

ภาวะไวต่อไนตริกออกไซด์จากการพร่องซีโรโทนิน
ของระบบไทรเจมีโนวาสคูลาร์ในหนูแร้ท
: สมมติฐานของพยาธิกำเนิดโรคไมเกรน

นางธีราพร อนันตะเศรษฐกุล



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-332-188-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**HYPOSEROTONIN-INDUCED NITRIC OXIDE
SUPERSENSITIVITY OF TRIGEMINOVASCULAR
SYSTEM IN RAT: A HYPOTHETIC MECHANISM
OF MIGRAINE PATHOGENESIS**

MRS. THIRAPORN ANUNTASETHAKUL

สถาบันวิทยบริการ

**A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy in Physiology**

Inter-department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

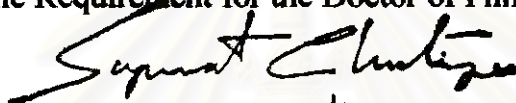
Academic Year 1998

ISBN 974-332-188-8

Thesis Title: HYPOSEROTONIN-INDUCED NITRIC OXIDE
SUPERSENSITIVITY OF TRIGEMINOVASCULAR
SYSTEM IN RAT: A HYPOTHETIC MECHANISM OF
MIGRAINE PATHOGENESIS


By Mrs. Thiraporn Anuntasethakul
Inter-department Physiology
Thesis Advisor Associate Professor Dr. Anan Srikiatkachorn, M.D.
Thesis Co-advisor Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj, Ph.D.
Associate Professor Dr. Pansiri Phansuwan, Ph.D.


Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirement for the Doctor of Philosophy's Degree





..... Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutivongse, MD.)

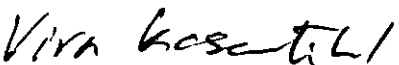
THESIS COMMITTEE



..... Chairman
(Professor Dr. Ratre Sudsuang, Ph.D.)


..... Thesis Advisor
(Associate Professor Dr. Anan Srikiatkachorn, M.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Dr. Pansiri Phansuwan, Ph.D.)


..... Member
(Professor Vira Kasartikul, MD.)


..... Member
(Assistant Professor Dr. Yupin Sanvarinda, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ธีรพร อนันตะเศรษฐกุล : ภาวะไวต่อในคริกออกไซด์จากการพองซีโรโดนินของระบบโทรเจมินโนวาสคูลาร์ในหนู
แร็ท : ทนตุนของพอยซีกันนิคโรโคกรน (HYPOSEROTONIN-INDUCED NITRIC OXIDE
SUPERSENSITIVITY OF TRIGEMINOVASCULAR SYSTEM IN RAT: A HYPOTHETIC MECHANISM OF
MIGRAINE PATHOGENESIS) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.นพ. อนันต์ ศรีเกียรติจงร, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. สุทธิ
ศักดิ์ ปทุมราช, รศ.ดร. ปานศิริ พันธุ์สุวรรณ; 238 หน้า ISBN 974-332-188-8

