมีการเปลี่ยนแปลงของ Serotonin transporter ทั้งในบริเวณสมอง และใน กรีดเลือด (Srikiatkachorn และคณะ 2000) จากการที่ ซีโรโตนิน เป็นสารสื่อประสาทที่มีความเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคปวดศีรษะเป็นอย่างมาก ดังนั้นการที่พบการเปลี่ยนแปลงในระบบ ซีโรโตนิน ในหนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องนั้นบ่งชี้เป็นอย่างดีว่ากระบวนการควบคุมความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองในหนูกลุ่มนี้น่าจะมีความผิดปกติไป

นอกจากนี้ผลในการศึกษาวิจัยของคณะวิจัยนี้ (จากโครงการวิจัยใหญ่) ก็ยังพบว่าหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังมีการตอบสนองของ cortical neurons มากกว่ากลุ่มควบคุม และภาวะ hypersensitivity ของ cortical neurons นี้เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_{2A} ทั้งในส่วน of cerebral cortex และ trigeminal ganglia (Supornsilpchai และคณะ, in press) ซึ่งกลไกการกระตุ้นต่อตัวรับซีโรโตนินชนิด 5-HT_{2A} นี้ มีความเกี่ยวข้องกับการหลั่งสาร NO ด้วย (Srikiatkachorn และคณะ, 2002) ดังนั้นความเกี่ยวข้องของ NO ในการเกิดการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดที่มากกว่ากลุ่มควบคุมหลังจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง จึงได้รับการสนับสนุนจากการศึกษาวิจัยนี้ด้วย (Supornsilpchai และคณะ, in press.).

ในการศึกษาวิจัยนี้ยังพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันนั้น ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ NOS-IR เซลล์ในบริเวณ cerebral cortex แต่กลับพบว่าการได้รับยาลดปวดนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานกลับทำให้ปริมาณของ NOS-IR เซลล์เพิ่มขึ้นหลังจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ทั้งในบริเวณ cerebral cortex และ spinal cord และเป็นที่ทราบกันทั่วไปแล้วว่า NO เป็นก๊าซโมเลกุลที่มีบทบาทเกี่ยวข้องในการเกิดพยาธิสภาพหลายพยาธิสภาพ รวมถึงกระบวนการควบคุมความเจ็บปวด โดย NO นั้นพบว่ามีบทบาทเกี่ยวข้องทั้งในกระบวนการเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวด (pro nociception) และกระบวนการยับยั้งการเกิดความเจ็บปวด (anti nociception) ซึ่งนักวิจัยหลายคนได้สรุปว่าบทบาทที่แตกต่างกันของ NO นั้นขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงปริมาณหรือความเข้มข้นของ NO โดยเชื่อว่า NO ในปริมาณต่ำจะมีบทบาทเป็นตัวยับยั้งการเกิดความเจ็บปวด แต่ในปริมาณที่สูงกว่าปกติจะเปลี่ยนบทบาทไปเป็นตัวกระตุ้นกระบวนการเจ็บปวดแทน (Souza และคณะ, 2001) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของ NO ที่พบในกลุ่มที่ได้รับยาลดปวดนี้ต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน จึงน่าจะเป็นเหตุผลหนึ่งในการที่จะอธิบายการเกิดภาวะกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองมากกว่ากลุ่มควบคุม ที่พบในสัตว์ทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องได้

นอกจากจะพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลเร็วหรือนั้นก่อให้เกิดการกระตุ้นต่อระบบรับความเจ็บปวดมากขึ้นแล้ว เรายังพบว่า การได้รับยาอย่างเร็วหรือสามารถเพิ่มการตอบสนองของระบบหลอดเลือดสมองต่อปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นที่ทราบกันแล้วว่า ปรากฏการณ์ CSD นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารเคมีหลายชนิดออกมาจาก cortical neuron สารเคมีเหล่านี้รวมถึง Glutamate, NO และ ect (Davies และคณะ, 1995) ซึ่งเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่าทั้ง CGRP และ NO ต่างเป็นสารเคมีที่มีบทบาทสำคัญต่อการตอบสนองของระบบหลอดเลือดสมอง

