

รายงานการวิจัย

การพัฒนาวิธีการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทโดยการ
เปลี่ยนแปลงระดับการกระตุ้นของ MAPKs

Development of treatment for nerve injury by modulating the activation
of MAPKs

รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์สิทธิพร แอกทอง

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล
ประจำปีงบประมาณ 2554

การบาดเจ็บของเส้นประสาทเป็นสาเหตุที่สำคัญของภาวะทุพพลภาพเนื่องจากการตายของเซลล์ประสาทและเซลล์คำจุน มีหลักฐานบ่งชี้ว่า p38 MAPK น่าจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการดังกล่าว การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ p38 ในปมประสาทไขสันหลังและเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บของเส้นประสาทและทดสอบว่า p38 เกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis ในโครงสร้างเหล่านี้หรือไม่ โดยทำให้เกิดการบาดเจ็บของเส้นประสาท sciatic แบบตัดขาด (transection) ในหนู จากนั้นเมื่อครบ 2 สัปดาห์นำเนื้อเยื่อมาศึกษาระดับ p38 และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis หนูอีกส่วนถูกแบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ p38 inhibitor คือ SB203580 ขนาด 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ต่อวันฉีดเข้าช่องท้องหรือกลุ่ม inhibitor กับกลุ่มที่ได้รับตัวทำละลาย DMSO อย่างเดียวหรือกลุ่ม control เมื่อครบ 2 สัปดาห์นำเนื้อเยื่อมาศึกษาเช่นเดียวกับหนูส่วนแรก Western blot แสดงว่าสัดส่วนของ active ต่อ total p38 (p38-P/T) ที่แสดงถึงระดับการทำงานของ p38 ในปมประสาทและเส้นประสาทไม่เปลี่ยนแปลงหลังการบาดเจ็บเช่นเดียวกับ p38 substrate คือ ATF2 นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มระดับ total caspase-3 หลังการบาดเจ็บด้วย Immunohistochemistry แสดงว่าโปรตีนเหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ในเซลล์ประสาทในปมประสาทและเซลล์คำจุนในเส้นประสาท เมื่อให้ยายับยั้ง p38 พบว่าทำให้ลดระดับการทำงานของ p38, ATF2 และระดับ total caspase-3 โดยเฉพาะในปมประสาท ข้อมูลเหล่านี้แสดงว่า p38 น่าจะเกี่ยวข้องกับภาวะ apoptosis ในปมประสาทไขสันหลังในภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บ ซึ่งจำเป็นต้องยืนยันโดยการศึกษานี้ในแง่ apoptosis โดยตรง

Nerve injury remains the major cause of disability due to neuronal and glial cell apoptosis. Evidence suggests the possible role of p38 in these events. This study was aimed to examine the status of p38 in spinal ganglia and sciatic nerve after injury and to test if p38 is involved in the apoptosis. Complete injury (transection) of sciatic nerve was induced in rats and the tissues were removed for determining the levels of p38 and apoptosis-related proteins after 2 weeks. In another experiment, the rats received either specific p38 inhibitor (SB203580) 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ i.p. (inhibitor group) or vehicle (DMSO) only (control group) and the tissues removed at 2 weeks post-injury. Western blot showed no changes in the ratio of active to total p38 (p38-P/T) which indicates its status, in the DRG and sciatic nerve after injury. Results of the p38 substrate, ATF2, were similar. However, the expression of total caspase-3 was increased after injury. Immunohistochemistry showed the main locations of these proteins in the DRG neurons and Schwann cells. With the p38 inhibitor, activities of p38 and ATF2 including levels of total caspase-3 were decreased, especially in the DRG. These data indicates that p38 is likely involved in the apoptosis of DRG neurons after nerve injury which should be verified by direct studies on the apoptosis.

สารบัญเรื่อง (Table of contents)

| | หน้า |
|--|------|
| ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย | 6 |
| การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 6 |
| วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย | 7 |
| ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย | 7 |
| วิธีดำเนินการวิจัย | 7 |
| ผลการวิจัย | 9 |
| อภิปรายผลการวิจัย | 16 |
| ข้อสรุปและเสนอแนะ | 17 |
| บรรณานุกรม | 17 |
| ประวัติคณะผู้วิจัย | 18 |

สารบัญภาพ (List of illustration)

| | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1 ระดับของ total caspase-3 ในปมประสาทไขสันหลัง | 10 |
| รูปที่ 2 ระดับของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic | 10 |
| รูปที่ 3 น้ำหนักของหนูกลุ่ม control และกลุ่มที่ได้ p38 inhibitor | 11 |
| รูปที่ 4 ระดับของ p38 ใน DRG | 11 |
| รูปที่ 5 ระดับของ p38 ในเส้นประสาท sciatic | 12 |
| รูปที่ 6 ระดับของ ATF2 ใน DRG | 13 |
| รูปที่ 7 ระดับของ ATF2 ในเส้นประสาท sciatic | 13 |
| รูปที่ 8 ระดับของ total caspase-3 ใน DRG | 14 |
| รูปที่ 9 ระดับของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic | 14 |
| รูปที่ 10 ตำแหน่งของ p38-P และ total caspase-3 ใน DRG | 15 |
| รูปที่ 11 ตำแหน่งของ p38-P ในเส้นประสาท sciatic | 15 |
| รูปที่ 12 ตำแหน่งของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic | 15 |

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of abbreviations)

| | |
|--------|--------------------------------------|
| ABC | Avidin-biotin complex |
| ATF2 | Activation of transcription factor 2 |
| ATF2-P | Phosphorylated form of ATF2 |
| ATF2-T | Total form of ATF2 |
| DAB | Diaminobenzidine |
| DMSO | Dimethylsulfoxide |
| DRG | Dorsal root ganglion |
| HSP27 | Heat shock protein 27 |
| FITC | Fluorescein isothiocyanate |
| MAPKs | Mitogen-activated protein kinases |
| p38-P | Phosphorylated form of p38 |
| p38-T | Total form of p38 |
| PFA | Paraformaldehyde |
| SEM | Standard error of mean |

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันพบปัญหาการบาดเจ็บของเส้นประสาทมากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอุบัติเหตุบนถนน การทำร้ายร่างกาย และอุบัติเหตุในโรงงานอุตสาหกรรมเป็นหลัก ซึ่งมักเกิดการบาดเจ็บที่เส้นประสาทของแขนขา ผลของเส้นประสาทบาดเจ็บนี้ทำให้ผู้ป่วยใช้แขนหรือขาที่มีปัญหาได้จำกัด หรืออาจเกิดอัมพาตของร่างกายส่วนดังกล่าว เป็นผลให้เกิดภาวะทุพพลภาพ สูญเสียรายได้ สุขภาพจิตเสียรวมทั้งเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อประเทศอีกด้วย ดังนั้นการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทเพื่อให้มีการคืนหน้าที่สมบูรณ์และรวดเร็วที่สุดจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