หลักฐานจำนวนทางชีวว่า การเปลี่ยนแปลงของระบบควบคุมการรับความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมอง เป็นขั้นตอนสำคัญใน
พอยซีกันนิคโรโคกรน ไนกรน งานวิจัยในระยะหนึ่งแสดงว่าผู้ปวดหัวโรโคโคกรน ไนกรน มีการตอบสนองต่อการได้รับสารที่ให้อิน
คริกออกไซด์มากกว่าปกติ จากหลักฐานดังกล่าว จึงเกิดสมมติฐานว่า โรโคโคกรน ไนกรนอาจเกิดจากการมีความไวในการตอบสนองต่ออินคริ
กออกไซด์มากกว่าปกติ อย่างไรก็ตาม กลไกที่แท้จริงของการเกิดภาวะนี้ ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เป็นที่ยอมรับกันว่าซีโรโดนินมีบทบาทสำคัญ
ในพอยซีกันนิคโรโคกรน ไนกรน การเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาทชนิดนี้ เกี่ยวข้องกับการเกิดโรโคโคกรน ไนกรน การศึกษา
ครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพองซีโรโดนินกับการตอบสนองของหลอดเลือดสมองระดับจุลภาคต่ออินคริกออกไซด์
รวมทั้งการกระตุ้นระบบควบคุมการรับความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมอง ในกรณีศึกษาครั้งนี้ ทำโดยแบ่งหนูทั้งตัวผู้เพศผู้เป็นกลุ่มควบคุม
และกลุ่มพองซีโรโดนิน ภาวะพองซีโรโดนินทำโดยฉีดสารพองโรโคโคกรน (PCPA) ซึ่งเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ทริปโตเฟนไฮดร
ออกซิเลสซ้ำอย่างต่อเนื่องในปริมาณ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ล่วงหน้า 3 วัน ก่อนทำการทดลอง หลังจากทำให้ซีโรโดนินพองแล้ว ตัวผู้
ทดลองจะถูกเตรียมเพื่อศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่ออินคริกออกไซด์ โดยให้สารไนโคกริน (NTG) ขนาด 8 และ 10
มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นสารที่ให้อินคริกออกไซด์ ทำการศึกษาหลอดเลือดระดับจุลภาคขึ้นเมื่อ ภายใต้ออกฤทธิ์ของทรานส์ลูซินด์ ขนาด
ของหลอดเลือดที่เวลา 0, 5, 15, 30 และ 60 นาที หลังจากให้ NTG จะถูกบันทึกและวัด หลังจากนั้นระดับของสารทุกชนิดในเพื่อศึกษาการ
เปลี่ยนแปลงของเซลล์ของหลอดเลือดสมองในระดับของจุลภาควิเคราะห์ผลของ การได้รับ NTG ต่อระบบควบคุมการรับความเจ็บ
ปวดของหลอดเลือดในสมอง โดยวัดจำนวนเซลล์ประสาทที่ผลิตโปรตีนฟอสฟอริล ิแกมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้

ผลการศึกษานี้พบว่า การได้รับ NTG จะทำให้หลอดเลือดชั้นเยื่อ มีการขยายตัวใหญ่ขึ้น โดยจะขึ้นกับขนาดของ NTG ที่ได้รับ
ผลของการขยายตัวของหลอดเลือดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มหนูที่ได้รับ PCPA โดยเฉพาะที่เวลา 30 และ 60 นาที
หลังจากได้รับ NTG 8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือจะของการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือดจากขนาดปกติที่เวลา 30 นาที คือ 42.5 ± 3.1 และ
 16.8 ± 2.7 สำหรับกลุ่มที่พองซีโรโดนิน และกลุ่มที่ควบคุมขนาดเส้น (P < 0.001) การศึกษาทางด้านจุลภาควิเคราะห์ผลของพบว่า การได้รับสาร
ที่ให้อินคริกออกไซด์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของหลอดเลือดสมองระดับจุลภาค ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของไมโครไวโด, พิโนไซติก
เวกเจลคือ, การบวมของไมโครคอนกรีตของเซลล์เยื่อ, การเกิดการบวมของเซลล์เยื่อ, การบวมขึ้นของทุกเซลล์ของเซลล์
แอสโทรไซท์บริเวณหลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดการแยกตัวของหลอดเลือดออกจากเนื้อสมองรอบ ๆ หลอดเลือด การเปลี่ยนแปลงนี้
สามารถเห็นได้ชัดในกลุ่มที่พองซีโรโดนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การได้รับสารที่ให้อินคริกออกไซด์ ที่ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยัง
สามารถกระตุ้นการเกิดโปรตีนฟอสฟอริลในสมองได้หลายบริเวณ ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดความเจ็บปวด โปรตีนฟอสฟอริล
พบได้ที่โทรเจมินโนคอสคาลิซินนิคโรโคกรน, นิโคกรินทรกทิสไซติคโรโคกรน, เรคคูลาร์นิโคกรน, อินฟีริวโรโคโคกรน, พรวนทรกทิสนิโคกรนของ
ไฮโปทาลามัส และ ฮาปิบูลาร์ ของไฮโปทาลามัส อย่างไรก็ตาม จำนวนของเซลล์ที่ผลิตฟอสฟอริลในกลุ่มควบคุม และกลุ่มพองซีโรโดนิน ไม่มีความ
แตกต่างกัน