ซึ่งผลที่พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเร็วหรือมีภาวะ hypersensitivity ของ cortical neurons เมื่อถูกกระตุ้นให้เกิด CSD โดยมีการเกิด CSD ในความถี่ที่มากกว่ากลุ่มควบคุมนั้น แสดงว่าในหนูกลุ่มนี้มีการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆรวมถึง CGRP, Glutamate และ NO ออกมามากกว่าในกลุ่มควบคุม และเป็นที่ทราบกันดีว่า CGRP และการกระตุ้นตัวรับ NMDA นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่ง NO ออกมาได้ ซึ่งจะทำให้มีปริมาณของ NO ในบริเวณผิวสมองของกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลเร็วหรือมากกว่ากลุ่มอื่นๆ NO เมื่อถูกหลั่งออกมาจะสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ O_2^- (Superoxide) ได้เป็นสารอนุมูลอิสระ (ONOO-) Peroxynitrite

Peroxynitrite เป็นโมเลกุลอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ต่างๆรวมถึง endothelial cell ด้วย โดยมีการรายงานถึงบทบาทของ peroxynitrite ต่อความผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือด เช่น การเปลี่ยนแปลงการไหลเวียนเลือด การเกิดการรั่วของโปรตีนออกนอกหลอดเลือด เป็นต้น (Darvesh และคณะ, 2005) ซึ่งความเกี่ยวข้องของการเพิ่มปริมาณ NO ในสมองกับภาวะความผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือดในสมองนั้นได้รับการสนับสนุนจากผลการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัย (Mayham 1996, 1999, 2000, Kumar และคณะ, 2008)

ดังนั้นความผิดปกติของหลอดเลือดสมองที่พบในหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเร็วหรือที่มีการแสดงออกของ VCAM-1 expression มากกว่ากลุ่มควบคุม หลังจากการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD นั้นน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณของ NO ในบริเวณผิวสมองของสัตว์ทดลองกลุ่มนี้ด้วย

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยนี้สรุปว่าการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันนั้นสามารถลดการกระตุ้นต่อระบบความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองลงได้โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS – โปรตีนน้อยลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยา แต่ในการที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลต่อเนื่อง 30 วัน ติดต่อกันกลับทำให้มีการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองมากกว่ากลุ่ม

ควบคุมอย่างชัดเจน โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS – โปรตีนมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งภาวะไวต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ในหนูกลุ่มนี้ยังสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ประสาทที่มีเอนไซม์ NOS ด้วย โดยหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอล 30 วันต่อเนื่องกันนั้น มีจำนวนของ NOS IR cells เพิ่มขึ้นทั้งในส่วนสมองและในไขสันหลังนอกจากนั้นผลการทดลองยังพบว่าหลอดเลือดสมองของกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังมีการแสดงออกของ V-CAM-1 หลังจากที่ได้รับกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุม ในขณะที่การได้รับยาพาราเซตามอลในระยะสั้น หรือ ฉีดบด้น ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ NOS-IR เซลล์ และ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมอง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ถึงแม้ว่างานวิจัยนี้จะมีผลสรุปออกมาว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานจะทำให้กระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดและหลอดเลือดสมองถูกกระตุ้นจากปรากฏการณ์ CSD ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม รวมถึงผลการทดลองที่บ่งชี้ว่า การได้รับยาลดปวดนี้ติดต่อกันเป็นเวลานานน่าจะมีผลกระทบต่อหลอดเลือดสมองได้ จากผลการวิจัยที่พบว่าหลอดเลือดสมองของหนูกลุ่มที่ได้รับยาลดปวดพาราเซตามอลติดต่อกัน 30 วันจะมีการแสดงออกของ VCAM-1 หลังจากที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สูงกว่ากลุ่มควบคุม และความผิดปกติที่เกิดขึ้นนั้นน่าจะมี ความเกี่ยวข้องกับการสร้าง NO ที่เพิ่มขึ้นในสมอง แต่การที่จะสรุปแนวคิดนี้เพื่อเผยแพร่ความรู้ออกไป จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในส่วนของการเปรียบเทียบผลกระทบใน dose ของยาที่แตกต่างกันออกไป และการตรวจยืนยันการเพิ่มของโปรตีน NOS และ VCAM-1 โดยการตรวจวัดปริมาณ ซึ่งวิธีที่จะตรวจปริมาณของเอนไซม์ตัวนี้ได้ (เช่น western blot analysis) และการศึกษาความผิดปกติของโครงสร้างหลอดเลือดสมองโดยละเอียด เช่น โครงสร้างระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ ความผิดปกติของ integrity ของ blood brain barrier ก็น่าที่จะต้องทำการศึกษายืนยันด้วย

