



Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.or.th

**Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand**

Proceedings of 26th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting

18-19 March 2004

Jan-Apr 2004, Vol.26, No.1

ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

is owed and published every four months by the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand.

Board of Editors

Editor Supatra Srichairat

Associate Editors Pravitt Akarasereenont Laddawal Phivthong-ngam
Suwat Wimolwattanapan Somjai Nakornchai

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp	Nisamane Satayapan
Amnuay Thithapandha	Pornpen Pramyothin
Borpit Klangkalya	Prasan Dhumma-Upakorn
Bunkerd Kongyingyoes	Prasert Songkittiguna
Chaichan Sangdee	Sopit Thamaree
Chandhane Itthipanichpong	Sumana Chompootawee
Chongkol Thiengda	Supeecha Wittayalertpanya
Karnjana Ketsa-ard	Srichan Phornchirasilp
Krongtong Yoovathaworn	Wacharee Limpanasitthikul
Monthira Tankeyoon	Wittaya Tonsuwonnont
Nongluk Sookvanichsilp	Yupin Sanvarinda

Manager Supeecha Wittayalertpanya

Office Department of Pharmacology
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University,
Chulalongkorn Hospital, Rama 4 Road, Bangkok 10330,
Thailand. Tel/Fax 2511965

Notice The opinions expressed here in are those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editors or the publisher.

Printed at Ruen Kaew Press, 947 Arun-Amarin Road, Bangkok 10700. Tel: 02-4126552

วารสารเภสัชวิทยา (Thai Journal of Pharmacology) นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่
อนุญาตให้ส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทาง
การค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 26, No. 1, Jan-Apr 2004

Contents

- | | | |
|----|----------------------------|--|
| 6 | Preface | |
| 13 | Chiravat memorial lecture: | Determinants of interindividual variability in drug glucuronidation; towards more effective drug therapy |
| 14 | PL1 | Pharmacology of Taurine |
| 20 | PL2 | Potential drugs for neurodegenerative diseases |
| 30 | PL3 | Pharmacological intervention to improve defibrillation efficacy |
| 38 | PD1 | Herbal Medicine
The role of essential oils in treating viral conditions and disease |
| 41 | PD2 | Alternative medicine |
| 53 | O1 | Frequent co-occurrence of polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferase 1A1 and 1A6 in Thai β -thalassemia/Hb E and African American sickle cell anemia patients |
| 54 | O2 | The molecular mechanism of hemin induce platelet aggregation and secretion |
| 55 | O3 | Extract from <i>Barringtonia acutangula</i> reduces oxidative stress during experimental anemia in rats |
| 56 | O4 | Studies of oxidative stress induced damage on lipoproteins in β -thalassemia/hemoglobin E. |
| 57 | O5 | Metaanalysis of reaction time in psychometric performance test follow psychoactive drugs |
| 58 | P1 | A survey study on attitudes of Thai women in accepting Norplant [®] implants and Norplant-2 [®] implants |
| 59 | P2 | The toxicity test of <i>Momordica charantia</i> l. seed protein |
| 60 | P3 | Influence of coding region mutations (G71R, F83L, P229Q and Y486D) in the human UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (<i>UGT1A1</i>) gene on enzyme activity and substrate selectivity. |
| 61 | P4 | Genetic polymorphism and thiopurine methyltransferase activity in acute lymphoblastic leukemia children |
| 62 | P5 | Oxidative stress and protein damage in thalassemia patients and smokers. |
| 63 | P6 | Effect of mulberry (<i>Morus alba</i> linn.) leaves extracts on plasma glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats. |

- 64 P7 Neutralizing effects of n-acetylcysteine against cobra
(*Naja naja kaouthia*) venom.
- 65 P8 The treatment of surgical wounds in dogs and cats using a film
dressing of polysaccharide, extracted from the fruit-hull of durian
(*Durio zibethinus* l.)
- 66 P9 The pharmacokinetics study of propranolol in thalassemic patients
- 67 P10 The pharmacokinetics study of paracetamol and its
metabolites in thalassemic patients
- 68 P11 Studies of the pro-oxidant activity of artemisinin and
quinoline-containing drugs using LDL oxidation as a model
- 69 P12 The effects of phytoestrogen, *Pueraria mirifica*, on LPS-
induced microglial activation.
- 70 P13 A toxicity study of *Morus alba* l. leaf extract.
- 71 P14 Effect of barakol on the forced swimming behavior in social
isolation reared rats
- 72 P15 Effect of carbamazepine on locomotor activity in stress rats
- 73 P16 Possible anti-inflammatory mechanisms of pure
compounds from *Ventilago harmandiana*.
- 74 P17 Pharmacological characterization of the NMDA receptor:
focus on nr2b subtype in the human platelet
- 75 P18 Molecular mechanism of uteroglobin-related protein 1
(UGRP1) induction by interleukin-10 in airway epithelial cells
- 76 P19 Pharmacological effects of *Antidesma acidum*
- 77 P20 Hepatoprotective effect of *Thunbergia laurifolia* in
primary culture of rat hepatocytes treated with ethanol
- 78 P21 Structure-activity relationships of *trans*-cinnamic acid
derivatives on α -glucosidase inhibition
- 79 P22 Subacute effects of *Murdannia loriformis* ethanolic
extract on clinical blood chemistry and hematology in rats
- 80 P23 Subacute effects of *Centella asiatica* ethanolic
extract on clinical blood chemistry and hematology in rats
- 81 P24 Effects of the dried-stem powder of *Cissus quadrangularis* on
hepatic cytochrome P450, clinical blood chemistry and
hematology in rats
- 82 P25 Vasorelaxation effect of metformin in rat thoracic aorta

รายนามวิทยากร

Professor Peter I. Mackensi

**Finders University of South Australia
Australia**

Professor Dr. Stephen W. Schaffer

**Department of Pharmacology,
University of South Alabama
College of Medicine-MSB 3130**

Dr. Peter Klapper

**President, Forces of Nature
Los Angeles, USA**

ศ.นพ.วรวิทย์ เล่าห์เรณู

**หน่วยโรคข้อและรูมาติสซั่ม
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**

พอ.พญ.จิตถนอม สุวรรณเทมีย์

**หัวหน้ากองประสาทวิทยา และจิตเวช
วิทยาลัยแพทยศาสตร์ พระมงกุฎเกล้า
ถ.ราชวิถี กทม. 10400**

รศ.ดร.จินตนา สัตยาศัย

**ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**

รศ.ดร.อำไพ ปั่นทอง

**ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**

ผศ.ดร.นพ.สุกนิมิตร ทิมชุมพลเสถียร

**ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**

รศ.ดร.ไพโรจน์ วิริยจารี

**คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**

อ.นพ.นิพัชญ์ อิศรเสนา ณ อยุธยา

**ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

คณะกรรมการจัดการประชุมประจำปี ครั้งที่ 26
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ร่วมกับภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ เชียงใหม่ วันที่ 18-19 มีนาคม 2547

คณะกรรมการที่ปรึกษา

1. ศ. น.พ. สุพงษ์ ภูมิการณ์ คณบดีคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. รศ. น.พ. วิชาญ หล่อวิทยา ผู้อำนวยการ โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่
3. พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาต
4. ศ. ดร. อำนวย ธิธาพันธ์
5. รศ. พ.ญ. สุมนา ชมพูทวีป
6. อ. ดร. อุดม จันทารักษ์ศรี
7. รศ. ดร. จินตนา สัตยาศัย
7. หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยาทุกสถาบัน

คณะกรรมการจัดการประชุม

- | | |
|-----------------------------|---------------------|
| 1. รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี | ประธานฯ |
| 2. รศ. ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์ | กรรมการ |
| 3. รศ. ดร. อำไพ ปั่นทอง | กรรมการ |
| 4. ผศ. ดร. ธวัช เต๋อโตติกุล | กรรมการและเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายวิชาการ

- | | |
|---------------------------------------|---------------------|
| 1. รศ. ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์ | ประธานฯ |
| 2. รศ. ดร. อำไพ ปั่นทอง | กรรมการ |
| 3. รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี | กรรมการ |
| 4. รศ. ดร. พลตรี ทศนัย สุริยจันทร์ | กรรมการ |
| 5. รศ. ดร. พ.อ. บพิตร กลางกัลยา | กรรมการ |
| 6. รศ. สุพีชา วิทยเลิศปัญญา | กรรมการ |
| 7. รศ. ดร. น.พ. ประวิทย์ อัครเสริณนธ์ | กรรมการ |
| 8. รศ. น.พ. วีรวัฒน์ มหัตถ์รัตนตระกูล | กรรมการ |
| 8. ผศ. ดร. สุนันท์ ทิมชูนหะเถียร | กรรมการและเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายเอกสาร

- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| 1. รศ. ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ | ประธานฯ |
| 2. รศ. สุพิชา วิทิตเลศปัญญา | กรรมการ |
| 3. ผศ. ดร. ธวัช เต๋อโตติกุล | กรรมการ |
| 4. รศ. สมใจ นครชัย | กรรมการและเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายลงทะเบียน

- | | |
|----------------------------------|----------------------------|
| 1. รศ. ดร. อำไพ ปั่นทอง | ประธานฯ |
| 2. ผศ. ดร. น.พ. สุภณิมา ทิมขุนทด | กรรมการ |
| 3. อ. พ.ญ. เมธาวี นำประเสริฐ | กรรมการ |
| 4. น. ศ. รุจี อุศิสกุลปัทม์ | กรรมการและเลขานุการ |
| 5. นาง ยุกา หงษ์โต | กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายเหรียญก

- | | |
|----------------------------------|---------------------|
| 1. รศ. พ.ญ. มาลียามโนรณ | ประธานฯ |
| 2. ผศ. พ.ญ. นพมาศ ไรจนเสถียร | กรรมการ |
| 3. อ. พ.ญ. ณัฐยา ไกรวพันธุ์ | กรรมการ |
| 4. อ. พ.ญ. ศรัณยภิญ นันทสุภวัฒน์ | กรรมการและเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายหารายได้

- | | |
|----------------------------------|---------------------|
| 1. รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี | ประธานฯ |
| 2. ผศ. น.พ. สุวิธร สุนทรพันธ์ | กรรมการ |
| 3. รศ. ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ | กรรมการ |
| 4. รศ. ดร. ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์ | กรรมการและเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายสถานที่และจัดเลี้ยง

- | | |
|-----------------------------|----------------------------|
| 1. ผศ. ดร. ธวัช เต๋อโตติกุล | ประธานฯ |
| 2. นาย วิเชียร ตั้งโรจนจรร | กรรมการ |
| 3. น. ศ. รุจี อุศิสกุลปัทม์ | กรรมการและเลขานุการ |
| 4. นาง วิไล คดวงวาร | กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ |

อนุกรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

- | | |
|----------------------------------|---------------------|
| 1. รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี | ประธานฯ |
| 2. รศ. ดร. ไชยแสง ไรจนสถาพร | กรรมการ |
| 3. รศ. ดร. ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์ | กรรมการ |
| 4. รศ. ดร. อัมพวัน อภิธรียะกุล | กรรมการและเลขานุการ |

สารจากประธานจัดงานประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 26

เรียน ท่านนายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย สมาชิกสมาคมฯ และผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับเกียรติจากสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยให้เป็นเจ้าภาพจัดการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 26 ของสมาคมฯ ระหว่างวันที่ 18-19 มีนาคม 2547 ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ ภาควิชาฯ ได้พยายามจัดการประชุมครั้งนี้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่มวลสมาชิกและท่านผู้สนใจทุกท่าน มีการพิจารณาและได้รับอนุมัติหัวข้อการประชุมครั้งนี้ในการประชุมกรรมการบริหารของสมาคม การประชุมวิชาการครั้งนี้เพื่อให้สมาชิกได้รับความรู้ แนวคิดใหม่ๆ รวมทั้งแนวทางที่จะทำให้เกิดความร่วมมือในการวิจัยและทางวิชาการอื่นๆ การได้มาประชุมร่วมกัน โดยเฉพาะในหัวเมืองเช่นนี้ หวังว่าจะยังทำให้สมาชิกได้มีโอกาสรู้จักกันหรือมีความแน่นแฟ้นผูกพันกันในหมู่สมาชิกของสมาคมมากยิ่งขึ้น คณะกรรมการจัดการประชุม ทั้งจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่และสถาบันอื่น ได้อุทิศเวลา แรงงาน แรงใจ และให้ความร่วมมืออย่างดียิ่ง และทำให้งานนี้ลุล่วงมาได้ถึงบัดนี้ การประชุมครั้งนี้ยังได้รับความเอื้อเฟื้อจากวิทยากรทั้งต่างประเทศและในประเทศหลายท่าน นอกจากนี้ คณะกรรมการจัดงานประชุมและสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย การประชุมครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานทางภาคเอกชนหลายแห่ง หน่วยงานเหล่านี้หลายแห่งให้การสนับสนุนการทำงานของสมาคมมาเป็นเวลาช้านาน บางแห่งเพิ่งเริ่มให้การสนับสนุน ทางสมาคมรวมทั้งคณะกรรมการจัดงานประชุมขอขอบคุณหน่วยงานเหล่านี้เป็นอย่างยิ่ง และหวังว่าจะได้รับการสนับสนุนเช่นนี้ต่อไป

ท้ายที่สุดนี้ กระผมในนามของประธานคณะกรรมการจัดงานประชุม ขอขอบคุณคณะกรรมการจัดงานประชุมครั้งนี้ กรรมการบริหารสมาคม หน่วยงานเอกชนที่ให้การสนับสนุนวิทยากร รวมทั้งผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่านที่ให้งานประชุมครั้งนี้เกิดขึ้นได้ และหวังอย่างยิ่งว่าจะสำเร็จลงด้วยดีและเกิดประโยชน์แก่ทุกท่าน หากมีข้อผิดพลาด ขอบกพร่อง หรือความไม่สะดวกใดๆ เกิดขึ้น กระผมขออภัยและขอรับคำแนะนำและชี้แจงต่างๆ ด้วยความยินดียิ่ง

รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี

ประธานคณะกรรมการจัดงานประชุมฯ

สารจากนายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

เรียนท่านสมาชิกสมาคมฯและผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน

ดิฉันรู้สึกยินดีเป็นอย่างยิ่งที่ท่านให้ความสนใจเข้าร่วมประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมฯ และเป็นที่น่ายินดีที่มีผู้สนใจกิจกรรมทางวิชาการของสมาคมมากขึ้นเรื่อยๆ ดังจะเห็นได้จากการประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมฯ ครั้งที่ 25 และโครงการ “สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม” มีผู้เข้าประชุมเป็นจำนวนมาก และกิจกรรมต่างๆ ของสมาคมฯ ก็ได้รับการสนับสนุนจากภาคเอกชนเป็นอย่างดีด้วย

การประชุมวิชาการครั้งที่ 26 ของสมาคมฯ ครั้งนี้ รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี ได้กรุณารับเป็นประธานจัดการประชุมโดยมีมหาวิทยาลัยเชียงใหม่เป็นเจ้าภาพร่วม และถือเป็นกิจกรรมหนึ่งในการฉลองครบรอบ 40 ปีของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ด้วย ในนามของกรรมการบริหารสมาคมฯดิฉันขอขอบคุณกรรมการจัดการประชุมวิชาการทุกท่านที่สละแรงกายแรงใจเพื่อให้การประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมฯครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและขอขอบคุณภาคเอกชนที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการจัดการประชุม และขอขอบคุณทุกท่านที่ให้เกียรติเข้าร่วมประชุมวิชาการในครั้งนี้

รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

รายงานสรุปผลการดำเนินงานของ สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยประจำปี 2546

เรียนท่านสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

กรรมการบริหารสมาคมฯชุดปัจจุบันจะหมดวาระในเดือนมีนาคมนี้ ตลอดระยะเวลา 2 ปีที่ดำรงตำแหน่ง กรรมการทุกท่านได้ช่วยกันปฏิบัติหน้าที่เพื่อสร้างภาพพจน์ที่ดีแก่สมาคมฯ ทำให้สมาคมของเราเป็นที่รู้จักและยอมรับของบุคลากรทางสาธารณสุข

1.โครงการ “สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม” เป็นโครงการที่เราสร้างประโยชน์ต่อสังคมด้วยการจัดบรรยายทางวิชาการให้บุคลากรทาง สาธารณสุข โดยสมาคมฯเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่าย ผู้เข้าฟังการบรรยายไม่ต้องเสียค่าลงทะเบียน แต่จะได้หน่วยกิตศึกษาต่อเนื่อง มีการแจกเอกสาร และเลี้ยงอาหารว่างด้วย ดิฉันเชื่อว่าโครงการนี้ได้สร้างภาพพจน์ที่ดีให้กับสมาคมฯ และยังทำรายได้ให้สมาคมฯด้วย เพราะโครงการ “สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม” นั้นเราได้รับการสนับสนุนค่าใช้จ่ายจากหน่วยงานที่ต้องการสร้างประโยชน์ต่อสังคมเช่นเดียวกับเรา โดยมีข้อแม้ว่าทางสมาคมเราเป็นผู้จัดการบรรยาย เชิญวิทยากร ติดต่อสถานที่ ขออนุมัติจากหน่วยงานที่เราจะไปจัดการบรรยาย ผู้สนับสนุนต้องอยู่เบื้องหลัง แต่สามารถเสนอแนะบางประการได้ และเป็นที่น่ายินดีที่สังคมไทยยังมีผู้หวังดีและต้องการมอบวิชาการก้าวหน้าเพื่อประโยชน์ต่อสังคมเช่นเดียวกับเจตนารมณ์ของกรรมการบริหารสมาคมฯ สมาคมฯจึงได้รับอนุเคราะห์ค่าใช้จ่ายเพื่อดำเนินโครงการ “สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม” ไปแล้ว 4 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1 เป็นการบรรยายเรื่อง Current concept in Breast Cancer Therapy โดย นายแพทย์อาคม เชียรศิลป์ จากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ครั้งที่ 2 เป็นการบรรยายเรื่อง Pharmacogenomics โดย ผศ.ดร. วิจิตรา ทศนิยกุล จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ครั้งที่ 3 เป็นการบรรยายเรื่อง การสืบค้นข้อมูลเชิงประจักษ์เพื่อการประเมินยา โดยนายแพทย์พิสนธิ์ จงตระกูล จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และครั้งที่ 4 เป็นการบรรยายเรื่อง Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis :Pathology and Treatment” โดย นายแพทย์ กิตติ โตเต็มโชคชัยการ จากคณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

การบรรยายทั้ง 4 ครั้งนี้มีผู้เข้าฟังบรรยายจำนวนมาก ทำให้คณะผู้จัดการโครงการมีกำลังใจในการทำงาน และภาคเอกชนที่สนับสนุนการดำเนินงานของโครงการทั้ง 4 ครั้งคือบริษัท

เชอริง พลาว จำกัด ก็ให้ความร่วมมือในการจัดการบรรยายเป็นอย่างดี ในนามของสมาคมฯ ขอขอบคุณบริษัท เชอริง พลาว จำกัด มา ณ ที่นี้ด้วย ที่และหวังว่ากรรมการบริหารสมาคมฯชุดต่อไปจะได้รับการสนับสนุนให้ทำประโยชน์ด้านวิชาการเช่นนี้ต่อไปอีก

2. ในเดือนพฤศจิกายน สมาคมฯได้จัดทำไคอาร์ปี 2547 แจกให้ท่านสมาชิกทุกท่าน หวังว่าคงจะเป็นประโยชน์สำหรับท่านสมาชิก และปกไคอาร์ก็มีโลโก้สมาคมฯเพื่อเตือนใจท่านสมาชิกให้คิดถึงสมาคมฯด้วย เพราะสมาคมฯเป็นของพวกเราทุกคนหากเราร่วมมือกันสมาคมฯของเราจะเติบโตอย่างมีศักดิ์ศรีในสังคมไทย สมาคมฯของพวกเราเป็นผู้ทรงคุณวุฒิทางวิชาการมากมาย หากสมาชิกท่านใดต้องการความช่วยเหลือสามารถเรียนปรึกษาท่านด้วยตนเองเพราะเราอยู่ในครอบครัวเภสัชวิทยาเดียวกัน ท่านผู้อาวุโสของสมาคมฯเป็นผู้ร่วมก่อตั้ง ดูแล และดำเนินงานของสมาคมฯมาก่อน ปัจจุบันท่านทั้งหลายก็ยังรักและช่วยเหลือสมาคมฯมาโดยตลอด หรือท่านสมาชิกก็สามารถติดต่อผ่านกรรมการบริหารสมาคมฯท่านใดท่านหนึ่งให้ช่วยติดต่อให้

3. สำหรับการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 26 ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยนี้ รศ.ดร.ชัยชาญ แสงศิริศักดิ์ได้รับเป็นประธานจัดการประชุมโดยมีคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่เป็นเจ้าภาพร่วม และถือเป็นกิจกรรมหนึ่งในการฉลองครบรอบ 40 ปีของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ด้วย ในนามของกรรมการบริหารสมาคมฯดิฉันขอขอบคุณคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการทุกท่านที่สละแรงกายแรงใจเพื่อให้การประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมฯครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายนี้ดิฉันขอขอบคุณท่านสมาชิกสมาคมฯที่ไว้วางใจให้โอกาสดิฉันบริหารสมาคมฯ ดิฉันหวังว่ากิจกรรมต่างๆที่ได้ดำเนินการไปคงเป็นที่พอใจของท่านสมาชิกทุกท่าน และหากมีสิ่งใดบกพร่อง ดิฉันขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียวและขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ด้วยความนับถือ

รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

บรรณาธิการแถลง

เรียน ท่านสมาชิกสมาคมฯ และผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน

อีกครั้งหนึ่งที่ได้มีโอกาสจัดทำ Proceeding ของการประชุมวิชาการของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ดังเช่นปีที่แล้ว วารสารเภสัชวิทยานี้จะได้รวบรวมรายละเอียดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมฯ และจัดส่งถึงสมาชิกหลายท่านที่ไม่ได้มีโอกาสเข้าร่วมประชุมในครั้งนี้

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยได้ค่อยๆ เติบโตขึ้นตามลำดับ จากข้อสังเกตที่ดิฉันมีส่วนร่วมรับรู้จากการทำงานในคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ มาหลายปีและจากประสบการณ์ที่เป็นบรรณาธิการวารสารฯ ดิฉันพบว่า การประชุมวิชาการของสมาคมฯ เป็นที่ยอมรับมากขึ้น โดยที่มีผู้ลงทะเบียนเข้าร่วมประชุมเป็นจำนวนมากขึ้น และที่สำคัญ มีการส่งผลงานทางวิชาการมานำเสนอทั้งในรูปปากเปล่าและโปสเตอร์มากขึ้นเรื่อยๆ เป็นการสะท้อนถึงบทบาทที่สำคัญของนักเภสัชวิทยา และความสัมพันธ์ที่แน่นแฟ้นในหมู่สมาชิกที่ให้ความสนใจในกิจกรรมต่างๆ ที่ทางคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ ได้จัดขึ้นเป็นประจำเช่นทุกปี

การจัดทำวารสารฉบับ Proceeding นี้คงไม่สามารถสำเร็จออกมาได้ทันเวลา ถ้าปราศจากความร่วมมือจากท่านวิทยากร สมาชิกที่นำเสนอผลงานทั้งของท่านเองหรือนักเภสัชวิทยารุ่นใหม่ๆ ที่ท่านดูแลอยู่ อย่างไรก็ตาม การดำเนินงานทุกอย่างย่อมมีข้อผิดพลาดเกิดขึ้น ดิฉันหวังว่า คงได้รับการให้อภัยจากท่าน และตระหนักดีว่า ความผิดพลาดที่เกิดขึ้นเป็นบทเรียนที่มีค่าในการพัฒนาตน ข้อเสนอแนะจากท่านย่อมมีส่วนสำคัญต่อการพัฒนาวารสารต่อไปในอนาคต

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

บรรณาธิการ

**กำหนดการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 26
ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ เชียงใหม่**

วันพฤหัสบดีที่ 18 มีนาคม 2547

08.00 – 08.30	ลงทะเบียน
08.30 – 08.45	รายงานการประชุมโดยประธานจัดการประชุม - รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี พิธีเปิด โดยนายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย - รศ. ดร. ศรีจันทร์ พรจิรา ศิลป์
08.45 – 10.15	Chiravat Memorial Lecture: Determinants of Interindividual Variability in Drugs Glucuronidation - Towards More Effective Drug Therapy By Professor Peter I. Mackenzie
10.15 – 10.30	พัก - น้ำชา กาแฟ
10.30 – 12.00	Pharmacology of Taurine โดย Prof. Stephen Schaffer
12.00 – 13.15	Lunch Symposium: Parkinson's Disease and New Trends of Pharmacological Interests on DA - New Trends of Pharmacological Interests of Dopamine Agonists โดย รศ. ดร. จินตนา สัตยาชัย - Parkinson's Disease: Diagnosis, Clinical Manifestation and Management Update. โดย พ.อ. พ.ญ. จิตถนอม สุวรรณเทมีย ผู้ดำเนินการอภิปราย: รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี
13.15 – 13.45	ประชุมธุรการสมาคม (เลือกผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคมฯ)
13.45 – 15.45	Symposium : Herbal Medicine - From Research to Practice - Concepts of Value Chain on Herbal Food and Drinks Development. โดย รศ. ดร. ไพโรจน์ วิริยจารี - The Role of Essential Oils in Treating Viral Conditions and Diseases. By Mr. Peter Klapper ผู้ดำเนินการอภิปราย: รศ. ดร. อำไพ บันทอง,
15.45 – 16.00	พัก - น้ำชา กาแฟ
16.00 - 18.00	Round Table Discussion :Herbal Medicine (ต่อ)
19.00	Welcome dinner - ชันโตก

วันศุกร์ที่ 19 มีนาคม 2547

09.00 – 10.15	Potential drugs for Neurodegenerative diseases โดย น.พ. นิพัชญ์ อิศรเสนา
10.15 – 10.30	พัก – น้ำชา กาแฟ
10.30 – 12.00	Pharmacological Intervention to Improve Defibrillation Efficacy โดย ดร. น.พ. นิพนธ์ ฉัตรทิพากร
12.00 – 13.00	Lunch Symposium : New Treatment Concept in Rheumatoid Arthritis โดย ศ.นพ.วรวิทย์ เล่าห์เรณู
13.00 – 14.45	Oral Presentation / Poster Presentation
14.45 – 15.00	พัก – น้ำชา กาแฟ
15.00 – 16.30	Alternative Medicine โดย น.พ. ศุภนิมิต ทีฆสุนทเรียม
16.30 - 16.45	ประกาศผลการประกวดผลงานวิจัย / พิธีปิด

DETERMINANTS OF INTERINDIVIDUAL VARIABILITY IN DRUG GLUCURONIDATION; TOWARDS MORE EFFECTIVE DRUG THERAPY

Peter I Mackenzie

*Department of Clinical Pharmacology, Flinders University School of Medicine,
Flinders Medical Centre, Bedford Park, SA 5042, Australia*

ABSTRACT

Many therapeutic drugs and lipophilic chemicals are primarily metabolized and eliminated by the process of glucuronidation, the addition of water soluble glucuronic acid to the drug or chemical to aid in its excretion. This process is catalysed by the UDP-glucuronosyltransferase (UGT) superfamily of enzymes, of which there are 16 known functional forms in humans. Defects or differences in the expression of these UGTs between individuals may alter the capacity to eliminate drugs and chemicals, leading to adverse reactions and toxicity. As the liver and gastrointestinal tract are major sites the removal of drugs and chemical toxins by glucuronidation, understanding the mechanisms that regulate UGT expression in these two organs may aid in the minimization of drug and chemical-induced toxicities.

