

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบบหัวใจหลอดเลือดในการให้ยาต้านโรค
ซึมเศร้าร่วมกับยาต้านการอักเสบในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้า

Cardiovascular risk assessment of combined treatment of antidepressant and anti-
inflammatory drugs in rats with depression.

ผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร.เพชรรัตน์ ทรงต่อศักดิ์

ผศ.ดร.อุไรวรรณ อินทมาโส

อาจารย์วนิดา โอพารกิตอนันต์

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยประเภทเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล

ประจำปีงบประมาณ 2556-2557

มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัย	การประเมินภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจหลอดเลือดในการให้ยาต้าน โรคซึมเศร้าร่วมกับยาต้านการอักเสบในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้า Cardiovascular risk assessment of combined treatment of antidepressant and anti-inflammatory drugs in rats with depression.
หัวหน้าโครงการ	ศศ.ดร.เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์
ผู้ร่วมโครงการ	ศศ.ดร.อุไรวรรณ อินทมาโส และ อาจารย์ยวนิดา โอปารกิตอนันต์
ทุนอุดหนุนการวิจัย	ทุนวิจัยประเภทเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาลประจำปีงบประมาณ 2556-2557

บทคัดย่อ

โรคซึมเศร้ามีความสัมพันธ์กับการทำงานแบบผิดปกติของ hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis มีการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติกมากกว่าปกติ และเกี่ยวข้องกับอาการอักเสบ ความผิดปกติในประสาทและฮอร์โมนเหล่านี้ทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือด ได้มีการเสนอแนะให้นำยาต้านอักเสบ NSAIDs กลุ่ม COX-2 inhibitor มาใช้รักษาพร้อมกับยาด้านซึมเศร้าในการรักษาโรคซึมเศร้า แต่ยังไม่มีการยืนยันว่าการให้ยาพร้อมแบบนี้จะมีผลเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือดหรือไม่ คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาผลของการให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine (serotonin reuptake inhibitor) ร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib ต่อความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในหนูขาวที่เหนียวทำให้เกิดภาวะซึมเศร้าด้วย chronic mild stress (CMS) การศึกษาแบ่งหนูขาวออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่เหนียวทำให้เกิดอาการซึมเศร้าด้วย CMS 3) กลุ่มที่ให้ CMS และ fluoxetine (5 mg/kg/d) 4) กลุ่มที่ให้ CMS และให้ยาพร้อม fluoxetine (5 mg/kg/d) และ celecoxib (5 mg/kg/d) โดยให้ยาและความเครียดเป็นเวลา 5 สัปดาห์ แล้วประเมินผลต่อพฤติกรรมซึมเศร้าทดสอบด้วย forced swimming test, การเปลี่ยนแปลงระดับ plasma cortisol, การเพิ่มของน้ำหนักตัว (% body weight gain), การเปลี่ยนแปลงของสารสื่ออักเสบ (PGE₂, IL-1 β , TNF- α และ CRP), การเกิด oxidative stress ด้วยการวัดระดับ plasma MAD, การเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต, การเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งด้วยการวัด pulse wave velocity (PWV), SDNN index (แทน heart rate variability, HRV) โดยการวิเคราะห์คลื่นชีพจร, และประเมินการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสาร (vascular reactivity) ผลการศึกษาพบว่า 1) การให้ fluoxetine อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับ celecoxib มีผลลดอาการซึมเศร้าได้บางส่วนและให้ผลใกล้เคียงกัน การให้ยาพร้อมกลับมีผลเพิ่ม plasma cortisol ซึ่งบ่งบอกว่าน่าจะมีการกระตุ้น HPA axis มากกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว อีกทั้ง celecoxib มีแนวโน้มเพิ่มน้ำหนักตัวซึ่งบ่งชี้ว่าน่าจะมีภาวะบวมน้ำ 2) หนูที่ซึมเศร้าจะมีระดับสารสื่ออักเสบในเลือดเพิ่มขึ้น การให้ fluoxetine สามารถลด plasma PGE₂ และ CRP ได้บางส่วน และลด plasma TNF- α ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ไม่สามารถลด plasma IL-1 β การให้ยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine ให้ผลต่อ PGE₂, TNF- α และ CRP ใกล้เคียงกับการให้ fluoxetine อย่างเดียว แต่สามารถ

ลด plasma IL-1 β ได้อย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการให้ยาทั้ง 2 แบบยังคงมีระดับสารสื่ออักเสบสูงกว่าปกติ

3) หนูที่ซึมเศร้ามีการเพิ่ม plasma MDA บ่งบอกว่าเกิด oxidative stress การให้ยา fluoxetine อย่างเดียวสามารถลดระดับ plasma MDA ในขณะที่การให้ fluoxetine ร่วมกับ celecoxib กลับลดได้เพียงเล็กน้อยและมีระดับสูงกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว ยาทั้ง 2 แบบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลางเท่านั้นจึงยังไม่สามารถต้าน oxidative stress ได้อย่างสมบูรณ์

4) หนูที่ซึมเศร้าจะมี SDNN index (HRV) ลดลง การให้ fluoxetine อย่างเดียวไม่มีผลต่อ SDNN index ในขณะที่การให้ยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับมีผลเพิ่ม SDNN index แสดงว่าการให้ยาด้านอักเสบน่าจะให้ผลดีต่อการทำงานของประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจ ทำให้หัวใจสามารถปรับตัวต่อสิ่งรบกวนต่างๆได้ดีกว่า

5) การให้ fluoxetine อย่างเดียวหรือให้ร่วมกับ celecoxib ไม่มีผลเปลี่ยนแปลง PWV ซึ่งเสนอแนะว่าการให้ยาทั้ง 2 แบบ ในระยะเวลา 5 สัปดาห์ยังไม่ส่งผลให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง

6) หนูที่ซึมเศร้าจะมีความดันโลหิตเพิ่มขึ้น fluoxetine สามารถลดความดันโลหิต แต่เมื่อให้ celecoxib ร่วมกลับทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้น

7) หลอดเลือดจากหนูที่มีอาการซึมเศร่ายังคงตอบสนองต่อสารตีบหลอดเลือด phenylephrine (PE, α_1 -adrenergic receptor agonist) แบบปกติ แต่ตอบสนองต่อสารคลายหลอดเลือด Isoproterenol (Iso, β -adrenergic receptor agonist) และ acetylcholine (ACh, muscarinic receptor agonist) ลดลง การให้ fluoxetine สามารถลดการตอบสนองต่อ PE เล็กน้อย แต่ไม่สามารถกั้นการตอบสนองต่อ Iso และ ACh ในขณะที่เมื่อให้ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine การตอบสนองต่อ PE มีแนวโน้มเพิ่มเล็กน้อย แต่สามารถกั้นการตอบสนองต่อ Iso ได้อย่างสมบูรณ์ และกั้นการตอบสนองต่อ ACh ได้เพียงบางส่วนซึ่งบ่งชี้ว่าหลอดเลือดยังมีภาวะ endothelial dysfunction โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การให้ยา fluoxetine ร่วมกับยา celecoxib ไม่สามารถช่วยให้พฤติกรรมซึมเศร่าดีขึ้นได้มากกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว อีกทั้งยังทำให้ความดันโลหิตเพิ่มซึ่งสัมพันธ์กับการคั่งของน้ำในร่างกายและการเกิด endothelial dysfunction นอกจากนี้การให้ยาทั้ง 2 แบบ ยังคงมีระดับสารสื่ออักเสบในเลือดสูงและยังมีภาวะ oxidative stress ซึ่งอาจมีผลทำลายหลอดเลือด

Cardiovascular risk assessment of combined treatment of antidepressant and anti-inflammatory drugs in rats with depression

Petcharat Trongtorsak¹, Uraiwan Intamaso¹, Wanida Olankijanunt²

¹ Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi 20131

² Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University, Chonburi 20131

Abstract

Depression is associated with dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, sympathetic hyperactivity, and inflammation. This neurohumoral dysregulation in depressive patients causes a greater risk of cardiovascular disease. It has been suggested that treatment of depression may be achieved by combining NSAID (COX-2 inhibitor) with a typical antidepressant. However, it has not yet been examined the cardiovascular risk of the combination therapy. This study was performed to assess the effects of fluoxetine (serotonin reuptake inhibitor) in conjunction with celecoxib on cardiovascular risk in depressive rats induced by chronic mild stress (CMS). The rats were divided into 4 groups: 1) control, 2) CMS, 3) CMS with fluoxetine treatment (5 mg/kg/d), and 4) CMS with fluoxetine and celecoxib treatment (5 mg/kg/d each). The rats were subjected to CMS and the drug treatment for 5 weeks. At the end of the treatment, the following parameters were examined: depressive sign using force swimming test, plasma cortisol, body weight gain, plasma inflammatory mediators (PGE₂, IL-1 β , TNF- α and CRP), plasma MAD (oxidative stress marker), blood pressure, arterial stiffness by measuring pulse wave velocity (PWV), SDNN index (representing heart rate variability, HRV) calculated from the pulse wave, and *in vitro* vascular reactivity. The study reveals the following findings. **1)** Either fluoxetine treatment or in combination with celecoxib alleviated the depressive sign in a comparable degree. The combined drugs caused a slightly increase in plasma cortisol compared with fluoxetine alone, indicating a greater activation of the HPA axis. Celecoxib co-treatment also resulted in a slightly greater body weight gain, suggesting edema due to body fluid retention. **2)** Depressive rats showed increases in plasma inflammatory mediators. Fluoxetine treatment partially lowered PGE₂ and CRP, and fully recovered plasma TNF- α , but showed no significant effect on plasma IL-1 β . Drug combination decreased plasma PGE₂, TNF- α and CRP in the same extent as fluoxetine treatment, but completely returned plasma IL-1 β . However, the plasma levels of inflammatory mediators in both treatments were still higher than those of control. **3)** Depressive rats showed an increase in plasma MAD, indicating an existence of oxidative stress in depressive state. Fluoxetine treatment significantly decreased plasma MAD, whereas drug combination

showed a lesser extent in antioxidant activity. Both drug treatments exhibited only a moderate degree of antioxidant properties and could not eradicate oxidative stress. **4)** CMS induced depression caused a decrease in SDNN index (HRV), and fluoxetine exerted no significant effect on this parameter. In contrast, fluoxetine with celecoxib produced increased SDNN index, suggesting a higher ability of cardiac autonomic nervous system to keep homeostasis against stress challenges. **5)** The PWVs were not altered by either fluoxetine alone or combined drug treatment, suggesting that arterial stiffness may not be evident in the five-week period of both drug treatments. **6)** CMS-induced depression produced an increase in systolic blood pressure which was attenuated by fluoxetine treatment. However, co-treatment with celecoxib caused a rebound of blood pressure to the level higher than those of fluoxetine alone. **7)** The responses of aortas from depressive rats to vasoconstrictor phenylephrine (PE, α_1 -adrenergic receptor agonist) were not altered, whereas responses to vasodilator isoproterenol (Iso, β -adrenergic receptor agonist) and acetylcholine (ACh, muscarinic receptor agonist) decreased significantly. Fluoxetine treatment caused a slight decrease in aortic responses to PE, whereas it was unable to recover vascular response to Iso and ACh. The combined drug treatment tended to elevate aortic response to PE slightly and fully returned the responses to Iso, but partially recovered the aortic responses to ACh indicating that endothelial dysfunction still existed. In conclusions, this study provides evidence that the add-on celecoxib to fluoxetine is not superior to fluoxetine alone in their antidepressant effect. Moreover, drug combination increases the blood pressure which is associated with body fluid retention and endothelial dysfunction. The higher levels of plasma inflammatory mediators and the greater degree of oxidative stress in both treatments may cause further vascular damage.

ประกาศคุณูปการ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัยประเภทเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาลประจำปีงบประมาณ 2556-2557 ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ ทำให้คณะผู้วิจัยมีปัจจัยหลักทางทุนทรัพย์จนสามารถดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จ ลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องสัตว์ทดลอง อุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์

ผศ.ดร.อุไรวรรณ อินทมาโส

อ.วนิดา โอฟารกิตอนันต์

สารบัญ

บทคัดย่อไทย	ก
บทคัดย่ออังกฤษ	ค
ประกาศศุณูปการ	จ
สารบัญเรื่อง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
สารบัญตาราง	ฌ

บทนำ (Introduction)	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	3
ขอบเขตของโครงการ	3
กรอบแนวคิดของโครงการ	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Related literature)	5
วิธีดำเนินการวิจัย (Research methods)	9
สัตว์ทดลองและการให้ treatment	9
การประเมินการเกิดภาวะซึมเศร้า	9
Forced swimming test	10
ประเมินการเพิ่มน้ำหนักตัว	10
การหาระดับ plasma cortisol	10
การประเมินผลของยาต่อความดันโลหิต	11
การประเมินภาวะหลอดเลือดแข็ง	11
การประเมินระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ	12
การประเมินสารสื่ออักเสบในพลาสมา	13
การประเมินระดับ plasma malondialdehyde	14
การวิเคราะห์ข้อมูล	15
ผลการวิจัย (Results)	16
ผลของยาต่อภาวะซึมเศร้า	16
ผลของยาต่อการอักเสบและภาวะ oxidative stress	18
ผลของยาต่อความดันโลหิต	21

ผลของยาต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness)	22
ผลของยาต่อประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ	22
ผลของยาต่อการตอบสนองของหลอดเลือด (vascular reactivity)	24
อภิปรายผลการทดลอง (Discussion)	27
ผลของยาต่อภาวะซึมเศร้า	28
ผลของยาต่อการอักเสบและภาวะ oxidative stress	29
ผลของยาต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบหัวใจและหลอดเลือด	31
ผลต่อประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจ	31
ผลต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง	32
ผลต่อความดันโลหิต	33
ผลต่อการตอบสนองของหลอดเลือด	35
สรุปผลการศึกษา	38
ข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง (References)	40

สารบัญภาพ

รูปที่ 1 การเพิ่มน้ำหนักตัว (% weight gain) ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	16
รูปที่ 2 ค่า immobility time จากการทดสอบ forced swimming test	17
รูปที่ 3 ระดับ plasma cortisol ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	17
รูปที่ 4 ระดับ plasma PGE ₂ ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	19
รูปที่ 5 ระดับ plasma IL-1 β ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	19
รูปที่ 6 ระดับ plasma TNF- α ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	20
รูปที่ 7 ระดับ plasma CRP ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	20
รูปที่ 8 ระดับ plasma MAD ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	21
รูปที่ 9 ร้อยละของการเพิ่มความดันโลหิต (% increase in systolic blood pressure)	22
รูปที่ 10 ค่า SDNN index ของหนูทุกกลุ่มทดลอง	23
รูปที่ 11 การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Phenylephrine	25
รูปที่ 12 การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Isoproterenol	25
รูปที่ 13 การตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Acetylcholine	26

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	Systolic blood pressure ก่อนและหลังให้ treatments	21
ตารางที่ 2	ค่า pulse wave velocity (PWV) และอุณหภูมิกาย	22
ตารางที่ 3	ค่า pulse rate และอุณหภูมิกาย	23
ตารางที่ 4	ค่า pD_2 และ E_{max} จากการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ PE, Iso และ ACh	26

บทนำ

Introduction

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

โรคซึมเศร้า (depression) เป็นโรคที่มีการป่วยทั้งร่างกาย จิตใจ และความคิด โดยทั่วไป ผู้ป่วยจะมีอารมณ์หดหู่ จิตใจหม่นหมอง หดอาลัยตายยาก ไม่มีความสุข หดสนุกกับสิ่งที่เคยชอบและเคยทำ อาการเหล่านี้มักเกิดร่วมกับการเปลี่ยนแปลงด้านพฤติกรรมและความรู้สึกนึกคิด เช่น ความผิดปกติในการนอนหลับ อาการเบื่ออาหาร รู้สึกสูญเสียความเชื่อมั่นในตนเอง ขาดสมาธิและความสามารถ โดยทั่วไปลดลง เป็นต้น (กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข, 2550; Grippo & Johnson, 2002) โรคซึมเศร้านำมาทำให้การดำรงชีวิตของผู้ป่วยเปลี่ยนแปลงและเป็นภาระแก่ญาติผู้ดูแล องค์การอนามัยโลกได้รายงานเครื่องชี้วัดภาระโรคและปัจจัยเสี่ยง (burden of diseases) ว่าโรคซึมเศร้าจัดอยู่ในอันดับ 4 ในปี ค.ศ. 2000 และคาดการณ์ว่าโรคซึมเศร้าจะเปลี่ยนเป็นอันดับที่ 2 ในปี 2020 (Hegerl et al, 2009) สำหรับสถิติการเกิดโรคซึมเศร้าในประเทศไทย ข้อมูลจากกรมสุขภาพจิตพบว่าในปี พ.ศ. 2540 มีประชากรที่ป่วยเป็นโรคนี้ 33,995 คน ในปี พ.ศ. 2550 ประชากรที่ป่วยเป็นโรคนี้เพิ่มขึ้นเป็น 123,876 (กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข, 2550) สถิติการเกิดโรคซึมเศร้ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปัญหาเศรษฐกิจและสังคมที่เพิ่มขึ้น เพราะการดำเนินชีวิตที่เร่งรีบ แข่งขัน หรือการอยู่ในภาวะบีบคั้นและเครียดเป็นเวลานานของวิถีชีวิตสมัยใหม่อาจเป็นชนวนให้เกิดโรคซึมเศร้าได้ โรคนี้ทำให้ผู้ป่วยสูญเสียคุณภาพชีวิต เสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล และทำงานไม่ได้ ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างประเมินไม่ได้

การศึกษาความผิดปกติในโรคซึมเศร้านี้นับว่าเป็นผลจากการทำงานอย่างผิดปกติของ hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis โดยปกติ HPA axis เป็นระบบที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดของร่างกาย เมื่อเกิดความเครียดมีผลให้เซลล์ประสาทใน hypothalamus เพิ่มการสังเคราะห์และหลั่ง corticotrophin-releasing hormone (CRH) ไปกระตุ้นให้ anterior pituitary gland หลั่ง adrenocorticotrophic hormone (ACTH) ซึ่งมีผลกระตุ้นต่อมหมวกไตให้หลั่งฮอร์โมน cortisol และ catecholamine เมื่อระดับ plasma cortisol เพิ่มมักเกิดการป้อนกลับเชิงลบ (negative feedback) ทำให้มีการหลั่ง CRH และ ACTH ลดลง (Nemeroff, 2008; Strokes, 1995) ในผู้ป่วยโรคซึมเศร้านี้พบว่าการป้อนกลับเชิงลบนี้อาจมีการเสื่อมหน้าที่การทำงาน (impaired feedback control of HPA axis) และ HPA axis ทำงานมากกว่าปกติ (hyperactivity of HPA axis) เป็นผลให้มีระดับ cortisol ในเลือดสูง (Grippo & Johnson, 2002; 2009) นอกจากนี้ในระบบประสาทส่วนกลางของผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีการเปลี่ยนแปลงของระบบสารสื่อประสาท โดยพบว่าการสูญเสียการทำงานของเซลล์ประสาทที่ใช้ serotonin, norepinephrine (NE) และ dopamine (DA) เป็นสารสื่อประสาท และสารสื่อประสาทเหล่านี้ในสมองมีระดับลดลง การเปลี่ยนแปลงของระบบสารสื่อประสาทมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมและอารมณ์ที่พบในผู้ป่วยโรค

ซึมเศร้า (Nemeroff, 2008) มีรายงานการศึกษาที่ยืนยันว่าภาวะซึมเศร้ามีความสัมพันธ์กับการเกิด oxidative stress และการอักเสบ (Kobrosly & van Wijngaarden, 2010) ในภาวะซึมเศร้ามีการกระตุ้นการหลั่ง pro-inflammatory cytokines เข้าสู่กระแสเลือด เช่น interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α), และ interferon- γ (IFN- γ) เป็นต้น และเชื่อว่า cytokines เหล่านี้จะไปมีผลต่อการหลั่งและกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท DA, NE และ serotonin ในระบบประสาทส่วนกลาง (Schiepers et al, 2005) นอกจากนี้ภาวะซึมเศร่ายังมีความสัมพันธ์กับสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediator) กลุ่ม prostaglandins (PGs) ซึ่งการสังเคราะห์เกิดผ่าน cyclooxygenase (COX) enzyme ภาวะซึมเศร้ามีผลเพิ่มระดับ prostaglandin E₂ (PGE₂) ทั้งในเลือดและในสมอง เนื่องจากการสังเคราะห์ PGE₂ อยู่ภายใต้การควบคุมของ COX-2 enzyme ดังนั้น COX-2 enzyme น่าจะมีบทบาทในการเกิดความผิดปกติในโรคซึมเศร้า (Guo et al, 2009; Lieb et al, 1983) จากที่กล่าวมาแล้วว่าในภาวะซึมเศร้าจะมีการกระตุ้น HPA axis มากกว่าปกติ ซึ่งมีผลให้เพิ่มสัญญาณประสาทซิมพาเรติก (sympathetic outflow) ไปสู่ระบบหัวใจและหลอดเลือด (Grippe & Johnson, 2009) และมีการเพิ่มสัญญาณประสาทซิมพาเรติกไปสู่ต่อมหมวกไตมากกว่าปกติ (sympathoadrenal hyperactivity) เป็นผลให้ระดับ plasma NE สูงผิดปกติ (Joynt et al, 2003) มีหลักฐานยืนยันว่า การเพิ่มสัญญาณประสาทซิมพาเรติกสู่หัวใจและหลอดเลือดและการเพิ่มระดับของ cortisol, NE และสารสื่ออักเสบในเลือดเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น atherosclerosis, hypertension, coronary heart disease, และ heart failure เป็นต้น (Grippe & Johnson, 2002; 2009; Nemeroff, 2008; Scalco et al, 2005) จากพยาธิตกกล่าวทำให้ผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจหลอดเลือดเพิ่มขึ้น 2-4 เท่า (Joynt et al, 2003)