และเนื่องจากการเกิดปรากฏการณ์ CSD นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารเคมีหลายชนิดออกมาจาก cortical neuron นอกเหนือจาก NO ดังนั้นบทบาทของสารเคมีตัวอื่น เช่น Glutamate, NO ..ect จึงควรที่จะถูกศึกษาด้วยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิงของการวิจัย

- Alloui A, Chassaing C, Schmidt J et al. Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats. *Eur J Pharmacol* 2002;443:71–77.
- Anderson B. Paracetamol(acetaminophen) : mechanism of action. *Pediatric Anesthesia* 2008; 18;915-21.
- Avoli M, Drapeau C, Louvel J, Pumain R, Olivier A, Villemure J-G. Epileptiform activity induced by low extracellular magnesium in the human cortex maintained in vitro. *Ann Neurol* 1991; 30: 589-596.
- Beggs JL, Waggener JD, Transendothelial vesicular transport of protein following compression injury to the spinal cord. *Lab Invest* 1976; 34: 428-39.
- Bertolini A, Ferrari A, Ottani A et al. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 2006;12:250–275.
- 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; 681-99.
- 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.
- Boje KM, Arora PK. Microglial-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxides mediate neuronal cell death. *Brain Res*. 1992 Aug 7;587(2):250-6.
- 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 fluids and tissues. *J Pharmacol Exp Ther*. 1948 Sep;94(1):22-8.
- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL 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;99:13926–13931.
- Chopp M, Chen Q, Zhang ZG. Nitric oxide synthase is induced in cerebral endothelial cells by spreading depression. *Cephalalgia* 1993; 13 (suppl 13):S117.

- Dalkara T, Moskowitz MA. Nitric oxide and the cerebral circulation. In Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siesj BK, Weir B, editors. *Primer on Cerebrovascular Diseases*. San Diego: Academic Press 1997; 96-8.
- 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 Feb;312(2):694-701.
- Davies, J.A., Annels, S.J., Dickie, B.G., Ellis, Y., Knott, N.J., 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.
- Davson H, Welch K, Segal MB. *The Physiology and Pathophysiology of Cerebrospinal Fluid*. New York: Churchill Livingstone 1987; 64-188.
- Dordoni B, Willson RA, Thompson RP, Williams R. Reduction of absorption of paracetamol by activated charcoal and cholestyramine: a possible therapeutic measure. *Br Med J*. 1973 Jul 14;3(5871):86-7.
- Dorhn CS, Beitz AJ. NMDA receptor mRNA expression in NOS-containing neurons in the spinal trigeminal nucleus of the rat. *Neurosci Lett* 1994; 175: 28-32.
- Dux E, Jo F. Effect of histamine on brain capillaries. Fine structural and immuno-histochemical studies after intracarotid infusion. *Exp Brain Res* 1982; 47: 252-8.
- Eisenberg HM, Suddith RL. Cerebral vessels have the capacity to transport sodium and potassium. *Science* 1979; 206: 1083-6.
- Faraci FM, Brain JE. Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke* 1994; 25: 692-703
- Feindel W, Penfield W, McNaughton F. The tentorial nerves and localization of intracranial pain in man. *Neurology* 1960; 10: 555-63.
- Fishman RA. Blood-brain barrier. In Fishman RA. *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders 1992; 43-69.
- Flower RJ, Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acetamidophenol). *Nature* 1972;240:410–411.
- Gazzard BG, Ford-Hutchinson AW, Smith MJ, Williams R. The binding of paracetamol to plasma proteins of man and pig. *J Pharm Pharmacol*. 1973 Dec;25(12):964-7.
- Geppetti P, Capone J, Trevisani M. CGRP and migraine: neurogenic inflammation revisited. *J Headach Pain* 2005; 6:61-70.