ถึงแม้ว่าเส้นประสาทที่บาดเจ็บจะสามารถซ่อมแซมตัวเอง โดยแขนงของเซลล์ประสาทที่ขาดสามารถงอกออกมาใหม่จนกระทั่งกลับไปสู่อวัยวะส่วนปลายได้ แต่โดยปกติแล้วจะใช้เวลานานมาก และการคืนหน้าที่มักยังบกพร่องอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากเส้นประสาทงอกได้ช้าและมักมีการตายของเซลล์ประสาทที่บาดเจ็บไปบางส่วน จึงมีความพยายามศึกษาถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บและการงอกใหม่ของเส้นประสาท เพื่อสามารถพัฒนาเป็นวิธีการรักษาภาวะนี้ในผู้ป่วยต่อไป

มีหลักฐานการศึกษาว่ากลุ่มของเอนไซม์ mitogen-activated protein kinases (MAPKs) ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มย่อย 3 กลุ่ม คือ extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun amino-terminal kinase (JNK) และ p38 kinase มีการทำงานเปลี่ยนแปลงไปหลังมีการบาดเจ็บของเส้นประสาท สำหรับ p38 นั้นมีข้อมูลเบื้องต้นบ่งชี้ว่า p38 น่าจะมีผลต่อการตายของเซลล์ประสาทรวมทั้งเซลล์แคว้น ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การคืนหน้าที่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บเกิดได้ช้าและไม่สมบูรณ์ แต่ยังไม่มีการศึกษาเพื่อยืนยันสมมุติฐานดังกล่าวนี้ ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมถึงบทบาทของ p38 ต่อการบาดเจ็บของเส้นประสาท จึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาวิธีการรักษาภาวะนี้โดยการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ p38 ต่อไปในอนาคต

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษาพบการกระตุ้น p38 ในเซลล์ประสาทสังกาวไนไซสันหลังและแขนงหลังเส้นประสาทถูกตัด (1) อีกการศึกษาพบการกระตุ้น p38 ในเส้นประสาทของหนูทั้งส่วนต้นและส่วนปลายต่อตำแหน่งที่เสียหายภายใน 1 สัปดาห์ (2) นอกจากนี้ในโมเดลการศึกษาความเจ็บปวดของเส้นประสาท (neuropathic pain) ก็มีการทำให้เส้นประสาทบาดเจ็บโดยการผูกไหมรัดให้แน่นโดยรอบรากประสาท (spinal nerve root ligation) และพบมีการกระตุ้นของ p38 ในเซลล์ประสาทรับความรู้สึกในปมประสาทไขสันหลัง (spinal or dorsal root ganglia - DRG) และใน dorsal horn ของไขสันหลังด้วย (3-6) สำหรับบทบาทในกรณีเส้นประสาทบาดเจ็บนั้น ในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงพบว่า p38 เกี่ยวข้องกับการงอกใหม่ของแขนงเซลล์ (7-8) ส่วนในสัตว์ทดลอง การศึกษาโดย Myers และคณะ (2) รายงานว่า p38 ที่ถูกกระตุ้นหลังเส้นประสาทบาดเจ็บพบที่ Schwann cell ซึ่งเป็นเซลล์

ค่าจูนของเส้นประสาท และน่าจะเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ดังกล่าว ซึ่งเมื่อให้ inhibitor จำเพาะของ p38 ในสัตว์จะเพิ่มระยะในการงอกใหม่ของเส้นประสาท นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า p38 อาจมีบทบาทต่อการสร้างเยื่อหุ้ม myelin โดย Schwann cell ในเส้นประสาทด้วย (9) นอกจากนี้การงอกใหม่ของเส้นประสาทแล้ว เซลล์ประสาทที่แขนงได้รับความเสียหายจากการบาดเจ็บยังมีการตายแบบ apoptosis เกิดขึ้นด้วย (10-11) การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า p38 เกี่ยวข้องกับ apoptosis ของเซลล์ประสาทจากภาวะน้ำตาลสูง (12) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการกระตุ้น p38 ที่พบในเซลล์ประสาทอาจเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์หลังการบาดเจ็บได้ ซึ่งต้องพิสูจน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ p38 ใน DRG และเส้นประสาทในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท
2. เพื่อศึกษาบทบาทของ p38 ต่อภาวะ apoptosis ใน DRG และเส้นประสาทหลังมีการบาดเจ็บ โดยใช้การยับยั้ง p38 ด้วย inhibitor ที่จำเพาะ

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

เนื่องจากหลังการบาดเจ็บของเส้นประสาทจะเกิดการตายของเซลล์ประสาทใน DRG และการตายของเซลล์ค่าจูนร่วมกับการเสื่อมสลายของ axon ในส่วนที่ต่ำกว่าการบาดเจ็บ (Wallerian degeneration) หลังจากนั้นจะมีการงอกใหม่ของ axon (axonal regeneration) จากเซลล์ประสาทที่ยังรอดอยู่ ซึ่ง p38 ที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานในภาวะนี้ อาจมีบทบาทต่อการตายของเซลล์เหล่านี้ จึงเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ p38 อย่างถูกต้อง อาจช่วยลดการตายของเซลล์ประสาทและเซลล์ค่าจูน ส่งผลให้เกิดการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทได้เร็วและดีขึ้น อันจะเป็นผลดีต่อผู้ป่วยที่เกิดการบาดเจ็บของเส้นประสาทต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ความรู้ใหม่เกี่ยวกับบทบาทของ p38 ในการตายของเซลล์ประสาทและเซลล์ค่าจูนที่แน่ชัด จะเป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนาวิธีการรักษาที่มีเป้าหมายที่ p38 MAPK ในผู้ป่วยที่มีเส้นประสาทบาดเจ็บต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองในสัตว์และเก็บชิ้นเนื้อ

1. Pilot study เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis ในปมประสาทไขสันหลังและเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บของเส้นประสาท
ทั้งนี้ได้ใช้ชิ้นเนื้อที่เหลือจากโครงการอื่นที่เสร็จสิ้นไปแล้วมาทำการศึกษาเบื้องต้นดังนี้