Expression of the hepatic UDP glucuronosyltransferases UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B15, UGT2B17 and UGT2B28 varies widely between individuals. This variability is in part caused by coding region polymorphisms that alter catalytic function. However, as assessed by measuring UGT mRNA levels, a major factor contributing to variable UGT expression in the liver is likely to involve differences in the regulation of UGT genes. Several transcription factors that regulate UGT gene expression in liver cells have been identified. These include positive regulators of UGT gene expression such as Hepatocyte Nuclear Factor 1 α (HNF 1 α), CAAT Enhancer Binding Protein α (C/EBP α) and Octamer transcription factor-1 (Oct-1) as well as negative regulators including the Pre B Cell Homeobox factor (Pbx) and its dimerization partner, Prep. Differences in the interaction and binding of these transcription factors to UGT promoters may control the steady state levels of the encoded enzymes in the hepatocyte and may contribute to their variability between individuals.

A second major site of drug metabolism is the gastrointestinal tract. Although most UGTs found in the liver, are also present in the gastrointestinal tract, three UGTs, UGT1A7, UGT1A8 and UGT1A10, are exclusive to the gastrointestinal tract. The interplay between HNF1 α and an intestine specific transcription factor, caudal related homeodomain protein 2 (Cdx2) appears to be responsible for the tissue specific expression of UGT1A8 and UGT1A10. The factors governing UGT1A7 expression are unknown.

Members of the Nuclear Receptor superfamily of transcription factors also regulate UGT expression, as exemplified by the regulation of some UGT genes by the pregnane X receptor (PXR). Many drugs and dietary constituents are ligands for these receptors and thus exposure to these compounds is also likely to contribute to variable UGT content in the liver and intestine. Knowledge of UGT promoter elements and the proteins that bind to these elements, as well as knowledge of polymorphisms that alter their function, may aid in the prediction of an individual's response to chemicals and in the prediction of the efficacy of drug therapies.

PHARMACOLOGY OF TAURINE

Professor Dr. Stephen W. Schaffer

*Department of Pharmacology, University of South Alabama
College of Medicine-MSB 3130*

Today I would like to discuss the regulation of apoptosis by angiotensin II and the amino acid, taurine. The amino acid, taurine, is found in very high concentrations in most tissues, although it appears to be highest in excitable tissues. When the intracellular concentration of taurine is dramatically decreased, several defects begin to develop. These include a retinopathy, a cardiomyopathy and immune deficiency. The basic mechanism underlying these defects is poorly understood.

FIGURE 1

It has been established by Novotny and coworkers, that the cardiomyopathy is characterized by abnormalities in both systolic and diastolic function. In the taurine deficient cat, the initial abnormality to develop is diastolic dysfunction. This defect is illustrated in the First slide taken from the work of Novotny et al. showing a P-V relationship for the taurine deficient and normal heart. You can readily see that the taurine deficient heart is shifted to the right, indicating that the heart is more compliant. In other words, it tends to be flabby. Echocardiographic studies by the same group reveal an increase in chamber volume, leading Novotny and coworkers to suggest that taurine deficiency causes an eccentric form of hypertrophy.

FIGURE 2

This form of hypertrophy is associated with an increase in both the cross-section area and the length of the myocyte. Thus, taurine deficiency affects the cell's ability to synthesize protein.

It is widely accepted among cardiac researchers that two important factors contribute to the development of hypertrophy in the heart. One of the mechanisms involves cell stretching. When cells are stretched, several signaling pathways are initiated within cells that culminate in the activation of hypertrophic effectors, such as the MAP kinases, the early response genes and the JAK/Stat pathway. The other mechanism linked to the development of hypertrophy is the upregulation of neurohumoral agents. One of the most important of these agents is angiotensin II. It has been shown that over-expression of angiotensin II type I receptor induces cardiac hypertrophy and remodeling. Moreover, reducing either the production of renin, the conversion of angiotensin I to angiotensin II or the activation of the angiotensin II receptor prevents the development of hypertrophy. In this regard it is important that the ACE and angiotensin II receptor inhibitors are mainstay therapy in congestive heart failure.

In addition to promoting hypertrophy, angiotensin II also induces apoptosis. Although there is considerable debate regarding the contribution of apoptosis to the development of overt heart failure, there is no dispute that apoptosis is observed in the failing heart. In fact, in one study the number of apoptotic cells in the failing heart approached 35.5%. According to some investigators the extent of apoptosis is directly correlated with the severity of heart failure. Moreover, the transition from compensated hypertrophy to overt heart failure is associated with the loss of cardiomyocytes, as apoptotic genes become upregulated. Thus, it is logical to assume that angiotensin II-induced apoptosis might contribute to ventricular remodeling and onset of overt heart failure.

Despite the potential importance of angiotensin II-induced apoptosis to the failing heart, the mechanism underlying the development of apoptosis is poorly understood. Anversa and coworkers have suggested that the activation of calcium-dependent nucleases is important in development of angiotensin

II. However, the cleavage of DNA occurs in the latter stages of apoptosis. We favor the hypothesis advance Griendling and coworkers who have shown that angiotensin II activated NADPH oxidase, leading to the generation of reactive oxygen species.

FIGURE 3

They went on to propose that reactive oxygen species activate JNK, which in turn promotes apoptosis. However, this scheme appears to exclude several important steps. Therefore, our initial goal was to identify some of these missing steps. Since oxidative DNA damage is common, we first explored the possibility that angiotensin II might cause DNA damage.

The technique used to examine DNA damage utilized Southern blot analysis. DNA was isolated from myocytes exposed to medium containing or lacking 1nM angiotensin II.

FIGURE 4

The DNA was digested overnight with the restriction enzyme, Bam HII. The samples were then exposed to 0.1 N NaOH, which had a two-fold effect. First, the NaOH cleaved the DNA at sites of base modification. Second, it weakened the interaction between the two strands of DNA, allowing separate migration during electrophoresis. After a transfer and an autoradiography step, the intensity of the prominent 10 kbase DNA band was determined. The frequency of strand breaks was calculated from the intensity of the high molecular weight band.

The next slide reveals that isolated cardiomyocytes exposed to 1 nM angiotensin II experience significant mitochondrial DNA damage.

FIGURE 5

While control cells contained only high molecular weight DNA, cells exposed to 1 nM angiotensin II exhibited reduced levels of the 10 kbase strand. Although not shown on this slide, the angiotensin II treated cells contained significant levels of lower molecular weight species, clear evidence of strand breaks. However, after 24 hours of incubation, much of the DNA damage had been repaired.

Angiotensin II-induced DNA damage was prevented by inclusion of the NADPH oxidase inhibitor, diphenylene iodonium (DPI), in the incubation medium.

FIGURE 6

This effect was seen at all three time-points. Note that DPI had no effect on the control cells.

These data suggested that superoxide plays a central role in angiotensin II-mediated DNA damage. However, it has also been reported in the literature that angiotensin II promotes the upregulation of the inducible form of nitric oxide synthase. Therefore, nitric oxide or the combination of nitric oxide and superoxide, namely peroxynitrite, might cause the DNA damage. To examine the role of iNOS in angiotensin II-mediated DNA damage, the cells were incubated with medium containing both angiotensin II and the iNOS inhibitor, aminoguanidine.

FIGURE 7

As seen on this slide, cells treated with angiotensin II and aminoguanidine exhibited no DNA damage.

Work in our department had shown that nitric oxide modifies DNA by causing the deamination of purines, whereas superoxide caused extensive modification of thymine and guanine. To identify the type of nucleotide damage, as well as the pattern of angiotensin II-mediated DNA damage, LM-PCR was performed on a 200 bp stretch of mitochondrial DNA isolated from cells treated with angiotensin II. The pattern of damage in these cells was compared with cell treated with nitric oxide, superoxide or peroxynitrite. The pattern of damage is shown on the next slide.

FIGURE 8

Some of the DNA was treated with 0.1 N NaOH to cleave DNA at the site of basic modification. Others were subjected to LM-PCR without NaOH treatment. The sequence of bases in the region examined is shown on the far left. Note the sequence of 3 guanines. These 3 bases are modified by xanthine oxidase/xanthine (a superoxide generator). However, only two of the 3 guanines are modified by nitric oxide, peroxynitrite or angiotensin II. We replotted the data using the Maxim-Gilbert sequencing ladder, as seen on the next slide

FIGURE 9

The damage is represented by the bars, with the height of each bar indicating the degree of base damage. Note that superoxide caused the greatest damage and nitric oxide the least. Particularly obvious from this slide is that the pattern of damage is nearly identical for peroxynitrite and angiotensin II. Therefore, we concluded that peroxynitrite is the oxidizing agent responsible for angiotensin II-mediated DNA damage.

DNA damage is known to activate the suppressor gene, p53, through a series of phosphorylation reactions.

FIGURE 10

In agreement with its effects on DNA damage, it was found that angiotensin II enhanced the phosphorylation of p53 at one of its phosphorylation sites, serine 20. This phosphorylation reaction is important, not only because it enhances the activity of p53, but also because it prevents its turnover. Phosphorylation of p53 at another serine residue, serine 15, was also promoted by DNA damage. Unfortunately, DPI interfered with the phosphorylation of both serine 15 and serine 20, however, we were able to detect an effect of aminoguanidine on the phosphorylation of serine 15.

FIGURE 11

While angiotensin II stimulated the phosphorylation of serine 15 by 75%, aminoguanidine reduced the enhancement of phosphorylation to about 30%. Therefore, we were able to conclude that iNOS contributed to the activation of p53, although the effect of NADPH oxidase was inconclusive.

One of the important functions of p53 is to stop replicative DNA synthesis, allowing time for the cell to repair any DNA damage. If a cell is unable to repair the DNA damage, p53 promotes the cell's death via apoptosis. In a previous study, Offer et al showed that the level of accumulated DNA damage determines whether p53 promotes DNA repair or induces apoptosis. One way the cell recognized the degree of DNA damage is the phosphorylation pattern of p53. We have not fully explored the phosphorylation status of p53 from the angiotensin II-treated cells. Nonetheless, we do know that approximately 1 base/10 kbases are modified by angiotensin II. This amount of DNA damage appears to be sufficient to activate the apoptotic cascade.

P53 can function as a transcriptional activator and as a transcriptional repressor.

FIGURE 12

Both properties have been implicated in p53-mediated apoptosis. One of the targets of transcriptional activation is the pro-apoptotic factor, Bax. Bax is a member of the Bcl-2 family of proteins and is capable of interacting with mitochondria, causing the release of cytochrome c. As we will discuss later, cytochrome c is a key step in the initiation of apoptosis. Because of its role as a key regulator of apoptosis, the content of Bax was determined in cells prior to and following exposure to medium containing angiotensin II. As seen in the slide, angiotensin II elevated Bax content. This upregulation of Bax was blocked by DPI, indicating that the activation of NADPH oxidase was responsible for the increase in Bax content.

Although the increase in Bax content was highly significant, the effectiveness of Bax in promoting apoptosis also depends upon the cellular levels of the anti-apoptotic Bcl-2 family members.

FIGURE 13

These proteins, of which Bcl-2 is a prototypic member, are capable of interacting with Bax, thereby neutralizing its activity. Moreover, Bcl-2 interacts with the mitochondria, preventing cytochrome c release. Since p53 downregulates Bcl-2 in breast cancer cells, it was logical to assume that angiotensin II might also reduce Bcl-2 levels in the myocyte. The effect of angiotensin II on Bcl-2 was time-dependent, with levels falling within 1 hr and rebounding thereafter.

The effect of DPI on angiotensin-mediated alterations in Bax and Bcl-2 are shown on the next slide.

FIGURE 14

After 6 hr of angiotensin II exposure, Bcl-2 levels fell about 15% and Bax levels were increased about 25%. The Bax/Bcl-2 ratio was elevated about 40%. DPI had no effect on the ratio in the absence of angiotensin II, but it completely blocked the elevation in the ratio mediated by angiotensin II.

The effects of Bax and Bcl-2 are mediated by the mitochondria.

FIGURE 15

Bax can interact with the mitochondria to open pores that lead to the release of cytochrome c. In the cytosol, cytochrome c interacts with the protein, apaf-1, which in the presence of dATP can activate one of the initiating caspases, caspase 9. The initiating caspases are proteolytic enzymes that activate effector caspases, such as caspases 3, 6, and 7, which in turn cleave important proteins, causing apoptotic cell death. Bcl-2 and Bax regulate this process by altering the release of cytochrome c from the mitochondria.

If angiotensin II acts through this mitochondrial mechanism, it should cause the activation of caspase 9.

FIGURE 16

However, there are two other mechanisms that could consequently account for angiotensin II-induced apoptosis. One is a receptor mechanism, which leads to the activation of caspases 2 and 8. The other is an endoplasmic reticular mechanism that leads to the activation of caspase 12.

This slide shows that in the angiotensin II treated cell, pro-caspase 9 is converted to caspase 9.

FIGURE 17

Western blot analysis revealed that the content of two cleavage products (the 40 and 38 kD bands) were elevated in angiotensin II treated cells. Pro-caspase 9 is the 50 kD band. When the data were expressed as the active caspase 9/pro-caspase 9 ratio, it was concluded that angiotensin II caused a 25% increase in the conversion of pro-caspase 9 to caspase 9. This observation is consistent with the TUNEL assay, which showed that angiotensin II caused 12% of the cells in culture to undergo apoptosis.

These data allow us to modify the original scheme of Griendling, as shown on the next slide.

FIGURE 18

We now suggest that angiotensin II activates NADPH oxidase, which is responsible for the generation of free radicals. These reactive oxygen species cause DNA damage, leading to the activation of p53. Through transcriptional activation, Bax is upregulated. Bax in turn acts through the mitochondrial mechanism to initiate apoptosis.

I would like to now discuss the potential importance of this mechanism as it relates to taurine deficient heart failure. It has been shown that cats made deficient of the amino acid, taurine, develop a cardiomyopathy. It is our feeling that this cardiomyopathy is caused by the potentiation of angiotensin II action. Since angiotensin II induces apoptosis and heart failure has been linked to apoptosis, we proposed that taurine deficiency must potentiate angiotensin II-induced apoptosis. To study this hypothesis, taurine deficiency was produced by incubating isolated cardiomyocytes with medium containing the taurine transport inhibitor, B-alanine. After three days, the cellular content of taurine was decreased by 50%. The cells were then incubated for either 12 or 24 hours with medium containing 1 nM angiotensin II. Two measures of apoptosis were evaluated: TUNEL staining and caspase 9 activation. We found that about 12% of the control myocytes exhibited the characteristic brown staining pattern of TUNEL positive cells.

FIGURE 19

Exposure of the cells to angiotensin II increased the number of apoptotic cells to 24%. B-alanine treatment did not increase the number of TUNEL positive cells in the absence of angiotensin II. However, 24 hours after exposure to angiotensin II, 35% of the cells were TUNEL positive.

The next two slides show that the activation of caspase 9 was more complete in the B-alanine treated cells exposed to angiotensin II.

FIGURE 20 & 21

While the caspase 9/pro-caspase 9 ratio was significantly increased in normal cells treated with angiotensin II, the extent of activation was enhanced in the taurine deficient cells exposed to angiotensin II. These data clearly show that taurine deficiency potentiates angiotensin II-induced apoptosis. The question then becomes - How can taurine affect angiotensin II-induced apoptosis?

FIGURE 22

The next slide shows the chemical structure of taurine. It is a simple compound, with an amino group and a sulfonic acid moiety. Based on its structure, it is obvious that taurine cannot be a scavenger of most reactive oxygen species. An exception is HOCl, which reacts with the amino group of taurine to form taurine chloramine. Although taurine is not a direct scavenger of free radicals, the literature is full of examples in which taurine limits either oxidative stress or the consequences of oxidative stress. Therefore, taurine affects some other event in the signaling pathway of angiotensin II.

One possibility is that taurine affects the extent of angiotensin II-induced DNA damage. This possibility was addressed by analyzing DNA damage using Southern blot analysis.

FIGURE 23

Exposure of cells to medium containing 20 mM taurine had no effect on the frequency of strand breaks observed 1 hour and 3 hours following exposure to 1 nM angiotensin II. However, taurine treatment did affect the extent of DNA damage seen after 24 hours of angiotensin II exposure. At the latter time point, DNA repair reduced the frequency of strand breaks from 1/10 kbases to 0.4/10 kbases in untreated cells exposed to angiotensin II. The frequency of strand breaks was reduced further to 0.1/10 kbases in the taurine treated cells. Although these data support the notion that taurine affects DNA repair, the effect is not large and unlikely to be the primary site of taurine action.

Taurine also reduces the degree of p53 activation.

FIGURE 24

While there was a significant increase in the degree of p53 phosphorylation at serine 20 in untreated cells exposed to angiotensin II, this effect was dramatically attenuated in cells pretreated with 20 mM taurine prior to exposure to 1 nM angiotensin II.

p53 is capable of inducing apoptosis through several mechanisms. As discussed earlier, one of these mechanisms involves the upregulation of Bax.

FIGURE 25 & 26

We found that while angiotensin II treatment elevated Bax content in the untreated cell by 60%, Bax levels rose more than 2 fold in the B-alanine treated cell exposed to angiotensin II. Nonetheless, this impressive effect was somewhat muted by an upregulation of Bcl-2 in the taurine deficient cell. As a result of the increase in Bcl-2 content, the Bax/Bcl-2 ratio increased 55% in the B-alanine treated cell exposed to angiotensin II rather than the 2-fold increase that would have occurred without the elevation in Bcl-2 levels.

FIGURE 27

Release of cytochrome c from the mitochondria can involve either Bax-linked pores or the mitochondrial permeability transition pore. The permeability transition pore consists of at least three components, voltage dependent anion channels (VDAC), adenine nucleotide translocase (ANT) and cyclophilin D. When the three are coupled to form the pore, a collapse of the membrane potential, mitochondrial swelling and rupture of the outer mitochondrial membrane ensues. This pore is regulated by a number of factors, including protein kinase C-epsilon.

Therefore, we examined the effect of taurine and angiotensin II on protein kinase C-epsilon content.

FIGURE 28

Angiotensin II elevated the membrane content of protein kinase C-epsilon by 25% in the normal cells and by 50% in the B-alanine treated cells. The angiotensin II-mediated translocation of protein kinase C-epsilon was also promoted by taurine deficiency. Because this effect would be considered cytoprotective, it would not contribute to the taurine deficient cardiomyopathy.

In summary, angiotensin II appears to induce apoptosis through a mechanism involving the activation of NADPH oxidase.

FIGURE 29

We propose that the generation of reactive oxygen species leads to DNA damage. As a result, p53 is activated. Although p53 can induce apoptosis through several mechanisms, the upregulation of Bax appears to contribute to angiotensin II-induced apoptosis. Finally, taurine inhibits angiotensin II-induced apoptosis by interfering with the activation of p53.

Potential Drugs for Neurodegenerative Diseases

นายแพทย์นิพัทธ์ อิศรเสนา ณ ออยุธยา

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABSTRACT

There has been remarkable progress in the study of the causes, the pathogenesis, and the mechanism of cell death in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, and polyglutamine diseases. Several new therapeutic approaches, which are more closely targeted to the pathogenesis of the disease, are being explored. This review summarizes the development of these potentially disease modifying treatments.

โรคในกลุ่ม neurodegenerative disorders หรือโรคความเสื่อมของระบบประสาทเป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบัน ประมาณว่ามีผู้ป่วยเป็นโรคสมองเสื่อมชนิด Alzheimer's อยู่กว่า 25 ล้านคนในโลก ผู้ป่วยเป็นโรค Parkinson's disease อีกกว่า 5 ล้านคน ผู้ป่วยเหล่านี้ค่อยๆ สูญเสียความสามารถในการช่วยเหลือตนเอง ทำให้ขาดคุณภาพในการดำเนินชีวิต เนื่องจากเป็นโรคเรื้อรัง ผู้ป่วยต้องทนทุกข์ทรมานอยู่เป็นเวลานาน ใช้ค่าใช้จ่ายสูง ยาที่ได้รับการยอมรับให้ใช้ที่ผ่านมาเพียงลดหรือชะลออาการแสดงออกของโรคโดยแทบไม่มีผลต่อการดำเนินของโรค จากความก้าวหน้าสามารถหยุดยั้งการตายของเซลล์ประสาทได้ ถึงแม้จะมีความพยายามอย่างสูงในการพัฒนายาเพื่อช่วยเหลือผู้ป่วยกลุ่มนี้

บทความนี้จะกล่าวถึงยาใหม่หรือแนวทางใช้ยาในผู้ป่วยกลุ่มนี้ในปัจจุบัน สารที่อยู่ในระหว่างการทดสอบที่น่าสนใจ รวมไปถึงแนวทางในการพัฒนาสารใหม่ๆ ซึ่งอาจนำไปสู่การป้องกัน/หยุดยั้งความผิดปกติของเซลล์ประสาทหรือเพิ่มเซลล์ประสาทเพื่อชดเชยกับเซลล์ที่สูญเสียไปในโรคกลุ่มนี้

Neurotrophic Factors

เนื่องจาก growth factor หลายชนิดที่มีผลต่อเซลล์ประสาท ไม่ว่าจะเป็น nerve growth factor(NGF) brain-derived growth factor(BDNF) ciliary neurotrophic factor(CNTF) glia line-

derived neurotrophic factor(GDNF) insulin-like growth factor(IGF) NT-3 ต่างมีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ประสาททั้งในหลอดทดลอง และในภาวะปกติ มีผลป้องกันเซลล์ประสาทต่อภาวะต่างๆ รวมไปถึงจนถึง animal model หลายชนิด จึงมีหลายกลุ่มพยายามนำมาใช้ในการรักษา neurodegenerative diseases อย่างไรก็ตามก็ได้เกิดข้อขัดข้องขึ้นมาน่าผิดหวัง เชื่อว่าเกิดจากปัญหาในการให้ วิธีที่ใช้ไม่สามารถนำ neurotrophic factors ชนิดต่างผ่าน blood-brain barrier เข้าสู่เซลล์ประสาทได้¹

จากความก้าวหน้าในแง่ gene therapy ทำให้มีหนทางที่จะแก้ไขปัญหานำ neurotrophic factors เข้าสู่เซลล์เป้าหมาย การใช้ viral vector นำพา gene ของ neurotrophic factor ได้ผลที่น่าพึงพอใจในสัตว์ทดลองเช่น การใช้ adenoassociated viruses (AAV) เพื่อนำ IGF เข้าสู่ motor neurons ในสัตว์ทดลองโรค ALS²⁻³ อีกวิธีที่ใช้ในการแก้ไขปัญหานำ neurotrophic factor เข้าไปใน CNS คือ สร้างเซลล์ที่สร้าง neurotrophic factor แล้วปลูกฝังใกล้บริเวณเป้าหมาย เช่น เซลล์ที่หลั่ง CNTF ใน animal model ของ Huntington's disease(HD)⁴

การแสวงหา Neuroprotective Agents อื่นๆ

โดยทั่วไปถึงแม้ยังไม่ทราบกลไกที่จำเพาะแน่ชัดของการตายของเซลล์ประสาทในแต่ละโรค ปัจจุบันมีหลายอย่าง กลไกเช่น 1)oxidative stress 2)mitochondrial dysfunction 3)inflammation 4)excitotoxicity 5)ความผิดปกติของ trophic support ต่างมีหลักฐานว่าอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในเกือบทุกโรคในกลุ่มนี้ สารที่มีผลต่อกลไกต่างๆนี้จึงอาจถูกนำมาใช้ได้หลายโรค

นอกจากนี้ก็ยังมียาอีกจำนวนมากที่ถึงแม้ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์แต่พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทในหลอดทดลอง หรือมีข้อมูลทางระบาดวิทยาสนับสนุนว่าอาจมีผลต่อการดำเนินโรค ทำให้เป็นที่สนใจที่จะนำมาทดลองใช้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตามก็ดีกว่าก่อนจะได้รับการยอมรับให้นำมาใช้อย่างกว้างขวางมีความจำเป็นต้องทำ clinical trial ขนาดใหญ่ เนื่องจากมี candidate จำนวนมากจำเป็นต้องจัดลำดับความสำคัญ ยกตัวอย่างเช่น จากการพิจารณาสารที่มีแนวโน้มจะมีประสิทธิภาพในการลดการตายของเซลล์ประสาท 59 ชนิด ที่ได้รับการพัฒนามานานพอสมควร หรือได้รับการรับรองให้ใช้ในโรคอื่นแล้วในปี 2003 Committee to Identify Neuroprotective Agents in Parkinson's (CINAPS) ซึ่งถูกจัดตั้งขึ้นโดย National Institute of Neurologic Disorders and Stroke (NINDS) ได้คัดเลือกสาร 12 ชนิดว่าเป็นสารที่น่าสนับสนุนในการทำ clinical trial โดยอาศัยคุณสมบัติของสารเช่น มีฤทธิ์สนับสนุนกลไกการออกฤทธิ์, ผ่าน blood-

brain barrier ได้ดี มีข้อมูลในแง่ความปลอดภัยเพียงพอ, ได้ผลใน animal models หรือในคน⁵ สารเหล่านี้ได้แก่