- Goldstein GW, Betz AL. Blood vessels and the blood-brain barrier. In: Asbury AK, McKhann GM, McDonald WI, (ed.) *Disease of the Nervous System. Clinical Neurobiology* 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders 1992; 111-22.
- Goldstein GW, Betz AL. The blood-brain barrier. *Sci Am* 1986; 255: 70-9.
- Guhring H, Hamza M, Sergejeva M et al. A role for endocannabinoids in indomethacin-induced spinal antinociception. *Eur J Pharmacol* 2002;454:153–163.
- Hering R, Gardiner I, Catarci T, Whitmarsh T, Steiner T, de Belleruche J. Cellular adaptation in migraineurs with chronic daily headache. *Cephalalgia*. 1993;13:261-266.
- Herrero JF, Romero-Sandoval EA, Gaitan G et al. Antinociception and the new COX inhibitors: research approaches and clinical perspectives. *CNS Drug Rev* 2003;9:227–252.
- Hogestatt ED, Jonsson BA, Ermund A et al. Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acetylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *J Biol Chem* 2005;280:31405–31412.
- Hunskar S, Fasmer OB, Hole K. Acetylsalicylic acid, paracetamol and morphine inhibit behavioral responses to intrathecally administered substance P or capsaicin. *Life Sci*. 1985;37:1835–1841.
- Iadecola C. Regulation of the cerebral microcirculation during neural activity: is nitric oxide the missing link? *Trends Neurosci* 1993; 16: 206-14.
- Inoue T, Mashimo T, Shibata M et al. 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;792:263–270.
- Iversen HK, Olesen J, Telft-Hansen P. Intravenous nitroglycerine as an experimental model of vascular headache. *Basic Characteristics. Pain* 1989; 38: 17-24.
- Johns RA. EDRF/nitric oxide. The endogenous nitrovasodilator and a new cellular messenger. *Anesthesiology*. 1991 Dec;75(6):927-31.
- James MF, Smith JM, Boniface SJ, Huang CL-H, Leslie RA. Cortical spreading depression and migraine: new insights from imaging? *Trends Neurosci* 2001; 24: 266-271.
- Kelley BG, Thayer SA. Anandamide transport inhibitor AM404 and structurally related compounds inhibit synaptic transmission between rat hippocampal neurons in culture independent of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol* 2004;496:33–39.
- 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.

- Kumar A, Mittal R, Khanna HD, Basu S. Free radical injury and blood-brain barrier permeability in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2008 Sep;122(3):e722-7.
- Lauritzen M. Cortical spreading depression. In: Olesen J, Teflt-Hansen P, Welch KMA (ed.). *The Headache*. Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia, 2000; 189-194.
- Lauritzen M. Pathophysiology of migraine aura: the spreading depression theory. *Brain* 1994; 199-210.
- Leao, A.A.P. Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 7(1944) : 359-390.
- Liu-Chen LY, Lyszakk T, King J et al. An immunoelectron microscopic study of substance P-containing axons in feline cerebral arteries. *Brain Res* 1986; 369:12-20.
- Liu-chen L-Y, Mayberg M, Moskowitz MA. Immunohistochemical evidence for a substance P-containing trigeminovascular pathway to pail arteries in cats. *Brain Res* 1983; 268: 162-166.
- Mayhan WG. Nitric oxide donor-induced increase in permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res*. 2000 Jun 2;866(1-2):101-8.
- Mayhan WG. Inhibition of nitric oxide synthase does not alter basal permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res*. 2000 Feb 7;855(1):143-9.
- Mayhan WG. Role of nitric oxide in histamine-induced increases in permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res*. 1996 Dec 16;743(1-2):70-6.
- Meller ST, Dykstra C, Gebhart GF. Production of endogenous nitric oxide and activation of soluble guanylate cyclase are required for N-methyl-D-aspartate-produced facilitation of the nociceptive tail-flick reflex. *Eur J Pharmacol* 1992;214:93–96.
- Moskowitz MA. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology*. 1993 Jun;43(6 Suppl 3):S16-20. Review.
- Nanra RS. Clinical and pathological aspects of analgesic nephropathy. *Br J Clin Pharmacol*. 1980 Oct;10 Suppl 2:359S-368S.
- Olesen J, Iversen HK, Thompson LL. Nitric oxide supersensitivity. A possible molecular mechanism of migraine pain. *Neuroreport* 1993; 4: 1027-30.
- Ottani A, Leone S, Sandrini M et al. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol* 2006;531:280–281.