จากผลการทดลองนี้พบว่า 1) การได้รับอินคริกออกไซด์สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในหลอดเลือดชั้นเยื่อ และหลอดเลือด
สมองระดับจุลภาค รวมทั้งการเกิดการกระตุ้นระบบการรับความเจ็บปวดของหลอดเลือดสมอง และ 2) ภาวะพองซีโรโดนินสามารถทำให้เกิด
การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดชั้นเยื่อ และหลอดเลือดสมองระดับจุลภาคเพิ่มขึ้น ผลที่ได้จากการศึกษานี้ บ่งชี้ว่าภาวะพองซีโรโดนิน
อาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะตอบสนองต่ออินคริกออกไซด์มากผิดปกติในผู้ปวดหัวโรโคโคกรน ไนกรนได้

ภาควิชา..... สรีรวิทยา.....
สาขาวิชา..... สันสาขา สรีรวิทยา.....
ปีการศึกษา..... 2541.....

ลายมือชื่อนิสิต..... ธีรพร อนันตะเศรษฐกุล.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

C745780
KEY WORD:

PHYSIOLOGY
MAJOR
MIGRAINE, SEROTONIN, NITRIC OXIDE, NITROGLYCERIN, FOS
THIRAPORN ANUNTASETHAKUL: HYPOSEROTONIN-INDUCED NITRIC OXIDE
SUPERSENSITIVITY OF TRIGEMINOVASCULAR SYSTEM IN RAT: A HYPOTHETIC
MECHANISM OF MIGRAINE PATHOGENESIS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. ANAN
SRIKIATCHACHORN, M.D. THESIS CO-ADVISOR: ASSIST. PROF. SUTHILUK
PATUMRAJ, Ph.D., ASSOC. PROF. PANSIRI PHANSUWAN, Ph.D. 238 pp.
ISBN 974-332-188-8

Ample evidences indicate that altered control of craniovascular nociceptive system is an important step in migraine pathogenesis. Recently, it has been shown that migraine patients are supersensitive to infusion of nitric oxide (NO) donating agent. Based on this finding, the hypothesis of "NO supersensitivity" as a cause of migraine headache has been proposed. However, the exact mechanism of such supersensitivity is still a question. Serotonin (5-HT) has been accepted to play a pivotal role in migraine pathogenesis. Changes in this neurotransmitter level were demonstrated to correlate with the attack of migraine. The present study was conducted to investigate relationship between hyposerotonin and cranial microvascular responses to NO as well as its effect on activation of craniovascular nociceptive system. In this study, adult male Wistar rats were divided into control and hyposerotonin groups. Hyposerotonin state was induced by intraperitoneal injection with 300 mg/kg of para-chlorophenylalanine (PCPA), a tryptophan hydroxylase inhibitor, three days before the experiment. After 5-HT depleting procedure, animals were prepared for assessment of NO-induced vasomotor response using nitroglycerin (NTG: 8 and 10 mg/kg, i.v.) as a NO-donor. Pial microcirculation was visualized by intravital fluorescein videomicroscopic technique. Images of vessels at 0, 5, 15, 30 and 60 minutes post NTG-infusion were digitized and measured. At the end of monitoring, rat brains were removed for ultrastructural study of cerebral microvessels by electron microscopy. Fos immunoreactivity, as studied by immunohistochemistry, was used as an indicator of effects of NO exposure on craniovascular nociceptive system.

The results showed that infusion of NTG produced dose-dependent pial arteriolar dilatation. This vasodilator effect was significantly increased in PCPA-treated groups, especially at 30 and 60 minutes. Per cent change from baseline diameter at 30 minute after 8 mg/kg NTG infusion were 42.5 ± 3.1 and 16.8 ± 2.7 for hyposerotonin and control groups, respectively ($P < 0.001$). Electron microscopic study revealed that exposure to NO donor produced considerable changes in cerebral microvessels, characterizing by increased microvillous formation, increased endothelial pinocytosis, swelling of endothelial mitochondria, focal swelling of endothelial cells and swelling of perivascular astrocytic footplate causing partial separation of microvessels from adjacent brain tissue. These anatomical changes were significantly more prominent in hyposerotonin group. Exposure to NO donor (NTG 10 mg/kg) also activates Fos immunoreactivity in various brain areas, mostly related to nociceptive information processing. Fos immunoreactivity can be demonstrated in trigeminal nucleus caudalis, lateral reticular nucleus, nucleus tractus solitarius, inferior olive, paraventricular nucleus of hypothalamus and habenular of epithalamus.