Caffeine มีฤทธิ์ต่อ adenosine receptor ถึงแม้ยังไม่ทราบกลไกที่ทำให้มีผลในแง่ neuroprotection caffeine และ specific A_{2A} receptor agonist KW-6002 ต่างสามารถลดการตายของเซลล์ประสาทได้ใน MPTP models⁶⁻⁷

Co enzyme Q 10 เพิ่ม activity ของ mitochondrial complex I และทำหน้าที่ antioxidant. สามารถให้ได้ถึง 1,200 mg ต่อวันโดยที่ยังปลอดภัย รวมทั้งมีหลักฐานเบื้องต้นว่าชะลอ functional decline ซึ่งวัดโดย Unified PD Rating Scale ในคนไข้ PD ที่เพิ่งได้รับการวินิจฉัย⁸

Creatine เป็นสารอาหารเสริม กลไกการออกฤทธิ์เป็น indirect antioxidant และยับยั้ง mitochondrial permeability transition. มีผลป้องกันการตายของเซลล์ประสาทใน MPTP rodent models ใน transgenic Huntington's disease (HD) และ Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) models เมื่อให้ 1 - 2% ของอาหารโดยน้ำหนัก. ปลอดภัยให้ได้ถึง 20 g ต่อวัน

Estrogen (17 β estradiol). จากการศึกษาในด้านระบาดวิทยาพบว่าผู้ชายมีโอกาสเกิดโรค PD มากกว่าผู้หญิง ทำให้มีการลองนำ sex hormone มาใช้ใน PD พบว่า estrogens มีผล neuroprotection ใน animal models⁹ อาจเป็นเพราะ neurotrophic effects, synaptic plasticity, หรือ antioxidant effects. อย่างไรก็ตามก็ตีสารในกลุ่มนี้ให้ผลข้างเคียงทั้งในเรื่องรูปร่าง และผลต่อหลอดเลือด nonfeminizing analogs อาจน่าสนใจกว่า

GM-1 ให้ผลทั้ง neuroprotective และ neuro-restorative ใน animal models. เป็นส่วนประกอบของ neuronal membranes ที่อาจเพิ่มการทำงานของ BDNF, GDNF ป้องกัน excitotoxicity. ข้อเสียคือ จำเป็นต้องให้ทาง parenteral กำลังมีการพัฒนาสร้าง synthetic- derivatives ที่สามารถให้โดยวิธีกินได้ เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์หลายอย่างที่อาจได้ผลและมีข้อมูลว่าแม้ได้รับซ้ำก็ยังได้ผล ทำให้เป็นสารที่น่าสนใจ

Minocycline. tetracycline antibiotic ที่เข้าสมองได้ดี สามารถยับยั้ง microglial-related inflammatory events และ apoptotic cascade. มีผล neuroprotection ใน สัตว์ทดลองทั้งใน ALS HD และ PD models¹⁰⁻¹² สามารถให้ระยะยาวโดยไม่มีผลข้างเคียง

Nicotine. จากข้อมูลในด้านระบาดวิทยาพบว่าคนสูบบุหรี่มีโอกาสเป็น PD น้อยกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ อาจเป็นไปได้ว่าส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่ nicotine จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการดำเนินของโรค อย่างไรก็ตามก็ตี nicotine สามารถป้องกัน MPTP toxicity ในสัตว์ทดลองได้. การใช้ Nicotine ยังมีปัญหาในแง่ขนาดที่เหมาะสม และวิธีที่ให้

GPI-1485. เป็น neuro-immunophilin ligand. กับ central FK506 binding protein receptor, GPI 1485 และ neuro-immunophilins อื่นๆมี neuro-trophic activity แม้จะไม่มี immunosuppressive activity¹³⁻¹⁴

Rasagiline/selegiline. Rasagiline เป็น MAO-B inhibitor คล้ายกับ selegiline แต่ไม่มี amphetamine metabolites. กลไก neuroprotection ไม่เกี่ยวกับประสิทธิภาพของการเป็น MAO-B ยังไม่มีข้อสรุปแน่ชัดถึงประสิทธิภาพในการป้องกันเซลล์ประสาท ได้รับการใช้อย่างแพร่หลาย

Mirapex and Requip. non-ergot derivative dopamine agonists มี antioxidant effect และมีผลต่อ mitochondrial membrane. dopamine agonists อื่นๆอาจให้ผลอย่างเดียวกัน¹⁵

จะเห็นได้ว่าสารที่กล่าวมานี้ ถึงแม้จะมีส่วนหนึ่งที่มีข้อมูลว่ามีฤทธิ์ให้ neuroprotection จาก PD model เท่านั้น แต่ก็ยังมีจำนวนหนึ่งซึ่งอาจนำไปใช้ในโรคอื่นได้ ในทางตรงข้ามกันสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต่อกลไกเช่น excitotoxicity(เช่น NMDA-antagonist และ calcium channel antagonist) antioxidant(Vitamine และ Iron chelator) anti-inflammatory agent (เช่น NSAIDs) anti apoptosis (caspase inhibitor)ถึงแม้ ไม่มีข้อมูลสนับสนุนเพียงพอหรือขาดประสิทธิภาพใน PD ยังมีความเป็นไปได้ที่อาจได้ผลใน neurodegenerative disease ชนิดอื่น

ความก้าวหน้าและแนวทางในการพัฒนาการรักษาNeurodegenerative Disease ชนิดต่างๆ

Alzheimer's Disease

เป็นโรคสมองเสื่อมที่พบได้บ่อยที่สุด การรักษาปัจจุบันทำได้เพียงชะลอ cognitive impairment¹⁶ โดยใช้ยา กลุ่ม second-generation choline esterase inhibitor เช่น donepezil rivastigmine galantamine ยาที่ได้รับการรับรองจาก FDA ล่าสุดเมื่อเดือนตุลาคม 2003 คือ Memantine ยากลุ่ม NMDA antagonist ให้ใช้ในผู้ป่วย moderate – severe¹⁷⁻¹⁸ พบว่ามีผลชะลออาการ แต่ยังไม่เห็นหลักฐานแน่ชัดว่าชะลอการตายของเซลล์ memantine มีข้อดีคือผู้ป่วยทนได้ดีกว่า NMDA antagonist ตัวอื่น พยาธิสภาพสำคัญคือมี senile plaques และneurofibrillary tangles สะสมที่สมอง ส่วนมากเป็นโรคที่เกิดแบบsporadicโดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด ส่วน early-onset Alzheimer's disease พบว่ามีสาเหตุมาจากความผิดปกติของgeneเช่น amyloid precursor protein(APP), presenilin1(PS1); และ presenilin2(PS2) ซึ่งต่างมีผลต่อ proteolytic process ของ APP โดยทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของratio ระหว่างamyloid β peptide 42 ซึ่ง aggregate ได้ง่าย กับ

A β 40 ถึงแม้กลไกการเกิดneurodegenerationยังไม่เป็นข้อสรุปที่แน่ชัด แนวทางพัฒนายาหลายชนิดก็อาศัย A β deposition เป็นเป้าหมายสำคัญ¹⁹⁻²⁰

ตัวอย่างของการรักษาที่กำลังถูกพัฒนาเพื่อนำมารักษาAlzheimer's disease

1. beta- and gamma-secretases :ซึ่งตัด Abeta จาก amyloid-beta precursor protein (APP)²¹
2. vaccine และantibodyต่อ A β พบว่าลดอาการของสัตว์ทดลองได้และในบางการทดลอง ลด plaqueได้ ถึงแม้จะมีปัญหาเรื่องทำให้เกิดสมองอักเสบจนต้องหยุดทำtrial ได้มีความพยายามที่พัฒนาผลข้างเคียงของวัคซีน²²⁻²⁶
3. มีหลักฐานว่าNotch และ Wnt signaling pathway²⁷ซึ่งเป็นpathwaysสำคัญในการควบคุมพัฒนาการของเซลล์ประสาท ถูกกระทบโดยความผิดปกติที่ presenilin และ APP และอาจเป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมของเซลล์ประสาท สารที่มีผลต่อpathwaysทั้งสองเช่น GSK-3 inhibitors, lithium จึงถูกนำมาศึกษาเพื่อนำมาใช้ในผู้ป่วย
4. metal chelator²⁸⁻³⁰
5. growth factors – NGF มีส่วนช่วยในการอยู่รอดของ cholinergic neuron ที่ forebrain ซึ่งสูญเสียไปในalzheimer's disease อย่างไรก็ตาม การให้ยังมีปัญหาในการผ่าน blood-brain barrier จึงมีการพัฒนาNeurotrophin small molecule mimetics โดยใช้ crystal structures ของ neurotrophins และ structure-activity relationships of active neurotrophin peptidomimetics เป็นพื้นฐานในการ screen small molecule libraries เพื่อหา small molecules ที่มี neurotrophin agonist หรือ antagonist activity³¹นอกจากนี้ยังมีgene therapy trial ใช้ viral vector นำ NGF เพื่อรักษาผู้ป่วย AD ซึ่งเข้าใกล้เวลารายงานผลแล้ว
6. สารอื่นๆที่ลด aggregation เช่น พบว่าNSAIDs ที่มีผลต่อ Rho เช่น sulindac ได้ผลในการลด plaque โดยไม่เกี่ยวข้องกับ anti-inflammatory effect³²

Huntington's Disease

เป็น neurodegenerative disease ที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant ผู้ป่วยมัก เริ่มมีอาการเมื่ออายุประมาณ 40- 45 ปี มีอาการสำคัญคือ การเคลื่อนไหวผิดปกติแบบ chorea ร่วมกับภาวะผิดปกติทางอารมณ์และจิตใจ พยาธิสภาพที่พบคือความผิดปกติเด่นชัดที่บริเวณ caudate และ putamenการศึกษาทางgenetic พบว่าgene ผิดปกติที่เป็นสาเหตุของโรคมี CAG repeat region ที่อยู่ในexon แรกของgene ยาวกว่าปกติ ทำให้huntington's disease ถูกจัดอยู่ในกลุ่มโรค polyglutamine disorderเช่นเดียวกับ spinobulbar muscular atrophy(SBMA or Kennedy's

disease), spinocerebellar ataxias (SCA1, SCA2, SCA3, Machado-Joseph disease, SCA6, และ SCA7) และ dentatorubropallidoluysian atrophy (DRPLA) โรคในกลุ่ม polyglutamine disease นี้มีลักษณะร่วมที่สำคัญคือ ยิ่งจำนวน CAG repeats มากอายุที่เริ่มแสดงอาการของผู้ป่วยก็ยิ่งน้อยลง ลูกหลานมีโอกาสแสดงอาการเร็วขึ้นโดยมี gene ที่ผิดปกติเป็นคนละ gene กันทำให้มีผลต่อบริเวณของระบบประสาทที่แตกต่างกัน huntingtin เป็น protein ที่มีอยู่ในเซลล์หลายชนิดแต่เมื่อผิดปกติ เซลล์ GABAergic neuron ที่ putamen เท่านั้นที่ได้รับผลกระทบ หลักฐานจากการศึกษา spinocerebellar ataxia type 1 และ spinobulbar muscular atrophy พบว่า คุณสมบัติของโปรตีนเองเช่นการจับตัวกับ protein อื่น และหน้าที่โดยปกติของโปรตีนที่สร้างจาก gene ที่เป็นสาเหตุของโรค ต่างเป็นปัจจัยสำคัญของ protein toxicity ทำให้เกิดความผิดปกติทาง biochemical pathways ในเซลล์ได้หลายอย่าง เช่น รบกวน mitochondrial function, synaptic transmission, ทำให้เกิด excitotoxic injury อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่แน่ชัด pathway เหล่านี้เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิด neuronal dysfunction. ที่น่าสนใจคือพบว่าเมื่อลดการสะสม aggregate เซลล์ประสาทที่เคยทำงานผิดปกติสามารถกลับมาทำงานได้ดีอีกครั้ง สัตว์ทดลองมีอาการดีขึ้น

ตัวอย่างของการรักษาที่กำลังถูกพัฒนาเพื่อนำมารักษา HD

1. ทุกระดับ RNA – โปรตีนที่ผิดปกติทำงานแบบ gain of function การรักษาที่ DNA ทำได้ยาก แต่เทคนิคเช่น antisense oligonucleotide³³ RNAi³⁴ ต่างได้ผลดี ยับยั้ง HD toxicity ได้ในหลอดทดลอง ในอนาคตมีความเป็นไปได้ที่จะถูกพัฒนามาใช้ทดสอบในสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะใช้ร่วมกับ viral vector
2. anti aggregation- antiaggregation peptide³⁵ ลดความผิดปกติทั้งในเซลล์และสัตว์ทดลอง
3. vaccine-5' fragment of Huntingtin cDNA ป้องกันพยาธิสภาพบางอย่างใน animal model HDR6/2 ได้³⁶
4. signal transduction – ถึงแม้หน้าที่โดยปกติของ huntingtin ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โรค polyglutamine disorders มักพบ neuronal intranuclear inclusions เมื่อรวมกับหลักฐานอื่นๆ เช่น transcription factor CREB-binding protein (CBP) ถูกจับโดย polyglutamine nuclear inclusions ทั้งใน cell culture และ animal models ของ poly glutamine disease Polyglutamine toxicity ลดลงเมื่อมีการเพิ่มของ CBP ทำให้เกิดทฤษฎีว่า transcriptional dysregulation อาจเป็น กลไกสำคัญของ neurodegeneration จาก polyglutamine disease³⁷⁻³⁸ สืบเนื่องจากความคิดนี้ สารในกลุ่ม HDAC inhibitors เช่น suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) and TSA (2-20 μ M) ได้ถูกนำมาลองใช้และมีแนวโน้มจะให้ผลในสัตว์ทดลอง³⁹⁻⁴⁰

Parkinson's Disease

เป็น neurodegenerative disease ที่พบบ่อยเป็นอันดับสองรองจาก Alzheimer's disease ผู้ป่วยมีอาการเคลื่อนไหวช้า สั่น และการเคลื่อนไหวผิดปกติอื่นๆ พยาธิสภาพสำคัญคือ มีการสูญเสียของเซลล์ประสาท dopaminergic neuron ที่ substantia nigra และมี intraneuronal proteinaceous cytoplasmic inclusions ที่เรียกว่า Lewy's bodies ส่วนใหญ่เป็นโรคที่เกิดแบบ sporadic แต่มีจำนวนหนึ่งที่เกิดจากความผิดปกติที่ gene โดย gene ที่พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องได้แก่ α synuclein, ubiquitin carboxy terminal hydroxylase L1 (UCH-L1) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant และ parkin และ DJ-1 ซึ่งถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive เนื่องจาก gene ที่ผิดปกตินี้ส่วนใหญ่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ protein degradation pathway เช่น ความผิดปกติที่ α -synuclein ทำให้เกิด abnormal protein conformation จากความผิดปกติของ parkin และ UCH-L1 ทำให้เกิดความผิดปกติในการ detect & degrade misfold protein ทำให้เกิดสมมุติฐานว่า misfolding ของโปรตีน และความผิดปกติของ ubiquitin-proteasome pathway อาจเป็นสาเหตุสำคัญของการกำเนิดโรคโดยมี neurotoxic, oxidative stress, mitochondrial dysfunction เป็นส่วนประกอบ การพัฒนาการรักษาโดยมีพื้นฐานจากแนวคิดนี้ยังอยู่ในช่วงเริ่มต้น⁴¹ ยาที่ใช้ในผู้ป่วยปัจจุบัน ยังคงเน้นการทดแทน dopamine ซึ่งมีหลักฐานว่าการใช้ DA-agonist อาจช่วยชะลอการตายของเซลล์ประสาทเมื่อเทียบกับ levodopa ส่วนยาอื่นๆที่อยู่ในช่วงทดลองมักเป็นยาที่ออกฤทธิ์ครอบคลุมกลไกการตายของเซลล์ประสาททั่วไป ดังที่บรรยายในหัวข้อก่อนหน้านี้ ขณะนี้ได้เริ่มมี gene therapy trial ใน PD โดยใช้ AAV นำพา GAD gene เข้าสมองโดยผ่าน catheter ยังไม่มีรายงานว่าได้ผลอย่างไร

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

ผู้ป่วยมีความผิดปกติของ motor neuron สูญเสียการทำงานของระบบประสาทที่ใช้ในการเคลื่อนไหว ผู้ป่วยมักเสียชีวิตภายใน 5 ปีหลังเริ่มมีอาการ กลไกของโรคในปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัด อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับ oxidative stress, excitotoxic การพัฒนาการรักษาส่วนใหญ่อาศัยกลไกนี้เป็นหลัก⁴³⁻⁴⁴

ตัวอย่างการรักษา

1. anti-glutamate ยาที่ใช้ยู่คือ Riluzole ซึ่งได้ผลบ้างเล็กน้อย แต่ topiramate ซึ่งมีฤทธิ์ต้าน glutamate เช่นกันกลับใช้ไม่ได้ผล⁴²
2. anti-oxidant, anti apoptosis เช่น coenzymeQ, minocycline

3. viral vector เช่นการใช้ retrograde viral delivery ของ IGF-1 ให้ผลในทางบวกในสัตว์ทดลอง สามารถเพิ่ม survival ได้³

โดยสรุปถึงขณะนี้มียาซึ่งหวังผลที่จะลดการตายของเซลล์ประสาทอยู่ในช่วงการทดลองจำนวนมาก เมื่อประกอบกับการที่เรามีความรู้ความเข้าใจของกลไกการดำเนินของโรคดีขึ้น ทำให้มีแนวโน้มที่จะสามารถพัฒนาการรักษาที่เปลี่ยนแปลงกลไกของโรคได้โดยตรง ไม่เพียงแต่ลดอาการอย่างที่ผ่านมา

References

1. Tuszynski MH. Growth-factor gene therapy for neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol* 2002;1(1):51-7.
2. Miller TM, Cleveland DW. Has gene therapy for ALS arrived? *Nat Med* 2003;9(10):1256-1257
3. Kaspar BK, Llado J, Sherkat N, Rothstein JD, Gage FH. Retrograde viral delivery of IGF-1 prolongs survival in a mouse ALS model. *Science* 2003;301(5634):839-42
4. Emerich DF, Winn SR, Hantraye PM, et al. Protective effect of encapsulated cells producing neurotrophic factor CNTF in a monkey model of Huntington's disease. *Nature* 1997;386(6623):395-9.
5. Ravina BM, Fagan SC, Hart RG, et al. Neuroprotective agents for clinical trials in Parkinson's disease: a systematic assessment. *Neurology* 2003;60:1234-1240.
6. Schwarzschild MA, Xu K, Oztas E, Petzer JP, Castagnoli K, Castagnoli N Jr, Chen JF. 2003 Neuroprotection by caffeine and more specific A2A receptor antagonists in animal models of Parkinson's disease *Neurology* 9;61(11 Suppl 6):S55-61
7. Kase H, Aoyama S, Ichimura M, et al. Progress in pursuit of therapeutic A2A antagonists: the adenosine A2A receptor selective antagonist KW6002: research and development toward a novel nondopaminergic therapy for Parkinson's disease. *Neurology* 2003;61(11 Suppl 6):S97-100.
8. Shults CW, Oakes D, Kiebert K, et al. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Arch Neurol* 2002;59(10):1541-50.
9. . Saunders-Pullman R. Estrogens and Parkinson disease: neuroprotective, symptomatic, neither, or both? *Endocrine* 2003;21(1):81-7.
10. Thomas M, Dong W, Jankovic J. Minocycline and other tetracycline derivatives: a neuroprotective strategy in Parkinson's disease and Huntington's disease. *Clin Neuropharmacol* 2003;26:18-23.
11. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, et al. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* 2002;417:74-78.

12. Berger A. Minocycline slows progress of Huntington's disease in mice. *BMJ* 2000;321:70.
13. Avramut M, Achim CL. Immunophilins and their ligands: insights into survival and growth of human neurons. *Physiol Behav* 2002;77(4-5):463-8.
14. Marshall VL, Grosset DG. GPI-1485 (Guilford). *Curr Opin Investig Drugs* 2004;5(1):107-12.
15. Schapira AH. Neuroprotection in PD--a role for dopamine agonists? *Neurology* 2003;61(6 Suppl 3):S34-42.
16. Helmuth L. New therapies. New Alzheimer's treatments that may ease the mind. *Science* 2002;297(5585):1260-2.
17. Reisberg B, Doody R, Stoffer A, Schmitt F, Ferris S, Mobius HJ. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003;348(14):1333-41.
18. Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, Graham SM, McDonald S, Gergel I. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *Jama* 2004;291(3):317-24.
19. Scarpini E, Scheltens P, Feldman H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurol* 2003;2(9):539-47.
20. Selkoe DJ, Schenk D. Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:545-84.
21. Josien H. Recent advances in the development of gamma-secretase inhibitors. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2002;5(4):513-25.
22. McLaurin J, Cecal R, Kierstead ME, et al. Therapeutically effective antibodies against amyloid-beta peptide target amyloid-beta residues 4-10 and inhibit cytotoxicity and fibrillogenesis. *Nat Med* 2002;8(11):1263-9.
23. Janus C, Pearson J, McLaurin J, et al. A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000;408(6815):979-82.
24. Dodart JC, Bales KR, Gannon KS, et al. Immunization reverses memory deficits without reducing brain Abeta burden in Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci* 2002;5(5):452-7.
25. Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE, et al. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000;408(6815):982-5.
26. Janus C. Vaccines for Alzheimer's disease: how close are we? *CNS Drugs* 2003;17(7):457-74.
27. De Ferrari GV, Inestrosa NC. Wnt signaling function in Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res Rev* 2000;33(1):1-12.
28. Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME, et al. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron* 2001;30(3):665-76.
29. Finebrock AE, Bush AI, Doraiswamy PM.

- Current status of metals as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc* 2003;51(8):1143-8.
30. Ritchie CW, Bush AI, Mackinnon A, et al. Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting Abeta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol* 2003;60(12):1685-91.
31. Massa SM, Xie Y, Longo FM. Alzheimer's therapeutics: neurotrophin small molecule mimetics. *J Mol Neurosci* 2002;19(1-2):107-11.
32. Zhou Y, Su Y, Li B, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs can lower amyloidogenic Abeta42 by inhibiting Rho. *Science* 2003;302(5648):1215-7.
33. Boado RJ, Kazantsev A, Apostol BL, Thompson LM, Pardridge WM. Antisense-mediated down-regulation of the human huntingtin gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295(1):239-43.
34. Xia H, Mao Q, Paulson HL, Davidson BL. siRNA-mediated gene silencing in vitro and in vivo. *Nat Biotechnol* 2002;20(10):1006-10.
35. Kazantsev A, Walker HA, Slepko N, et al. A bivalent Huntingtin binding peptide suppresses polyglutamine aggregation and pathogenesis in *Drosophila*. *Nat Genet* 2002;30(4):367-76.
36. Miller TW, Shirley TL, Wolfgang WJ, Kang X, Messer A. DNA vaccination against mutant huntingtin ameliorates the HDR6/2 diabetic phenotype. *Mol Ther* 2003;7(5):572-9.
37. Cha JH. Transcriptional dysregulation in Huntington's disease. *Trends Neurosci* 2000;23(9):387-92.
38. McCampbell A, Taylor JP, Taye AA, et al. CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. *Hum Mol Genet* 2000;9(14):2197-202.
39. Ferrante RJ, Kubilus JK, Lee J, et al. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *J Neurosci* 2003;23(28):9418-27.
40. McCampbell A, Taye AA, Whitty L, Penney E, Steffan JS, Fischbeck KH. Histone deacetylase inhibitors reduce polyglutamine toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(26):15179-84.
41. Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science* 2003;302(5646):819-22.
42. Cudkovic ME, Shefner JM, Schoenfeld DA, et al. A randomized, placebo-controlled trial of topiramate in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2003;61(4):456-64.
43. Dib M. Amyotrophic lateral sclerosis: progress and prospects for treatment. *Drugs* 2003;63(3):289-310.
44. Hurko O, Walsh FS. Novel drug development for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 2000;180(1-2):21-8.

Pharmacological Intervention to Improve Defibrillation Efficacy

Nipon Chattipakorn, MD, PhD

*Director, Cardiac Electrophysiology Unit, Department of Physiology,
Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

Sudden cardiac death, mainly caused by VF, is responsible for over 250,000 deaths annually in the United States.¹ Currently, electrical defibrillation is the only practical means for terminating VF. The mortality rate from sudden cardiac death has decreased in the past decade, partly due to the improvement of our understanding of the nature of this fatality as well as the development of defibrillation devices. Recent advances in implantable defibrillators, such as the use of a biphasic waveform, have led to smaller intravenous devices that have significantly benefited certain groups of patients.²⁻⁴ Recent findings that post-shock activation always arises from area of the weakest shock field have led to the development of improved device therapy.⁵⁻⁷ Despite the wide applications of defibrillators, there is still a great need to improve defibrillation. The better we understand the fundamental mechanism of defibrillation, the more likely it is that we will be able to devise strategies to improve it.

It is thought by many investigators that reentry is responsible for the resumption of VF in failed defibrillation.⁸⁻¹¹ Although this hypothesis is supported by most optical mapping studies which show reentrant activation fronts on the epicardium immediately after the shock,⁸⁻¹¹ this pattern has not been frequently observed in electrical mapping of defibrillation studies.¹²⁻¹⁵ Instead, focal activity is frequently observed after the shock prior to its degeneration into VF.^{13,15-17} Since most optical mapping studies have used a small-heart animal model with shocks that were well below the DFT, while electrical mapping studies have used a large-animal model and shocks of a strength close to the DFT, the disparity of results could be

partly due to differences in study protocols.^{15,18,19} To resolve this issue, an optical mapping study using a similar protocol to that used in electrical mapping studies was performed recently in isolated pig hearts.²⁰⁻²² The results demonstrated that following failed near DFT shocks, rapid repetitive focal activations were always observed at the LV apex for several cycles before it degenerated back into VF. No reentry was observed during these cycles. These results are consistent with previous electrical mapping reports,¹²⁻¹⁵ and led us to believe that an intervention to this small arrhythmogenic region may improve defibrillation efficacy.