- Pelissier T, Alloui A, Caussade F et al. Paracetamol exerts a spinal antinociceptive effect involving an indirect interaction with 5-hydroxytryptamine 3 receptors: in vivo and in vitro evidence. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 8-14.
- Penfield W, McNaughton F. Dural headache and innervation of dural mater. *Arch Neurol Psychiatry* 1940; 44: 43-75.
- Pickering G, Esteve V, Lorient MA et al. Acetaminophen reinforces descending inhibitory pain pathways. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84:47–51.
- Pickering G, Lorient MA, Libert F et al. Analgesic effect of acetaminophen in humans: first evidence of a central serotonergic mechanism. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79:371–378.
- Pini LA, Sandrini M, Vitale G. The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 1996;308:31-40.
- Pini LA, Trenti T, Vitale G, Sandrini M. Action of analgesic drugs on brain 5-HT receptors as a model to study chronic drug-sustained headaches. In: Rose FC, ed. *New Advances in Headache Research*, 4. London: Smith-Gordon; 1994:159-166.
- Rahme E, Marentette MA, Kong SX, Leloirier J. Use of NSAIDs, COX-2 inhibitors, and acetaminophen and associated coprescriptions of gastroprotective agents in an elderly population. *Arthritis Rheum.* 2002 Dec 15;47(6):595-602.
- Sakai F, Mayer JS. Regional cerebral hemodynamics during migraine and cluster headache measured by the ¹³³Xe inhalation method. *Headache* 1978; 18: 122-32.
- Scheller D, Heister U, Dengers K, Peters T. Do the excitatory amino acids aspartate and glutamate generate spreading depression in vivo? In: Kriegstein J, ed. *Pharmacology of cerebral ischemia* 1990; 205-210.
- Sousa AM, Prado WA. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. *Brain Res* 2001; 897: 9–19.
- Srikiatkhachorn A, Antony M. Serotonin receptor adaptation in patients with analgesic-induced headache. *Cephalalgia* 1996b; 16: 419-22.
- Srikiatkhachorn and Phantumchinda. Headache in an out-patient department. *Chula Med* 1992; J36:701-13.
- Srikiatkhachorn A, Suwattanasophon C, Ruangpattanasawee U, Phansuwan-Pujito P. 2002 Wolff Award. 5-HT_{2A} receptor activation and nitric oxide synthesis: a possible mechanism determining migraine attacks. *Headache.* 2002 Jul-Aug;42(7):566-74.

- Srikiathachon, A., Maneesri, S., Govitrapong, P., and Kasantikul, V. Derangement of serotonin system in migrainous patients with analgesic abuse headache: clues from platelets. *Headache* 38(1998) : 43-49.
- Supornsilpchai W, Le grand M S, Srikiatkachorn A. Involvement of pro-nociceptive 5-HT_{2A} receptor in the pathogenesis of medication-overuse headache. *Headache*, (in press)
- Szerb JC Glutamate release and spreading depression in the fascia dentate in response to microdialysis with high K⁺: role of glia. *Brain Res* 1991; 542: 259-265.
- 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.
- Thompson LL, Iversen HK, Brink TAL, Olesen J. Arterial hypersensitivity to nitric oxide (nitroglycerin) in migraine sufferers. *Cephalalgia* 1993; 13: 395-9.
- Uddman R, Edvinsson L, Ekman R et al. Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: trigeminal origin and co-existence with substance P. *Neurosci Lett* 1985; 62: 131-6.
- Wolberg H, Neuhaus J, Kniesel U, Krauss B, Schmid EM, Ocalan M, Farrel CL, Risau WW. Modulation of tight junction structure in blood-brain barrier endothelial cells. Effects of tissue culture, second messengers and cocultured astrocyte. *J Cell Sci* 1994; 107: 1347-534A.
- Zygmunt PM, Chuang H, Movahed P et al. The anandamide transport inhibitor AM404 activates vanilloid receptors. *Eur J Pharmacol* 2000;396:39–42.

ส่วน ก : ประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ผู้วิจัยหลัก

- 1.ชื่อ : ผศ. ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์
: Dr. Supang Maneesri le Grand
- 3.ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ประจำภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย
- 4.หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้
: ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หมายเลขโทรศัพท์ 0-2252-8181 ext 3519
e-mail smedsms@md2.md.chula.ac.th

6.สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ :

- 6.1 Electron microscopy for the ultrastructural study
- 6.2 ประสาทวิทยา(โรคปวดศีรษะ)

7.ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

- 7.2.1 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 ใน

หัวข้อเรื่อง Serotonin depletion enhances the trigeminal nociception:
vascular vs. neuronal mechanism
และได้รับรางวัลการเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ยอดเยี่ยม

- 4.3.2 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

- 4.3.2 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง บทบาทของ nociceptin ต่อระบบ ไทรเจมินัลที่กระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ cortical spreading depression
แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช
ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2550 ถึง พ.ศ 2551)
สถานภาพโครงการ กำลังดำเนินการ

- 4.3.2 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

- 4.3.2 เป็นผู้ร่วมวิจัยเรื่อง พิษงูแมวเซาและการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงมนุษย์ในหลอดทดลอง
แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช
ระยะเวลา 1 ปี (พ.ศ 2537)
สถานภาพโครงการ งานวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว มีผลงานตีพิมพ์ 1 เรื่อง

7.3งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- 7.3.1 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
- 7.3.2 ผลของวิตามินซีต่อการเกิดพยาธิสภาพของเอนโดทีเลียลเซลล์ในหลอดเลือดสมองในหนูเบาหวาน (Effect of vitamin C supplementation on the pathological changes of cerebral endothelial cells on the diabetic rats)
แหล่งทุนที่สนับสนุน กองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช
กำลังเขียน manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์ ในวารสารที่เหมาะสม

8. ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ :

1. **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
2. 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
3. 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
4. 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
5. **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
6. 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.