การรักษาโรคซึมเศร้าส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นการปรับเปลี่ยนระดับสารสื่อประสาทในสมอง ยาที่นิยมใช้รักษาในปัจจุบันคือ ยากลุ่ม selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการนำสารสื่อประสาท serotonin (5-HT) กลับเข้าปลายประสาท ทำให้มีระดับ serotonin ในสมองเพิ่มขึ้น (Osada, 2003) การรักษาในปัจจุบันเริ่มมีการใช้ยา 2 ชนิดร่วมกันในการรักษา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงและคือต่อต่อต้านโรคซึมเศร้า (Lenderts & Kalali, 2009) เนื่องจากพยาธิสรีรวิทยาของโรคซึมเศร่านั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบจากที่ได้มีการตรวจพบสารสื่ออักเสบต่างๆ ในผู้ป่วยโรคนี้ จึงได้มีการนำยาต้านการอักเสบ (anti-inflammatory drug) กลุ่ม selective COX-2 inhibitor มาใช้ร่วมกับยารักษาโรคซึมเศร่ากลุ่ม SSRI การศึกษาผลของยาร่วมนี้ทั้งในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าและในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้า พบว่าสามารถลดระดับสารสื่ออักเสบ IL-1 β , TNF- α และ PGE₂ อีกทั้งยังทำให้พฤติกรรมของโรคซึมเศร่าดีขึ้น (Muller et al, 2006; Myint et al, 2007; Song et al, 2009) อย่างไรก็ตามมีหลักฐานยืนยันว่ายากลุ่ม selective COX-2 inhibitor มีผลทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้นทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) และมีแนวโน้มเกิด thrombosis (Claridge et al, 2005;

Gaziano et al, 2006; Krum et al, 2006; Muscara et al, 2000) ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือดมากกว่าคนปกติ การให้ยา COX-2 inhibitor ร่วมกับยาต้านโรคซึมเศร้าอาจทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อโรกระบบนี้มากยิ่งขึ้น จึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจศึกษาเพื่อประเมินภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือดในการให้ยารักษาโรคซึมเศร้ากลุ่ม SSRI ร่วมกับยาต้านอักเสบกลุ่ม COX-2 inhibitor ผลการศึกษาจะให้องค์ความรู้ที่จะช่วยพัฒนาการรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้าเพื่อให้ได้วิธีการรักษาที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งจะช่วยลดอัตราการป่วยและทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการให้ยาด้านโรคซึมเศร้ากลุ่ม SSRI ร่วมกับยาด้านการอักเสบกลุ่ม COX-2 inhibitor ในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้า ดังนี้

1. ผลต่อความดันโลหิต (blood pressure)
2. ผลต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness)
3. ผลต่อการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติต่อหัวใจ
4. ผลต่อการทำงานของหลอดเลือด และ endothelial function
5. ผลต่อสารสื่ออักเสบที่บ่งชี้ถึงความเสี่ยงต่อโรคหัวใจหลอดเลือด

ขอบเขตของโครงการ

รูปแบบการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) โดยทำการทดลองในหนูขาว แบ่งหนูขาวออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่มีภาวะซึมเศร้า 3) กลุ่มที่มีภาวะซึมเศร้าร่วมกับให้ยาด้านโรคซึมเศร้า specific serotonin-reuptake inhibitor (SSRI) และ 4) กลุ่มที่มีภาวะซึมเศร้าร่วมกับการให้ยา SSRI และยาด้านการอักเสบ COX-2 inhibitor การเหนี่ยวนำให้หนูเกิดภาวะซึมเศร้าใช้วิธีให้ chronic mild stress โดยให้ความเครียดและให้ยาเป็นเวลา 5 สัปดาห์ แล้วทำการทดสอบผลดังนี้

- 1) ประเมินภาวะซึมเศร้า โดยทดสอบ forced swimming test, การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว และหาระดับ plasma cortisol
- 2) ประเมินการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต โดยการวัดความดันโลหิตทางหางหนู
- 3) ประเมินภาวะหลอดเลือดแข็งโดยการวัด pulse wave velocity
- 4) ประเมินระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจโดยการวัด pulse rate variability (แทน heart rate variability)
- 5) ประเมินการทำงานของหลอดเลือด โดยแยกหลอดเลือด aorta แล้วตรวจสอบการตอบสนองต่อสารตีบหลอดเลือดและสารคลายหลอดเลือด และประเมินการทำงานของ endothelium จากการตอบสนองต่อ acetylcholine

- 6) ประเมินระดับ plasma PGE₂, IL-1β, TNF-α, และ CRP ซึ่งจัดเป็น inflammatory marker และเป็น predictor ของ cardiovascular risk

กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

โรคซึมเศร้ามีความผิดปกติของระบบสารสื่อประสาทในสมองทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมและความรู้สึกนึกคิด ส่วนความผิดปกติในร่างกายมี HPA axis hyperactivity ซึ่งจะมีผลเพิ่มระดับฮอร์โมน cortisol และ NE ในเลือด และมี sympathetic hyperactivity อีกทั้งมีการกระตุ้น immune system ให้หลั่ง proinflammatory cytokines และกระตุ้น COX-2 enzyme ให้ผลิตสารสื่ออักเสบ PGE₂ การเกิด neurohumoral changes ในโรคซึมเศร้าทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือด การรักษาด้วยยาต้านอักเสบกลุ่ม COX-2 inhibitor ร่วมกับยารักษาโรคซึมเศร้ากลุ่ม SSRI น่าจะทำให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อโรกระบบหัวใจหลอดเลือดมากขึ้น เพราะมีหลักฐานยืนยันการได้รับยา COX-2 inhibitor เป็นเวลานานทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบนี้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาทำให้ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดของการรักษาโรคซึมเศร้าด้วยยาต้านโรคซึมเศร้า fluoxetine (selective serotonin reuptake inhibitor) ร่วมกับยาต้านอักเสบ celecoxib (COX-2 inhibitor) ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการให้ยาร่วมดังกล่าวทำให้มีความเสี่ยงต่อความดันโลหิตสูงและหลอดเลือดเสื่อมหน้าที่เมื่อให้ยาเป็นเวลานาน ดังนั้นการรักษาในทางคลินิกจะต้องพึงระวังและหลีกเลี่ยงการใช้ยาร่วมในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงและมีความผิดปกติของหลอดเลือด เพราะอาจจะทำให้ภาวะของโรครุนแรงขึ้นและนำไปสู่โรกระบบหัวใจและหลอดเลือดที่รุนแรงขึ้น

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Related Literature

Hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA axis) เป็นระบบภายในสมองที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดของร่างกาย เมื่อร่างกายตอบสนองต่อความเครียดเซลล์ประสาทใน hypothalamus จะสร้างและหลั่ง corticotrophin-releasing hormone (CRH) ไปกระตุ้น anterior pituitary gland ให้หลั่ง adrenocorticotrophic hormone (ACTH) ซึ่งจะมีผลกระตุ้นต่อมหมวกไตให้หลั่ง cortisol และ catecholamine เมื่อระดับ plasma cortisol เพิ่มมักเกิดการป้อนกลับเชิงลบ (negative feedback) ไปที่ pituitary, hippocampus, และ hypothalamus ทำให้มีการหลั่ง CRH และ ACTH ลดลง (Nemeroff, 2008; Strokes, 1995) จากการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าจะมีการสูญเสียการทำงานของระบบการป้อนกลับเชิงลบ (impaired feedback control of HPA axis) และ HPA axis ทำงานมากกว่าปกติ (hyperactivity of HPA axis) เป็นผลให้มีระดับ cortisol และ norepinephrine (NE) ในเลือดสูง (Grippe & Johnson, 2002; 2009) นอกจากนี้ในระบบประสาทส่วนกลางของผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีการเปลี่ยนแปลงของระบบสารสื่อประสาท โดยพบว่ามี การสูญเสียการทำงานของเซลล์ประสาทที่ใช้ serotonin, norepinephrine (NE) และ dopamine (DA) เป็นสารสื่อประสาท และสารสื่อประสาทเหล่านี้ในสมองมีระดับลดลง (Nemeroff, 2008) การเปลี่ยนแปลงของระบบสารสื่อประสาทเหล่านี้มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมและอารมณ์ที่พบในผู้ป่วยโรคซึมเศร้า เช่น มีอารมณ์หดหู่ หมกมืดตายยาก รู้สึกสูญเสียความเชื่อมั่นในตนเอง ขาดสมาธิ เป็นต้น (Grippe & Johnson, 2009; Nemeroff, 2008)

การศึกษาเกี่ยวกับโรคซึมเศร้าทำให้เกิดการตั้งข้อสมมุติฐานว่ากระบวนการอักเสบมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรค โดยพบว่าใน plasma ของผู้ป่วยจะมีระดับ inflammatory markers เพิ่มสูงขึ้น เช่น C-reactive protein (CRP), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF- α) เป็นต้น สารเหล่านี้เกิดจากการกระตุ้น immune system (Howren et al, 2009; Kobrosly & van Wijngaarden, 2010) มีหลักฐานยืนยันว่าระดับ proinflammatory cytokines ในเลือดของผู้ป่วยโรคซึมเศร้านั้นมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของ HPA axis hyperactivity อีกทั้งยังสัมพันธ์กับความรุนแรงของพฤติกรรมความเจ็บป่วย (sickness behavior) เช่น อารมณ์หดหู่ ความวิตกกังวล และสูญเสียความจำ เป็นต้น (Schiepers et al, 2005) เชื่อว่า proinflammatory cytokines มีผลต่อการหลั่งและกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท DA, NE และ serotonin ในระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งน่าจะมีส่วนทำให้สารสื่อประสาทเหล่านี้ลดลงในภาวะซึมเศร้า (Grippe & Johnson, 2009; Muller & Schwarz, 2007) serotonin เป็นสารสื่อประสาทที่สังเคราะห์จาก tryptophan ดังนั้นการสังเคราะห์ serotonin จึงขึ้นอยู่กับระดับ tryptophan จากการศึกษาพบว่า proinflammatory cytokines เช่น TNF- α และ interferons- γ (IFN- γ) สามารถกระตุ้น enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) ทำให้เกิดการสลายของ tryptophan จนเกิดภาวะพร่อง tryptophan ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการลดระดับ serotonin ในสมอง (Christmas et al, 2011; Loftis et al, 2010; Shelton & Miller, 2011) นอกจากนี้ proinflammatory cytokines ยังมีผลลด

tetrahydrobiopterin ที่เป็น cofactor ของ enzyme tyrosine hydroxylase โดย enzyme นี้มีความสำคัญในการสังเคราะห์ DA และ NE ดังนั้นจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สารสื่อประสาทเหล่านี้ลดลง (Shelton & Miller, 2011)

โดยทั่วไปการอักเสบของเนื้อเยื่อมักมีการหลั่งสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediator) กลุ่ม prostaglandins (PGs) การสังเคราะห์ PGs นั้นต้องอาศัย cyclooxygenase (COX) enzyme ซึ่งมี 2 isoforms คือ COX-1 และ COX-2 โดย COX-2 gene จะเกิด expression เมื่อได้รับการเหนี่ยวนำจาก inflammatory stimuli (Hawkey, 2001) จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าพบว่าใน plasma ของผู้ป่วยจะมีระดับ prostaglandin E₂ (PGE₂) เพิ่มสูงกว่าคนปกติ (Lieb et al, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้าพบว่าในเลือดจะมีระดับ PGE₂ และ IL-1 β เพิ่มสูงขึ้น ในสมองก็พบว่ามี COX-2 expression เพิ่มควบคู่กับการเพิ่มระดับของ PGE₂ (Guo et al, 2009; Song et al, 2009) มีการศึกษาที่ยืนยันว่า PGE₂ สามารถกระตุ้นการหลั่ง IL-6 (Fiebich et al, 2001; Liu et al, 2006) อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ฮอร์โมน corticosterone จากต่อมหมวกไต (Flack et al, 1969) จากหลักฐานเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า COX-2 enzyme น่าจะมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรคซึมเศร้า

มีรายงานยืนยันว่าในภาวะซึมเศร้ามีความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการอักเสบกับภาวะ oxidative stress โดยพบว่าในภาวะซึมเศร้าจะมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immune response) และการอักเสบ (inflammatory response) ซึ่งจะก่อให้เกิด reactive oxygen species (ROS) การเกิด ROS จำนวนมากมีผลทำลายเซลล์ ทำให้เกิดการอักเสบและเซลล์ตาย การทำลายเซลล์โดย ROS และสารสื่ออักเสบต่างๆ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของสมองในภาวะซึมเศร้า (Bakunina et al, 2015) การศึกษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าพบว่าในเลือดของผู้ป่วยจะมีระดับ F₂ α -isoprostanes และ malondialdehyde (เป็นสารที่เกิดจาก lipid peroxidation) สูงกว่าปกติ (Yager et al, 2010; Sarandol et al, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ F₂-isoprostane มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับระดับ IL-6 ในผู้ป่วยซึมเศร้าที่ไม่ได้รับยารักษา (Rawdin et al, 2012) เป็นที่ยืนยันแล้วว่าการเกิด oxidative stress มีผลทำลายหลอดเลือดและเกิด endothelial dysfunction ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) และความดันโลหิตสูง รวมทั้งโรคหัวใจและหลอดเลือดอื่นๆ (Dhalla et al, 2000) นอกจากนี้สารสื่ออักเสบมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพในโรค atherosclerosis ซึ่งจะทำให้เกิดโรคหัวใจหลอดเลือดตามมา ในปัจจุบันจึงใช้ inflammatory marker ต่างๆ อาทิ IL-1 β , IL-6, TNF- α , CRP, และ IFN- γ เป็นตัวบ่งชี้ถึงความเสี่ยงต่อการเกิด vascular disease และ cardiovascular death (Blake & Ridker, 2002; Koenig, 2001) ดังนั้นในภาวะซึมเศร้าจะเกิดทั้ง oxidative stress และมีสารสื่ออักเสบเพิ่มขึ้น ผู้ป่วยโรคซึมเศร้าจึงอยู่ในภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดมากกว่าปกติ

การกระตุ้น HPA axis ในภาวะซึมเศร้า มีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ กล่าวคือ มีการกระตุ้น sympathetic nerve มากกว่าปกติ ในขณะที่การทำงานของ parasympathetic nerve ลดลง (Grippe & Johnson, 2009) ในโรคซึมเศร่ายังพบว่าสัญญาณ sympathetic nerve ไปสู่ต่อม

หมวกไตเพิ่มมากกว่าปกติ (sympathoadrenal hyperactivity) เป็นผลให้ระดับ plasma NE สูงผิดปกติ (Joynt et al, 2003) การกระตุ้น sympathetic nerve มีผลต่อการหลั่ง renin จากไตจึงมีการกระตุ้น renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) ส่งผลให้ระดับ angiotensinII (AngII) และ aldosterone ใน plasma เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคซึมเศร้า (Grippe & Johnson, 2009) การเพิ่มการทำงานของ sympathetic nerve, การเพิ่มระดับ plasma NE และการกระตุ้น RAAS ในโรคซึมเศร้าเป็นความผิดปกติที่พบได้ในโรกระบบหัวใจหลอดเลือด เช่น ความดันโลหิตสูง ภาวะหัวใจล้มเหลว เป็นต้น ส่งผลให้ผู้ป่วยโรคซึมเศร้าเกิดความเสื่อมทั้งหัวใจและหลอดเลือด (Bakris & Mensah, 2003; Katz, 2003) เมื่อสัญญาณ sympathetic nerve และ parasympathetic nerve ที่มาสู่หัวใจเกิดการเสียดุล (sympathovagal imbalance) เป็นผลให้ผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีอัตราการเต้นหัวใจสูงกว่าปกติและมีการลด heart rate variability (HRV) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ของการเกิด sudden death และ ventricular arrhythmia ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ (Joynt et al, 2003) มีหลักฐานมากมายยืนยันว่า การเพิ่มสัญญาณ sympathetic nerve สู่หัวใจและหลอดเลือด และการเพิ่มระดับของ cortisol, NE และสารสื่ออักเสบในเลือดเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น atherosclerosis, hypertension, coronary heart disease, และ heart failure เป็นต้น (Grippe & Johnson, 2002; 2009; Nemeroff, 2008; Scalco et al, 2005)

การรักษาโรคซึมเศร้าส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นการปรับเปลี่ยนระดับสารสื่อประสาทในสมอง ตัวอย่างยาที่ใช้รักษา เช่น tricyclic antidepressant, monoamine oxidase inhibitor เป็นต้น ยาทั้งสองกลุ่มพบว่า มีผลต่อความดันเลือด โดยมีรายงานทั้งมีผลเพิ่มและลดความดันเลือด (Levinson et al, 2010) ส่วนยา tricyclic antidepressant นั้นมีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก ทั้ง anticholinergic action, antihistaminic action และ α_1 -adrenergic blocking effect ในปัจจุบันได้มีการพัฒนายาใหม่ คือ selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการนำสารสื่อประสาท serotonin (5-HT) กลับเข้าปลายประสาท ทำให้มีระดับ serotonin ในสมองเพิ่มขึ้น ยา SSRI นี้มีผลข้างเคียงน้อยกว่า tricyclic antidepressant แบบดั้งเดิม (Osada, 2003) มีรายงานยืนยันว่าการรักษาในทางคลินิกด้วยยาต้านโรคซึมเศร้าชนิดเดียว (monotherapy) พบอัตราการป่วยซ้ำสูงถึง 28-45% (Nemeroff, 2008) ด้วยเหตุนี้การรักษาในปัจจุบันเริ่มมีการใช้ยา 2 ชนิด ร่วมกันในการรักษา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงและคือต่อยาต้านโรคซึมเศร้า (Lenderts & Kalali, 2009) เนื่องจากพยาธิสรีรวิทยาของโรคซึมเศร้านั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบจากที่ได้มีการตรวจพบสารสื่ออักเสบต่างๆ ในผู้ป่วยโรคนี้ จึงได้มีการนำยาต้านการอักเสบ (anti-inflammatory drug) กลุ่ม selective COX-2 inhibitor มาใช้ร่วมกับยารักษาโรคซึมเศร้ากลุ่ม SSRI จากการศึกษาในทางคลินิกด้วยวิธีการให้ยาร่วมระหว่าง SSRI และ selective COX-2 inhibitor สามารถลดอาการของโรคได้ดีกว่าการให้ SSRI อย่างเดียว (Akhondzadeh et al, 2009; Davis et al, 2010, Muller et al, 2006) การศึกษาในสัตว์ทดลองได้ช่วยยืนยันประสิทธิภาพของ COX-2 inhibitor ในการรักษาโรคซึมเศร้า โดยศึกษาในหนูขาวปกติและหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะซึมเศร้า พบว่า COX-2 inhibitor สามารถลดระดับสารสื่ออักเสบ IL-1 β , TNF- α , และ PGE $_2$ ในสมองหนูส่วน hippocampus และ

hypothalamus และยังสามารถลดระดับสารสื่ออักเสบเหล่านี้และระดับ corticosterone ในเลือด การเปลี่ยนแปลงนี้สอดคล้องกับการลดพฤติกรรมซึมเศร้าของหนูขาว (Casolini et al, 2002; Myint et al, 2007; Song et al, 2009) การศึกษาในหนูขาวที่เหนียวทำให้เกิดอาการซึมเศร้าโดยการให้ความเครียด พบว่าต้องให้ COX-2 inhibitor ระยะยาวจึงจะมีผลลดพฤติกรรมซึมเศร้าซึ่งเกิดควบคู่กับการลด COX-2 expression และลดระดับ PGE₂ ในสมอง (Guo et al, 2009) การศึกษาต่างๆที่กล่าวมาได้มุ่งชี้ให้เห็นข้อดีของการรักษาโดยการให้ยาร่วม แต่อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องมีการศึกษาผลของการให้ยาร่วมให้มากขึ้น เพื่อยืนยันถึงความปลอดภัยในการรักษา

โดยปกติยา COX-2 inhibitor มักใช้กับผู้ป่วยที่มีการอักเสบของข้อแบบเรื้อรัง มีหลักฐานมากมายยืนยันว่า COX-2 inhibitor ทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้เสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจหลอดเลือดมากขึ้น (Becker, 2005; Mardini et al, 2001; Hawkey, 2001) ยากลุ่มนี้มีผลทำให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) และมีแนวโน้มเกิด thrombosis (Claridge et al, 2005; Gaziano et al, 2006; Krum et al, 2006; Muscara et al, 2000) นอกจากนี้ยังทำให้ผนังหลอดเลือดชั้น endothelium เสื่อมหน้าที่ (endothelial dysfunction) ทำให้ผลิตสารคลายหลอดเลือดได้น้อยกว่าปกติ ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ยากลุ่มนี้เพิ่มความดันเลือด (Bulut et al, 2003; Lekakis et al, 2006) ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือดมากกว่าคนปกติ การให้ยา COX-2 inhibitor ร่วมกับยาด้านโรคซึมเศร้าอาจทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อโรกระบบนี้มากยิ่งขึ้น จึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจศึกษาเพื่อประเมินภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรกระบบหัวใจและหลอดเลือดในการให้ยารักษาโรคซึมเศร้ากลุ่ม SSRI ร่วมกับยาด้านอักเสบกลุ่ม COX-2 inhibitor ผลการศึกษาจะให้องค์ความรู้ที่จะช่วยพัฒนาการรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้า เพื่อให้ได้วิธีการรักษาที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งจะช่วยลดอัตราการป่วยและทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

Research methods

สัตว์ทดลองและการให้ treatments

งานวิจัยนี้ทำการทดลองที่ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา การศึกษาใช้หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley (อายุ 5 สัปดาห์) หนูขาวทั้งหมดจะได้รับน้ำและอาหารมาตรฐานจากสำนักสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหิดล โดยเลี้ยงไว้ในห้องสัตว์ทดลองของคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 25°C ตลอด 24 ชม. เลี้ยงหนูขาวในกรงสเตนเลสกรงละ 1 ตัว พื้นกรงรองด้วยวัสดุรองนอน (จากสำนักสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหิดล) และให้หนูขาวปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่อย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนเริ่มการทดลอง การศึกษามีขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยดังนี้

การเหนี่ยวนำให้หนูขาวเกิดภาวะซึมเศร้าโดยการให้ chronic mild stress (CMS) ตามวิธีของ Grippo et al (2002) ซึ่งได้รับการยอมรับในระดับสากล การทดลองจะแบ่งหนูขาวออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง ดังนี้