- 1.1 ใช้ปมประสาทไขสันหลังระดับ lumbar ที่ 4 และ 5 (L4/5 DRG) รวมทั้งเส้นประสาท sciatic ข้างที่ปกติและข้างที่ผ่าตัดแบบ transection (เส้นประสาทถูกตัดแยกออกเป็น proximal และ distal stump โดยทิ้งไว้ไม่เย็บให้ต่อกัน) ผ่านไป 2 สัปดาห์ จากหนู 4 ตัว
- 1.2 ทำการวัดระดับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะ apoptosis คือ Bcl-2, HSP (heat shock protein) 27, Bax, total/cleaved (active) caspase-3 ทั้งในปมประสาทและเส้นประสาท ด้วยเทคนิค Western blot
2. การศึกษาผลการยับยั้ง p38 ด้วย inhibitor จำเพาะต่อระดับการทำงานของ p38 และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis หลังมีการบาดเจ็บของเส้นประสาท
 - 2.1 ใช้หนู Wistar เพศผู้จำนวน 14 ตัว ดมยาสลบและผ่าตัดทุกตัว โดยทำให้เส้นประสาทบาดเจ็บแบบ transection คือตัดเส้นประสาท sciatic ข้างซ้ายที่ระดับกึ่งกลางต้นขาออกยาว 5 mm เพื่อให้ปลายแยกห่างจากกัน เสร็จแล้วเย็บปิดผิวหนังและรอให้หนูฟื้น
 - 2.2 เมื่อหนูฟื้นดีแล้วในวันเดียวกัน แบ่งหนูออกเป็น 2 กลุ่ม คือ
 - กลุ่มที่ได้รับ p38 inhibitor (SB203580) หรือกลุ่ม inhibitor (I, n=7)
 - กลุ่มที่ได้รับเฉพาะ vehicle ของ SB203580 คือ DMSO หรือกลุ่ม control (C, n=7)
 จากนั้นฉีดยา SB203580 ที่ละลายใน DMSO ในขนาด 200 µg/kg เข้าช่องท้องหนูกลุ่ม I ส่วนกลุ่ม C ฉีดเฉพาะ DMSO โดยฉีดยาทุกวันวันละครั้ง
 - 2.3 เมื่อครบ 2 สัปดาห์หลังผ่าตัด ฆ่าหนูทั้งหมด โดยใน 6 ตัวของแต่ละกลุ่ม ดมยาสลบเกินขนาดแล้วผ่าตัดทันทีเพื่อเอา L4/5 DRG ออกมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70°C จนกว่าจะใช้วิเคราะห์ระดับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis และ total/phosphorylated (active) p38 รวมทั้ง substrate ของ p38 คือ total/phosphorylated ATF2 ด้วยเทคนิค Western blot
 - 2.4 ในหนูอีก 1 ตัวของกลุ่ม หลังให้ยาสลบเกินขนาดแล้วทำ perfusion โดยการฉีดน้ำเกลือตามด้วย 4% paraformaldehyde (PFA) ผ่านหัวใจ เสร็จแล้วผ่าตัดเลาะเก็บ L4/5 DRG และเส้นประสาท sciatic แช่ใน 4%PFA อีก 6 ชั่วโมงและเปลี่ยนแช่ใน 30% sucrose เพื่อฝังใน OCT ชินเนื้อเหล่านี้จะถูกนำไปวิเคราะห์ตำแหน่งของโปรตีนว่าอยู่ในเซลล์ประสาทหรือเซลล์ค้าจุนด้วยเทคนิค immunohistochemistry

การวัดระดับโปรตีนด้วยเทคนิค Western blot

1. นำเนื้อเยื่อไปปั่น (homogenization) และหาความเข้มข้นของโปรตีนด้วยวิธีของ Bramhall (13)
2. แยกโปรตีนด้วยเทคนิค sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) จากนั้นทำการย้ายโปรตีนจาก gel ไปที่ nitrocellulose membrane

3. ตรวจวัดระดับโปรตีนที่สนใจโดยใช้ commercial kit คือ Vectastain kit (Vector) ซึ่งอาศัยหลักการ Avidin-Biotin Complex (ABC) โดยย้อมคือ ใส่ primary antibody ที่จำเพาะต่อ Bcl-2, HSP27, Bax, total/cleaved caspase-3, total/active p38 และ total/active ATF2 ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นล้างด้วย buffer แล้วใส่ secondary antibody ที่ติดฉลากกับ biotin ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
4. ล้าง membrane แล้วตรวจสอบระดับของโปรตีนที่ต้องการใน membrane โดยใส่ ABC ที่ติดฉลากกับ peroxidase จากนั้นเติม substrate ของ peroxidase คือ DAB เพื่อให้เกิดเป็นแถบสี
5. สแกนแถบสีบน membrane เป็นไฟล์ภาพแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม image analysis ด้วยวิธีอ่านค่าความเข้มของแถบ (densitometric analysis) เพื่อหาระดับโปรตีน โดยในกรณีของ caspase-3, p38 และ ATF2 นั้น ต้องคำนวณหาค่าสัดส่วนของระดับ active ต่อ total form ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงระดับการทำงานของโปรตีนเหล่านี้

การบอกตำแหน่งของโปรตีนด้วยเทคนิค Immunohistochemistry

1. ตัด DRG และเส้นประสาท sciatic ที่ฝังใน OCT ด้วยเครื่องตัด cryostat หนา 5 และ 12 μm ตามลำดับ
2. ป้องกัน nonspecific binding ของ antibody ที่จะใช้ต่อไปโดยแช่ section ใน 10% normal serum ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องครึ่งชั่วโมง
3. ใส่ primary antibody ต่อโปรตีนที่สนใจทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้าง slide จากนั้นใช้หลักการ ABC เพื่อแสดงตำแหน่งโปรตีน โดยใส่ biotinylated secondary antibody ตามด้วย avidin-FITC (Vector) ทำการ mount แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ fluorescence
4. ในขั้นตอนที่ 3 ก่อน mount หากต้องการทราบว่าโปรตีนอยู่ที่ Schwann cell ในเส้นประสาทหรือไม่ ให้ทำการย้อมต่อด้วย antibody ต่อ S100 ซึ่งเป็น marker ของ Schwann cell ตามด้วย biotinylated secondary antibody และ avidin-rhodamine ตามลำดับ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบน้ำหนักระหว่างกลุ่มทดลอง ระดับโปรตีนระหว่างปมประสาทและเส้นประสาททั้งสองข้างรวมทั้งระหว่างกลุ่มด้วย Student's t test ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