7. 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.
8. 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.
9. Srikiatkachorn 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.
10. Anuntasethakul T, Srikiatkachorn A, **Maneesri S**, Patumraj S, Kasantikul V. Ultrastructural changes in endothelial cells of cerebral microvessels after exposure to nitric oxide donor. Neuropathology 1999; 19: 249-58.
11. 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.
12. Srikiatkachorn 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.
13. 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.
14. Srikiatkachorn A, Kasantikul V, **Maneesri S**, Govitrapong P. Alteration of serotonergic transmission in migraine patients with analgesic abuse headache. In: Proceeding of the Chulalongkorn University 80th Anniversary Research Conference. Bangkok, Chulalongkorn University Press 1997; 527-38.
15. 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.

16. 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.
17. Kasantikul V, **Maneesri S**, Lerdum S, Panichabhongse V. Calcified cystic pituitary prolactinoma. J Med Assoc Thai. 1995; 78(9):497-501.
18. Kasantikul V, Maneesri S, Lerdum S. Lipoblastic meningioma: a light and electron microscopic study. J Med Assoc Thai. 1995; 78(5):276-80.
19. Kasantikul V, **Maneesri S**, Panichabhong V, Lerdum S. Adenosquamous carcinoma of the thyroid: a case report and review of the literature. J Med Assoc Thai. 1995; 78(4):197-203. Review.
20. Kasantikul V, Maneesri S, Sriwatana S, Vajarapongse K. Congenital hemihypertrophy with adrenocortical adenoma. J Med Assoc Thai. 1994; 77(11):612-6. Review.

2. ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. อ. วีระ สุพรรณศิลป์ชัย

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
 หมายเลขโทรศัพท์ 0-22188690
 e-mail

คุณวุฒิทางการศึกษา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

พยาธิสรีรของโรคปวดศีรษะ

ผลงานวิจัย

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

แบบสรุปย่อการวิจัย

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) ภาวะผิดปกติของกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือด
สมองในหนูแรท จากการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง

(ภาษาอังกฤษ) Abnormality in trigeminovascular nociception: analgesic abuse
headache in chronic paracetamol treatment

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

1. ผศ. ดร. ศุภางค์ มณีศรี

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
หมายเลขโทรศัพท์ 0-2256-4000 ext 3519
e-mail smedsms@md2.md.chula.ac.th

2. อ. ดร. วีระ สุพรศิลป์ชัย

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันต
แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
หมายเลขโทรศัพท์ 0-22188690
e-mail supronsinchai@yahoo.com

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2551 จำนวนเงิน 439000 บาท
ระยะการทำวิจัย 11 เดือน ตั้งแต่ 1 พฤศจิกายน 2551 ถึง 31 ตุลาคม

2552

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

พาราเซตามอลจัดเป็นยาลดไข้บรรเทาปวดที่นิยมใช้ทั่วไปทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้ว
และในประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งรวมถึงในประเทศไทย ที่พบว่า พาราเซตามอลเป็นยาที่สะดวกใน

การซื้อ ราคาไม่แพง และมีผลข้างเคียงน้อย ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตนอกเมืองและในชนบท เนื่องจากสามารถซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไปโดยไม่จำเป็นต้องมาพบแพทย์ แต่ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยาพาราเซตามอล ในการลดปวดมาเป็นเวลานาน แล้วก็ตาม แต่การศึกษากลไกการลดปวดของยานี้กลับมีน้อยมาก

