



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

**โครงการ:** ภาวะผิดปกติของกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง จากการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง

**Abnormality in trigeminovascular nociception: analgesic abuse headache in chronic paracetamol treatment**

**คณะผู้วิจัย**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาวดี มณีศรี เลอกรงค์<sup>1</sup>

อาจารย์ ดร. วีระ สุพรศิลป์ชัย<sup>3</sup>

ศาสตราจารย์ นพ. อนันต์ ศรีเกียรติขจร<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup>ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>3</sup>ภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดีจากคณะบุคคลต่างๆ  
ดังนี้

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อนันต์ ศรีเกียรติขจร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ได้ให้คำแนะนำ  
และข้อคิดเห็นต่างๆของการวิจัยมาโดยตลอด

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

คุณ ปรีชา เรืองเวชวรชัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการย้อมชิ้นเนื้อ พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็น  
ประโยชน์

คุณ เพ็ญพรรณ นวลบุญมา และ คุณ กฤติยา พรรณโคตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการพิมพ์  
รายงานและเอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2552  
แก่โครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรองด์ และคณะ

## ภาวะผิดปกติของกระบวนการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองจากการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง

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

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2551 จำนวนเงิน 439000 บาท

ระยะการทำวิจัย 11 เดือน ตั้งแต่ 1 พฤศจิกายน 2551 ถึง 31 ตุลาคม 2552

รายนามคณะผู้วิจัย 1. ดร. ศุภางค์ มณีศรี เลอกรวงศ์<sup>1</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ดร. วีระ สุพรศิลป์ชัย<sup>2</sup> อาจารย์ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลแบบจับปล้นและแบบต่อเนื่องต่อระบบรับ โดยแบ่งการทดลองออกเป็นกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอล 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทางช่องท้อง 60 นาติ และกลุ่มที่ได้รับยาพาราเซตามอลต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วัน แบ่งกลุ่มควบคุมออกเป็นกลุ่มที่ได้รับ 12.5% of 1,2-propane-diol ใน 0.9% sterile saline ทางช่องท้อง 60 นาติ และกลุ่มที่ได้รับต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วัน ก่อนการกระตุ้นให้เกิดปรากฏการณ์คอร์ติคัลสเปรดิงดีเพรสชันโดยการวางฟลิกโพแทสเซียมคลอไรด์ขนาด 3 มิลลิกรัม ลงบนผิวสมอง สัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะถูกนำมา วัดการรับรู้ความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมองโดยการวัดการแสดงออกของฟอสโพรตีนในไซสตันหลัง วัดการเปลี่ยนแปลงอัตราการสร้าง NO ทั้งในบริเวณสมองและใน ไซสตันหลัง โดยการตรวจหาปริมาณของเอนไซม์ ไนตริกออกไซด์ซินเทส (Nitric oxide synthase) นอกจากนั้นยังทำการศึกษาผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน และอย่างเรื้อรัง ต่อความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง โดยศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ Vascular Cell Adhesion Molecules (V-CAM 1) บนผิวหลอดเลือดสมอง