However, the numbers of Fos positive neurons in control and hyposerotonin groups were not different. The above data indicate that (1) exposure to NO can induce substantial changes in pial and cerebral microvessels as well as can activate the craniovascular nociceptive pathway; and (2) hyposerotonergic condition can facilitate the NO-induced physiological and pathological responses in pial and cerebral microvessels. These observations raise the possibility of hyposerotonin as a cause of NO supersensitivity observed in migraine patients.

ภาควิชา.....
สาขาวิชา.....
ปีการศึกษา..... 2541

ลายมือชื่อผู้ผลิต..... Thiraporn Anuntasethakul
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my gratitude and appreciation to my kind advisor, Associate Professor Dr. Anan Srikiatkhachorn MD, for his excellent instruction, guidance, encouragement and support during the long working process, which enable me to carry out this study. His kindness will be long remembered.

I would like to express my gratitude to Associate Professor Dr. Pansiri Phansuwan for training me about immunohistochemical technique and helping me to more deeply understand my research. Her tireless and dedicated devotion to my thesis will be in my mind forever.

I also would like to express my gratitude to Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj for her invaluable suggestions and criticisms which have helped me to improve this work, her support and encourage and for which I always retain many good memories.

I would like to thank Professor Dr. Vira Kasantikul MD for the chance of Thailand Research Fund. I was very much impressed by all his kindness to me. Thanks would also be to Thailand Research Fund for financial support.

I wish to give a special vote of Professor Dr. Ratre Sudsuang and Assistant Professor Yupin Sangvarinda for their comments and suggestions on my work.

I wish to give a very special vote to thank to Miss Supang Maneesri and Miss Penpan Nuanboonma for their help in electron microscopic study and also for their assistance, cheerfulness and support my mind throughout this study. My thanks also go to Miss Sarunya Thanamitramanee for some technical help and Dr. Narisa Futrakul MD for her valuable helps and cheerfulness.

I wish to express my sincere thanks to all my teachers and friends at Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University who are not mentioned here for all their loving helps during the time I was studying. My special thanks are also extended to my former teachers who have giving me the knowledge and scientific attitude.

My thanks also go to the Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakarinwirot University for the use of their facilities.

My appreciation is also devoted to my dear parents and my brothers for their love, kindness and understanding. Finally, and certainly not least, I would like to extend my deepest thanks and appreciation to my dear husband and our son for the missing hours required from the home during the long preparation of this thesis and for their loving support and encouragement which make my success possible.

CONTENTS

	PAGE
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	xii
ABBREVIATIONS.....	xix
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
II. REVIEW LITERATURE.....	10
III. SIGNIFICANCE OF PROBLEM.....	98
IV. MATERIALS AND METHODS.....	102
V. RESULTS.....	112
VI. DISCUSSION CONCLUSION.....	190
VII. CONCLUSION.....	202
REFERENCES.....	205
BIOGRAPHY.....	238

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1. Classification and characteristics of migraine according to the set by the International Headache Society.....	11
2.2. NOS isoform.....	44
2.3. Comparison of delayed NTG-induced headache in migraine and control.....	56
2.4. Overview of 5-HT recognition sites.....	69
2.5. 5-HT receptor nomenclature.....	69
2.6. Classification of serotonin receptors.....	70
2.7. Current animal models of migraine.....	83
2.8. Structures stimulated in models of migraine.....	83
5.1. The effect of nitroglycerin on rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) before and after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	115
5.2. The effect of nitroglycerin on rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) before and after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	116
5.3. The per cent change from baseline diameter of rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	117
5.4. The per cent change from baseline diameter of rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	118
5.5. The effect of nitroglycerin on rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) before	