ในประเทศไทยพบว่าการใช้ยาพาราเซตามอล ในการลดปวดนั้นเป็นที่นิยมสูงมาก แทบทุกครัวเรือนมักจะมียาชนิดนี้ติดบ้านไว้เสมอ และในกลุ่มที่มีอาการปวดศีรษะหรือมีไข้ ยาพาราเซตามอลก็จะเป็นตัวเลือกแรกที่จะนำมาใช้ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาวิจัยในคนไข้ของคณะผู้วิจัย ในปี 1998 กลับพบว่า การได้รับยาลดปวดต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้น มีผลกระทบต่อสมดุลของสารเคมีที่หลังในสมองและมีผลเสียต่ออาการปวดศีรษะของคนไข้ โดยพบว่าในคนไข้ที่ได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน มีปริมาณของเกรนูลทิบซึ่งเป็นเกรนูลที่เป็นแหล่งเก็บซีโรโตนิน ลดลงต่ำกว่าในกลุ่มคนไข้ปกติที่ไม่มีประวัติใช้ยาต่อเนื่อง โดยที่ซีโรโตนินซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่มีสำคัญในการควบคุมความเจ็บปวด ดังนั้นการลดลงของเกรนูลทิบที่บรรจุซีโรโตนินในคนไข้กลุ่มนี้ บ่งชี้ว่าการได้รับยาลดปวดปริมาณมากและใช้ยาต่อเนื่องกัน น่าจะมีผลต่อระบบควบคุมความเจ็บปวด (Srikiatchachorn และ Anthony 1996: Srikiatchachorn และคณะ., 1998)

ซึ่งภาวะผิดปกติของระบบควบคุมความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะที่พบว่า การได้รับยาระงับปวดเป็นเวลานานสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ เป็นที่ยอมรับกันในระดับนานาชาติแล้วว่า อาการนี้เป็นกลุ่มอาการปวดหัวอีกชนิดหนึ่ง ที่ถูกเรียกว่า Medication overused headache (Headache classification subcommittee of the international Headache society, 2004 :Cupini และ Calabresi, 2005) อย่างไรก็ตาม การศึกษาวิจัยในกลไกของการเกิดภาวะผิดปกติของกระบวนการควบคุมความเจ็บปวดของหลอดเลือดบริเวณศีรษะจากการได้รับยาระงับปวดต่อเนื่องนั้นยังมีการศึกษาวิจัยน้อยมาก มีเพียงผลการศึกษาวิจัยที่บ่งชี้ว่าการได้รับยาระงับปวด (พาราเซตามอล) ต่อเนื่องเป็นเวลานานมีผลกระทบต่อ ระบบซีโรโตนินให้ผิดปกติ (Hering และคณะ.,1993; Pini และคณะ.,1994) โดยพบว่าปริมาณตัวรับซีโรโตนินชนิด 2A เพิ่มขึ้นทั้งในสมอง และ ใน เกร็ดเลือด (Srikiatchachorn และคณะ., 1998 ,2000)

จากการศึกษาระบบการควบคุมความเจ็บปวด ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ (trigeminovascular system) พบว่าเป็นระบบที่มีความเกี่ยวพันระหว่างวงจรประสาทที่ส่งผ่านความรู้สึกรับปวด (trigeminal nerve) กับหลอดเลือดบริเวณศีรษะ ทั้งยังมีความเกี่ยวข้องกับสารเคมีอื่นๆ ที่หลังเมื่อมีการกระตุ้นระบบการควบคุมความเจ็บปวด ของหลอดเลือดบริเวณศีรษะ นอกเหนือไปจากซีโรโตนินด้วย ดังนั้นภาวะผิดปกติของระบบนี้จึงน่าจะประกอบด้วย(เป็นผลร่วมกันของ) ความผิดปกติของระบบหลอดเลือดบริเวณศีรษะ และความผิดปกติของเซลล์ประสาท

ซึ่งจะก่อให้เกิดความผิดปกติในการหลั่งสารสื่อประสาทต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระบบรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง ซึ่งภาวะความผิดปกติเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษาวิจัยมาก่อน .

3. วัตถุประสงค์การวิจัย

การศึกษานี้จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลการได้รับยาพาราเซตามอลติดต่อกันอย่างเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองและความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง หลังจากที่ได้รับกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD นอกจากนี้ยังทำการศึกษายาของ NO ต่อภาวะผิดปกติดังกล่าวด้วย

4. ระเบียบวิธีวิจัย

ทำการศึกษานี้ในหนูโดยแบ่งการวิจัยออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

กลุ่มที่ 1 ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันเป็นกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทางช่องท้อง 60 นาที ก่อนที่จะถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

กลุ่มที่ 2 ศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรังเป็นกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล ต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วันก่อนที่จะถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD

ทำการศึกษานี้ในหนูทั้งหมดโดยมีการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD โดย KCI ซึ่งเป็นโมเดลมาตรฐานในการศึกษาโรคปวดหัวไมเกรนสัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะถูกนำมา วัดการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองโดยการวัดการแสดงออกของฟอสโพรตีนในไขสันหลัง วัดการเปลี่ยนแปลงอัตราการสร้าง NO ทั้งในบริเวณสมองและใน ไขสันหลัง โดยการตรวจหาปริมาณของเอนไซม์ ในตริกออกไซด์ซินเทส (Nitric oxide synthase) นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันและอย่างเรื้อรัง ต่อความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง โดยศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ Vascular Cell Adhesion Molecules (V-CAM 1) บนผิวหลอดเลือดสมอง

5. ผลการวิจัย

โดยผลการทดลองพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันนั้นสามารถลดการกระตุ้นต่อระบบความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองลงได้โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS - โปรตีนน้อยลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยา แต่ในการที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลต่อเนื่อง 30 วันติดต่อกันกลับทำให้มีการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS - โปรตีนมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งภาวะไวต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ในหนูกลุ่มนี้ยังสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ประสาทที่มีเอนไซม์ NOS ด้วย โดยหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอล 30 วันต่อเนื่องกันนั้น มีจำนวนของ NOS IR cells เพิ่มขึ้นทั้งในส่วนสมองและในไขสันหลังนอกจากนั้น ผลการทดลองยังพบว่าหลอดเลือดสมองของกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังมีการ

แสดงออกของ V-CAM-1 หลังจากที่ได้รับกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุม ในขณะที่การได้รับยาพาราเซตามอลในระยะสั้น หรือ ฉีดยาละลาย ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ NOS-IR เซลล์ และ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมอง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

ถึงแม้ว่างานวิจัยนี้จะมีผลสรุปออกมาว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานจะทำให้กระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดและหลอดเลือดสมองถูกกระตุ้นจากปรากฏการณ์ CSD ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม รวมถึงผลการทดลองที่บ่งชี้ว่า การได้รับยาลดปวดนี้ติดต่อกันเป็นเวลานานน่าจะมีผลกระทบต่อหลอดเลือดสมองได้ จากผลการวิจัยที่พบว่าหลอดเลือดสมองของหนูกลุ่มที่ได้รับยาลดปวดพาราเซตามอลติดต่อกัน 30 วันจะมีการแสดงออกของ VCAM-1 หลังจากที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD สูงกว่ากลุ่มควบคุม และความผิดปกติที่เกิดขึ้นนั้นน่าจะมี ความเกี่ยวข้องกับการสร้าง NO ที่เพิ่มขึ้นในสมอง แต่การที่จะสรุปแนวคิดนี้เพื่อเผยแพร่ความรู้ออกไป จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในส่วนของการเปรียบเทียบผลกระทบใน dose ของยาที่แตกต่างกันออกไป และการตรวจยืนยันการเพิ่มของโปรตีน NOS และ

VCAM-1 โดยการตรวจวัดปริมาณซึ่งวิธีที่จะตรวจปริมาณของเอ็นไซม์ตัวนี้ได้ (เช่น western blot analysis) และการศึกษาความผิดปกติของโครงสร้างหลอดเลือดสมองโดยละเอียดว่า เช่น โครงสร้างระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ ความผิดปกติของ integrity ของ blood brain barrier ก็ น่าที่จะต้องทำการศึกษายืนยันด้วย

และเนื่องจากการเกิดปรากฏการณ์ CSD นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารเคมีหลาย ชนิดออกมาจาก cortical neuron นอกเหนือจาก NO ดังนั้นบทบาทของสารเคมีตัวอื่น เช่น Glutamate, NO ..ect จึงควรที่จะถูกศึกษาด้วยเช่นกัน

7. การนำไปใช้ประโยชน์

ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการที่จะเข้าใจถึงพยาธิกำเนิดของโรค ปวดศีรษะชนิด Medical overused Headache และในขณะเดียวกันข้อมูลการวิจัยนี้ได้บ่งชี้ให้ทราบถึงผลกระทบของการได้รับยาลดปวดพาราเซตามอลเป็นเวลานานต่อระบบหลอดเลือดสมองและระบบประสาทโทรเจมินาล ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่ช่วยให้เราตระหนักถึงผลเสียของการได้รับยาลดปวดอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ซึ่งหากมีการทบทวนและคำนวณปรับความเข้มข้นของยาเทียบกับการใช้ของคนไข้แล้ว ควรจะมีการเผยแพร่ให้แก่ประชาชนและผู้บริโภคได้เข้าใจ เพื่อป้องกันผลเสียของการใช้ยาดังกล่าว