Although the cause of these post-shock focal activations is not known, afterdepolarizations have been suggested as a possible mechanism for these rapid post-shock activations.^{15,16,23-26} Afterdepolarizations are oscillations of the transmembrane potential that depend on the preceding action potential for their generation.^{27,28} They can give rise to new activation fronts, i.e. triggered activity, if they reach a critical threshold for new activations. There are two types of afterdepolarizations; delayed afterdepolarizations (DADs) and early afterdepolarizations (EADs). DADs are oscillations in membrane potential that occur after complete repolarization of an action potential, whereas EADs are oscillations at the plateau phase of an action potential, or later during phase 3 of repolarization.^{27,29} DADs are usually too small to reach threshold voltage, however with changes in heart rate or firing pattern their amplitude can change dynamically.²⁸ A decrease in the cycle length (an increase in the rate) has been suggested as the most important influence that causes subthreshold DADs to reach threshold.²⁸ DADs are believed to be induced by a transient inward current^{27,30} and have been linked to intracellular Ca^{++} overload which can result from a number of conditions including increased heart

rate, enhanced sympathetic tone, ischemic reperfusion, stretch, tissue damage, and drug intoxication.³¹⁻³⁴ As heart rate increases or stimulation becomes more premature, DADs could become larger in amplitude until a threshold voltage is reached and a run of rapid firing or triggered activity is provoked.²⁸ DADs are a possible cause of rapid focal activations following failed near-DFT shocks for the following reasons. During fibrillation, heart rate is greatly elevated. Following a defibrillation shock, additional factors such as increased sympathetic tone, myocardial stretch, tissue damage, and reperfusion may be involved. These factors alone or in an additive fashion help promote DADs.³¹⁻³⁴ In addition, recent optical mapping studies have demonstrated that following near-DFT shocks, complete repolarization is observed followed by a 40-60 ms quiescent period after which repetitive focal activations appear on the epicardium and later degenerate into VF.^{20,21,22,35} This finding suggests that the first ectopic cycle arises after complete repolarization is achieved after the shock. Recent studies have also demonstrated that the heart can be paced from the early site quickly following the defibrillation shock before the early site appears spontaneously. This suggests that DADs are a possible mechanism of the rapid repetitive post-shock activity.^{17,36}

All of these findings, however, have been observed from the ventricular epicardium and may not be representative of what occurs beneath the epicardium. Although most recent studies suggest that the first post-shock activation arises on the ventricles after a short isoelectric window, it is not known whether any electrical activity underneath the epicardium exists during this isoelectric window on the epicardium. Several studies demonstrated that rapid firing from Purkinje fibers occurred immediately after the shock.^{25,26} Because EADs occur in most conditions that delay repolarization and, most often, occur more readily in Purkinje fibers than in

ventricular muscle cells,^{28,37} EADs could be responsible for the rapid activation fronts after the shock, since a strong shock is known to significantly extend the refractory period as well as the action potential duration.^{38,39} Therefore, EADs cannot be ruled out as the possible cause of the rapid repetitive early activations following unsuccessful defibrillation shocks.

Recently, the effect of the DAD inhibitor, Flunarizine, has been tested on defibrillation efficacy.⁴⁰ Flunarizine has been demonstrated to terminate arrhythmias due to DADs and to prevent their re-induction. It is believed that Flunarizine prevents calcium overload in the cell by blocking the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger.^{33,41} It has been shown that the DFT was significantly decreased ($\sim 22\%$ by leading edge voltage and $\sim 39\%$ by total energy) after the drug administration (520 ± 90 volts vs. 663 ± 133 volts) and returned to its control value after the drug was washed out.⁴⁰ These data strongly support the possibility that the drug will improve defibrillation and suggest that DADs could be a source of the rapid repetitive focal activation fronts after failed near-DFT shocks.

The definite mechanism by which Flunarizine prevents DADs is still unclear. Flunarizine may block the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. It may also influence the release of calcium from the sarcoplasmic reticulum and block the transient inward current. Further studies are needed to verify its mechanism.

Conclusion

Pharmacological intervention is another useful tool in investigating mechanism of cardiac arrhythmias. Although the mechanism of defibrillation has been investigated for many decades, its definite mechanism is still unclear. A recent defibrillation study has demonstrated the significant reduction in the defibrillation shock strength after the administration of the drug that prevents the occurrence of

DADs, suggesting that DADs may be responsible for failed defibrillation. This finding suggests that pharmacological intervention can be used as an early step in testing the mechanism of cardiac defibrillation.


REFERENCES

1. Zipes DP, Wellens HJJ. Sudden cardiac death. *Circulation*. 1998;98:2334-2351.
2. Moss AJ, Hill WJ, Cannom DS, Daubert JP, Higgins SL, Klein H, Levine JH, Saksena S, Waldo AL, Wilbur D, Brown MW, Heo M, Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial Investigators. Improved survival with an implanted defibrillator in patients with coronary disease at high risk for ventricular arrhythmia. *N Engl J Med*. 1996;335:1933-1940.
3. Zipes DP, Roberts D. Results of the international study of the implantable pacemaker cardioverter-defibrillator: A comparison of epicardial and endocardial lead systems. *Circulation*. 1995;92:59-65.
4. Maron BJ, Shen WK, Link MS, Epstein AE, Almqvist AK, Daubert JP, Bardy GH, Favale S, Rea RF, Boriani G, Estes NA, 3rd, Spirito P. Efficacy of implantable cardioverter-defibrillators for the prevention of sudden death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342:365-373.
5. KenKnight BH, Walker RG, Ideker RE. Marked reduction of ventricular defibrillation threshold by application of an auxiliary shock to a catheter electrode in the left posterior coronary vein of dogs. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2000;11:900-906.
6. Meisel E, Butter C, Philippon F, Higgins S, Strickberger SA, Smith J, Hahn S, Michel U, Schubert B, Pfeiffer D. Transvenous biventricular defibrillation. *Am J Cardiol*. 2000;86:K76-K85.
7. Roberts PR, Urban JF, Euler DE, Kallok MJ, Morgan JM. The middle cardiac vein--a novel pathway to reduce the defibrillation threshold. *J Interv Card Electrophysiol*. 1999;3:55-60.
8. Frazier DW, Wolf PD, Wharton JM, Tang ASL, Smith WM, Ideker RE. Stimulus-induced critical point: Mechanism for electrical initiation of reentry in normal canine myocardium. *J Clin Invest*. 1989;83:1039-1052.
9. Kwaku KF, Dillon SM. Shock-induced depolarization of refractory myocardium prevents wave-front propagation in defibrillation. *Circ Res*. 1996;79:957-973.

10. Lin SF, Roth BJ, Wikswo JP, Jr. Quatrefoil reentry in myocardium: an optical imaging study of the induction mechanism. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1999;10:574-586.
11. Efimov IR, Cheng Y, Van Wagoner DR, Mazgalev T, Tchou PJ. Virtual electrode-induced phase singularity: a basic mechanism of defibrillation failure. *Circ Res.* 1998;82:918-925.
12. Zhou X, Daubert JP, Wolf PD, Smith WM, Ideker RE. Epicardial mapping of ventricular defibrillation with monophasic and biphasic shocks in dogs. *Circ Res.* 1993;72:145-160.
13. Usui M, Callihan RL, Walker RG, Walcott GP, Rollins DL, Wolf PD, Smith WM, Ideker RE. Epicardial sock mapping following monophasic and biphasic shocks of equal voltage with an endocardial lead system. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1996;7:322-334.
14. Chen P-S, Wolf PD, Melnick SD, Danieleley ND, Smith WM, Ideker RE. Comparison of activation during ventricular fibrillation and following unsuccessful defibrillation shocks in open chest dogs. *Circ Res.* 1990;66:1544-1560.
15. Chattipakorn N, Fotuhi PC, Ideker RE. Prediction of defibrillation outcome by epicardial activation patterns following shocks near the defibrillation threshold. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:1014-1021.
16. Chattipakorn N, Rogers JM, Ideker RE. Influence of postshock epicardial activation patterns on initiation of ventricular fibrillation by upper limit of vulnerability shocks. *Circulation.* 2000;101:1329-1336.
17. Chattipakorn N, Fotuhi PC, Ideker RE. Pacing following shocks stronger than the defibrillation threshold: impact on defibrillation outcome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:1022-1028.
18. Chattipakorn N, KenKnight BH, Rogers JM, Walker RG, Walcott GP, Rollins DL, Smith WM, Ideker RE. Locally propagated activation immediately after internal defibrillation. *Circulation.* 1998;97:1401-1410.
19. Ideker RE, Chattipakorn N, Gray RA. Defibrillation Mechanisms: The Parable of the Blind Men and the Elephant? *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:1008-1013.
20. Chattipakorn N, Banville I, Gray RA, Ideker RE. Mechanism of ventricular defibrillation for near-defibrillation-threshold shocks: a whole heart optical mapping study in swine. *Circulation.* 2000;102:II-340.

21. Chattipakorn N, Banville I, Gray RA, Ideker RE. Regional myocardial response to defibrillation shocks is a key determinant for shock outcome: an optical mapping study in swine. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:131A.
22. Chattipakorn N, Banville I, Gray RA, Ideker RE. Mechanism of ventricular defibrillation for near-defibrillation threshold shocks: A whole-heart optical mapping study in swine. *Circulation*. 2001;104:1313-1319.
23. Chen P-S, Shibata N, Dixon EG, Wolf PD, Danieley ND, Sweeney MB, Smith WM, Ideker RE. Activation during ventricular defibrillation in open-chest dogs: Evidence of complete cessation and regeneration of ventricular fibrillation after unsuccessful shocks. *J Clin Invest*. 1986;77:810-823.
24. Ideker RE, Tang ASL, Frazier DW, Shibata N, Chen P-S, Wharton JM. Ventricular defibrillation: Basic concepts. In: El-Sherif N, Samet P, eds. *Cardiac Pacing and Electrophysiology*. Orlando: W. B. Saunders Co.; 1991:713-726.
25. Li Z-Y, maldonado C, Zee-Cheng C, Hiromasa S, Kupersmith J. Purkinje fibre-papillary muscle interaction in the genesis of triggered activity in a guinea pig model. *Cardiovasc Res*. 1992;26:543-548.
26. Li HG, Jones DL, Yee R, Klein GJ. Defibrillation shocks produce different effects on Purkinje fibers and ventricular muscle: implications for successful defibrillation, refrillation and postshock arrhythmia. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:607-614.
27. Antzelevitch C, Burashnikov A. Cardiac Arrhythmias: Reentry and Triggered Activity. In: Sperelakis N, Kurachi Y, Terzic A, Cohen MV, eds. *Heart Physiology and Pathophysiology*. Academic Press: 2001:1153-1179.
28. Waldo AL, Wit AL. Mechanisms of Cardiac Arrhythmias and Conduction Disturbances. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, eds. *Hurst's The Heart*. McGraw-Hill Company: 2001:751-796.
29. Volders PG, Vos MA, Szabo B, Sipido KR, Groot SHd, Gorgels AP, Wellens HJ, Lazzara R. Progress in the understanding of cardiac early afterdepolarizations and torsades de pointes: time to revise current concepts. *Cardiovasc Res*. 2000;46:376-392.
30. Kass RS, Tsien RW, Weingart R. Ionic Basis of Transient Inward Current Induced by Strophanthidin in Cardiac Purkinje Fibers. *J Physiol (Lond)*. 1978:209-226.

31. Belardinelli L, Isenberg G. Actions of adenosine and isoproterenol on isolated mammalian ventricular myocytes. *Circ Res.* 1983;53:287-297.
32. Lazzara R, Marchi S. Electrophysiological mechanisms for the generation of arrhythmias with adrenergic stimulation. In: Brachman J, Schomig A, eds. *Adrenergic System and Ventricular Arrhythmias in Myocardial Infarction*. Heidelberg: Springer Verlag; 1989:231.
33. Vos MA, Gorgels APM, Leunissen JDM, Wellens HJJ. Flunarizine allows differentiation between mechanisms of arrhythmias in the intact heart. *Circulation.* 1990;81:343-349.
34. Priori SG, Mantica M, Schwartz PJ. Delayed afterdepolarizations elicited in vivo by left stellate ganglion stimulation. *Circulation.* 1988;78:178-185.
35. Chattipakorn N, Banville I, Gray RA, Ideker RE. Mechanisms of VF reinitiation after failed defibrillation shocks: An optical mapping study in isolated swine hearts. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:135A.
36. Chattipakorn N, Fotuhi PC, Sreenan KM, White JB, Ideker RE. Pacing after shocks stronger than the upper limit of vulnerability: Impact on fibrillation induction. *Circulation.* 2000;101:1337-1343.
37. Jackman WM, Szabo B, Friday KJ, Margolis PD, Moulton K, Wang X, Patterson E, Lazzara R. Ventricular tachyarrhythmias related to early afterdepolarizations and triggered firing: Relationship to QT interval prolongation and potential therapeutic role for calcium channel blocking agents. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1990;1:170-195.
38. Sweeney RJ, Gill RM, Steinberg MI, Reid PR. Ventricular refractory period extension caused by defibrillation shocks. *Circulation.* 1990;82:965-972.
39. Dillon SM. Optical recordings in the rabbit heart show that defibrillation strength shocks prolong the duration of depolarization and the refractory period. *Circ Res.* 1991;69:842-856.
40. Chattipakorn N, Ideker RE. Delayed afterdepolarization inhibitor: A potential pharmacological intervention to improve defibrillation efficacy. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2003;14:72-75.
41. Vos MA, Gorgels AP, Drenth JP, Leunissen JD, Wellens HJ. Termination of ouabain-induced ventricular tachycardia by flunarizine in conscious dogs. *Eur J Pharmacol.* 1989;165:139-145.



The Role of Essential Oils in Treating Viral Conditions and Disease

Agenda

- ◆ Introduction
- ◆ History of Essential Oils
- ◆ Linking the biology: Humans to EO
- ◆ Plant metabolism
- ◆ Published medical studies
- ◆ Testimonials
- ◆ Conclusion

Introduction

*European health practitioners consider EO's
as effective as pharmaceutical drugs*

- ◆ No division between EO and medicine.
- ◆ European doctors consider EO integral to medicine.
- ◆ Over 150 hospitals in England use EO's.

History of Essential Oil

- ◆ Effectiveness: Results of 100 million years
- ◆ Evolution: Biochemical trial and error
- ◆ Beginning of life – 3 to 4 billion years ago
- ◆ Chemical tricks develop!
 - 500 million years ago: Needle trees
 - 100 million years ago: Green leafy plants
 - 125,000 years ago: Humans

Linking the Biology: Humans to Essential Oil

Our chemistry is the same as everything else natural

- ◆ Humans develop on a cellular level
- ◆ Chemical constituents of EO part of human make-up
- ◆ Influence human regulatory process

Plant Metabolism

- ◆ Primary (energy) and Secondary (survival)
- ◆ Plants stationary: need to communicate through air
- ◆ Changing molecular structure
- ◆ Plants not defenseless despite immobility
- ◆ Storage of EO's: Apple and Plum pits
- ◆ Medicines are derived from secondary

Published Medical Studies

- ◆ Department of Virology
Heidelberg, Germany
- ◆ Department of Microbiology
Cincinnati School of Medicine

Published Medical Studies

Antiherpetic virus activity of extracts from the medicinal plant *Geraniaceae* *stagnatulum* L., found in H-Balm oil.

Strkedjeva J, Ivancheva S

Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia.

The herpes virus inhibitory effect of extracts from the Bulgarian medicinal plant *Geraniaceae*, concentrated in H-Balm anti-viral oil, was investigated. *The extract...inhibited significantly the replication of herpes simplex virus type 1 and type 2* (EC₅₀ = 3.6-6.2 microg/ml) as shown by the reduction of virus induced cytopathogenic effect (CPE) and the protection of cells in MTT assay. In concentrations, at the levels in H-Balm, the preparation exhibited strong extracellular virus inactivating activity. In a preliminary experiment in albino guinea pigs the extract delayed development of herpetic vesicles following primary infection with HSV-1...

Published Medical Studies

Antiviral activity of Melaleuca Alternifolia essential oil (MAO) against herpes simplex virus in cell culture, found in H-Balm pure oil. April 2001.

Schulder P, Schon K, Reckling J.

Department of Virology, Hygiene Institute, University of Heidelberg, Germany.

The antiviral effect of Australian Melaleuca Alternifolia essential oil (MAO) against herpes simplex virus was examined. Antiviral activity of MAO, found in H-Balm anti-viral oil, against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and herpes simplex virus type 2 (HSV-2) was tested in vitro on RC-37 cells (Madin cells) using a plaque reduction assay. MAO oil in H-Balm exhibited high levels of virucidal activity against HSV-1 and HSV-2 in viral suspension tests. At nontoxic concentrations of MAO, plaque formation (indication of the virus reproducing within the cells) was reduced by 98.2% and 93.0% for HSV-1 and HSV-2, respectively. Virus titres were reduced significantly with MAO. In order to determine the mode of antiviral action of MAO in H-Balm essential oil, cells were pretreated before viral infection, or viruses were incubated with MAO before infection, during adsorption or after penetration into the host cells. Plaque formation was clearly reduced when herpes simplex virus was pretreated with these essential oils prior to adsorption. These results indicate that MAO in H-Balm anti-viral oil affect the virus before or during adsorption. Thus MAO in H-Balm anti-viral oil is capable to exert a substantial and direct antiviral effect on HSV.

Published Medical Studies

Antiviral properties of Isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex virus type 1, Antiviral Res 1999 Sep;43(2):79-92 (ISSN: 0166-3542)

Armata M; Papadimitrova E; Sirovopoulos A; Arsenakls M
Laboratory of General Microbiology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece.

Isoborneol, a monoterpene and a component of several plant essential oils (used in H-Balm oil), showed dual virucidal activity against herpes simplex virus 1 (HSV-1). First, (the components in H-Balm oil) inactivated HSV-1 by almost 4 log₁₀ values within 30 min of exposure, and second... at a concentration of 0.06% completely inhibited viral replication, without affecting viral adsorption. Isoborneol did not exhibit significant cytotoxicity at concentrations ranging between 0.016% and 0.03% when tested against human and monkey cell lines. Isoborneol specifically inhibited glycosylation of viral glycoproteins based on the following data: (1) the mature fully glycosylated forms of two viral glycoproteins gB and gD were not detected when the virus was replicated in the presence of isoborneol...

Published Medical Studies

First product in topical microbicide evaluation: assessment of in vitro and in vivo activity against herpes simplex virus type 2.

Bourne KZ, Bourne N, Reising SF, Stanberry LR

Children's Hospital Research Foundation, Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, OH 45229-3439, USA.

"There is considerable interest in developing topical microbicide products to be used intravaginally by women for protection against sexually transmitted diseases. Many compounds derived from plants have been shown to have antimicrobial properties. We examined 19 such compounds in vitro by plaque reduction assay to determine their activity against a common sexually transmitted pathogen, herpes simplex virus type 2. Compounds with an ED₅₀ < or = 7.8 µg/ml were tested for efficacy in vivo. Four compounds... (of essential oils found in H-Balm)... provided significant protection (P < 0.05) in a mouse model of intravaginal HSV-2 challenge."

The main constituents of H-Balm oil "further provided the greatest protection in mice and was also evaluated using the guinea pig model of genital HSV-2 infection where it demonstrated significant protection. Based on these results, several plant-derived compounds appear to warrant further evaluation as potential microbicides."

FORCES OF NATURE

The Power of Essential Oils

Specialized treatments for herpes, hemorrhoids, yeast, cellulitis, and skin ailments



- Medical and Clinical Studies for Herpes
- The Beauty of Living, Who We Are
- Testimonials
- Place an Order

OUR PRODUCTS

All products are 100% guaranteed. See bottom of page. To receive information on new products and special discounts [click here](#).

HERPES NO MORE

Testimonials

I recently received my order of H-Balm and I'm so excited. I've been getting outbreaks every month and nothing seems to help. I take Lysine, vit. C, E, and also multi. vit. These help some, but still my outbreaks have been horrendous! I've used H-Balm once already and the results were unbelievable. It worked so quickly, I was amazed. I'm so glad I found your web-site! I've been battling this for 9 years now and like I said nothing has helped me as much as H-Balm has. I've even tried anti-viral meds such as Zovirax and Famvir (which are so expensive). I can't thank you enough for coming up with such an awesome product. I've been so depressed over the frequency of outbreaks and finally I have hope! I'm more than happy to help you and others in any way I can because I know first hand how devastating this disease can be when it has control over you. Finally I'm in control!!!" May 2001 Judy tdkds@hotmail.com

Conclusion

- ♦ EO's are proven to inhibit viruses
- ♦ Improve immune parameters
- ♦ EO's counteract viruses gently and effectively by inhibiting viral reproduction

Contact Information

Peter Klapper

Forces of Nature

President and Founder

peter@fonoils.com

การแพทย์ทางเลือก (Alternative Medicine)

ผศ.ดร.นพ. ศุภนิมิต ทิมชุธะเหียร

ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การแพทย์ทางเลือก หมายถึงการรักษาโรคหรือความเจ็บป่วยด้วยวิธีการอื่นที่นอกเหนือไปจากวิธีการที่เป็นที่ยอมรับกันในวงวิทยาศาสตร์การแพทย์แผนปัจจุบัน

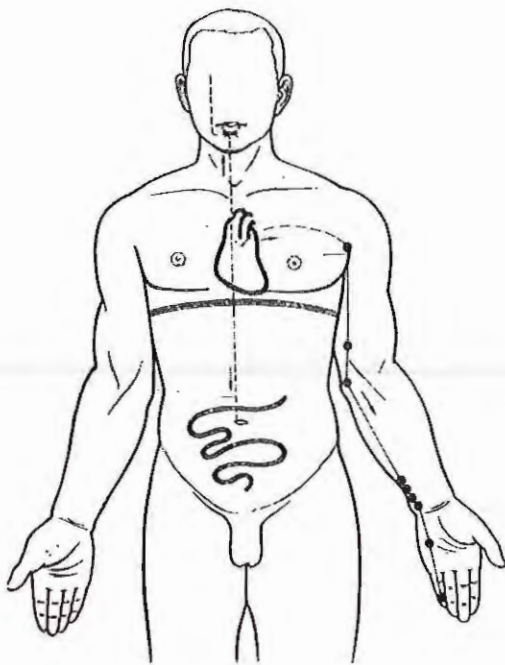
แม้ว่าการแพทย์แผนปัจจุบันและความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์จะประสบความสำเร็จในการแก้ไขอาการป่วยต่างๆ และได้รับการยอมรับอย่างมาก แต่การแพทย์แผนปัจจุบันก็ยังมีข้อเสียบางประการ ยกตัวอย่างเช่น ผลข้างเคียงและความทุกข์ทรมานของผู้ป่วยอันเกิดจากการรักษา ค่าใช้จ่ายในการรักษาที่นับวันจะทวีมูลค่ามากขึ้นเรื่อยๆ ตลอดจนมีโรคเรื้อรังบางโรค (เช่น ภูมิแพ้ กลุ่มอาการปวดเรื้อรัง ฯลฯ) ที่จำเป็นต้องได้รับการรักษาไปเรื่อยๆ ในขณะที่บางโรค (เช่น โรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันบกพร่อง) ก็อาจจะรักษาไม่ได้ผล ข้อเสียเหล่านี้ทำให้การแพทย์ทางเลือกมีแนวโน้มที่จะได้รับความนิยมมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้อาจจะใช้แทนหรือเสริมกับการแพทย์แผนปัจจุบัน (ในกรณีที่ใช้เสริม เรียกว่า complementary medicine)

ปัจจุบันมีวิธีการแพทย์ทางเลือกมากกว่า 100 ชนิด แต่ที่ได้รับความนิยมในประเทศไทย ได้แก่ การบำบัดด้วยอาหาร ไทเก็ก/ชี่กง โยคะ สมุนไพร ผังเข็ม พลังบำบัด การนวด อายุรเวท เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เนื่องจากภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีประสบการณ์ด้านการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคด้วยการฝังเข็มและสมุนไพร ในบทความนี้จึงขอเสนอข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการรักษา 2 วิธีนี้เท่านั้น

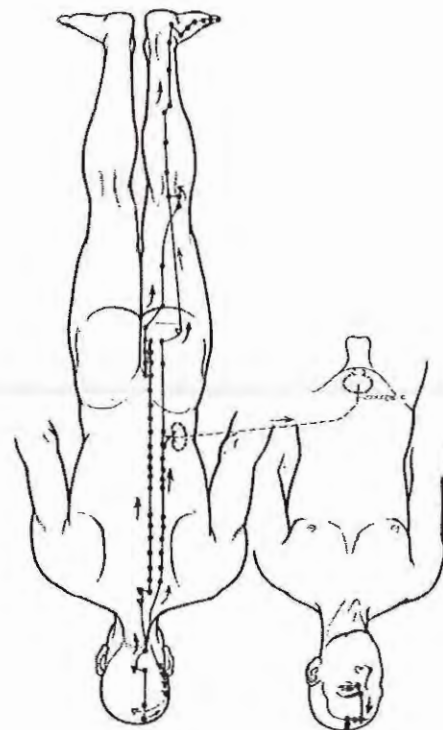
การฝังเข็ม: ความรู้พื้นฐานและประสบการณ์ด้านการวิจัย

ทฤษฎีแพทย์แผนจีนเชื่อว่าร่างกายมีพลังงานประเภทหนึ่งเรียกว่า "พลังปราณ" ซึ่งถือเป็นรากฐานที่สำคัญของชีวิต เพราะมีหน้าที่สำคัญต่อร่างกายหลายประการ เช่น เสริมสร้างการเจริญเติบโต ควบคุมอุณหภูมิ ต่อต้านปัจจัยอันตรายภายนอก ควบคุมการไหลเวียนของเลือดและของเหลว เป็นต้น⁽¹⁾ ดังนั้นหากร่างกายมีพลังปราณเพียงพอและไหลเวียนสะดวก ร่างกายก็จะสมบูรณ์แข็งแรง ในทางตรงกันข้าม หากร่างกายหรืออวัยวะใดมีพลังปราณขาดหายหรือโคจรติดขัด ก็จะส่งผลให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บได้ในที่สุด