ผลการศึกษาพบว่า การได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลันนั้นสามารถลดการกระตุ้น ต่อระบบความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองลงได้ โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS –โปรตีนน้อยลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยาแต่ในการที่หนูทดลองได้รับยาพาราเซตามอลต่อเนื่อง 30 วันติดต่อกัน กลับทำให้มีการกระตุ้นต่อระบบรับรู้ความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมองมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน โดยพบว่าเซลล์ประสาทที่แสดง FOS –โปรตีนมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งภาวะไวต่อการกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD ในหนูกลุ่มนี้ยังสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ประสาทที่มีเอนไซม์ NOS ด้วย โดยหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอล 30 วันต่อเนื่องกันนั้น มีจำนวนของ NOS IR cells เพิ่มขึ้นทั้งในส่วนสมองและใน ไซสตันหลัง นอกจากนั้นผลการทดลองยังพบว่าหลอดเลือดสมองของกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับยาพาราเซตามอลเรื้อรังมีการแสดงออกของ V-CAM-1 หลังจากที่ได้รับกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ CSD มากกว่ากลุ่มควบคุม ในขณะที่การได้รับยาพาราเซตามอลในระยะสั้น หรือ เฉียบพลัน ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ NOS-IR เซลล์ และ V-CAM-1 ในหลอดเลือดสมอง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการได้รับยาพาราเซตามอลต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานนั้นสามารถเพิ่มความไวของระบบประสาทรับความเจ็บปวดจากหลอดเลือดสมอง โดยผ่านกลไกการทำงานของระบบ NO ซึ่งผลจากการศึกษานี้จะช่วยให้เข้าใจถึงพยาธิกำเนิดของอาการปวดศีรษะจากการได้รับยาแก้ปวดเป็นระยะเวลานานได้

## **Abnormality in trigeminovascular nociception: Analgesic abuse headache in chronic paracetamol treatment**

Supang Maneesri le Grand<sup>1</sup> Assistant professor Dr.: Department of pathology Faculty of Medicine Chulalongkorn University

Weera Suprongsilpchai<sup>1</sup> Dr.: department of Physiology Faculty of Dentistry Chulalongkorn University

The present study aims to investigate the effect of acute and chronic paracetamol administration on trigeminal nociception. The study comprised of two experiments based on acute and chronic paracetamol administration. In the experiment with acute paracetamol treatment, the rats were divided into control, control with CSD, paracetamol treated and paracetamol treated with CSD groups (8 rats each). A single dose of paracetamol (200 mg/kg BW, intraperitoneally) was given to the paracetamol treated group whereas vehicle (12.5% of 1,2-propane-diol in 0.9% sterile saline) was given to the control group. The cortical spreading depression (CSD) was induced by the topical application of 3 mg solid KCl on the paraital cortex. The CSD was elicited at 60 minutes after paracetamol injection. In the chronic paracetamol experiment, the rats were divided into control, control with CSD, paracetamol treated and paracetamol treated with CSD groups (8 rats each). Paracetamol (200 mg/kg BW, intraperitoneally) or vehicle was injected daily for a period of 30 days. After 30 days, the CSD was induced by the same method as in the experiment with acute paracetamol treatment. In both experiments, the electrocorticogram was measured continuously for one hour using glass microelectrode. The expression of the immediate early gene product, Fos, in the trigeminal nucleus caudalis was used as an indicator for trigeminal nociception. The expression of nitric oxide synthase (NOS) was studied in both the cerebral cortex and TNC. The VCAM-1 immunohistochemistry was studied in the cerebral vessels in the cerebral cortex as well.

The results showed that cortical application of KCl resulted in a series of depolarization shifts which coincided with the Fos expression in the TNC. Acute treatment with paracetamol significantly attenuated the CSD-evoked Fos-immunoreactive cells in the TNC. On the other hand, chronic paracetamol administration substantially increased in the number of Fos-immunoreactive cells in the TNC, indicating the increase in trigeminal activation. In addition, the NOS immunohistochemistry showed that chronic paracetamol exposure could also induce an increase in the NOS-immunoreactive cells in both the cerebral cortex and TNC as compared with the control group. The results also demonstrated the increase in the VCAM-1 immunohistochemistry in the rats with chronic treatment of paracetamol.

The results of the present study indicate that chronic paracetamol exposure can lead to an increase in trigeminovascular nociception. The increase in the production of nitric oxide may be at least one mechanism responsible for this hyperexcitability. These observations provide better understanding regarding the pathogenesis of medication-induced headache and may shed light for future pharmacologic intervention.