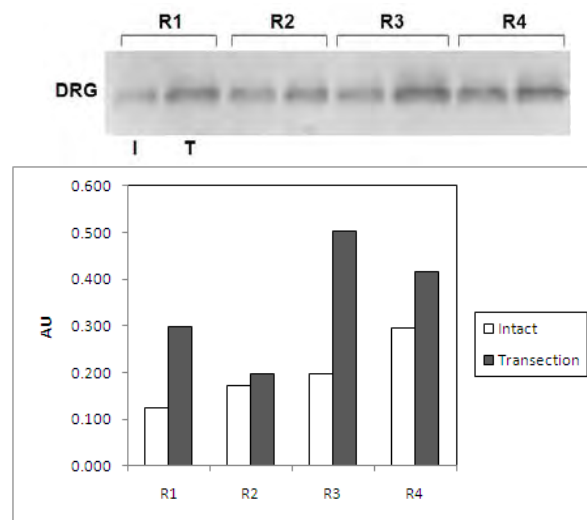
ผลการวิจัย

1. Pilot study ดูการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis ใน DRG และเส้นประสาท sciatic หลังการบาดเจ็บ

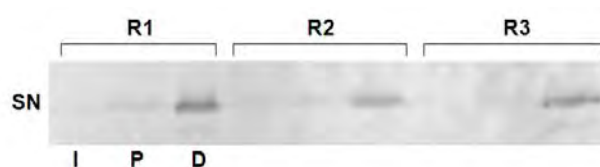
พบว่าระดับของ Bcl-2, HSP27 และ Bax ใน DRG และเส้นประสาท sciatic ต่ำมากจนไม่เห็นปรากฏเป็นแถบในการทำ Western blot มีเฉพาะ total caspase-3 เท่านั้นที่เห็นแถบและสามารถวิเคราะห์ต่อได้ โดยพบว่า total caspase-3 มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นใน DRG ข้างที่ทำผ่าตัด transection เมื่อเทียบกับข้างที่ปกติในชั้นเนื้อจากหนูทั้ง 4 ตัว (รูปที่ 1) ซึ่งค่าเฉลี่ยสัดส่วนของข้างที่ผ่าตัดเทียบกับข้างปกติเท่ากับ 1.87 ± 0.35 (SEM) นอกจากนี้ในเส้นประสาท sciatic ก็พบการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายกัน คือ มีระดับของ total caspase-3 ในส่วน distal stump ที่ต่ำกว่ารอยตัดมากกว่าข้างปกติและส่วน proximal stump ที่อยู่เหนือรอยผ่าตัด ซึ่งแทบไม่เห็นแถบ (รูปที่ 2) ดังนั้นจึงไม่ได้วัดปริมาณความเข้มแถบเปรียบเทียบกันในกรณีนี้

สรุปได้ว่าการเพิ่มระดับของ total caspase-3 ใน DRG และเส้นประสาท sciatic โดยเฉพาะส่วน distal stump ในข้างที่ผ่าตัด transection ส่วน cleaved caspase-3 และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis อื่นๆ มีระดับต่ำมากจนวิเคราะห์ไม่ได้

- การศึกษาผลการยับยั้ง p38 ด้วย inhibitor ต่อระดับการทำงานของ p38, ATF2 และ caspase-3 หลังมีการบาดเจ็บของเส้นประสาท



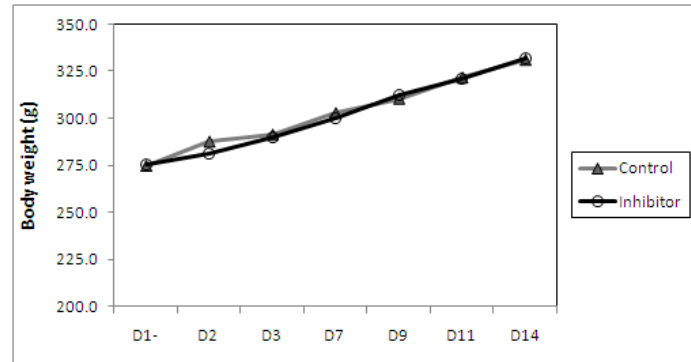
รูปที่ 1 ระดับของ total caspase-3 ในปมประสาทไขสันหลัง (DRG) ของหนู 4 ตัว (R1-4) ทั้งข้างที่ปกติ (intact, I) และข้างที่ผ่าตัด transection (T)



รูปที่ 2 ระดับของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic (SN) ของหนู 4 ตัว (R1-3) ทั้งข้างที่ปกติ (intact, I) และข้างที่ผ่าตัด transection ในส่วน proximal stump (P) และ distal stump (D)

น้ำหนักของสัตว์ทดลอง

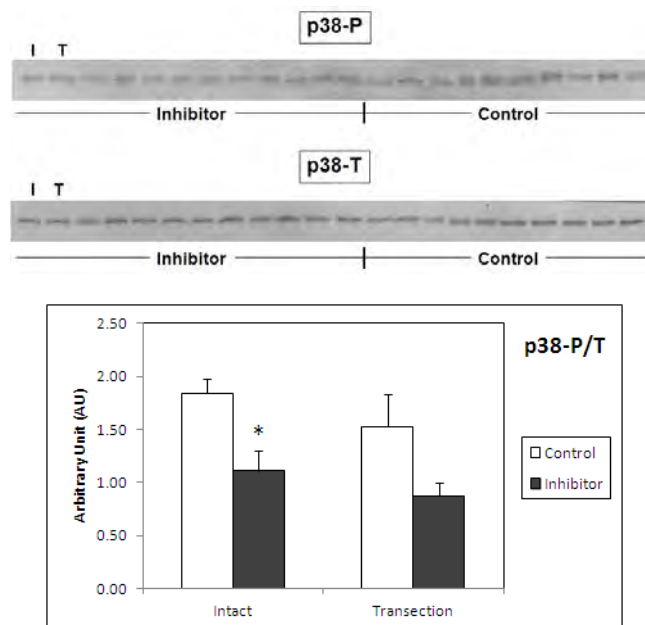
น้ำหนักเฉลี่ยของหนูกลุ่ม control และกลุ่ม p38 inhibitor ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 3) บ่งชี้ว่า p38 inhibitor ที่ให้ในขนาด 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ไม่มีผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตเพิ่มน้ำหนักของหนู



รูปที่ 3 น้ำหนักตัวของหนูตามเวลาตั้งแต่ 1 วันก่อนผ่าตัด (D1-) จนถึง 14 วันหลังผ่าตัด (D14) ของหนูกลุ่ม control และกลุ่มที่ได้ p38 inhibitor

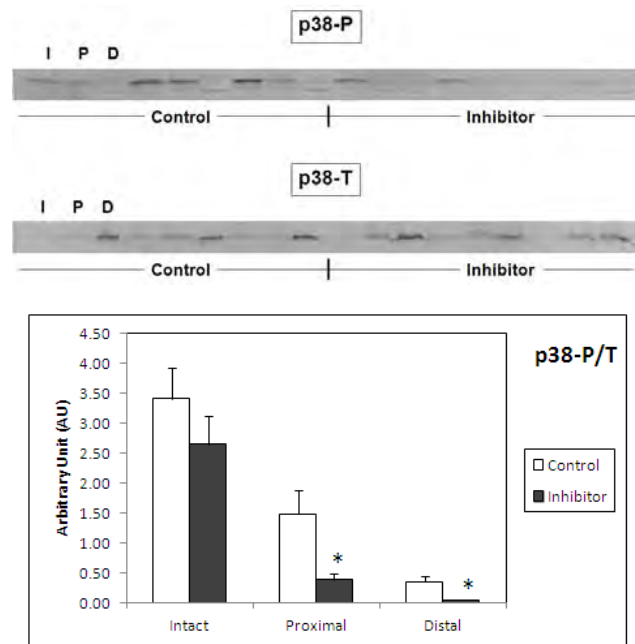
ระดับการทำงานของ p38

ใน DRG พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ p38 หลังมีการบาดเจ็บของเส้นประสาทในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่ม (รูปที่ 4) แต่มีการทำงานลดลงในกลุ่ม inhibitor เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ทั้งข้างที่ปกติและข้างที่ผ่าตัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 4 ระดับของ p38 ในรูป active (p38-P) และ total (p38-T) ใน L4/5 DRG ข้างที่ปกติ (intact, I) และข้างที่บาดเจ็บ (transection, T) จากหนูกลุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่าสัดส่วน p38-P ต่อ p38-T เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.05$ vs. control

ส่วนในเส้นประสาท sciatic พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ p38-T ในข้างที่บาดเจ็บส่วน distal แต่กลับมีระดับ p38-P ลดลง (รูปที่ 5) ทำให้ค่าสัดส่วน p38-P/T สูงสุดในเส้นประสาทข้างที่ปกติ และลดลงตามลำดับในข้างที่บาดเจ็บส่วน proximal กับ distal ทั้งนี้ค่าสัดส่วนนี้ของกลุ่ม inhibitor น้อยกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



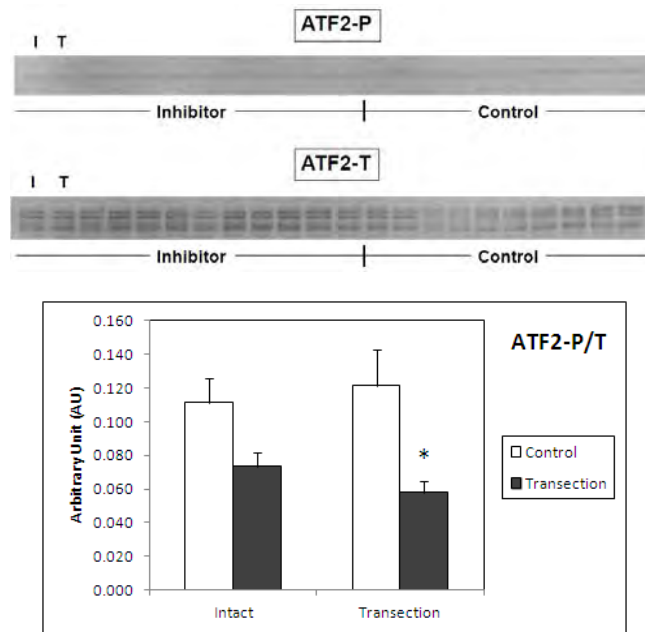
รูปที่ 5 ระดับของ p38 ในรูป active (p38-P) และ total (p38-T) ในเส้นประสาท sciatic ข้างที่ปกติ (intact, I) ข้างที่บาดเจ็บทั้งส่วนต้น (proximal, P) และส่วนปลาย (distal, D) จากหนูกุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่าสัดส่วน p38-P ต่อ p38-T เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.05$ vs. control

ระดับการทำงานของ ATF2

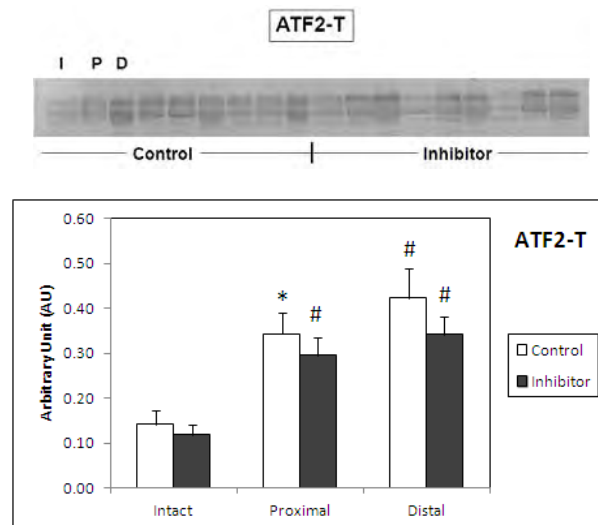
ใน DRG พบว่าระดับการทำงานของ ATF2 ไม่แตกต่างกันระหว่างข้างปกติและข้างที่ผ่าตัด แต่ลดลงในกลุ่ม inhibitor เมื่อเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (รูปที่ 6) สำหรับในเส้นประสาท sciatic ไม่สามารถตรวจวัด ATF2-P ได้ ทำให้วัดได้เฉพาะ ATF2-T ซึ่งพบว่ามีระดับเพิ่มขึ้นในเส้นประสาทข้างที่บาดเจ็บอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับข้างปกติ ($p < 0.05/0.01$) (รูปที่ 7) และกลุ่ม inhibitor มีระดับ ATF2-T ใกล้เคียงกับกลุ่ม control

ระดับของ total caspase-3

พบว่าระดับ total caspase-3 เพิ่มขึ้นใน DRG ข้างที่ทำ transection เมื่อเทียบกับข้างปกติ อย่างมีนัยสำคัญทั้งในกลุ่ม control ($p < 0.01$) และ inhibitor ($p < 0.05$) (รูปที่ 8) โดยค่าของกลุ่ม inhibitor น้อยกว่ากลุ่ม control โดยเฉพาะข้างที่ผ่าตัด ($p < 0.05$)

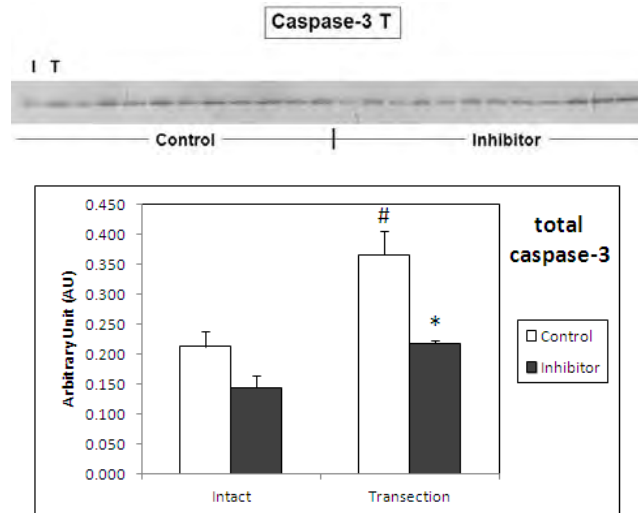


รูปที่ 6 ระดับของ ATF2 ในรูป active (ATF2-P) และ total (ATF2-T) ใน L4/5 DRG ข้างที่ปกติ (intact, I) และข้างที่บาดเจ็บ (transection, T) จากหนูกุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่าสัดส่วน ATF2-P ต่อ ATF2-T เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.05$ vs. control

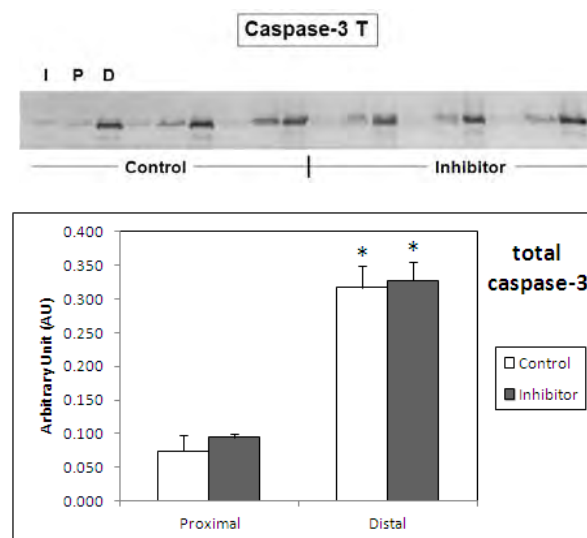


รูปที่ 7 ระดับของ ATF2 ในรูป total (ATF2-T) ในเส้นประสาท sciatic ข้างที่ปกติ (intact, I) ข้างที่บาดเจ็บทั้งส่วนต้น (proximal, P) และส่วนปลาย (distal, D) จากหนูกุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่า ATF2-T เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.05$ vs. intact, # $p < 0.01$ vs. intact

ในเส้นประสาท sciatic ระดับ total caspase-3 เพิ่มขึ้นในข้างที่บาดเจ็บเมื่อเทียบกับข้างปกติ ทั้งนี้ระดับในข้างปกติค่อนข้างน้อยจนไม่สามารถอ่านค่าได้ ทำให้วิเคราะห์ค่าได้เฉพาะข้างที่บาดเจ็บ proximal และ distal โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม (รูปที่ 9)



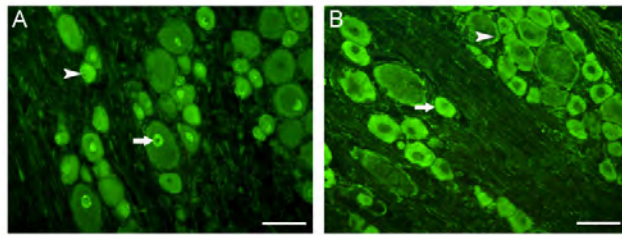
รูปที่ 8 ระดับของ total caspase-3 ใน L4/5 DRG ข้างที่ปกติ (intact, I) และข้างที่บาดเจ็บ (transection, T) จากหนูกลุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่า total caspase-3 เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.05$ vs. intact & control, # $p < 0.01$ vs. intact



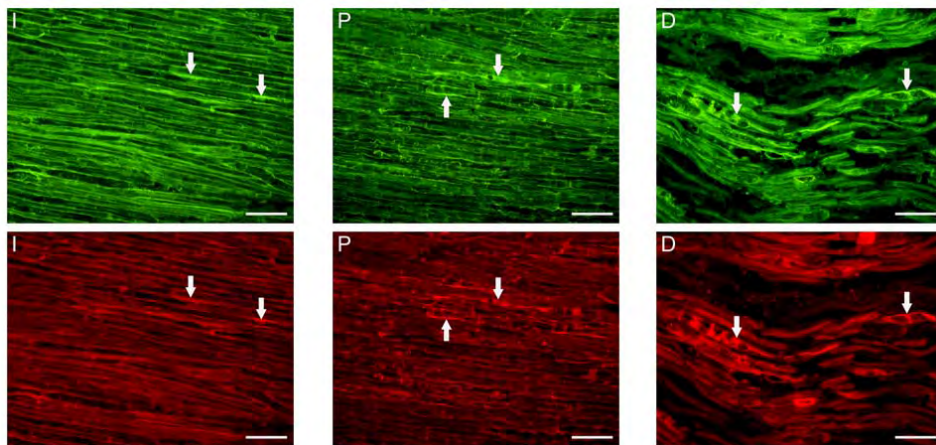
รูปที่ 9 ระดับของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic ข้างที่ปกติ (intact, I) ข้างที่บาดเจ็บทั้งส่วนต้น (proximal, P) และส่วนปลาย (distal, D) จากหนูกลุ่ม control และ inhibitor กราฟแสดงค่า total caspase-3 เป็นค่าเฉลี่ยและ SEM * $p < 0.001$ vs. proximal

ตำแหน่งของ p38 และ caspase-3 ใน DRG และเส้นประสาท sciatic

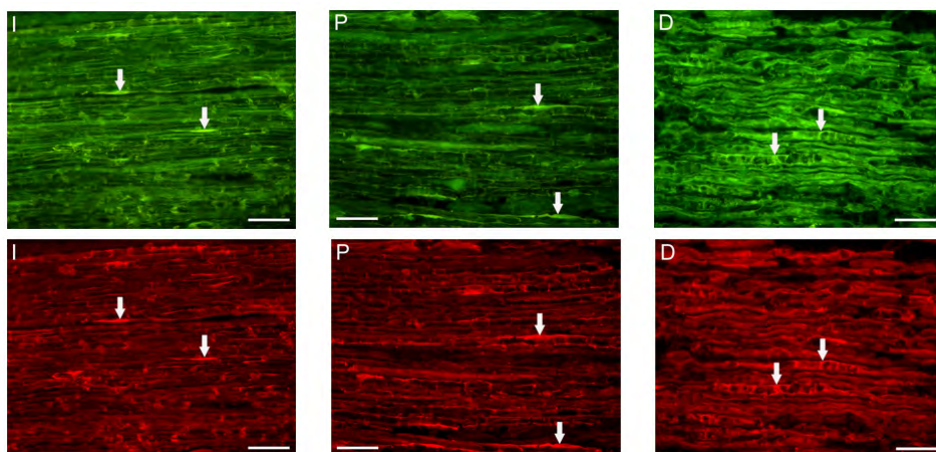
พบตำแหน่งของ p38-P ใน DRG อยู่ที่ nucleus ของ neuron ขนาดกลางถึงเล็ก รวมทั้งใน cytoplasm ของบางเซลล์ด้วย (รูปที่ 10A) ส่วน total caspase-3 อยู่ที่ cytoplasm ของ neuron ขนาดกลางถึงเล็กและ satellite cell รอบเซลล์ขนาดใหญ่ด้วย (รูปที่ 10B) ส่วนผลของ ATF2-P นั้นคล้ายกับของ p38-P จึงไม่ได้แสดงผลการทดลองไว้ ณ ที่นี้



รูปที่ 10 ตำแหน่งของ p38-P (A) และ total caspase-3 (B) ใน DRG รูป A หัวลูกศรและลูกศรแสดงตำแหน่งที่พบใน cytoplasm และ nucleus ของ neuron ตามลำดับ รูป B หัวลูกศรและลูกศรแสดงตำแหน่งที่พบใน satellite cell และ cytoplasm ของ neuron ตามลำดับ Scale bars = 50 μ m



รูปที่ 11 ตำแหน่งของ p38-P ในเส้นประสาท sciatic ข้างปกติ (intact, I) และข้างที่บาดเจ็บส่วน proximal (P) และ distal (D) รูปแถวบนแสดงตำแหน่งของ p38-P แถวล่างแสดงตำแหน่งของ S-100 (Schwann cell marker) ในบริเวณเดียวกัน ลูกศรแสดงตำแหน่งที่พบใน Schwann cell Scale bars = 50 μ m



รูปที่ 12 ตำแหน่งของ total caspase-3 ในเส้นประสาท sciatic ข้างปกติ (intact, I) และข้างที่บาดเจ็บส่วน proximal (P) และ distal (D) แถวบนแสดงตำแหน่งของ p38-P แถวล่างแสดงตำแหน่งของ S-100 (Schwann cell marker) ในบริเวณเดียวกัน ลูกศรแสดงตำแหน่งที่พบใน Schwann cell Scale bars = 50 μ m

ในกรณีของเส้นประสาท พบตำแหน่งของ p38-P อยู่ที่ Schwann cell เป็นหลักทั้งในเส้นประสาทข้างที่ปกติและข้างที่บาดเจ็บ ซึ่งบอกได้จากตำแหน่งที่ตรงกับ Schwann cell marker คือ S-100 (รูปที่ 11) ผลของ total caspase-3 คล้ายคลึงกับของ p38-P (รูปที่ 12)

อภิปรายผลการวิจัย

ผลการศึกษาของ pilot study แสดงว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ total caspase-3 ใน DRG และเส้นประสาท sciatic หลังการบาดเจ็บแบบ transection เมื่อเทียบกับข้างปกติ โดย caspase-3 นี้มีบทบาทในกระบวนการ apoptosis ถึงแม้จะไม่สามารถวัดระดับของ active หรือ cleaved form ของ caspase-3 ที่แสดงถึงระดับการกระตุ้นได้ แต่การเพิ่มขึ้นของระดับ total caspase-3 นี้ น่าจะบ่งถึงการตายของ DRG neuron และ Schwann cell ในเส้นประสาทที่มากขึ้นหลังการบาดเจ็บสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (11,14) โดยผล immunohistochemistry ในการศึกษาที่ยืนยันตำแหน่งของ total caspase-3 ใน DRG neuron และ Schwann cell จริง ส่วนโปรตีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis ได้แก่ Bcl-2, HSP27, Bax มีระดับต่ำจนไม่สามารถวัดระดับได้ ดังนั้นการศึกษาในช่วงต่อไปจึงได้เลือก total caspase-3 เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงภาวะ apoptosis

ผลการศึกษาระดับการทำงานของ p38 และ substrate คือ ATF2 พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน DRG หลังการบาดเจ็บของเส้นประสาท แต่กลับมีการลดลงของ p38 ในเส้นประสาทข้างที่บาดเจ็บ สำหรับกรณี total ATF2 ที่เพิ่มขึ้นในเส้นประสาทที่บาดเจ็บนั้นไม่สามารถตีความได้ เพราะไม่สามารถตรวจวัดระดับ active ATF2 ที่จะบ่งถึงระดับการทำงานได้ โดยพบ p38-P และ ATF2-P อยู่ที่ DRG neuron และ Schwann cell การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานผลแตกต่างกัน Kim และคณะพบมีจำนวนของ DRG neuron ที่มี p38-P ลดลงใน 2 สัปดาห์หลังเส้นประสาทบาดเจ็บ (15) ส่วนการศึกษาของ Temporin และคณะแสดงว่ามีการกระตุ้น p38 ใน DRG neuron เพาะเลี้ยงที่กำลังมีการงอกของ axon หลังบาดเจ็บ (16) Kikuchi และคณะรายงานว่ามีการกระตุ้น p38 ใน retinal ganglion cell หลังมีการบาดเจ็บของเส้นประสาท optic (17) นอกจากนี้พบการกระตุ้น p38 ในเส้นประสาทของหนูทั้งส่วนต้นและส่วนปลายต่อตำแหน่งที่บาดเจ็บภายใน 1 สัปดาห์ (2) ซึ่งผลการทดลองที่ไม่ตรงกันกับการศึกษานี้ อาจเป็นเพราะรายละเอียดของการทดลองแตกต่างกันทั้งในแง่ลักษณะการบาดเจ็บของเส้นประสาท วิธีวิเคราะห์การทำงานของ p38 การทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยงกับในสัตว์ รวมทั้งชนิดของเซลล์ประสาทด้วย

เมื่อยับยั้งการทำงานของ p38 โดยใช้ p38 inhibitor ที่จำเพาะคือ SB203580 พบว่าระดับการทำงานของ p38 ลดลงใน DRG และเส้นประสาททั้งข้างที่ปกติและข้างที่บาดเจ็บเมื่อเทียบกับกลุ่ม control นอกจากนี้ inhibitor ยังลดระดับการทำงานของ ATF2 ใน DRG ด้วยแต่ไม่มีผลต่อระดับ total ATF2 ในเส้นประสาท ข้อมูลเหล่านี้แสดงว่าการให้ p38 inhibitor ในการทดลองนี้มี

ประสิทธิภาพในการลดระดับการทำงานของ p38 และ substrate คือ ATF2 ได้ เมื่อดูระดับของ total caspase-3 พบว่ากลุ่ม inhibitor มีระดับต่ำกว่ากลุ่ม control ใน DRG แต่ระดับใกล้เคียงกันระหว่างกลุ่มในกรณีเส้นประสาท จึงสรุปได้ว่าการยับยั้ง p38 ช่วยยับยั้งการเพิ่มของ total caspase-3 ใน DRG และอาจมีผลดีต่อภาวะ apoptosis ที่เกิดจากการบาดเจ็บของเส้นประสาทได้ ทั้งนี้มีการศึกษาก่อนหน้าใช้ p38 inhibitor อีกชนิดแล้วพบว่าสามารถเพิ่มระยะการงอกใหม่ของเส้นประสาทได้ (2)

สรุปและเสนอแนะ

ในภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บไม่น่าจะมีการกระตุ้นการทำงานของ p38 แต่มีการเพิ่มระดับของ total caspase-3 ใน DRG และเส้นประสาท การยับยั้ง p38 ด้วย inhibitor จำเพาะคือ SB203580 สามารถลดการทำงานของ p38 รวมทั้งลดระดับของ total caspase-3 ได้อีกด้วย ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า p38 อาจเกี่ยวข้องกับภาวะ apoptosis ของ DRG neuron ที่เกิดขึ้นภายหลังเส้นประสาทบาดเจ็บ ซึ่งคงต้องมีการพิสูจน์สมมุติฐานนี้ต่อไปโดยศึกษาผลของการยับยั้ง p38 ต่อภาวะ apoptosis โดยตรง

บรรณานุกรม

1. Murashov AK, UI Haq I, Hill C, et al. Crosstalk between p38, Hsp25 and Akt in spinal motor neurons after sciatic nerve injury. *Brain Res Mol Brain Res*. 2001;93:199-208.
2. Myers RR, Sekiguchi Y, Kikuchi S, et al. Inhibition of p38 MAP kinase activity enhances axonal regeneration. *Exp Neurol*. 2003;184:606-614.
3. Jin SX, Zhuang ZY, Woolf CJ, Ji RR. p38 mitogen-activated protein kinase is activated after a spinal nerve ligation in spinal cord microglia and dorsal root ganglion neurons and contributes to the generation of neuropathic pain. *J Neurosci*. 2003;23:4017-4022.
4. Schafers M, Svensson CI, Sommer C, Sorkin LS. Tumor necrosis factor-alpha induces mechanical allodynia after spinal nerve ligation by activation of p38 MAPK in primary sensory neurons. *J Neurosci*. 2003;23:2517-2521.
5. Obata K, Yamanaka H, Kobayashi K, et al. Role of mitogen-activated protein kinase activation in injured and intact primary afferent neurons for mechanical and heat hypersensitivity after spinal nerve ligation. *J Neurosci*. 2004;24:10211-10222.
6. Obata K, Katsura H, Mizushima T, et al. TRPA1 induced in sensory neurons contributes to cold hyperalgesia after inflammation and nerve injury. *J Clin Invest*. 2005;115:2393-2401.
7. Morooka T, Nishida E. Requirement of p38 mitogen-activated protein kinase for neuronal differentiation in PC12 cells. *J Biol Chem*. 1998;273:24285-24288.
8. Kano Y, Nohno T, Shimada K, et al. Osmotic shock-induced neurite extension via activation of p38 mitogen-activated protein kinase and CREB. *Brain Res*. 2007;1154:1-7.

9. Fragoso G, Robertson J, Athlan E, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase interferes with cell shape changes and gene expression associated with Schwann cell myelination. *Exp Neurol*. 2003;183:34-46.
10. Arvidsson J, Ygge J, Grant G. Cell loss in lumbar dorsal root ganglia and transganglionic degeneration after sciatic nerve resection in the rat. *Brain Res*. 1986;373:15-21.
11. McKay Hart A, Brannstrom T, Wiberg M. Primary sensory neurons and satellite cells after peripheral axotomy in the adult rat: timecourse of cell death and elimination. *Exp Brain Res*. 2002;142:308-318.
12. Purves T, Middlemas A, Agthong S, et al. A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy. *FASEB J*. 2001;15:2508-2514.
13. Bramhall S, Noack N, Wu M, et al. A simple colorimetric method for determination of protein. *Anal Biochem*. 1969;31:146-148.
14. Saito H, Kanje M, Dahlin LB. Delayed nerve repair increases number of caspase 3 stained Schwann cells. *Neurosci Lett*. 2009;456:30-33.
15. Kim SY, Bae JC, Kim JY, et al. Activation of p38 MAP kinase in the rat dorsal root ganglia and spinal cord following peripheral inflammation and nerve injury. *Neuroreport*. 2002;13:2483-2486.
16. Temporin K, Tanaka H, Kuroda Y, et al. IL-1beta promotes neurite outgrowth by deactivating RhoA via p38 MAPK pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;365:375-380.
17. Kikuchi M, Tenneti L, Lipton SA. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in axotomy-induced apoptosis of rat retinal ganglion cells. *J Neurosci*. 2000;20:5037-5044.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. นายสิทธิพร แอภทอง | Mr. Sithiporn Agthong |
| 2. เลขประจำตัวประชาชน | 3 1005 02981 61 3 |
| 3. ตำแหน่งปัจจุบัน | รองศาสตราจารย์ |
| 4. หน่วยงาน | |

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02-2564281 โทรสาร 02-2527028

Email: fmedsat@md.chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

แพทยศาสตร์บัณฑิตเกียรตินิยม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2541

Ph.D. Neuroscience University of Manchester สหราชอาณาจักร พ.ศ. 2546

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

ประสาทศาสตร์, ประสาทกายวิภาคศาสตร์

Neuroscience, Neuroanatomy

7. ประสบการณ์ในการบริหารงานวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย

- โครงการวิจัยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ MAPK ERK ในเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังและเซลล์คำจุนในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท
ทุนรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ พ.ศ. 2547
- โครงการวิจัยบทบาทของ p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) ในความผิดปกติทางโครงสร้างของเส้นประสาทในโรคเบาหวาน
ทุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โครงการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พ.ศ. 2547
- การศึกษาผลการยับยั้งเอนไซม์ MAPK ERK ต่อภาวะการเสื่อมของเส้นประสาทส่วนปลายในโรคเบาหวาน ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2549
- การเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานและบทบาทของ MAPK p38 ในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท ทุนพัฒนาศักยภาพของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.และสกว. พ.ศ. 2551
- การพัฒนาวิธีการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทโดยการเปลี่ยนแปลงระดับการกระตุ้นของ MAPKs ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2552 (ระยะที่ 1)
- ผลของ curcumin และ tetrahydrocurcumin ต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บ ทุนมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2552

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- โครงการวิจัยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ MAPK ERK ในเซลล์ประสาทในประสาทไขสันหลังและเซลล์คำจุนในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท
ทุนรัชดาภิเษกสมโภช พ.ศ. 2547
- โครงการวิจัยบทบาทของ p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) ใน ความผิดปกติทางโครงสร้างของเส้นประสาทในโรคเบาหวาน
ทุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โครงการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พ.ศ. 2547

- การศึกษาผลการยับยั้งเอนไซม์ MAPK ERK ต่อภาวะการเสื่อมของเส้นประสาทส่วนปลาย ในโรคเบาหวาน ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2549
- การเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานและบทบาทของ MAPK p38 ในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท ทุนพัฒนาศักยภาพของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.และสกว. พ.ศ. 2551
- การพัฒนาวิธีการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทโดยการเปลี่ยนแปลงระดับการกระตุ้นของ MAPKs ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2552 (ระยะที่ 1)

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ

- ผลของ curcumin และ tetrahydrocurcumin ต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บ ทุนมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2552 เสร็จแล้วร้อยละ 75

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 1

1. นางอติตยา แก้วเสมา Mrs.Atitaya Kaewsema
2. เลขประจำตัวประชาชน 3 1019 00586 72 3
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ระดับ 6
4. หน่วยงาน

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 02-2564281 โทรสาร 02-2527028
Email: atkaewsema@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง พ.ศ. 2538

6. ความชำนาญพิเศษ

เทคนิคเกี่ยวกับ microscopic analysis ของเส้นประสาททั้งการตัดชิ้นเนื้อและการวิเคราะห์ภาพด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ การใช้สัตว์ทดลอง

7. ประสบการณ์ในการบริหารงานวิจัย

7.1 ผู้ร่วมวิจัยในโครงการวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- โครงการวิจัยการประเมินเชิงปริมาณของเส้นประสาทชूरล์มนุษย์โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ภาพ ทุนรัชดาภิเษกสมโภช pilot project คณะแพทยศาสตร์ พ.ศ. 2546
- โครงการวิจัยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของ MAPK ERK ในเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังและเซลล์ค้ำจุนในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท ทุนรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ พ.ศ. 2547

- โครงการวิจัยบทบาทของ p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) ในความผิดปกติทางโครงสร้างของเส้นประสาทในโรคเบาหวาน
ทุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โครงการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พ.ศ. 2547
- การศึกษาผลการยับยั้งเอนไซม์ MAPK ERK ต่อภาวะการเสื่อมของเส้นประสาทส่วนปลายในโรคเบาหวาน ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2549
- การเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานและบทบาทของ MAPK p38 ในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาท ทุนพัฒนาศักยภาพของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.และสกว. พ.ศ. 2551
- การพัฒนาวิธีการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทโดยการเปลี่ยนแปลงระดับการกระตุ้นของ MAPKs ทุนงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2552 (ระยะที่ 1)

7.2 งานวิจัยที่กำลังทำ

- ผลของ curcumin และ tetrahydrocurcumin ต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บ ทุนมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2552 เสร็จแล้วร้อยละ 75