การหมุนเวียนของลมปราณในร่างกายต้องอาศัยทางผ่านที่เรียกว่า "เส้น" ซึ่งมีอยู่ 12 เส้นหลัก เส้นเหล่านี้เป็นเส้นทางโคจรที่ไม่สามารถมองเห็นได้ แต่เชื่อว่าเส้นหลักทอดผ่านส่วนต่างๆของร่างกายโดยภายในติดต่อกับอวัยวะภายใน ส่วนภายนอกติดต่อกับลำตัว แขน ขา หรือใบหน้า แต่ละเส้นมีชื่อเรียกตามอวัยวะภายในที่เส้นนั้นๆต่อเชื่อมอยู่⁽¹⁻³⁾ เช่น เส้นหัวใจจะต่อเชื่อมหัวใจและผ่านออกมาที่แขน (รูปที่ 1) เส้นหัวใจนี้เป็นตัวอย่างที่อธิบายแนวคิดเกี่ยวกับความผิดปกติของเส้นที่เป็นผลสืบเนื่องมาจากความผิดปกติของอวัยวะภายใน (หัวใจ) ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากปัจจุบันได้มีการพิสูจน์แล้วว่าโรคหัวใจขาดเลือดที่มีอาการเจ็บอก (angina pectoris) จะแสดงอาการปวดร้าวผ่านสู่แนวเส้นดังกล่าวได้เช่นเดียวกับที่อธิบายไว้ในทฤษฎีจีนโบราณ อย่างไรก็ตาม อาการบางอย่างอาจเป็นความผิดปกติของเส้นโดยไม่เกี่ยวข้องกับอวัยวะภายในก็ได้ เช่น อาการปวดหลังร้าวลงขา (sciatica) ซึ่งเป็นอาการที่แพทย์จีนมักวินิจฉัยว่าเป็นอาการปวดตามทางผ่านของเส้นกระเพาะปัสสาวะที่ทอดจากหลังผ่านสู่ขาและน่อง (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 เส้นลมปราณที่เชื่อมต่อกับหัวใจ
เรียกว่า "เส้นหัวใจ" (ดัดแปลงจาก Cheng XN.⁽¹⁾)



รูปที่ 2 เส้นลมปราณที่เชื่อมต่อกับกระเพาะปัสสาวะ เรียกว่า "เส้นกระเพาะปัสสาวะ" (ดัดแปลงจาก Cheng XN.⁽¹⁾)

แนวคิดดังกล่าวนำไปสู่การค้นคว้าวิธีรักษาโรคแบบจีนโบราณและก่อกำเนิดเป็น "วิชาฝังเข็ม" ซึ่งเชื่อว่าการแทงเข็มเข้าสู่จุดตามแนวเส้นมีผลปรับสมดุลลมปราณ สมดุลเลือดและของเหลว สมดุลเยื่อ (หยิน) และร้อน (หยาง) นำไปสู่การปรับสมดุลของอวัยวะภายใน ตลอดจนแก้ไขความผิดปกติภายนอกที่เกิดกับเส้นนั้นๆ ได้ ดังนั้นในการแพทย์แผนจีน การฝังเข็มจึงสามารถนำมาใช้รักษาได้ทั้งโรคภายใน (เช่น หอบหืด ภูมิแพ้ ปวดศีรษะ ปวดประจำเดือน นอนไม่หลับ อาหารไม่ย่อย ท้องผูก ฯลฯ) และโรคภายนอก (เช่น ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ ฯลฯ)^(1,2)

กลไกการออกฤทธิ์ของการฝังเข็ม

กลไกการออกฤทธิ์ที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางได้แก่ กลไกการระงับปวดของการฝังเข็มไฟฟ้า ทั้งนี้ในอดีตเชื่อว่ากลไกการระงับปวดน่าจะอธิบายได้โดยทฤษฎี gate theory กล่าวคือการฝังเข็มทำให้มีการนำความรู้สึกผ่านเส้นใยประสาทชนิด A δ ซึ่งทำหน้าที่รับความรู้สึกสัมผัส โดยปกติเส้นใยนี้จะผ่านสู่ไขสันหลังและขึ้นสู่สมองโดยผ่าน dorsal column ของไขสันหลัง แต่เส้นใยที่อยู่ใน dorsal column นี้จะมีเส้นใยแขนง (collateral fibers) ที่ผ่านเข้าสู่ substantia gelatinosa ในไขสันหลัง เชื่อว่าสัญญาณจากเส้นใยแขนงนี้สามารถยับยั้งมิให้สัญญาณความรู้สึกปวดจากเส้นใยประสาทชนิด C หรือ A δ ผ่านเข้าสู่ substantia gelatinosa ได้ สัญญาณจากเส้นใยแขนงนี้อาจยับยั้งการนำความรู้สึกปวดได้ด้วยตัวของมันเอง หรืออาจทำงานผ่าน interneuron อีกทอดหนึ่งก็ได้⁽⁴⁾

แต่ปัจจุบันเชื่อว่า กลไกการระงับปวดจากการฝังเข็มเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของระดับสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง^(2,3,5-11) กล่าวคือ การแทงเข็มเข้าสู่จุดฝังเข็ม (ลึกถึงกล้ามเนื้อที่อยู่ใต้จุด) แล้วกระตุ้นด้วยไฟฟ้าที่มีความถี่ต่ำ (2-5 Hz) จะทำให้ปลายประสาทชนิด A δ ที่อยู่ในกล้ามเนื้อนั้นๆ ถูกกระตุ้น ส่งผลให้เกิดการยับยั้งความรู้สึกปวดที่จะผ่านขึ้นสู่สมองทาง lateral spinothalamic tract ซึ่งกลไกการยับยั้งดังกล่าวเกิดขึ้นได้ 3 ระดับ⁽²⁾ คือ

1. ระดับไขสันหลัง

เส้นใยประสาทชนิด A δ ทำหน้าที่นำสัญญาณที่เกิดจากการกระตุ้นไฟฟ้าผ่านเข้าไปเชื่อมต่อกับเซลล์ประสาทตัวที่สอง (second order neuron) ซึ่งจะส่งสัญญาณต่อไปกระตุ้น interneuron ในไขสันหลังให้หลั่งสารโอปิออยด์ (opioid) ชนิดเอนเคฟาลิน (enkephalin) ส่งผลให้เกิดการยับยั้งความรู้สึกปวดที่จะผ่านเข้าสู่ dorsal horn ของไขสันหลัง

2. ระดับก้านสมองส่วน mid brain

เส้นใยประสาทชนิด A δ ทำหน้าที่นำสัญญาณที่เกิดจากการกระตุ้นไฟฟ้าผ่านเข้าสู่ไขสันหลัง แล้วเชื่อมต่อกับเซลล์ประสาทตัวที่สอง (เช่นเดียวกับที่อธิบายไว้ในข้อ 1) ซึ่งเซลล์ดังกล่าวจะนำสัญญาณผ่าน contralateral anterior spinothalamic tract (บางตำราเรียก anteolateral tract) ขึ้นไปกระตุ้น periaqueductal gray ที่อยู่ใน mid brain ซึ่งเป็นบริเวณที่มีเส้นใยประสาทที่หลังเอนเคฟาลินเชื่อมไปสู่ raphe magnus nucleus (ที่อยู่บริเวณ lower pons และ upper medulla) จากนั้นจะมีเส้นใยประสาทชนิดที่หลังเซโรโทนิน (serotonin) เชื่อมจาก raphe magnus nucleus ลงสู่ dorsal horn ของไขสันหลัง เซโรโทนินที่หลังในระดับไขสันหลังนี้จะทำให้ interneuron ในไขสันหลังหลังเอนเคฟาลิน ซึ่งเอนเคฟาลินนี้จะทำหน้าที่ยับยั้งความรู้สึกปวดที่ผ่านเข้าสู่ไขสันหลังอีกทอดหนึ่ง

3. ระดับสมองส่วนฮัยโปธาลามัส (hypothalamus) และต่อมใต้สมอง

สัญญาณที่เกิดจากการกระตุ้นไฟฟ้าซึ่งผ่านทาง anterior spinothalamic tract ยังสามารถขึ้นสู่ arcuate nucleus ของฮัยโปธาลามัส และทำให้เกิดการหลั่งเบตา-เอนโดर्फิน (beta-endorphin) มายัง periaqueductal gray ทำให้กลไกการระงับปวดที่ผ่านทาง "periaqueductal gray-raphe magnus nucleus-dorsal horns of the spinal cord" (ดังได้อธิบายไว้ในข้อ 2) มีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าสัญญาณไฟฟ้ายังสามารถทำให้ฮัยโปธาลามัสสั่งการให้มีการหลั่งเบตา-เอนโดर्फินจากต่อมใต้สมองเข้าสู่กระแสเลือด อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเบตา-เอนโดर्फินที่อยู่ในกระแสเลือดจะไม่สามารถผ่าน blood-brain barrier เข้าไปสู่สมองได้ แต่เชื่อน่าจะมีระบบไหลเวียนเลือดที่เรียกว่า "pituitary-portal venous system" ซึ่งนำเบตา-เอนโดर्फินไหลในทิศทางย้อนกลับ (retrograde direction) เข้าไปยังสมองได้โดยไม่ต้องผ่าน blood-brain barrier

ในขณะที่มีการหลั่งเบตา-เอนโดर्फินจากต่อมใต้สมองเข้าสู่กระแสเลือดนั้น พบว่าต่อมใต้สมองจะหลั่ง adrenocorticotrophic hormone (ACTH) ร่วมออกมาด้วยเสมอ ทั้งนี้เนื่องจากสารทั้งสองชนิดมาจากสารตั้งต้น (precursor) ชนิดเดียวกัน ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่า ACTH สามารถกระตุ้นต่อมหมวกไตส่วนคอร์เทกซ์ให้หลั่งสเตียรอยด์ฮอร์โมนชนิดคอร์ติซอล (cortisol) เข้าสู่กระแสเลือดได้ ดังนั้นจึงทำให้การฝังเข็มมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและสามารถนำไปใช้รักษากลุ่มอาการที่มีการอักเสบ เช่น ข้ออักเสบ หอบหืด ฯลฯ

จากการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการฝังเข็มไฟฟ้าจะมีอัตราหายปวดสูงถึง 50-80%^(2,3,8) อาการเจ็บปวดที่ตอบสนองต่อการฝังเข็มได้ดี คือ อาการปวดหลัง ปวดกล้ามเนื้อ ปวดศีรษะ ปวดข้อ ปวดประจำเดือน ปวดเส้นประสาทใบหน้า เป็นต้น⁽³⁾

โรคหรือกลุ่มอาการที่รักษาหรือบรรเทาได้ด้วยการฝังเข็ม

แม้ว่าบทพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับกลไกการจับปวดและลดการอักเสบ แต่ข้อบ่งชี้ของการฝังเข็มมีได้จำกัดอยู่เฉพาะแ่งมุมนี้เท่านั้น ดังจะเห็นได้จากการที่องค์การอาหารและยา (FDA) ของสหรัฐอเมริกาได้ประกาศยอมรับให้การฝังเข็มเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการรักษาอาการปวด และโรคหอบหืด ตลอดจนโรคอัมพฤกษ์/อัมพาต อาการคลื่นไส้อาเจียน การติดยาเสพติด เป็นต้น⁽²⁾ นอกจากนี้ องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ประกาศว่ามีโรคหรืออาการ 54 ชนิดที่รักษาหรือบรรเทาได้ด้วยการฝังเข็ม อย่างไรก็ตาม ก่อนรักษาโรคด้วยวิธีฝังเข็ม ผู้ป่วยควรได้รับการตรวจด้วยวิธีการทางแพทย์แผนปัจจุบันเพื่อวินิจฉัยแยกโรคว่าผู้ป่วยมิได้เป็นโรคที่ร้ายแรงหรือเป็นโรคที่อาจเป็นอันตรายถึงชีวิต นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับวิจรรย์ญาณของแพทย์ฝังเข็มด้วยว่าโรคดังกล่าวเหมาะสมหรือมีโอกาสดตอบสนองต่อการฝังเข็มได้มากน้อยเพียงใด โดยสรุป วิธีฝังเข็มน่าจะเป็นวิธีทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับโรคเรื้อรังบางชนิดที่ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาแผนปัจจุบัน หรือตอบสนองได้ไม่ดีเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่แพ้ยา หรือไม่สามารถทนต่อผลข้างเคียงจากยาได้

ขั้นตอนและจำนวนครั้งของการฝังเข็ม^(1,2)

การฝังเข็มเริ่มจากการใช้แอลกอฮอล์ทำความสะอาดผิวหนังบริเวณที่ต้องการ หลังจากนั้นใช้เข็มสเตนเลสขนาดเล็กแทงเข้าสู่จุด เข็มที่ใช้อาจยาวตั้งแต่ครึ่งนิ้ว ถึง 3 นิ้วแล้วแต่ตำแหน่งและความเหมาะสม หลังจากนั้นกระตุ้นเข็มโดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ผลิตจากเครื่องมือที่ใช้ถ่านไฟฉาย ขณะที่ถูกกระตุ้น ผู้ป่วยจะรู้สึกเหมือนมีไฟฟ้าผ่านจุดทำให้รอบจุดกระตุ้นเกิดเป็นจังหวะหรือชาวิธีนี้เรียกว่า "การฝังเข็มไฟฟ้า" (ในสมัยโบราณ การกระตุ้นเข็มใช้การบีบ หมุน ดึง เข็มขึ้นลง หรือใช้สมุนไพรติดด้ามเข็มแล้วใช้ไฟเผา ฯลฯ) โดยทั่วไปการรักษาครั้งหนึ่งๆจะใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที หลังสิ้นสุดการรักษาในแต่ละครั้งจะต้องถอนเข็มออก ปัจจุบันสถานพยาบาลที่ได้มาตรฐานนิยมใช้เข็มแบบครั้งเดียวทิ้ง แต่บางแห่งอาจแนะนำให้ผู้ป่วยใช้เข็มส่วนตัวซึ่งสามารถนำกลับการใช้ได้อีกหลังผ่านกรรมวิธีทำให้ปราศจากเชื้อ โดยส่วนตัว ผู้เขียนแนะนำให้ผู้ป่วยรับการรักษาในเบื้องต้นสัปดาห์ละ 3 ครั้ง (วันเว้นวัน) ต่อเนื่องกัน 2 สัปดาห์ หากอาการไม่ดีขึ้นแนะนำให้หยุดการรักษา แต่ถ้าอาการดีขึ้นแนะนำให้รับการรักษาต่อ โดยอาจลดจำนวนครั้งในการรักษาเหลือสัปดาห์ละ 1-2 ครั้งตามความเหมาะสม และผู้ป่วยควรได้รับการรักษาต่อเนื่องกันจนกว่าอาการจะดีขึ้นมากหรือหายสนิท

ผลข้างเคียงจากการฝังเข็ม^(1,3)

การฝังเข็มอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงหรืออาการไม่พึงประสงค์ เช่น อาการฟกช้ำบริเวณที่ได้รับการฝังเข็ม อาการเมาเข็มหรือเป็นลมจากความตื่นเต้นหรือหวาดกลัว การติดเชื้อเฉพาะที่ (แผล ฝี หนอง) การแทงถูกอวัยวะภายใน อย่างไรก็ตาม ผลข้างเคียงส่วนใหญ่สามารถป้องกันและหลีกเลี่ยงได้หากผู้ป่วยได้รับการรักษาจากแพทย์ที่มีความรู้ความชำนาญ และมีการใช้เทคนิคปราศจากเชื้อที่ดีพอ

ประสบการณ์ด้านงานวิจัย: การฝังเข็มรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม

คณะวิจัยของภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการฝังเข็มไฟฟ้ากับยา NSAIDs ชนิดไดโคลฟีแนค (diclofenac) ในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงการเสริมฤทธิ์ระหว่างวิธีการทั้งสองด้วย⁽¹²⁾ โดยทำการศึกษาแบบ randomized, double-blind, placebo controlled study ในผู้ป่วยที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ The American College of Rheumatology⁽¹³⁾ จำนวน 196 ราย และแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 4 กลุ่มโดยการสุ่มตัวอย่าง แต่ละกลุ่มจะได้รับการรักษา (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1) นาน 4 สัปดาห์

ตารางที่ 1 วิธีการรักษาในผู้ป่วยทั้ง 4 กลุ่ม

การรักษา	กลุ่ม การรักษาหลอก	กลุ่ม ไดโคลฟีแนค	กลุ่ม ฝังเข็มไฟฟ้า	กลุ่ม การรักษาร่วม
ยาชนิดรับประทาน	ยาหลอก	ไดโคลฟีแนค ¹	ยาหลอก	ไดโคลฟีแนค ¹
การฝังเข็ม ²	ฝังเข็มหลอก ³	ฝังเข็มหลอก ³	ฝังเข็มไฟฟ้า ⁴	ฝังเข็มไฟฟ้า ⁴

¹รับประทานครั้งละ 25 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง

² จูตรอบเข่า (Dubi, medial Xiyan, Trigger point, Ququan) 20 นาที/ครั้ง 3 ครั้ง/สัปดาห์ (วันเว้นวัน)

³ ใช้แผ่นอิเล็กโทรด (patch electrodes) ติดบริเวณจุดฝังเข็ม แล้วต่อเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้าหลอก

⁴ ใช้กระแสไฟฟ้า biphasic pulses ความถี่ต่ำ (2 เฮิรตซ์) และความแรงสูงสุดที่ผู้ป่วยสามารถทนได้โดยไม่รู้สึกเจ็บ (ขนาดโวลต์ต่ำหรือมิลลิแอมแปร์)

ทั้งนี้ในช่วงหนึ่งสัปดาห์ก่อนการศึกษา (สัปดาห์ 0) ผู้ป่วยจะต้องหยุดการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมด้วยวิธีการต่างๆ แต่จะอนุญาตให้ใช้ได้เฉพาะยาพาราเซตามอลตามความจำเป็น (rescue analgesics) ข้อมูลที่ประเมินเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ 0 ถือเป็นข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยแต่ละราย ซึ่งจะถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลการประเมินหลังสิ้นสุดการรักษา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ 4) อย่างไรก็ตาม ระหว่างการศึกษายังอนุญาตให้ผู้ป่วยใช้ยาพาราเซตามอล (500 มิลลิกรัม) เป็นยาบรรเทาปวดได้

ตัวชี้วัดในการศึกษานี้ได้แก่ คะแนนความเจ็บปวด visual analog scale (VAS), Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) OA Index, Lequesne's functional index, เวลาที่ใช้เดิน ระยะทาง 50 ฟุต, ปริมาณยาพาราเซตามอลที่ใช้ต่อสัปดาห์, ความคิดเห็นของแพทย์ต่อการรักษา, ความคิดเห็นของผู้ป่วยต่อการรักษา และร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา (responders)

ผู้ป่วยทั้ง 4 กลุ่มมีข้อมูลพื้นฐาน (base-line characteristics) ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีผู้ป่วยจำนวน 186 ราย ที่ได้รับการรักษาจนครบตามแผนการรักษา โดยผู้ป่วยกลุ่มฝังเข็มไฟฟ้ามีการตอบสนองต่อการรักษาสูงสุดในเกือบทุกตัวชี้วัด (พิจารณาจากค่าเฉลี่ยของคะแนนที่ลดลง) ทั้งนี้พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยที่แพทย์ลงความเห็นว่าเป็น "อาการดีขึ้นมาก" (21 ใน 46 ราย) และผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา (27 ใน 46 ราย) มีจำนวนสูงสุดในกลุ่มฝังเข็มไฟฟ้า และแตกต่างจากกลุ่มที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สำหรับตัวชี้วัดอื่นนอกเหนือจากที่ได้อธิบายไว้เป็นตัวชี้วัดที่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทั้งสี่) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาในแง่ของอาการข้างเคียงพบว่า ทั้งสี่กลุ่มมีการเกิดอาการข้างเคียง (เช่น ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ผื่น บวม ความดันเลือดสูง) ไม่แตกต่างกัน แต่กลุ่มฝังเข็มและกลุ่มรักษาร่วมมีโอกาสเกิดการฟกช้ำบริเวณจุดฝังเข็มมากกว่ากลุ่มที่เหลือ แต่อาการฟกช้ำสามารถหายได้เองภายใน 5-7 วัน

จากการศึกษานี้ ผู้วิจัยสรุปว่าการฝังเข็มไฟฟ้ามีประสิทธิภาพเหนือกว่าการรักษาหลอกและยาไดโคลฟีแนคในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม (เมื่อพิจารณาจากบางตัวชี้วัด) อย่างไรก็ตาม การฝังเข็มไฟฟ้าร่วมกับการรับประทานยาไดโคลฟีแนคไม่ได้ให้ผลเหนือกว่าการฝังเข็มไฟฟ้าหรือการรับประทานยาไดโคลฟีแนคอย่างใดอย่างหนึ่ง

จากกลไกการออกฤทธิ์และการศึกษาทางคลินิกที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า การฝังเข็มน่าจะเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ค่อนข้างปลอดภัยและมีผลข้างเคียงน้อย จึงน่าจะสามารถนำมาใช้เป็นการรักษาทางเลือกในโรคนี้ได้ โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ไม่สามารถทนต่อผลข้างเคียงหรือมีข้อห้ามในการใช้ยาแผนปัจจุบัน เช่น ยาในกลุ่ม NSAIDs เป็นต้น

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลง (mean change) ตัวชี้วัดต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 4 (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 16)

ตัวชี้วัด	กลุ่มการรักษาหลอก (n=45)	กลุ่มไดโคลฟีแนค (n=49)	กลุ่มฝังเข็มไฟฟ้า (n=46)	กลุ่มการรักษา (n=46)	p-value ^a
VAS	-22.86 (4.02)	-32.99 (3.94)	-48.24 (3.59)	-35.59 (2.74)	<0.05 ^{1,2}
Lequesne's functional index	-3.82 (0.51)	-4.80 (0.61)	-6.44 (0.59)	-5.39 (0.52)	<0.05 ¹
WOMAC					
Pain index	-3.31 (0.68)	-4.90 (0.53)	-5.65 (0.59)	-6.28 (0.77)	<0.05 ³

¹ กลุ่มฝังเข็มแตกต่างจากกลุ่มการรักษาหลอก

² กลุ่มฝังเข็มแตกต่างจากกลุ่มไดโคลฟีแนค

³ กลุ่มการรักษาทั้งหมดแตกต่างจากกลุ่มการรักษาหลอก

สมุนไพร: ประสิทธิภาพด้านการวิจัยในมนุษย์

การใช้สมุนไพรรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม: รายงานเบื้องต้น

คณะวิจัย ของภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ทำการศึกษาแบบ randomized, double-blind, active controlled study เพื่อประเมินประสิทธิผลของตำรับยาสมุนไพรรหัส "SMT-051" (ซึ่งเป็นตำรับที่ประกอบไปด้วยสมุนไพร 15 ชนิด ตามที่ได้บันทึกไว้ในคัมภีร์ Bei Ji Qian Jing Yao Fang ตั้งแต่สมัยราชวงศ์ถังของจีน⁽¹⁴⁾) เปรียบเทียบกับยาไดโคลฟีแนคในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม ในผู้ป่วย 46 รายที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ The American College of Rheumatology⁽¹³⁾ ผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเลือกจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มโดยการสุ่มตัวอย่าง แต่ละกลุ่มจะได้รับการรักษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 3 การรักษาในกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม (กลุ่มสมุนไพร และกลุ่มไดโคลฟีแนค)

การรักษา	กลุ่มที่ 1 (กลุ่มสมุนไพร)	กลุ่มที่ 2 (กลุ่มไดโคลฟีแนค)
ยาแผนปัจจุบัน ¹	ยาหลอก	ไดโคลฟีแนค (ไวทาเรน®)
ยาสมุนไพร ²	สมุนไพร SMT051	สมุนไพรหลอก

¹ ไดโคลฟีแนค (25 มก.) หรือยาหลอก รับประทานครั้งละ 1 แคปซูล วันละ 3 เวลา หลังอาหารทันที

² สมุนไพร (500 มก.) หรือยาหลอก รับประทานครั้งละ 6 แคปซูล วันละ 3 เวลา หลังอาหารทันที

ในช่วงสัปดาห์เริ่มต้น (สัปดาห์ 0) และระหว่างการการศึกษา (สัปดาห์ 1-4) ผู้ป่วยทุกรายต้องหยุดใช้ยาแก้ปวด ยารักษาโรคข้อ และการรักษาโรคข้อด้วยวิธีการอื่นทุกชนิด ข้อมูลที่ประเมินเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ 0 ถือเป็นข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยแต่ละราย หลังจากนั้นผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มจะได้รับการรักษาดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 3 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีการประเมินผลการรักษาและผลข้างเคียงทุกสัปดาห์

พบว่า ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีความคล้ายคลึงกัน กล่าวคืออายุประมาณ 60 ปี เพศหญิงมากกว่าชาย น้ำหนักประมาณ 60 กิโลกรัม ส่วนสูงประมาณ 1.5 เมตร มีอาการปวดเข่ามาประมาณ 6 ปี ผลการเอกซเรย์ข้อเข่าพบว่าส่วนใหญ่มี Kellgren-Lawrence grade III-IV และมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดที่ medial tibiofemoral compartment

*

ชกตัวอย่างเช่น Radix Angelicae Pubescentis, Cortex Eucommiae, Radix Angelicae Sinensis เป็นต้น

การศึกษาครั้งนี้มีผู้ถอนตัวทั้งสิ้น 4 รายเนื่องจากอาการไม่ดีขึ้น (กลุ่มสมุนไพร 3 ราย และกลุ่มไดโคลฟีแนค 1 ราย) ทุกรายถอนตัวในช่วงสัปดาห์ที่ 1-2 หลังได้รับการรักษา เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ผู้ป่วยทุกรายในแต่ละกลุ่มเป็นฐาน (intention-to-treat) และอนุมานว่าผู้ป่วยที่ถอนตัวจากการรักษามีคะแนนไม่แตกต่างจากคะแนนที่ประเมินได้ครั้งสุดท้าย (last score carried forward technique) จะได้ผลการศึกษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสมุนไพร SMT-051 มีประสิทธิผลในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมที่คล้ายคลึงกับยาไดโคลฟีแนค (เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้น และขนาดของกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างเล็ก จึงยังไม่มี การเปรียบเทียบโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ)