and after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	122
5.6. The effect of nitroglycerin on rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) before and after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	123
5.7. The per cent change from baseline diameter of rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	124
5.8. The per cent change of rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	125
5.9. The mean \pm SD of the number of microvilli/vessel in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5-10 μm) (n=100) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=50) obtained from control and NTG-treated rats.....	131
5.10. The mean \pm SD of the number of pinocytic vesicle/ μm^2 in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5-10 μm) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=25) obtained from control and NTG-treated rats.....	133
5.11. The diameter of endothelial mitochondria of capillaries and arterioles of control and NTG-treated rats.....	135
5.12. The number mitochondrial changes of control and NTG-treated rats.....	137
5.13. The number of endothelium separation from basement membrane in blood vessel of NTG- treated and control rats.....	140
5.14. The effect of nitroglycerin on PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm)	

- before and after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....153
- 5.15. The effect of nitroglycerin on PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) before and after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....154
- 5.16. The per cent change from baseline diameter of PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....155
- 5.17. The per cent change from baseline diameter of PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 10-30 μm) after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....156
- 5.18. The effect of nitroglycerin on PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) before and after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....161
- 5.19. The effect of nitroglycerin on PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) before and after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....162
- 5.20. The per cent change from baseline diameter of PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) after 8 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....163
- 5.21. The per cent change from baseline diameter of PCPA-treated rat pial arterioles (diameter about 30-60 μm) after 10 mg/kg BW of NTG infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....164
- 5.22. The mean \pm SD of the number of microvilli/vessel in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5-10 μm) (n=100) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=50) obtained from control, NTG (8 or 10 mg/kg BW)-treated

rats, NTG (8 or 10 mg/kg BW)-treated PCPA rats.....	170
5.23. The mean±SD of the number of pinocytic vesicle/μm ² in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5- 10 μm) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=25) that obtained from control, NTG (8 or 10 mg/kg BW)-treated rats, and NTG (8 or 10 mg/kg BW)-treated PCPA rats.....	173
5.24. The number of the mitochondrial changes of control and control PCPA-treated rats.....	176
5.25. The number of the mitochondrial changes of PCPA-treated/ untreated rats after NTG 8 mg/kg BW infusion.....	177
5.26. The number of the mitochondrial changes of PCPA-treated/ untreated rats after NTG 10 mg/kg BW infusion.....	178

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
2.1. Middle cerebral artery, MCA, velocity recorded with transcranial ultrasonography was significantly reduced on the headache side but normal on the non-headache side.....	14
2.2. Diagram illustrating the principal connections of the trigeminal brainstem nuclear complex (TBNC) thought to be important in nociception.....	29
2.3. Diagram depicting the relationship between pial vessels, the trigeminovascular system, and neocortex.....	35
2.4. Synthesis of NO from L-arginine.....	45
2.5. Induction of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by for example cytokine may be inhibited by glucocorticoids and by a variety of L-arginine analogue.....	45
2.6. Modular events in the NO pathway illustrated by endothelium-derived synthesis of NO.....	47
2.7. Synthesis of cGMP is catalyzed by guanylate cyclase. A particulate and soluble form exists.....	49
2.8. Neurotoxic effects of NO.....	50
2.9. Comparison of mean headache intensity over time during and after four doses of NTG infusion in 17 migraineurs, 9 tension-type sufferers and 17 healthy controls.....	57
2.10. Median headache intensity over time during and after NTG and placebo infusion in 10 sufferers of migraine without aura.....	58

2.11. Clinical characteristics of NTG-induced migraine. A comparison between spontaneous and NTG-induced migraine in 8 out of 10 migraine patients who developed migraine after NTG infusion.....	59
2.12. Chemical structure of 5-hydroxytryptamine (5-HT).....	65
2.13. Biosynthesis and catabolism of serotonin.....	67
2.14. Average headache score, during NTG infusion and wash-out period.....	89
2.15. Chemical structure of nitroglycerin.....	92
2.16. The schematic illustration shows the purposed mechanism of vascular smooth muscle relaxation elicited by nitrovasodilators.....	94
4.1. Diagram of experimental animal groups.....	107
4.2. Intravital fluorescent microscopy and instruments used for quantitative studies of hemodynamic and morphologic microvasculature.....	108
4.3. Schematic of arteriole showed the referent point A and the defined point B and C. The diameter of arteriole was measured as the length of B-C.....	108
5.1. Mean arterial blood pressure after NTG 10 mg/kg BW infusion.....	113
5.2. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 10-30 μ m) after NTG (8 and 10 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	119
5.3. Intravital videomicroscope image of pial micro-vessels before and after infusion of NTG 10 mg/kg BW in 5 minutes.....	120