**Keywords:** Cortical spreading depression, paracetamol, trigeminovascular nociception, Fos, NOS, VCAM-1

## สารบัญ

|                                    | หน้า  |
|------------------------------------|-------|
| กิตติกรรมประกาศ -----              | I     |
| Abstract (ไทย)-----                | II    |
| Abstract (English)-----            | III   |
| <br>บทนำ -----                     | <br>1 |
| การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง----- | 3     |
| ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย -----    | 17    |
| ผลการศึกษาวิจัย -----              | 25    |
| วิจารณ์ผลการทดลอง-----             | 40    |
| เอกสารอ้างอิง-----                 | 44    |

## สารบัญตาราง (List of Tables)

หน้า

|             |                                                                                                                                            |    |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 1. | แสดงค่าเฉลี่ย ( mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos<br>ในบริเวณ Laminar I และ II ใน ชี้นเนื้อไขสันหลังในระดับ C1-C2..... | 28 |
| ตารางที่ 2. | แสดงค่าเฉลี่ย ( mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS ในบริเวณ<br>cerebral cortex .....                                    | 32 |
| ตารางที่ 3. | แสดงค่าเฉลี่ย ( mean $\pm$ SD) จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOS<br>ในบริเวณ Lamina I+II ของชี้นเนื้อไขสันหลังระดับ C1-C2.....        | 36 |

## สารบัญรูป( List of Figures )

|                                                                                                                                                                               | หน้า |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ภาพที่ 1. โครงสร้างของยา paracetamol.....                                                                                                                                     | 12   |
| ภาพที่ 2. แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษา<br>ถึงผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน.....                                                                              | 18   |
| ภาพที่ 3. แผนภาพการแบ่งสัตว์ทดลองเพื่อศึกษา<br>ถึงผลของการได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง.....                                                                               | 20   |
| ภาพที่ 4. แสดง บริเวณที่เจาะกะโหลกศีรษะเพื่อวาง potassium chloride( sodium chloride)<br>และ บริเวณที่สอด glass microelectrode.....                                            | 22   |
| ภาพที่ 5. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II<br>ของชั้นเนื้อไขสันหลัง ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนู<br>ที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน..... | 26   |
| ภาพที่ 6. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน fos ในบริเวณ Laminar I และ II ของ<br>ชั้นเนื้อไขสันหลัง ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่าง<br>เรื้อรัง..... | 27   |
| ภาพที่ 7. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOSในชั้นเนื้อไขสันหลัง<br>ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน.....                                 | 30   |
| ภาพที่ 8. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOSในชั้นเนื้อไขสันหลัง<br>ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง.....                                  | 31   |
| ภาพที่ 9. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOSในบริเวณ cerebral cortex<br>ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน.....                             | 34   |
| ภาพที่ 10. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน NOSในบริเวณ cerebral cortex<br>ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง.....                             | 35   |
| ภาพที่ 11. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองบริเวณ cerebral<br>cortex ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเฉียบพลัน.....           | 38   |
| ภาพที่ 12. ภาพแสดงเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน VCAM-1 ในหลอดเลือดสมองบริเวณ cerebral<br>cortex ของการศึกษาวิจัยในกลุ่มหนูที่ได้รับยาพาราเซตามอลอย่างเรื้อรัง.....            | 39   |

### **List of Abbreviations**

|             |                                                         |
|-------------|---------------------------------------------------------|
| CGRP        | : Calcitonin Gene Related Peptide                       |
| CSD         | : Cortical Spreading Depression                         |
| FOS-IR cell | : Fos Immunoreactive cell                               |
| 5-HT        | : 5-Hydroxytryptamine                                   |
| KCl         | : Potassium Chloride                                    |
| NaCl        | : Sodium Chloride                                       |
| NOS         | :Nitric Oxide Synthase                                  |
| NO          | : Nitric Oxide                                          |
| NOS-IR cell | : NOS immune Reactive cell                              |
| VCAM-1      | : Vascular Cell Adhesion Molecule                       |
| VCAM-1-IR   | : Vascular Cell Adhesion Molecule like immunoreactivity |