จากการประเมินเกี่ยวกับผลข้างเคียงโดยการสัมภาษณ์ผู้ป่วยพบว่า ผู้ป่วยในกลุ่มสมุนไพร 13 ราย และกลุ่มไดโคลฟีแนค 9 ราย มีอาการข้างเคียงจากการรักษา ซึ่งส่วนใหญ่เป็นอาการที่ไม่รุนแรง โดยกลุ่มสมุนไพรมีแนวโน้มของการเกิดอาการง่วงนอนและผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารมากกว่ากลุ่มไดโคลฟีแนค ในขณะที่กลุ่มไดโคลฟีแนคมีแนวโน้มเกิดความดันเลือดสูงได้มากกว่า อนึ่ง จะเห็นได้ว่าการศึกษานี้มีอุบัติการณ์การเกิดผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารจากไดโคลฟีแนคค่อนข้างน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการคัดเลือกผู้ป่วยที่มีประวัติของโรคแผลกระเพาะอาหารออกออกตั้งแต่ขั้นตอนการคัดเลือก อย่างไรก็ตาม การสรุปว่าทั้งสองกลุ่มมีอุบัติการณ์การเกิดอาการข้างเคียงต่างๆ นาน้อยต่างกันหรือไม่นั้น จำเป็นต้องอาศัยขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น และอาจจำเป็นต้องทำการศึกษาทางด้านพิษวิทยาในสัตว์ทดลองทั้งในรูปแบบเฉียบพลัน กึ่งเฉียบพลัน และเรื้อรังร่วมด้วย

สำหรับการประเมินความปลอดภัยของการรักษาโดยนำผลการตรวจ complete blood count, serum creatinine และ liver function test เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 มาเปรียบเทียบกับช่วงก่อนการรักษา (ช่วงคัดเลือก) พบว่าทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยในช่วงก่อนและหลังการรักษาไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การประเมินในแง่นี้ก็จำเป็นต้องอาศัยขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่มากกว่านี้เช่นกัน

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายาสมุนไพร SMT-051 น่าจะมีแนวโน้มที่สามารถนำมาใช้รักษาโรคข้อเข่าเสื่อมได้ เนื่องจากน่าจะมีประสิทธิผลในการรักษา (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับ การรับประทานยาไดโคลฟีแนค) และไม่มีผลข้างเคียงที่รุนแรงใดๆ อย่างไรก็ตาม จากการคำนวณทางสถิติเพื่อหาขนาดของกลุ่มตัวอย่างพบว่า การพิสูจน์ว่ายาสมุนไพร SMT-051 มีประสิทธิผลเทียบเท่ากับยาไดโคลฟีแนคนั้น จำเป็นต้องอาศัยผู้ป่วยอย่างน้อย 200 ราย (100 ราย/กลุ่ม) ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าจะทำการศึกษาครบทั้ง 200 ราย และรายงานผลอย่างเป็นทางการได้ราวกลางปี พ.ศ. 2547

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของตัวชี้วัดต่างๆ เมื่อประเมิน ณ สัปดาห์ 0 เปรียบเทียบกับสัปดาห์ 4

ตัวชี้วัด	กลุ่มสมุนไพร (n=26)		กลุ่มไดโคโลฟีแนค (n=20)	
	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 4
1. VAS* ของความปวด ^{1,2}				
ก. ขณะเดินบนพื้นราบ	65.9 (18.1)	19.4 (23.7)	65.1 (19.8)	20.8 (20.2)
ข. ขณะยืนเฉยๆ	56.5 (20.2)	20.5 (25.7)	59.1 (20.1)	18.6 (17.5)
ค. ขณะขึ้น-ลงบันได	64.6 (15.6)	21.5 (27.2)	62.1 (17.6)	20.6 (19.0)
ง. ขณะนอนหลับในช่วงกลางคืน	47.7 (27.1)	13.9 (19.0)	51.5 (27.0)	10.8 (14.4)
จ. ขณะนั่งพัก	41.2 (18.3)	11.3 (16.4)	46.3 (23.1)	11.9 (14.4)
ฉ. ขณะเคลื่อนไหวในท่าที่ปวด เขามากที่สุด	80.6 (18.6)	36.2 (33.8)	77.6 (18.0)	38.8 (32.4)
2. VAS* ของการตอบสนองต่อการรักษา ^{1,3}				
ก. ประเมินโดยผู้ป่วย	-	73.0 (27.0)	-	75.0 (22.0)
ข. ประเมินโดยแพทย์	-	66.8 (17.3)	-	66.4 (10.8)
3. Lequesne's functional index ¹	14.5 (3.3)	9.6 (5.1)	13.9 (3.3)	9.1 (4.3)
4. ระยะเวลาที่ใช้เดินขึ้นบันได (วินาที) ¹	13.2 (5.1)	10.8 (5.6)	12.0 (3.7)	9.8 (4.7)
5. จำนวนของผู้ที่ตอบสนองต่อการรักษา				
ก. ประเมินโดยผู้ป่วย ⁴	-	16 (61.5%)	-	12 (60.0%)
ข. ประเมินโดยแพทย์ ⁴	-	13 (50.0%)	-	7 (35.0 %)
ค. ประเมินจากอาการปวดขณะเคลื่อนไหว ในท่าที่ปวดเขามากที่สุด ⁵	-	15 (57.7%)	-	10 (50%)

*VAS หมายถึง visual analogue score

¹ แสดงเป็น mean (SD) ²(0=ไม่ปวด, 100=ปวดมากที่สุด) ³(0=ไม่เปลี่ยนแปลง, 100=ดีขึ้นมากที่สุด)⁴ผู้ป่วยที่มี VAS ของการตอบสนองภายหลังการรักษามากกว่าหรือเท่ากับ 70 คะแนน⁵ผู้ป่วยที่มี VAS ของความปวดต่ำกว่าหรือเท่ากับ 30 คะแนน

เอกสารอ้างอิง

1. Cheng XN. Chinese Acupuncture and Moxibustion. 1st ed. Beijing: Foreign Languages Press; 1987.
2. Stux G, Pomeranz B. Basics of Acupuncture. 4th ed. Berlin: Springer-Verlag; 1998.
3. Hsu DT. Acupuncture: a review. *Reg Anesth* 1996; 21(4): 361-70.
4. Ganong WF. Cutaneous, deep, & visceral sensation. In: Ganong WF, editor. *Review of Medical Physiology*. 17th ed., London : Prentice-Hall International Inc; 1995. p130.
5. He LF. Involvement of endogenous opioid peptides in acupuncture analgesia. *Pain* 1987; 31(1): 99-121.
6. Senior K. Acupuncture: can it take the pain away? *Mol Med Today* 1996; 2(4): 150-3.
7. Han JS, Terenius L. Neurochemical basis of acupuncture analgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982; 22: 193-220.
8. Richardson PH, Vincent CA. Acupuncture for the treatment of pain: a review of evaluative research. *Pain* 1986; 24(1): 15-40.
9. Clement JV, McLoughlin L, Tomlin S, Besser GM, Rees LH, Wen HL. Increased beta-endorphin but not met-enkephalin levels in human cerebrospinal fluid after acupuncture for recurrent pain. *Lancet* 1980; 2(8201): 946-9.
10. Malizia E, Andreucci G, Paolucci D, Crescenzi F, Fabbri A, Fraioli F. Electroacupuncture and peripheral beta-endorphin and ACTH levels. *Lancet* 1979; 2(8141): 535-6.
11. Cheng RS, Pomeranz B. A combined treatment with D-amino acids and electroacupuncture produces a greater analgesia than either treatment alone; naloxone reverses these effects. *Pain* 1980; 8(2): 231-6.
12. Sangdee C, Teekachunhatean S, Sananpanich K, Sugandhavesa N, Chiewchantanakit S, Pojchamarwiputh S, et al. Electroacupuncture versus diclofenac in symptomatic treatment of osteoarthritis of knee: a randomized controlled trial. *BMC Complement Alternat Med* 2002; 2: 3. (available: <http://www.biomedcentral.com/1472-6885/2/3>)
13. Hochberg MC, Altman RD, Brandt KD, Clark BM, Dieppe PA, Griffin MR, Moskowitz RW, Schnitzer TJ. Guidelines for the medical management of osteoarthritis. Part II. Osteoarthritis of the knee. *American College of Rheumatology. Arthritis Rheum* 1995; 38(11): 1541-6.
14. Xu XC, Yuan JR, Tian JZ, Chen SM. Commonly used Chinese patent medicines. 1st ed., Beijing: Higher Education Press; 1994.

O1: FREQUENT CO-OCCURRENCE OF POLYMORPHISMS IN UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE 1A1 AND 1A6 IN THAI β -THALASSEMIA/HbE AND AFRICAN AMERICAN SICKLE CELL ANEMIA PATIENTS

Jeeranut Tankanilt^a, Thad Harward^b, Pranee Fucharoen^c, Suthat Fucharoen^c,
Udom Chantharuksri^a, Russell E Ware^b

^aDepartment of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Thailand, ^bDepartment of Pediatrics /Hematology/ Oncology, Duke University, USA, ^cThalassemia Research Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University, Thailand

ABSTRACT

UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) are important Phase II metabolizing enzymes. This enzymes can conjugate with a wide variety of endogenous and exogenous compounds. The UGT 1A family contains many isoforms. The polymorphism or variant of different isoforms may involve with many diseases and abnormal drug metabolism. Polymorphism of UGT1A1 (UGT1A1*28) is associated with Gilbert's syndrome, a deficiency in glucuronidation of bilirubin leading to mild hyperbilirubinemia. While two missense mutations on one allele of UGT1A6 (UGT1A6*2) results in the lower glucuronidation rates of several drugs. Previous studies revealed that there is strong association of hyperbilirubinemia and gallstone formation in β -thalassemia/Hb E and sickle cell anemia patients with the number TA repeats in the promoter of the UGT 1A1 gene. This communication is a report of our preliminary data of genetic polymorphism of UGT 1A in 260 Thai β -thalassemia/Hb E and 163 African American sickle cell anemia patients. Genomic DNA was obtained by standard methods from peripheral blood leucocytes. The promoter region of UGT 1A1 and coding region of UGT 1A6 were sequenced by automated sequencing. The frequencies of the TA repeats 6/6, 6/7 and 7/7 at the promoter of UGT1A1 gene in β -thalassemia/Hb E and sickle cell anemia patients were 0.711, 0.277, 0.011 and 0.251, 0.313, 0.135, respectively. However none of the β -thalassemia/Hb E cases have the following genotypes; 5/6, 5/7, 5/8, 6/8 and 7/8, while it was found in 28.8% of sickle cell anemia cases. Co-occurrence of UGT1A1*28 and UGT1A6*2 was found in both groups. Sixteen haplotypes were revealed including a haplotype consisting of allelic variants of all two isoforms.

This preliminary data suggest that the polymorphism of drug metabolism enzyme gene may involve in the drug use, individualized medicine in Thai patients.

Key words: UDP-glucuronosyltransferases (UGTs), β -thalassemia/Hb E, sickle cell anemia

O2: THE MOLECULAR MECHANISM OF HEMIN

INDUCE PLATELET AGGREGATION AND SECRETION

Jaroen Sarasumcuin, Noppawan Phumala Morales, Udom Chantharaksri, Nuttawut Sibmoo and Supeenun Unchern

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT

It was previously demonstrated that the response of platelets in splenectomized- β -Thalassemia/Hemoglobin E (Sp- β -thal/ Hb E) patients were increased both to mechanical and chemical stimulation. However, the precise cause of platelet hyperactivity in these patients has not been elucidated. Recently, our group demonstrated the presence of high concentration of hemin (a degradative product of hemoglobin) in serum of β -thal/Hb E patients and found that hemin readily catalyzed free radical reaction. Hemin, however, has not been detected in the serum of non-thalassemia subjects. It was previously demonstrated that hemoglobin released from RBCs modulated platelet functions through the free radical reaction; therefore, we performed the study to evaluate whether hemin (iron (III) protoporphyrin IX), was responsible for platelet hyperfunction in the splenectomized β -thal/Hb E patients. The effects of hemin on platelet aggregation of normal volunteer's blood were performed using both whole blood (impedance aggregation) and platelet rich plasma (optical aggregation). Platelet ATP release was also monitored. The results showed that hemin was dose dependent induced platelet aggregation and secretion. The platelet aggregation and secretion induced by hemin was shown to be inhibited by COX-inhibitor (indomethacin), and an adenosine-uptake inhibitor (dipyridamole). However, mannitol (an OH^\bullet radical scavenger) did not inhibit hemin's effects. In addition, deferoxamine (an iron chelator) partially inhibit hemin-induced platelet aggregation and secretion. It is likely that cyclooxygenase pathway and / or increase the production of cyclic nucleotides are involved in hemin-induced platelet aggregation and secretion.

Keywords: hemin, platelet aggregation, platelet secretion, indomethacin, and dipyridamole

O3: EXTRACT FROM *BARRINGTONIA ACUTANGULAR* REDUCES OXIDATIVE STRESS DURING EXPERIMENTAL ANEMIA IN RATS

Saowanee Luangaram¹, Upa Kukongviriyapan¹, Veerapol Kukongviriyapan², Poungrat Pakdeeche¹.

¹Department of Physiology and ²Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Thailand.

ABSTRACT

Fruits and vegetables protect against many diseases by so far not well characterized mechanisms. One likely explanation for this effect is that dietary plants contain the antioxidants that are able to control basic cellular processes and defense against oxidative stress. Oxidative stress is pivotal in many pathological processes including hemolytic condition and reduced oxidative stress is implicated in alleviation of disease. The present study was aimed to evaluate whether extract from *Barringtonia acutangula* (*B. acutangula*), a Thai local vegetable can minimize phenylhydrazine (PHZ)-induced oxidative stress and circulatory dysfunction. Male Sprague-Dawley rats were orally administered with *B. acutangula* extract (1g/kg/day), quercetin as positive controls (50 mg/kg/day) or deionized distilled water as controls for 6 days. On the forth day of treatments, all of studied animals were induced hemolytic anemia by a single injection of PHZ (125 mg/kg i.p.). Our results demonstrated that *B. acutangula* extract and quercetin could elevate the cellular antioxidant system by increased the intracellular concentration of glutathione, whereas plasma levels of malondialdehyde and nitric oxide metabolites were decreased in anemic rats ($p < 0.05$). Moreover, *B. acutangula* extract and quercetin significantly improved hemodynamic status of the anemic rats by increased mean arterial pressure and peripheral vascular resistance ($p < 0.05$). It is concluded that treatment of *B. acutangula* extract and quercetin could not only decreased oxidative stress, but also ameliorate the consequent effect of PHZ. Therefore, vegetable co-treatment in condition of hemolytic anemia may be proving beneficial.

Key words: *Barringtonia acutangula*, quercetin, oxidative stress, antioxidant, anemia

O4: STUDIES OF OXIDATIVE STRESS INDUCED DAMAGE ON LIPOPROTEINS IN β -THALASSEMIA/HEMOGLOBIN E.

Rataya Luechapudiporn¹, Noppawan Phumala Morales², Suthat Fucharoen³, Udom Chantharaksri².

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. ²Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand. ³Thalassemia Research Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University, Salaya Campus, Nakornpathom, Thailand.

ABSTRACT

Atherogenic-related vascular complications commonly occur in β -thalassemia/Hemoglobin E patients (β -thal/HbE). It is believed that oxidative modification of LDL could be a contributing cause of atherosclerosis. This study was designed to study the changes that occurred to plasma lipoproteins of β -thal/Hb E, under the profound environment of oxidative insults from iron overloading in patients. The markers of oxidative stress were monitored in 30 β -thal/Hb E patients and compared with 10 healthy volunteers. It was the varying degrees of iron-overloading in the patients that rendered oxidative insult to the body tissue/organ, resulting in a precipitous drop of plasma and tissue vitamin E, a major hydrophobic chain breaking antioxidant with accompanying accumulation of TBARs, the oxidized products of lipids in the plasma and lipoproteins of the β -thal/Hb E.

The plasma profile of lipids, namely cholesterol (C) and cholesteryl esters (CEs) in both LDL and HDL were separated and characterized using an HPLC. The characteristic changes in lipid compositions of the LDL and HDL of the patients were markedly different from that of normal individuals. The ratios of some cholesterol esters (CEs) over the total cholesterol (TC), namely the cholesteryl linoleate (CL) to TC in the LDL ($p < 0.001$) and HDL ($p < 0.05$) were lowered in the β -thal/Hb E with less effect observed on free cholesterol (FC), suggesting that CEs, located at the core of the lipoproteins were prone to more oxidative damage than those FC located at the periphery. This finding was further supported by the elevated ratios of free cholesterol over total cholesterol (FC/TC ratios) in both LDL ($p < 0.05$) and HDL ($p < 0.001$). The lower ratios of cholesteryl linoleate to cholesteryl oleate (CL/CO ratio) noted a significant correlation with clinical severity suggesting that CL/CO ratios could be used as a clinical marker/index of severity in the β -thal/HbE patients. A closed relationship of non-transferrin bound iron (NTBI) and TBARs ($r = 0.925$, $p < 0.0001$) in LDL of these β -thal/Hb E patients with also a CL/CO ratio of less than 2 in lipoproteins ($n = 10$) strongly support the contention that non-chelatable NTBIs initiate lipid peroxidation in the β -thal/HbE.

This study demonstrated that cholesteryl linoleate is the primary target of oxidative damage in lipoproteins, which was induced by NTBIs in β -thal/Hb E. It thus suggested that cholesteryl linoleate could be used as an indicative marker of clinical severity in thalassemia.

Key words: lipoprotein, β -thalassemia/hemoglobin E, oxidative stress, cholesteryl linoleate, cholesterol, NTBI.

O5: METAANALYSIS OF REACTION TIME IN PSYCHOMETRIC PERFORMANCE TEST FOLLOW PSYCHOACTIVE DRUGS

Soo-ampon, S.*, Boyle, J.**^{*}, Wongwitdech, N.*^{*}, Plasen, S.*^{*}, Hindmarch, I.**^{*}

*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University,
Bangkok 10400, Thailand

**HPRU Medical Research Centre, University of Surrey,
Guildford GU2 7XP, United Kingdom

Reaction time responses are inherent in many of the skilled activities used in daily life which often require rapid but coordinated responses. As a result, measurement of reaction time is a popular test frequently incorporated into psychopharmacological study designs. The objective of this review was to analyze the properties of reaction time in different aspects of performance: sensory, motor, attention, and memory to assess whether they represent distinct, independent measures of cognitive ability or whether they share common characteristics and as such should be considered as one single measurement. Four separate placebo-controlled, randomized, double-blind, crossover studies of four different psychoactive drugs: pregabalin, alcohol, alprazolam, and lorazepam (the latter two used as positive controls) in healthy volunteers are presented in this metaanalysis. The psychometric tests that contained a measure of reaction time included the choice reaction time task (CRT; test of sensory and motor reaction time), compensatory tracking task (CTT; test of divided attention to peripheral stimuli), and Sternberg memory scanning task (STM; test of working memory). The response measures were determined as an overall reaction time score (pooled reaction time of all psychometric tests) and individual reaction time score (reaction time of each psychometric test). An informative comparison of the results of five independent studies was made using an effect size analysis which quantifies the 'strength' of each drug effect in each performance test as compared to a placebo control as a standardized 'd' value (1). The 'd' value scores are graded as low (less than 0.400) medium (between 0.400 to 0.700), high (between 0.700 to 1.000), and very high (more than 1.000) levels. Pregabalin showed a medium 'd' value on the overall score but exhibited a low 'd' value in STM, medium 'd' value in CRT, and high 'd' value in CTT. Alcohol exhibited a high 'd' value on the overall score but exhibited medium to high 'd' value on individual test scores except STM that showed a low 'd' value. Interestingly, alprazolam and lorazepam produced a very high 'd' value on the overall score and showed considerably high to very high 'd' values in most of the tests in each study. This supports the view that the benzodiazepines lorazepam and alprazolam induce an overall sedative effect and are therefore useful to be used as positive controls for studying psychoactive drugs on performance. The overall results support the concept that reaction time in general is a very useful index to detect the impairing effect of psychoactive drugs, however the different modality performance tests are able to detect subtle differences in cognitive impairment. It is therefore important that a multi-assessment approach is undertaken to optimize the detection of the effects of psychoactive drugs.

Reference

1. Cohen J. (1988) Statistical power analysis for the behavioral sciences (2nd ed.). L. Erlbaum Associates, Hillsdale N.J.

P1: A SURVEY STUDY ON ATTITUDES OF THAI WOMEN IN ACCEPTING NORPLANT® IMPLANTS AND NORPLANT-2® IMPLANTS

Sumana Chompootaweep¹, Chongkol Tang-Usaha², Euamporn Kochagarn² and Boontiam Theppitaksak².

¹*Department of Pharmacology and* ²*Institute of Health Research, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, THAILAND.*

ABSTRACT

Norplant® implants, consisting of 6 capsules of silastic, is a method of long-acting contraception effective for 5 years; while Norplant-2® implants, consisting of 2 capsules of silastic, is effective for 3 years. During January 1988 and August 1990, the Institute of Health Research, Chulalongkorn University, conducted a survey study of the attitudes of Thai women on the acceptance of Norplant® and Norplant-2® implants at the Research Center on Population Health, Wat Tat Thong, Bangkok, Thailand. According to the study results, 60 out of 140 Thai women (43%), with the mean age \pm standard deviation of 30 ± 5.2 years, accepted Norplant® implants. Seventy percent of them had the education level of primary school, 36.7% were housewives and 35.0% were companies' employees. The average monthly income of families of these women was $5,965.80 \pm 1,803.70$ Baht and the average member of children was 1.9 ± 1 . Before accepting the implants, 71.6% used pills as their planning birth control and 86.6% acknowledged the method from friends, cousins or those already used the method. Supporting reasons for their decisions to accept Norplant® implants were need no more children (26.6%) getting boring of the method of birth control (23.3%) and disliking the side effects of the other methods (11.7%). The major reasons of selecting Norplant® implants instead of Norplant-2® implants were its larger duration of effectiveness (38.3%) and having enough children but being afraid of tubal sterilization (35.0%). Among the 140 women, 80 (57.0%) accepted Norplant-2® implants. The average of women of this group was 27.9 ± 4 years. Seventy percents had the education level of primary school, 36.2% were companies' employees and 31.3% were housewives. The average monthly income of the families was $5,999.20 \pm 1,713.90$ Baht and the average member of children was 1.6 ± 0.6 . Before accepting the Norplant-2® implants, pills were used for contraception in 61.2% of the women and the implant method was acknowledged from friends, cousins or those using the method in 78.7% of the women. The main supporting reasons for their decisions to accept Norplant-2® implants were getting boring of the old methods of birth control (25.0%), the long period of contraception (21.0%), and disliking the side effects of other methods (15.0%). Among this group, 53.7% selected the Norplant-2® instead of Norplant-2® implants because they desired only 3 years of contraception.

Key words: Norplant implants, Thai women

P2: THE TOXICITY TEST OF *MOMORDICA CHARANTIA* L. SEED PROTEIN.

Srichan Phornchirasilp¹, Supaporn Pongsakorn¹, Vorachai Sirikulchayanonta²,
W Jiratchariyakul³, Nipaphan Malisorn⁴

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

³Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

⁴Division of Pharmacology, Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University, Pathumtani 12120, Thailand

ABSTRACT

The seed of the ripened fruit of *Momordica charantia* L. (Thai bitter gourd) contains an important protein named MRK29. This protein can inhibit the HIV-1 reverse transcriptase. When the concentration is increased it can also reduce the viral core protein p24 expression in HIV-infected cells. It is possible to develop an anti-HIV drug from MRK29.

The objective of this research was to study the acute and subchronic toxicity of *Momordica* seed protein. In acute toxicity tests, the *Momordica* seed protein was administered intravenously and intraperitoneally into Swiss albino mice and Wistar rats. Following a single dose, the LD₅₀ of *Momordica* seed protein in the mice and rats was approximately 1 mg/kg (i.v., i.p.). The abnormal signs and symptoms found in mice were bronchoconstriction, depression, and seizure. The abnormal signs and symptoms found in rats were bronchoconstriction, depression, seizure, and a red-black discharge from the eye. In subchronic toxicity tests, the *Momordica* seed protein was administered daily intrarectally into Wistar rats for three months at doses of 0.25, 0.5, 1, and 2 mg/kg/day. The abnormal signs and symptoms found were diarrhea and death caused by diarrhea. Moreover, 10% of the rats treated with *Momordica* seed protein at the dose of 0.25 mg/kg/day had an elevation in liver enzymes, i.e. SGOT, SGPT, LDH. But, in higher doses of *Momordica* seed protein, the level of these enzymes was reduced. The findings were parallel with histological changes in the liver, i.e. higher doses induced more fatty changes. The *Momordica* seed protein also had an irritating effect on the rectum at the site of drug administration.

In the development of this product to a pharmaceutical dosageform there should be concern about effect on the liver function and the irritating effect on the rectum of *Momordica* seed protein. Finally, more toxicological studies on the hepatotoxicity of *Momordica* seed protein should be performed to establish the safety of this product prior to its usage in humans.

Key Words : *Momordica charantia* Linn. / seed protein / toxicity test / acute / subchronic / LD₅₀ / diarrhea / irritating effect / fatty change / hepatotoxicity

P3: INFLUENCE OF CODING REGION MUTATIONS (G71R, F83L, P229Q AND Y486D) IN THE HUMAN UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE 1A1 (UGT1A1) GENE ON ENZYME ACTIVITY AND SUBSTRATE SELECTIVITY.

W Udomuksorn^{1, 2}, PI Mackenzie², B Lewis², K Yoovathaworn¹, A Thithapandha³ and JO Miners²,

¹ *Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Thailand*

² *Department of Clinical Pharmacology, Flinders University and Flinders Medical Centre, Australia*

³ *Faculty of Allied Health Sciences, Thammasart University, Thailand*

ABSTRACT

UGT1A1 catalyses the glucuronidation of numerous drugs, non-drug xenobiotics and endogenous compounds. In particular, UGT1A1 is the sole enzyme involved in the glucuronidation of bilirubin, and promoter and coding region polymorphisms in *UGT1A1* are associated with inherited disorders related to bilirubin elimination. In Asian populations, three coding region polymorphisms, UGT1A1*6 (G71R), UGT1A1*27(P229Q) and UGT1A1*62 (F83L), have been implicated in Gilbert syndrome while UGT1A1*7 (Y486D) has been linked to the Crigler Najjar syndrome type II. However, the impact of these mutations on UGT1A1 glucuronidation kinetics and substrate selectivity remains unknown. Thus, studies are underway to investigate the effects of these four coding region mutations on UGT1A1 activity and substrate selectivity. The UGT1A1 variants were generated by site-directed mutagenesis using the wild-type cDNA as template. Wild-type UGT1A1 and the UGT1A1 variants were stably expressed in a mammalian (HEK293) cell line, and activity of cell lysates was measured using 4-methylumbelliferone (4MU), 1-naphthol (1NP) and bilirubin as the model substrates. 4MU glucuronidation by UGT1A1, UGT1A1*6 and UGT1A1*27 exhibited Michaelis-Menten kinetics with derived K_m and V_{max} (normalised for UGT1A1 protein expression) values of 96, 123 and 188 μM , and 253, 167 and 253 $\mu mol/min.mg$, respectively. In contrast, 1NP glucuronidation by UGT1A1, UGT1A1*6 and UGT1A1*27 exhibited sigmoidal kinetics. Respective S_{50} (concentration at $0.5V_{max}$) and V_{max} values, generated using the Hill equation, were 329, 257 and 255 μM , and 109, 62 and 58 $\mu mol/min.mg$. Bilirubin glucuronidation by UGT1A1, UGT1A1*6 and UGT1A1*27 exhibited substrate inhibition kinetics. Respective K_m , K_{si} and V_{max} values, were 2.9, 2.1 and 2.9 μM , 121, 69, and 73 μM and 430, 193 and 156 $\mu mol/min.mg$. The approximately 50% reduction in intrinsic clearance (V_{max}/K_m) observed for 4MU and 1NP glucuronidation by UGT1A1*6 and UGT1A1*27 was consistent with the reduction observed for bilirubin glucuronidation by these variants. UGT1A1*7 and UGT1A1*62 exhibited very low activity towards 4MU, 1NP and bilirubin. It is concluded that *UGT1A1* coding region mutations associated with impaired bilirubin elimination also result in reduced xenobiotic glucuronidation.

Key words: UGT1A1, glucuronidation, polymorphisms

P4: GENETIC POLYMORPHISM AND THIOPURINE METHYLTRANSFERASE ACTIVITY IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA CHILDREN

Wanna Tanalapanon¹, Pornpen Pramyothin¹, Issarang Nuchprayoon², Suradej Hongeng³

¹*Pharmacological Action of Natural products Research Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*

²*Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*

³*Department of Pediatrics, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.*

ABSTRACT

Thiopurine methyltransferase (TPMT, E.C.2.1.1.67) is a cytoplasmic enzyme that catalyzes the S-methylation of aromatic and heterocyclic sulfhydryl compounds such as anticancer agent, 6-mercaptopurine (6-MP). TPMT activity is regulated by a common genetic polymorphism, associated with large individual variation in thiopurine toxicity and efficacy. The mutant alleles of TPMT have interethnic variability with different frequency and pattern among various ethnic population. The study on the association between genotype and phenotype of TPMT will be of great value in optimizing 6-MP treatment especially in acute lymphoblastic leukemia (ALL) children.

In the present investigation, genetic polymorphism (genotype) and thiopurine methyltransferase activity (phenotype) of TPMT were studied in 90 ALL children. The erythrocyte thiopurine methyltransferase activity was measured by high-performance liquid chromatography (HPLC) technique. The mutant alleles: TPMT*2, TPMT*3A, and TPMT*3C were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). TPMT activity has shown bimodal frequency distribution with the high and intermediate metabolizers of 93.33% and 6.67%, respectively. There was the correlation between genotype and phenotype of TPMT. 84 ALL children had high TPMT activity (>15 unit/ml of packed RBC/h) with wild type TPMT*1. The other 2 had intermediate activity (5-15 unit/ml of packed RBC/h) with TPMT*1/TPMT*3C. So the mutant allele was found only TPMT*3C. The rest of 4 had unknown genotype with TPMT activity less than 15 unit/ml of packed RBC/h. The possibility for detection of other mutant alleles needs to be considered. Gender had no effect on TPMT activity, however receiving 6-MP affected the activity of TPMT. Therefore phenotype and genotype of TPMT should be performed for minimizing toxicity and maximizing efficacy of 6-MP therapy.

Key words : thiopurine methyltransferase (TPMT), genetic polymorphism, 6-mercaptopurine (6-MP), acute lymphoblastic leukemia (ALL)

P5: OXIDATIVE STRESS AND PROTEIN DAMAGE IN THALASSEMIA PATIENTS AND SMOKERS

Nuntiya Somparn¹, Veerapol Kukongviriyapan¹, Wichitra Tassaneeyakul¹,
Upa Kukongviriyapan².

¹ Department of Pharmacology, ² Department of Physiology, Faculty of Medicine,
Khon Kaen University, KhonKaen, Thailand.

ABSTRACT

Oxidative stress, an imbalance of the pro-oxidant/antioxidant homeostasis, occurs in several human diseases and environmental exposure. The usage of protein carbonyl group as a marker of oxidative damage has some advantages in comparison with the measurement of other oxidation products because of the early formation and the relative stability of carbonylated proteins. Therefore, the aim of this study was to investigate the oxidative stress in thalassemia patients and smokers by using protein carbonyl contents. Blood samples were collected from children with thalassemia diseases that has regular blood transfusion (n=32) and healthy controls (n= 28). For cigarettes smoking, blood samples were collected from smoker adults (n=18) and non-smoker as control (n=16). Carbonyl contents were analyzed by DNPH assay.

The results showed a significant increase in carbonyl contents in thalassemia patients who have serum ferritin more than 1000 ng/ml when compared with controls ($P < 0.05$). However, no significant difference in protein carbonyl contents between thalassemia and control groups. A significant increase in protein carbonyl contents was found in smokers when compared with control subjects ($P < 0.01$). Carbonyl contents in adults (age = 46.75 ± 7.36 years) was higher than children (age = 11 ± 1.29 years) ($P < 0.001$). A strong positive correlation between age and carbonyl contents was found ($r = 0.84$, $P < 0.001$). These results confirm the oxidative stress and highlight the formation of protein carbonyl in thalassemia patients and smokers.

Key word : Thalassemia, Oxidative stress, Protein carbonyl , Smoking

P6: EFFECT OF MULBERRY (*MORUS ALBA* LINN.) LEAVES EXTRACTS ON PLASMA GLUCOSE LEVEL IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Panee Rittilert¹, Chongkol Tiangda¹, Srichan Phornchirasilp¹, Omboon Luanratana².

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand. ²Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

ABSTRACT

Many medical plants have been used for treatment of diabetes mellitus but only a small number of these have received scientific and medical evaluation to assess their efficacy. *Morus alba* L. (family Moraceae), commonly known as mulberry (Thai name: Mon), is widely cultivated in the north and northeast regions of Thailand. In the present study three extract of mulberry leaves were prepared: ethanol (EM), freeze-dried water (WM) and tea (TM). The anti-hyperglycemic effect of mulberry leaves extracts were evaluated in diabetic rats (fasting plasma glucose (FPG) level of 250-400 mg/dl) induced by a single dose of streptozotocin (60 mg/kg, iv). Prolonged administration (4 weeks) of the extracts was performed in diabetic rats to investigate hypoglycemic and other effects including effects on body weight, food and fluid intakes. Non treatment control and positive control (glibenclamide 10 mg/kg) groups were included. FPG levels were recorded at week 0, 1, 2 and 4.

Oral administration of 150, 300 and 600 mg/kg of the EM once daily for 4 weeks resulted in reduction in plasma glucose, especially at the dose of 600 mg/kg ($p < 0.05$) at week 1. Moreover, hypoglycemic activity of the EM was dose-dependent. It also induced weight gain. In the other experiment, 150, 300 and 600 mg/kg of the WM was orally administered once daily for 4 weeks. The dose of 300 mg/kg significantly decreased plasma glucose level ($p < 0.05$) at week 1. The WM 150 mg/kg significantly decreased FPG level ($p < 0.05$) in a longer treatment period. Consequently, polydipsia and polyphagia were also improved in the WM treated groups. The TM (2.34 g dried powder/kg), provided as a substitute for water *ad libitum* at 180 ml/rat/day in a concentration of 2.5 g/L, significantly decreased plasma glucose level ($p < 0.05$) at week 1 and 2. However, the plasma glucose reduction of TM was nearly the same as that of WM 300 mg/kg.

The findings indicated that EM, WM and TM had hypoglycemic activity in streptozotocin-included diabetic rats. The degree of reduction was in the same range as with glibenclamide and significantly different from the non-treatment control rats. Therefore, the mulberry leave extracts should be useful in the treatment of diabetes. Its mechanism of hypoglycemic effect and isolation of active principles responsible for such activity should be elucidated in further studies.

Key words : mulberry, *Morus alba* Linn., diabetes mellitus, hypoglycemic activity, streptozotocin rat, glibenclamide

P7: NEUTRALIZING EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEINE AGAINST COBRA (*NAJA NAJA KAOUTHIA*) VENOM.

Janeyuth Chaisakul¹, Nison Satayasai², Jintana Satayasai¹

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, ²Department of Biochemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

ABSTRACT

Snakebite is a serious medical problem worldwide. In Thailand each year thousands of individuals are bitten and hundred die. The cobra (*Naja naja kaouthia*) induces the highest mortality rate. The most toxic compounds in cobra venom are neurotoxins. Neurotoxins are affecting to the neuromuscular junction and causing flaccid paralysis. N-Acetylcysteine (NAC) is the mucolytic agent that could destroy disulfide bond of protein and glycoprotein. As the cobra neurotoxins are a polypeptide chain cross-linking by disulfide bonds, thus, it is very interesting to test whether NAC could neutralize cobra venom since disulfide bound is important for the activity of snake neurotoxins.

The NAC (Fluimucil) was tested both *in vitro* and *in vivo* for antivenom activity against *Naja naja kaouthia* venom. The NAC has been found to have a significant ($p < 0.05$) antagonistic effect on the inhibition of neuromuscular transmission produced by the venom in isolated rat phrenic nerve hemidiaphragm preparations. Mice, intraperitoneally injected with cobra venom at 0.75 mg/kg had the survival time of 21.90 ± 2.96 min, while mixing with the NAC to 75 or 150 mg/kg just before injected resulted in an increase of survival time significantly ($p < 0.05$) to 40.83 ± 4.36 min and 53.83 ± 8.50 min, respectively. Preincubation of the cobra venom with NAC, at 75 or 150 mg/kg, at 37 °C for 1 h could significant ($p < 0.05$) increase survival time of the animal to 45.57 ± 5.50 min and 91.67 ± 14.96 min, respectively. The present finding suggests that the NAC have the antagonistic effect against the lethality of cobra venom both on *in vitro* and *in vivo* models.

Key words: N-acetylcysteine, Cobra venom, *Naja naja kaouthia*

P8: THE TREATMENT OF SURGICAL WOUNDS IN DOGS AND CATS USING A FILM DRESSING OF POLYSACCHARIDE, EXTRACTED FROM THE FRUIT-HULL OF DURIAN (*DURIO ZIBETHINUS* L.)

Piyarat Chansiripornchai ¹, Anudep Rangsipipat ², Sunanta Pongsamart ³

¹ Department of Veterinary Pharmacology, ² Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science; ³ Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

ABSTRACT

Polysaccharide gel (PG) extracted from the fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.) was prepared as a dressing film (PG film). It's antibacterial activity and efficiency for the treatment of full-thickness excisional wounds in pig skin, had previously been reported. In this present study, PG film was used for the treatment of surgical wounds in dogs and cats. Surgical wounds from castration or ovariohysterectomy in 10 dogs and 10 cats were treated with the PG film dressing. Every 2 to 3 days, the wounds were examined to assess the degree of wound healing until complete wound closure had occurred. The results revealed that the surgical wounds in all the dogs and cats completely healed, when treated with PG film and the wound healing rate was similar to conventional treatment using povidone iodine. It was concluded that PG film dressing showed high level of efficiency in the treatment of surgical wounds in dogs and cats.

Key words: PG film, durian fruit-hull, wound healing, dogs, cats

P9: THE PHARMACOKINETICS STUDY OF PROPRANOLOL IN THALASSEMIC PATIENTS

Thanyawan Subsaman¹, Noppawan Phumala Morales¹, Nathawut Sibmooh¹, Paveena Yamanon¹, Suthat Fucharoen², Udom Chantharaksri¹ and Supeenun Unchern¹

¹Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, ²Thalassemia Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University.

ABSTRACT

Cardiovascular disease is a common finding in thalassemia. Propranolol is a non-selective beta-adrenergic blocking drug widely uses for the treatment of cardiovascular disease. Therefore this study was performed to investigate the pharmacokinetics of propranolol in β -thalassemia/hemoglobinE patients compare to normal volunteers. Each subject took a single 40 mg oral dose of propranolol. Blood samples were obtained for measurement of the plasma propranolol levels, using HPLC technique, blood pressure and heart rate were monitored before and at 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6 and 8 hours after drug administration. The pharmacokinetic parameters were determined. The peak plasma concentration (C_{max}) of propranolol in the patients was not significant difference from normal. The time to reach peak plasma concentration (T_{max}) and the elimination rate constant (K_e) were significantly higher ($p < 0.05$) in the patient group. Whereas, the elimination half-life ($t_{1/2}$), the apparent volume of distribution (V_d) and the total clearance (Cl) were significantly lower ($p < 0.01$, $p < 0.01$ and $p < 0.05$ respectively) in the patient group. Basal systolic and diastolic blood pressure of thalassemic patient was lower than in normal subjects. However, no significant change was observed in hemodynamic effects including blood pressure and pulse rate between the two groups of the subjects. Therefore, the results from this study indicated that the pharmacokinetic parameters of propranolol were altered in thalassemic patients.

Keywords: Pharmacokinetics, Propranolol, β -thalassemia/hemoglobinE patient

P10: THE PHARMACOKINETICS STUDY OF PARACETAMOL AND ITS METABOLITES IN THALASSEMIC PATIENTS

Anusorn Temsakulphong¹, Jeeranut Sawattep¹, Paveena Yamanon¹, Supeenun Unchern¹, Suthat Fucharoen², Udom Chantharakri¹, Noppawan Phumala Morales¹

¹*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University.* ²*Thalassemia Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University.*

ABSTRACT

Pathology of thalassemia such as decreased blood volume and organ damage may alter pharmacokinetic parameters of several drugs in the patients. Paracetamol is a commonly used analgesic and antipyretic drug which is extensively metabolized in liver via glucuronidation. The aim of this study is to compare the pharmacokinetic parameters of paracetamol (PCM) and paracetamol glucuronide (PCM-G) in β -thalassemia/HbE patients with normal subjects. Following and overnight fast, a single dose of paracetamol (1000 mg of Tylenol®) was given and blood samples were obtained at predose, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 7, and 9 hours after dosing for determination of the plasma of PCM and PCM-G levels by high performance liquid chromatography (HPLC). There was no significant difference in maximum concentration (C_{max}) and time to C_{max} (T_{max}) of PCM and PCM-G between the groups. However, the significant higher ($P < 0.05$) in elimination rate constant (K_e) and significant lower ($P \leq 0.01$) in half-life (t_{1/2}) of both PCM and PCM-G were observed in the patients. Total clearance (Cl) of PCM was significant higher ($P < 0.01$) while volume of distribution (V_d) of PCM-G in patients was significant lower ($P < 0.05$) than that of normal subjects. The results indicated that elimination of PCM and PCM-G were changed in the patients. This data may be useful to design the dosage regimen of paracetamol and other drugs that metabolized via glucuronidation in β -thalassemia/HbE patients.

Key words: β -thal/HbE, paracetamol, glucuronidation, pharmacokinetics

**P11: STUDIES OF THE PRO-OXIDANT ACTIVITY OF ARTEMISININ
AND QUINOLINE-CONTAINING DRUGS USING LDL
OXIDATION AS A MODEL**

Thitiporn Thaptimthong, Noppawan Phumala Molares, Supeenun Unchern and Natthawut Sibmooh

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

e-mail address: g4436342@student.mahidol.ac.th

ABSTRACT

Artemisinin and quinoline-containing drugs represent for the important classes of antimalarial drugs. The molecular basis of the mechanism of action of these drugs have been widely proposed, and one of them involves the interaction of drugs with ferriprotoporphyrin IX (ferric heme or hemin). The objectives of this study were to study the pro-oxidant activity of artemisinin in comparison with quinoline-containing drugs by using LDL oxidation as a model, and to determine the importance of hemin on the mechanism of drug-induced LDL oxidation. Low density lipoprotein (LDL) was separated from plasma by sequential gradient ultracentrifugation technique. The oxidation of LDL was conducted at 37°C under dark condition for 8 hours. One hundred µg/ml of LDL was incubated in 10 mM phosphate buffer saline (PBS), pH 7.4 with artemisinin and four quinoline-containing drugs (i.e., quinine, chloroquine, mefloquine and primaquine), both in the absence and presence of hemin. The degree of LDL oxidation was determined by the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) and the decrease of tryptophan fluorescence. Artemisinin significantly enhanced hemin-induced TBARs formation. Quinoline-containing drugs also enhanced hemin-induced TBARs formation, but with lesser degree than artemisinin. Artemisinin reduced tryptophan fluorescence intensity of LDL significantly within 2 hours. Other quinoline-containing drugs were shown to have no effect on tryptophan fluorescence of LDL even in the presence of hemin. The results indicated that artemisinin existed a more potent pro-oxidant action than that of quinoline-containing drugs, and the pro-oxidant activity of both artemisinin and quinoline-containing drugs required hemin as the catalyst.

Key words: Artemisinin, Quinoline-containing drugs, pro-oxidant activity, LDL oxidation

P12: THE EFFECTS OF PHYTOESTROGEN, *PUERARIA MIRIFICA*, ON LPS-INDUCED MICROGLIAL ACTIVATION.

Nattinee Jantaratnotai and Yupin Sanvarinda

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

ABSTRACT

Pueraria mirifica (PM), a Thai medicinal plant known to possess estrogenic properties, has been traditionally used as a rejuvenating agent for over a hundred years. PM contains various phytoestrogenic compounds including miroestrol and deoxymiroestrol which are believed to have the highest estrogenic activity among the known phytoestrogens due to their structural similarities. It is known that estrogen can exert anti-inflammatory effects both in vitro and in vivo by inhibiting the expression and production of various proinflammatory mediators such as TNF- α , IL-6, MMP-9, NO, and ROS in microglia. However, the effects of phytoestrogens on microglial activation in the CNS is not as well established. Thus, in the present study, LPS-induced microglial activation was used as a model to investigate the plant's effects. The results have shown that administration of PM to HAPI, a rat microglial cell line reduced NO production, iNOS protein expression, and MCP-1 expression induced by LPS. The mechanisms of these effects are discussed. This study indicated that PM could serve as an anti-inflammatory mediator, thus it may provide neuroprotective effects to many neurodegenerative and inflammatory diseases in the CNS.

Key words: *Pueraria mirifica*, phytoestrogen, microglia, inflammation, neuroprotection

P13: A TOXICITY STUDY OF *MORUS ALBA* L. LEAF EXTRACT

Atiya sabsung¹, Srichan Phornchirasilp¹, Omboon Luanratana¹, Vorachai Sirikulchayanonta², Chongkol Tiengda¹.

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand.,

²Department of pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital. Mahidol University, Thailand.

ABSTRACT

Morus alba L. , a member of Moraceae family, commonly known as mulberry (Thai name : Mon), is widely cultivated in the north and northeast region of Thailand. *Morus alba* L. leaf extract can reduce plasma glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats. Thus, it is possible to develop an antidiabetic drugs from this extract.

The objective of this study was to establish the acute and subchronic toxicity of *Morus alba* L. leaf extract. In acute toxicity study , the *Morus alba* L. leaf extract was administered intraperitoneally and orally into mice and Wistar rats. Following a single i.p. dose, the LD₅₀ of *Morus alba* L. leaf extract in the mice and Wistar rats were approximately 4 and 5 g/kg, respectively. But when this extract was administered orally , doses as high as 5 g/kg did not cause any significant toxic effects. There was no death in these groups of animal. The only abnormal signs and symptoms were CNS depression and respiratory depression. Moreover, all animals were recovered within 15-30 minutes. In subchronic toxicity study, the *Morus alba* L. leaf extract was administered orally into Wistar rats for 60 days at doses 1,2 and 3 g/kg/day. All doses of *Morus alba* L. leaf extract did not significantly affect blood chemistry and hematologic values when compared to the control group. Microscopic examination of major organs indicated no significant histopathological abnormalities.

In conclusion , our result suggested that *Morus alba* L. leaf extract is safe for used.. Pharmacological dosage form of *Morus alba* L. leaf extract might be a valuable drug in the future.

Key words: *Morus alba* L., leaf extract, acute toxicity, subchronic toxicity

P14: EFFECT OF BARAKOL ON THE FORCED SWIMMING BEHAVIOR IN SOCIAL ISOLATION REARED RATS

Noppamars Wongwitdecha, Somruethai Srisomboonlert, Panee Ritilert

*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University,
Bangkok 10400, THAILAND*

ABSTRACT

Objective: The aim of the present study was to investigate the behavioural effects of barakol on the forced swimming test in socially and isolation reared rats.

Methods: Male Wistar rats were obtained from weaning, and housed either alone (isolation rearing) or in groups of six rats/cage (social rearing). Six weeks later, these rats were tested for their sensitivity to barakol using the forced swimming test (Porsolt et al., 1978, Eur J Pharmacol 47, 379-391).

Results: The results demonstrated that the forced swimming behavior of the saline-treated isolation reared rats was not significantly difference from the socially reared controls. Sub-chronic administration of barakol (5, 10 and 25 mg/kg i.p.) 24, 5 and 1 h to both isolation and socially reared rats produced the biphasic effects on the forced swimming behavior in the isolation reared rats. Low doses of barakol (5 and 10 mg/kg i.p.) significantly induced antidepressant-like effect (as indicated by decrease the immobility time and increase struggling) ($P < 0.05$) compare with the saline treated controls. However, the effect of higher dose, barakol (25 mg/kg i.p.) on the immobility and struggling time was not significantly difference from the saline treated isolation reared rats ($P > 0.05$). Moreover, the antidepressant-like effect of barakol (5 and 10 mg/kg i.p.) was not observed in the socially reared rats.

Conclusion: These results indicate that barakol has antidepressant-like effect in social isolation rats. Future experiments will need to investigate the mechanism of antidepressant action of barakol in the social isolation reared rats.

Key words: Barakol, forced swimming test, social isolation, rats

P15: EFFECT OF CARBAMAZEPINE ON LOCOMOTOR ACTIVITY IN STRESS RATS

Ekawit Threenet* and Noppamars Wongwitdecha**

**Toxicology Program, **Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, THAILAND*

ABSTRACT

Stress during the early stage of life such as social isolation from weaning has been shown to change a variety of behaviors of the adult animals and the responsitivity to psychoactive drugs.

Objectives: The purposes of the present experiments were to investigate the effects of psychological stress (social isolation rearing) from weaning on the open field behavior, and to compare the effect of carbamazepine on locomotor activity in isolation and socially reared rats.

Methods: Male Wistar rats were reared from weaning either singly (isolation rearing) or in groups of five or six rats/cage (social rearing). Six weeks later, these rats were tested for their sensitivity to carbamazepine using the open field test.

Results: The results showed that drug-free isolation reared rats exhibited hyperlocomotion (as indicated by higher total zone transitions) accompanied by a significant increase in exploration (more the number of rear) compare with drug-free socially reared rats ($P < 0.05$). Pretreatment with carbamazepine (10, 20 and 40 mg/kg i.p.) had no marked effects on locomotor activity in both socially and isolation reared rats. This drug did not significantly change the total zone transitions and the number of rear compare with the vehicle controls. The social isolation rearing induced locomotion hyperactivity was not abolished by carbamazepine.

Conclusion: The present results indicate that early life stress (social isolation rearing from weaning) induces locomotion and exploration hyperactivity in the mature rats. This hyperactivity is not attenuated by carbamazepine.

Key words: Carbamazepine, locomotor activity, stress rats

P16: POSSIBLE ANTI-INFLAMMATORY MECHANISMS OF PURE COMPOUNDS FROM *VENTILAGO HARMANDIANA*.

Payong Wanikiat¹, Montakarn Chaiyodwong¹, Kanda Panthong², Vichai Reutrakul²

¹Department of Pharmacology, ²Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400.

ABSTRACT

Pure compounds, VR9177 and VR9179, obtained from the heartwood of *Ventilago harmandiana* exhibited moderate to strong anti-inflammatory activity in the ethyl phenylpropiolate (EPP) mouse ear edema model (unpublished data).

In the present study, the pure compounds were investigated for their activities on neutrophil functions, including neutrophil chemotaxis, superoxide anion generation (SAG), myeloperoxidase (MPO) production, elastase release, neutrophil apoptosis and lymphocyte proliferation. Both compounds were firstly investigated for their cytotoxic effect, cell viability was not significantly affected by these compounds (1-100 μ M) as shown by XTT assay. VR9177 (1-100 μ M) and VR9179 (1-100 μ M) were found to inhibit fMLP-induced neutrophil functions, including neutrophil chemotaxis, superoxide anion generation (SAG), myeloperoxidase (MPO) production, elastase release, in a concentration-dependent manner. But VR9177 (1-100 μ M) and VR9179 (1-100 μ M) showed no effect on neutrophil apoptosis as quantified by morphological and flow cytometric analysis. Furthermore, both compounds also inhibited lymphocyte proliferation as quantified by [³H] thymidine incorporation. These findings suggest the inhibition of human neutrophil functions and lymphocyte proliferation by VR9177 and VR9179, that are not due to cytotoxic activity, may be attributed, in part, to their anti-inflammatory activity.

Acknowledgements

We wish to thank the Thailand Research Fund for the award of a developmental research grant for young scholar to Dr. Payong Wanikiat. The financial support from the Postgraduate Education and Research Program in Chemistry (PERCH) is also gratefully acknowledged.

P17: PHARMACOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE NMDA RECEPTOR: FOCUS ON NR2B SUBTYPE IN THE HUMAN PLATELET

Theerin Sinchai^{1,2}, Piyanee Rattanachamnong², Surin Plasen²

¹*Division of Toxicology, Institute of Forensic Medicine, The Royal Thai Police Head quarter, Bangkok, Thailand.* ²*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand.*

ABSTRACT

[³H] MK-801 was used to investigate *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in the rat brain and human platelets. The study showed that the ligand binds with high affinity (*K*_d of 1.3 nM in rat brain membrane and *K*_d of 27.9 nM in human platelet membrane), but the rank order of binding affinities of unlabelled NMDA receptor channel blockers on human platelets (ifenprodil > dextrophan > memantine > MK801 > ketamine) did not parallel the rank order of their affinities in binding to rat brain membranes (MK801 > memantine > ifenprodil > ketamine > dextrophan). This result indicated that the NMDA receptor on platelets might be different in receptor subtype. By using platelet aggregation study, the ifenprodil, which is a selective polyamine site antagonist and specific for channels containing the NR2B subunit could inhibit platelet aggregation induced by ADP. Ifenprodil was used to bind NR2B subtype in rat brain and human platelets. It can bind NR2B subtype with high affinity (*IC*₅₀ = 1.64 μM and 0.1 mM in rat brain and human platelet, respectively). This may suggest that the application of this finding may contradict the predictive value of NR2B subtype in brain and human platelet in drug-addicted patient.

Key Words: NMDA receptor, NR2B subtype, ifenprodil, rat brain, human platelet

**P18: MOLECULAR MECHANISM OF UTEROGLOBIN-RELATED PROTEIN 1
(UGRP1) INDUCTION BY INTERLEUKIN-10 IN AIRWAY
EPITHELIAL CELLS**

Achara Srisodsai¹, Atsushi Yamada², Yoshihiko Chiba², Faruk Sheikh³, Howard A. Young⁴, Raymond P. Donnelley³, Porntip Supavilai¹ and Shioko Kimura²

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

² Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.

³ Division of Therapeutic Proteins, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, MD, USA.

⁴ Laboratory of Experimental Immunology, National Cancer Institute, Frederick, MD, USA.

ABSTRACT

Interleukin-10 (IL-10) induction of uteroglobulin-related protein 1 (UGRP1) gene expression was examined using human lung adenocarcinoma NCI-H441 cells. Treatment of the cells with 25 or 50 ng/ml IL-10 induced the expression of hUGRP1 mRNA as early as 2 hours and the level of expression continued for at least 24 hours. Actinomycin D inhibited IL-10 induction of hUGRP1 mRNA expression whereas cycloheximide did not have any effect, suggesting that IL-10 regulated hUGRP1 expression at transcriptional level. Transient transfection analysis with and without IL-10 treatment using several reporter constructs containing up to 324 bp of the hUGRP1 gene promoter sequence revealed a potential transcriptional control site for IL-10 signal transduction between -179 and -209 bp of the hUGRP1 gene promoter. Co-transfection analysis using mutant constructs, gel shift analysis and chromatin immunoprecipitation assay demonstrated that the binding of T/EBP to its specific binding sites at both -187 and -68 bp in the hUGRP1 gene promoter was responsible for IL-10 induction of hUGRP1 gene expression. Both IL-10R subunits, IL-10R1 and IL-10R2, were expressed in NCI-H441 cells; however, STAT3 was barely activated upon IL-10 treatment as judged by Western blotting for phospho-STAT3. When cells were treated with other members of the IL-10 family such as IL-22 and IFN- β , intense band for phospho-STAT3 was obtained while no UGRP1 expression was found. Mouse embryo lungs cultured in the presence of IL-10 and lungs obtained from mice intranasally instilled IL-10 exhibited the increase of Ugrp1 mRNA levels. These results demonstrated that IL-10 induced UGRP1 gene expression in lung epithelial cells through T/EBP-dependent pathway. Together, these findings suggest that UGRP1 may play a role in airway anti-inflammatory processes by serving as a downstream transcriptional target of IL-10 activation.

Key Words: Uteroglobin related protein 1, Interleukin-10, airway epithelial cells, STAT3

P19: PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF *ANTIDESMA ACIDUM*

Sopit Thamaree¹, Usanee Kwansang², Kornkanok Ingkaninant³

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. ²Interdepartment of Pharmacology, Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. ³Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Science, Naresuan University, Pisanuloke, Thailand.

ABSTRACT

Experimental studies were conducted to elucidate various pharmacodynamic effects of an ethanolic extract of dried root of *Antidesma acidum* (Mamao) in whole animals as well as in tissues or organs preparations isolated from appropriate animals including, guinea pigs, rats and mice. The studies covered the tests on central nervous, cardiovascular, respiratory, hematological, and gastrointestinal systems. Quality specifications of plant materials and the ethanolic extract of *Antidesma acidum* were determined according to WHO Guidelines. The extract of *Antidesma acidum* solubilized in 5% tween was used in all experiments. The extract was fed orally to conscious rats at the doses of 30, 60, and 120 mg/kg/BW once daily for 7 days. Blood samples taken at day 0 and day 7 was analyzed for blood components. The results showed that the extract at 60mg, and 120mg/kg/BW increased the white blood cells (WBC) but not increased other blood components. In Rotarod test, the extract was given orally to mice at the doses of 30mg, 60mg, and 120mg/kg/BW, it was found that up to 5 hours, mice could maintain their equilibrium for at least 1 min on the rotating rod in each of three successive trials. The extracts of *Antidesma acidum* pretreated intraperitoneally at the doses of 30 - 120mg/kg/BW did not prolong barbiturate-induced sleeping time in rats. The extracts of *Antidesma acidum* at the dose of 120mg/kg/BW fed orally tended to decrease the distance of charcoal movement from duodenum to ileo-caecal junction in conscious rats. The extract of *Antidesma acidum*, at the concentrations of 100, 200 and 400 µg/ml, significantly decreased the contraction of isolated rat ileum induced by 1×10^{-6} M of methacholine. The extract of *Antidesma acidum* at the concentrations of 50, 100, 200 and 400 µg/ml did not significantly affect the contractions of right auricle isolated from rats, as well as the contraction of isolated rat aorta induced by 1×10^{-6} M of norepinephrine and the contraction of isolated guinea-pig trachea induced by 1×10^{-6} M of histamine. In conclusion, the increase in white blood cells (WBC) induced by the extract of *Antidesma acidum* was similar to our previous in vitro study showing immunomodulating potential. The decrease in intestinal contraction by which mechanisms to be further studied. Whereas the extract of *Antidesma acidum* had little or no effects on isolated heart, aorta and trachea.

Key words: *Antidesma acidum*, pharmacodynamic effects

P20: HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF *THUNBERGIA LAURIFOLIA* IN PRIMARY CULTURE OF RAT HEPATOCYTES TREATED WITH ETHANOL

Pornpen Pramyothin¹, Hemvala Chirdchupunsare¹, Chaiyo Chaichantipyuth²

¹*Pharmacological Action of Natural products Research Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*

²*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*

ABSTRACT

Thunbergia laurifolia Linn is known in Thai as "Rang Jued". It has been commonly used as antipyretic and antidote in Thai traditional medicine for many years. Treatment of alcoholism is also claimed using aqueous extract of *Thunbergia laurifolia*. Over consumption of alcohol is now a serious problem in Thai society and worldwide. Three pathologically life-threatening liver diseases induced by alcohol abuse are fatty liver (steatosis), hepatitis and cirrhosis. Scientific research in herbal medicine possessing hepatoprotective activity may be a great benefit as alternative therapy in alcohol induced liver diseases.

In the present investigation, primary culture of rat hepatocytes was used as an *in vitro* model to evaluate the hepatoprotective effect of aqueous extract of *Thunbergia laurifolia* (TLE) against ethanol. This effect of TLE was compared with silymarin (SL), the reference hepatoprotective agent. MTT reduction assay, ALT and AST were used as the criteria for cell viability. After 24 h of culturing, hepatocytes were treated with ethanol (96 µl/ml) and various concentrations of TLE (2.5, 5.0, 7.5, 10.0 mg/ml) or SL (1, 2, 3 mg/ml) for 2 h. Both TLE and SL increased MTT formation nearly 2 times for TLE and 2-3 times for SL when compared to effect of ethanol alone. Ethanol induced the release of ALT and AST was reduced by TLE (2.5 and 5.0 mg/ml) and SL (1 mg/ml). High doses of TLE (10 mg/ml) and SL (3 mg/ml) caused more increase in the release of ALT induced by ethanol. Therefore appropriate doses of TLE and SL showed the hepatoprotective activity against ethanol induced cytotoxicity in primary culture of rat hepatocytes.

Key words : *Thunbergia laurifolia*, ethanol, silymarin, hepatoprotective

P21: STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF *TRANS*-CINNAMIC ACID DERIVATIVES ON α -GLUCOSIDASE INHIBITION

Sirichai Adisakwattana^{a,*}, Amorn Petsom^b, Sophon Roengsumran^b,
Sirintorn Yibchok-anun^a

^aDepartment of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, ^bResearch Centre for Bioorganic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

ABSTRACT

Trans-Cinnamic acid and its derivatives were investigated for the α -glucosidase inhibitory activity. 4-Methoxy-*trans*-cinnamic acid and 4-methoxy-*trans*-cinnamic acid ethyl ester exerted the highest potent inhibitory activity among those of *trans*-cinnamic acid derivatives ($IC_{50} = 0.04 \pm 0.01$ mM, 0.05 ± 0.03 , respectively). The presence of hydroxy or methoxy group at 4-position on *trans*-cinnamic acid moiety is necessary to enhance α -glucosidase inhibitory activity. However, compounds having larger alkoxy substituent were found to have little effect on α -glucosidase inhibition ($IC_{50} > 5$ mM). The mode of inhibition of 4-methoxy-*trans*-cinnamic acid on α -glucosidase activity was non-competitive with K_i value of 0.06 ± 0.01 mM. In contrast, 4-methoxy-*trans*-cinnamic acid ethyl ester was a competitive inhibitor with K_i value of 0.02 ± 0.01 mM. Furthermore, 4-methoxy-*trans*-cinnamic acid also inhibit sucrase and maltase, α -glucosidase enzymes derived from rat intestine, with IC_{50} of 10.9 ± 0.75 mM and 8.75 ± 0.80 mM, respectively. These results indicated that *trans*-cinnamic acid derivatives should be further evaluated as a new group of potent α -glucosidase inhibitors for the treatment of various diseases, including diabetes, anti-viral infection, and AIDS.

Key words: cinnamic acid, α -glucosidase inhibition, structure-activity relationships

P22: SUBACUTE EFFECTS OF *MURDANNIA LORIFORMIS* ETHANOLIC EXTRACT ON CLINICAL BLOOD CHEMISTRY AND HEMATOLOGY IN RATS

Achara Chatsupang¹, Laddawal Phivthong-ngam², Chaiyo Chaichantipyuth³, Naunsri Niwattisaiwong⁴, and Somsong Lawanprasert¹

¹Pharmacological Action of Natural Products Research Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand.

²Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Thailand.

³Department of Pharmacognosy, and ⁴Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand.

ABSTRACT

Murdannia loriformis (Hassk). Rolla Rao et Kammathy is commonly called in Thai as "Ya Pak King". *M. loriformis* has been used traditionally as a remedy treatment in many kinds of cancers. This study examined subacute effects of *M. loriformis* ethanolic extract on clinical blood chemistry and hematology. Thirty male Wistar rats were randomly divided into three treatment groups. Each group consisted of ten rats. Rats in the first group were given distilled water 1 ml/kg/day serving as a control group. The other two groups of rats were given *M. loriformis* ethanolic extract at dosages of 0.1 and 1 g/kg/day. Each group were administered orally for 30 consecutive days. During the treatment period, body weight was recorded every week. At the end of the treatment period, rats were anesthetized. Blood samples were collected by heart puncture and serum samples were prepared for measuring hematology and clinical blood chemistry, respectively. The results showed that rat received both dosage regimens of *M. loriformis* ethanolic extract demonstrated no mortality when administered orally for 30 consecutive days. *M. loriformis* ethanolic extract at both dosages given in this study did not affect body weight, and these following clinical blood chemistry and hematology: AST, ALT, ALP, total bilirubin, direct bilirubin, BUN, SCr, total cholesterol, TG, LDL-C, HDL-C, glucose, sodium, potassium, chloride, hemoglobin, hematocrit, platelet count, WBC count, % differential WBC, RBC indices (% mean corpuscular volume, MCV; % mean corpuscular hemoglobin, MCH; % mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) and RBC morphology. These results suggested that *M. loriformis* ethanolic extract caused no harmful effects on several important organs/systems such as liver, kidney, blood system, electrolytes as well as carbohydrate and lipid metabolism.

Key words : *Murdannia loriformis*, clinical blood chemistry, hematology, subacute effects

P23: SUBACUTE EFFECTS OF *CENTELLA ASIATICA* ETHANOLIC EXTRACT ON CLINICAL BLOOD CHEMISTRY AND HEMATOLOGY IN RATS

Chatchanee Phongjit¹, Naunsri Niwattisaiwong², Chaiyo Chaichantipyuth³, Laddawal Phivthong-ngam⁴, Mayuree Tantisira¹, Somsong Lawanprasert¹

¹Pharmacological Action of Natural Products Research Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand. ²Department of Pharmaceutical Chemistry, and ³Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand. ⁴Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Thailand.

ABSTRACT

Centella asiatica (Linn.) Urban, called in Thai as Bua bok, is a plant in family Umbelliferae. In this study, stems and leaves of *C. asiatica* were extracted with 80% ethanol. Subacute effect of the ethanolic extract was investigated on clinical blood chemistry and hematology. Thirty male Wistar rats were randomly divided into 3 treatment groups. Each group comprised 10 rats. Rats in the first group were given distilled water orally once daily for 30 days, serving as a control group. Rats in the second and the third groups were given *C. asiatica* ethanolic extract orally at dosages of 250 mg/kg/day and 1,000 mg/kg/day for 30 days, respectively. At the end of the treatment period, rats were anesthetized. Blood samples were collected by heart puncture and serum samples were prepared for determining hematology and clinical blood chemistry, respectively. *C. asiatica* ethanolic extract did not produce any changes on these following clinical blood chemistry and hematology : glucose, blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, direct bilirubin, total cholesterol, triglyceride (TG), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), uric acid, electrolytes (Na, K, Cl), complete blood count (CBC), white blood cell (WBC) count, %differential WBC, platelet count, red blood cell (RBC) morphology, and RBC indices (% mean corpuscular volume, MCV; % mean corpuscular hemoglobin, MCH; and % mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC). Results from this study implied that *C. asiatica* caused no harmful effects on various important organs/systems at the doses of pharmacologically active. Thus, this plant is valuable to be developed for using therapeutically in the future.

Key words : *Centella asiatica*, clinical blood chemistry, hematology, subacute effects

**P24: EFFECTS OF THE DRIED-STEM POWDER OF
CISSUS QUADRANGULARIS ON HEPATIC CYTOCHROME P450,
CLINICAL BLOOD CHEMISTRY AND HEMATOLOGY IN RATS**

Khemchat Apipalakul¹, Supatra Srichairat², Laddawal Phivthog-ngam³, Nuansri Niwattisaiwong⁴, and Somsong Lawanprasert¹.

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, ²Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, ³Department of Pharmacology Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, ⁴Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

ABSTRACT

Cissus quadrangularis Linn. is commonly used for hemorrhoidal treatment in Thailand. In this study, effects of the dried-stem powder of *C. quadrangularis* on hepatic cytochrome P450 (CYP) of these following isoforms; CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2B1/2B2, CYP 2E1 and CYP 3A, involving in carcinogenic/mutagenic bioactivation were investigated in rats. Clinical blood chemistry and hematology were also determined. Male Wistar rats were randomly divided into 3 groups of 10 rats each. The control group received distilled water orally at 1 ml/kg/day whereas the others two groups were given the dried-stem powder orally at dosages of 0.03 and 0.3 g/kg/day for 30 consecutive days. During the experimental period, body weight, food and water intake were recorded every week. No difference of growth rate, food and water consumption were shown in the *C. quadrangularis*-treated groups as compared to the control group. *C. quadrangularis* did not cause any significant changes of hepatic microsomal total CYP contents as well as the activities of CYP isoforms investigated in this study. Furthermore, clinical blood chemistry and hematology of rats were not affected. No effects of *C. quadrangularis* on these CYP isoforms excluded the possibilities of using this aspect to explain drug-drug interaction and possibilities of this plant to increase and/or decrease risks of toxicity, mutagenicity and carcinogenicity induced by xenobiotics which are bioactivated by these CYP isoforms. In addition, the dried-stem powder of *C. quadrangularis* at the doses given in this study did not produce any toxic effects on several important organs/systems such as liver, kidney, blood system, electrolyte as well as lipid and carbohydrate metabolism.

Key words : *Cissus quadrangularis*, hepatic cytochrome P450,
clinical blood chemistry

P25: VASORELAXATION EFFECT OF METFORMIN IN RAT THORACIC AORTA

Sarapee Throrarith¹, Prasan Dhumma-Upakorn¹, and Suree Jianmongkol^{1,2}.

¹Department of Pharmacology, ²Pharmacological Action of Natural Products Research Unit, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

ABSTRACT

Metformin is an oral antihyperglycemic agent used in the management of type 2 diabetes mellitus. Metformin appears to provide cardiovascular protection with intrinsic antihypertensive property. This study was to investigate the role of endothelium in metformin-induced vasorelaxation, using rat thoracic aorta isolated from adult male wistar rats (250-300 g). The aortic segments were cut helically and incubated in 15-ml organ chambers containing Krebs-Henseleit solution (KHS), pH 7.4. The medium was maintained at 37 °C and gased continuously with 95 % O₂ and 5 % CO₂. Each tissue was placed under an initial resting tension of 1 g and allowed to equilibrate for 60 min prior to the experimental protocol.

To determine the metformin-mediated relaxation in both endothelium-intact and endothelium-denuded aortic strips, the contraction was induced by the submaximal concentration of norepinephrine (NE, 10⁻⁷ M), and then followed by cumulatively addition of metformin (10⁻⁷-1.5x10⁻³ M). To probe the mechanism involve in the relaxation effect of metformin, several compounds including methylene blue (10⁻⁵ M, an inhibitor of soluble guanylyl cyclase inhibitor), indomethacin (10⁻⁵ M, an inhibitor of cyclooxygenase), tetraethylammonium (TEA, 10⁻³ M, an inhibitor of calcium-sensitive potassium channels) and glibenclamide (10⁻⁵ M, an inhibitor of ATP-sensitive potassium channels) were preincubated 15 minutes prior to precontraction with NE. The relaxation response was calculated as the percentage of NE-induced contraction.

In this study, we found that metformin caused significant vasodilation ($p < 0.05$), in comparison with the control group. The percentage of maximal relaxation in endothelium-intact (32.96±2.84, $n = 16$) was significantly higher than that of endothelium-denuded (14.93±3.07, $n = 7$) ($p < 0.05$). Moreover, Methylene blue significantly inhibited the relaxation effect of metformin in endothelium-intact segment ($p < 0.05$), but not in endothelium-denuded segment. However, the metformin-mediated relaxation was not affected by indomethacin, TEA, and glibenclamide.

In conclusion, metformin caused vasorelaxation of rat thoracic aorta both in endothelium dependent and endothelium independent manner. In endothelium-dependent relaxation, metformin may, at least in part, exert its effect through the cyclic GMP pathway.

Key words : Metformin, Thoracic aorta, Endothelium, vasodilation,

Thai Journal of Pharmacology

Instruction for Authors

The Thai Journal of Pharmacology serves as the official journal of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand. The journal is designed to contribute to the publication of researches and information exchanges in the field of pharmacology and related fields. The manuscripts should not have been published before. Original full length scientific research papers, short communication, case report, letter to editor, minireviews, pharmacological digest and new drugs profile will be included in this journal.

Manuscripts

Three copies of manuscripts, diskette(s) and illustration(s) are required. Manuscript of research articles should be written in English, the others can be either English or Thai. The preparation of the manuscript should be in the form of Microsoft Word (font: Times New Roman size 10). Pages should be numbered consecutively, including the title page.

Table and illustration should be numbered with Arabic figures consecutively in the order of first citation in the text and supply a brief title for each. Explain in footnotes all non-standard abbreviation that are used. Illustrations should be professionally drawn and photographed or produced on a laser printer.

Nomenclature should follow the recommendations of the International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC), and the International Union for Biochemistry (IUB). All measurements must be in System International (SI) units.

Research articles

The research papers should contain a) title, b) abstract, c) keywords, d) introduction, e) material and methods, f) result, g) discussion, h) references.

The title page: Should contain the title of the article, author(s) name and affiliation (s) laboratory or institute of origin and address. Name and complete address of author responsible for correspondence about the manuscript should be also placed at the foot of the title page. **An abstract** limited to approximately 250 words should be carried in this page. It should be informative and state concisely what was done, results obtained and conclusion. Three to ten **keywords** or short phrases appropriate for subject indexing should be typed at the bottom of abstract.

Introduction: State clearly the purpose of article, the rationale for the study or observation. Relevant previous study should be cited and do not review the subject extensively.

Materials and Methods: Describe the sufficient detail of the method, experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the method, apparatus (manufacturer's name and address in parenthesis). Give references to established method, study design and statistical method.

Results: Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Only important observations should be summarized and emphasized. Do not repeat in the text all the data in the table or illustrations.

Discussion: Comment on the results and integrate them with the existing knowledge and point out the field. Recommendation may also be included.

Acknowledgment: Persons, financial or technical helps which have contributed to the paper should be acknowledged in a paragraph.

References: Place the number references consecutively in the order in which they are first mention in the text. Use the style of the examples below:

Examples

Articles in journals

- (1) Standard journal article (List all authors, but if the number exceeds three give three followed by et al)

You CH, Lee KY, Chen RY, et al. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, blotting and vomiting. *Gastroenterology* 1980; 79:311-4.

- (2) Organisation as author

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

- (3) No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981;283-628.

- (4) Volume with supplement

Magni F, Borghi S, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 suppl 5:75-8.

- (5) Books and other monographs

5.1 Personal author(s)

Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.

5.2 Editor(s), compiler as author

Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York Springer-Verlag, 1988.

5.3 Chapter in a book

Jaffe JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. In: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, editors. *The Pharmacological basic of therapeutics*. 6th ed. New York: MacMillan Publishing, 1980:494-543.

5.4 Conference proceedings

Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. *Proceeding of the first AMA National Conference on Child Abuse and Neglect*; 1984; Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.

(6) Dissertation

Youseff NM. *School adjustment of children with congenital heart disease* (dissertation). Pittsburg (PA): Univ of Pittsburg, 1988.

(7) In press

Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

Reviews

All reviews are usually peer-reviewed. If the manuscript is written in Thai, English title and abstract are also required.

Short communication

Short communication should contain new and unpublished results in a short form. It should not exceed 2 print pages and may contain one table and one illustration.

Manuscript submission

All manuscripts are to be submitted to editor or associate editors, Thai Journal of Pharmacology, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Chulalongkorn Hospital, Rama IV Road, Bangkok 10330, Thailand. All paper are critically reviewed by the invited referees. Reviewers' comments are usually returned to the authors. The editorial board will decide upon the time of publication and retain the right to modify the style of contribution. However, major changes will be agreed with the authors. Authors will receive 25 reprints free.

Copyright

The Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand holds the copyright on all material appearing in the journal.



สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

- ☐ เป็นรายปี ปีละ 200 บาทถ้วน
- ☐ ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วนสำหรับสมาชิกตลอดชีพ

ลงชื่อ

()

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 10400

ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่)

2. เกิดวันที่เดือน.....พ.ศ.....

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/แฟกซ์

e-mail address

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.

ชื่อสถานศึกษา

วุฒิที่ได้รับ

.....

.....

.....

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

กิตติกรรมประกาศ

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ขอขอบพระคุณผู้ให้การสนับสนุนการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 26

วันที่ 18-19 มีนาคม 2547

ดังต่อไปนี้

บริษัทสยามฟาร์มาซูติคอล จำกัด

บริษัทเครื่องดื่มกระทิงแดง จำกัด

บริษัทโอสโสมากจำกัด

บริษัทโคคา-โคล่า (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัทเนสเล่ (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัทไทยนครพัฒนาจำกัด

บริษัทโนวาร์ติส (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัทโรช (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัท เซอร์ริง-พลาว จำกัด

บริษัท เซอร์เวียร์ (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัทแอสตราซีเนก้าจำกัด

บริษัท บี.แอล.เอช. เทรดิงจำกัด

บริษัทแอตแลนติกจำกัด

บริษัทเจนเซน-ซีแลก จำกัด

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วาระประจำปี พ.ศ. 2545-2547

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนินาท
ศ.ดร.อำนวย ธิธาพันธ์
รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา
รศ. พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป
ดร.อุดม จันทรรักษ์ศรี
ผศ.ดร.เมธี สรรพานิช
รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม

ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

อุปนายก

ภญ.รศ.ดร.ยุพิน สังวรินทะ

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

เลขาธิการ

ภญ.รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา

ฝ่ายวิชาการ

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

เหรียญกษาปณ์

ภญ.รศ.ดร.จงกล เทียงดาห์

ปฎิคม

ผศ.ดร.พยงค์ วณิเกียรติ

นายทะเบียน

ภญ.รศ.สมใจ นครชัย

บรรณาธิการวารสาร

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

กรรมการกลาง

ภญ.รศ.ดร.ไขแสง โรจนสถาพร

ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม

รศ.ดร.นพ.ประวิทย์ อัครเสรินนท์

ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์

ภญ.รศ.ดร.มยุรี ดันตีสิริระ

ผศ.ทพญ.วรางคณา ชิตช่วงชัย

Duxaril®

Almitrine + Raubasine

1 เม็ดเข้า 1 เม็ดเย็น

Antihypoxic agent

Bring more oxygen to the brain and neurosensory tissue

รักษาอาการ

ความผิดปกติของหูชั้นใน อันเนื่องมาจาก
เลือดไปหล่อเลี้ยงไม่เพียงพอ เช่น

Vertigo - Tinnitus - Hearing Impairment

- ความผิดปกติเกี่ยวกับระบบประสาทอันเนื่องมาจากสมองมี
ประสิทธิภาพเสื่อมลง
- ความผิดปกติทางตาอันเนื่องมาจากเลือดไปหล่อเลี้ยงไม่เพียงพอ

Duxaril®

ดูซาริล ออกฤทธิ์ต่อระบบแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน
ของถุงลมกับเส้นเลือดฝอยในปอดซึ่งมีผลทำให้ ⁽¹⁾



- เพิ่มปริมาณออกซิเจนในเลือดให้สูงขึ้น ⁽¹⁾
- เพิ่มปริมาณออกซิเจนที่จะไปเลี้ยงสมอง ^(1, 2)
และอวัยวะรับความรู้สึกต่างๆ
- เพิ่มการเผาผลาญน้ำตาลกลูโคสของ ⁽²⁾
เนื้อเยื่อสมองทำให้ได้พลังงานมากขึ้น

(สำหรับผู้ประกอบโรคศิลปะ)

Ref:

(1) Sancier A., Manelfe C., Gaz Med. France 1980; 87, 28 (suppl): 16:22.

(2) Charpentier J. Le Praticien 1980;372: 15-21.

พศ. 201/2544

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติม ติดต่อ

บริษัท เซอร์เวียร์ (ประเทศไทย) จำกัด

โทร. 02-656-8388