- 5.4. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 30-60 μm) after NTG (8 and 10 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....126
- 5.5. Bar graph showing the mean \pm SD of the number of microvilli/vessel in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5-10 μm) (n=100) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=50) obtained from control and NTG-treated rats.....131
- 5.6. Electron micrograph of cerebral microvessels from (A) control and (B) NTG-treated rats showing an increase in microvillous formation in cerebral capillaries.....132
- 5.7. Bar graph showing the mean \pm SD of the number of pinocytic vesicle/ μm^2 in the endothelial cell of cerebral capillaries (diameter range from 5-10 μm) and arterioles (diameter range from 15-30 μm) (n=25) obtained from control and NTG-treated rats.....133
- 5.8. Electron micrograph of cerebral microvessels from (A) control and (B) NTG-treated rats showing and increase in density of pinocytic vesicles in endothelial cells.....134
- 5.9. Electron micrograph of endothelial cells of cerebral microvessels showing (A) mitochondria of control group and (B) the ballooning of mitochondria with disruption of cristae of NTG-treated rats.....136
- 5.10. Electron micrograph of cerebral microvessels from (A) control and (B) NTG-treated rats showing the separation of a cerebral microvessel from adjacent brain tissue.....138

5.11. Electron micrograph of luminal surface of cerebral endothelial cells showing (A) dome-like protrusion of luminal surface and (B) ballooning of endothelial surface.....	139
5.12. Showing the camera lucida drawing of coronal section of the brainstem in A) sham rat and B) NTG-treated rat.....	142
5.13. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in NST of the brainstem of the rat.....	143
5.14. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in LRN of the brainstem of the rat.....	144
5.15. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in TNC of the brainstem of the rat.....	145
5.16. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in IO of the brainstem of the rat.....	146
5.17. Showing the camera lucida drawing of coronal section of the thalamus in (A) sham rat and (B) NTG-treated rat.....	147
5.18. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in habenular of the thalamus of the rat.....	148
5.19. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in supraoptic of the hypothalamus of the rat.....	149
5.20. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in paraventricular nuclei of the hypothalamus of the rat.....	150
5.21. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 10-30 μ m) of control and PCPA-treated rats after	

NTG 8 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	157
5.22. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 10-30 μm) of control and PCPA-treated rats after NTG 10 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	158
5.23. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 30-60 μm) of control and PCPA-treated rats after NTG 8 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	165
5.24. The per cent change from baseline of rat pial microvessel diameter (% from baseline) in cerebral arteriole (diameter about 30-60 μm) of control and PCPA-treated rats after NTG 10 mg/kg BW) infusion at 5, 15, 30 and 60 minutes.....	165
5.25. Bar graph showing the average number of microvilli in cerebral capillaries with/without PCPA pretreatment after NTG (8 or 10 mg/kg BW) infusion.....	171
5.26. Bar graph showing the average number of microvilli in cerebral arterioles with/without PCPA pretreatment after NTG (8 or 10 mg/kg BW) infusion	172
5.27. Bar graph showing the average number of pinocytic vesicle in cerebral capillaries with/without PCPA pretreatment after NTG (8 or 10 mg/kg BW) infusion.....	174
5.28. Bar graph showing the average number of pinocytic vesicle in cerebral arterioles with/without PCPA pretreatment after NTG (8 or 10 mg/kg BW) infusion.....	175