- 1) กลุ่มควบคุม (control) ไม่มีการให้ treatment ใดๆ
- 2) กลุ่มที่ได้รับ chronic mild stress (CMS) ให้น้ำทางปาก 1 ml/kg/d
- 3) กลุ่มที่ได้รับ chronic mild stress และให้ยาต้านซึมเศร้า Fluoxetine (selective serotonin-reuptake inhibitor) 5mg/kg/d (Meddicpharma) (CMS-F)
- 4) กลุ่มที่ได้รับ chronic mild stress และให้ยา Fluoxetine 5 mg/kg/d ร่วมกับยาต้านการอักเสบ celecoxib (COX-2 inhibitor) 5 mg/kg/d (Pfizer) (CMS-FC)

การให้ยาใช้วิธีป้อนทางปากและเริ่มให้ควบคู่กับการให้ CMS โดยให้เป็นเวลา 5 สัปดาห์ การเหนี่ยวนำให้หนูขาวเกิดภาวะซึมเศร้าด้วยการให้ CMS จะใช้วิธีให้ความเครียดในหลากหลายรูปแบบ สลับกันไปใน 1 สัปดาห์ ดังนี้คือ งดอาหารและน้ำ (4 ชม. 2 ครั้ง) เอียงกรงเป็นมุม 40° (14 ชม. 2 ครั้ง และ 16 ชม. 1 ครั้ง) ให้อยู่อย่างแออัด 2 ตัว/กรง (16 ชม. 1 ครั้ง และ 18 ชม. 1 ครั้ง) อยู่ในกรงที่ขึ้นและ (4 ชม. 3 ครั้ง) อยู่ในกรงที่ขึ้นและร่วมกับการให้แสงสว่างทั้งคืน (18 ชม. 1 ครั้ง) ให้เสียงเพื่อให้เกิด เช่น เสียงแมว เสียงฟ้าร้องฟ้าผ่า (2 ชม. 2 ครั้ง และ 1 ชม. 1 ครั้ง) ให้ขวดเปล่า (4 ชม. 2 ครั้ง) และจมน้ำร่วมกับการให้แสงสว่างทั้งคืน (15 ชม. 1 ครั้ง) โดยจัดตารางการให้ความเครียดไม่ซ้ำกันในแต่ละสัปดาห์ เมื่อให้ treatments ครบ 5 สัปดาห์ ทำการทดสอบการเกิดภาวะซึมเศร้าและประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบบหัวใจหลอดเลือด

การประเมินการเกิดภาวะซึมเศร้า

ประเมินการเกิดภาวะซึมเศร้าในหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง ดังนี้

1. Forced swimming test

Forced swimming test (FST) เป็นการทดสอบภาวะซึมเศร้าที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง โดยใช้เวลาที่หนูหยุดว่ายน้ำ (immobility time) เป็นดัชนีชี้วัดภาวะซึมเศร้า (index of depression) ถ้า immobility time มากแสดงว่าหนูมีภาวะซึมเศร้ามาก (Andreatini & Bacellar, 1999; Pliakas et al, 2001) ทำการทดสอบ FST ในหนูทุกกลุ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 5 สัปดาห์ ในการทดสอบแต่ละครั้งใช้เวลา 2 วัน โดยทดสอบในช่วงเช้า 8.00-11.00 น เพื่อหลีกเลี่ยงผลของ circadian rhythm ต่ออารมณ์ของสัตว์ทดลอง ในการทดสอบจะให้หนูว่ายน้ำในภาชนะพลาสติกทรง (กว้าง 43 cm ยาว 36 cm และสูง 50 cm) ซึ่งบรรจุน้ำสูง 40 cm อุณหภูมิ น้ำ 25°C โดยในวันแรกให้หนูว่ายน้ำเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้หนูเกิดความเคยชินกับวิธีการทดสอบ เมื่อครบ 15 นาทีนำหนูออกจากภาชนะ เช็ดตัวด้วยผ้าขนหนูแล้วนำไปใส่ในกรงที่ให้ความอบอุ่นด้วยแสงไฟ ในวันที่ 2 ของการทดสอบให้หนูว่ายน้ำเป็นเวลา 6 นาที โดย 2 นาทีแรกเป็นช่วงให้หนูปรับตัวและบันทึก immobility time ในช่วง 4 นาทีสุดท้าย โดยจับเวลาที่หนูหยุดเคลื่อนไหวและอยู่ในท่าลอยตัวชูศีรษะให้เหนือระดับน้ำ ขาน้ำหยุดเคลื่อนไหวและพับเข้าหาลำตัว หนูต้องอยู่ในท่านี้อย่างน้อย ≥ 2.0 วินาที เปรียบเทียบผล FST ระหว่างกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

2. ประเมินการเพิ่มของน้ำหนักตัว (Body weight gain)

เนื่องจากหนึ่งในอาการของภาวะซึมเศร้า คือ การสูญเสียความอยากอาหาร ทำให้น้ำหนักตัวลดลง (Deussing, 2006) ดังนั้นจึงได้ประเมินการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวเพื่อบ่งบอกความรุนแรงของอาการซึมเศร้า ก่อนเริ่มให้ treatments ชั่งน้ำหนักตัวของหนูขาวทุกกลุ่ม จากนั้นติดตามน้ำหนักตัวของหนูขาวทุกกลุ่มทุกสัปดาห์ระหว่างให้ treatments จนครบ 5 สัปดาห์ การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวจะคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น โดยเทียบกับน้ำหนักก่อนให้ treatments (% weight gain) เปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

3. การหาระดับ plasma cortisol

เก็บตัวอย่างเลือดจากหนูขาวทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 โดยสลบหนูด้วย thiopental sodium 70 mg/kg จากนั้นเปิดช่องอกแล้วเก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจใส่ในหลอดทดลองที่มี EDTA 2.5 mg นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเอา plasma เก็บ plasma ไว้ที่ -80°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาสารต่างๆ ต่อไป

สำหรับการทดสอบหาระดับ plasma cortisol ของหนูนั้นใช้หลักการ sandwich ELISA โดยใช้ชุด kit (MyBioSource) ในการทดสอบ โดยใส่ plasma ที่ได้จากหนูกลุ่มต่างๆ ด้วยปริมาตรที่กำหนดลงใน 96 well-plate กั้นเป็นรูปตัวยูที่ฉาบไว้แล้วด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ rat cortisol โดยทำการทดลองสองซ้ำสำหรับสารตัวอย่าง จากนั้นนำ plate ไปบ่มที่อุณหภูมิที่กำหนดเพื่อให้เกิดเป็น complex ระหว่าง antigen และ antibody หลังจากชะล้าง plate เติม cortisol specific antibody ที่ติดฉลากด้วย biotin (biotin-conjugated antibody) นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่กำหนด จากนั้นชะล้าง plate แล้วเติม streptavidin-HRP conjugate บ่มที่อุณหภูมิที่กำหนด หลังจากบ่มชะล้างการจับที่ไม่จำเพาะออก จากนั้นเติม TMB substrate

ลงไป นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วย ELISA plate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณของ cortisol ที่มีในสารตัวอย่างนั้น ส่วนสาร cortisol standards ของชุด kit ทำขั้นตอนต่างๆเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง สร้าง standard curve ของ cortisol จากค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ cortisol standards นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับ standard curve จะได้ค่าความเข้มข้นของ cortisol ในสารตัวอย่าง เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ plasma cortisol ของหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

การประเมินผลของยาต่อความดันโลหิต

การศึกษานี้ใช้วิธีวัดความดันโลหิตทางหางหนู โดยใช้เครื่อง IITC Model 229 Pulse Amplifier/Pump photoelectric tail cuff system (IITC Life Sciences; Woodland Hills, CA) ซึ่งจะเชื่อมต่อเข้ากับระบบบันทึก Biopac MP100 recording system (Biopac Inc.) เพื่อบันทึกคลื่นชีพจร (pulse waves) การวัดความดันโลหิตเริ่มจากห่อหนูขาวด้วยผ้าขนหนูโดยให้หางยื่นออกมาภายนอก จากนั้นให้ความร้อนบริเวณหางหนูขาวโดยใช้โคมไฟขนาด 100 วัตต์ เป็นเวลา 8 นาที เพื่อให้หลอดเลือดแดงบริเวณหางขยายตัวและเครื่องสามารถตรวจจับคลื่นชีพจรได้ หลังจากให้ความร้อนแล้วนำ tail cuff สวมที่หางหนูขาว เครื่อง IITC Model 229 จะทำหน้าที่ บีบลมเข้าและปล่อยออกจาก tail cuff แบบอัตโนมัติ พร้อมกับบันทึกชีพจรที่หางหนู ความดันใน tail cuff ณ จุดที่บันทึกคลื่นชีพจรครั้งแรกได้ในขณะปล่อยลมออกจาก cuff คือค่า systolic blood pressure (SBP) ค่า pulse rate (PR) คำนวณจากกราฟบันทึกของคลื่นชีพจร ในการประเมินความดันโลหิตแต่ละครั้งหนูขาวแต่ละตัวจะได้รับการตรวจสอบความดันโลหิต 2 วันติดต่อกันแล้ว นำค่าความดันโลหิตทั้ง 2 วันหาค่าเฉลี่ย ทำการวัดความดันโลหิตของหนูขาวทุกกลุ่มทดลองในสัปดาห์ก่อนเริ่มทดลอง (week 0) และวัดความดันโลหิตอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 5 เมื่อให้ treatments ครบ (week 5) โดยเปรียบเทียบความดันโลหิตของหนูขาวทุกกลุ่มทั้งก่อนเริ่ม treatments และเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยสถิติวิเคราะห์

การประเมินภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness)

การวัด pulse wave velocity (PWV) ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีการประเมินความสามารถในการยืดขยายของหลอดเลือด (arterial compliance or distensibility) และสามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) (Asmar et al, 1995) วิธีการวัด PWV ในการทดลองนี้เป็นวิธีที่ประยุกต์ดัดแปลงมาจากการวัด PWV ในสัตว์ทดลองตามวิธีการของ Fitch และคณะ (2001) ในการศึกษานี้ได้วัด PWV ในหนูขาวทุกกลุ่มเมื่อสิ้นสุดการให้ treatments 5 สัปดาห์ โดยสลบหนูขาวด้วย Thiopental sodium 60 mg/kg จากนั้นติด ECG lead แบบ lead II เพื่อบันทึกคลื่นไฟฟ้าหัวใจโดยเชื่อมสัญญาณเข้ากับระบบบันทึกคอมพิวเตอร์ ในการบันทึกคลื่นชีพจร (pulse wave) ได้ให้ความร้อนบริเวณหางหนูด้วยโคมไฟขนาด 100 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้หลอดเลือดบริเวณหางหนูขยายตัว สวม photoelectric sensor ไว้บริเวณโคนหางหนู เพื่อตรวจจับคลื่นชีพจร (pulse wave) และสอด temperature probe ไว้ที่ทวารเพื่อบันทึกอุณหภูมิ

กาย เชื่อมต่อสัญญาณคลื่นไฟฟ้าหัวใจ คลื่นชีพจร และอุณหภูมิกายเข้าสู่ระบบบันทึก Biopac MP100 recording system (Biopac Inc.) ในการทดลองได้ควบคุมอุณหภูมิกายของหนูขาวทุกกลุ่มให้อยู่ในช่วง 36.5-37.0°C และบันทึกสัญญาณทั้ง 3 พร้อมกัน

การหาระยะเวลาในการเคลื่อนที่ของคลื่นชีพจร (pulse transit time) นั้น หากจากกราฟที่บันทึกคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (ECG) และกราฟที่บันทึกคลื่นชีพจร โดยวัดระยะเวลาจากยอด R wave ใน ECG ไปยังยอดของคลื่นชีพจรที่อยู่ถัดไปด้วย software ในคอมพิวเตอร์ ส่วนระยะทางในการเคลื่อนที่ของคลื่นชีพจร (pulse transit distance) หาโดยการวัดระยะทางจาก sternum notch ของหนูขาวถึงตำแหน่งที่วาง photoelectric sensor ที่บริเวณหางหนูขาว แล้วคำนวณค่า PWV จากสมการ $PWV (m/s) = \text{pulse transit distance} / \text{pulse transit time}$ (Asmar et al, 1995) เปรียบเทียบค่า PWV จากหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์การประเมินระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ

การวิเคราะห์ heart rate variability (HRV) เป็นการประเมินการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ โดยการวัดการแปรปรวนของระยะห่างระหว่างการบีบตัวของหัวใจแต่ละครั้ง (interbeat interval) ในการศึกษานี้ได้ใช้การวัด pulse rate variability (PRV) แทน HRV ซึ่งได้มีหลักฐานยืนยันว่าการวัด PRV ให้ผลเที่ยงตรงเช่นเดียวกับ HRV เมื่ออยู่ในท่านอนและมีการหายใจแบบปกติ (Kageyama et al, 1997; Khandoker et al, 2011)

วัด PRV โดยห่อหนูขาวด้วยผ้าขนหนูโดยให้หางยื่นออกมาภายนอก จากนั้นให้ความร้อนบริเวณหางหนูด้วยโคมไฟขนาด 100 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้หลอดเลือดปลายหางขยายสามารถตรวจจับคลื่นชีพจรได้ สวม photoelectric sensor (IITC Life Sciences; Woodland Hills, CA) ที่หางหนูเพื่อตรวจจับคลื่นชีพจรและสอด temperature probe ไว้ที่ทวารเพื่อตรวจจับอุณหภูมิกาย เชื่อมต่อสัญญาณคลื่นชีพจรและอุณหภูมิเข้าสู่ระบบบันทึก Biopac MP100 recording system (Biopac Inc.) ในการทดลองจะควบคุมอุณหภูมิกายของหนูทุกกลุ่มให้อยู่ในช่วง 36.5-37.0°C และบันทึกคลื่นชีพจรและอุณหภูมิกายในสภาพที่หนูสงบเป็นเวลาอย่างน้อย 3 นาที อย่างต่อเนื่องกัน วิเคราะห์ PRV จากคลื่นชีพจรด้วย HRV module software (ADInstrument) โดยวิเคราะห์ peak-to-peak interval เพื่อหา SDNN (standard deviation of normal-to-normal pulse rate) ซึ่งใช้เป็นดัชนีของ PRV ทดสอบความแตกต่างของ SDNN จากหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

การประเมินการทำงานของหลอดเลือด

การประเมินการทำงานของหลอดเลือดจะประเมินเมื่อได้เก็บข้อมูลของส่วนอื่นๆเรียบร้อยแล้ว โดยสลบหนูขาวด้วย Thiopental sodium ขนาด 70 mg/kg โดยการฉีดเข้าช่องท้อง เมื่อหนูขาวสลบจึงผ่าตัดเปิดช่องอกเพื่อแยก thoracic aorta นำหลอดเลือดแช่ใน oxygenated-Krebs solution ที่เย็น จากนั้นแกะเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกจากหลอดเลือด แล้วตัดหลอดเลือดเป็นวงจำนวน 4 ส่วน โดยแต่ละส่วนมีความยาวประมาณ 3 mm นำลวด stainless 2 เส้นสอดเข้าไปในรูของหลอดเลือด แล้วนำหลอดเลือดแขวนใน organ bath โดยให้

ลวดเส้นหนึ่งต่อเข้ากับ isometric force transducer (Biopac Inc.) ซึ่งจะส่งสัญญาณเข้าสู่ระบบบันทึก Biopac MP100 acquisition system เพื่อบันทึกแรงดึงของหลอดเลือดทั้ง 4 ส่วน ขณะทดลองหลอดเลือดจะอยู่ใน organ bath ที่มี Krebs solution, pH 7.4 ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 37°C และให้ $95\%\text{O}_2$ - $5\%\text{CO}_2$ ตลอดเวลา เมื่อแขวนหลอดเลือดใน organ bath แล้วจะให้แรงดึง (resting tension) แก่หลอดเลือด 1 g จากนั้นปล่อยให้หลอดเลือดเข้าสู่สภาวะคงคูล (steady state) เป็นเวลา 60 min ก่อนเริ่มการทดลอง โดยเปลี่ยน Krebs solution ทุกๆ 15-20 min จากนั้นประเมินการทำงานของหลอดเลือดดังนี้

1. ประเมินการตอบสนองต่อสารตีบลหลอดเลือด

การศึกษาในขั้นตอนนี้เริ่มจากให้หลอดเลือดเข้าสู่สภาวะคงคูลใน normal Krebs solution เป็นเวลา 60 min จากนั้น incubate หลอดเลือดใน low sodium Krebs solution อีก 15 min แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดตีบลด้วย KCl 60 mM จนได้ maximum tension จึงล้างหลอดเลือดด้วย normal Krebs solution ตามด้วยการ incubate หลอดเลือดกับ normal Krebs solution 30 min เมื่อครบกำหนดกระตุ้นให้หลอดเลือดตีบลด้วยสารตีบลหลอดเลือด phenylephrine (PE, α -adrenergic receptor agonist) โดยให้สารความเข้มข้น 10^{-10} – 10^{-6} M แบบ cumulative dose พร้อมกับบันทึกการเปลี่ยนแปลงแรงดึงของหลอดเลือด จากนั้นล้างหลอดเลือดแล้วปล่อยให้หลอดเลือดเข้าสู่สภาวะคงคูล 60 min

2. ประเมินการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารคลายหลอดเลือด

เมื่อหลอดเลือดกลับสู่สภาวะคงคูลแล้ว กระตุ้นให้หลอดเลือดตีบลด้วย PE ความเข้มข้น 10^{-7} M จนได้ maximum response จากนั้นให้สารคลายหลอดเลือด isoproterenol (β -adrenergic receptor agonist) ขนาด 10^{-9} – 10^{-5} M โดยการให้แบบ cumulative dose และบันทึกแรงดึงของหลอดเลือดตลอดการทดลอง

3. ประเมินการทำงานของ endothelium (endothelial function)

เมื่อหลอดเลือดกลับสู่สภาวะคงคูลแล้ว กระตุ้นให้หลอดเลือดตีบลด้วย PE ความเข้มข้น 10^{-7} M จนได้ maximum response จากนั้นให้สารคลายหลอดเลือด acetylcholine (ACh, muscarinic receptor agonist) ขนาด 10^{-9} – 10^{-5} M โดยการให้แบบ cumulative dose และบันทึกแรงดึงของหลอดเลือดตลอดการทดลอง

การประเมินระดับสารสื่ออักเสบในพลาสมา

นำ plasma ที่เก็บได้จากหนูทุกกลุ่มมาหาระดับของสารสื่ออักเสบต่าง ๆ ได้แก่ IL- 1β , TNF- α , CRP และ PGE $_2$ ดังนี้

1. การวิเคราะห์ระดับ IL- 1β , TNF- α , และ CRP ใช้หลักการ sandwich ELISA โดยใช้ชุด kit (MyBioSource) ในการทดสอบใส่ plasma ที่ได้จากหนูกลุ่มต่างๆ ด้วยปริมาตรที่กำหนดลงใน 96 well-plate กันเป็นรูปตัวยูที่ฉาบไว้แล้วด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ inflammatory marker แต่ละชนิด โดยทำการทดลองสองซ้ำสำหรับสารตัวอย่างทั้งหมด จากนั้นนำ plate ไปบ่มที่อุณหภูมิที่กำหนดเพื่อให้เกิด

เป็น complex ระหว่าง antigen และ antibody หลังจากชะล้าง plate เติม antibody ที่จำเพาะต่อ inflammatory marker แต่ละชนิดที่ติดฉลากด้วย biotin (biotin-conjugated antibody) นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่กำหนด จากนั้นชะล้าง plate แล้วเติม streptavidin-HRP conjugate บ่มที่อุณหภูมิที่กำหนด ตามด้วยการชะล้างการจับที่ไม่จำเพาะออกแล้วเติม TMB substrate จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วย ELISA plate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณของ IL-1 β , TNF- α , และ CRP ที่มีในสารตัวอย่างนั้น ส่วนสาร standards ของ IL-1 β , TNF- α , และ CRP ที่อยู่ในชุด kit ทำขั้นตอนต่างๆเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง สร้าง standard curve ของ IL-1 β , TNF- α , และ CRP จากค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ standard IL-1 β , TNF- α , และ CRP นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับ standard curve จะได้ค่าความเข้มข้นของ IL-1 β , TNF- α , และ CRP ในสารตัวอย่าง เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ plasma IL-1 β , TNF- α , และ CRP ของหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์หาระดับ PGE₂ ใช้หลักการ competitive immunoassay โดยใช้ชุด kit (Enzo Life Sciences) ในการทดสอบใส่ plasma ที่ได้จากหนูกลุ่มต่างๆ ด้วยปริมาตรที่กำหนดลงใน 96 well-plate ซึ่งฉาบไว้ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ rat PGE₂ โดยทำการทดลองสองซ้ำสำหรับสารตัวอย่างทั้งหมด จากนั้นนำ plate ไปบ่มที่อุณหภูมิที่กำหนดเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการแย่งจับของสาร เมื่อครบเวลาตามกำหนดชะล้าง plate เพื่อกำจัด reagent ส่วนเกินออก แล้วเติม pNpp substrate ที่กำหนดลงไป จากนั้นนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที เพื่อให้เกิด enzyme reaction เมื่อครบเวลาตามกำหนดเติม stop solution เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 405 nm นำค่าเฉลี่ย OD ของสารตัวอย่างมาคำนวณหา percent bound ส่วนสาร PGE₂ standards ของชุด kit ให้ทำขั้นตอนต่างๆเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง สร้าง standard curve จาก percent bound ของ PGE₂ standards และความเข้มข้นของ PGE₂ standards เทียบค่า percent bound ของสารตัวอย่างกับ standard curve จะได้ความเข้มข้นของ PGE₂ ในสารตัวอย่างนั้น แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ PGE₂ ของหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

การประเมินระดับ plasma malondialdehyde

Malondialdehyde (MDA) เป็นสารที่เกิดจาก lipid peroxidation จึงใช้ MDA เป็น oxidative stress marker (Ho et al, 2013) การวิเคราะห์หาระดับ plasma MDA ของหนูนั้นใช้หลักการการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง MDA และ Thiobarbituric Acid (TBA) ภายใต้สภาวะที่มีความเป็นกรด และอุณหภูมิสูง โดยใช้ชุด kit (Cayman Chemical) ใส่ plasma ของหนู 100 μ l, TBA SDS solution 100 μ l, และ TBA color reagent 4 ml ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด นำหลอดทดลองไปต้มที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 1 ชม เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยากันระหว่าง MDA และ TBA เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำหลอดทดลองทั้งหมดทำให้เย็นในน้ำแข็ง 10 นาที เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 1600 x g อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นแบ่งสารในหลอดทดลองใส่ plate 150 μ l แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD)

microplate reader ที่ความยาวคลื่น 532 nm ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณของ MDA ที่มีในสารตัวอย่างนั้น ส่วนสาร MAD standards ในชุด kit ให้ทำขั้นตอนเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของ MAD standards ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้าง standard curve เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับ standard curve จะได้ความเข้มข้นของ plasma MAD เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ plasma MDA ของหนูแต่ละกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดแสดงในรูปแบบ mean \pm S.E.M. การเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มทดลองด้วยสถิติวิเคราะห์แบบ one-way ANOVA ตามด้วย Tukey HSD test หากค่า $P < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการศึกษาการทำงานของหลอดเลือด แรงดึงของหลอดเลือดที่เกิดจาก PE แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ของแรงดึงสูงสุดที่เกิดจาก KCl (% of maximum response to KCl) ส่วนการตอบสนองต่อ ACh และ isoproterenol การคลายตัวของหลอดเลือดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแรงดึงสูงสุดที่เกิดจาก PE 10^{-7} M (% of maximum contraction to PE) แล้วแสดงข้อมูลเป็นเปอร์เซ็นต์การคลายตัว (% relaxation) โดยคำนวณจากสมการ **% relaxation = 100 - (% of maximum contraction to PE)**

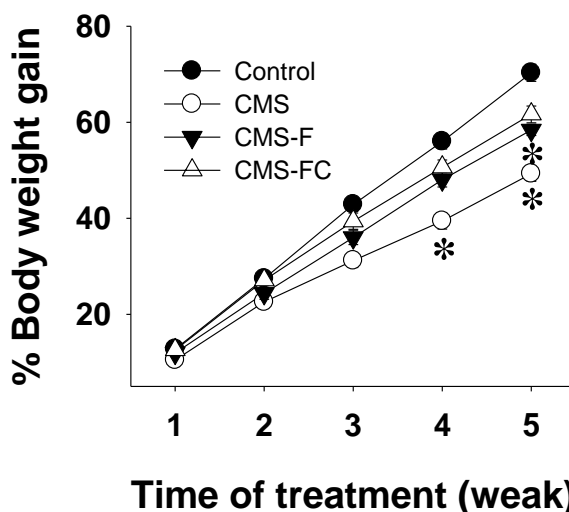
เปรียบเทียบความแตกต่างของ dose-response curve ด้วยสถิติวิเคราะห์แบบ two-way ANOVA ตามด้วย Tukey HSD test หากค่า $P < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คำนวณค่า EC_{50} (50% effective concentration) จาก dose-response curve ซึ่งจะนำไปคำนวณค่าเป็น pD_2 value จากสูตร **$pD_2 = -\log EC_{50}$** นอกจากนี้ยังหาค่าการตอบสนองสูงสุดต่อสารต่างๆ (E_{max}) โดย E_{max} ที่เกิดจากการตอบสนองต่อ PE จะหมายถึงค่าการหดตัวสูงสุดเมื่อให้ PE แสดงค่าเป็น % of maximum response to KCl ส่วน E_{max} ที่เกิดจากการตอบสนองต่อ ACh และ isoproterenol หมายถึงการคลายตัวสูงสุดเมื่อให้ ACh และ isoproterenol ตามลำดับ โดยแสดงค่าเป็น % relaxation เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มด้วยสถิติวิเคราะห์แบบ one-way ANOVA ตามด้วย Tukey HSD test หากค่า $P < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

Results

ผลของยาต่อภาวะซึมเศร้า

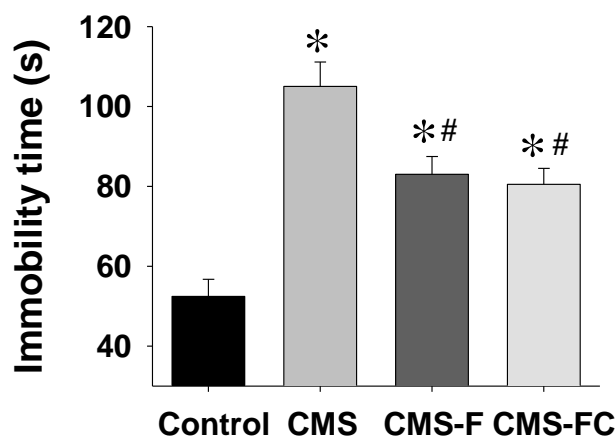
การศึกษานี้ได้ใช้ % weight gain เป็นดัชนีหนึ่งในการประเมินภาวะซึมเศร้าของหนูขาว เพราะการเกิดภาวะซึมเศร้าจะทำให้ความอยากอาหารลดลง ในระหว่างการให้ treatments เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ได้ติดตามการเพิ่มของน้ำหนักตัวของหนูขาวแต่ละกลุ่มผลดังแสดงในรูปที่ 1 หนูขาวกลุ่มที่ได้รับความเครียด (CMS) การเพิ่มของน้ำหนักตัวเริ่มลดลงอย่างเด่นชัดในสัปดาห์ที่ 3 และ % weight gain ของหนูกลุ่มนี้จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ($P<0.05$) ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับความเครียดร่วมกับให้ยาด้านซึมเศร้า serotonin reuptake inhibitor (Fluoxetine) (CMS-F) การเพิ่มน้ำหนักตัวมีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 3 เช่นกันและต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 5 ($P<0.05$) % weight gain ของหนูกลุ่ม CMS-F มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม CMS ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 โดยเฉลี่ยประมาณ 8% และ 9% ตามลำดับ หนูขาวกลุ่มที่ได้รับความเครียดร่วมกับการให้ยาด้านซึมเศร้า (Fluoxetine) และยาด้านอักเสบ COX-2 inhibitor (Celecoxib) (CMS-FC) พบว่า % weight gain มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม CMS โดยเฉลี่ย 11% และ 12% ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ตามลำดับ แม้ว่าการเพิ่มของน้ำหนักตัวจะน้อยกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 8% แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงการเพิ่มน้ำหนักตัว (% weight gain) ของหนูทุกกลุ่มทดลองระหว่างการให้ Treatment เป็นเวลา 5 สัปดาห์, $n=23$ ทุกกลุ่มทดลอง, $*P<0.05$ vs control

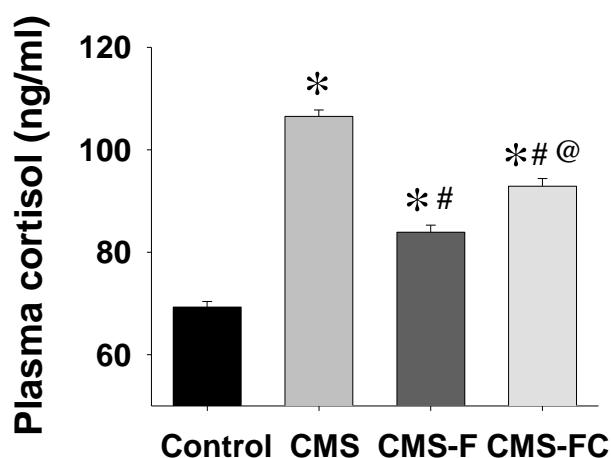
การศึกษานี้ได้ประเมินภาวะซึมเศร้าด้วยวิธี Forced swimming test (FST) โดยใช้เวลาที่หนูหยุดว่ายน้ำ (immobility time) เป็นดัชนีชี้วัดภาวะซึมเศร้า เมื่อให้ treatments ครบ 5 สัปดาห์ ได้ทดสอบ FST ในหนูขาวทุกกลุ่มผลดังแสดงในรูปที่ 2 จะเห็นว่า immobility time ของหนูกลุ่ม CMS จะมากกว่ากลุ่มควบคุม

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การให้ยาในหนูกลุ่ม CMS-F และกลุ่ม CMS-FC มีแนวโน้มทำให้ immobility time น้อยกว่ากลุ่ม CMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ immobility time ของหนูกลุ่ม CMS-F และ CMS-FC ยังคงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงค่า immobility time จากการทดสอบ FST ของหนูทุกกลุ่มทดลองหลังสิ้นสุด Treatments ในสัปดาห์ที่ 5, $n=9$ ทุกกลุ่มทดลอง, $*P<0.05$ vs control

การศึกษานี้ยังได้ประเมินภาวะซึมเศร้าจากระดับ plasma cortisol โดยวัดระดับ plasma cortisol เมื่อให้ treatment ครบ 5 สัปดาห์ หนูกลุ่ม CMS เมื่อได้รับความเครียดจะมีระดับ plasma cortisol สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด ($P<0.05$) หนูกลุ่ม CMS-F และกลุ่ม CMS-FC เมื่อได้รับยามีผลลดระดับ plasma cortisol เมื่อเทียบกับกลุ่ม CMS ($P<0.05$) แต่ยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามระดับ plasma cortisol ของกลุ่ม CMS-FC กลับสูงกว่ากลุ่ม CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงระดับ plasma cortisol ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุด treatment 5 สัปดาห์ $n=7$ ทุกกลุ่มทดลอง, $*P<0.05$ vs control, $^{\#}P<0.05$ vs CMS, $^{\textcircled{a}}P<0.05$ vs CMS-F

ผลของยาต่อการอักเสบและภาวะ oxidative stress

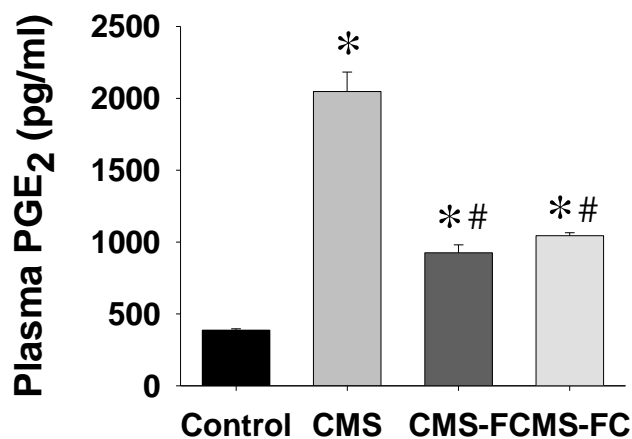
เมื่อสิ้นสุด treatments ในสัปดาห์ที่ 5 ได้เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์หาระดับสารสื่ออักเสบต่างๆใน plasma ได้แก่ PGE₂, IL-1 β , TNF- α , และ CRP รูปที่ 4 แสดงระดับของ plasma PGE₂ ของหนูทั้ง 4 กลุ่มทดลอง จะเห็นว่าหนูกลุ่มที่ได้รับความเครียด (CMS) มีระดับ plasma PGE₂ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.01$) หนูกลุ่มที่ได้รับยาต้านซึมเศร้าอย่างเดียว (CMS-F) กลับมีระดับ plasma PGE₂ ใกล้เคียงกับหนูกลุ่มที่ได้ทั้งยาต้านซึมเศร้าและยาต้านอักเสบ (CMS-FC) และระดับ plasma PGE₂ ของหนู 2 กลุ่มนี้แตกต่างจากของกลุ่มควบคุมและกลุ่ม CMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.01$) (รูปที่ 4)

รูปที่ 5 แสดงระดับ plasma IL-1 β ของหนูทั้ง 4 กลุ่มทดลอง จะเห็นว่าระดับ plasma IL-1 β ของหนูกลุ่ม CMS สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และกลุ่มที่ได้ยาต้านซึมเศร้า (CMS-F) ยังคงมีระดับ plasma IL-1 β สูงใกล้เคียงกับกลุ่ม CMS ส่วนหนูกลุ่ม CMS-FC ซึ่งได้รับยาต้านอักเสบจะมีระดับ plasma IL-1 β ลดลงจนเกือบเท่ากับกลุ่มควบคุมและต่างจากกลุ่ม CMS และกลุ่ม CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 5)

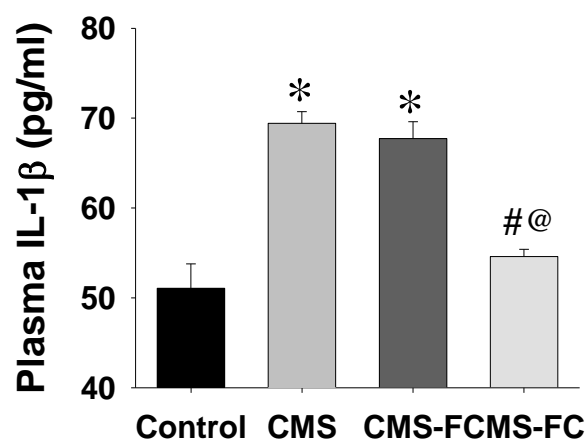
รูปที่ 6 แสดงระดับ plasma TNF- α ของหนูทั้ง 4 กลุ่มทดลอง จะเห็นว่าระดับ plasma TNF- α ของกลุ่ม CMS เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับยา CMS-F และ CMS-FC ระดับ plasma TNF- α จนต่ำกว่ากลุ่ม CMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามระดับ plasma TNF- α ของกลุ่ม CMS-FC ยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) (รูปที่ 6)

รูปที่ 7 แสดงระดับ plasma CRP ของหนูทุกกลุ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะเห็นว่าหนูกลุ่ม CMS มีระดับ plasma CRP เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่วนระดับ plasma CRP ของหนูกลุ่ม CMS-F และกลุ่ม CMS-FC มีระดับใกล้เคียงกันและต่ำกว่ากลุ่ม CMS แต่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 7)

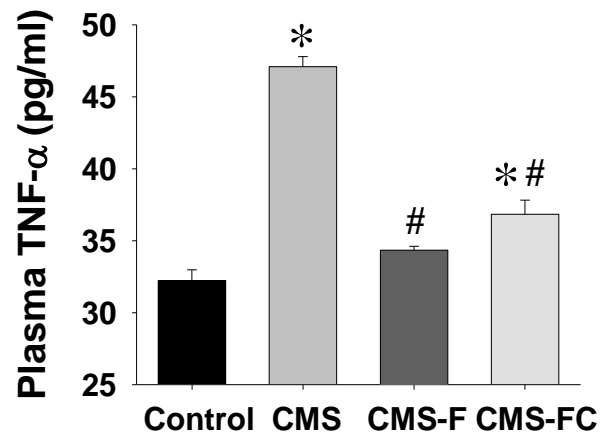
การศึกษานี้ได้ประเมินการเกิด oxidative stress ในหนูทุกกลุ่มทดลองโดยการวัดระดับ plasma MAD ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 8 จะเห็นว่าระดับ plasma MAD ของหนูกลุ่ม CMS สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด ($P<0.01$) กลุ่ม CMS-F มีระดับ plasma MAD ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม CMS ($P<0.01$) แต่ยังคงมีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.01$) เมื่อให้ยาต้านอักเสบร่วมกับยาต้านซึมเศร้า (CMS-FC) กลับทำให้ระดับ plasma MAD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนเกือบเท่ากับกลุ่ม CMS และยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.01$) (รูปที่ 8)



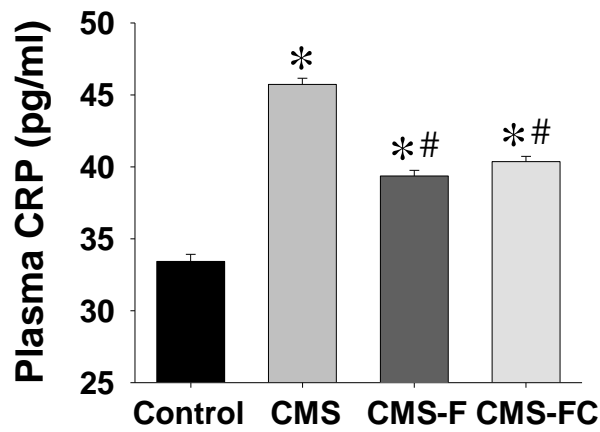
รูปที่ 4 แสดงระดับ plasma PGE₂ ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ในสัปดาห์ที่ 5, n= 7 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs CMS



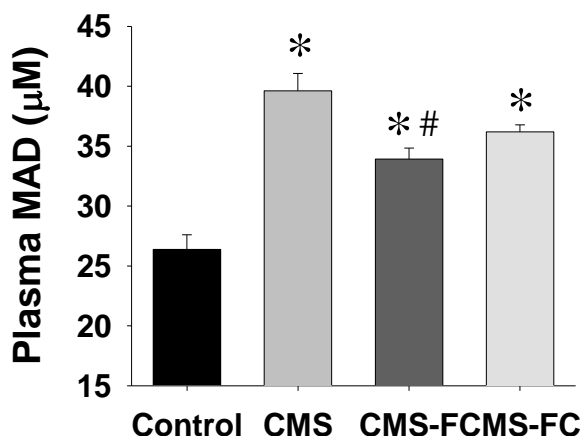
รูปที่ 5 แสดงระดับ plasma IL-1 β ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 5
n= 7 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs CMS, , @ $P<0.05$ vs CMS-F



รูปที่ 6 แสดงระดับ plasma TNF- α ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ในสัปดาห์ที่ 5, n= 6 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs CMS



รูปที่ 7 แสดงระดับ plasma CRP ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ในสัปดาห์ที่ 5, n= 7 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs CMS



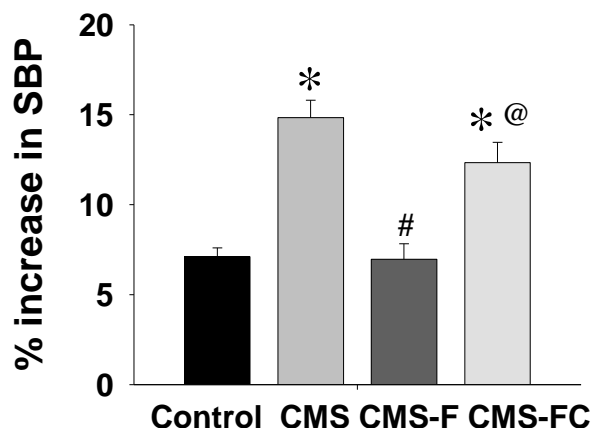
รูปที่ 8 แสดงระดับ plasma MAD ของหนูทุกกลุ่มทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ในสัปดาห์ที่ 5, n= 10 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs CMS

ผลของยาต่อความดันโลหิต

ตารางที่ 1 แสดงค่า systolic blood pressure (SBP) ก่อนและหลังให้ treatments ของหนูขาวทุกกลุ่ม จะเห็นว่า SBP ก่อนให้ treatments ของหนูทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน SBP ของหนูกลุ่ม CMS เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดหลังได้รับความเครียดเป็นเวลา 5 สัปดาห์ และต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่าหนูกลุ่ม CMS-F มี SBP ลดลงจนเกือบเท่ากับกลุ่มควบคุม แต่หนูกลุ่ม CMS-FC ซึ่งได้ทั้ง Fluoxetine และ celecoxib กลับมีความดันโลหิตเพิ่มสูงขึ้น เมื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตเป็น % increase in systolic blood pressure โดยเทียบกับค่า SBP ก่อนให้ treatments พบว่า SBP ของหนูกลุ่ม CMS เพิ่มโดยเฉลี่ย 14.84% ซึ่งเพิ่มมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 9) หนูกลุ่ม CMS-F มีการเพิ่มของ SBP น้อยกว่ากลุ่ม CMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และการเพิ่มนี้ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (Control 7.10% vs CMS-F 6.96%) แต่กลับพบว่าหนูกลุ่ม CMS-FC มี SBP เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยถึง 12.33% ซึ่งเพิ่มมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่ม CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 9

ตารางที่ 1 แสดง Systolic blood pressure ก่อนและหลังให้ Treatments ของหนูขาว
ทุกกลุ่มทดลอง แสดงค่าเป็น mean±SEM, n=9 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.05$ vs control

Groups	SBP (mmHg)	
	Before treatment	After treatment
Control	142.44±2.31	152.56±2.53
CMS	143.78±2.19	165.00±1.97*
CMS-F	145.56±1.56	155.67±1.79
CMS-FC	142.67±2.14	160.33±3.33



รูปที่ 9 แสดงร้อยละของการเพิ่มขึ้นของความดันโลหิต (% increase in systolic blood pressure) โดยเทียบกับความดันโลหิตก่อนให้ treatments, n=9 ทุกกลุ่มทดลอง, *P<0.05 vs control, #P<0.05 vs CMS, @P<0.05 vs CMS-F

ผลของยาต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness)

การศึกษานี้ได้วัดความเร็วในการเคลื่อนที่ของคลื่นชีพจร (pulse wave velocity, PWV) ซึ่งใช้เป็นดัชนีชี้วัดภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) ในการวัดต้องให้ความร้อนที่ทางหนูเพื่อให้หลอดเลือดขยาย อุณหภูมิกายของหนูขาวทุกกลุ่มแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า PWV ของหนูทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงค่า pulse wave velocity (PWV) และอุณหภูมิกาย (body temperature, BT) หลังให้ treatment ครบ 5 สัปดาห์ แสดงค่าเป็น mean±SE, n=8 ทุกกลุ่มทดลอง

Groups	PWV (m/s)	BT (°C)
Control	2.726±0.091	36.70±0.15
CMS	2.692±0.136	36.85±0.16
CMS-F	2.796±0.182	36.77±0.14
CMS-FC	2.559±0.197	36.83±0.14

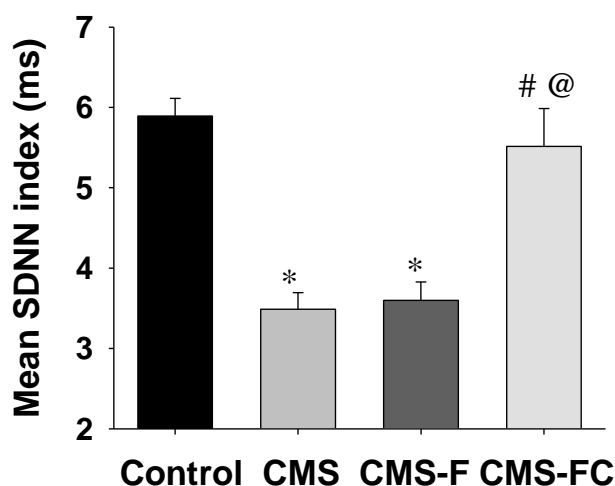
ผลของยาต่อประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจ

การศึกษานี้ได้วัด pulse rate variability (PRV) แทน heart rate variability (HRV) ในการทดลองจะวัดในขณะที่หนูอยู่ในภาวะสงบ (resting state) และหลังจากอุ่นทางหนูให้หลอดเลือดขยาย ตารางที่ 3 แสดง

ค่า pulse rate และอุณหภูมิกายของหนูทุกกลุ่มทดลอง ทั้ง pulse rate และอุณหภูมิกายของทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เป็นการยืนยันว่าอุณหภูมิกายน่าจะมีผลกระทบต่อค่า PRV ที่วัดได้น้อยมาก รูปที่ 10 แสดงค่า PRV ในรูป SDNN index ของหนูทุกกลุ่ม จะเห็นว่าหนูกลุ่ม CMS และ CMS-F มีค่า SDNN index ใกล้เคียงกันและต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนหนูกลุ่ม CMS-FC ค่า SDNN index กลับเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและมากกว่ากลุ่ม CMS และ CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 10)

ตารางที่ 3 แสดงค่า pulse rate และอุณหภูมิกาย (body temperature, BT) หลังให้ treatment ครบ 5 สัปดาห์ แสดงค่าเป็น mean±SE, n=9 ทุกกลุ่มทดลอง

Groups	Pulse rate (m/s)	BT (°C)
Control	370.14±11.33	36.53±0.27
CMS	372.17±9.91	36.53±0.31
CMS-F	361.02±5.96	36.51±0.35
CMS-FC	383.56±12.07	36.74±0.27



รูปที่ 10 แสดงค่า SDNN index ของหนูทุกกลุ่มทดลองหลังได้รับ treatment ครบ 5 สัปดาห์ n=9 ทุกกลุ่มทดลอง, * $P<0.05$ vs control, # $P<0.05$ vs CMS, @ $P<0.05$ vs CMS-F

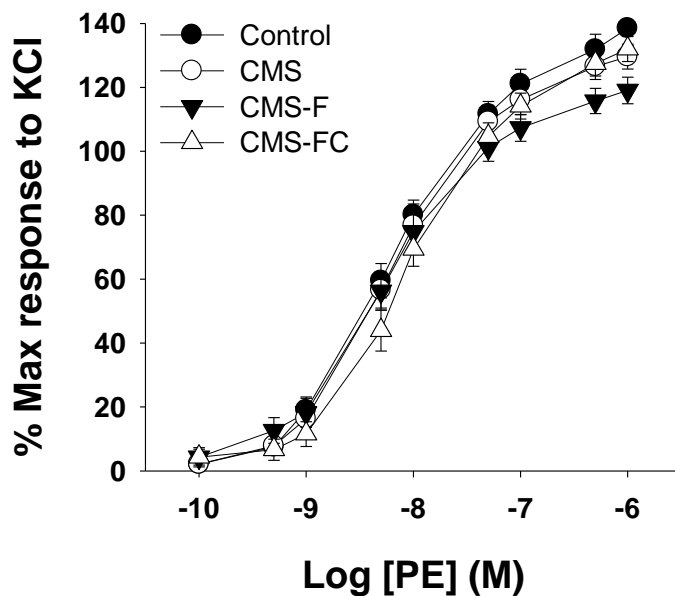
ผลของยาต่อการตอบสนองของหลอดเลือด (Vascular reactivity)

นำหลอดเลือด aorta ของหนูทุกกลุ่มมาศึกษาการตอบสนองเมื่อสิ้นสุด treatment 5 สัปดาห์ โดยศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารตีบหลอดเลือด phenylephrine (PE, α_1 -adrenergic receptor agonist) ความเข้มข้น 10^{-10} – 10^{-6} M หากพิจารณาจาก dose-response curve ในรูปที่ 11 หลอดเลือดจากหนูทั้ง 4 กลุ่มจะมีการตอบสนองต่อ PE ไม่แตกต่างกัน หากพิจารณาค่า pD_2 ในตารางที่ 4 ทุกกลุ่มมีค่า pD_2

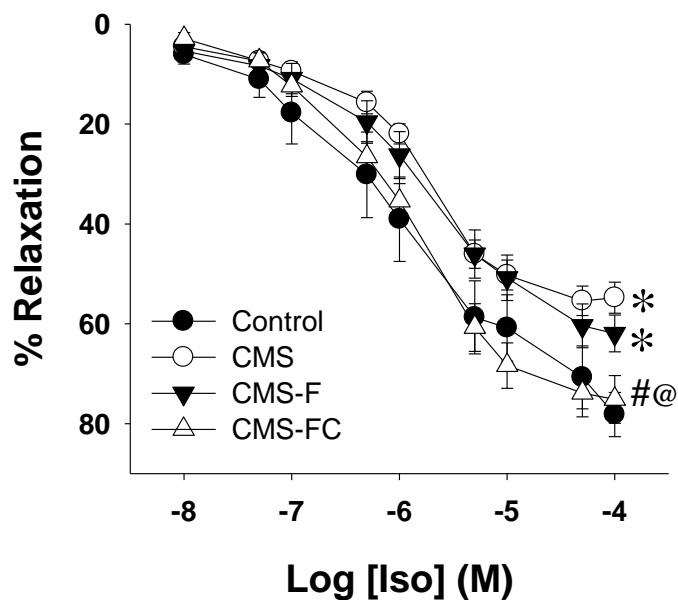
ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าความไวในการตอบสนอง (sensitivity) ไม่ต่างกัน เมื่อพิจารณาค่า E_{max} ในการตอบสนองต่อ PE ซึ่งแสดงในรูป % maximum response to KCl, ค่า E_{max} ของกลุ่มควบคุม กลุ่ม CMS และกลุ่ม CMS-FC ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ของกลุ่ม CMS-F มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉลี่ย 19.42% ($P<0.05$) แสดงว่าหลอดเลือดของหนูกลุ่ม CMS-F มีความแรงในการตอบสนองต่อ PE (responsiveness to PE) ลดลง (ตารางที่ 4)

เมื่อศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารคลายหลอดเลือด isoproterenol (Iso, β -adrenergic receptor agonist) ความเข้มข้น 10^{-8} – 10^{-4} M รูปที่ 12 แสดง dose-response curve ต่อ Iso ของหลอดเลือดทุกกลุ่มทดลอง หลอดเลือดกลุ่ม CMS และกลุ่ม CMS-F มีการตอบสนองต่อ Iso ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนหลอดเลือดกลุ่ม CMS-FC กลับมีการตอบสนองต่อ Iso ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและตอบสนองได้มากกว่ากลุ่ม CMS และกลุ่ม CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 12) เมื่อพิจารณาค่า E_{max} ในการตอบสนองต่อ Iso ในตารางที่ 4 ซึ่งแสดงในรูป % relaxation, จะเห็นว่าค่า E_{max} ในการตอบสนองต่อ Iso ของกลุ่ม CMS และกลุ่ม CMS-F มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด ($P<0.05$) การตอบสนองของหลอดเลือดกลุ่ม CMS-FC ต่อ Iso ได้ค่า E_{max} ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แต่มากกว่ากลุ่ม CMS โดยเฉลี่ย 16.71% ($P<0.05$) แสดงว่าหลอดเลือดกลุ่ม CMS-FC สามารถคลายตัวได้มากกว่าหลอดเลือดกลุ่ม CMS เมื่อได้รับ Iso (ตารางที่ 4)

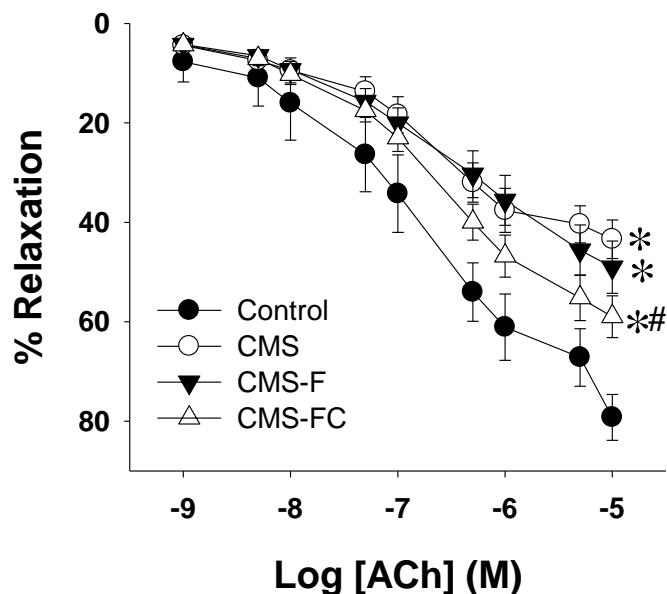
ในการศึกษานี้ได้ประเมินการทำงานของ endothelium ในการหลั่งสารคลายหลอดเลือด (endothelium-derived relaxing factor) ซึ่งกลไกนี้มีผลต่อแรงตึงของหลอดเลือดในภาวะปกติ การประเมินการทำงานของ endothelium โดยตรวจสอบการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารคลายหลอดเลือด Acetylcholine (ACh, muscarinic receptor agonist) ความเข้มข้น 10^{-9} – 10^{-5} M รูปที่ 13 แสดง dose-response curve ของหลอดเลือดทุกกลุ่มทดลองเมื่อให้ ACh จะเห็นว่าหลอดเลือดของกลุ่ม CMS และ CMS-F มีการตอบสนองต่อ ACh น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) หลอดเลือดของกลุ่ม CMS-FC ตอบสนองต่อ ACh ได้น้อยกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน ($P<0.05$) แต่มากกว่ากลุ่ม CMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาค่า E_{max} ในการตอบสนองต่อ ACh ในตารางที่ 4 ค่า E_{max} ของกลุ่ม CMS, กลุ่ม CMS-F และกลุ่ม CMS-FC จะน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ค่า E_{max} ของกลุ่ม CMS-FC ต่ำกว่ากลุ่ม CMS โดยเฉลี่ย 15.19% แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหลอดเลือดของหนูที่มีความเครียดทั้งที่ได้รับยาและไม่ได้รับยาจะตอบสนองต่อ ACh ลดลงซึ่งบ่งบอกว่ามีการเสื่อมในหน้าที่ของ endothelium (endothelial dysfunction)



รูปที่ 11 การตอบสนองของหลอดเลือดทุกกลุ่มการทดลองต่อสารตีบหลอดเลือด Phenylephrine (PE) หลังได้รับ treatment 5 สัปดาห์, n=10 ทุกกลุ่มทดลอง



รูปที่ 12 การตอบสนองของหลอดเลือดทุกกลุ่มการทดลองต่อสารคลายหลอดเลือด Isoproterenol (Iso) หลังได้รับ treatment 5 สัปดาห์, n= 10 ทุกกลุ่มทดลอง, *P<0.05 vs control, #P<0.05 vs CMS, @P<0.05 vs CMS-F



รูปที่ 13 การตอบสนองของหลอดเลือดทุกกลุ่มการทดลองต่อสารคลายหลอดเลือด Acetylcholine (ACh) หลังได้รับ treatment 5 สัปดาห์, $n=10$ ทุกกลุ่มทดลอง, $*P<0.05$ vs control, $^{\#}P<0.05$ vs CMS

ตารางที่ 4 แสดงค่า pD_2 และ E_{max} จากการตอบสนองหลอดเลือดทุกกลุ่มการทดลองต่อ phenylephrine (PE), isoproterenol (Iso), และ acetylcholine (ACh), $n=10$ ทุกกลุ่มทดลอง, $*P<0.05$ vs control, $^{\#}P<0.05$ vs CMS

Parameters	Control	CMS	CMS-F	CMS-FC
Phenylephrine				
pD_2	8.51±0.05	8.44±0.07	8.38±0.08	8.42±0.09
E_{max} (%max response to KCl)	138.48±5.33	129.60±3.89	119.05±4.16*	131.99±3.90
Isoproterenol				
E_{max} (% relaxation)	78.92±4.49	58.58±3.46*	63.39±3.43*	75.30±4.73 [#]
Acetylcholine				
E_{max} (% relaxation)	79.24±4.61	43.81±4.02*	49.03±5.26*	59.01±4.22*

อภิปรายผลการทดลอง

Discussion

การศึกษานี้ได้เหนี่ยวนำให้หนูขาวเกิดภาวะซึมเศร้าโดยการให้ chronic mild stress (CMS) เพื่อประเมินผลของยาด้านซึมเศร้า fluoxetine และการให้ยาด้านซึมเศร้าร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib ต่อภาวะซึมเศร้า ผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าการให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine อย่างเดียวสามารถต้านผลของ CMS ได้เพียงบางส่วน โดยลด Plasma cortisol ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมซึมเศร้าที่ดีขึ้น โดยดูจากการลด immobility time และการเพิ่มของน้ำหนักตัว (% weight gain) ซึ่งบ่งบอกว่าหนูมีความอยากอาหารมากขึ้น ส่วนการให้ยาด้านอักเสบร่วมแม้ว่าจะสามารถลดพฤติกรรมซึมเศร้าได้ใกล้เคียงกับการให้ยาด้านซึมเศร้าอย่างเดียว แต่หนูกลุ่มนี้กลับมี plasma cortisol สูงกว่ากลุ่ม CMS-F ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าอาจมี HPA axis activation มากกว่า ผลของยาต่อสารสื่ออักเสบพบว่าทั้งการให้ fluoxetine และการให้ยาร่วมกับ celecoxib สามารถลดระดับ PGE₂, TNF- α , และ CRP ได้แต่ยังมีระดับสูงกว่าปกติ การให้ยา fluoxetine ร่วมกับ celecoxib มีผลลด plasma IL-1 β ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่การให้ fluoxetine อย่างเดียวไม่มีผลต่อระดับ plasma IL-1 β ผลการทดลองสะท้อนให้เห็นว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับ celecoxib มีผลต้านกระบวนการอักเสบ (anti-inflammatory effect) และให้ผลที่ใกล้เคียงกัน การให้ยา fluoxetine มีผลลดระดับ plasma MAD ในขณะที่ยาสองอย่างร่วมกันกลับทำให้ระดับสารนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า fluoxetine มี partial antioxidant activity การให้ celecoxib ร่วมกลับทำให้เกิด oxidative stress มากขึ้น หนูที่ได้รับ CMS มีผลลด PRV (ลด HRV) ซึ่งจะสะท้อนถึงความผิดปกติของประสาทอัตโนมัติในการควบคุมการทำงานของหัวใจ (dysregulation of cardiac autonomic control) การให้ยาด้านอักเสบร่วมสามารถต้านผลของ CMS ต่อ PRV ได้แต่การให้ยาด้านซึมเศร้าอย่างเดียวกลับไม่มีผล เมื่อประเมินความดันโลหิตของหนูพบว่า การได้รับ CMS มีผลเพิ่ม systolic blood pressure (SBP) ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine สามารถต้านผลของ CMS ต่อความดันโลหิตได้อย่างสมบูรณ์ แต่การให้ยาด้านอักเสบร่วมทำให้ SBP กลับเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาค่า PWV ซึ่งบ่งชี้ถึงความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial compliance) พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อตรวจสอบการทำงานของหลอดเลือดในทุกกลุ่มการทดลองพบว่า การให้ยาด้านอักเสบร่วมมีแนวโน้มลดความแรงในการตอบสนอง (responsiveness) ต่อสารตีบหลอดเลือด phenylephrine แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความไวในการตอบสนอง (sensitivity) การได้รับ CMS มีผลลดความแรงในการตอบสนองต่อสารคลายหลอดเลือด isoproterenol (Iso) ยาด้านซึมเศร้าไม่สามารถคืนการตอบสนองต่อ Iso ของหลอดเลือด แต่เมื่อให้ยาด้านอักเสบร่วมสามารถคืนการตอบสนองได้เกือบสมบูรณ์ เมื่อประเมินการทำงานของ endothelium (endothelial function) ด้วย acetylcholine (ACh) พบว่า การได้รับ CMS ทำให้หลอดเลือดตอบสนองต่อ ACh ลดลง แสดงว่ามีการเสื่อมหน้าที่ของ endothelium (endothelial dysfunction) ยาด้านซึมเศร้าไม่สามารถคืนการทำงานของ endothelium แต่การให้ยาด้านอักเสบร่วมสามารถคืนได้บางส่วน

ผลของยาต่อภาวะซึมเศร้า (Depressive signs)

ในการประเมินผลของยาต่อภาวะซึมเศร้าโดยประเมินจาก %weight gain, immobility time จากการทำ FST และระดับ plasma cortisol จะเห็นว่าหนูขาวเมื่อได้รับ CMS จะมีผลลดความอยากอาหารจนทำให้ % weight gain ลดลงซึ่งสอดคล้องกับอาการของผู้ป่วยโรคซึมเศร้า (Grippe & Johnson, 2002; Nemeroff, 2008) และสอดคล้องกับดัชนีชี้วัดภาวะซึมเศร้า immobility time ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด (รูปที่ 2) อีกทั้งมีระดับ plasma cortisol เพิ่มขึ้น (รูปที่ 3) ซึ่งบ่งบอกว่ามี HPA axis hyperactivity ดังนั้นการให้ CMS เป็นเวลา 5 สัปดาห์ แก่หนูขาวมีผลทำให้หนูขาวเกิดภาวะซึมเศร้า แสดงว่ารูปแบบการทดลองโดยการให้ CMS เหนียวน้ำให้เกิดภาวะซึมเศร้านี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ ที่มีรายงานแล้ว (Grippe et al, 2002 & 2008) การให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine (5 mg/kg/d) แก่หนูที่ได้รับ CMS มีแนวโน้มทำให้ความอยากอาหารของหนูขาวดีขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นจาก % weight gain ของกลุ่ม CMS-F จะสูงกว่ากลุ่ม CMS โดยเฉลี่ย 8-9% ในสัปดาห์ที่ 4-5 และสนับสนุนด้วยค่า immobility time และค่า plasma cortisol ที่ต่ำกว่ากลุ่ม CMS (รูปที่ 2 และ 3) ส่วนการให้ยาด้านซึมเศร้าร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib (5 mg/kg/d) แก่หนูที่ได้รับ CMS กลับพบว่า % weight gain ของหนูกลุ่มนี้มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม CMS-F โดยเฉลี่ยประมาณ 3% ตลอด 5 สัปดาห์ ที่ทำการศึกษา (รูปที่ 1) ในขณะที่ดัชนีชี้วัดอาการซึมเศร้า immobility time ของหนูกลุ่มนี้มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่ม CMS-F (รูปที่ 2) และการให้ยาด้านอักเสบร่วมกลับทำให้ระดับ plasma cortisol เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่ม CMS-F จึงอาจเป็นไปได้ว่ายา celecoxib ไม่ได้ทำให้อาการซึมเศร้าดีขึ้น แต่การเพิ่มของ % weight gain น่าจะเกิดจากยา celecoxib มีผลต่อการทำงานของไตแล้วทำให้เกิดการกั่งของเกลือและน้ำในร่างกายดังมีรายงานการศึกษาทั้งในคนและในสัตว์ทดลอง (Muscara et al, 2000; Whelton et al, 2002) อีกทั้งคณะผู้วิจัยเคยศึกษาผลของยาด้านอักเสบ COX-2 inhibitor กลุ่มอื่นในหนูปกติพบว่ายาด้านอักเสบมีผลเพิ่มน้ำหนักตัวของหนูมากกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉลี่ย 7-9% ตลอด 6 สัปดาห์ที่ได้รับยา (Trongtorsak et al, 2011) มีรายงานการประเมินพฤติกรรมซึมเศร้าของผู้ป่วยโรคซึมเศร้าด้วย Hamilton Rating Scale อย่างเดียว หลังให้ยา fluoxetine ร่วมกับ celecoxib เป็นเวลา 6 สัปดาห์ กลับพบว่าลดพฤติกรรมซึมเศร้าได้ดีกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว (Akhondzadeh et al, 2009) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้นอกจากประเมินพฤติกรรมจากภาวะซึมเศร้า แต่ยังประเมิน HPA axis activity ด้วย plasma cortisol ซึ่งทำให้เห็นผลของยาต่อพยาธิสรีรวิทยาของภาวะซึมเศร้าได้มากขึ้น

จากผลการศึกษาจะเห็นว่า การให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine อย่างเดียวน่าจะให้ผลต่อภาวะซึมเศร้าได้ดีกว่าการให้ยาด้านอักเสบ celecoxib ร่วม เมื่อพิจารณาจากสัญญาณของภาวะซึมเศร้า ได้แก่ % weight gain, พฤติกรรมซึมเศร้า และระดับ plasma cortisol ขนาดของยาที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นขนาดยาที่เทียบเคียงกับขนาดยาที่ใช้ในคน ยาในขนาดที่ใช้นี้ยังไม่สามารถทำให้สัญญาณของภาวะซึมเศร้ากลับสู่ปกติเพียงแค่ทุเลาให้ดีขึ้นเท่านั้น

ผลของยาต่อการอักเสบและภาวะ oxidative stress

ภาวะซึมเศร้ามีความสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ ทำให้ปริมาณสารสื่ออักเสบในเลือดเพิ่มขึ้น จนเกิดสมมุติฐานที่เรียกว่า Cytokine hypothesis of depression เพราะการเพิ่มขึ้นของ plasma proinflammatory cytokines ในผู้ป่วยโรคซึมเศร้านั้นมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของอาการซึมเศร้าและการเกิด HPA axis hyperactivity (Schiepers et al, 2005; Shelton et al, 2011) จากการศึกษาที่พบว่าผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีระดับ plasma PGE₂ สูง (Lieb et al, 1983) สารสื่ออักเสบนี้สังเคราะห์โดย enzyme cyclooxygenase (COX) ซึ่งมี 2 isoforms คือ COX-1 และ COX-2 โดย COX-2 มักถูกเหนี่ยวนำด้วยกระบวนการอักเสบ (Hawkey, 2001) จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า เมื่อฉีด IL-1 α เข้า hypothalamus มีผลกระตุ้นการหลั่ง ACTH ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการฉีด PGE₂ ผลของ IL-1 α นี้สามารถถูกยับยั้งด้วย indomethacin ซึ่งเป็นสารกลุ่ม COX inhibitor (Watanabe et al, 1990) การศึกษานี้ทำให้เชื่อว่าทั้ง cytokines และ PGE₂ สามารถกระตุ้น HPA axis ต่อมาการศึกษาในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดจนมีพฤติกรรมซึมเศร้าพบว่า COX-2 expression เพิ่มขึ้นในสมองควบคู่กับการเพิ่ม brain PGE₂ (Guo et al, 2009) จึงเป็นที่มาของแนวความคิดที่นำยาต้านอักเสบ COX-2 inhibitor มารักษาผู้ป่วยซึมเศร้า การศึกษานี้จึงได้ประเมินผลของการให้ยาต้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับยาต้านซึมเศร้า fluoxetine ต่อระดับสารสื่ออักเสบในเลือด

ผลการศึกษาพบว่า การให้ยาต้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine สามารถลดระดับ plasma PGE₂, IL-1 β , TNF- α , และ CRP (รูปที่ 4-7) ส่วน fluoxetine ไม่สามารถลดระดับของ IL-1 β แต่สามารถลดสารสื่ออักเสบอื่นในระดับที่ใกล้เคียงกับการให้ยาต้านอักเสบร่วม แสดงว่า fluoxetine นอกจากมีฤทธิ์ต้านซึมเศร้าแล้วยังมีฤทธิ์ต้านอักเสบ (partial anti-inflammatory effect) มีรายงานการศึกษาในผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้าที่ได้รับ fluoxetine เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ก็ไม่มีผลลดระดับ serum IL-1 β เช่นกัน (Jazayeri et al, 2010) การศึกษาในหนูโดยให้ IL-1 β infusion พบว่าทำให้เกิดพฤติกรรมซึมเศร้าและเพิ่ม mRNA expression ของ IL-1 β และ TNF- α ในสมองส่วน prefrontal cortex และ hippocampus แสดงว่า systemic IL-1 β สามารถออกฤทธิ์ในสมองโดยมีผลต่อการทำงานของ HPA axis และอาจมีผลเปลี่ยนแปลงระดับ cytokines ในสมอง (Anisman et al, 2008) ดังนั้นในหนูกลุ่ม CMS-F ที่พบว่า สัญญาณซึมเศร้าที่บ่งชี้ด้วย immobility time และ plasma cortisol นั้นยังคงสูงกว่าปกติ (รูปที่ 2-3) ส่วนหนึ่งอาจเป็นผลจากระดับ plasma IL-1 β ที่สูงกว่าปกติ (รูปที่ 5) ไปออกที่สมอง นอกจากนี้การศึกษาของ Pineda และคณะ (2012) พบว่าในหนูที่มีภาวะซึมเศร้า fluoxetine ไม่มีผลปรับพฤติกรรมซึมเศร้าได้ แต่ถ้าให้สารที่ไปปิดกั้นการออกฤทธิ์ของ IL-1 β การตอบสนองต่อ fluoxetine กลับดีขึ้น จึงเสนอแนะว่า ระดับ plasma IL-1 β มีผลต่อการคือยา fluoxetine ดังนั้นในหนูกลุ่ม CMS-F ที่พบว่า สัญญาณซึมเศร่ายังคงสูงกว่าปกติ จึงอาจเป็นผลจากระดับ IL-1 β ที่ยังคงสูงกว่าปกติในหนูกลุ่มนี้ทำให้เกิดการคือยา fluoxetine

อย่างไรก็ตามหนูกลุ่มที่ได้รับยา fluoxetine ร่วมกับยา celecoxib กลับพบว่าระดับ plasma IL-1 β ลดลงอย่างเด่นชัดจนเกือบเท่ากับกลุ่มควบคุม แต่พฤติกรรมซึมเศร้าใกล้เคียงกับกลุ่ม CMS-F (รูปที่ 2) และ

มีระดับ plasma cortisol สูงกว่ากลุ่ม CMS-F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 3) ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าหนูกลุ่ม CMS-FC น่าจะมีการทำงานของ HPA axis มากกว่าหนูกลุ่ม CMS-F มีรายงานการศึกษาในหนูพบว่า การให้ยาต้านอักเสบกลุ่ม non-specific COX inhibitor ร่วมกับ fluoxetine มีผลลดฤทธิ์ของ fluoxetine ต่อพฤติกรรมซึมเศร้า ซึ่งสอดคล้องกับการติดตามข้อมูลการรักษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าที่พบว่า การให้ยาต้านอักเสบด้วยมีผลลดประสิทธิภาพการรักษาของยาต้านซึมเศร้ากลุ่ม selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) (Warner-Schmidt et al, 2011) จึงอาจเป็นไปได้ว่ายาค celecoxib ที่ให้ร่วมกับ fluoxetine มีผลลดประสิทธิภาพของ fluoxetine ต่อภาวะซึมเศร้า หรืออาจเป็นไปได้ว่าการทำงานที่ผิดปกติของ HPA axis ยังอาจถูกกระตุ้นโดยสารสื่ออักเสบตัวอื่นหรือปัจจัยอื่น เช่น ภาวะ oxidative stress ที่เกิดในสมอง ซึ่งการศึกษานี้ไม่ได้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารสื่ออักเสบและ oxidative stress maker ในเนื้อเยื่อสมอง ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาต่อเพื่อประเมินการผลของยาต่อการเปลี่ยนแปลงของสารเหล่านี้ในสมอง

C-reactive protein (CRP) จัดเป็น acute phase protein ที่ถูกกระตุ้นให้มีการผลิตมากขึ้นเมื่อเกิดขบวนการอักเสบ ในประชากรทั่วไปการเพิ่มของระดับ high-sensitive CRP ในเลือดมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) (Calabro et al, 2009) ในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าจะมีระดับ plasma CRP เพิ่มขึ้น (Shelton & Miller, 2011) ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ประเมินระดับ CRP ในหนูทุกกลุ่ม พบว่าการให้ CMS มีผลเพิ่มระดับ CRP และเมื่อให้ fluoxetine มีผลลดระดับ CRP อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้า (Chavda et al, 2011) การให้ยาต้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับไม่สามารถลดระดับ CRP ให้มากยิ่งขึ้นและยังคงมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม (รูปที่ 7) ระดับ CRP ที่ยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อให้ fluoxetine อย่างเดียวหรือให้ร่วมกับ celecoxib อาจส่งผลเสียต่อหลอดเลือด เพราะมีหลักฐานยืนยันว่า CRP สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด endothelial dysfunction, ส่งเสริมการเกิด apoptosis ในหลอดเลือด และมีส่วนในการเร่งการเกิด atherosclerosis (Pasceri et al, 2000; Paul et al, 2004; Verma et al, 2002) ดังนั้นการศึกษานี้ยังได้ประเมินการทำงานของหลอดเลือดและประเมินภาวะหลอดเลือดแข็งในหนูทุกกลุ่ม ซึ่งจะกล่าวถึงในส่วนต่อไป

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าทั้งการอักเสบและ oxidative stress มีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของเซลล์ประสาทในสมองเมื่อเกิดภาวะซึมเศร้า (Bakunina et al, 2015) การศึกษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าพบว่า มีระดับ plasma MAD (lipid peroxidation marker) เพิ่มสูงกว่าคนปกติ นอกจากนี้ยังพบว่า superoxide dismutase activity ในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยเพิ่มสูงขึ้นและสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคซึมเศร้า (Sarandol et al, 2007) การศึกษานี้จึงได้ประเมินภาวะ oxidative stress ในหนูทุกกลุ่มทดลองโดยวัดระดับ plasma MAD ผลการศึกษาพบว่า fluoxetine สามารถลดระดับ plasma MAD (เทียบกับกลุ่ม CMS) แต่ยังคงสูงกว่าปกติ (รูปที่ 8) แสดงว่า fluoxetine มี partial antioxidant activity ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาทางคลินิกที่พบว่ายาต้านซึมเศร้ากลุ่ม SSRI สามารถลด MAD ในเลือดของผู้ป่วยหัวใจล้มเหลวที่มีภาวะซึมเศร้าร่วม (Parissis et al, 2009) เมื่อให้ยาต้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับมีผลให้ระดับ plasma MAD เพิ่มขึ้นจึงไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ CMS (รูปที่ 8) แสดงว่าหนูกลุ่ม CMS-FC น่าจะเกิด oxidative stress

มากกว่ากลุ่ม CMS-F การศึกษานี้ยังขาดการประเมินการอักเสบและการเกิด oxidative stress ในสมอง แต่มีรายงานการศึกษาในหนูที่ได้รับความเครียดจนมีอาการซึมเศร้าพบว่าในสมองส่วน hippocampus และ prefrontal cortex มีการเพิ่มขึ้นของ superoxide, peroxynitrite และ total ROS ควบคู่กับมีการเพิ่ม IL-1 β expression ในสมองส่วนนี้ (Wilson et al, 2013) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าในสมองหนูกลุ่ม CMS-FC อาจเกิด oxidative stress สูงกว่ากลุ่ม CMS-F และอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ HPA axis ของหนูกลุ่ม CMS-FC ถูกกระตุ้นมากกว่าดังแสดงให้เห็นจากระดับ plasma cortisol ที่สูงกว่า อย่างไรก็ตามข้อสมมุติฐานนี้ยังต้องการการศึกษาเพื่อพิสูจน์ต่อไป

ผลของยาต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular alterations)

1. ผลต่อประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจ

การวัด HRV เป็นการประเมินความแปรปรวนของอัตราการเต้นของหัวใจ ถ้า HRV มีค่าสูงแสดงว่าประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจมีประสิทธิภาพสามารถปรับตัวเพื่อรักษา homeostasis ได้ดีต่อสภาวะรบกวนทั้งจากภายในและภายนอก จึงเป็นตัวชี้วัดถึงสุขภาพที่ดี ในทางตรงกันข้ามหาก HRV มีค่าต่ำ แสดงว่าระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการทำงานของหัวใจมีความสามารถต่ำในการที่จะรักษา homeostasis เมื่อเกิดสภาวะรบกวนต่างๆ (Vanderlei et al, 2009) มีการศึกษามากมายรายงานว่าผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้าจะมี HRV ต่ำกว่ากลุ่มคนที่ไม่ซึมเศร้า (Grippe & Johnson, 2009) การศึกษานี้จึงได้ประเมินผลของยาต่อระบบประสาทอัตโนมัติของหัวใจโดยการวัด PRV แทน HRV ซึ่งได้มีหลักฐานยืนยันว่าการวัด PRV ให้ผลเที่ยงตรงเช่นเดียวกับ HRV เมื่ออยู่ในท่านอนและมีการหายใจแบบปกติ (Kageyama et al, 1997; Khandoker et al, 2011) ผลการศึกษาในตารางที่ 3 ไม่พบความแตกต่างใน resting PR (แทน resting HR) ระหว่างกลุ่มทดลอง แต่กลับพบความแตกต่างของค่า SDNN index (PRV or HRV) ระหว่างกลุ่มทดลอง (รูปที่ 10) แสดงว่าการวัด resting HR ไม่สามารถสะท้อนให้เห็นถึงการทำงานของประสาท sympathetic และ parasympathetic หนูกลุ่มที่ได้รับ CMS มีการลด PRV อย่างเด่นชัด เมื่อให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine ไม่มีผลปรับเปลี่ยน PRV แต่การให้ยาด้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine สามารถเพิ่ม PRV ให้กลับมาเกือบเท่ากับกลุ่มควบคุมและแตกต่างจากกลุ่ม CMS-F อย่างเด่นชัด แสดงว่าการให้ยาด้านอักเสบน่าจะให้ผลดีต่อการทำงานของประสาทอัตโนมัติต่อหัวใจ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Grippe และคณะ (2006) ที่ให้ fluoxetine ในขนาดยาที่สูงกว่าการศึกษานี้แก่หนู CMS ก็พบว่า fluoxetine ไม่สามารถปรับเปลี่ยน HRV ได้ จากการศึกษาของ Barton และคณะ (2007) เพื่อประเมินการทำงานของประสาท sympathetic ในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าพบว่า ผู้ป่วยมีทั้งกลุ่มที่มีการทำงานของประสาท sympathetic ระดับสูงมาก และกลุ่มที่การทำงานอยู่ในระดับต่ำกว่า และพบว่ายาด้านซึมเศร้ากลุ่ม serotonin reuptake inhibitor (กลุ่มเดียวกับ fluoxetine) สามารถลดการทำงานของประสาท sympathetic ในผู้ป่วยกลุ่มที่ประสาทนี้ทำงานในระดับสูงมาก แต่ยา กลับไม่มีผลในผู้ป่วยกลุ่มที่ประสาท sympathetic ทำงานระดับต่ำกว่า จึงอาจเป็นไปได้ว่าหนู CMS ในการศึกษาที่มีการทำงานของ sympathetic สูงกว่าปกติเพียงเล็กน้อยเมื่อ

ให้ fluoxetine จึงไม่มีผลปรับเปลี่ยนการทำงานของประสาทนี้ ซึ่งสะท้อนให้เห็นโดย fluoxetine ไม่มีผลต่อ PRV ในกลุ่ม CMS-F เมื่อเทียบกับกลุ่ม CMS

ในการประเมิน HRV ควรจะประเมินการทำงานของประสาท sympathetic และ/หรือ ประสาท parasympathetic โดยการให้ยาปิดกั้นประสาทแต่ละส่วนแล้ววัด HRV ซึ่งจะช่วยให้ทราบว่า การลดลงของ HRV เป็นผลจากการเพิ่มการทำงานของประสาท sympathetic หรือการลดการทำงานของประสาท parasympathetic วิธีการวัด PRV ที่ใช้ในการศึกษานี้ยังมีข้อจำกัด คือ 1) ไม่สามารถบันทึกสัญญาณให้นานกว่า 3 นาที เพราะหนูไม่สามารถอยู่นิ่งได้นานกว่านี้ จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ parameters อื่นๆ ในส่วน time domain และ frequency domain ของ HRV ได้ 2) ไม่สามารถประเมิน HRV เมื่อปิดกั้นประสาท sympathetic หรือ parasympathetic ด้วยยา เพราะเมื่อให้ยาไปปิดกั้นประสาท sympathetic หรือ parasympathetic หนูอาจจะมีการตื่นตื่นและอยู่นิ่งไม่ได้ ทำให้ไม่สามารถบันทึกสัญญาณได้ ดังนั้นผลการทดลองจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเพื่อยืนยันโดยการวัด HRV ด้วยวิธีอื่นที่สามารถบันทึกสัญญาณในช่วงที่ยาวนานขึ้น และสามารถทดสอบโดยการปิดกั้นการทำงานของประสาทแต่ละส่วน อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นแนวโน้มว่ายาต้านซึมเศร้า fluoxetine ไม่มีผลต่อ HRV แต่ยาต้านอักเสบ celecoxib น่าจะมีผลดีต่อการทำงานของประสาทอัตโนมัติที่หัวใจ

2. ผลต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness)

การศึกษาดังกล่าวพบว่ามีภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) การศึกษานี้จึงได้ประเมินผลของยาต่อภาวะหลอดเลือดแข็งโดยการวัด PWV ที่มักใช้ในการประเมินภาวะหลอดเลือดแข็ง ถ้า PWV เร็วแสดงว่าหลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น (Asmar et al, 1995) ในการทดลองได้ควบคุมอุณหภูมิของหนูทุกกลุ่มให้ใกล้เคียงกัน เพื่อลดผลที่เกิดจากความต่างของอุณหภูมิกายดังแสดงในตารางที่ 2 ค่า PWV ของหนูกลุ่ม CMS ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Neves และคณะ (2009) พบว่าการให้ CMS แก่หนูมีผลให้ผนังหลอดเลือดชั้น intima และ tunica media เกิด hypertrophy ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม CMS ในการศึกษาครั้งนี้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดน้อยมากจนยังไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความยืดหยุ่นของหลอดเลือด จึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า PWV การให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลง PWV ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในผู้ป่วยซึมเศร้าซึ่งพบว่าการให้ยา SSRI แก่ผู้ป่วยไม่มีผลเปลี่ยนแปลง PWV อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Scuteri et al, 2013) เมื่อให้ยาด้านซึมเศร้าร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่า PWV เช่นกัน ผลการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่า celecoxib ในขนาดยาที่ให้ (5 mg/Kg) ซึ่งสอดคล้องกับขนาดยาที่ใช้ในทางคลินิกเมื่อให้ร่วมกับ fluoxetine (5 mg/Kg) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial distensibility) อย่างไรก็ตามหากให้ยาในระยะเวลายาวนานขึ้นอาจมีผลต่อโครงสร้างของหลอดเลือดอย่างเด่นชัดจนอาจทำให้หลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น เพราะมีรายงานก่อนหน้านี้ในทางคลินิกที่พบว่า ผู้ที่ใช้ยาด้านอักเสบ NSAIDs มีผลให้เกิด aortic wall stiffness มากขึ้นและมีการเพิ่มการสังเคราะห์ collagen ใน

ผนังหลอดเลือด โดยยาในกลุ่ม nonselective COX inhibitor จะให้ผลเด่นชัดกว่ากลุ่ม selective COX-2 inhibitor (Claridge et al, 2005) อีกทั้งจากผลการทดลองที่พบว่าหนูกลุ่มที่ได้ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับทำให้ฤทธิ์ antioxidant ของ fluoxetine ลดลง ซึ่งแสดงด้วยระดับ plasma MAD ที่สูงกว่ากลุ่มที่ได้ fluoxetine อย่างเดียว (รูปที่ 8) เป็นการสะท้อนให้เห็นว่า celecoxib มีแนวโน้มเพิ่มภาวะ oxidative stress มีรายงานการศึกษาพบว่าการเพิ่มระดับ oxidative stress marker มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (Patel et al, 2011) ดังนั้นผลของ celecoxib ที่เหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress มากขึ้นน่าจะมีผลทำลายผนังหลอดเลือดเมื่อได้รับยาเป็นเวลานานจนอาจทำให้ผนังหลอดเลือดแข็งได้ ดังนั้นผลของ celecoxib ที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็งในระยะยาวยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลของยาต่อไป

3. ผลต่อความดันโลหิต

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตในผู้ป่วยโรคซึมเศร้ายังให้ผลที่ขัดแย้งกัน บ้าง รายงานว่าความดันโลหิตมีแนวโน้มลดลง (Hildrum et al, 2007; Licht et al, 2009) แต่บางรายงานก็ยืนยันว่าภาวะซึมเศร้ามีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความดันโลหิต (Scalco et al, 2005) การศึกษาในทางคลินิกอาจมีผลรบกวนจากยาต่างๆที่ผู้ป่วยได้รับ จึงทำให้ได้ผลที่แตกต่างกัน การศึกษานี้จึงได้ประเมินการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตที่อาจเกิดจากภาวะซึมเศร้าที่เหนี่ยวนำด้วย CMS และผลของการรักษาด้วยยาด้านซึมเศร้า fluoxetine อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib ผลการศึกษาพบว่า CMS ทำให้ความดันโลหิต (systolic blood pressure) ของหนูเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดดังในตารางที่ 1 และรูปที่ 9 แสดงว่าการได้รับความเครียดอย่างเรื้อรังมีผลเพิ่มความดันโลหิต ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Grippo และคณะ (2002) ซึ่งพบเช่นเดียวกันว่าการให้ CMS แก่หนูทำให้ความดันโลหิตเพิ่ม นอกจากนี้มีรายงานอีกหลายการศึกษาในคนที่บ่งชี้ว่าผู้ป่วยภาวะซึมเศร้าจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดความดันโลหิตสูง ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการทำงานของประสาท sympathetic ที่มากกว่าปกติและอาจมีผลจากพันธุกรรมร่วมด้วย (Scalco et al, 2005) ในการศึกษาของ Licht และคณะ (2009) พบว่าคนที่มีความวิตกกังวลจะมีค่า diastolic blood pressure สูงกว่าคนปกติ แต่กลุ่มที่เป็นโรคซึมเศร้ากลับมีความดันโลหิตลดลง ดังนั้นผลการศึกษาเกี่ยวกับโรคซึมเศร้ากับความดันโลหิตที่แตกต่างกันนี้อาจจะขึ้นอยู่กับระยะของโรค กล่าวคือในระยะแรกที่เริ่มมีอาการซึมเศร้าอาจทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้น แต่เมื่ออาการซึมเศร้าเป็นมากขึ้นกลับทำให้ความดันโลหิตลดลง ซึ่งประเด็นนี้คงต้องทำการศึกษาเพื่อพิสูจน์ต่อไป

การศึกษานี้ยังพบว่ายาด้านซึมเศร้า fluoxetine มีผลลดความดันโลหิตที่เกิดจาก CMS (ตารางที่ 1 และรูปที่ 9) ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาในผู้ป่วยโรคซึมเศร้า เมื่อผู้ป่วยได้ยา fluoxetine มีผลให้ทั้ง systolic และ diastolic blood pressure ลดลง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ก่อนได้รับยามีความดันโลหิตสูงร่วมด้วย (Amsterdam et al, 1999) จากผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถอธิบายได้ว่า fluoxetine ลดความดันโลหิตโดยผ่านกลไกใด มีรายงานว่าเมื่อผู้ป่วยรับประทานยา fluoxetine จะมีผลเพิ่มระดับ plasma serotonin ตลอด 30 วันที่ได้รับยา (Blardi et al, 2002; Castrogiovanni et al, 2003) และมีการศึกษาที่ให้ serotonin (5-HT)

infusion แก่หนู มีผลลดความดันโลหิตทั้งใน normotensive และ hypertensive rats ซึ่งเชื่อว่า serotonin จะออกฤทธิ์ที่หลอดเลือด เพราะ serotonin ผ่าน blood brain barrier ไม่ได้และภายในหลอดเลือดมี receptors ของ serotonin คือ 5-HT_{2B} และ 5-HT_{1B/1D} ที่สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Diaz et al, 2008) ดังนั้นผลการศึกษาที่พบว่า fluoxetine มีผลลดความดันโลหิตในหนูกลุ่ม CMS-F น่าจะเป็นผลจากยาทำให้เพิ่ม plasma serotonin ซึ่งจะไปออกฤทธิ์ผ่าน serotonin receptors ที่หลอดเลือดและอาจทำให้หลอดเลือดคลายตัว จึงมีผลลดความดันโลหิต นอกจากนี้ fluoxetine น่าจะออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางโดยเพิ่มระดับ serotonin ในสมองซึ่งเป็นฤทธิ์ที่ทำให้อาการซึมเศร้าดีขึ้น ผลของ central serotonin ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดเป็นเรื่องที่ซับซ้อน รายงานต่างๆยังให้ผลที่ไม่ไปทางเดียวกัน การให้ serotonin แก่สมองแต่ละส่วนก็ให้ผลต่างกันมีทั้งเพิ่มและลดความดันโลหิต แต่ที่น่าสนใจคือ สมองส่วน nucleus tractus solitaries (NTS) ซึ่งเป็นสมองส่วนที่มีบทบาทในการควบคุมระบบหัวใจและหลอดเลือด เมื่อให้ serotonin แก่สมองส่วนนี้มีผลลดความดันโลหิต (Watts, 2005) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเมื่อ fluoxetine เพิ่มระดับ central serotonin แล้วไปมีผลต่อสมองส่วน NTS ทำให้ความดันโลหิตลดลง อย่างไรก็ตามกลไกที่ fluoxetine ลดความดันโลหิตยังไม่สามารถอธิบายได้ในขณะนี้ อาจเป็นกลไกที่ขยายหลอดเลือดโดยตรง หรือออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง หรือทั้งสองส่วนร่วมกัน คำถามเหล่านี้ยังคงต้องการการศึกษาเพื่อหาความกระจ่างต่อไป

ผลการศึกษายังพบว่า การให้ยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับมีผลให้ความดันโลหิตของหนูกลุ่มนี้เพิ่มขึ้นและสูงกว่ากลุ่มที่ได้ fluoxetine อย่างเดียว แสดงว่ายา celecoxib มีผลเพิ่มความดันโลหิต ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาในคนและสัตว์ทดลองที่พบว่ายานี้มีผลเพิ่มความดันโลหิตและพบอาการบวมน้ำในคน (Muscara et al, 2000; Whelton et al, 2002) เนื่องจากมี expression ของ enzyme COX-2 ได้ทั่วไปในไต การยับยั้ง COX-2 ด้วย celecoxib จะมีผลลด glomerular filtration ที่ไต ทำให้เกิดการคั่งของเกลือและน้ำ (salt and water retention) จึงเพิ่มปริมาตรเลือดและความดันโลหิตตามลำดับ (Krum et al, 2006; Rossat et al, 1999) ข้อสันนิษฐานนี้สนับสนุนด้วยผลการทดลองที่พบว่า % weight gain ของหนูกลุ่มที่ได้รับยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มที่ได้ fluoxetine อย่างเดียวตลอดช่วงที่ทำการศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับยานี้ก็พบว่ามีอาการบวมน้ำและการเพิ่มของน้ำหนักตัว (Whelton et al, 2002) การศึกษาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่ได้รับ celecoxib พบว่า prostacyclin metabolite ในปัสสาวะลดลง แต่ thromboxane metabolite ไม่เปลี่ยนแปลง (Widlansky et al, 2003) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเมื่อยับยั้ง COX-2 ด้วย celecoxib ทำให้เกิดการเสียดุลระหว่างสารตีบหลอดเลือด thromboxane A₂ และสารคลายหลอดเลือด prostacyclin ทำให้เพิ่มแรงดึงของหลอดเลือดและเพิ่มความดันโลหิตตามลำดับนอกเหนือจากทำให้เกิดการคั่งของน้ำดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

4. ผลต่อการตอบสนองของหลอดเลือด (vascular reactivity)

ในผู้ป่วยโรคซึมเศร้านอกจากจะมีความดันโลหิตสูงและมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดแล้ว ยังพบว่าหลอดเลือดมีการเสื่อมหน้าที่ซึ่งอาจนำไปสู่โรคของหลอดเลือด (vascular disease) (Bouzinova et al, 2015; d'Audiffret et al, 2010) การศึกษานี้จึงได้ทดสอบผลของยาต่อการทำงานของหลอดเลือด (vascular function) จากหนูที่มีอาการซึมเศร้า ดังที่กล่าวมาแล้วว่าโรคซึมเศร้าจะมีการกระตุ้น HPA axis มากกว่าปกติและมีการเสื่อมหน้าที่ของระบบป้อนกลับ ทำให้ระดับ cortisol และ catecholamine (epinephrine และ norepinephrine) ในเลือดสูง (Bouzinova et al, 2015; Grippo et al, 2009) การที่หลอดเลือดต้องสัมผัสกับ catecholamine เป็นเวลานานๆ น่าจะมีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ receptors ในหลอดเลือดของสารเหล่านี้ (α_1 - และ β_2 -adrenergic receptors) การทดลองจึงได้เลือกทดสอบการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ α_1 -adrenergic agonist (phenylephrine, PE) ซึ่งเป็นสารตีบหลอดเลือด และ β -adrenergic agonist (isoproterenol, Iso) ซึ่งเป็นสารคลายหลอดเลือด นอกจากนี้ในผู้ป่วยโรคซึมเศร่ายังพบว่ามีความผิดปกติของในการทำงานของ endothelium ในการหลั่งสาร (endothelial dysfunction) (Bouzinova et al, 2015) การศึกษานี้จึงได้ประเมินการทำงานของ endothelium โดยทดสอบจากการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ acetylcholine (ACh) ซึ่งมีผลกระตุ้นให้ endothelium หลั่งสาร (Vanhoutte, 2015)

ผลการศึกษาพบว่าทำให้ CMS แก่หนูจนมีภาวะซึมเศร้าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความไวและความแรงในการตอบสนอง (sensitivity and responsiveness) ต่อสารตีบหลอดเลือด PE (รูปที่ 11 และตารางที่ 4) ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งก็พบเช่นกันว่าการเหนี่ยวนำให้หนูเกิดภาวะซึมเศร้าด้วย CMS ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของ α_1 -adrenergic receptors ในหลอดเลือด (d'Audiffret et al, 2010; Isingrini et al, 2011) นอกจากนี้หลอดเลือดของหนูกลุ่มนี้ยังตอบสนองต่อ Iso ลดลงและหลอดเลือดคลายตัวได้น้อยลง (รูปที่ 12 และตารางที่ 4) จากข้อมูลของการศึกษานี้ยังไม่สามารถอธิบายได้ว่าในภาวะซึมเศร้าทำให้ β -adrenergic receptors ในหลอดเลือดเสื่อมหน้าที่ได้อย่างไร อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดซึมเศร้ามีผลให้ระดับ catecholamine ในเลือดสูง การสัมผัสกับ catecholamine นานๆอาจส่งผลให้เกิด β -adrenergic receptor downregulation ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้น้อยเมื่อกระตุ้นด้วย Iso และ β -adrenergic receptors น่าจะมีความไวต่อการเกิด receptor downregulation มากกว่า α_1 -adrenergic receptors ข้อสันนิษฐานนี้สนับสนุนด้วยผลการทดลองที่พบว่าการตอบสนองต่อ PE ของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลงและการศึกษาของ Zhao และคณะ (1996) ที่พบว่า การให้ NE นานๆ มีผลให้ β -adrenergic receptor downregulation ในขณะที่ α_1 -adrenergic receptors ในหลอดเลือดไม่พบการเปลี่ยนแปลง ผลการศึกษานี้ยังพบว่า หลอดเลือดของหนูกลุ่ม CMS ตอบสนองต่อ ACh ลดลง (รูปที่ 13 และตารางที่ 4) แสดงว่ามีการเสื่อมหน้าที่ของ endothelium ในการหลั่งสาร (endothelial dysfunction) เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ACh ออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือดโดยกระตุ้น endothelium ของหลอดเลือดให้หลั่งสารที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ได้แก่ nitric oxide (NO), PGI₂, PGE₂ และ endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) โดยมี NO เป็น

สารหลักที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Bakker et al, 1997; Dong et al, 1997; Förstermann et al, 1986) ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงว่าหลอดเลือดของกลุ่ม CMS เมื่อกระตุ้นด้วย ACh จะหลั่งสารขยายหลอดเลือดได้น้อยจึงคลายตัวได้น้อยกว่าปกติ การศึกษานี้จึงชี้ให้เห็นว่า การเหนี่ยวนำให้เกิดอาการซึมเศร้าด้วย CMS มีผลให้เกิดการเสื่อมหน้าที่ของ endothelium ในการหลั่งสารคลายหลอดเลือด และยังมีผลลดการตอบสนองของ β -adrenergic receptors ในหลอดเลือด ผลทั้ง 2 ทางนี้มีแนวโน้มเพิ่มแรงดึงของหลอดเลือด และน่าจะมีส่วนทำให้ความดันโลหิตของหนูกลุ่มนี้เพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 9

หนู CMS เมื่อได้รับยาต้านซึมเศร้า fluoxetine พบว่าหลอดเลือดของหนูกลุ่มนี้ตอบสนองต่อสารตีบหลอดเลือด PE ลดลง ในขณะที่เดียวกันก็ตอบสนองต่อสารคลายหลอดเลือด Iso ลดลงเช่นกัน แสดงว่ามีการเสื่อมหน้าที่ของ adrenergic receptors ในหลอดเลือด (ทั้ง α_1 - และ β -receptors) มีรายงานการศึกษาทั้งในผู้ป่วยซึมเศร้าและในหนูที่ได้รับ CMS ยืนยันว่า การให้ fluoxetine มีผลเพิ่มระดับ plasma E, NE และ dopamine (Blardi et al, 2005; Dronjak et al, 2007) ซึ่งน่าเป็นผลจาก fluoxetine สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ catecholamine ที่ adrenal medulla อีกทั้งยังลดการนำฮอร์โมนเหล่านี้กลับเข้า adrenal chromaffin cells (Spasojevic et al, 2015) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าหนูกลุ่ม CMS-F น่าจะมีระดับ catecholamine ในเลือดสูงกว่ากลุ่ม CMS เป็นผลให้ทั้ง α_1 - และ β -adrenergic receptors เกิด downregulation ทั้งคู่ ในขณะที่หลอดเลือดกลุ่ม CMS ไม่พบ α_1 - receptors ตอบสนองลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากระดับ catecholamine ในเลือดยังไม่มากพอที่จะทำให้ receptors นี้เกิด downregulate เมื่อให้ fluoxetine จะทำให้ระดับฮอร์โมนสูงพอจนเกิด receptor downregulation ได้ ข้อเสนอพื้นฐานนี้ต้องทำการศึกษาต่อเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างระดับ catecholamine ในเลือดและการตอบสนองของ adrenergic receptors จากการประเมินการตอบสนองของหลอดเลือดของหนูกลุ่มนี้ต่อ ACh พบว่า fluoxetine ไม่สามารถเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก ACh ได้ แสดงว่าหลอดเลือดยังคงมีภาวะ endothelial dysfunction มีความเป็นไปได้ว่าอาจมีผลลดการหลั่ง NO จาก endothelium ที่เกิดจากการกระตุ้นโดย ACh เพราะมีการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า fluoxetine สามารถลดการคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดผ่าน NO เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย ACh ใน corpus cavernosum ของกระต่าย (Göçmez et al, 2011) อีกทั้งยังมีรายงานว่า fluoxetine สามารถลดการหลั่ง NO ในระบบประสาทส่วนกลาง (Crespi, 2010) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ในเนื้อเยื่อต่างอวัยวะก็อาจจะให้ผลที่แตกต่างกันได้ จากการศึกษาของ Isingrini และคณะ (2012) หลอดเลือด aorta ของหนูที่ได้รับ CMS และ fluoxetine สามารถคลายตัวแบบที่ต้องพึ่งพา NO จาก endothelium ได้มากขึ้น แต่การคลายตัวที่เกิดจากการหลั่ง EDHF จาก endothelium ลดลง ดังนั้นแม้ว่า fluoxetine จะเพิ่มการหลั่ง NO แต่ก็มีผลลดการหลั่ง EDHF จึงอาจเป็นไปได้ว่าผล 2 ส่วนนี้ของ fluoxetine เกิดการหักล้างกัน เลยทำให้เมื่อทดสอบการตอบสนองของหลอดเลือดกลุ่ม CMS-F ต่อ ACh ได้ผลไม่แตกต่างจากหลอดเลือดกลุ่ม CMS ดังแสดงในรูปที่ 13 และตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาการตอบสนองของหลอดเลือดของหนูกลุ่มนี้จะเห็นว่า การตอบสนองของ adrenergic receptors ลดลงทั้งส่วนที่จะเพิ่มแรงดึงของหลอดเลือดและส่วนที่จะลดแรงดึงของหลอดเลือด อีกทั้งหลอดเลือดยังหลั่งสารคลายหลอดเลือดได้น้อยกว่าปกติ (มี endothelial dysfunction) ทิศทางในการตอบสนอง

ของหลอดเลือดในภาพรวมมีแนวโน้มที่จะเพิ่มแรงตึงของหลอดเลือด ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดของหนูกลุ่มนี้จึงไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าหนูกลุ่มนี้มีความดันโลหิตที่ลดลงอย่างเด่นชัด การลดความดันโลหิตจึงน่าที่จะเป็นผลของ fluoxetine ในระบบประสาทส่วนกลาง และอาจเป็นผลทางอ้อมต่อหลอดเลือดโดยเพิ่ม serotonin ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น แต่ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือด

เมื่อทดสอบการตอบสนองของหลอดเลือดของกลุ่มที่ได้ fluoxetine ร่วมกับยาต้านอักเสบ celecoxib พบว่า การตอบสนองต่อสารตีบหลอดเลือด PE มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้ fluoxetine อย่างเดียว (รูปที่ 11 และตารางที่ 4) มีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การยับยั้ง NO และ enzyme COX สามารถทำให้ α -adrenergic vasoconstriction เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อลาย (Dinunno et al, 2004) ฉะนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าหนูที่ได้รับ fluoxetine ซึ่งมี α_1 -adrenergic receptor response ลดลงอย่างเด่นชัด และมีภาวะ endothelial dysfunction หลัง NO ได้น้อย เมื่อให้ celecoxib ไปยับยั้ง enzyme COX-2 จึงทำให้การตอบสนองของ α_1 -adrenergic receptors มีแนวโน้มดีขึ้น ผลการทดลองยังพบว่า การตอบสนองต่อสารคลายหลอดเลือด Iso เพิ่มขึ้นจนเกือบเท่ากับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 12 และตารางที่ 4) แสดงว่า celecoxib สามารถคืนการตอบสนองของ β -adrenergic receptors ในหลอดเลือดของหนูที่ซึมเศร้าจาก CMS ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของผู้วิจัยโดยใช้ยาอื่นในกลุ่ม selective COX-2 inhibitor (Trongtorsak et al, 2011) และมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า non-selective COX inhibitors ก็สามารถคืนการตอบสนองของ β -adrenergic receptors ในหลอดเลือดซึ่งมีการลดการตอบสนองตามวัย (Kang et al, 2007) จากหลักฐานเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า enzyme COX-2 มีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดการตอบสนองของ β -adrenergic receptors แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายได้ว่า COX-2 เกี่ยวข้องกับการขยายหลอดเลือดของ β -adrenergic receptors อย่างไรซึ่งคงต้องทำการศึกษาต่อไป เมื่อประเมินการตอบสนองต่อ ACh ของหลอดเลือดกลุ่ม CMS-FC พบว่าการตอบสนองดีขึ้น แต่ยังไม่สามารถคืนการตอบสนองได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเทียบกับกลุ่ม CMS และ CMS-F (รูปที่ 13 และตารางที่ 4) แสดงว่าเมื่อยับยั้ง COX-2 ด้วย celecoxib มีผลทำให้ภาวะเสื่อมหน้าที่ของ endothelium (endothelial dysfunction) ดีขึ้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง และผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งพบว่า celecoxib สามารถเพิ่ม endothelial function ทำให้หลอดเลือดขยายตัวได้มากขึ้น (Chenevard et al, 2003; Widlansky et al, 2003) celecoxib อาจทำให้หลอดเลือดขยายโดยผ่านทาง NO/cGMP pathway (Klein et al, 2007) หรืออาจจะไปมีผลต่อ ion channels ที่เยื่อเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดโดยอาจทำให้ K^+ ออกจากเซลล์มากขึ้นจนเกิด hyperpolarization แล้วหลอดเลือดคลายตัว หรือยับยั้งการเข้าเซลล์ของ Ca^{2+} มีผลให้หลอดเลือดคลายตัว (Brueggemann et al, 2009) เมื่อพิจารณาการตอบสนองของหลอดเลือดของหนูที่ได้รับ fluoxetine ร่วมกับ celecoxib จะเห็นว่า celecoxib มีแนวโน้มเพิ่มการตีบหลอดเลือดผ่าน α_1 -adrenergic receptors และคืนการคลายหลอดเลือดผ่าน β_2 -adrenergic receptors ได้เกือบสมบูรณ์ แม้ว่าจะคืนการคลายตัวของหลอดเลือดแบบที่ต้องพึ่งพา endothelium (endothelium-dependent vasorelaxation) ได้บ้างแต่ก็ไม่สมบูรณ์เหมือนปกติ

กล่าวคือยังคงมีภาวะ endothelial dysfunction ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงนี้น่าจะมีผลต่อแรงดึงของหลอดเลือด และน่าจะมีส่วนทำให้ความดันโลหิตเพิ่มในหนูกลุ่มนี้ (รูปที่ 9) ดังนั้นการเพิ่มความดันโลหิตที่เกิดจาก celecoxib อาจเป็นไปได้ 2 ทางคือ 1) เกิดการคั่งของเกลือและน้ำ 2) ภาวะ endothelial dysfunction ทำให้ลดสารคลายหลอดเลือด NO และ prostacyclin ที่จะต้านผลตีบหลอดเลือดของ catecholamine และ thromboxane A₂

สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้สามารถสรุปผลการศึกษาดังนี้

1. ผลของยาต่อภาวะซึมเศร้า การให้ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับยาด้านอักเสบ celecoxib มีผลลดอาการซึมเศร้าได้ใกล้เคียงกัน การให้ยาร่วมกลับมีผลเพิ่ม plasma cortisol ซึ่งบ่งบอกว่าน่าจะมีการกระตุ้น HPA axis มากกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว อีกทั้ง celecoxib มีแนวโน้มเพิ่มน้ำหนักตัวซึ่งบ่งชี้ว่าน่าจะมีภาวะบวมน้ำ

2. ผลของยาต่อการอักเสบ หนูที่ซึมเศร้าจะมีระดับสารสื่ออักเสบในเลือดเพิ่มขึ้น ยาด้านซึมเศร้า fluoxetine มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) สามารถลด PGE₂ และ CRP ได้บางส่วน และลด TNF- α ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ไม่สามารถลด IL-1 β การให้ยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine ให้ผลต่อ PGE₂, TNF- α และ CRP ใกล้เคียงกับการให้ fluoxetine อย่างเดียว แต่สามารถลด IL-1 β ได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการให้ยา celecoxib ร่วมให้ผลลดการอักเสบได้ดีกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว อย่างไรก็ตามการให้ยาทั้ง 2 แบบยังคงมีระดับสารสื่ออักเสบสูงกว่าปกติโดยเฉพาะ CRP ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบที่มีส่วนส่งเสริมให้เกิด endothelial dysfunction และเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า endothelial dysfunction เป็นพยาธิสภาพเริ่มแรกของการเกิด atherosclerosis ดังนั้นในบริบทของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การรักษาด้วย fluoxetine อย่างเดียวหรือให้ร่วมกับ celecoxib ก็ยังคงทำให้มีภาวะเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติของหลอดเลือด

3. ผลของยาต่อภาวะ oxidative stress หนูที่ซึมเศร้ามีการเพิ่ม plasma MDA การให้ยา fluoxetine อย่างเดียวสามารถลดระดับ plasma MDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ให้ fluoxetine ร่วมกับ celecoxib กลับลดได้เพียงเล็กน้อยและมีระดับสูงกว่าการให้ fluoxetine อย่างเดียว อย่างไรก็ตามการให้ยาทั้ง 2 แบบยังคงมีระดับ plasma MAD สูงกว่าปกติ แสดงว่ายังคงมีภาวะ oxidative stress ดังนั้นจึงทำให้เสี่ยงต่อการเกิด endothelial dysfunction, hypertension และ atherosclerosis

4. ผลของยาต่อการทำงานของประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจ หนูที่ซึมเศร้าจะมี SDNN index (HRV) ลดลง การให้ fluoxetine อย่างเดียวไม่มีผลต่อ SDNN index ในขณะที่การให้ยา celecoxib ร่วมกับ fluoxetine กลับมีผลเพิ่ม SDNN index แสดงว่าการให้ยาด้านอักเสบน่าจะให้ผลดีต่อการทำงานของประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมหัวใจ กล่าวคือหัวใจสามารถปรับตัวต่อสิ่งรบกวนต่างๆ ได้ดีกว่า

5. ผลของยาต่อภาวะหลอดเลือดแข็ง (arterial stiffness) การให้ fluoxetine อย่างเดียวหรือให้ร่วมกับ celecoxib ไม่มีผลเปลี่ยนแปลง PWV ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าในบริบทของการศึกษานี้การให้ยาทั้ง 2 แบบในเวลา 5 สัปดาห์ยังไม่มีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดจนนำไปสู่ภาวะหลอดเลือดแข็ง

6. ผลของยาต่อความดันโลหิต หนูที่ซึมเศร้าจะมีความดันโลหิตเพิ่มขึ้น การให้ fluoxetine อย่างเดียวสามารถลดความดันโลหิต แต่เมื่อให้ celecoxib ร่วมกลับทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้น ดังนั้นการให้ยาต้านอักเสบ celecoxib จะทำให้เสี่ยงต่อการเกิดความดันโลหิตสูง

7. ผลของยาต่อการตอบสนองของหลอดเลือด (vascular reactivity) หลอดเลือดจากหนูที่มีอาการซึมเศร่ายังคงตอบสนองต่อสารตีบหลอดเลือด PE แบบปกติ แต่ตอบสนองต่อสารคลายหลอดเลือด Iso และ ACh ลดลง การให้ fluoxetine อย่างเดียวสามารถลดการตอบสนองต่อ PE แต่ไม่สามารถคืนการตอบสนองต่อ Iso และ ACh ในขณะที่เมื่อให้ celecoxib ร่วมกับ fluoxetine การตอบสนองต่อ PE มีแนวโน้มเพิ่มเล็กน้อย แต่สามารถคืนการตอบสนองต่อ Iso ได้อย่างสมบูรณ์ และคืนการตอบสนองต่อ ACh ได้เพียงบางส่วนซึ่งบ่งชี้ว่าหลอดเลือดยังมีภาวะ endothelial dysfunction จึงน่าจะมีส่วนต่อการเพิ่มความดันโลหิตของยา celecoxib

ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษานี้ได้เสนอแนะว่าการให้ยาด้านอักเสบ celecoxib ร่วมกับยาด้านซึมเศร้า fluoxetine ในการรักษาโรคซึมเศร่านั้นไม่ได้ช่วยให้อาการซึมเศร้าดีขึ้นกว่าการได้รับ fluoxetine อย่างเดียว แม้ว่ายาแบบร่วมกันจะลดการอักเสบได้ดีกว่า แต่สารสื่ออักเสบส่วนใหญ่และสารอนุมูลอิสระยังคงสูงกว่าปกติ จึงทำให้ยังมีความเสี่ยงต่อการทำลายหลอดเลือด ดังที่ผลการทดลองได้แสดงให้เห็นแล้วว่าหลอดเลือดมีภาวะ endothelial dysfunction ผลการศึกษาที่พบว่ายาแบบร่วมทำให้ประสาทอัตโนมัติของหัวใจสามารถปรับตัวต่อสิ่งรบกวนได้ดีขึ้น แต่ประเด็นนี้ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยัน เพราะในการทดลองยังมีข้อจำกัดในการตรวจวัดสัญญาณ นอกจากนี้ยาด้านอักเสบ celecoxib ยังมีผลทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการเกิด endothelial dysfunction และการเพิ่มน้ำหนักตัวที่อาจเกิดจากภาวะบวม น้ำ ดังนั้นการรักษาที่ให้ยาร่วมระหว่าง fluoxetine กับ celecoxib จึงมีข้อพึงระวังในกลุ่มผู้ป่วยซึมเศร้าที่มีความดันโลหิตสูง

เอกสารอ้างอิง

(References)

กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข (2550) คู่มือโรคซึมเศร้า เข้าถึงได้จาก

www.dmh.go.th/news/view.asp?id=1037.

- Akhondzadeh S, Jafari S, Raisi F, et al. Clinical trial of adjunctive celecoxib treatment in patients with major depression: a double blind and placebo controlled trial. *Depress Anxiety*. 2009; 26(7):607-11.
- Amsterdam JD, Garcia-Espana F, Fawcett J, Quitkin FM, Reimherr FW, Rosenbaum JF, Beasley C. Blood pressure changes during short-term fluoxetine treatment. *J Clin Psychopharmacol*. 1999; 19(1):9-14.
- Andreatini R, & Bacellar LFS. The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res*. 1999; 32(9):1121-1126.
- Anisman H, Gibb J, & Hayley S. Influence of continuous infusion of interleukin-1 β on depression-related processes in mice: corticosterone, circulating cytokines, brain monoamines, and cytokine mRNA expression. *Psychopharmacology*. 2008; 199:231-244.
- Asmar R, Benetos A, Topouchain J, Laurent P, Pannier B, Brisac A, Target R, & Levey B. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. *Hypertension*. 1995; 26(3):485-90.
- Bakker N, & Sipkema E. Component of acetylcholine-induced dilation in isolated rat arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1997; 273:H1848-H1853.
- Bakris GL, & Mensah GA. (2003). Pathogenesis and clinical physiology of hypertension. *Curr Probl Cardiol*. 28: 137-155.
- Bakunina N, Pariante CM, and Zunszain PA. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology*. 2015; 144:365-373.
- Barton DA, Dawood T, Lambert EA, Esler MD, Haikerwal D, Brenchley C, Socratous F, Kaye DM, Schlaich MP, Hickie I, & Lambert GW. Sympathetic activity in major depressive disorder: identifying those at increased cardiac risk. *J Hypertens*. 25 (10):2117-2124.
- Becker RC. COX-2 inhibitors. *Tex Heart Inst J*. 2005; 32(3):380-3.
- Blake GJ, & Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk predictor. *L Intern Med*. 2002; 252(4):283-294.

- Blardi P, De Lalla A, Leo A, Auteri A, Iapichino S, Di Muro A, Dell'Erba A, & Castrogiovanni P. Serotonin and fluoxetine levels in plasma and platelets after fluoxetine treatment in depressive patients. *J Clin Psychopharmacol*. 2002; 22(2):131-136.
- Blardi P, De Lalla A, Auteri A, Iapichino S, Dell'Erba A, & Castrogiovanni P. Plasma catecholamine levels after fluoxetine treatment in depressive patients. *Neuropsychobiology*. 2005; 51(2):72-76.
- Bouzinova EV, Wiborg O, Aalkjaer C, & Matchkov VV. Role of peripheral vascular resistance for the association between major depression and cardiovascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015; 65(4):299-307.
- Brueggemann LI, Mackie AR, Mani BK, Cribbs LL, & Byron KL. Differential effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitors on vascular smooth muscle ion channels may account for differences in cardiovascular risk profiles. *Molecular Pharmacology*. 2009; 76(5):1053-1061.
- Calabro P, Golia E, & Yeh ET. CRP and the risk of atherosclerotic event. *Semin Immunopathol*. 2009; 31(1):79-94.
- Castrogiovanni P, Blardi P, De Lalla A, Dell'Erba A., Auteri A. Can serotonin and fluoxetine levels in plasma and platelets predict clinical response in depression? *Psychopharmacol Bull*. 2003; 37(2):102-108.
- Chavda N, Kantharia ND, & Jaykaran. Effects of fluoxetine and escitalopam on C-reactive protein in patients of depression. *J Pharmacol Pharmacother*. 2011; 2(1):11-16.
- Chenevard R, Hürlimann D, Béchir M, Enseleit F, Spieker L, Hermann M, Riesen W, Gay S, Gay RE, Neidhart M, Michel B, Lüscher TF, Noll G, & Ruschitzka F. Selective COX-2 inhibition improves endothelial function in coronary artery disease. *Circulation*. 2003; 107(3):405-409.
- Christmas D, Potokar JP, & Davies S. A biological pathway linking inflammation and depression: activation of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2011; 7:431-439.
- Claridge M, Hobbs S, Quick C, Day N, Bradbury A, Wilmink T. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are associated with increased aortic stiffness. *Vasc Health Risk Manag*. 2005; 1(2):149-53.
- Crespi F. The selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces striatal in vivo levels of voltammetric nitric oxide (NO): a feature of its antidepressant activity? *Neurosci Lett*. 2010; 470(2):95-99.
- d'Audiffret AC, Frisbee SJ, Stapleton PA, Goodwill AG, Isingrini E, & Frisbee JC. Depressive behavior and vascular dysfunction: a link between clinical depression and vascular disease? *J Appl Physiol*. 2010; 108:1041-1051.

- Davis A, Gilhooley M, & Agius M. Using non-steroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of depression. *Psychiatr Danub*. 2010; 22(Suppl 1): S49-52.
- Deng S, West BJ, Palu AK, Zhou B-N, & Jensen CJ. Noni as an anxiolytic and sedative: A mechanism involving its gamma-aminobutyric acid effects. *Phytomed*. 2007; 14:517-522.
- Deussing JM. Animal models of depression. *Drug discovery today* 2006; retrieved from www.drugdiscoverytoday.com.
- Dhalla NS, Temsah RM, & Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Hypertens*. 2000; 18(6):655-673.
- Diaz J, Ni W, Thompson J, King A, Fink GD, & Watts SW. 5-HT lowers blood pressure in normotensive and hypertensive rats. *JPET*. 2008; 325(3):1031-1038.
- Dinenno FA, & Joyner MJ. Combined NO and PG inhibition augments alpha-adrenergic vasoconstriction in contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287(6):H2576-H2584.
- Dong H, Waldron GJ, Galipeu D, Cole WC, & Triggle CR. NO/PGI₂-independent vasorelaxation and the cytochrome P450 pathway in rabbit carotid artery. *Br J Pharmacol*. 1997; 120:695-701.
- Dronjak S, Spasojevic N, Gavrilovic L, & Varagic V. Effects of noradrenaline and serotonin reuptake inhibitor on pituitary-adrenocortical and sympatho-adrenomedullary system of adult rats. *Neuro Endocrinol Lett*. 2007; 28(5):614-620.
- Fiebich BL, Schleicher S, Spleiss O, Czygan M, & Hull M. Mechanisms of prostaglandin E₂-induced interleukin-6 release in astrocytes: possible involvement of EP4-like receptors, p38 mitogen-activated protein kinase and protein kinase C. *J Neurochem*. 2001; 79(5):950-8.
- Fitch RM, Vergona R, Sullivan ME, & Wang YX. Nitric oxide synthase inhibition increases aortic stiffness measured by pulse wave velocity in rats. *Cardiovasc Res*. 2001; 51(2):351-8.
- Flack JD, Jessup R, & Ramwell W. Prostaglandin stimulation of rat corticosteroidogenesis. *Science*. 1969; 163(3868):691-92.
- Förstermann U, Hertting G, & Neufang B. The role of endothelial and non-endothelial prostaglandins in the relaxation of isolated blood vessels of the rabbit induced by acetylcholine and bradykinin. *Br J Pharmacol*. 1986; 87:521-532.
- Gaziano JM. Nonnarcotic analgesics and hypertension. *Am J Cardiol*. 2006; 97(9A):10-6.
- Göçmez SS, Utkan T, Gacar N, & Sarioglu Y. Chronic administration of fluoxetine impairs neurogenic and endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *Eur J Pharmacol*. 2011; 670:224-228.

- Grippe AJ, Moffitt JA, & Johnson AK. Cardiovascular alterations and autonomic imbalance in an experimental model of depression. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*. 2002; 282:R1333-R1341.
- Grippe AJ, & Johnson AK. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002; 26:941-962.
- Grippe AJ, Moffitt JA, & Johnson AK. Cardiovascular alterations and autonomic imbalance in an experimental model of depression. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*. 2002; 282:R1333-R1341.
- Grippe AJ, Beltz TG, Weiss RM, & Johnson AK. The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Bio Psychiatry*. 2006; 59:309-316.
- Grippe AJ, & Johnson AK. Stress, depression, and cardiovascular dysregulation: A review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models. *Stress*. 2009; 12(1): 1-21.
- Guo JY, Li CY, Ruan YP, Sun M, Qi XL, Zhao BS, & Luo F. Chronic treatment with celecoxib reverses chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior via reducing cyclooxygenase-2 expression in rat brain. *Eur J Pharmacol*. 2009; 612(1-3):54-60.
- Hawkey CJ. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Pract Res Clin Gastroent*. 2001; 15(5):801-20.
- Hegerl U, Wittenburg L, & Bramesfeld A. Depression-consequences for individual and society. 2009; retrieved from <http://www.euphix.org>.
- Heikki HV, Makikallio T, Airaksinen J, Mitrani R, Castellanos A, & Myerburg R. Measurement of heart rate variability: A clinical tool or a research toy?. *JACC*. 1999; 34(7):1878-83.
- Hildrum B, Romild U, & Holmen J. Anxiety and depression lower blood pressure: 22-year follow-up of the population based HUNT study, Norway. *J Epidemiol Community Health*. 2007; 61(1):53-58.
- Hisako T, Larson MG, Venditti FJ, et al. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. *Circulation*. 1996; 94:2850-2855.
- Howren MB, Lamkin DM, & Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2009; 71(2):171-186.
- Isingrini E, Surget A, Belzung C, Freslon JL, Frisbee J, O'Donnell J, Camus V, & d'Audiffret A. Altered aortic vascular reactivity in the unpredictable chronic mild stress model of depression in mice. *Physiology & Behavior*. 2011; 103:540-546.

- Isingrini E, Belzung C, Freslon JL, Machet MC, & Camus V. Fluoxetine effect on aortic nitric oxide-dependent vasorelaxation in the unpredictable chronic mild stress model of depression in mice. *Psychosom Med.* 2012; 74(1):63-72.
- Jazayeri S, Keshavarz SA, Tehrani-Doost M, et al. Effects of eicosapentaenoic acid and fluoxetine on plasma cortisol, serum interleukin-1 beta and interleukin-6 concentrations in patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2010; 178(1):112-115.
- Joynt KE, Whellan DJ, and O'Connor CM. Depression and cardiovascular disease: mechanisms of interaction. *Biol Psychiatry.* 2003; 54:248-261.
- Kageyama T, Kabuto M, Kaneko T, & Nishikido N. Accuracy of pulse rate variability parameters obtained from finger plethysmogram: A comparison with heart rate variability parameters obtained from ECG. *J Occup Health.* 1997; 39:154-155.
- Kang KB, Rajanayagam MAS, van der Zyppe A, & Majewski H. A role for cyclooxygenase in aging-related changes of β -adrenoceptor-mediated relaxation in rat aortas. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol.* 2007; 375:273-81.
- Katz AM. Pathophysiology of heart failure: identifying targets for pharmacotherapy. *Med Clin North Am.* 2003; 87(2):303-16.
- Khandoker AH, Karmakar CK, & Palaniswami M. Comparison of pulse rate variability with heart rate variability during obstructive sleep apnea. *Medical Engineering & Physics.* 2011; 33:204-209.
- Klein T, Eltze M, Grebe T, Hatzelmann A, & Kömhoff M. Celecoxib dilates guinea-pig coronaries and rat aortic rings and amplifies NO/cGMP signaling by PDE5 inhibition. *Cardiovasc Res.* 2007; 75(2):390-397.
- Kobrosly R, & van Wijngaarden E. Associations between immunologic, inflammatory, and oxidative stress markers with severity of depressive symptoms: an analysis of the 2005-2006 national health and nutrition examination survey. *Neurotoxicology.* 2009; 31(11):126-133.
- Koenig W. C-reactive protein and cardiovascular risk: has the time come for screening the general population. *Clinical Chem.* 2001; 47:9-10.
- Krum H, Aw TJ, Liew D, Haas S. Blood pressure effects of COX-2 inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006; 47(Suppl 1):S43-8.
- Lenderts S, & Kalali A. Treatment of depression: an update on antidepressant monotherapy and combination therapy. *Psychiatry (Edgmont).* 2009; 6(8):15-7.

- Licht CMM, de Geus EJC, Seldenrijk A, van Hout HPJ, Zitman FG, van Dyck R, & Penninx BWJH. Depression is associated with decreased blood pressure, but antidepressant use increases the risk for hypertension. *Hypertension*. 2009; 53:631-638.
- Lieb J, Karmali R, & Horrobin D. Elevated levels of prostaglandin E₂ and thromboxane B₂ in depression. *Prostaglandin, Leukotrienes and Medicine*. 1983; 10(4):361-367.
- Liu X-H, Kirschenbaum A, Yao S, & Levine A. Interactive effect of interleukin-6 and prostaglandin E₂ on osteoclastogenesis via the OPG/RANKL/RANK system. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1068:225-33.
- Loftis JM, Huckans M, & Morasco BJ. Neuroimmune mechanisms of cytokine-induced depression: Current theories and novel treatment strategies. *Neurobiol Dis*. 2010; 37(3):519-533.
- Mardini IA, & FitzGerald GA. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: A growing class of anti-inflammatory drugs. *Mol Interv*. 2001; 1(1):30-8.
- Muller N, Schwarz MJ, Dehning S, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression : results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. *Mol Psychiatry*. 2006; 11(7):680-4.
- Muller N, & Schwarz MJ. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry*. 2007; 12(11):988-1000.
- Muscara NM, Vergnolle N, Lovren F, Triggle CR, Elliott SN, Asfaha S, Wallace JL. Selective cyclooxygenase-2 inhibition with celecoxib elevates blood pressure and promotes leukocyte adherence. *Br J Pharmacol*. 2000; 129:1423-30.
- Myint AM, Steinbusch HWM, Goeghegan L, et al. Effect of the COX-2 inhibitor celecoxib on behavioural and immune changes in olfactory bulbectomised rat model of depression. *Neuroimmunomodulation*. 2007; 14:65-71.
- Nemeroff CB. Recent findings in the pathophysiology of depression. *Focus*. 2008; 6(1): 3-14.
- Neves VJ, Moura MJ, Tamascia ML, Ferreira R, Silva NS, Costa R, Montemor PL, Narvaes EA, Bernardes CF, Novaes PD, & Marcondes FK. Proatherosclerotic effects of chronic stress in male rats: altered phenylephrine sensitivity and nitric oxide synthase activity of aorta and circulating lipids. *Stress*. 2009; 12(4):320-327.
- Parissis J, Nikolaou M, Michalakeas C, et al. Selective serotonin reuptake inhibitor reduces circulating markers of oxidative stress in depressed patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2009; 120:S481.

- Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000; 102:2165-2168.
- Patel RS, Mheid IA, Morris AA, Ahmed Y, Kavtaradze N, Ali S, Dabhadkar K, Brigham K, Hooper WC, Alexander RW, Jones DP, & Quyyumi AA. Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. *Atherosclerosis*. 2011; 218(1):90-95.
- Paul A, Ko KW, Yechoor V, McCrory MA, Szalai AJ, & Chan L. C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2004; 109(5):647-655.
- Pineda EA, Hensler JG, Sankar R, Shin D, Burke TF, Mazarati AM. Interleukin-1 β causes fluoxetine resistance in an animal model of epilepsy-associated depression. *Neurotherapeutics*. 2012; 9(2):477-485.
- Pliakas AM, Carison RR, Neve RL, Konrad C, Netler EJ, & Carlezon WA. Altered responsiveness to cocaine and increased immobility in the forced swimming test associated with elevated cAMP response element-binding protein expression in nucleus accumbens. *J Neurosci*. 2001; 21(18):7397-7403.
- Rawdin BS, Mellon SH, Dhabhar FS, Epel ES, Puterman E, Su Y, Burke HM, Reus VI, Rosser R, Hamilton SP, Nelson JC, & Wolkowitz OM. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2012; 31:143-152.
- Rossat J, Mailard M, Nussberger J, Brunner HR, & Burnier M. Renal effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition in normotensive salt-depleted subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 1999; 66(1):76-84.
- Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, & Kiri S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative system. *Human Psychopharmacol*. 2007; 22(2):67-73.
- Scalco AZ, Scalco MZ, Azull JBS, & Neto FL. Hypertension and depression. *Clinics*. 2005; 60(3):241-250.
- Schiepers OJG, Wichers MC, & Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol Psychiatry*. 2005; 29:201-217.
- Scuteri A, Modestino A, Fedullo F, Assisi AP, Gianni W. Depression treatment selectively modifies arterial stiffness in older participants. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013; 68(6):719-725.
- Seldenrijk A, van Hout HP, van Marwijk HW, de Groot E, Gort J, Rustemeijer C, Diamant M, Penninx BW. Depression, anxiety, and arterial stiffness. *Biol Psychiatry*. 2011; 69(8):795-803.

- Shelton RC, & Miller AH. Inflammation in depression: is adiposity a cause?. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2011; 13(1):41-53.
- Song C, Zhang XY, & Manku M. Increased phospholipase A₂ activity and inflammatory response but decreased nerve growth factor expression in the olfactory bulbectomized rat model of depression: effects of chronic ethyleicosapentaenoate treatment. *J Neurosci*. 2009; 29(1):14-22.
- Spasojevic N, Jovanovic P, & Dronjak S. Differential regulation of catecholamine synthesis and transport in rat adrenal medulla by fluoxetine treatment. *An Acad Bras Cienc*. 2015; 87(1):1-8.
- Trongtorsak P, Sukpat S, Buapool D, & Thornorla K. Effects of meloxicam and etoricoxib on blood pressure and vascular reactivity in rats. *Chula Med J*. 2011; 55(2):127-141.
- Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, & Godoy MF. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009; 24(2): 205-217.
- Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contraction in hypertension, when prostacyclin becomes ugly. *Hypertension*. 2011; 57(part 2):526-531.
- Verma S, Wang C-H, Li S-H, et al. C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*. 2002; 106:913-919.
- Warner-Schmidt JL, Vanover KE, Chen EY, Marshall JJ, & Greenard P. Antidepressant effects of selective serotonin reuptake inhibitor (SSRIs) are attenuated by anti-inflammatory drugs in mice and humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108(22): 9262-9267.
- Watanabe T, Morimoto A, Sakata Y, & Murakami N. ACTH response induced by interleukin-1 is mediated by CRF secretion stimulated by hypothalamic PGE. *Experientia*. 1990; 46(5):481-484.
- Watts SW. 5-HT in systemic hypertension: foe, friend or fantasy. *Clinical Science*. 2005; 108:399-412.
- Whelton A, White WB, Bello AE, Puma JA, Fort JG, the SUCCESS-VII Investigators. Effects of celecoxib and rofecoxib on blood pressure and edema in patients ≥ 65 years of age with systemic hypertension and osteoarthritis. *Am J Cardiol*. 2002; 90:959-963.
- Widlansky ME, Price DT, Gokce N, Eberhardt RT, Duffy SJ, Holbrook M, Maxwell C, Palmisano J, Keaney JF Jr, Morrow JD, Vita JA. Short- and long-term COX-2 inhibition reverses endothelial dysfunction in patients with hypertension. *Hypertension*. 2003; 42(3):310-315.
- Wilson CB, McLaughlin LD, Nair A, Ebenezer PJ, Dange R, et al. Inflammation and Oxidative Stress Are Elevated in the Brain, Blood, and Adrenal Glands during the Progression of Post-Traumatic Stress Disorder in a Predator Exposure Animal Model. *PLoS ONE*, 2013; 8(10): e76146. doi:10.1371/journal.pone.0076146

Yager S, Forlenza MJ, and Miller GE. Depression and oxidative damage to lipid.

Psychoneuroendocrinology. 2010; 35:1356-1362.

Zhao M, Hagler HK, Muntz KH. Regulation of alpha1-, beta1-, and beta2-adrenergic receptors in rat heart by norepinephrine. *Am J Physiol*. 1996; 271(5Pt2):H1762-H1768.

โครงการวิจัย

การประเมินภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบบหัวใจหลอดเลือดในการให้ยาต้าน
 โรคซึมเศร้าร่วมกับยาต้านการอักเสบในหนูขาวที่มีภาวะซึมเศร้า
 Cardiovascular risk assessment of combined treatment of antidepressant and
 anti-inflammatory drugs in rats with depression.

ผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร.เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์ (Ms. Petcharat Trongtorsak)

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

โทรศัพท์ 038-102222 ต่อ 3166 โทรสาร 038-393497

E-mail : petchara@buu.ac.th

ผศ.ดร.อุไรวรรณ อินทมาโส (Miss. Uraiwan Intamaso)

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

โทรศัพท์ 038-102222 ต่อ 3163 โทรสาร 038-393497

E-mail : urawani@buu.ac.th

อ.วนิดา โอพารากิตอนันต์ (Ms. Wanida Orankitanan)

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

โทรศัพท์ 038-102222 ต่อ 3615

โทรสาร 038-102610

E-mail : wanida@buu.ac.th