5.29. Showing the camera lucida drawings of coronal section of the brainstem in (A) sham rat, (B) NTG-treated rat and (C) NTG-treated PCPA rat.....	180
5.30. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in NTS of the brainstem of the rat.....	181
5.31. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in LRN of the brainstem of the rat.....	182
5.32. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in TNC of the brainstem of the rat.....	183
5.33. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in IO of the brainstem of the rat.....	184
5.34. Showing the camera lucida drawings of coronal section of the thalamus in (A) sham rat, (B) NTG-treated rat and (C) NTG-treated PCPA rat.....	185
5.35. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in habenular of the thalamus of the rat.....	186
5.36. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in supraoptic of the hypothalamus of the rat.....	187
5.37. Photomicrographs showing the Fos immunoreactivity in paraventricular nuclei of the hypothalamus of the rat.....	188
5.38. Illustrated the mean \pm SD of fos positive cell in lateral reticular nuclei (LRN), nucleus tractus solitarius (NTS), trigeminal nucleus caudalis and inferior olive (IO) of PCPA with/without pretreatment rats after NTG 10 mg/kg infusion.....	189

7.1. The proposed mechanism of hyposerotonergic state-induced NO supersensitivity).....204



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF ABBREVIATIONS

$[Ca^{2+}]_o$	=	Calcium ion concentration
$[K^+]_o$	=	Potassium ion concentration
5-CT	=	5-Carboxamidotryptamine
5-HIAA	=	5-Hydroxyindoleacetic acid
5-HT	=	Serotonin
5-HTP	=	5-Hydroxytryptophan
5-ISMN	=	5-Isosorbide-mononitrate
8-OH-DPAT	=	8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin
ANP	=	Atrial natriuretic peptide
BH ₄	=	Tetrahydrobiopterin
BW	=	Body weight
C ₁	=	Cervical spinal cord segment 1
C ₂	=	Cervical spinal cord segment 2
Ca ²⁺	=	Calcium ion
cAMP	=	Cyclic adenosine monophosphate
CBV	=	Cerebral blood volume
cGMP	=	Cyclic guanylate 3', 5' – monophosphate
CGRP	=	Calcitonin gene-related peptide
CNS	=	Central nervous system
CO	=	Carbon monoxide
CSD	=	Cortical spreading depression
CSF	=	Cerebrospinal fluid
DHE	=	Dihydroergotamine
EDRF	=	Endothelium-derived relaxing factor
eNOS	=	Endothelium nitric oxide synthase
GTN	=	Glyceryl trinitrate

HRP	=	Horseradish peroxidase
IHS	=	International Headache Society
iNOS	=	Inducible nitric oxide synthase
IO	=	Inferior olive
IP ₃	=	Inositol triphosphate
K ⁺	=	Potassium ion
kg	=	Kilogram
LRN	=	Lateral reticular nucleus
MCA	=	Middle cerebral artery
mCPP	=	m-Chlorophenylpiperazine
MDH	=	Medullary dorsal horn
mg	=	Milligram
Mg ²⁺	=	Magnesium ion
MgGTP	=	Magnesium guanosine 5'-triphosphate
min	=	Minute
mm	=	Millimeter
mRNA	=	Messenger ribonucleic acid
NK	=	Neurokinin
nm	=	Nanometer
NMDA	=	N-methyl-D-aspartate
nNOS	=	Neurons nitric oxide synthase
NO	=	Nitric oxide
NO ₂ ⁻	=	Nitrite
NO ₂	=	Nitrogen dioxide
NO ₃ ⁻	=	Nitrate
NOS	=	Nitric oxide synthase
NSS	=	Normal saline
NTG	=	Nitroglycerin

NTS	=	Nucleus tractus solitarius
PBS	=	Phosphate buffer saline
PCPA	=	Parachlorophenylalanine
PDEs	=	Phosphodiesterase
rCBF	=	Regional cerebral blood flow
R-SH	=	Thiols group
Sc	=	Subcutaneously
sGC	=	Soluble guanylate cyclase
SP	=	Substance P
SP5C	=	Spinal trigeminal nucleus caudalis
TBNC	=	Trigeminal brainstem nuclear complex
TNC	=	Trigeminal nucleus caudalis
TRH	=	Thyrotropin releasing hormone
VPM	=	Ventral posterior medial neuron
μg	=	Microgram
μm	=	Micrometer

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย