

eEF1A2 promotes neuronal survival on MPP⁺ -induced apoptotic cell death in a Parkinson's disease model via PI3K/Akt/mTOR pathway

Kawintra Khwanraj*

Permpnan Dharmasaroja*

Khwanraj K, Dharmasaroja P. eEF1A2 promotes neuronal survival on MPP⁺ -induced apoptotic cell death in a Parkinson's disease model via PI3K/Akt/mTOR pathway. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 268 - 70

Background : *Parkinson's disease, a common neurodegenerative disorder characterized by loss of dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta. It is a complex disorder and its molecular pathogenesis is still unknown, and needs to be elucidated. eEF1A2 is a translation elongation factor involved in protein synthesis. It is only expressed in tissues of normal brain, heart, and skeletal muscle. Wasted mice lacked of eEF1A2 developed motor neuron and neuromuscular degeneration, and ectopic expression of eEF1A2 is correlated with many cancer developments.*

Objectives : *This study aimed to investigate the function of eEF1A2 in the regulation of cell survival and potential molecular mechanism involved in the pathogenesis of Parkinson's disease.*

Methods : *The study was performed by using MPP⁺ induced cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cell line.*

Results : *The result showed a significant positive correlation between the up regulation of both eEF1A2 and PI3K/Akt/mTOR pathway, suggesting that eEF1A2 might mediate cell survival and protect against toxin-induced apoptosis through Akt activation. Inactivation of eEF1A2 by short interfering RNA reduced Akt activity and promoted cell death. Inhibition of Akt activity by PI3K inhibitors induced upregulation of eEF1A2 but that could not promote cell survival and protect against toxin-induced apoptosis in the Parkinson's disease model.*

Conclusion : *This study suggests that eEF1A2 may play a neuroprotective role in toxin induced apoptosis of the Parkinson's disease model through Akt activation.*

Keywords : *Parkinson's disease, eEF1A2, PI3K/Akt/mTOR, SH-SY5Y, MPP+.*

กวินทรา ขวัญราช, เพิ่มพันธุ์ ธรรมสโรช. eEF1A2 สนับสนุนการอยู่รอดเซลล์ประสาทที่รับสารพิษกระตุ้นการตายของเซลล์ในโมเดลโรคพาร์คินสัน โดยผ่านทาง PI3K/Akt/mTOR pathway. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – มี.ย.; 62 (3): 268 – 70

เหตุผลของการทำวิจัย : โรคพาร์คินสันเป็นความผิดปกติที่มีการเสื่อมสภาพของระบบประสาทซึ่งสามารถพบได้โดยทั่วไป โดยมีการตายและลดลงของจำนวนกลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่บริเวณก้านสมอง ปัจจุบันนี้ยังคงไม่ทราบถึงสาเหตุที่แท้จริงที่ก่อให้เกิดโรคและยังจำเป็นต้องหาคำตอบต่อไป eEF1A2 เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนภายในเซลล์ ในสภาวะปกติจะพบโปรตีนชนิดนี้ในเซลล์สมอง หัวใจ และกล้ามเนื้อลายเท่านั้น จากการศึกษาพบว่า หนูที่ขาดยีน eEF1A2 มีการเสื่อมสลายของเซลล์ประสาทสั่งการและการทำงานของกล้ามเนื้อลาย นอกจากนี้ยังรายงานว่าการแสดงออกของ eEF1A2 ที่พบนอกเหนือไปจากบริเวณปกติมีสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งในตำแหน่งเหล่านั้น

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาหน้าที่ของ eEF1A2 ผ่านทางการควบคุมของกลไกการอยู่รอดของเซลล์ และศึกษากลไกในระดับโมเลกุลที่ส่งผลต่อการเกิดโรคพาร์คินสัน

วิธีการทำวิจัย : เซลล์ประสาท SH-SY5Y ได้รับสาร MPP⁺ ร่วมกับมีการยับยั้งการทำงานของ eEF1A2 โดยใช้ siRNA และยับยั้งการทำงานของโปรตีน Akt โดยใช้ PI3K inhibitors ตามลำดับ

ผลการศึกษา : ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกันของทั้ง eEF1A2 และ PI3K/Akt/mTOR pathway ในโมเดลพาร์คินสัน แต่เมื่อมีการยับยั้งการทำงานของ eEF1A2 โดยใช้ siRNA พบว่าการลดลงของการทำงานของ PI3K/Akt/mTOR pathway ในขณะที่การยับยั้งการทำงานของ Akt โดยใช้ PI3K inhibitors พบว่าการแสดงออกของ eEF1A2 เพิ่มขึ้นแต่ไม่สามารถปกป้องเซลล์จากการตายที่เกิดจากสารพิษที่ได้รับ

สรุป : การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า eEF1A2 มีบทบาทในการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจากการได้รับสารพิษในโมเดลพาร์คินสัน โดยผ่านทางการทำงานของ Akt

คำสำคัญ : โรคพาร์คินสัน, eEF1A2, PI3K/Akt/mTOR, SH-SY5Y, MPP⁺.

Investigation of human Argonaute-4 regulating RNA-directed DNA methylation as a novel epigenetic modifier

Kanwalat Chalertpet*

Apiwat Mutirangura**

Chalertpet K, Mutirangura A. Investigation of human Argonaute-4 regulating RNA-directed DNA methylation as a novel epigenetic modifier. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 271 - 4

Background : RNA directed DNA methylation (RdDM) is a process, firstly found in plants, which guided small RNA (gRNA) and a key regulatory protein Argonaute 4 (AGO4) take part in epigenetic modification where gRNA is complementary. However, RdDM in human is so far less studied.

Objectives : Therefore, this study aimed to observe whether human AGO4 is involved in RdDM. If AGO4 mediates RdDM as postulated, cell-penetrating peptide (CPP)-tagged AGO4 conjugated gRNA (CPP-AGO4-gRNA) will be constructed and used for targeted epigenetic modification.

Methods : AGO4 localization associated DNA methylation was observed by chromatin immunoprecipitation (ChIP) in AGO4-overexpressing cells. ChIP-DNA was subjected to measure LINE-1 and ALU quantification as well as methylation level. CPP-AGO4-gRNA of LINE-1, ALU, EML2 and CCNA1 was created to transfect cells and induce methylation at those following target sites. Alterations in methylation, expression, and cell phenotype were observed using MSP or COBRA, qPCR and a phase-contrast microscope, respectively.

Results : In AGO4-overexpressing cells, AGO4 localized to LINE-1 and ALU, resulting in higher LINE-1 and ALU methylation levels compared to its control. Moreover, CPP-AGO4-sgRNA can specifically induce methylation of LINE-1, ALU, EML2 and CCNA1 leading to repression of LINE-1 and CCNA1 expression and deceleration of cell proliferation.

* Inter-Department Program of Biomedical Sciences, Faculty of Graduate School, Chulalongkorn University

** Center of Excellence in Molecular Genetics of Cancer and Human Diseases, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

Conclusion : *These findings reveal for the first time ever that human AGO4 regulates RdDM similar to plants. Furthermore, CPP-AGO4-gRNA can be used as a novel alternative approach for epigenomic modification like CRISPR-cas9 does.*

Keywords : *Argonaute 4, RNA-directed DNA methylation, cell-penetrating peptide.*

กัญวลัชญ์ ชเลิศเพ็ชร, อภิวัฒน์ มุทิตรากร. การศึกษาโปรตีนอะโกรนอทไฟร์ของมนุษย์ในการเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชันผ่านอาร์เอ็นเอ: เทคโนโลยีใหม่ในการดัดแปลงอีพีเจเนติกส์. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 271 - 4

เหตุผลของการทำวิจัย : การเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชันผ่านอาร์เอ็นเอ หรืออาร์ดีดีเอ็ม (RdDM) พบครั้งแรกในพืช เป็นกระบวนการที่อาร์เอ็นเอสายนำ หรือไกด์อาร์เอ็นเอ (gRNA) และโปรตีนที่ควบคุมกระบวนการนี้ คือ โปรตีนอะโกรนอทไฟร์ ทำให้เกิดการเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชันในบริเวณเบสที่เป็นคู่สมกับ gRNA อย่างไรก็ตาม กระบวนการนี้มีการศึกษาน้อยมากในมนุษย์

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาว่าโปรตีนอะโกรนอทไฟร์ของมนุษย์มีส่วนร่วมในกระบวนการ RdDM หรือไม่ ถ้าอะโกรนอทไฟร์มีบทบาทในกระบวนการ RdDM ตามที่ตั้งสมมติฐานไว้ เปปไทด์ที่มีความสามารถในการแทรกผ่านเซลล์ (cell-penetrating peptide, CPP) จะถูกนำมาต่อกับลำดับเบสของอะโกรนอทไฟร์ เพื่อผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน CPP-AGO4 และนำไปใช้ร่วมกับ gRNA เพื่อชักนำให้เกิดการเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชันในบริเวณเป้าหมาย

วิธีการทำวิจัย : ความสัมพันธ์ของการจับของโปรตีนอะโกรนอทไฟร์ต่อระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันถูกศึกษาด้วยเทคนิค chromatin immunoprecipitation (ChIP) ในเซลล์มะเร็งถูกทำให้มีการแสดงออกของอะโกรนอทไฟร์เพิ่มขึ้น ดีเอ็นเอที่ได้จาก ChIP จะถูกนำไปวัดปริมาณและระดับเมทิลเลชันของ LINE-1 และ ALU สำหรับ CPP-AGO4 จะนำไปใช้ร่วมกับ gRNA ของ LINE-1, ALU, EML2 และ CCNA1 และนำเข้าเซลล์ เพื่อชักนำให้เกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชันในบริเวณเป้าหมายข้างต้น การเปลี่ยนแปลงของระดับเมทิลเลชัน การแสดงออกของยีน และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ฟีโนไทป์ ถูกศึกษาด้วยเทคนิค MSP หรือ COBRA, qPCR และการศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ตามลำดับ

ผลการศึกษา : ในเซลล์มะเร็งที่ถูกทำให้มีการแสดงออกของอะโกรนอทไฟร์เพิ่มขึ้น พบว่าโปรตีนอะโกรนอทไฟร์จับกับ LINE-1 และ ALU ทำให้ระดับเมทิลเลชันของ LINE-1 และ ALU สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ในกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ CPP-AGO4-gRNA สามารถชักนำให้ระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันสูงขึ้นในบริเวณจำเพาะต่อ LINE-1, ALU, EML2 และ CCNA1 นำไปสู่การลดการแสดงออกของ LINE-1 และ CCNA1 และการลดลงของการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

- สรุป** : การศึกษานี้เป็นการค้นพบครั้งแรกว่าโปรตีนอะโกรนอทไฟร์ของมนุษย์มีส่วนควบคุมกระบวนการ RdDM เช่นเดียวกับในพืช นอกจากนี้รีคอมบิแนนท์โปรตีน CPP-AGO4 ร่วมกับการใช้ gRNA เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เพื่อใช้ในการเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชัน เช่นเดียวกับที่ CRISPR-cas9 สามารถทำได้
- คำสำคัญ** : อะโกรนอทไฟร์, การเติมดีเอ็นเอเมทิลเลชันผ่านอาร์เอ็นเอ, เปปไทด์ที่มีความสามารถในการแทรกผ่านเซลล์.

Effect of fresh herbs knee-mask formula for pain relief in osteoarthritis of the knee in the elderly

Jongkol Poonsawat*,**

Wiwat Sriwicha*,** Saowalak Phankaew**

Pornnipa Rattanaphook* Ronnachai Poowanna*,**

Tanawat Nuangsri*,** Benjaporn Mayoorn**

Poonsawat J, Sriwicha W, Phankaew S, Rattanaphook P, Poowanna R, Nuangsri T, Mayoorn B. Effect of fresh herbs knee-mask formula for pain relief in osteoarthritis of the knee in the elderly. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 275 - 7

Background : *In Thailand, more than 6 million elderly people were diagnosed with osteoarthritis, mostly found in 40% of those 50 years old and above; its tendency is increasing; osteoarthritis was founded in women more than men. However, osteoarthritis rate in those younger than 45 years old is higher in men more than women; but among those over 45 years old were found more common in women than men. In those older than 75 years of age, both genders share the rate of osteoarthritis over 80 - 90%.*

Objective : *The studies aimed to investigate the effect of fresh herbs knee-mask formula on pain relief knee pain and knee degrees of motion in osteoarthritis elderly patients.*

Methods : *The subjects included 60 elderly people with osteoarthritis who received fresh herbs knee-mask service at Ban Dong Kham Pho health promoting hospital, Waritchaphum district, Sakon Nakhon Province. Subjects were specifically recruited and divided into 2 groups, i.e., those who received fresh herbs knee-mask service and those who did not receive fresh herbs knee-mask service. The experimental tools were knee pain assessment and goniometer. Statistical analyses included Dependent t-test and Independent t-test.*

* Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, SakonNakhon Campus

** Luang Pu Fab Supatto, Sakonnakhon Thai Traditional Medicine Hospital, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

Results : *The study showed that the effects of knee pain in the experimental group had initial knee pain mean as 4.8 (S.D. = 1.18) then 5 days after received fresh herbs knee-mask service had knee pain mean as 1.70 (S.D. = 1.19) and at 3 weeks after the service, the knee pain mean was 1.63 (S.D. = 1.45). Therefore, the results indicated the difference with statistical significance ($P < 0.05$). As for the study of knee motion, results showed that the experimental group had initial knee degrees of motion with the mean of 43.97 (S.D. = 13.81); 5 days after receiving fresh herbs knee-mask service the mean degrees of motion became 34.47 (S.D. = 12.85); and 3 weeks after receiving this service had knee degrees of motion mean as 34.43 (S.D. = 13.36). Therefore, the results indicated that after receiving fresh herbs knee-mask service the decreased degree of motion of motion had a difference with statistical significance ($P < 0.05$).*

Conclusion : *The study results indicated that the fresh herbs knee-mask formula was efficient for pain relief in the elderly with osteoarthritis. After the treatment most subjects were satisfied. This research was a treatment model that needs to support to be used in hospitals in the future.*

Keywords : *Osteoarthritis, fresh herbs, knee-mask formula, elderly, Thai traditional medicine.*

จกมล พูลสวัสดิ์, วิวัฒน์ ศรีวิชา, เสาวลักษณ์ พันธุ์แก้ว, พรนิภา รัตนผูก, รณชัย ภูวันนา, ธนวรรธน์ เนื่องศรี, เบญจพร มายูร. ประสิทธิภาพของตำรับยาพอกเข้าสมุนไพร เพื่อลดอาการปวดเข่าของผู้สูงอายุโรคข้อเข่าเสื่อม. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62(3): 275 - 7

- เหตุผลของการทำวิจัย** : ในประเทศไทยพบผู้สูงอายุจำนวนมากกว่า 6 ล้านราย เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมโดยพบมากถึงร้อยละ 40 ในผู้ป่วยวัย 50 ปีขึ้นไป และมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้น โดยพบอัตราการเกิดข้อเข่าเสื่อมของเพศหญิงมากกว่าเพศชาย โดยพบว่าในกลุ่มผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 45 ปี ผู้ชายเป็นมากกว่าผู้หญิง ในกลุ่มอายุมากกว่า 45 ปี ผู้หญิงเป็นมากกว่าผู้ชาย และในผู้ที่มีอายุเกินกว่า 75 ปีขึ้นไป พบข้อเสื่อมมากกว่าร้อยละ 80 - 90
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาประสิทธิผลของตำรับยาพอกเข้าต่อการลดอาการปวดและลดองศาการเคลื่อนไหวของข้อเข่าในผู้สูงอายุโรคข้อเข่าเสื่อม
- วิธีการทำวิจัย** : กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้สูงอายุโรคข้อเข่าเสื่อมที่มาใช้บริการที่ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านดงคำโพธิ์ อำเภวาริชภูมิ จังหวัดสกลนคร จำนวน 60 ราย เลือกแบบเจาะจง แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ได้รับการพอกเข้า และกลุ่มที่ไม่ได้รับการพอกเข้า เครื่องมือที่ใช้ได้แก่ แบบประเมินอาการปวดข้อเข่า และ Goniometer
- ผลการศึกษา** : ผลของอาการปวดเข่าในกลุ่มทดลอง มีค่าเฉลี่ยความปวดเริ่มต้นเท่ากับ 4.80 (S.D. = 1.18) หลังพอกเข้าวันที่ 5 ค่าเฉลี่ยความปวดเท่ากับ 1.70 (S.D.=1.19) และหลังพอกเข้าสัปดาห์ที่ 3 ค่าเฉลี่ยความปวดเท่ากับ 1.63 (S.D.=1.45) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ผลขององศาการเคลื่อนไหวของข้อเข่า พบว่ากลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยองศาเข่าเริ่มต้นเท่ากับ 43.97 (S.D. = 13.81) หลังการพอกเข้าวันที่ 5 ค่าเฉลี่ยองศาเข่าเท่ากับ 34.47 (S.D. = 12.85) และหลังการพอกเข้าสัปดาห์ที่ 3 ค่าเฉลี่ยองศาเข่าเท่ากับ 34.43 (S.D. = 13.36) โดยหลังการพอกเข้าองศาเข่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- สรุป** : ตำรับยาพอกเข้าสมุนไพรมีประสิทธิภาพในการลดอาการปวด และลดองศาเข่าในผู้สูงอายุโรคข้อเข่าเสื่อมหลังจากพอกเข้า และกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีระดับความพึงพอใจมากในการทดลองครั้งนี้ จึงเป็นรูปแบบการรักษาที่ต้องการส่งเสริมให้มีการใช้ในโรงพยาบาลต่อไป
- คำสำคัญ** : ข้อเข่าเสื่อม, ตำรับยาพอกเข้าสมุนไพร, ผู้สูงอายุ, การแพทย์แผนไทย.

CU-discovered marker for breast cancer screening in white blood cells

Charoenchai Puttipanyalears* Sakawdaurn Yasom*
Nakarin Kitkumthorn** Apiwat Mutirangura*

Puttipanyalears C, Yasom S, Kitkumthorn N, Mutirangura A. CU-discovered marker for breast cancer screening in white blood cells. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 278 - 81

Background : *Breast cancer is the second cause of death in women worldwide. Early detection of breast cancer provides more successful treatments and lower mortality rate. The most effective techniques for breast cancer diagnosis are breast magnetic resonance imaging (MRI), also known as MRI mammography, and tissue biopsy which exhibit > 92% sensitivity. However, the MRI mammography is costly and leading to inaccessibility for many patients and the tissue biopsy is typically invasive. Recently, our previous study found the paracrine effect from breast cancer cells which can cause epigenetic change in the surrounding white blood cells.*

Objective : *This study therefore aimed to develop the breast cancer screening technique with high efficiency in blood samples.*

Methods : *The CU-discovered marker was discovered from breast cancer gene expression microarray (GSE27562, GSE31138 and GSE9014 from NCBI database) analysis, which demonstrated 262 up-regulated genes ($P = 2.62 \times 10^{-65}$, odd ratio = 1.39), compared with tissue microarray data (Protein Atlas). The white blood cells (WBC) from healthy females ($N > 100$) and the breast cancer females ($N > 100$) were separated from EDTA blood samples. Then immunofluorescence staining was performed in WBC with specific antibody against CU-discovered marker conjugated with secondary goat anti-rabbit-FITC. The WBC population was stained using antibody against a universal WBC antigen, anti-CD45, conjugated with secondary goat anti-mouse-Cy3.*

* Center for Excellence in Molecular Epigenetics of Cancer and Human Diseases, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

** Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Mahidol University

Results : *The results showed that the percentage of positive cells staining in breast cancer WBC (64.12 ± 3.04) was significantly higher than healthy female WBC (19.11 ± 1.42) ($P < 0.0001$). The positive fluorescent signals were detected and then classified into 2 groups depending on the fluorescent intensity including strong staining (8154.36 ± 1061.56 pixel/cell volume) and weak staining (6141.31 ± 1106.68 pixel/cell volume). The CU-discovered marker shows 97% sensitivity for breast cancer screening ($N > 200$) and 96% accuracy in double-blinded samples ($N > 50$).*

Conclusion : *This marker will be further optimized and developed for being a promising marker used in the near future.*

Keywords : *Breast cancer screening, immunofluorescence staining, white blood cells.*

เจริญชัย พุฒิปัญญาเลิศ, สกาวเดือน ยะสม, นครินทร์ กิตกำธร, อภิวัดน์ มุทิตรางกูร. ตัวบ่งชี้จำเพาะ CU-discovered marker เพื่อการตรวจหาผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมจากตัวอย่างเม็ดเลือดขาว. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 278 – 81

เหตุผลของการทำวิจัย : โรคมะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุการตายอันดับสองของผู้ป่วยหญิงทั่วโลก การตรวจพบเซลล์มะเร็งในระยะแรก ช่วยลดอัตราการตายและเพิ่มโอกาสในการรักษาให้แก่ผู้ป่วย ซึ่งวิธีที่นิยม และได้ผลการตรวจที่มีประสิทธิภาพคือ การทำเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ด้วย magnetic resonance imaging (MRI) และการทำ tissue biopsy ซึ่งมีความไวในการตรวจพบมากกว่าร้อยละ 92 อย่างไรก็ตามการตรวจด้วย MRI ยังมีราคาที่สูง และผู้ป่วยได้รับความเจ็บปวดจากการทำ tissue biopsy จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการของคณะผู้วิจัย พบว่าเซลล์มะเร็งเต้านมสามารถหลั่งสาร paracrine เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนของเซลล์ข้างเคียงเซลล์มะเร็งและในเม็ดเลือดขาวของระบบหมุนเวียนโลหิต โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงในระดับเหนือพันธุกรรม (epigenetics)

วัตถุประสงค์ : เพื่อพัฒนาตัวบ่งชี้จำเพาะที่สามารถตรวจหาโรคมะเร็งเต้านมได้โดยการตรวจจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย

วิธีการทำวิจัย : ตัวบ่งชี้จำเพาะที่ค้นพบ (CU-discovered marker) ค้นพบจากการศึกษาการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในโรคมะเร็งเต้านมจากฐานข้อมูล NCBI ประกอบด้วยชุดข้อมูล GSE27562, GSE31138 and GSE9014 ซึ่งพบว่ามีจำนวนยีนทั้งหมด 262 ยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 2.62 \times 10^{-65}$, odd ratio = 1.39) ในเนื้อเยื่อที่ถูกกระตุ้นจากเซลล์มะเร็งเต้านม แล้วจึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมจากฐานข้อมูล tissue microarray (Protein Atlas) โดยได้ทำการทดสอบในเม็ดเลือดขาวของผู้หญิงปกติ ($N > 100$) และผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ($N > 100$) ด้วยวิธีการย้อม immunofluorescence staining ซึ่งใช้ antibody จำเพาะกับ cu-discovered marker ที่เรืองแสงสีเขียวของ FITC

- ผลการศึกษา** : พบว่าจำนวนร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาว ที่มีการติดสี (percentage of positive cells staining) ของ antibody ที่จำเพาะกับ *cu-discovered marker* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม (64.12 ± 3.04) มีค่าสูงกว่าในผู้หญิงปกติ (19.11 ± 1.42) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$) ซึ่งการตรวจวัดการเรืองแสงในเซลล์ที่มีผลเป็นบวกนั้นได้แบ่งออกเป็นสองกลุ่มตามความเข้ม (intensity) การติดสี คือ กลุ่ม strong staining (8154.36 ± 1061.56 pixel/cell volume) และ weak staining (6141.31 ± 1106.68 pixel/cell volume) นอกจากนี้ *CU-discovered marker* มีความไว (sensitivity) ในการทดสอบร้อยละ 97 และ มีความแม่นยำร้อยละ 96 ในการทำ double blinded test ($N > 50$)
- สรุป** : ผลการศึกษาที่ค้นพบ *CU-discovered marker* ที่มีความไวและความจำเพาะสูง ในการตรวจหาผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จากตัวอย่างเลือด จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาตัวบ่งชี้นี้ ให้มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งเต้านมในอนาคต
- คำสำคัญ** : มะเร็งเต้านม, immunofluorescence, เม็ดเลือดขาว.

Effects of young coconut juice for prevention of cerebellar lobule atrophy

Kolip Payanglee*

Chayanit Yuenyong* Pitsinee Laipanngam*

Manasikarn Jindawong* Manutsanun Santiparadon*

Phnom Sukchan* Haifa Taemamu*

Kanokwalee Sukchai* Kamontip Manosan*

Wutthipong Suwannit* Nisaudah Radenahmad**

Payanglee K, Yuenyong C, Laipanngam P, Jindawong M, Santiparadon M, Sukchan P, Taemamu H, Sukchai K, Manosan K, Suwannit W, Radenahmad N. Effects of young coconut juice for prevention of cerebellar lobule atrophy. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 282 - 4

Background : *In postmenopausal women, decreasing levels of estrogen is associated with the loss of movement and motor coordination functions that are pivotal functions of the cerebellum. Estrogen replacement therapy improves movements and motor coordinating functions but can also increase the risk of other serious adverse effects.*

Objectives : *In the present study, we investigated the beneficial effects of young coconut juice (YCJ) for prevention of cerebellar lobule atrophy. Moreover, we investigated the optimal neuroprotective dose of YCJ for life-long consumption.*

Methods : *Eight months female Wistar rats were randomly divided into 7 groups (n = 76). These included baseline (Baseline), sham-operated (Sham), ovariectomized (Ovx), ovx receiving estradiol benzoate (Ovx + EB) and ovx receiving YCJ 10 (Ovx + YCJ10), 20 (Ovx + YCJ20), and 40 (Ovx + YCJ40) ml/kgBW/day, respectively. The rats were sacrificed and the hindbrains were removed, fixed and paraffin embedded for hematoxylin and eosin staining. The thickness of cerebellar lobule in the cerebellum were counted.*

* Faculty of Medicine, Princess of Naradhiwas University

**Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University

Results : *This study showed that the thickness of cerebellar lobule in the ovx rats and receiving YCJ 10 ml/kgBW/day were significantly higher than the baseline, Ovx and Ovx+EB groups but not significantly different from the sham group.*

Conclusion : *This preliminary study illustrated that feeding of YCJ at 10 ml/kgBW/day was the optimal neuroprotective dose to help prevent cerebellar lobule atrophy that involved movement and motor coordinating functions.*

Keywords : *Young coconut juice, cerebellar lobule, phytoesrogen, ovariectomy.*

คอลลีฟ ปะหยังหลี่, ชญานิชฐ์ ยืนยง, พิชญ์สินี ไหลพรรณงาม, มนสิการ จินดาวงศ์, มนัสนันท์ สันติภราดร, พนม สุขจันทร์, ฮัยฟาห์ แต่มามู, กนกวลี สุขไชย, กมลทิพย์ มะโนสันต์, วุฒิพงศ์ สุวรรณนิตย์, นิชาอุต๊ะห์ ระเด่นอาหมัด. ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะของ กลีบสมองน้อย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 282 - 4

เหตุผลของการทำวิจัย : สตรีวัยหมดประจำเดือนมีการลดลงของระดับเอสโตรเจน ซึ่งสัมพันธ์กับปัญหาในการเคลื่อนไหวและสหสัมพันธ์การเคลื่อนไหว ซึ่งเป็นหน้าที่หลักของสมองน้อย การได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์จะช่วยปรับปรุงการเคลื่อนไหวและสหสัมพันธ์การเคลื่อนไหวได้ แต่มีผลข้างเคียงมากมาย

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อน (YCJ) ต่อการป้องกันการฝ่อของ กลีบสมองน้อย รวมทั้งค้นหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ YCJ ที่ดื่มได้ในแต่ละวันเพื่อนำมาใช้ทดแทนฮอร์โมนสังเคราะห์

วิธีการทำวิจัย : หนูขาวเพศเมียอายุ 8 เดือน ทั้งหมด 76 ตัว ถูกแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มพื้นฐานที่การุณยฆาตก่อนเริ่มการทดลอง (Baseline), กลุ่มผ่าตัดเปิดหน้าท้องแต่ไม่เอารังไข่ (Sham), กลุ่มที่ถูกตัดรังไข่ออก (Ovx), กลุ่มที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับเอสโตรเจนสังเคราะห์ (Ovx+EB) และกลุ่มที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับ YCJ 10 (Ovx+YCJ10), 20 (Ovx+YCJ20) และ 40 (Ovx+YCJ40) ml/kgBW/day ตามลำดับ เมื่อครบ 10 สัปดาห์ ทำการุณยฆาตหนูและนำสมองส่วนหลังของหนูแช่ในน้ำยา凍แข็งเนื้อ ฝังย้อมด้วยเทคนิค hematoxylin และ eosin แล้ววัดความหนาของกลีบสมองน้อยที่ติดสีย้อมในสมองน้อย

ผลการศึกษา : จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความหนาของกลีบสมองน้อยของหนูที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับ YCJ ที่ความเข้มข้น 10 ml/kgBW/day หนากว่ากลุ่ม Baseline, Ovx และ Ovx+EB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม Sham

สรุป : การศึกษาเบื้องต้นนี้พบว่า การให้ YCJ 10 ml/kgBW/day เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดที่ช่วยป้องกันการฝ่อของกลีบสมองน้อย ซึ่งเป็นสมองส่วนที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวและสหสัมพันธ์การเคลื่อนไหว

คำสำคัญ : น้ำมะพร้าวอ่อน, กลีบสมองน้อย, ไฟโตเอสโตรเจน, การตัดรังไข่.

Brain region-specific sex steroid hormone receptor expression in aging female rats

Chattraporn Sawatdiyaphanon* Thiphakorn Poom-am*
Maneedao Kulchumpoo* Yuparat Budcha*
Narongrit Thongon* Siriporn Chamniansawat*

Sawatdiyaphanon C, Poom-am T, Kulchumpoo M, Budcha Y, Thongon N, Chamniansawat S. Brain region-specific sex steroid hormone receptor expression in aging female rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 285 - 7

Background : *Aging in females is considered as the end of natural protection against age related condition including memory impairment. Steroid hormones, including estrogens and androgens have long been known to play key roles in regulating learning and memory. The main function of these hormones is acting through its receptors to stimulate protein synthesis that regulates cellular process of memory formation. However, the mechanism of estrogen and androgen receptors involved in age-related memory impairment remains largely unknown.*

Objectives : *The present study aimed to demonstrate the expression of estrogen receptors (ER) both ER α and ER β and androgen receptor (AR) in the main important brain region, cerebral cortex and hippocampus, in aged-related memory impairment of female rats.*

Methods : *A total of 25 female virgin Sprague Dawley rats were grouped according to ages (n=5) as follows: 2 months, 5 months, 10 months, and 19 months. The spatial memory was assessed in the Morris water maze before sacrificing them for neurochemical analysis. The expression of ER α , ER β , AR, and β -amyloid were studied by Western blot.*

Results : *The results showed that 19-month-old (aged) rats exhibited spatial memory decline in the Morris water maze test as compared to younger rats. The expression of ER α and ER β was significantly decreased in both hippocampus and cerebral cortex of age than the younger group. Unlike, AR expression was significantly increased in aged group. Moreover, β -amyloid, a central feature of Alzheimer's disease development, was significantly increased in the aged than young rats.*

Conclusion : *These observations suggest that memory impairment in aged female rats is associated with decreased ER α and ER β but increased AR expression. These long-term changes in receptors expression may suggest a persistent alteration of mechanisms underlying β -amyloid-dependent memory impairment.*

Keywords : *Memory impairment, estrogen receptor, androgen receptor, aging brain.*

ฉัตรภารณ์ สวัสดิ์ภานนท์, ทิพากร พุ่มอ่ำ, มณีดาว กุลขุมภู, ยุภารัตน์ บุคชา, ณรงค์ฤทธิ์ ทองอ่อน, ศิริพร จำเนียรสวัสดิ์. การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเพศตามพื้นที่สมองหนูเพศเมียชรา. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มี.ย.; 62 (3): 285 - 7

เหตุผลของการทำวิจัย : ภาวะชราในเพศหญิงถือเป็นจุดสิ้นสุดของการปกป้องทางธรรมชาติต่อภาวะความจำเสื่อม สเต็มยรอยด์ฮอร์โมนได้แก่เอสโตรเจน และ แอนโดรเจน มีบทบาทสำคัญต่อการเรียนรู้และความจำ โดยทำงานผ่านการจับกับตัวรับเพื่อไปกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างความจำภายในเซลล์ อย่างไรก็ตาม กลไกการทำงานและความเกี่ยวข้องของตัวรับเอสโตรเจน และแอนโดรเจนที่เกี่ยวข้องกับภาวะความจำเสื่อมในสมองชราก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจน ทั้งชนิด α และ β และแอนโดรเจน ในซีรีบรัลคอร์เท็กซ์ และฮิปโปแคมปัส ของหนูแรทเพศเมียที่อายุต่างกัน

วิธีการทำวิจัย : หนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley จำนวน 25 ตัว แบ่งกลุ่มตามอายุ กลุ่มละ 5 ตัว จำนวน 4 กลุ่ม คือ อายุ 2 เดือน อายุ 5 เดือน อายุ 10 เดือน และ อายุ 19 เดือน นำไปทดสอบพฤติกรรมความจำได้ด้วยวิธี Morris water maze แล้วจึงนำสมองมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่อไป โดยทำการศึกษาการแสดงออกของ ตัวรับเอสโตรเจนชนิด α และ β ตัวรับแอนโดรเจน และ β -amyloid ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การพัฒนาโรคอัลไซเมอร์ ด้วยวิธี Western Blot

ผลการศึกษา : หนูชราที่อายุ 19 เดือน มีภาวะความจำเสื่อมเมื่อเทียบกับหนูอายุน้อยกว่า และมีการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจนทั้งชนิด α และ β ลดลงในฮิปโปแคมปัสและซีรีบรัลคอร์เท็กซ์ ซึ่งแตกต่างจากตัวรับแอนโดรเจน ที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในหนูชรา ทั้งในฮิปโปแคมปัสและซีรีบรัลคอร์เท็กซ์ นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของ β -amyloid สูงขึ้นในหนูชราที่มีความจำเสื่อมอีกด้วย

สรุป : หนูชราเพศเมียที่มีภาวะความจำเสื่อม มีการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจนลดลง ในขณะที่มีการเพิ่มขึ้นของตัวรับแอนโดรเจน และ β -amyloid ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของตัวรับอาจจะมีส่วนสนับสนุนการแสดงออกของ β -amyloid และสัมพันธ์กับภาวะความจำเสื่อมก็เป็นได้ ซึ่งต้องการการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ : ภาวะความจำเสื่อม, ตัวรับเอสโตรเจน, ตัวรับแอนโดรเจน, สมองชรา.

Cathepsin proteases in male reproductive tract of shrimp

Chompoonuch Sukonset* Piyaporn Surinlert**

Attaboon Wattammawut*** Monsicha Somrit*

Wattana Weerachayanukul* Somluk Asuvapongpatana*

Sukonset C, Surinlert P, Wattammawut A, Somrit M, Weerachayanukul W, Asuvapongpatana S. Cathepsin proteases in male reproductive tract of shrimp. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 288 - 9

Background : *Cathepsin (CAT) is an aspartic protease which is well-characterized as one of the lysosomal enzyme of somatic cells and the acrosomal system of male germ cells. In the male reproductive system, CAT has been localized in testis and epididymis of rat during these organs development. Here, we extended our studies in the expression of CAT in the reproductive tract of shrimp.*

Objectives : *This study aimed to investigate the expression of CAT in male reproductive tissues of shrimp.*

Methods : *CAT genes analysis was identified from transcriptome of gastrointestinal tract of shrimp. The primers were constructed following transcriptome sequences. The identification and comparison of sequences were analyzed with Clustal Omega analysis. The expression of CAT in reproductive tract tissues were determined by RNA-extraction following with RT-PCR.*

Results : *CAT was identified from transcriptome analysis of shrimp. CAT full length cDNA is 1,361 base pair which encode a polypeptide of 385 amino acid (aa) long including 15 aa of signal peptide at N-terminus. The predicted molecular weight of CAT is 42 kDA. The Clustal Omega analysis of CAT showed the highest similarity (88%) with other prawn.*

Conclusion : *CAT gene is found in male reproductive tract of shrimp as reported in rat.*

Keywords : *Cathepsin, gene expression, transcriptomes, reproductive tract, shrimp.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University** Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University

***Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

ชมพูนุท สกุลเศรษฐ์, ปิยะพร สุรินทร์เลิศ, อรรถบุญญ์ วัฒนธรรมาวุธ, มนสิชา สมฤทธิ,
วัฒนา วีรชาติยานุกูล, สมลักษณ์ อสุวพงษ์พัฒนา. เอนไซม์คาเทปซินในทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้
ของกุง. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 288 - 9

เหตุผลของการทำวิจัย : เอนไซม์คาเทปซิน (Cathepsin) อยู่ในกลุ่มเอนไซม์ชนิดแอสพาติกโปรตีเอส ถูกพบในไลโซโซมของเซลล์สิ่งมีชีวิตชนิดเซลล์ร่างกายและในถุงอะโครโซมของเซลล์อสุจิ ในระบบทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้ของหนูแรทมีรายงานการตรวจพบที่อวัยวะและอิมมูโนโพลีเมอร์ในกระบวนการพัฒนาของอวัยวะดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงศึกษาการแสดงออกของยีนเอนไซม์คาเทปซินในทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้ของกุง

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนคาเทปซิน ในทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้ของกุง

วิธีการทำวิจัย : ยีนของคาเทปซิน ถูกค้นพบจาก transcriptome ที่ได้มาจากทางเดินอาหารของกุง จากนั้นเปรียบเทียบลำดับยีนด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ Clustal Omega การศึกษาการมีอยู่ของคาเทปซินยีนโดยสกัดจากทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้ของกุง ใช้เทคนิค RT-PCR ในการเพิ่มจำนวนชุดของยีน โดยต้นแบบ (primers) ของยีนถูกออกแบบมาจาก transcriptome

ผลการศึกษา : จากการวิเคราะห์ลำดับของยีนคาเทปซินในกุงที่ปรากฏใน transcriptome พบว่ายีนของคาเทปซินประกอบด้วยคู่เบส จำนวน 1,361 คู่ ถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 385 ตัว และพบเปปไทด์หนึ่งยวนำจำนวน 15 ตัว ที่อยู่ทางด้าน N-terminus สามารถทำนายน้ำหนักโมเลกุลของคาเทปซินได้ 42 กิโลดัลตัน เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal Omega พบว่าลำดับของยีนมีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์อื่นถึงร้อยละ 88

สรุป : ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการมีอยู่ของยีนคาเทปซินในทางเดินสืบพันธุ์เพศผู้ของกุงเช่นเดียวกับที่พบในหนูแรท

คำสำคัญ : คาเทปซิน, การแสดงออกของยีน, transcriptome, ทางเดินสืบพันธุ์, กุง.

Sulfated galactans stimulates fibroblast activity *in vitro*

Choowadee Pariwatthanakun*

Tawut Rudtanatip** Kanokpan Wongprasert*

Pariwatthanakun C, Rudtanatip T, Wongprasert K. Sulfated galactans stimulates fibroblast activity *in vitro*. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 290 - 2

Background : *Aging is a biological process characterized by a decrease in cell function which may result in a gradual impairment of the regenerative properties of most tissues. Fibroblasts are critical in supporting normal regeneration process, involved in creating new extracellular matrix (ECM) including collagen, elastin, and proteoglycans. Sulfated galactans (SG) from red algae Gracilaria fisheri (G. fisheri) has heparin-like and proteoglycan-like structures that have been shown to stimulate ECM production of fibroblast.*

Objective : *The present study aimed to study whether the SG from G. Fisheri has effect on ECM production of normal fibroblast cells (L929).*

Methods : *SG at the concentrations ranging from 10-2,000 µg/ml was determined cytotoxicity on L929 cells by 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide tetrazolium reduction (MTT) assay. Scratch wound healing assay was performed to examine the fibroblast activity. L929 cells were grown in culture plates and wound scratch was performed, followed by treating the cells with different concentrations of SG (10, 50, 100 and 500 µg/ml). Wound closure was observed under a phase contrast microscope at different time points (6 h, 12 h and 24 h after wound scratch), and gap of wound closure was measured.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Results : *The result revealed that the tested concentrations of SG were not cytotoxic to L929 cells. Cells treated with various concentration of SG showed increased percentage of wound closure compared to control cells at every time points. qPCR analysis showed increased expressions of ColA1, ColA2, TIMP1, and TIMP2. In addition, SG increased collagen secretion from L929.*

Conclusion : *Collectively, the present results suggest that SG is capable of stimulating increased collagen production of fibroblast in vitro.*

Keywords : *Sulfated galactans, fibroblast, aging, collagen.*

ชวดี ปรวิฒนากุล, ทวธ รัตนทิพย์, กนกพรรณ วงศ์ประเสริฐ. สารสกัด sulfated galactans กระตุ้นการทำงานของไฟโบรบลาสต์ในหลอดทดลอง. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. – มิ.ย.; 62 (3): 290 – 2

- เหตุผลของการทำวิจัย** : ความชราเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่เซลล์มีการทำงานลดลง ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสมรรถภาพการฟื้นฟูของเนื้อเยื่อต่างๆ เซลล์ไฟโบรบลาสต์มีความสำคัญในการกระบวนการฟื้นฟูและการสร้าง extracellular matrix (ECM) เช่น คอลลาเจน อิลาสตินและโปรติโอไกลแคน จากการศึกษานี้เบื้องต้นพบว่าสารสกัด sulfated galactans (SG) จากสาหร่ายผมนาง *Gracilaria fisheri* (*G. fisheri*) มีโครงสร้างคล้ายกับเฮพารินและโปรติโอไกลแคนซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นการผลิต ECM ของไฟโบรบลาสต์ได้
- วัตถุประสงค์** : เพื่อทดสอบผลของสารสกัด SG ต่อการสร้าง ECM ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ (L929)
- วิธีการทำวิจัย** : ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด SG ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) -2, 5-diphenyltetrazolium bromide tetrazolium (MTT) และทำการศึกษากลยุทธ์ต่อการเคลื่อนที่เข้าหากันของไฟโบรบลาสต์โดยวิธี scratch wound healing assay โดยทำการเลี้ยงเซลล์ L929 บนจานเลี้ยงเซลล์ จากนั้นสร้างรอยแผลด้วยการขีด ตามด้วยการบ่มกับ SG ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 10, 50, 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ติดตามการปิดช่องรอยแผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่เวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง
- ผลการศึกษา** : ผลการทดลองพบว่า SG ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่เป็นพิษต่อเซลล์ L929 และเซลล์ที่บ่มกับ SG มีร้อยละการปิดแผลเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมตลอดเวลา โดยค่าแปรผันตามความเข้มข้นของ SG จากการศึกษากการแสดงออกของยีนด้วยวิธี qPCR พบว่า SG กระตุ้นการแสดงออกของยีน ColA1, ColA2, TIMP1 และ TIMP2 นอกจากนี้ยังพบว่า SG กระตุ้นการหลั่งคอลลาเจนของเซลล์ L929 ด้วย
- สรุป** : ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า SG สามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนของไฟโบรบลาสต์ในหลอดทดลองได้
- คำสำคัญ** : Sulfated galactans, ไฟโบรบลาสต์, ความชรา, คอลลาเจน.

Sulfated galactans from red alga *Gracilaria fisheri* increase haemocyte proliferation in common prawn *Palaemon serratus*

Tawut Rudtanatip* Sharon A. Lynch**

Sarah C. Culloty** Kanokpan Wongprasert***

Rudtanatip T, Lynch SA, Culloty SC, Wongprasert K. Sulfated galactans from red alga *Gracilaria fisheri* increase haemocyte proliferation in common prawn *Palaemon serratus*. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 293 - 5

Background : *Marine sulfated polysaccharides exhibit a variety of biological properties. Previous studies have shown that sulfated galactans (SG) extracted from red algae, Gracilaria fisheri (G. fisheri), induce immunostimulatory activity in Penaeus shrimp. Crustacean haemocytes play an important role in host immune function, including recognition, phagocytosis, melanization and cell-cell communication.*

Objectives : *In this study, the health effects of SG derived from G. fisheri were investigated for the first time in common prawn, Palaemon serratus (P. serratus).*

Methods : *The wild P. serratus (3.0 - 4.1 g and 7.0 - 7.8 cm) were collected from Lough Hyne Marine Nature Reserve, Co. Cork, Ireland, using mesh traps. In the laboratory, P. serratus were randomly divided into three groups, each with duplicates of 16. P. serratus being held in stand alone plastic aquaria (10 L) at a salinity of 34 in a constant temperature room (10 °C). The three groups consisted of, namely: Group 1, control P. serratus not exposed to SG; and Groups 2 and 3 consisting of shrimp exposed to SG at low (final concentration at 5 µg/ml) and high (final concentration at 50 µg/ml) doses. On days 3, 4, 5, 7 and 10 of the trial, three P. serratus (n = 16/tank) were arbitrarily selected from each tank to determining their total haemocyte counts.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Aquaculture and Fisheries Development Centre, School of Biological, Earth and Environmental Science and Environmental Research Institute, University College Cork, The Cooperage, Distillery Fields, North Mall, Cork, Ireland

***Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

Results : *This study revealed that *P. serratus* exposed to SG showed an increase in total haemocyte counts when compared to the control group. Total haemocyte counts were significantly higher in SG exposed groups compared to the control group quite early in the laboratory trial on days 3, 4 and 5 with dose-dependent manner.*

Conclusions : *These findings indicate that SG from *G. fisheri* has the potential to induce a host immune response in *P. serratus* with an increase in haemocyte proliferation; however, other immune parameters such as phagocytic activity, immune-related genes and proteins expression need further investigation.*

Keywords : *Sulfated galactans, *Gracilaria fisheri*, *Palaemon serratus*, haemocyte proliferation.*

ทวูธ รัตนทิพย์, Sharon A. Lynch, Sarah C. Culloty, กนกพรรณ วงศ์ประเสริฐ.
สารซัลเฟตกาแลคแตนจากสาหร่ายผสมนางเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดในกุ้ง *Palaemon serratus*.
จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 293 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : สารซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย การศึกษาก่อนหน้าพบว่าซัลเฟตกาแลคแตนจากสาหร่ายผสมนางมีฤทธิ์ กระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งตระกูล *Penaeus* เม็ดเลือดของสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน เช่น กระบวนการจดจำ และจับกิน เชื้อโรค การสร้าง melanin และเกิดปฏิสัมพันธ์กันระหว่างเซลล์

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลกระทบต่อสุขภาพของซัลเฟตกาแลคแตนจากสาหร่าย ผสมนางในกุ้ง *Palaemon serratus*

วิธีการทำวิจัย : นำกุ้ง *P. serratus* (น้ำหนัก 3.0 - 4.1 กรัม และขนาด 7.0 - 7.8 เซนติเมตร) จาก Lough Hyne Marine Nature Reserve, Co. Cork, ประเทศไอร์แลนด์ มาแบ่งเป็น 3 กลุ่ม (2 ซ้ำ) กลุ่มละ 16 ตัว เลี้ยงในบ่อพลาสติกความ เค็มน้ำ 34 ppt อุณหภูมิคงที่ (10 °C) โดยกลุ่ม 1 กุ้งกลุ่มควบคุม กลุ่ม 2 และ 3 กุ้งที่ได้รับสารซัลเฟตกาแลคแตนความเข้มข้นต่ำ (5 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร) และความเข้มข้นสูง (50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) วันที่ 3, 4, 5, 7 และ 10 ของการทดลอง เก็บตัวอย่างกุ้งมาศึกษาการเพิ่มจำนวน เม็ดเลือดของกุ้ง

ผลการศึกษา : ผลการศึกษาพบว่ากุ้งที่ได้รับสารซัลเฟตกาแลคแตนมีจำนวนเม็ดเลือด สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เม็ดเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกุ้ง กลุ่มที่ได้รับสารซัลเฟตกาแลคแตนในวันที่ 3, 4 และ 5 และเพิ่มขึ้นตาม ความเข้มข้น

สรุป : การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารซัลเฟตกาแลคแตนมีศักยภาพในการ กระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง *P. serratus* โดยเฉพาะกับการเพิ่มจำนวน เม็ดเลือดกุ้ง อย่างไรก็ตามความปัจจัยชีวิตระบบภูมิคุ้มกันอื่น ๆ เช่น กระบวนการ phagocytosis การแสดงออกของยีนและโปรตีนภูมิคุ้มกันใน กุ้ง *P. serratus* ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ : ซัลเฟตกาแลคแตน, สาหร่ายผสมนาง, *Palaemon serratus*, การเพิ่ม จำนวนเม็ดเลือด.

Expressions of embryonic and mesenchymal stem cell markers in normal human endometrium

Tanapan Siangcham* Chonlawit Sikarin*
 Nichamon Pingkul* Nuchchanard Suttatum*
 Phuettha Sangrut* Sujaree Imboonsu*
 Jaruwan Poljaroen** Sawaek Weerakiet***
 Yada Tingthanatikul*** Prasert Sobhon****

Siangcham T, Sikarin C, Pingkul N, Suttatum N, Sangrut P, Imboonsu S, Poljaroen J, Weerakiet S, Tingthanatikul Y, Sobhon P. Expressions of embryonic and mesenchymal stem cell markers in normal human endometrium. Chula Med J 2018 May – Jun; 62 (3): 296 - 9

Background : *Endometrium is a tissue with fast cell turn-over as the result of ongoing menstrual cycle. Thus, there should be stem cells which act as reserves to replenish these turned-over cells undergoing cyclical apoptosis and sloughing off from the endometrium. These cells could be embryonic-like stem cells or mesenchymal stem cells.*

Objectives : *This study aimed to identify the types of stem cells present in human normal endometrium by localizing and estimating the expressions of embryonic stem cells' markers and mesenchymal cells' markers in various layers and areas of endometrium from patients attending Ramathibodi Hospital's OBGYN Clinic who had adenomyoma together with normal endometrium (n = 10).*

Methods : *Specific antibodies against two embryonic stem cell markers, Anti-SOX2 and Anti-Oct-4, and mesenchymal stem cell markers, CD146, CD140b and SUSD2 (Abcam), were used to localize the corresponding antigens by immunohistochemistry; then, the numbers and percentages of positively stained cells were estimated.*

* Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

** Mahidol University, Nakhonsawan Campus

*** Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

**** Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

Results : *The results showed that in the functional layer of endometrium, SOX2 was detected in the stromal cells, uterine gland cells, and endothelial cells at 89.8, 95.7, and 0%, respectively. In addition, there was an expression of Oct-4 in the stromal cells, uterine gland cells, and endothelial cells at the value of 81.2, 86.2, and 33.3%, respectively, with statistically significant difference. In the basal layer, SOX2 was expressed in the uterine glands, stromal cells, and endothelial cells at the value of 90.6, 82.5, and 71.3%, respectively, with significant difference; whereas Oct-4 expression was detected in the endothelium, stromal, and uterine gland cells at 99.0, 81.3, 78.9%, respectively.*

Having used the antibodies against mesenchymal stem cells, it was found that in the functional layer the number of stained stromal, epithelial gland cells and endothelial cells with CD146 were 57.7, 61.07, and 79.8%, respectively. In addition, there was an expression of CD140b in the stromal cells, uterine gland cells, and endothelial cells at the value of 32.4, 25.15, and 73.7%, respectively; all these with statistically significant difference; whereas SUS2 expression was detected in the endothelium, stromal, and uterine gland cells at 49.25, 63.0, 80.9%, respectively.

Conclusion : *There was no discrete embryonic of mesenchymal stem cells which contained only group-specific markers, rather both groups of markers were expressed in all three types of cells with the highest expression in the stromal cells and the lowest expression in the endothelial cells. The stained cells also tend to be more numerous in the basal layer than in functional layer. Thus, we conclude that the degree of stem cells is maintained throughout all the three cell types, and the stromal cells are more likely to be the most numerous and the least committed cells that are maintained in the large pool of reserve stem cells in the endometrium.*

Keywords : *Endometrium, embryonic stem cells, SOX2, Oct-4, mesenchymal stem cells, CD146, CD140b, SUS2.*

ธนพรรณ เสียงแจ่ม, ชลวิษณุ ศิขรินทร์, ณิชมน ปิงกุล, นุชนาถ สุตธรรม, พงศา แสงรัตน์, สุจารี อัมบุญสุ, จารุวรรณ ผลเจริญ, เสวก วีระเกียรติ, ญาดา ตังธนาธิกุล, ประเสริฐ โศภน. การศึกษาการแสดงออกของเครื่องหมายเซลล์ต้นกำเนิดชนิดตัวอ่อนและมีเซนไคม์ ในเยื่อโพรงมดลูกปกติ. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มี.ย.;62(3): 296 - 9

- เหตุผลของการทำวิจัย** : เยื่อโพรงมดลูกเป็นเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์อย่างรวดเร็วแปรผันตามรอบของการมีประจำเดือน ดังนั้นเซลล์ต้นกำเนิดหรือสเต็มเซลล์จึงเป็นเซลล์ที่มีความสำคัญในการคงอยู่ เพื่อสร้างทดแทนในกรณีที่เกิดการตายหรือมีการหลุดลอกของเซลล์ ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดดังกล่าวนี้ น่าจะมีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิดตัวอ่อนหรือมีเซนไคม์
- วัตถุประสงค์** : เพื่อตรวจสอบชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดที่พบในเยื่อโพรงมดลูกปกติ โดยการย้อมด้วยเครื่องหมายเซลล์ต้นกำเนิดชนิดตัวอ่อนและมีเซนไคม์ ในชั้นต่าง ๆ ของเยื่อโพรงมดลูกที่ได้รับจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ โดยผู้ป่วยดังกล่าว (จำนวน 10 ราย) ถูกวินิจฉัยว่าพบ adenomyoma แต่ยังคงมีเยื่อโพรงมดลูกที่ปกติ
- วิธีการทำวิจัย** : ทำการศึกษาโดยใช้วิธี immunohistochemistry ด้วยการใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดชนิดตัวอ่อน ได้แก่ SOX2 และ Oct-4 และใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ ได้แก่ CD146, CD140b และ SUSD2 (Abcam) เพื่อดูปริมาณการย้อมติดในเซลล์ชนิดต่าง ๆ ของเยื่อโพรงมดลูก จากนั้นแสดงผลในรูปแบบของรอยละการย้อมติดสีดังกล่าว
- ผลการศึกษา** : ชั้น functional layer ของเยื่อโพรงมดลูก พบระดับของ SOX2 ที่ stromal cells, uterine gland cells และ endothelial cells เป็นร้อยละ 48.4, 51.6 และ 0 ตามลำดับ และพบการแสดงออกของ Oct-4 ที่ stromal cells, uterine gland cells และ endothelial cells มีระดับที่ 40.5, 42.9 และ ร้อยละ 16.6 ตามลำดับที่ชั้น basal layer พบ SOX2 ที่ uterine gland cells, stromal cells และ endothelial cells ที่ระดับ 37.1, 33.8 และร้อยละ 29.1 ตามลำดับ ในขณะที่พบระดับของ Oct-4 ใน endothelial cells, stromal cells และ uterine gland cells ที่ระดับ 38.2, 31.4 และร้อยละ 30.4 ตามลำดับเมื่อวิเคราะห์ปริมาณของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ พบว่าที่ชั้น functional layer มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติด CD146 ที่ stromal cells, uterine gland cells และ endothelial cells เป็นจำนวนร้อยละ 29.0, 30.8 และ 40.2 ตามลำดับ และพบการแสดงออกของ CD140b ใน stromal cells, uterine gland cells และ endothelial cells ที่ระดับ ร้อยละ 24.8, 19.0 และ 56.2 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับการแสดงออกของ SUSD4 พบที่ stromal cells, endothelial cells และ uterine gland cells มีปริมาณร้อยละ 25.6, 32.6 และ 41.8 ตามลำดับ

สรุป : จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ไม่มีกลุ่มของเซลล์ที่เฉพาะเจาะจงต่อเครื่องหมายเซลล์ต้นกำเนิดทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตาม พบว่า มีการแสดงออกของเครื่องหมายเซลล์ทั้งสองกลุ่มในเซลล์ทั้งสามชนิดของชั้นเยื่อบุโพรงมดลูก ซึ่งพบปริมาณมากที่ stromal cells และพบน้อยที่ endothelial cells ซึ่งพบว่าที่ชั้น basal layer มีปริมาณเซลล์ที่ติดสีมากกว่า จึงสรุปได้ว่าระดับของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิด พบได้ในเซลล์ทั้งสามชนิด ซึ่ง stromal cells มีแนวโน้มในการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมากกว่า ในขณะที่พบ committed cells น้อยกว่า ซึ่งช่วยในการรักษาระดับของการเจริญของเซลล์ในชั้นต่าง ๆ ของเยื่อบุโพรงมดลูกได้

คำสำคัญ : เยื่อบุโพรงมดลูก, เซลล์ต้นกำเนิดชนิดตัวอ่อน, SOX2, Oct-4, เซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์, CD146, CD140b, SUSD2.

Sulfated galactans induced increased expression of anti-angiogenic isoform (VEGF_{xxx} b) of vascular endothelial growth factor in cancer cells

Thannicha Sae-Lao*

David O. Bates** Kanokpan Wongprasert***

Sae-Lao T, Bates DO, Wongprasert K. Sulfated galactans induced increased expression of anti-angiogenic isoform (VEGF_{xxx} b) of vascular endothelial growth factor in cancer cells. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 300 - 2

Background : Recently, sulfated galactans (SG) has been isolated from red seaweed *Gracilaria fisheri* (*G. fisheri*) and has shown to inhibit proliferation and migration of cholangiocarcinoma cells. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a key regulator of tumor angiogenesis and metastasis. Alternative splicing of VEGF results in the production of several VEGF isoforms with different functions which are pro-angiogenic VEGF_{xxx} a isoforms and anti-angiogenic VEGF_{xxx} b isoforms. An upregulation of the pro-angiogenic VEGF_{xxx} a and a drop in VEGF_{xxx} b has been widely reported in human tumors.

Objectives : This study aimed to evaluate the anti-angiogenic activity of SG by determining the expression of VEGF in two cancer cell lines including cholangiocarcinoma cells, HuCCA-1 and colorectal carcinoma cells, HCT116.

Methods : Cells were treated with different concentrations of SG (0, 10, 20, 50 and 100 µg/ml) for 24 h, then protein and RNA extracted. Expressions of VEGF both pro-angiogenic and anti-angiogenic isoforms were determined using VEGF-enzyme-linked immunosorbent assay (VEGF-ELISA) and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR).

* Faculty of Medicine, Siam University, Bangkok

** Cancer Biology, Division of Cancer and Stem Cells, University of Nottingham, Queen Medical Centre, Nottingham, United Kingdom

***Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

Results : *The results revealed that both cancer cell lines treatment with SG showed decreased expression of VEGF_{xxx} a, and increased expression of VEGF_{xxx} b, compared to untreated cells.*

Conclusion : *The results suggest that SG induced increased expression of anti-angiogenic isoform VEGF_{xxx} b possibly led to decreased angiogenic activity of the cancer cells.*

Keywords : *Angiogenesis, cholangiocarcinoma cells, human colorectal carcinoma, sulfated galactans, vascular endothelial growth factor.*

ธัญนิชา แซ่เล่า, เดวิด เบท, กนกพรณ วงศ์ประเสริฐ. สารสกัด sulfated galactans กระตุ้นการแสดงออกของ vascular endothelial growth factor กลุ่มต้านการสร้างหลอดเลือดในเซลล์มะเร็ง. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 300 – 2

เหตุผลของการทำวิจัย : จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัด sulfated galactans (SG) จากสาหร่ายผสมนางมีฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ตัวกระตุ้นสำคัญในการสร้างหลอดเลือดใหม่และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งคือ vascular endothelial growth factor (VEGF) มีรายงานการเกิด alternative splicing ของ VEGF ทำให้ได้ VEGF หลากหลาย isoforms ที่มีหน้าที่แตกต่างกัน คือกลุ่มกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ VEGF_{xxx} a isoforms และกลุ่มต้านการสร้างหลอดเลือดใหม่ VEGF_{xxx} b isoforms นอกจากนี้พบผู้ช่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ มีการแสดงออกของ VEGF_{xxx} a มากขึ้นในขณะที่การแสดงออกของ VEGF_{xxx} b ลดลง

วัตถุประสงค์ : เพื่อตรวจสอบผลของ SG ที่สกัดจากสาหร่ายผสมนางในการต้านการสร้างหลอดเลือดใหม่ โดยศึกษาการแสดงออก VEGF ในเซลล์มะเร็ง 2 ชนิดคือ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งลำไส้

วิธีการทำวิจัย : ทำการทดลองโดยบ่มเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและเซลล์มะเร็งลำไส้กับสาร SG ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 10, 20, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดโปรตีนและอาร์เอ็นเอจากเซลล์นำมาตรวจวัดการแสดงออกของ VEGF_{xxx} a isoforms และ VEGF_{xxx} b isoforms ด้วยวิธี VEGF-enzyme-linked immunosorbent assay (VEGF-ELISA) และ quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction

ผลการศึกษา : ผลการทดลองพบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งลำไส้ที่ได้รับสาร SG มีการลดการแสดงออกของ VEGF_{xxx} a และเพิ่มการแสดงออกของ VEGF_{xxx} b เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสาร SG

สรุป : ผลการทดลองดังกล่าวบ่งชี้ว่าสาร SG เหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของ โปรตีน VEGF_{xxx} b ซึ่งอาจนำไปสู่การลดการสร้างหลอดเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็งได้

คำสำคัญ : การสร้างหลอดเลือดใหม่, มะเร็งท่อน้ำดี, มะเร็งลำไส้, sulfated galactans, vascular endothelial growth factor.

Localization and changes of tyrosine phosphorylated proteins and β -actin in epididymis of rats treated with valproic acid

Tarinee Sawatpanich*

Supatcharee Arun*,** Saranya Tongpan*

Amnart Chaichun* Apichakarn Sampannang*

Wannisa Sukhorum*** Chanwit Maneenin****

Jaturon Burawat**** Sitthichai Iamsaard*,**

Sawatpanich T, Arun S, Tongpan S, Chaichun A, Sampannang A, Sukhorum W, Maneenin C, Burawat J, Iamsaard S. Localization and changes of tyrosine phosphorylated proteins and β -actin in epididymis of rats treated with valproic acid. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 303 - 5

Background : Tyrosine phosphorylated proteins have been localized and identified in male reproductive tissues such as testis and capacitated / acrosome reacted sperm, except the epididymis. Changes of such proteins are associated with decreased sperm quality under valproic acid (VPA) treatment.

Objectives : This study aimed to investigate the presence and alterations of protein phosphorylation in epididymal epithelium and fluid of rats treated with VPA.

Methods : Sixteen adult male rats were divided into control and VPA-treated groups ($n = 8/$ each). Treated rats were injected with VPA (500 mg/ kgBW, intraperitoneally) for 10 consecutive days. At the end of experiment, the monoclonal anti-phosphotyrosine (clone 4G10) was used for immunohistochemistry to probe tyrosine phosphorylated proteins and also to examine the expression of such proteins using Western blotting in epididymal tissues and fluids.

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Center for Research and Development of Herbal Health Product, Faculty of Pharmaceutical Sciences

*** School of Medicine, Mae Fah Luang University

**** College of Medicine and Public Health, Ubon Ratchathani University

Results : *The results showed that positive reactivity of phosphorylated proteins was clearly observed in cytoplasmic principle cells, nuclei of apical & basal cells and sperm mass surrounded with epididymal fluids. The profiles of phosphorylated proteins in epididymal fluid were 182, 127, 80, 70, 57, 45, 34, and 31 kDas, respectively. Interestingly, VPA affected the changes of phosphorylated proteins and beta-actin in the head, body, and tail epididymal fluids.*

Conclusion : *We conclude that tyrosine phosphorylated proteins were detected in epididymal epithelium and fluid. Expressions of these proteins and actin were altered under VPA treating.*

Keywords : *Localization, beta actin, tyrosine phosphorylated proteins, epididymal fluid.*

ธาริณี สวัสดิ์พาณิชย์, สุภัจฉรี อรัญ, ศรัญญา ทองพันธ์, อำนาจ ไชยขุน, อภิจกรรจ์ สัมปัญนัง, วรรณิศา สุโขรัมย์, ชาญวิทย์ มณีนิล, จาตุรนต์ บุรวัฒน์, สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด. การระบุตำแหน่งและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟสและบีต้าแอกติน ในถุงเก็บอสุจิของหนูที่ได้รับกรดแวลโพรอิก. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 303 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : โปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟส (tyrosine phosphorylated proteins) พบในเนื้อเยื่อของระบบสืบพันธุ์เพศชาย เช่น อัณฑะ และอสุจิในกระบวนการคาปาซิเทชั่นและอะโครโซมรีแอคชั่น แต่ยังไม่เคยมีการค้นพบโปรตีนกลุ่มนี้ในถุงเก็บอสุจิและพบว่า การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าวสัมพันธ์กับอสุจิที่คุณภาพต่ำในการได้รับกรดแวลโพรอิก (Valproic acid; VPA)

วัตถุประสงค์ : เพื่อระบุตำแหน่งและศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟส ในเนื้อเยื่อและสารคัดหลั่งจากถุงเก็บอสุจิของหนูที่ได้รับกรดแวลโพรอิก

วิธีการทำวิจัย : การทดลองได้แบ่งหนูเพศผู้ ออกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ได้แก่ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ VPA (500 มก./กก. ของน้ำหนักตัวโดยฉีดเข้าทางเยื่อช่องท้อง) เป็นเวลา 10 วัน แล้วนำเนื้อเยื่อและสารคัดหลั่งจากถุงเก็บอสุจิมาศึกษาโดยวิธี immunohistochemistry และ Western blotting ด้วย monoclonal anti-phosphotyrosine (clone4G10)

ผลการศึกษา : พบว่ามี phosphorylated proteins ปรากฏชัดเจนที่บริเวณ apical cytoplasm ของ principle cells รวมถึง ที่ nuclei ของ apical และ basal cells และที่ sperm mass การแสดงออกของโปรตีนเหล่านี้ในสารคัดหลั่ง ได้แก่ 182, 127, 80, 70, 57, 45, 34 และ 31 kDas ตามลำดับ เป็นที่น่าสนใจว่ากลุ่มที่ได้รับสาร VPA มีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟสและบีต้าแอกตินที่แตกต่างกันในส่วนหัว ส่วนตัว และ ส่วนหางของถุงเก็บอสุจิ

สรุป : โปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟส พบในเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์และสารคัดหลั่งของถุงเก็บอสุจิ การแสดงออกของโปรตีนเหล่านี้และแอกตินจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อได้รับสาร VPA

คำสำคัญ : การระบุตำแหน่ง, บีต้า แอกติน, โปรตีนไทโรซีนที่เติมหมู่ฟอสเฟส, สารคัดหลั่งจากถุงเก็บอสุจิ.

Active-based learning significantly promotes lecture-based teaching as solution of upper extremity clinical questions

Chittipong Tipbunjong*

Jongdee Nopparat* Supita Tanasawet*

Tulaporn Wongtawatchai* Jirawat Saetan*

Tipbunjong C, Nopparat J, Tanasawet S, Wongtawatchai T, Saetan J. Active-based learning significantly promotes lecture-based teaching as solution of upper extremity clinical questions. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 306 - 8

Background : *Learning efficiency of the students has been based on both passive and active activities.*

Objective : *This study aimed to elucidate the effectiveness of using combined active- based learning and lecture-based teaching on students' ability in solving clinical questions in anatomy.*

Methods : *The topic of upper limb was taught by lecture-based method to 128 Traditional Thai Medical students without adding clinical knowledge into the lecture. A week later, the pre-test containing clinical questions was given to the students. Thereafter, three clinical cases on the upper limbs, i.e., carpal tunnel syndrome, ulnar and radial nerve compressions, were assigned to seven groups of students ($n = 18 - 19$) for self-directed learning for 7 days. Then, all the groups were asked to present what they have actively learned and discussed with others in front of the class. Immediately, without being previously informed, all students were again asked to do the same questions and in this step, it is defined as post-test.*

Results : *Our results showed that the average score of post-test (5.13 ± 2.09) was higher than that of pre-test (3.44 ± 1.64). The score distribution curve of pre-test showed the high peak and was shifted to the left side while those of post-test showed normal flat bell-shaped distribution. Most students (69.49%) significantly gained higher post-test scores while other attained the same or lower score (11.02 and 19.49%, respectively). Considering the grade point of each student, this combined learning method was suitable only for students those invested A-C+ grades while the others receiving C-E grades showed no improvement. The questionnaire reflected that nearly all (96.87%) were satisfied with this combined learning and the teaching methods. They accepted the importance of active-based learning as it can greatly help understanding anatomy of the upper limbs (94.52%).*

Conclusion : *This study indicated the success of combined learning of passive and active methods in the course of anatomy.*

Keywords : *Active-based learning, lecture-based teaching, upper limb.*

ชิตติพงษ์ ทิพบรรจง, จงดี นพรัตน์, ศุภิตา ธนะเศวตร, ตฤลาภรณ์ ว่องธวัชชัย, จิรวัดน์ แซ่ตัน.
การเพิ่มศักยภาพการสอนแบบ lecture ด้วยการเรียนแบบ active ในการแก้โจทย์ปัญหาทาง
คลินิกของระยางค์บน. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 306 – 8

เหตุผลของการทำวิจัย : ประสิทธิภาพการเรียนรู้ของนักศึกษา ขึ้นอยู่กับกิจกรรมการเรียนรู้แบบทั้ง
active และ passive

วัตถุประสงค์ : เพื่อมุ่งเน้นศึกษาประสิทธิภาพของการเรียนรู้แบบผสมผสานระหว่าง
active และ lecture ของนักศึกษาในการแก้โจทย์ปัญหาทางคลินิก
เชิงกายวิภาค

วิธีการทำวิจัย : การสอนแบบ lecture ในหัวข้อเรื่องระยางค์บน ที่ไม่รวมเนื้อหาทางคลินิก
ได้นำมาใช้กับนักศึกษาแพทย์แผนไทย จำนวน 128 ราย หลังการสอน
หนึ่งสัปดาห์ นักศึกษาได้ทำข้อสอบ pre-test ซึ่งต้องใช้ความรู้ทาง
คลินิก จากนั้น ผู้สอนได้มอบหมายกรณีศึกษา เพื่อให้ให้นักศึกษาได้เรียนรู้
ด้วยตนเอง ซึ่งประกอบด้วยเรื่อง Carpal Tunnel Syndrome และ Ulnar
and Radial Nerve Compressions โดยแบ่งนักศึกษาออกเป็น 7 กลุ่ม ๆ
ละ 18 - 19 ราย ให้เรียนรู้ด้วยตนเองเป็นเวลา 7 วัน จากนั้น นักศึกษาทุก
กลุ่มนำเสนอข้อมูลที่ได้เรียนรู้หน้าชั้นเรียน รวมทั้งวิจารณ์ผลร่วมกัน
และทำข้อสอบ post-test โดยไม่ได้แจ้งให้ทราบล่วงหน้าก่อน และคำถาม
ในข้อสอบ pre-test และ post-test เป็นชุดเดียวกัน

ผลการศึกษา : ผลการศึกษาพบว่า คะแนนเฉลี่ย post-test (5.13 ± 2.09 คะแนน)
ของนักศึกษามีค่ามากกว่าคะแนนเฉลี่ย pre-test (3.44 ± 1.64 คะแนน)
การกระจายตัวของคะแนน pre-test มีลักษณะยอดสูง ฐานแคบและเบ
ไปทางซ้าย ขณะที่คะแนนของ post-test กระจายตัวแบบปกติใน
ลักษณะระฆังคว่ำเตี้ย นักศึกษาส่วนใหญ่ (ร้อยละ 69.49) มีคะแนน post-
test มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่บางส่วนได้คะแนนคงที่หรือลดลง
(ร้อยละ 11.02 และ ร้อยละ 19.49) เมื่อเทียบกับคะแนน pre-test
และเมื่อพิจารณาจากเกรดที่นักศึกษาได้รับพบว่า การเรียนรู้แบบ
ผสมผสานระหว่าง active และ lecture เหมาะสมกับนักศึกษาที่ได้เกรด A
ถึง C+ ขณะที่นักศึกษาที่ได้เกรด C ถึง E ไม่พบการพัฒนาของคะแนน
จากการทำแบบสอบถามพบว่า นักศึกษาส่วนใหญ่ (ร้อยละ 96.87)
มีความพึงพอใจกับการเรียนรู้แบบผสมผสานนี้ และร้อยละ 94.52
เล็งเห็นความสำคัญของการเรียนรู้แบบ active เพื่อเพิ่มความเข้าใจใน
เนื้อหากายวิภาคของระยางค์บน

สรุป : การศึกษาครั้งนี้ได้แสดงถึงความสำเร็จในการผสมผสานการเรียนรู้แบบ
active และ passive สำหรับการเรียนการสอนวิชากายวิภาคศาสตร์

คำสำคัญ : การเรียนรู้แบบ active, การสอนแบบ lecture, ระยางค์บน.

Lifespan extension by saponin-enriched extracts from *Holothuria leucospilota* requires insulin/IGF signaling pathway in *Caenorhabditis elegans*

Thitinan Kitisin* Prapaporn Jattujan*

Worawit Suphamungmee* Krai Meemon*

Kitisin T, Jattujan P, Suphamungmee W, Meemon K. Lifespan extension by saponin-enriched extracts from *Holothuria leucospilota* requires insulin/IGF signaling pathway in *Caenorhabditis elegans*. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 309 - 12

Background : *Aging is an inevitable and naturally progress of becoming older in almost all organisms including human. To promote health and delay aging, dietary intervention appears more feasible, practical, and efficient method when compared with genetic alteration approach. Recent studies suggested that saponin-enriched extracts from Holothuroidea spp. exhibit neuro-protective effects with anti-oxidant properties in Caenorhabditis elegans model of neuro-degenerative diseases. However, little is known whether and how saponin-enriched extracts from Holothuria leucospilota can delay and prolong the lifespan of the whole organism.*

Objectives : *Therefore, this study aimed to investigate anti-aging effects of saponin-enriched extracts from H. leucospilota on C. elegans.*

Methods : *In vivo supplementations of the diet with crude body wall solvent extracts of H. leucospilota including body wall-ethanol (BW-ET) and body wall-butanol (BW-BU) were performed in wild-type C. elegans to determine lifespan extension, stress resistance, and aging biomarkers. Moreover, mutants (loss-of-function) of C. elegans and qRT-PCR were used to determine genetic requirements for lifespan extension. Fluorescence imaging was used to determine an influence of nuclear translocation of DAF-16 by crude body wall-extracts of H. leucospilota.*

Results : *BW-ET and BW-BU fractions (at 500 µg/ml) of H. leucospilota extracts significantly increased the lifespan of C. elegans. Both fractions also increased stress resistance of C. elegans to oxidative stress, heat shock, and ultraviolet radiation. Treatment with BW-BU also reduced the lipofuscins accumulation. Modulation of lifespan extension induced by BW extracts required insulin/IGF signaling pathway involving AGE-1, DAF-16, SIR-2.1, JNK-1, and up-regulation of DAF-16 target genes. Furthermore, BW-BU treatment promoted nuclear localization of DAF-16: GFP in nematodes.*

Conclusion : *Thus, this study provides the anti-aging property of crude body wall solvent-extracts of H. leucospilota and elucidate mechanisms underlying longevity in vivo.*

Keywords : *Holothuria leucospilota, longevity, aging intervention, Caenorhabditis elegans.*

ธิดินันท์ กิตติสิน, ประภาภรณ์ จัตูจันทร์, วรวิทย์ ศุภมังมี, ไกร มีมล. การยืดอายุโดยสารสกัดชาไปนินจากปลิงดำ (*Holothuria leucospilota*) อาศัยการสื่อสารผ่าน Insulin/IGF ในหนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans*. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 309 - 12

เหตุผลของการทำวิจัย : ความชราเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้และเป็นเหตุการณ์ธรรมชาติในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิดรวมทั้งมนุษย์ การเสริมสร้างทางโภชนาการเป็นวิธีหนึ่งที่จะลดความชราได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับวิธีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากปลิงทะเล *Holothuroidea* spp. ช่วยด้วยสารชาไปนิน ที่มีฤทธิ์ในการป้องกันระบบประสาทและสามารถต้านอนุมูลอิสระในแบบจำลองหนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans* ของโรคความเสื่อมของระบบประสาทได้อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงฤทธิ์ของสารสกัดชาไปนินจากปลิงดำ (*Holothuria leucospilota*) ในการชะลอและยืดอายุในสิ่งมีชีวิต

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านความชราของสารสกัดชาไปนินจากปลิงดำ (*H. leucospilota*) ในแบบจำลองหนอนตัวกลม *C. elegans*

วิธีการทำวิจัย : หนอนตัวกลม *C. elegans* ถูกเลี้ยงด้วยสารสกัดชาไปนินที่สกัดด้วยสารละลายอินทรีย์จากผนังลำตัวของปลิงดำ (*H. leucospilota*) 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดเอทานอล (BW-ET) และ สารสกัดบิวทานอล (BW-BU) เพื่อตรวจประเมินการยืดอายุ ความต้านทานต่อความเครียด และตัวชี้วัดทางชีวภาพต่อความชรา นอกจากนี้ยังใช้หนอนตัวกลมกลายพันธุ์ (*loss-of-function*) ของ *C. elegans* และ การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธีศึกษาปฏิกิริยาถูกใช้โพลีไมเอสซันชนิดเรียลไทม์ (qRT-PCR) เพื่อหาข้อกำหนดทางพันธุกรรมสำหรับการยืดอายุของ *C. elegans* รวมถึง การศึกษาการเคลื่อนที่ของโปรตีนเรืองแสง DAF-16 เข้าสู่นิวเคลียสอันเป็นผลจากสารสกัดผนังลำตัวของ *H. leucospilota*

ผลการศึกษา : สารสกัดชาไปนินที่สกัดด้วยสารละลายอินทรีย์จากผนังลำตัวของปลิงดำ (*H. leucospilota*) ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดเอทานอล (BW-ET) และ สารสกัดบิวทานอล (BW-BU) ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร สามารถเพิ่มอายุหนอนตัวกลมและความต้านทานต่อความเครียดจากการอนุมูลอิสระ ความร้อน และรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ นอกจากนี้การรักษาด้วยสารสกัด BW-BU ช่วยลดการสะสมของเม็ดสี lipofuscins

ในหนอนตัวกลม *C. elegans* ซึ่งความสามารถต่อต้านความเสื่อมชราของสารสกัดปลิงดำจำเป็นต้องอาศัยการสื่อสารสัญญาณผ่าน Insulin/IGF และโปรตีนเกี่ยวข้อง ได้แก่ AGE-1, DAF-16, SIR-2.1, JNK-1 รวมถึงการเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้การบำบัดด้วย BW-BU ยังเพิ่มการสะสมของโปรตีน DAF-16 : GFP ภายในนิวเคลียสของหนอนตัวกลม *C. elegans* อีกด้วย

สรุป : การศึกษานี้สามารถแสดงถึงคุณสมบัติสารสกัดชาไปนินจากปลิงดำในการต่อต้านความเสื่อมชรา และแสดงถึงกลไกต่อต้านความเสื่อมชราในระดับโมเลกุล ในแบบจำลองหนอนตัวกลม

คำสำคัญ : ปลิงดำ, การยืดอายุ, การต่อต้านความเสื่อมชรา, หนอนตัวกลม.

Molecular cloning and characteriation of Thioredoxin-like protein from *Fasciola gigantica*

Narin Changklungmoa* Pornanan Kueakhai*

Laphatrada Yurasakpong* Kant Sangpairoj**

Thanaporn Thanasinpaiboon* Somjai Apisawetakan***

Prasert Sobhon*** Kulathida Chaithirayanon**

Changklungmoa N, Kueakhai P, Yurasakpong L, Sangpairoj K, Thanasinpaiboon T, Apisawetakan S, Sobhon P, Chaithirayanon K. Molecular cloning and characteriation of Thioredoxin-like protein from *Fasciola gigantica*. Chula Med J 2018 May – Jun;62(3) 313 - 5

Background : *In the tropical region, Fasciola gigantica is the trematode liver fluke that causes fasciolosis in cattle and accidental human. Accumulating reports showed that activity of anti-oxidant enzymes and non-enzymatic are reduced in parasite-infected animals, leading to generation of free radicals which impair cellular metabolism of the host. Furthermore, the parasites could develop the host's immune evasion by antioxidant enzymes. Aiming to facilitate the elimination of parasites, antioxidant enzymes could be cloned and characterized.*

Objective : *The purpose of this study was to clone and characterize the thioredoxin-like protein from adult F. gigantica*

Methods : *Thioredoxin-like protein (FgTXNDC17) was cloned by immunoscreening of adult F. gigantica cDNA library using rabbit immune serum against tegumental antigens. The amino acid sequence of thioredoxin-like protein was analyzed by bioinformatics tools. The expression of this gene was performed by in situ hybridization.*

* Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

** Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

*** Department of Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University

**** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

Results : The FgTXNDC17 contained 689 base-pairs with 168 putative amino acids of open reading frame. It has a highly conserved WCPDC motif with two active-site Cys residues. Phylogenetic analysis performed by PAUP 4.0 program showed that FgTXNDC17 was most highly related to the *Schistosoma japonicum*. The mRNA expression of FgTXNDC17 gene was found in the caecal epithelial cells along the digestive tract of adult *F. gigantica*.

Conclusion : FgTXNDC17 expressed in the caecum's parasite which might be involved with the digestive function. Thus, further explorations, including its activity and vaccine should be assessed to evaluate for their therapeutic potential against fasciolosis.

Keywords : *Fasciola gigantica*, anti-oxidant enzymes, thioredoxin-like protein.

นรินทร์ ช่างกลึงเหมาะ, พรอนันต์ เกื้อไข, ลภัสรดา ยूरศักดิ์พงศ์, กานต์ แสงไฟโรจน์, ธนภรณ์ ธนะสินไพบูลย์, สมใจ อภิเศกตกานต์, ประเสริฐ ใศภน, กุลธิดา ชัยธีระยานนท์. การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของยีน Thioredoxin-like protein จากพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica*. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.;62(3): 313 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : พยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* เป็นสาเหตุของโรคพยาธิใบไม้ตับ (Fasciolosis) ในปศุสัตว์ในภูมิภาคเขตร้อน และติดเชื้อในมนุษย์ได้ รายงานการศึกษาพบว่าการทำงานสารต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์ และไม่ใช่เอนไซม์ลดลงในสัตว์ที่ติดเชื้อพยาธิ ส่งผลต่อการสร้างอนุมูลอิสระซึ่งทำลายเมแทบอลิซึมของเซลล์สัตว์พาหะ นอกจากนี้พยาธิยังสามารถหลบหนีจากระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์พาหะได้โดยใช้สารต้านอนุมูลอิสระ จึงควรสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อใช้เป็นเป้าหมายในการลดการติดเชื้อพยาธิ

วัตถุประสงค์ : เพื่อสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของยีน Thioredoxin-like protein จากพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica*

วิธีการทำวิจัย : สังเคราะห์ Thioredoxin-like protein (FgTXNDC17) โดยวิธี immunoscreening จาก cDNA ของ *F. gigantica* ระบุตำแหน่งโดยใช้ซีรัมที่จำเพาะต่อโปรตีนผิวพยาธิ วิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนด้วยวิธี bioinformatics และวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยวิธี in situ hybridization

ผลการศึกษา : FgTXNDC17 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 168 ตัว และมีส่วนอนุรักษ์ คือ WCPDC ประกอบด้วยบริเวณเร่งของ Cys 2 ตำแหน่ง การวิเคราะห์ phylogenetic ด้วย PAUP 4.0 program พบว่า FgTXNDC17 มีความเหมือนกับยีนของ *Schistosoma japonicum* และพบการแสดงออกของ mRNA ในเซลล์ผนังลำไส้ของ *F. gigantica* ตัวเต็มวัย

สรุป : FgTXNDC17 พบที่ผนังลำไส้ของพยาธิ ซึ่งอาจทำงานเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหาร จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงความสามารถในการทำงานและการใช้เป็นวัคซีนเพื่อใช้เป็นสารต้านโรค fasciolosis ที่มีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : *Fasciola gigantica*, เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ, thioredoxin-like protein.

Evaluation of drug targeting ErbB receptor family in cholangiocarcinoma cells

Nantavadee Boonsri*

Tavan Janvilisri** Rutaiwan Tohtong**

Supeecha Kumkate*** Kanokpan Wongprasert*

Boonsri N, Janvilisri T, Tohtong R, Kumkate S, Wongprasert K. Evaluation of drug targeting ErbB receptor family in cholangiocarcinoma cells. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 316 - 8

Background : Cholangiocarcinoma (CCA) or bile duct cancer is a malignant transformation of the epithelial cells lining the biliary tract or cholangiocytes. CCA has a poor prognosis with a high mortality rate as a consequence of the lack of tool for early diagnostic, a poor understanding of the molecular biology of the cholangiocyte transformation, and a consequent lack of effective drug therapies. Tumor resection is currently the only potentially curative treatment for CCA. In Thailand, the first-line chemotherapy, 5-Fluorouracil (5-FU) regimen has been used as a basic protocol for treating CCA patients. However, the response rate was only 0 - 40% with a median survival of 2–12 months. Moreover, clinical trial of chemotherapy as well as targeting drugs for CCA has not been performed in Thai patients. Epidermal growth factor receptors or ErbB receptor family were found overexpressed in many types of cancer. ErbB receptors and their downstream signaling pathways have been reported as key regulators of cancer cell proliferation, migration, metastasis and angiogenesis.

Objectives : The present study aimed to study the differential expression of ErbB receptor family and to determine the efficacy of drug targeting ErbB receptors family in Thai CCA cell lines.

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University

***Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University

Methods : *The differential expression of ErbB receptor family in CCA cell lines was determined by Western blotting and qRT-PCR. The efficacy of drug targeting ErbB receptors family was determined using ErbB inhibitors and combination treatment with chemotherapy drugs.*

Results : *The results demonstrate that the Thai CCA cell lines express different type of ErbB receptors. Treatments the CCA cell lines with drug targeting ErbB receptors showed CCA cell proliferation inhibited. In addition, the combined treatment of ErbB inhibitors with chemotherapy drugs showed synergistic effect.*

Conclusion : *The present study demonstrates that drug targeting ErbB receptors show efficacy in inhibiting CCA cell proliferation. This study provides basic knowledge in differential expression of ErbB receptors and the responsiveness of Thai CCA cell lines to chemotherapy drug and/or ErbB targeting drugs which could be considered for a guideline for CCA therapy.*

Keywords : *Cholangiocarcinoma, ErbB receptors, targeted drugs, chemotherapy drug.*

นันทาวดี บุญศรี, เทวัญ จันทรวีไลศรี, ฤทัยวรรณ โตะทอง, สุพีชา คุ่มเกตุ, กนกพรรณ วงศ์ประเสริฐ. การประเมินผลของยาที่มีความจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 316 - 8

เหตุผลของการทำวิจัย : มะเร็งท่อน้ำดีเป็นการเจริญผิดปกติของเซลล์เยื่อบุผนังท่อน้ำดีหรือ cholangiocyte เป็นมะเร็งที่เมื่อตรวจพบอยู่ในระยะลุกลามและมีอัตราการตายสูง เนื่องจากยังไม่มีเครื่องมือวินิจฉัยมะเร็งในระยะเริ่มต้น ความรู้ด้านชีวโมเลกุลของการเปลี่ยนรูปของเซลล์ท่อน้ำดีไปสู่เซลล์มะเร็งยังไม่เพียงพอและไม่มียารักษาที่จำเพาะ การรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทยหลังผ่าตัดคือการให้ยาเคมีบำบัด 5-FU เป็นยาหลัก แต่อัตราการตอบสนองการรักษาต่ำคือร้อยละ 0-40 และการรอดชีพ 2-12 เดือน อีกทั้งยังไม่มีแบบทดลองทางคลินิกของตัวยาที่มีความจำเพาะในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทย ตัวรับ ErbB เป็นกลุ่มตัวรับ tyrosine kinase พบมีการแสดงออกของโปรตีนเพิ่มขึ้นในเซลล์มะเร็งหลายชนิด การทำงานของตัวรับนี้มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญ การเคลื่อนที่ การแพร่กระจาย และการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเซลล์มะเร็ง

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการแสดงออกของโปรตีนตัวรับในกลุ่ม ErbB และผลของยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ในเซลล์ไลน์ที่ได้จากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทย

วิธีการทำวิจัย : ทำการสกัด อาร์เอ็นเอ และ โปรตีน จากเซลล์ไลน์ที่ได้จากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี เพื่อใช้ศึกษาการแสดงออกของยีนและโปรตีนของตัวรับ ErbB ตามลำดับ และศึกษาผลของการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี โดยให้ยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ร่วมกับการใช้ยาเคมีบำบัด

ผลการศึกษา : เซลล์จากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีแต่ละชนิดมีการแสดงออกของโปรตีนตัวรับในกลุ่ม ErbB ที่แตกต่างกัน ยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ให้ผลยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ เมื่อให้ยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ร่วมกับการใช้ยาเคมีบำบัดพบว่ามีความถี่เสริมการทำงานซึ่งกันและกัน

สรุป : ยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ทำให้ได้ความรู้พื้นฐานของการแสดงออกของตัวรับในกลุ่ม ErbB และผลการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดและ/หรือยารักษาแบบจำเพาะต่อตัวรับ ErbB ซึ่งสามารถนำไปสู่การพิจารณาเลือกยาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี

คำสำคัญ : มะเร็งท่อน้ำดี, ตัวรับ ErbB, ยารักษาแบบจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง, ยาเคมีบำบัด.

3D Reconstruction of developing hearts in chick embryos

Nichapa Chandee*,** Nutmethee Kleuwphunga*
Pakpoom Thintharua* Monsicha Somrit*
Somyoth Sridurongrit* Chinnawut Suriyonplengseang*
Wattana Weerachatanukul* Somluk Asuvapongpatana*

Chandee N, Kleuwphunga N, Thintharua P, Somrit M, Sridurongrit S, Suriyonplengseang C, Weerachatanukul W, Asuvapongpatana S. 3D Reconstruction of developing hearts in chick embryos. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 319 - 21

Background : *The cardiovascular system primarily develops at mid-third weeks to its full function during the embryonic period. The embryo requires vascular pump for providing the nutrition, exchanging metabolic waste, oxygen and carbon dioxide in the intrauterine life. Heart formation is a complex event that requires several factors. Based on its complex formation, information at 3D level is the best tool to precisely demonstrate its development in details.*

Objectives : *This study aimed to reconstruct 3D images of the developing hearts in the 9-day-chick embryos.*

Methods : *The heart was fixed in Bouin solution, dehydrated with graded series of alcohol and embedded in paraffin wax. The heart tissues were cut into serial sections followed by H&E staining. The images of the heart tissue were acquired by an Olympus slide scanner and reconstructed to be 3D images with Amira software.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** School of Allied Health Science, Walailak University

Results : *The heart chambers of chick embryos were well-identified at the 4th day including interatrial septum between 2 atria and the endocardial cushions were clearly visible which later formed in the atrioventricular canal. The cushions were later fused together and separated the atrioventricular canal into 2 channels. Meanwhile, the interventricular septum grew forward to fuse with the cushion. During formation of interventricular septum, the atrioventricular valves were also formed. Apart from the well-identified structures of the developing heart, 3D reconstructed images also offered the organization and relationship of each structure in a highly precise orientation (in all directions) as well as a volumetric analysis in the structures of interest. This route of data analysis would serve as a platform to compare between normal developing structures with those pathological ones that will be meaningful in both spatial and temporal information for developing structure comparison.*

Conclusion : *We demonstrated a 3D reconstruction of 9-day-old developing heart in chick embryos revealing the heart chambers formation and their related structures.*

Keywords : *3D reconstruction, heart, development, endocardial cushion, atrioventricular septum.*

นิชากา จันทรดี, นัฐเมธี เครือภูงา, ภาคภูมิ ถิ่นท่าเรือ, มนลิสชา สมฤทธิ์, สมยศ ศรีตรงค์ฤทธิ์, ชินวุฒิ สุริยนเปล่งแสง, วัฒนา วีระชาติยานุกูล, สมลักษณ์ อสุวพงษ์พัฒนา. การสร้างภาพสามมิติของการพัฒนาหัวใจ. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - มี.ย.; 62 (3): 319 - 21

เหตุผลของการทำวิจัย : ระบบหัวใจและหลอดเลือดถูกพัฒนาขึ้นเป็นลำดับแรก ๆ ในราวกลางสัปดาห์ที่สามเพื่อการทำหน้าที่ในขณะที่มีการพัฒนาของตัวอ่อน โดยตัวอ่อนต้องการระบบหัวใจและหลอดเลือดในการนำสารอาหาร การแลกเปลี่ยนของเสีย แก๊สออกซิเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในขณะที่อยู่ในครรภ์ การพัฒนาของหัวใจมีความซับซ้อนที่ต้องการปัจจัยต่าง ๆ ในการพัฒนาการ จากความซับซ้อนในการพัฒนาของหัวใจนี้ข้อมูลที่ได้จากการสร้างภาพสามมิติมาเป็นเครื่องมือในการแสดงให้เห็นถึงรายละเอียดของการพัฒนาได้ชัดเจน

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการสร้างภาพสามมิติของการพัฒนาหัวใจของตัวอ่อนไก่อายุ 9 วัน
วิธีการทำวิจัย : หัวใจของตัวอ่อนไก่ถูกตรึงด้วยน้ำยารักษาสภาพบูแอง (Bouin) นำน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วยแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นมากขึ้น และฝังในขี้ผึ้งพาราฟิน จากนั้นตัดเนื้อเยื่อหัวใจแบบอนุกรม ย้อมสีด้วย hematoxylin และ eosin นำเนื้อเยื่อหัวใจที่ได้มาผ่านการสแกนเพื่อบันทึกภาพด้วยสไลด์สแกนเนอร์ของโอลิมปัส จากนั้นนำภาพที่ได้เข้าสู่การสร้างภาพสามมิติด้วยซอฟต์แวร์อะไมรา (Amira)

ผลการศึกษา : ผลการศึกษาพบว่าหัวใจของตัวอ่อนไก่พัฒนาจนสังเกตเห็นห้องหัวใจครบทั้ง 4 ห้องในวันที่สี่โดยมีผนังกั้นระหว่างห้องหัวใจบน และเกิดเอ็นโดคาร์เดียลคูลชันในช่องระหว่างหัวใจห้องบนและล่าง ในที่สุดเอ็นโดคาร์เดียลคูลชันเชื่อมรวมกันทำให้แยกช่องระหว่างหัวใจห้องบนและแยกห้องล่างออกเป็น 2 ช่อง ในขณะที่ผนังกั้นหัวใจห้องล่างกำลังงอกยาวและไปเชื่อมกับเอ็นโดคาร์เดียลคูลชันนั้น ลิ้นหัวใจที่กั้นระหว่างหัวใจห้องบนและล่างก็ได้พัฒนาขึ้น นอกจากการพัฒนาโครงสร้างของหัวใจที่เด่นชัดแล้ว การสร้างภาพ 3 มิติสามารถยังแสดงให้เห็นถึงตำแหน่งทิศทางและความสัมพันธ์ของแต่ละโครงสร้างในการกำหนดตำแหน่งที่เห็นเด่นชัด เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาตรของโครงสร้างที่สนใจได้แสดงว่าสามารถใช้เป็นบรรทัดฐานในการเปรียบเทียบโครงสร้างที่ปกติในระหว่างการพัฒนา กับโครงสร้างที่มีพยาธิสภาพอย่างมีนัยสำคัญ

สรุป : การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคการสร้างภาพ 3 มิติ สามารถแสดงให้เห็นถึงการพัฒนาของหัวใจและโครงสร้างที่สัมพันธ์กันได้

คำสำคัญ : การสร้างภาพ 3 มิติ, หัวใจพัฒนาการ, เอ็นโดคาร์เดียลคูลชัน, ผนังกั้นห้องหัวใจ.

Types and morphometric study of calcaneal articular facets on human tali of Thai population

Nichapa Phunchago*

Nongnut Uabundit* Kowit Chaisiwamongkol*

Amnart Chaichun* Sitthichai Lamsaard*

Phunchago N, Uabundit N, Chaisiwamongkol K, Chaichun A, Lamsaard S. Types and morphometric study of calcaneal articular facets on human tali of Thai population. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 322 - 4

Background : *Patterns and variant morphometries of calcaneal articular facets on the talus are concerned before performing of joint ankle surgery, including used as sex determination. Types of talar facets have been documented in many populations except that of the Thai race.*

Objective : *This study attempted to classify the types of talus facets and to measure the facet lengths on dried tali of Thais.*

Methods : *The 372 dried tali (204 males,168 females) from Khon Kaen University Bone Collection were observed for variant types and measured for their facet lengths.*

Results : *The facets were classified into 6 types, namely: type I, the facets are separated (1.88%); type II (A), the anterior and middle facets are partially connected with predominant ridge (34.68%); type II (B), the anterior and middle facets are partially connected with slight ridge (32.53%); type III, the anterior and middle facets are fully fused to form a single facet (2.96%); type IV, the anterior and middle facets are partially separated by a ridge and partly by a groove (27.42%); type V, all facets are continuous fused to form a single facet (0.54%). In addition, the morphometric lengths of AP (anterior o posterior process) and ML1 and ML2 (medial to lateral process) in the male are significantly greater than those of the female. The AP, ML, and ML2 of male are 56.71 ± 0.16 , 41.63 ± 0.18 , and 37.85 ± 0.36 mm, while of female are 51.21 ± 0.12 , 37.74 ± 0.16 , and 33.85 ± 0.28 mm, respectively.*

Conclusion : *This incidence can be used as ankle surgery consideration and an anthropological marker for sex determination of unidentified talus.*

Keywords : *Types, morphometry, calcaneal articular facets, Thai talus.*

นิชภา พันชะโก, นงนุช เอื้อบัณฑิต, โกวิท ไชยศิริมงคล, อำนาจ ไชยสุน, สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด. การศึกษารูปแบบและการวัดทางสัณฐานของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันที่ติดต่อกับกระดูกสันหลังคาคาเนียสในคนไทย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 322 - 4

- เหตุผลของการทำวิจัย :** รูปแบบและลักษณะทางสัณฐานที่แตกต่างกันของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันมีความสำคัญที่คล้ายแพทย์ต้องให้ความสนใจก่อนทำการผ่าตัดข้อเท้า นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เพศได้ มีการศึกษารูปแบบของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันในประชากรต่าง ๆ แต่ยังไม่มีการศึกษารูปแบบของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันในคนไทย ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษารูปแบบและลักษณะทางสัณฐานของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันในคนไทย
- วัตถุประสงค์ :** เพื่อศึกษารูปแบบข้อต่อและวัดความยาวของส่วนต่อต่าง ๆ ของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันในกระดูกแห้ง
- วิธีการทำวิจัย :** ทำการศึกษารูปแบบข้อต่อและวัดความยาวของส่วนต่อต่าง ๆ จากกระดูกข้อเท้าทาลัสตันจำนวน 372 ชิ้น (ชาย 204 ชิ้น, หญิง 168 ชิ้น) จากหน่วยคลังกระดูกและการวิจัย
- ผลการศึกษา :** รูปแบบข้อต่อแบ่งออกได้เป็น 6 รูปแบบ ดังนี้ รูปแบบที่ I พบ facet แต่ละอันแยกออกจากกันอย่างชัดเจน จำนวนรอยละ 1.88, รูปแบบที่ II(A) anterior และ middle facets ติดต่อกันและมีสันนูนกันเห็นชัดเจน จำนวนรอยละ 34.68, รูปแบบที่ II(B) anterior และ middle facets ติดต่อกัน แต่มีสันนูนกันเห็นไม่ชัดเจน จำนวนรอยละ 32.53, รูปแบบที่ III Anterior และ middle facets เชื่อมกันอย่างสมบูรณ์ ไม่มีสันนูน จำนวนรอยละ 2.96, รูปแบบที่ IV พบสันนูนและร่องแบ่ง anterior และ middle facets ออกจากกัน จำนวนรอยละ 27.42, รูปแบบที่ V Anterior, middle และ posterior facets เชื่อมต่อกัน จำนวนรอยละ 0.54 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานโดยการวัดระยะต่าง ๆ ได้ดังนี้ วัดค่า AP (จากปลายของ anterior facet มาสิ้นสุดที่ปลายของ posterior process), ML1 และ ML2 (ความกว้างวัดจาก medial malleolar facet ไปที่ lateral process) ในเพศชาย ค่า AP, ML1, และ ML2 ได้แก่ 56.71 ± 0.16 , 41.63 ± 0.18 และ 37.85 ± 0.36 mm ตามลำดับ ในเพศหญิง ค่า AP, ML1, และ ML2 ได้แก่ 51.21 ± 0.12 , 37.74 ± 0.16 และ 33.85 ± 0.28 mm ตามลำดับ ซึ่งเพศชายมีค่ามากกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญ
- สรุป :** ผลจากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการผ่าตัดข้อเท้าและการระบุเพศของกระดูกข้อเท้าทาลัสตันได้
- คำสำคัญ :** รูปแบบ, การวัดทางสัณฐาน, กระดูกข้อเท้าทาลัสตันที่ติดต่อกับกระดูกสันหลังคาคาเนียส, กระดูกข้อเท้าทาลัสตันในคนไทย.

Flipped classroom helps improve students' learning outcome in basic human anatomy of special sense organs

Nutcharin Pakdeewong*

Pakdeewong N. Flipped classroom helps improve students' learning outcome in basic human anatomy of special sense organs. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 325 - 6

Background : *Teaching anatomy of special sense organs is challenging to educators globally, due to its complexity and limitation of time frame. A flipped classroom is a teaching method which has been increasingly used in higher education. However, the results of several studies on students' learning outcomes by such method were still inconclusive.*

Objective : *To compare the effectiveness of anatomy pedagogy between conventional lecture and flipped classroom in Thai students.*

Methods : *The present study retrospectively compared the summative examination scores of students taking Basic Anatomy for allied health profession undergraduate program between conventional lecture (n = 217) and flipped classroom (n = 224) in 2016 and 2017. Their satisfactions were also compared by online questionnaires.*

Results : *The statistical analysis revealed that the flipped classroom method showed significantly higher scores when compared to the traditional style of lecturing (P < 0.001). The level of student satisfaction was high and comparable between groups (P = 0.408).*

Conclusion : *The flipped classroom is one of the effective learning methods that can improve students' knowledge achievement. Further studies are necessary to approve the effects of this method on the knowledge retention and their long-term learning behavior.*

Keywords : *Anatomy, flipped classroom, paramedical students.*

นุจรินทร์ ภักดีวงศ์. ห้องเรียนกลับด้านช่วยเพิ่มผลการเรียนในการเรียนกายวิภาคศาสตร์
พื้นฐานของมนุษย์เรื่องอวัยวะรับความรู้สึกพิเศษ. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.;
62(3): 325 - 6

เหตุผลของการทำวิจัย : การสอนกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะรับความรู้สึกพิเศษทำทนายผู้สอน
ทั่วโลกเนื่องจากความซับซ้อนและข้อจำกัดของระยะเวลา ห้องเรียนกลับ
ด้านเป็นวิธีการสอนที่นำมาใช้มากขึ้นในระดับอุดมศึกษา อย่างไรก็ตาม
ผลการศึกษาจากหลายงานวิจัยเกี่ยวกับผลการเรียนของนักศึกษาโดยวิธี
ดังกล่าวยังไม่เป็นที่สรุปชัดเจน

วัตถุประสงค์ : เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิผลของวิธีการสอนกายวิภาคศาสตร์ระหว่าง
การบรรยายแบบปกติกับห้องเรียนกลับด้านในนักศึกษาไทย

วิธีการทำวิจัย : การศึกษาครั้งนี้เปรียบเทียบคะแนนสอบปลายภาคของนักศึกษาที่เรียน
กายวิภาคศาสตร์พื้นฐานสำหรับหลักสูตรปริญญาตรีสาขาสหเวชศาสตร์
ระหว่างการบรรยายปกติ (จำนวนนักศึกษา 217 ราย) และห้องเรียนกลับ
ด้าน (จำนวนนักศึกษา 224 ราย) ในปี พ.ศ. 2559 และ 2560 และ
เปรียบเทียบความพึงพอใจของนักศึกษาโดยใช้แบบสอบถามออนไลน์

ผลการศึกษา : การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าวิธีการเรียนแบบห้องเรียนกลับด้านมีคะแนน
สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการบรรยายแบบปกติ
($P < 0.001$) ความพึงพอใจของนักเรียนอยู่ในระดับสูงและมีค่าใกล้เคียงกัน
ระหว่างกลุ่ม ($P = 0.408$)

สรุป : ห้องเรียนกลับด้านเป็นหนึ่งในวิธีการเรียนรู้ที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถ
ปรับปรุงผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียน จำเป็นต้องมีการศึกษา
เพิ่มเติมเกี่ยวกับผลกระทบของวิธีการนี้ต่อความรู้ความเข้าใจและ
พฤติกรรมการเรียนรู้ในระยะยาวของนักศึกษา

คำสำคัญ : กายวิภาคศาสตร์, ห้องเรียนกลับด้าน, นักศึกษาสหเวชศาสตร์.

Association study of catechol-O-methyltransferase (COMT) genotype on executive cognitive function in healthy volunteers: A preliminary study in Thai subjects

Bupachad Khanthiyong* Samur Thanoi*

Gavin P. Reynolds*,** Sutisa Nudmamud-Thanoi*

Khanthiyong B, Thanoi S, Reynolds GP, Nudmamud-Thanoi S. Association study of catechol-O-methyltransferase (COMT) genotype on executive cognitive function in healthy volunteers: A preliminary study in Thai subjects. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 327 - 30

Background : *Catechol-O-methyltransferase (COMT) is an enzyme responsible for degradation of dopamine, important for executive cognitive function in humans. There are many studies reporting associations of the COMT Val158Met (rs4680) polymorphism with executive cognitive function in healthy volunteers, although this has been little studied in Thailand. Furthermore, the influence of age and sex on this association remains unclear.*

Objective : *Therefore, this study was designed to investigate the association of gene polymorphisms of the COMT gene with executive cognitive function in healthy volunteers and the relationship with age and sex.*

Methods : *One hundred thirty-one Thai healthy volunteers in the age range of 20 to 65 years were enrolled. Genotyping of rs4680 was performed using PCR restriction fragment length polymorphism method and executive cognitive function was assessed using the Wisconsin Card Sorting Test (WCST).*

* Department of Anatomy and Centre of Excellence in Medical Biotechnology, Faculty of Medical Science, Naresuan University

** Biomolecular Sciences Research Centre, Sheffield Hallam University, Sheffield, United Kingdom

Results : *rs4680* showed a significant association with several measures from the WCST: total errors ($P < 0.038$), total correct ($P < 0.047$), total cards ($P < 0.019$) in which the Met/Met genotype was associated with the best, and Val/Val with the poorest, performance of executive cognitive function. Moreover, Met allele carriers showed significantly lower scores of total error ($P = 0.023$), and total card ($P = 0.013$) than the Val/Val genotype but showed higher scores of total correct ($P = 0.023$). Additionally, we found that there were significant correlations between age and WCST in total error, percentage of total error, percentage of total correct, total cards, first category, category completed ($P < 0.000$, $P < 0.011$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.009$, $P < 0.002$ respectively). Moreover, there was a significant relationship between sex and WCST in total error, percentage of total error, percentage of total correct, total cards, category completed ($P < 0.007$, $P < 0.009$, $P < 0.008$, $P < 0.014$, $P < 0.006$ respectively). Correcting for age and sex in the analysis of the association between COMT genotype and WCST measures, a significant effect of genotype remained for total correct ($P = 0.021$).

Conclusion : These findings indicate that executive cognitive function is associated with COMT genotype and influenced by age and sex in healthy Thai subjects.

Keywords : Catechol-O-methyltransferase (COMT), Wisconsin card sorting test (WCST), executive cognitive function, single nucleotide polymorphism (SNP).

บุพชาติ คันธียงค์, เสมอ ถาน้อย, Gavin P. Reynolds, สุทธิสา ถาน้อย. การศึกษาความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ Catechol-O-Methyltransferase (COMT) ต่อการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิตในอาสาสมัครสุขภาพดี- การศึกษาเบื้องต้นในตัวอย่างคนไทย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ค. - มิ.ย.; 62 (3): 327 - 30

เหตุผลของการทำวิจัย : แคทีคอล-โอ-เมทิลทรานสเฟอเรส (Catechol-O-Methyltransferase (COMT) คือ หนึ่งในเอนไซม์ที่ตอบสนองต่อการย่อยสลายของสารสื่อประสาทโดปามีนและมีความสำคัญต่อการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิตของมนุษย์ (Executive cognitive function) ซึ่งมีรายงานการวิจัยจำนวนมากถึงความสัมพันธ์ของการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม (Single Nucleotide Polymorphisms; SNP) ของยีน COMT Val158Met ตำแหน่ง rs4680 ต่อการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (Executive cognitive function) ในอาสาสมัครสุขภาพดี แม้พบว่ามีการศึกษานี้ อยู่เป็นจำนวนน้อยในประเทศไทยทั้งนี้อิทธิพลของช่วงอายุและเพศยังไม่มีความชัดเจนต่อความสัมพันธ์นี้

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม (SNP) ของยีน COMT ต่อการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (Executive cognitive function) ในอาสาสมัครสุขภาพดีและความสัมพันธ์ของช่วงอายุและเพศ

วิธีการทำวิจัย : อาสาสมัครคนไทยสุขภาพดีจำนวน 131 ราย ช่วงอายุระหว่าง 20 - 65 ปี ได้รับการตรวจหาจีโนไทป์ของยีน COMT ตำแหน่ง rs4680 ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) และประเมินการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (Executive cognitive function) ด้วยโปรแกรมทดสอบ Wisconsin Card Sorting Test (WCST)

ผลการศึกษา : SNP ตำแหน่ง rs4680 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติถึงความสัมพันธ์กับค่าคะแนนในหลาย ๆ ด้านจากการวัดด้วยโปรแกรมทดสอบ WCST: total errors ($P < 0.038$), total correct ($P < 0.047$), total cards ($P < 0.019$) ซึ่งพบว่าจีโนไทป์ Met/Met บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (Executive cognitive function) ดีที่สุดและจีโนไทป์ Val/Val นั้นบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (Executive cognitive function) มากที่สุด

นอกจากนี้ Met allele carriers แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่ามีค่าคะแนนในด้าน total error ($P = 0.023$) และ total card ($P = 0.013$) น้อยกว่าจีโนไทป์ Val/Val แต่แสดงผลค่าคะแนน total correct ($P = 0.023$) ที่สูงยิ่งกว่านั้นยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติถึงความสัมพันธ์ระหว่างช่วงอายุกับการทดสอบ WCST ในค่าคะแนนด้าน total error, % total error, % total correct, total cards, first category, category completed ($P < 0.000$, $P < 0.011$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.009$, $P < 0.002$) นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติถึงความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับการทดสอบ WCST ในค่าคะแนนด้าน total error, % total error, % total correct, total cards, category completed ($P < 0.007$, $P < 0.009$, $P < 0.008$, $P < 0.014$, $P < 0.006$) การตรวจสอบความถูกต้องของช่วงอายุและเพศในการวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน COMT กับการทดสอบ WCST ยังพบว่ามีค่าคะแนนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าคะแนน total correct ($P = 0.021$)

สรุป : ผลจากการศึกษานี้เป็นตัวชี้วัดว่าการใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต (executive cognitive function) มีความสัมพันธ์กับจีโนไทป์ของยีน COMT อีกทั้งยังมีอิทธิพลจากช่วงอายุและเพศในคนไทยที่สุขภาพดี

คำสำคัญ : แคทีคอล-โอ-เมทิลทรานสเฟอเรส, แบบทดสอบวิสคอนซินการ์ดซอร์ทติ้ง, การใช้สติปัญญาในการบริหารจัดการชีวิต, การเกิดหลากหลายทางพันธุกรรม.

Epigenetic changes in white blood cells caused by secretion from colon cancer cells

Papatson Boonsongserm*

Nakarin Kitkumthorn**,*** Apiwat Mutirangura***

Boonsongserm P, Kitkumthorn N, Mutirangura A. Epigenetic changes in white blood cells caused by secretion from colon cancer cells. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 331 - 2

Background : *Colon cancer is the 3rd most common cancers and the 4th leading causes of death worldwide. Our recent study has discovered epigenetic changes in white blood cells caused by the secretion from breast cancer cells.*

Objective : *This study aimed to investigate the epigenetic changes in white blood cells from colon cell secretion.*

Methods : *Genome wide DNA methylation profiling of co-cultured Peripheral blood mononuclear cell (PBMCs) was generated by Illumina Infinium Methylation EPIC Bead Chip. Additional data derived from GENBANK (www.ncbi.nlm.nih.gov, GSE10715 and GSE11545) were included to be analyzed for candidate genes by CU-DREAM program. Finally, real-time methylation specific PCR (MSP) was performed to examine a candidate gene that had methylation changes in white blood cells of colon cancer patients compared to healthy controls.*

Results : *Comparison between white blood cells from colon cancer patients and white blood cells from healthy controls was observed. One candidate gene was displayed by increase of methylation at significant level.*

Conclusion : *In summary, we demonstrate that epigenetic changes in white blood cells were caused by the secretion from colon cancer cells. This study leads us to further experiments that search for tumor markers for colon cancer screening.*

Keywords : *Colon cancer, co-culture, CU-DREAM, microarray, real-time MSP.*

* Graduate School, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

** Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Mahidol University

***Center of Excellence in Molecular Genetics of Cancer and Human Disease, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

ปัทสนร บุญสงเสริม, นครินทร์ กิตกำธร, อภิวัฒน์ มุทิตรากร .การเปลี่ยนแปลงสถานะเหนือ
พันธุกรรมที่ส่งผลต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวจากการได้รับสัญญาณจากเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่.
จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 331 – 2

- เหตุผลของการทำวิจัย** : โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นโรคมะเร็งที่พบได้บ่อยเป็นอันดับสามและ
ทำให้เสียชีวิตเป็นอันดับสี่ของโลก การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสัญญาณ
สารเคมีที่หลั่งมาจากเซลล์มะเร็งเต้านมสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยน
แปลงที่สถานะเหนือพันธุกรรมในเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติได้ การศึกษานี้
มีสมมติฐานที่ว่าเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่สามารถหลั่งสัญญาณสารเคมี
ออกมาและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์เม็ดเลือดขาวได้เช่นกัน
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดขาวจากการเปลี่ยนแปลง
สถานะเหนือพันธุกรรมที่คาดว่าเป็นผลมาจากการหลั่งสัญญาณสารเคมี
จากเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่
- วิธีการทำวิจัย** : การวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอเมทิลเลชันไมโครแอรเรย์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว
ที่ถูกชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิคการจำลองสถานะการอยู่
ร่วมกันระหว่างเซลล์หรือเทคนิคโคเคอร์เจอร์ แล้วนำข้อมูลดีเอ็นเอ
เมทิลเลชันที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมซียูดริ่มร่วมกับข้อมูล
เอ็กเพรสชันไมโครแอรเรย์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ได้จากเลือดจริงจาก
สถานะในร่างกาย จากนั้นนำยีนที่น่าสนใจไปตรวจสอบการเปลี่ยนแปลง
สถานะเหนือพันธุกรรมด้วยเทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์จากเซลล์เม็ดเลือด
ขาวของผู้ป่วยโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และผู้ที่ไม่ได้ป่วยเป็นโรคมะเร็ง
ลำไส้ใหญ่
- ผลการศึกษา** : จากการวิเคราะห์ยีนที่น่าสนใจพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสถานะเหนือ
พันธุกรรมเพิ่มขึ้นในตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยโรคมะเร็ง
ลำไส้ใหญ่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- สรุป** : เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่สามารถหลั่งสัญญาณสารเคมีออกมาได้และสารนี้
ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะเหนือพันธุกรรมของเซลล์เม็ดเลือด
ขาวได้ ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ก็นำไปสู่การทดลองอื่น ๆ
เพื่อใช้ค้นหาตัวบ่งชี้มะเร็งลำไส้ใหญ่และสามารถใช้ในการคัดกรอง
ผู้ป่วยโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ในอนาคต
- คำสำคัญ** : โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่, โคเคอร์เจอร์, ซียูดริ่ม, ไมโครแอรเรย์,
เรียลไทม์เมทิลเลชันสเปซิฟิคพีซีอาร์.

High carotid bifurcation: Anatomical consideration and clinical correlation

Pattama Amarttayakong*

Worawut Woraputtaporn* Sukrit Sangkhano**

Waranon Munkong*** Nawaporn Techataweewan*

Amarttayakong P, Woraputtaporn W, Sangkhano S, Munkong W, Techataweewan N. High carotid bifurcation: Anatomical consideration and clinical correlation. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 333 - 4

Background : *High carotid bifurcation, in clinical practice implies difficult surgical access and encounters potential risk of nearby structures. This pattern can alter surgical plan of arterial treatment from carotid endarterectomy to carotid artery stenting. High carotid bifurcation, however, still needs more definitive indicating point.*

Objective : *This study aimed to determine high carotid bifurcation in 50 computed tomographic carotid angiograms (100 common carotid arteries).*

Methods : *Vertical distance from the mastoid process to carotid bifurcation was measured. High bifurcation was determined with the highest quartile of the distance.*

Results : *Average distance was 4.55 ± 1.09 cm. Cut-off point for the highest quartile of carotid bifurcations was 3.69 cm. Bifurcations within 3.5 cm of the vertical distance from the mastoid process were in the highest quartile with sensitivity of 84.0% and specificity of 100%.*

Conclusion : *A vertical distance within 3.5 cm from the mastoid process is suggested as a reliable indicator of high carotid bifurcation that should be applied for selection of carotid artery treatment.*

Keywords : *High carotid bifurcation, mastoid process, endarterectomy, carotid stenting, carotid angiogram.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** School of Public Health, Walailak University

***Department of Radiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

ปัทมา อมาตยคง, วรุณี วรพุทธพร, สุกฤษฎ์ สังฆะโน, วรานนท์ มั่นคง, นวพร เตชาทวิวรรณ.
จุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติด: การพิจารณาทางกายวิภาค
และความสัมพันธ์ทางคลินิก. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – มี.ย.; 62 (3): 333 – 4

- เหตุผลของการทำวิจัย** : ในทางคลินิกจุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติดทำให้การผ่าตัดเข้าถึงยากและเสี่ยงอันตรายต่อโครงสร้างข้างเคียง ลักษณะดังกล่าวมีผลต่อการเปลี่ยนแผนการผ่าตัดรักษาหลอดเลือดแดงจากการผ่าตัดเอาตะกรันที่พอกในหลอดเลือดแดงคาโรติดออกเป็นการใส่โครงลวดถ่างขยายหลอดเลือดแดงคาโรติดแทน อย่างไรก็ตามจุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติดยังขาดตัวชี้วัดที่แน่นอน
- วัตถุประสงค์** : เพื่อค้นหาตำแหน่งกำหนดของจุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติดในภาพถ่ายรังสีหลอดเลือดแดงคาโรติดของผู้ป่วยจำนวน 50 ราย (หลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติด 100 เส้น)
- วิธีการทำวิจัย** : วัดระยะทางในแนวตั้งจากปุ่มกกหูถึงจุดแยกสองง่ามของหลอดเลือดจุดแยกสองง่ามระดับสูงกำหนดโดยควอไทล์สูงสุดของระยะทางดังกล่าว
- ผลการศึกษา** : ค่าเฉลี่ยของระยะทางเท่ากับ 4.55 ± 1.09 ซม. จุดตัดของควอไทล์สูงสุดคือ 3.69 ซม. จุดแยกสองง่ามของหลอดเลือดที่อยู่ในระยะทางแนวตั้ง 3.5 ซม. วัดจากปุ่มกกหูอยู่ในควอไทล์สูงสุดโดยมีค่าของความไวร้อยละ 84 และค่าของความจำเพาะร้อยละ 100
- สรุป** : ระยะทางแนวตั้งภายใน 3.5 ซม. ห่างจากปุ่มกกหูเป็นตัวชี้วัดที่เชื่อถือได้ของจุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติด สำหรับใช้เลือกแผนการรักษาหลอดเลือดแดงคาโรติด
- คำสำคัญ** : จุดแยกสองง่ามระดับสูงของหลอดเลือดแดงคอมมอนคาโรติด, ปุ่มกกหู, การผ่าตัดเอาตะกรันที่พอกในหลอดเลือดแดงคาโรติดออก, การใส่โครงลวดถ่างขยายหลอดเลือดแดงคาโรติด, ภาพถ่ายรังสีหลอดเลือดแดงคาโรติด.

GFAP and S100 expression in mice developing brains

Pornkanok Nimnoi* Wongsakorn Siripan*
Sreekanth Gopinathan Pillai* Chairat Turbpaiboon*
Boonrat Tassaneetrithep** Supin Chompoopong*

Nimnoi P, Siripan W, Pillai SG, Turbpaiboon C, Tassaneetrithep B, Chompoopong S.
GFAP and S100 expression in mice developing brains. Chula Med J 2018 May – Jun;
62(3): 335 - 8

Background : *Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is an intermediate filament (IF) class III protein which also includes vimentin and nestin. This class is important for the brain to accommodate neural activities and changes during development. S100 proteins are small calcium binding proteins encoded by genes located in the epidermal differentiation complex (EDC). S100 proteins have a low binding affinity for calcium which increase dramatically to control a cellular activity in the presence of a target. It is highly expressed in astrocytes. This study determines the pattern of GFAP and S100 expression related to postnatal brain development in ICR Mice.*

Objectives : *This study aimed to evaluate glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S100 expression related to brain development of ICR mice fetus day 17 (E17) and postnatal day 3 (P3), 5 (P5) and 7 (P7).*

Methods : *Whole body of fetus day 17 (E17) and brains of postnatal day 3 (P3), 5 (P5) and 7 (P7) ICR mice were included for GFAP and S100 immunoperoxidase staining in paraffin sections. The GFAP and S100 immunoreactivity in subgranular zone (SGZ) of hippocampus were compared. GFAP and S100 expression in brain tissues of P3, P5 and P7 mice were also determined by Western Blot analysis.*

Results : *In SGZ of hippocampus, GFAP expression was shown in the early phase of postnatal development, then subsequently decreased from P3, P5, and P7 but not found in E17. However, S100 staining was shown in E17 particularly in ependymal area, and also in P3, P5 and decrease in P7.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

** Office for Research and Development Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

Conclusion : *Astrocytes are very sensitive to alteration in the brain environment and always respond as activated astrocytes, therefore, this study was elucidated the potential markers, GFAP and S100 in developing hippocampus. GFAP, a class III intermediate filament, is found in the mature and developing astrocytes. S100, a small, acidic calcium binding protein is synthesized and released from glial cells as an astroglial derived neurotrophic factor involved in neuroplasticity. More early expression of S100 is associated with its proliferative potential and migration of undifferentiated neuroblasts and astrocytes as described by previous report. This finding provides valuable information on the developmental processes, the different expression of GFAP and S100 are useful to understand not only brain functions but also brain developmental defects in offspring mice.*

Keywords : *GFAP, S100, subgranular zone, poastnatal development, astrocytes.*

พรกนก นิ่มน้อย, วงศกร ศิริพันธุ์, Sreekanth Gopinathan Pillai, ชัยรัตน์ เต็บไพบูลย์, บุญรัตน์ ทัศนีย์ไตรเทพ, สุพิน ชมพูพงษ์. การปรากฏของโปรตีน GFAP และ S100 ในระหว่างพัฒนาการของสมองหนู. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 335 – 8

เหตุผลของการทำวิจัย : *Glial fibrillary acid protein (GFAP)* เป็น *intermediate filament* ประเภท 3 ในกลุ่มเดียวกับ *vimentin* และ *nestin* จัดเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญต่อสมองและการทำงานของเซลล์ประสาท พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงตามพัฒนาการของเซลล์ประสาท S100 เป็นโปรตีนขนาดเล็กที่มีแคลเซียมมาจับ ถูกสร้างมาจากยีนที่ปรากฏในกลุ่ม *epidermal differentiation complex (EDC)* โดยปกติ S100 เป็นโปรตีนที่แคลเซียมจับในปริมาณต่ำ แต่สามารถเพิ่มขึ้นอย่างมากได้ เพื่อควบคุมการทำงานของเซลล์ เมื่อมีการปรากฏในเซลล์เป้าหมาย ซึ่งพบมากใน *astrocytes* การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการปรากฏของ GFAP และ S100 เชื่อมโยงกับพัฒนาการของสมองหนู ICR ระยะหลังคลอด

วัตถุประสงค์ : เพื่อประเมินการปรากฏของ GFAP และ S100 ที่เชื่อมโยงกับการพัฒนาการของสมองหนู ICR ระยะทารกในครรภ์ 17 วัน (E17) และระยะหลังคลอด 3 วัน (P3), 5 วัน (P5) และ 7 วัน (P7)

วิธีการทำวิจัย : หนู Mice ทั้งตัว ระยะ E17 และสมองของหนูระยะหลังคลอด P3, P5 และ P7 ถูกนำมาเปรียบเทียบการปรากฏของ GFAP และ S100 โดยเทคนิคการย้อมอิมมูโนเบนซินเนื้อติดตามขวางของตัวอย่างฝังในพาราฟิน โดยเฉพาะใน *hippocampus* บริเวณ *subgranular zone (SGZ)* และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค *Western blot* เพื่อดูการปรากฏของ GFAP และ S100 เฉพาะสมองของหนูระยะหลังคลอด P3, P5 และ P7

ผลการศึกษา : พบว่าใน *hippocampus* บริเวณ SGZ การปรากฏของ GFAP เพิ่มขึ้นในช่วงแรกของพัฒนาการของสมอง ในหนูระยะหลังคลอดและลดลงจาก P3, P5 และ P7 ตามลำดับ แต่ไม่พบในสมองหนูระยะ E17 อย่างไรก็ตาม S100 ได้พบปรากฏในสมองหนูระยะ E17 โดยเฉพาะใน *ependymal* และพบในสมองหนูหลังคลอดระยะ P3,P5 และลดลงในช่วง P7

สรุป : Astrocytes ไวต่อการเปลี่ยนแปลงในสภาพแวดล้อมของสมอง โดยมักตอบสนองในการกระตุ้นให้เกิด activated astrocytes ดังนั้นในการศึกษานี้ เพื่อศึกษาโปรตีนเด่นทั้ง GFAP and S100 ที่บ่งบอกและปรากฏในเซลล์ astrocytes ในสมองส่วน hippocampus ที่กำลังเจริญพัฒนา โปรตีน GFAP เป็น intermediate filament ประเภท 3 ที่พบใน astrocytes ที่เจริญเติบโตเต็มที่และที่อยู่ระหว่างการเจริญพัฒนา ส่วน S100 เป็นโปรตีนขนาดเล็กที่สามารถจับกับ acidic calcium ที่ได้จากการสังเคราะห์และปลดปล่อยออกจากเซลล์เกลีย ซึ่งมีหน้าที่เป็น astroglial derived neurotrophic factor ที่เกี่ยวข้องกับ neuroplasticity โดยเป็นตัวแปรสำคัญในการพัฒนาระบบประสาท การพบการปรากฏก่อนของ S100 ในระยะแรกของการพัฒนาการของสมอง โดยพบรายงานก่อนหน้านี้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนย้ายเปลี่ยนแปลงของ undifferentiated neuroblasts และ astrocytes ผลการศึกษานี้ให้ข้อมูลความเข้าใจเกี่ยวกับขั้นตอนพัฒนาการของสมอง ความแตกต่างของการปรากฏของโปรตีน GFAP และ S100 มีประโยชน์ทำให้เข้าใจบทบาทการทำงานของสมอง อีกทั้งยังสามารถนำมาอธิบายรูปแบบความผิดปกติในพัฒนาการทางสมองของลูกหนูได้อีกด้วย

คำสำคัญ : GFAP, S100, Subgranular zone, Postnatal mice, Astrocytes.

Evaluation of high quality bioflocs for fish meal protein substitution on growth performance and immunostimulant activity of shrimp

Phennapa Promthale*

Boonsirm Withyachumnarnkul**,*** Kanokpan Wongprasert*

Promthale P, Withyachumnarnkul B, Wongprasert K. Evaluation of high quality bioflocs for fish meal protein substitution on growth performance and immunostimulant activity of shrimp. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 339 - 41

Background : *Fish meal is the main source of protein in the shrimp feed and is normally derived from trash fish. As such, production of fish meal has adverse effect on marine environment by taking away small and juvenile fish leading to depletion of marine species. Therefore, alternative sources of protein to substitute fish meal are highly needed for aquaculture industry. It has been reported that bioflocs is a good source of protein.*

Objectives : *This study therefore aimed to evaluate the components and nutritional values of bioflocs, the replacement of fish meal with bioflocs meal, and to determine the effects of bioflocs feed on growth rate and immune activities of shrimp.*

Methods : *Bioflocs were harvested from the shrimp ponds at Shrimp Village, Chaiya District, Surat-Thani, Thailand. The microorganisms in bioflocs were identified using scanning electron microscopy (SEM). The total protein, lipid contents, amino acid and fatty acid profiles of bioflocs were determined by proximate analysis, high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC), respectively. The five dietary bioflocs recipes (% to replace fish meal: 0%, 25%, 50%, 75% and 100%) were fed to shrimp for 6 weeks and growth performance, survival rate and immune parameters determined.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Aqua Academy Farm, Tha Chana District, Surat Thani

***Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University

Results : *The results showed that the major microorganisms in the bioflocs were a variety of bacteria, zooplanktons (especially amphipod) and microalgae. The total protein in bioflocs was $47.91 \pm 1.16\%$ and total lipid was $7.72 \pm 0.15\%$ (dried weight). The percentage of essential amino acids and fatty acids in bioflocs were comparable to fish meal. All growth parameters of shrimp fed with 25 and 50% bioflocs showed no significant difference from normal feed. The survival rate and the levels of immune parameters in all biofloc treatment groups were significantly higher than normal feed.*

Conclusion : *In conclusion, the present study demonstrates the potential use of bioflocs to replace fish meal protein in shrimp feed pellets and additionally to enhance shrimp immune activities.*

Keywords : *Bioflocs, fish meal protein, shrimp feed, immune parameters.*

เพ็ญนภา พรหมทะเล, บุญเสริม วิทย์ชำนาญกุล, กนกพรรณ วงศ์ประเสริฐ. ผลของตะกอนชีวภาพ (bioflocs) ที่ใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารกุ้งต่อการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของกุ้ง. *จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 339 - 41*

เหตุผลของการทำวิจัย : ไบรอตินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารกุ้ง ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารกุ้งใช้ปลาป่น (fish meal) เป็นแหล่งไบรอติน มีรายงานก่อนหน้านี้ว่าตะกอนชีวภาพ หรือ bioflocs เป็นแหล่งไบรอตินได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาด้านคุณค่าโภชนาการของตะกอนชีวภาพยังมีข้อมูลไม่มาก

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในตะกอนชีวภาพ การใช้ตะกอนชีวภาพทดแทนปลาป่นในอาหารกุ้ง และผลของตะกอนชีวภาพต่อการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของกุ้ง

วิธีการทำวิจัย : กลองจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ศึกษาสิ่งมีชีวิตในตะกอนชีวภาพ ศึกษาปริมาณไบรอติน, ลิปิด, กรดอะมิโน และ กรดไขมัน โดยวิธี proximate analysis, high performance liquid chromatography และ gas chromatography (GC) ตามลำดับ แบ่งชนิดของอาหารที่ใช้ตะกอนชีวภาพแทนปลาป่นเป็น 5 ชนิด คือ 0%, 25%, 50%, 75% และ 100% ใช้เลี้ยงกุ้ง 6 สัปดาห์ เพื่อประเมินการเจริญเติบโต อัตราการรอดและภูมิคุ้มกันในกุ้ง

ผลการศึกษา : สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กส่วนใหญ่ที่พบในตะกอนชีวภาพคือ สาหร่ายขนาดเล็ก แบคทีเรีย และแพลงก์ตอนสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มแอมฟิ-พอด ไบรอตินและลิปิดในตะกอนชีวภาพมีค่าเท่ากับ 47.91 ± 1.16 และ $7.72 \pm 0.15\%$ ตามลำดับ ปริมาณกรดอะมิโนและกรดไขมันที่จำเป็นในตะกอนชีวภาพมีค่าใกล้เคียงกับปลาป่น เมื่อให้กุ้งกินอาหารที่ใช้ตะกอนชีวภาพแทนปลาป่นในปริมาณแตกต่างกัน (25, 50, 75 และ 100%) พบว่าผลของการเจริญเติบโตของกุ้งในกลุ่มกินอาหารที่ใช้ตะกอนชีวภาพแทนปลาป่น 25 และ 50% ไม่มีความแตกต่างจากอาหารปกติ นอกจากนี้กุ้งทุกกลุ่มที่กินอาหารที่ใช้ตะกอนชีวภาพแทนปลาป่นมีอัตราการรอดและระดับของภูมิคุ้มกันสูงกว่ากุ้งที่กินอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป : ตะกอนชีวภาพมีคุณค่าอาหารและปริมาณไบรอตินที่ใช้แทนปลาป่นในอาหารกุ้งได้ และยังมีประสิทธิภาพในการลดอัตราการตายและกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งด้วย การศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาใช้ตะกอนชีวภาพแทนปลาป่นในอาหารกุ้งในระดับฟาร์ม และระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ : ตะกอนชีวภาพ, ไบรอตินทดแทนปลาป่น, อาหารกุ้ง, ภูมิคุ้มกัน.

Sea cucumber (*Holothuria scabra*) extracts attenuate memory deficits in vascular dementia in mice

Farhana Padungraksart*

Thitipong Naowasiri* Narawut Pakaprot**

Thanaporn Rungruang* Thongchai Taechowisan***

Prasert Sobhon**** Supin Chompoopong*

Padungraksart F, Naowasiri T, Pakaprot N, Rungruang T, Taechowisan T, Sobhon P, Chompoopong S. Sea Cucumber (*Holothuria scabra*) extracts attenuate memory deficits in vascular dementia mice. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 342 - 5

Background : Sea cucumber (*Holothuria scabra*) extract or HsE contains several kinds of substances that can serve as natural health products such as saponins or triterpene glycosides. Pharmacological studies indicate anti-inflammatory and anticancer properties of the sea cucumber saponins that may enhance learning and memory and promote brain functions.

Objective : To determine therapeutic potential of HsE as an alternative treatment for vascular dementia, cerebral hypoperfusion was induced by modified common carotid artery occlusion in 60 ICR mice.

Methods : After arterial occlusion, HsE was injected intraperitoneally for 10 days in HsE treated group, then Morris water maze and voice cued fear conditioning test were performed. At the end of the experiment, eye balls and brains of sacrificed mice were dissected for histopathological studies of retinal layers, white mater (WM) damage in corpus callosum, pyramidal cell death in hippocampal CA1 and level of TNF- α and IL-1 β in serum and brains.

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

** Department of Physiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

*** Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University

**** Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

Results : *The expression of TNF- α and IL-1 β in serum and brain were significantly decreased in HsE treated group when compared to occlusion group. HsE significantly improved memory retention at $P < 0.05$, treated group swam up to platform with less escape latency time (14.69 ± 2.12 sec) than occlusion group (21.54 ± 3.22 sec). The memory retention with increased freezing behavior was also significantly increased from $12.96\% \pm 4.91$ to $49.53\% \pm 9.72\%$, at $P < 0.001$. The decreased pyramidal cell death in hippocampal CA1 area, improved retina and WM damages related to decrease in TNF- α and IL-1 β level in serum and brains.*

Conclusion : *HsE showed therapeutic effects against cerebral hypoperfusion and attenuated memory deficits. The decreased pyramidal cell death in hippocampal CA1 area, improved retina and WM damages related to decrease in TNF- α and IL-1 β level in serum and brains; therefore, the role of HsE may be described by its anti-inflammatory effect.*

Keywords : *Sea cucumber, cerebral hypoperfusion, anti-inflammation, CA1.*

พารานา ผดุงรักษาศาสตร์, ฐิติพงศ์ เนาวศิริ, นราวุฒิ ภาคาพรต, ธนาภรณ์ รุ่งเรือง, ธงชัย เตโชวิศาล, ประเสริฐ โศภณ, สุพิน ชมพูนพช้. สารสกัดปลิงทะเลช่วยลดความจำบกพร่องในภาวะสมองเสื่อมจากสมองขาดเลือด. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62(3): 342 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : สารสกัดปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra* extracts หรือ HsE) เป็นผลผลิตธรรมชาติที่มีคุณค่าต่อสุขภาพโดยมีองค์ประกอบเป็นสารพวก saponins และ triterpene glycoside การศึกษาทางเภสัชวิทยาบ่งชี้ว่ามีคุณสมบัติต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง ซึ่งอาจมีผลต่อความบกพร่องของการเรียนรู้และความจำโดยส่งเสริมการทำงานของสมองให้ดีขึ้น การตรวจสอบศักยภาพของสารสกัด HsE เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการรักษา หนูที่มีภาวะสมองเสื่อมจากการขาดเลือดไปเลี้ยง (cerebral hypoperfusion) การชักนำให้เกิดภาวะสมองขาดเลือดไปเลี้ยง โดยการตัดแปลงการผูกหลอดเลือด common carotid (mCCAO)

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลต้านการอักเสบของสารสกัดปลิงทะเลขาวต่อการเกิดสมองเสื่อมเหตุสมองขาดเลือด

วิธีการทำวิจัย : การศึกษานี้ใช้หนูไมซ์ชนิด ICR 60 ตัว ถูกทำการผ่าตัดเพื่อให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด วันถัดไปฉีดสารสกัด HsE เข้าทางช่องท้องเป็นเวลานาน 10 วันสำหรับกลุ่ม HsE ตามด้วยฝึกและทดสอบพฤติกรรม ความจำและเรียนรู้การว่ายน้ำ (Morris water maze, MWM) และวัดความสามารถในการจดจำเสียงซึ่งเป็นสัญญาณเตือนแสดงอันตราย Voice-cued fear conditioning test; VCF) จัดเป็นการทดสอบพฤติกรรมความจำและการเรียนรู้ที่ไม่ต้องอาศัยการมองเห็น เมื่อสิ้นสุดการทดสอบได้ทำการสลับหนูทั้งหมดและ เมตาฆาต ข้าแหละนำลูกตาและสมองออกมาเพื่อศึกษาลักษณะจุลพยาธิวิทยาบริเวณชั้นเรตินา (retinal layer) และใยประสาทในเนื้อสมองส่วนขาว (white matter; WM) บริเวณ corpus callosum และนับเซลล์ประสาทที่ตายบริเวณ hippocampal CA1

- ผลการศึกษา** : การทำ mCCAO เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะสมองเสื่อมจากการขาดเลือดในหนูกลุ่ม CO พบว่าค่าโปรตีน TNF- α และ IL-1 β ในซีรัม ลดลงเมื่อรักษาด้วย HsE นอกจากนั้นสารสกัด HsE ช่วยให้หนูจดจำการทดสอบและสามารถว่ายน้ำขึ้นไปยังแพลตฟอร์มได้ถูกต้องและรวดเร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (14.69 ± 2.12 วินาที) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ภาวะสมองขาดเลือดเป็นเวลานานในหนูกลุ่ม CO-Nss (21.54 ± 3.22 วินาที) และเพิ่มค่าร้อยละ พฤติกรรมความจำและการเรียนรู้เรื่องเสียงเป็นสัญญาณเตือนแสดงอันตรายโดยวัดการหยุดนิ่ง (Freezing) ที่แสดงออกเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดความกลัวการถูกช็อตด้วยไฟฟ้าใน session ที่ 4 จากร้อยละ 12.96 ± 4.91 เป็นร้อยละ 49.53 ± 9.72 ($P < 0.001$) พฤติกรรมการ freezing ซึ่งการตอบสนองต่อความกลัวที่ผ่านการเรียนรู้และจดจำเสียงที่เป็นสัญญาณแสดงอันตราย นอกจากนี้ลดการตายของเซลล์ในบริเวณ hippocampal CA1, WM และชั้นเรตินา ซึ่งสัมพันธ์กับค่าโปรตีน TNF- α และ IL-1 β ที่ลดลงทั้งในซีรัม และสมอง
- สรุป** : สารสกัด HsE สามารถช่วยลดความบกพร่องของความจำสอดคล้องกับการลดการตายของเซลล์ประสาทในบริเวณ CA1 hippocampal, WM และชั้นเรตินาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติผลการศึกษานี้ชี้ว่าสารสกัด HsE อาจนำมาพัฒนาใช้เป็นยาเพื่อการรักษาภาวะด้านอาการอักเสบได้
- คำสำคัญ** : สารสกัดปลิงทะเล, การอุดตันของหลอดเลือด, ภาวะด้านอาการอักเสบ, CA1.

Involvement of fucosylated glycoproteins in gills of giant freshwater prawns in *Macrobrachium rosenbergii* Nodavirus binding process

Monsicha Somrit* Wattana Weerachatanukul*

Somluk Asuvapongpattana* Atthaboon Watthammawut**

Somrit M, Weerachatanukul W, Asuvapongpattana S, Watthammawut A. Involvement of fucosylated glycoproteins in gills of giant freshwater prawns in *Macrobrachium rosenbergii* Nodavirus binding process. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 346 - 8

Background : *The giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii is important species for aquaculture industries in Thailand. However, aquaculture of this species of prawn has been beset many issues, and in particular by the afflictions of many water-borne diseases. White-tail disease (WTD) is one of the most devastating, as the disease can cause complete mortality of young offspring in closed rearing ponds. Our understanding of the infection process of the etiological agent of WTD Macrobrachium rosenbergii Nodavirus (MrNV) is relatively limited. Nevertheless, as many other non-envelop viruses have been shown to utilize glycomoities on host surfaces as binding molecules; these previous studies have led to our interest in studying possible glycomoities that may serve as interacting molecules in the targeted tissues of the virus.*

Objective : *To study the glycomoities that may serve as interacting molecules in the targeted tissues (gills and hepatopancreas) of the virus.*

Methods : *To confirm that the gills and hepatopancreas are MrNV-targeted tissues, these tissues were challenged with MrNV, probed with a virus specific antibody, and observed by fluorescence microscopy. We then compared protein profiles and used lectin probing to search for the existence of specific carbohydrate moieties on the surface of these two tissues using SDS-PAGE, immunofluorescence and GC/MS techniques.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

Results : *We found that protein and carbohydrate profiles were relatively different in the gills and hepatopancreas tissues. Given that the results showed fucose levels were higher in the gills than in the hepatopancreas, we used fucose-specific lectin UEA-I and free fucose to competitively inhibit MrNV-VLPs in binding with the respective tissues. Immunofluorescence and ELISA results suggested that these substances were able to significantly reduce MrNV-VLP binding in the gills but not in the hepatopancreas.*

Conclusion : *This study was able to demonstrate the existence of a highly unique glycosylation in gill tissues susceptible to MrNV binding, and that fucosylation is important in this interaction. This should lead to the development of fucose-based molecules to prevent WTD in the future.*

Keywords : *Nodavirus, MrNV infection tissues, carbohydrate moieties, glycoproteins.*

มนสิชา สมฤทธิ์, วัฒนา วีระชาติยานุกูล, สมลักษณ์ อสุวพงศ์พัฒนา, อรรถบุญญ วัฒนธรรมาวุธ.
 ฟิวโคสในเนื้อเยื่อเหงือก เกี่ยวข้องกับกระบวนการปฏิสัมพันธ์ของโนด้าไวรัสกึ่งก้ามกราม.
 จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 346 - 8

เหตุผลของการทำวิจัย : โนด้าไวรัสเป็นไวรัสที่ทำให้เกิดโรคทางขาในกึ่งก้ามกราม และทำให้เกิดการตายของตัวอ่อนอย่างสิ้นเชิง ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างประเมินค่าไม่ได้ ปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับวงจรการติดเชื้อของโนด้าไวรัสมีน้อยมาก และยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันหรือรักษาได้ แต่ในการวิจัยที่ผ่านมา พบว่าเชื้อไวรัสในสัตว์น้ำทั่วไปจะพื้หน้ำน้ำตาลที่จำเพาะบนผิวเซลล์เพื่อเกาะและเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาหน้ำน้ำตาลที่อาจเป็นเป้าหมายในการจับกับโนด้าไวรัสบนเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ (เนื้อเยื่อเหงือก และตับ)

วิธีการทำวิจัย
 เนื้อเยื่อเหงือกและตับของกึ่งก้ามกรามถูกนำมาจับกับโนด้าไวรัส ก่อนย้อมด้วยแอนติบอดีและสารเรืองแสง จากนั้นจึงนำเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดนี้มาศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีน โดยการทำให้ SDS-PAGE และศึกษาปริมาณน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรต โดยการย้อมด้วยเลคติน ร่วมกับการทำ immunofluorescence และ GC/MS เมื่อพบว่าเนื้อเยื่อเหงือกของกึ่งก้ามกราม มีหน้ำน้ำตาล Fucose มากกว่า เนื้อเยื่อตับ จึงทดสอบต่อโดยการยับยั้งการจับของไวรัสด้วยเลคติน UEA ที่มีส่วนปลายที่จำเพาะกับฟิวโคส และน้ำตาลฟิวโคสอิสระ บนเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด จากนั้นทำ immunofluorescence และ ELISA

ผลการศึกษา : พบว่าโนด้าไวรัสสามารถจับกับเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดได้ ยืนยันว่าเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดนี้เป็นเนื้อเยื่อพาหะของโนด้าไวรัส แต่เนื้อเยื่อทั้งสองชนิดมีกลุ่มโปรตีนและกลุ่มน้ำตาลที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่าเนื้อเยื่อเหงือกของกึ่งก้ามกราม มีหน้ำน้ำตาล Fucose มากกว่า เนื้อเยื่อตับ จึงทดสอบต่อโดยการยับยั้งการจับของไวรัสด้วยเลคติน UEA ที่มีส่วนปลายที่จำเพาะกับฟิวโคส และน้ำตาลฟิวโคสอิสระ บนเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด หลังจากการยับยั้งด้วยสารข้างต้น พบว่าไวรัสจับเนื้อเยื่อเหงือกได้ลดลง แต่สามารถจับกับเนื้อเยื่อตับได้เท่าเดิม

สรุป : ฟิวโคสในเนื้อเยื่อเหงือกอาจเกี่ยวข้องกับการปฏิสัมพันธ์ของโนด้าไวรัส อย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการศึกษาถึงความเฉพาะเจาะจงของโครงสร้างน้ำตาล ตลอดจน ความเกี่ยวข้องพันกับกระบวนการติดเชื้อต่อไป เพื่อพัฒนาสารยับยั้งโรคทางขาต่อไปอีกในอนาคต

คำสำคัญ : เชื้อไวรัสในกึ่ง โนด้าไวรัสกึ่งก้ามกราม เนื้อเยื่อพาหะ คาร์โบไฮเดรต ฟิวโคส.

Motor performance and alterations of phospholipid as well as their distribution in motor cortex of MPTP-induced parkinsonism in mouse model

Morakot Sroyraya*,** Kunwadee Noonong*

Pennapa Chonpathompikunlert*** Tanapan Siangcham****

Veerawat Sansri***** Wanwisa Waiyaput*****

Paisan Jittorntam***** Prasert Sobhon*,****

Sroyraya M, Noonong K, Chonpathompikunlert P, Siangcham T, Sansri V, Waiyaput W, Jittorntam P, Sobhon P. Motor performance and alterations of phospholipid as well as their distribution in motor cortex of MPTP-induced parkinsonism in mouse model. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 349 - 52

Background : *Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder caused by deterioration of dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta (SNc). Deregulation of lipid and free fatty acid metabolisms contribute to various neurological diseases, including PD.*

Objectives : *The objective of this study was to investigate changes in the levels of lipids and visualization of the distribution of lipids in motor cortex of 1 – methyl – 4 – phenyl – 1, 2, 3, 6 – tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism mice by using matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (MALDI-IMS).*

Methods : *The mice were divided into 3 groups, namely: control, acute and subacute MPTP-induced parkinsonism groups. Motor performance was assessed at day 0, 3, 7, 14, and 21 and they were then sacrificed and their brains removed. Spatial distribution of phospholipids in motor cortex of MPTP-induced and control mice were studied by using MALDI-IMS.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Mahidol University, Nakhonsawan Campus

*** Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research

**** Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

***** Occupational Therapy Division, Faculty of Physical Therapy, Mahidol University

*****Research Center, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University

Results : Seven phosphatidylcholine (PCs) were not changed between 3 groups. Four identified PCS were increased by time-dependent manner in the 3 groups. Seven PCs decreased in acute and subacute MPTP-induced mice. In addition, PCs with polyunsaturated fatty acids (PUFAs) such as omega-6, 20:4 (Arachidonic acid, ARA) and omega -3, 22:6 (Docosahexaenoic acid, DHA) decreased in acute MPTP-induced and more decreased in subacute-induced mice when compared with the control.

Conclusion : The level of lipid changes in motor cortex such as PCs with ARA decreased in acute and subacute MPTP-induced mice and obviously observed from day 3 to 21. This study suggests that the changes in levels and modulations of lipids in the brain are linked to PD.

Keywords : Parkinson's disease, MPTP, lipid alterations, polyunsaturated fatty acids, (MALDI - IMS).

มรดก สร้อยระย้า, กุลวดี หนูหนอง, เพ็ญญา ชลปฐมพิกุลเลิศ, ธนพรรณ เสียงแจ่ม, วีรวัฒน์ แสนศรี, วรณวิสา ไวยพุด,ไพศาล จิตธรรม, ประเสริฐ โศภน. ความสามารถในการเคลื่อนไหวกับการเปลี่ยนแปลงและการกระจายของไขมันในสมองหนูที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย MPTP ให้เกิดโรคพาร์กินสัน. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 349 - 52

เหตุผลของการทำวิจัย : โรคพาร์กินสันเป็นโรคที่พบมากเป็นอันดับสองในผู้สูงอายุที่มากกว่า 65 ปี สมองเป็นส่วนที่มีไขมันมากเป็นลำดับที่สองของร่างกายรองจาก adipose tissue ซึ่งไขมันที่พบในสมองมากที่สุดคือ phospholipids มีการศึกษาพบว่าในคนที่โรคพาร์กินสัน พบการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบของไขมันและกรดไขมันใน frontal cortex โดยพบว่ามีการลดลงของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acids, PUFAs) โดยเฉพาะโอเมกา 3 และ 6

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาความสามารถในการเคลื่อนไหวในหนู ที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีอาการคล้ายโรคพาร์กินสัน ด้วย 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) พร้อมทั้งระดับของไขมันที่เปลี่ยนไป โดยเฉพาะ PUFAs ใน motor cortex และศึกษาการกระจายตัวของไขมัน นั้น ๆ ใน motor cortex

วิธีการทำวิจัย : หนูเมาส์สายพันธุ์ C57BL/6 อายุ 7 - 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 22 - 27 กรัม ถูกแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือฉีดด้วย NSS ฉีดด้วย MPTP แบบ acute และแบบ subacute จากนั้นนำหนูไปทดสอบความสามารถในการเคลื่อนไหว ณ วันที่ 0, 3, 7, 14 และ 21 หลังจากฉีดด้วยสารดังกล่าว จากนั้นนำสมองของหนูมาทดสอบหาการเปลี่ยนแปลงและการกระจายตัวของไขมันด้วย matrix assisted laser desorption ionization imaging mass spectrometry

ผลการศึกษา : ผลพบว่าหนูที่เหนี่ยวนำด้วย MPTP มีการเดินได้ช้า การทรงตัวและการประสานการสั่งการไม่ดี จากการประเมิน sensorimotor deficits ด้วยการให้หนูเดินบน grid นับจำนวน paw slip ของหนู ผลพบว่าหลังจากเหนี่ยวนำด้วย MPTP ไปแล้ว ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 14 หนูที่เหนี่ยวนำทั้งแบบ acute และ subacute มีจำนวน paw slip มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และจากการศึกษาความสามารถในการเคลื่อนไหวด้วยการทดสอบ catalepsy ผลพบว่าหลังจากเหนี่ยวนำด้วย MPTP ในวันที่ 0 หนูใช้เวลาใน catalepsy test มากขึ้น

สรุป

:

กว่ากลุ่ม control และจากการดูการสั่น (resting tremor) ผลพบว่าจากการเหนี่ยวนำด้วย MPTP แบบ acute และ subacute หนูมีการสั่นมากในวันที่ 0, 3 และ 7 ส่วนกลุ่มควบคุมไม่มีการสั่นขณะพักเลย หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาดูการกระจายของ phospholipids โดยเฉพาะ phosphatidylcholine (PCs) ผลพบว่าในวันที่ 0 และ 3 ให้ผลคล้ายกัน และผลของวันที่ 7, 14 และ 21 ให้ผลคล้ายกัน โดยการกระจายของ PCs 4 ชนิด เพิ่มขึ้นหลังจากฉีด MPTP และมี 7 ชนิด ลดลงหลังจากฉีด MPTP สมองของหนูที่ถูกฉีดด้วย MPTP ให้มีอาการของโรคพาร์กินสัน พบว่าไขมันที่พบส่วนมากเป็น PCs ที่ประกอบไปด้วยไขมันอิ่มตัว ไขมันไม่อิ่มตัว และที่พบมากคือกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) เป็นที่สังเกตว่าเมื่อเหนี่ยวนำหนูให้มีอาการโรคพาร์กินสัน ด้วย MPTP แล้ว ไขมันชนิด PUFAs มีการกระจายตัวที่ลดลงใน motor cortex และ striatum

คำสำคัญ

:

โรคพาร์กินสัน, MPTP, lipid alterations, polyunsaturated fatty acids, matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry.

Effect of melatonin on the expression of BACE1, marker of Alzheimer's disease, in the hippocampus of aging rats

Ratchadaporn Pramong*

Piyarat Govitrapong**,*** Pansiri Phansuwan-Pujito*

Pramong R, Govitrapong P, Phansuwan-Pujito P. Effect of melatonin on the expression of BACE1, marker of Alzheimer's disease, in the hippocampus of aging rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 353 - 5

Background : *Aging is defined as gradual irreversible deteriorations of physical and mental functions that lead to increased risks of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease (AD). BACE1 is the a major enzyme that involves in plaque formation in aged brains of aging and AD patients. The hippocampus, a brain area that plays an important role in learning and memory, is one of the first areas to be affected by AD. Interestingly, disruptions of both sleep and circadian rhythms have long been associated with aging. Moreover, the level of melatonin, a hormone acting as an endogenous circadian time cue, is very low at the time of aging.*

Objectives : *Therefore, this study aimed to investigate the effect of time, age on the circadian rhythm that links to Alzheimer' marker, BACE1, in rat hippocampus; and also study the effect of melatonin on the expression of BACE1 both mRNA and protein.*

Methods : *Melatonin treated group were given melatonin dissolved in tap water (20 mg/l) during the nighttime for 2 months. The expression of BACE1 mRNA and protein in adult (2 months) and aging (24 months) at 12 hours apart (Zeitgeber time (ZT) 08 and ZT20 were studied by using real-time PCR and Western blot analysis, respectively.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

** Chulabhorn Royal Academy, Chulabhorn Graduate Institute

***Research Center for Neuroscience, Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University

- Results** : *In 2-month-old rats, the expressions of both BACE1 mRNA and protein were in the circadian rhythm with the maximal values of at ZT11 and ZT23, respectively. In old-aged group, BACE1 showed a significantly increased and no rhythmic expression. Moreover, melatonin administration in drinking water during the nighttime for 2 months was able to decrease BACE1 mRNA and protein levels in the hippocampus.*
- Conclusion** : *The present study suggests that melatonin may be a potential protective and anti-amyloidogenic agent for slowing down or stopping AD.*
- Keywords** : *BACE1, hippocampus, aging, melatonin, circadian rhythm, Alzheimer's disease.*

รัชฎาภรณ์ ประมงค์, ปิยะรัตน์ โกวิททรงศ์, ปานสิริ พันธุ์สุวรรณ. ผลของเมลาโทนินต่อการสร้างเอนไซม์ BACE1 ซึ่งเป็นสารบ่งชี้โรคอัลไซเมอร์ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มี.ย.; 62 (3): 353 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : การชราภาพ คือ กระบวนการเสื่อมสภาพของร่างกาย และมีการเรียนรู้จดจำที่ลดลง และเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้นก็จะยิ่งเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางระบบประสาทต่าง ๆ เช่น โรคอัลไซเมอร์ได้ โดยพบว่า BACE1 เป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดการสร้างอะไมลอยด์พลาค ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ของโรคอัลไซเมอร์ ที่จะพบมากขึ้นในผู้สูงอายุและผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ โดยมีสมองส่วนฮิปโปแคมปัสที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้จดจำเป็นสมองส่วนแรก ๆ ที่เสียหายในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้ผู้สูงอายุยังประสบปัญหากับความผิดปกติของวงจรการหลับตื่น และจังหวะรอบวันต่าง ๆ รวมทั้งพบว่าเมลาโทนินที่เป็นฮอร์โมนสำคัญในการบอกเวลา และควบคุมจังหวะรอบวันในร่างกาย มีระดับลดลงเมื่อเข้าสู่วัยชรา

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาว่าเวลาและอายุ จะมีผลต่อการแสดงออกของเอนไซม์ BACE1 ทั้งในระดับยีนและโปรตีนในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสหรือไม่ และการให้เมลาโทนินเสริมในหนูสูงวัยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนและโปรตีน BACE1 นี้หรือไม่

วิธีการทำวิจัย : ผสมเมลาโทนินในน้ำดื่ม (20 mg/l) ให้แก่หนูอายุ 24 เดือน ในเวลา กลางคืน ติดต่อกันเป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างสมองส่วนฮิปโปแคมปัสที่เวลากลางวัน (ZT08) และเวลากลางคืน (ZT20) และวัดการแสดงออกระดับยีนและโปรตีนในหนูอายุ 2 เดือนและหนูสูงวัยอายุ 24 เดือน ด้วยวิธี real-time PCR และ Western blot analysis ตามลำดับ

ผลการศึกษา : หนูโตเต็มวัยมีการแสดงออกของยีน BACE1 เป็นจังหวะรอบวัน และมีปริมาณสูงเวลากลางวัน (ZT11) ในขณะที่โปรตีนมีการแสดงออกสูงที่เวลากลางคืน (ZT23) แต่ในหนูสูงวัยอายุ 24 เดือน ไม่พบจังหวะรอบวัน แต่มีปริมาณ BACE1 เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับหนูโตเต็มวัย และเมื่อให้เมลาโทนินเสริมพบว่าสามารถลดระดับการแสดงออกของ BACE1 ได้ทั้งระดับ mRNA และโปรตีน

สรุป : เมลาโทนินสามารถป้องกันการสร้างอะไมลอยด์พลาคได้ โดยการลดระดับเอนไซม์ BACE1 ซึ่งน่าจะช่วยชลอหรือป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้

คำสำคัญ : BACE1, ฮิปโปแคมปัส, การชราภาพ, เมลาโทนิน, จังหวะรอบวัน, โรคอัลไซเมอร์.

***Holothuria scabra* extract induces apoptosis in breast cancer cell line**

Laphatrada Yurasakpong*

Somjai Apisawetakan** Kanta Pranweerapaiboon*

Prasert Sobhon*** Kulathida Chaithirayanon*

Yurasakpong L, Apisawetakan S, Pranweerapaiboon K, Sobhon P, Chaithirayanon K.
***Holothuria scabra* extract induces apoptosis in breast cancer cell line. Chula Med J 2018**
May – Jun;62(3): 356 - 8

Background : *Triple-negative breast cancer is the most aggressive subtype of breast cancer. It is generally more difficult to treat using conventional therapy due to the lack of all three receptors including estrogen, progesterone and Her2/neu receptors. Holothuria scabra, a species of sea cucumber in the family Holothuriidae, is known to have multiple bioactive compounds including phenolic molecules, chondroitin sulfate, fucoid and triptene glycoside; some of which have important pharmacological and biological properties, especially for induction of apoptosis in cancer cells. It could be useful for the treatment of the triple-negative breast cancer.*

Objective : *The aim of this study was to determine the effect of ethyl-acetate extract fraction from body wall (BWEA) of H. scabra on apoptosis in vitro model*

Methods : *Human adenocarcinoma cell line, MDA-MB-231 cells were treated with various concentrations of BWEA at 24 and 48 h. MTT assay was performed to test the cytotoxicity. Subsequently, cells undergoing apoptosis were observed by Hoechst 2231 staining. The expressions of apoptosis markers were quantified using Western blot analysis.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

***Department of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi Province

Results : *MTT assay showed that BWEA extract from H. scabra inhibited cell viability of MDA-MB-231 cells with an IC_{50} of 45.26 $\mu\text{g/ml}$ at 24 h. Hoechst staining revealed nuclear fragmentation and condensation after the extract treatment. Western blot analyses showed significantly increased expressions of pro-apoptotic BAX, caspase-3, and caspase-9, as well as decreased expressions of anti-apoptotic Bcl-2.*

Conclusion : *Our results suggested that BWEA extract from H. scabra could inhibit the proliferation and induction of apoptosis in MDA-MB-231 cells.*

Keywords : *Holothuria scabra, breast cancer, anti-cancer, apoptosis.*

ลภัสรดา ยุรศักดิ์พงศ์, สมใจ อภิเศกตกานต์, กานตา ปรานวีระไพโรบูรณ์, ประเสริฐ โสภณ, กุลธิดา ชัยธีระยานนท์. สารสกัดจากปลิงทะเล *Holothuria scabra* เหนี่ยวนำการเกิดการตายแบบอะพอพโตซิสในเซลล์มะเร็งเต้านมต้นแบบ. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62(3): 356 – 8

เหตุผลของการทำวิจัย : เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด triple-negative เป็นชนิดที่มีความรุนแรงมากที่สุด ในมะเร็งเต้านม ซึ่งโดยทั่วไปยากต่อการรักษา เนื่องจากไม่มีการแสดงออกของตัวรับสัญญาณทั้ง 3 ตัว ซึ่งประกอบด้วย ตัวรับสัญญาณเอสโตรเจน, โปรเจสเทอโรน และ เฮอร์ 2 ในการค้นคว้าการรักษาแบบทางเลือก *Holothuria scabra* เป็นสายพันธุ์ปลิงทะเล ในกลุ่มของ *Holothuriidae* ซึ่งประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย อาทิเช่น สารกลุ่มของฟีโนริก, คอนโดติน ซัสเฟส, ฟุคอย และ ไตรเทอร์พีนไกลโคไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้ทำหน้าที่สำคัญทางเภสัชวิทยา และมีคุณสมบัติทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

วัตถุประสงค์ : เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์ ethyl-acetate จากส่วนผนังลำตัวของปลิงทะเล *Holothuria scabra* ต่อการตายแบบอะพอพโตซิสในหลอดทดลอง

วิธีการทำวิจัย : เซลล์มะเร็งมนุษย์ MDA-MB-231 ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT หลังจากนั้น เซลล์ที่กำลังตายแบบอะพอพโตซิสถูกสังเกตโดยการย้อม Hoechst 2231 และตรวจการแสดงออกของโปรตีนของอะพอพโทซิส โดยการใช้ Western blot

ผลการศึกษา : ผลการทดลองของ MTT แสดงผลของสารสกัด จากส่วน BWEA จากปลิงทะเล ยับยั้งเซลล์มะเร็ง MDA-MB-231 ด้วยค่า IC_{50} 45.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ 24 ชั่วโมง การย้อม Hoechst แสดงให้เห็น นิวเคลียสแตกตัว และ นิวเคลียสรวมตัวกันแน่นหลังจากได้รับสารสกัด จากการศึกษาผลของ Western blot พบว่าการแสดงออกของโปรตีน BAX, caspase-3, and caspase-9 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญซึ่งเกี่ยวข้องกับ การตายแบบอะพอพโตซิสรวมถึงการแสดงออกที่ลดลงของโปรตีน Bcl-2 ที่ต่อต้านการตายแบบอะพอพโตซิส

สรุป : จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดส่วนของ BWEA จากปลิงทะเล *Holothuria scabra* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสในเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231

คำสำคัญ : *Holothuria scabra*, มะเร็งเต้านม, การยับยั้งมะเร็ง, การตายแบบอะพอพโตซิส.

Neuroprotective effect of protein hydrolysate from pigmented rice against A β -injected rats

Wanassanan Pannangrong*,** Bungorn Sripanidkulchai**
Jariya Umka Welbat*,*** Wunnee Chaijaroonkhanarak*

Pannangrong W, Sripanidkulchai B, Welbat JU, Chaijaroonkhanarak W. Neuroprotective effect of protein hydrolysate from pigmented rice against A β -injected rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 359 - 61

Background : Bioactive food-derived peptides possess the ability to promote wellness or reduce the risk of diseases. The natural antioxidants have been proposed as alternative therapeutic agents for Alzheimer's disease. It also has been reported that pigmented rice (*Oryza sativa* L.) has natural antioxidants.

Objective : The present study aimed to determine the neuroprotective effect of protein hydrolysate from pigmented rice (HPR) against β -amyloid injected rats.

Methods : Male adult Sparge Dawley rats were orally given aqueous protein hydrolysate extract of *Oryza sativa* L. at various doses ranging from 10, 20, and 40 mg/kg BW for 8 weeks. At day 56, A β 1-42 was injected via both sides of lateral ventricles. After 1 week of A β injection, the rats were tested for cognitive performance using Morris water maze and Novel object recognition tasks.

Results : A β 1-42 obviously exhibited cognitive deficits by increasing escape latency time, decreasing retention time and the discriminative index. When compared to the V plus A β group, the HPR20-, HPR40-treated rats showed a significantly shorter escape latency time, longer retention time, and higher discriminative index during 5 minutes and 24-hour delay testing phase, reflecting the increase of learning capacity, short-term and long-term spatial memory, and recognition memory of HPR.

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Center for Research and Development of Herbal Health Products, Khon Kaen University

***Neuroscience Research and Development Group, Khon Kaen University

Conclusion : *These findings reveal initial evidence that HPR may be benefit to be used for neuroprotective effect.*

Keywords : *Protein hydrolysate, morris water maze, novel object recognition, spatial memory.*

วนัสนันท์ แป้นนางรอง, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, จริญญา อำคา เวลบาท, วรณีย์ ชัยจรรยาคุณารักษ์.
ฤทธิ์ป้องกันระบบประสาทของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากข้าวสาลีพันธุ์พื้นเมืองในหนูทดลองที่ถูก
ฉีดด้วยบีต้าอไมลอยด์. จุลาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 359 – 61

เหตุผลของการทำวิจัย : สารเปปไทด์จากอาหารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมีความสามารถส่งเสริม
สุขภาพหรือลดความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ
ถูกนำเสนอว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ มีรายงาน
ว่าข้าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ : เพื่อทดสอบฤทธิ์ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากข้าวสาลีพันธุ์พื้นเมืองด้าน
การป้องกันการเสื่อมของระบบประสาทในหนูทดลองที่ถูกฉีดด้วย
บีต้าอไมลอยด์

วิธีการทำวิจัย : โปรตีนสกัดจากข้าวสาลีขนาด 10, 20 และ 40 มก./กก. ถูกป้อนให้กับหนู
ทดลองสายพันธุ์ Sparge Dawley วัยเจริญพันธุ์ เพศผู้ เป็นเวลา 8 สัปดาห์
หลังจากป้อนสาร 56 วัน หนูทดลองถูกฉีดด้วยสารละลายบีต้าอไมลอยด์
เข้าโพรงสมองทั้ง 2 ข้าง หลังจากนั้น 1 สัปดาห์จึงประเมินทักษะการเรียนรู้
และความจำด้วย Morris water maze และ Novel object recognition

ผลการศึกษา : สารละลายบีต้าอไมลอยด์มีผลให้เกิดการสูญเสียการเรียนรู้และ
ความจำโดยเพิ่มค่า escape latency time และทำให้ค่า retention time
และ discriminative index ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ถูก
ฉีดด้วยบีต้า อไมลอยด์ ขณะที่หนูที่ถูกป้อน HPR20, HPR40 มีค่า escape
latency time ลดลง ค่า retention time และ discriminative index ที่ 5
นาที และ 24 ชั่วโมงเพิ่มขึ้นชัดเจน บ่งบอกว่าหนูที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซท
จากข้าวสาลีมีการเรียนรู้ ความจำทั้งระยะสั้นและระยะยาวแบบ spatial
และมี recognition ดี

สรุป : ผลการศึกษานี้แสดงข้อมูลเบื้องต้นว่ามีความเป็นไปได้ที่สารสกัด
ไฮโดรไลเซทจากข้าวมีสีช่วยป้องกันระบบประสาทด้านการสูญเสีย
การเรียนรู้และความจำ

คำสำคัญ : โปรตีนไฮโดรไลเซท, Morris water maze, novel object recognition,
spatial memory.

Types of acromion process: A preliminary study in scapulae of people in Northeast Thailand

Wunnee Chaijaroonkhanarak*

Pattama Amarttayakong* Somsiri Ratanasuwan*

Amnart Chaichun* Wanassanun Pannangrong*

Parichat Prachaney* Jariya Umka Welbart*,**

Chaijaroonkhanarak W, Amarttayakong P, Ratanasuwan S, Chaichun A, Pannangrong W, Prachaney P, Welbart JU. Types of acromion process: A preliminary study in scapulae of people in Northeast Thailand. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 362 - 3

Background : *Rotator cuff pathology is common cause of shoulder pain and has also been correlated with the variation of the acromion morphology. The different forms of acromion process have never been reported in people living in the Northeast of Thailand.*

Objective : *The purpose of this study was to classify shapes of the acromion process in Northeast Thai scapulae.*

Methods : *A total of 47 cases (94 sides) of dried human scapulae of people living in Northeastern Thailand with known age and sex, derived from the Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, were used. All acromion processes were examined through visual inspection. Their shapes were classified according to the Bigliani classification, namely, type I (flat), type II (curved) and type III (hooked).*

Results : *The distribution of types of the acromion process were identified as type I in 25 specimens (26.6%) and as type II in 69 sides of scapulae (73.4%). No type III acromion process was found. Most scapulae, 44 paired (93.6%) from 47 cases showed bilaterally symmetric shapes of acromion processes. The bilateral curved acromion was the most common type found in 33 paired (75%) while the bilateral flat acromion was detected in 11 paired (25%). Unilateral shape of acromion was observed in only 3 paired (6.4%).*

Conclusion : *This study provides a preliminary anatomical information regarding the shape of the acromion process in Northeast Thai population.*

Keywords : *Acromion process, Northeast Thailand, scapulae, variation.*

* Departments of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Neuroscience Research and Development Group, Khon Kaen University

วรรณิ ชัยจรุญญคุณารักษ์, ปัทมา อมาตยคง, สมศิริ รัตนสุวรรณ, อำนาจ ไชยขุน, วนัสนันท์
แป้นนางรอง, ปาริฉัตร ประจจะเนย์, จริญญา อำคา เวลบาท. รูปแบบของ acromion process:
การศึกษาเบื้องต้นในกระดูกสะบักคนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. จุฬาลงกรณ์เวชสาร
2561 พ.ศ. - มี.ย.; 62 (3): 362 - 3

เหตุผลของการทำวิจัย : พยาธิสภาพของเอ็นข้อไหล่เป็นสาเหตุทั่วไปที่ทำให้มีอาการปวดไหล่
และพบว่ามีความสัมพันธ์กับความผันแปรของรูปแบบของ acromion
process ยังไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับรูปแบบที่แตกต่างกันของ
acromion process ในคนไทย

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษารูปแบบของ acromion process ในคนไทยภาคตะวันออกเฉียง
เหนือ

วิธีการทำวิจัย : ศึกษาตัวอย่างกระดูกสะบักจำนวน 94 ข้าง จากโครงกระดูกคนไทย
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมทั้งสิ้น 47 โครง ที่ทราบอายุและเพศ ของ
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
สำรวจจรูปแบบความแตกต่างของ acromion process แต่ละชิ้นตาม
Bigliani classification ดังนี้ รูปแบบที่ 1 (แบน) รูปแบบที่ 2 (โค้ง) และ
รูปแบบที่ 3 (ตะขอ)

ผลการศึกษา : ผลการศึกษา acromion process ทั้ง 94 ข้าง พบการกระจายของรูปแบบ
ที่ 1 ในกระดูกสะบัก 25 ข้าง (ร้อยละ 26.6) และรูปแบบที่ 2 พบ 69 ข้าง
(ร้อยละ 73.4) ไม่พบ acromion process รูปแบบที่ 3 จากตัวอย่าง
กระดูกสะบักทั้ง 47 คู่ พบรูปแบบของ acromion process ที่เหมือนกัน
ทั้งข้างซ้ายและข้างขวา จำนวน 44 คู่ (ร้อยละ 93.6) โดยเป็นรูปแบบโค้งทั้ง
2 ข้าง 33 คู่ (ร้อยละ 75) ขณะที่ รูปแบบแบนทั้ง 2 ข้างพบเพียง 11 คู่
(ร้อยละ 25). กระดูกสะบักทั้ง 2 ข้าง ที่มีรูปแบบ acromion process
ต่างกันพบเพียง 3 คู่ (ร้อยละ 6.4) เท่านั้น

สรุป : ผลจากการศึกษานี้เป็นการให้ข้อมูลเบื้องต้นทางกายวิภาคศาสตร์ของ
ความผันแปรของรูปแบบ acromion process ในประชากรไทย
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

คำสำคัญ : Acromion process, คนไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, กระดูกสะบัก,
ความผันแปร.

Selective localization of VIAAT in the major saliva glands of mice

Waraporn Sakaew*

Suthankamon Krongyut* Atsara Rawangwong*

Hisatake Kondo* Wiphawi Hipkaeo*

Sakaew W, Krongyut S, Rawangwong A, Kondo H, Hipkaeo W. Selective localization of VIAAT in the major saliva glands of mice. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 364 - 6

Background : *The vesicular inhibitory amino acid transporter (VIAAT) is a synaptic vesicle protein responsible for the vesicular storage of gamma-aminobutyric acid (GABA) or glycine which plays a crucial role in GABAergic and glycinergic neurotransmission. According to recent studies, GABA not only is a transmitter in the nervous systems but also mediates various functional responses in non-neuronal tissues.*

Objective : *Therefore, the present study was attempted to localize VIAAT-immunoreactivity in the major saliva glands of mice such as the submandibular gland, the sublingual gland and parotid gland.*

Methods : *The major saliva glands from male mice were used for western blotting, immunohistochemistry and immuno-DAB electron microscopy.*

Results : *In western blotting, a single distinct band for VIAAT was detected in homogenates of major saliva glands of mice with the authentic molecular size for VIAAT in the brain control. The immunoreactivity for VIAAT of the major salivary glands were evident in the plasmalemma of the proximal and distal excretory duct cells. Weak immunoreactivity was seen in basal cytoplasm of ductal cells of intercalated portions. Whereas no immunoreactivity was seen in almost all the acinar cells. In immuno-DAB electron microscopy of the excretory duct cells, the immunoreactive materials were mainly localized along the basolateral plasma membranes forming the basal in foldings and lateral intercellular interdigitations.*

Conclusion : *The selective localization of a vesicular molecule on selected portions of the plasma membrane is possible that VIAAT might be incorporated into the selected domains of plasma membranes as the site of exocytosis or cross-reacts with the GABA transporter.*

Keywords : *Major salivary gland, immune blotting, immuno-DAB electron microscopy, plasma membrane.*

วรารณณ์ สาแก้ว, สุธารกมล ครองยุทธ, อัสรา ระวังวงศ์, Hisatake Kondo, วิภาวี หีบแก้ว.
การเลือกแสดงออกของโปรตีน VIAAT ในต่อมน้ำลายหลักของหนูไมส์. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร*
2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 364 - 6

- เหตุผลของการทำวิจัย** : โปรตีน vesicular inhibitory amino acid transporter (VIAAT) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นถุงหุ้ม gamma-aminobutyric acid (GABA) หรือ glycine ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิด GABAergic และ glycinergic จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า สื่อประสาท GABA ไม่เพียงแต่จะพบได้ในระบบประสาทเท่านั้นแต่ยังพบในเนื้อเยื่อส่วนอื่นนอกเหนือจากระบบประสาทเช่นเดียวกัน
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาตำแหน่งการแสดงออกของโปรตีน VIAAT ในต่อมน้ำลายหลักของหนูไมส์ ได้แก่ ต่อมน้ำลาย submandibular ต่อมน้ำลาย sublingual และต่อมน้ำลาย parotid
- วิธีการทำวิจัย** : ต่อมน้ำลายหลักของหนูไมส์เพศผู้ถูกใช้เพื่อทำศึกษาด้วยวิธี Western blotting, Immunohistochemistry และ immuno-DAB electron microscopy
- ผลการศึกษา** : ผลการศึกษาด้วยวิธี Western blotting ต่อโปรตีน VIAAT พบว่าโปรตีนจากต่อมน้ำลายหลักของหนูไมส์มีแถบที่ตรงกับโปรตีนควบคุมจากสมองส่วนวิธี immunohistochemistry ต่อโปรตีน VIAAT ในต่อมน้ำลายหลักพบว่าการแสดงออกมากที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของท่อน้ำลายทั้งส่วนต้นและส่วนปลาย ส่วนท่อน้ำลายส่วน intercalated มีการแสดงออกที่ไม่มาก แต่ไม่พบการแสดงที่บริเวณ acinar cells สำหรับวิธี immuno-DAB electron microscopy พบว่าโปรตีน VIAAT แสดงออกที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ด้านล่าง ส่วนที่ยื่นเข้าไปในเซลล์ และบริเวณด้านข้างของเซลล์
- สรุป** : การเลือกแสดงออกของโปรตีน VIAAT ในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์นั้น เป็นไปได้ว่า โปรตีน VIAAT นั้นอาจถูกรวมเข้ากับเยื่อหุ้มเซลล์บริเวณที่เกิดกระบวนการขนส่งสารออกนอกเซลล์หรืออาจทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ขนส่ง GABA
- คำสำคัญ** : ต่อมน้ำลายหลัก, immunoblotting, immuno-DAB electron microscopy, เยื่อหุ้มเซลล์.

Effect of *Momordica charantia* L. extract on histological change of liver in murine malaria

Wanrunee Wangsoh* Thanaporn Rungruang*

Aikkarach Kettawan** Reawika Chaikomin***

Wangsoh W, Rungruang T, Kettawan A, Chaikomin R. Effect of *Momordica charantia* L. extract on histological change of liver in murine malaria. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 367 - 9

Background : *One-half of the global population or about 3.2 billion people are at risk of malaria infection resulting about 20 million infections and about 600,000 deaths annually. Liver is the first target organ of malaria infection, to reduce the severity, potentially safe drug is needed. M. charantia L. has lots of phytochemical profiles and has potential as anti-oxidant and anti-malarial; several studies use M. charantia L. as treatment after infection but the study about pre-infection administration of Momordica charantia L. has never been reported.*

Objective : *The study was aimed to investigate the effect of pre-infection administration of M. charantia L. extract on hepatoprotective and histological change of liver in murine malaria.*

Methods : *Six-week-old female ICR mice (25-30g) were divided into 6 groups of 5: NC (normal control) received only water and standard diet; PC (positive control) injected with 10⁷P. yoelii 17XL per mL with no treatment; IL (infected low dose) treat with 250mg/kg body weight; IH (infected high dose) 500mg/kg body weight were administered with ethanolic extract of M. charantia L. intraperitoneally for 6 days before infection with P.yoelii 17XL; LMC (low-dose Momordica); and, HMC (high-dose Momordica) intraperitoneally once daily with the extract only at the same dose 250 and 500 mg/kg body weight for 25 days. All animals were sacrificed at the end of experiment, their livers were collected.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University

** Institute of Nutrition, Mahidol University

***Department of Physiology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University

Results : *The results showed histological changes of the liver in all infected groups; in the liver we found hyperplasia of hepatocytes and dilation of hepatic sinusoids, although in the positive control group showed more severe than the pre-infection group but this has no significant difference at $P < 0.05$.*

Conclusion : *Pre-infection administration of *Momordica charantia* L. extract could not prevent liver tissue damage from malaria infection.*

Keywords : *Malaria, plasmodium yoelii 17XL, *Momordica charantia* L., liver, hepatoprotective.*

วันรุตน์ หวังโส๊ะ, ธนาภรณ์ รุ่งเรือง, เอกราช เกตวัลท์, เรวิกา ไชโยภินทร์. ผลของสารสกัดมะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของตับในหนูที่ติดเชื้อมาลาเรีย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3):

เหตุผลของการทำวิจัย : ประชากรโลกครึ่งหนึ่งราว 3.2 พันล้าน มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรียโดยในจำนวนที่ติดเชื้อ 20 ล้านคนและเสียชีวิต 600,000 คน ต่อปี ตับเป็นอวัยวะอันดับแรกที่เชื้อมาลาเรียเข้าไปเมื่อมีการติดเชื้อ เพื่อที่จะลดความรุนแรงของโรค จึงต้องมีการคิดค้นยาที่มีประสิทธิภาพมาใช้ในการรักษา มะระขี้นกมีส่วนประกอบของพฤษเคมีที่ดีมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านมาลาเรีย การศึกษาที่ผ่านมาได้เน้นให้สารสกัดมะระขี้นกเพื่อการรักษาหลังจากที่มีการติดเชื้อแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาที่ให้สารสกัดเพื่อป้องกันก่อนการติดเชื้อ

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการให้สารสกัดมะระขี้นกก่อนการติดเชื้อต่อการป้องกันตับและการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของตับ

วิธีการทำวิจัย : หนู ICR เพศเมียถูกแบ่งเป็น 6 กลุ่มกลุ่มละ 5 ตัว: normal control ได้รับน้ำและอาหารมาตรฐาน, positive control ฉีดเชื้อ 10^7 Plasmodium yoelii 17XL ต่อมีลิลิตร, Infected low dose ได้รับสารสกัดมะระขี้นกที่ 250mg/kg ต่อน้ำหนักตัว, Infected high dose ได้รับสารสกัดมะระขี้นกที่ 500mg/kg ต่อน้ำหนักตัวผ่านทาง intraperitoneal 6 วันก่อนการติดเชื้อ กลุ่ม (low dose Momordica) และ HMC (high dose Momordica) ได้รับสารสกัดมะระขี้นกขนาด 250 mg/kg และ 500mg/kg ต่อน้ำหนักตามลำดับเป็นเวลา 25 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บชิ้นส่วนตับหนู

ผลการศึกษา : ผลการศึกษาพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของตับในหนูกลุ่มติดเชื้อทุกกลุ่ม โดยพบการเพิ่มขนาดของเซลล์ตับและการขยายของ hepatic sinusoid โดยที่ในกลุ่ม positive control มีความรุนแรงกว่ากลุ่มหนูติดเชื้อที่ได้รับสารสกัดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป : การให้สารสกัดมะระขี้นกก่อนการติดเชื้อในหนูอาจไม่สามารถช่วยป้องกันตับจากการติดเชื้อมาลาเรีย

คำสำคัญ : มาลาเรีย, plasmodium yoelii 17XL, Momordica charantia L, ตับ, การป้องกันต่อตับ.

Effect of valproic acid on morphology and function of seminal vesicles of rats

Saranya Tongpan*

Tarinee Sawatpanich* Apichakan Sampannang*

Supatcharee Arun* Jaturon Burawat**

Chanwit Maneenin** Sitthichai Iamsaard*

Tongpan S, Sawatpanich T, Sampannang A, Arun S, Burawat J, Maneenin C, Iamsaard S.
Effect of valproic acid on morphology and function of seminal vesicles of rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62 (3): 370 - 2

Background : *Valproic acid (VPA), an anti-epileptic and cancer drug, has reproductive toxicity effects causing male infertility. Although VPA has been reported to affect morphology and function of the testis, epididymis, and sperm, its effects on seminal vesicles have never been demonstrated.*

Objectives : *Therefore, this study aimed to investigate the changes of histology, biochemical components and expression of proteins in seminal vesicle treated with VPA.*

Methods : *Sixteen Sprague-Dawley male rats were divided into control and experimental groups. The control group (n = 8) was injected with saline while the experimental group (n = 8) was injected with VPA (500 mg/kgBW) into the intraperitoneal cavity for 10 consecutive days. At the end of experiment, the seminal vesicles were weighted and examined for basic H&E histology. All major biochemical components in serum and seminal fluid were analyzed.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Department of Anatomy, College of Medicine and Public health, Ubon Ratchathani University,

Results : *The results show that atrophy of the seminal vesicles was observed in VPA treated rats. In addition, the seminal epithelial heights and fluid volumes in the VPA-treated group were significantly decreased ($P \leq 0.05$) as compared to the control. Moreover, the biochemical components and protein expression of serum and seminal fluid in VPA treated rats were significantly changed from the control. We conclude that VPA affects the morphology and biochemical components of seminal fluid.*

Conclusion : *These findings are additional information to be used to explain the causes of male infertility in patients treating with VPA.*

Keywords : *Seminal vesicle, valproic acid (VPA), biochemical components, rats.*

ศรัญญา ทองพันธ์, ธาธิณี สวัสดิ์พาณิชย์, อภิฉกรรจ์ สัมปญนัง, สุภัจฉรี อรัญ, จาตุรนต์ บุรวัฒน์, ชาญวิทย์ มณีนิล, สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด. ผลของแวลโพรอิก เอซิดต่อโครงสร้างและหน้าที่ของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิของหนูแรท. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – มิ.ย.;62(3) 370 – 2

- เหตุผลของการทำวิจัย** : แวลโพรอิก เอซิด (*valproic acid, VPA*) เป็นยารักษาโรคลมชักและมะเร็ง ซึ่งพบว่ามีผลเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ทำให้เกิดภาวะมีบุตรยากในเพศชาย ถึงแม้มีรายงานว่า VPA มีผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของอวัยวะ ถุงเก็บอสุจิ และตัวอสุจิ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงผลของ VPA ต่อถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ (*seminal vesicle*)
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ องค์ประกอบทางชีวเคมี และการแสดงออกของโปรตีนในถุงผลิตน้ำอสุจิในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย VPA
- วิธีการทำวิจัย** : หนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Sprague-Dawley จำนวน 16 ตัว ถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสาร VPA (จำนวน 8 ตัว/กลุ่ม) หนูกลุ่มควบคุม ถูกฉีดด้วยน้ำเกลือ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับสาร VPA ถูกฉีดด้วย VPA (500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว) เข้าช่องท้องเป็นเวลาต่อเนื่อง 10 วัน จากนั้นทำการชันน้ำหนัก *seminal vesicle* และตรวจลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ด้วยการย้อมสี H&E และตรวจสอบส่วนประกอบทางชีวเคมีของซีรัมและน้ำเลี้ยงอสุจิ (*seminal fluid*)
- ผลการศึกษา** : ผลการทดลองพบการฝ่อของ *seminal vesicles* ในหนูที่ได้รับสาร VPA ขณะที่พบการลดลงของความสูงเยื่อหุ้มและปริมาณ *seminal fluid* ของหนูกลุ่มที่ได้รับสาร VPA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามส่วนประกอบทางชีวเคมีและการแสดงออกของโปรตีนในซีรัมและ *seminal fluid* ในหนูกลุ่มที่ได้รับสาร VPA มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
- สรุป** : VPA มีผลต่อโครงสร้างและส่วนประกอบทางชีวเคมีของ *seminal fluid* การศึกษานี้เป็นข้อมูลเพิ่มเติมที่อาจอธิบายถึงสาเหตุความไม่สมบูรณ์พันธุ์ของผู้ป่วยเพศชายที่ได้รับยา VPA
- คำสำคัญ** : ถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ, แวลโพรอิก เอซิด, ส่วนประกอบทางชีวเคมี, หนูแรท.

Modified team-based learning (TBL) in teaching embryology

Sasiprapa Khunchai* Kannika Adthapanyawanich*

Rachanee Chanasong* Natthiya Sakulsak*

Khunchai S, Adthapanyawanich K, Chanasong R, Sakulsak N. Modified team-based learning (TBL) in teaching embryology. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 373 - 5

Background : *The Office of Higher Education of Thailand has formulated the Thai Qualification Framework for Higher Education (TQF:HEd), a guideline for curriculum implementation for achieving quality standards of learning outcomes, since 2009. This framework defined the students' learning outcomes into five domains: 1) ethics and morality; 2) knowledge; 3) cognitive skills; 4) interpersonal skills and responsibility; and 5) numerical analysis, communication and information technology skills. To achieve the learning outcomes, the active learning process was necessary. As a result, the modified team-based learning (TBL) teaching was applied in embryology to encourage students' participations in the active learning process.*

Objective : *To evaluate the effectiveness of modified TBL method in embryology teaching for achieving five domains of TQF.*

Methods : *Fifty-three students in the second-year Cardio-Thoracic Technology program were recruited to participate in TBL session on the topic of development of respiratory system and were assigned into 9 groups of five to six students each. Students' feedback on their perceptions related to the five domains of TQF on TBL sessions were collected using a questionnaire of sixteen items that implied the five domains of learning outcomes. The rating scale of each domain was four.*

- Results** : *The students perceived that the modified TBL was able to enhance the interpersonal skills and responsibility (3.62/4), ethics and moral (3.60/4), knowledge (3.45/4), cognitive skills (3.40/4) and numeric analysis, communication and Information technology skills (3.38/4), respectively. The students were satisfied with the utilized modified TBL session (3.34/4) and opined that more such sessions should be implemented in the other anatomical teaching (3.34/4). They also suggested that the modified TBL teaching has reinforced the interest and happiness in the classroom.*
- Conclusion** : *The modified TBL method for embryology teaching could facilitate the achievement of the five domains of learning outcomes. Responses from the students showed that the modified TBL could be utilized in the future Embryology teaching.*
- Keywords** : *Modified TBL, teaching embryology.*

ศศิประภา ขุนชัย, กรรณิการ์ อรรถปັນยวนิช, รัชนิ ชนะสงค์, ณัฐธิดา สกุลศักดิ์. การประยุกต์
วิธีการเรียนการสอนแบบกลุ่มสำหรับการสอนรายวิชาคัพภะวิทยา. จุฬาลงกรณ์เวชสาร
2561 พ.ศ. - มี.ย.; 62(3): 373 - 5

เหตุผลของการทำวิจัย : ในปีพ.ศ. 2552 สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ (สกอ.) ได้กำหนดกรอบมาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษา (มคอ.) เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินคุณภาพการศึกษา ตามมาตรฐานการอุดมศึกษา โดยมาตรฐานผลการเรียนรู้ของบัณฑิตต้องครอบคลุมอย่างน้อย 5 ด้าน คือ 1) ด้านคุณธรรม จริยธรรม 2) ด้านความรู้ 3) ด้านทักษะ ปัญญา 4) ด้านความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลและความรับผิดชอบ และ 5) ด้านทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสารและการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ เพื่อให้บรรลุผลการเรียนรู้ด้วยตนเอง ดังนั้นการประยุกต์วิธีการเรียนการสอนแบบรายกลุ่มจึงถูกนำมาใช้ในการสอนรายวิชาคัพภะวิทยา เพื่อส่งเสริมให้นิสิตเข้าร่วมในกิจกรรมการเรียนรู้ด้วยตนเอง

วัตถุประสงค์ : เพื่อประเมินประสิทธิผลของการใช้การประยุกต์วิธีการเรียนการสอนแบบรายกลุ่มในการสอนรายวิชาคัพภะวิทยา เพื่อให้บรรลุผลการเรียนรู้ทั้ง 5 ด้าน ตามเกณฑ์ของสกอ.

วิธีการทำวิจัย : การประยุกต์วิธีการเรียนการสอนแบบรายกลุ่มได้นำมาใช้ในการสอนรายวิชาคัพภะวิทยา หัวข้อการเจริญพัฒนาของระบบหายใจให้แก่ นิสิตคณะสหเวชศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีหัวใจและทรวงอก จำนวน 53 ราย โดยแบ่งนิสิตออกเป็น 9 กลุ่ม ๆ ละ 5 - 6 ราย หลังจากเสร็จสิ้นการเรียนการสอน นิสิตได้ทำการประเมินตนเองโดยการตอบแบบสอบถาม 16 ข้อ ที่สอดคล้องกับการประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรู้ทั้ง 5 ด้าน โดยมีระดับคะแนนจาก 1 - 4

ผลการศึกษา : การประเมินตนเองของนิสิต พบว่านิสิตได้รับผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรู้ทั้ง 5 ด้านจากมากไปน้อย ดังนี้คือ ด้านความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลและความรับผิดชอบ (3.62/4) ด้านคุณธรรมและจริยธรรม (3.60/4) ด้านความรู้ (3.45/4) ด้านทักษะทางปัญญา (3.40/4) และทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสารและการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ 3.38/4 นอกจากนี้ นิสิตมีความรู้สึกพึงพอใจ (3.34/4) และต้องการให้มีการจัดการเรียนการสอนแบบรายกลุ่มเพิ่มมากขึ้น (3.34/4)

สรุป : ผลการศึกษาพบว่า การประยุกต์จัดการเรียนการสอนแบบรายกลุ่มสามารถกระตุ้นให้นิสิตเกิดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรู้ ทั้ง 5 ด้าน ดังนั้นการประยุกต์การสอนแบบรายกลุ่มจึงน่าที่จะนำมาใช้ในการสอนรายวิชาคัพภะวิทยาได้ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : การประยุกต์การสอนแบบรายกลุ่ม, การสอนรายวิชาคัพภะวิทยา.

Effect of methoxyflavone-enriched extract of *Kaempferia parviflora* on blood glucose and lipid profile in rats

Somsuda Somintara* Choowadee Pariwatthanakun**

Bungorn Sripanidkulchai*** Kittisak Sripanidkulchai*

Somintara S, Pariwatthanakun S, Sripanidkulchai B, Sripanidkulchai K. Effect of methoxyflavone-enriched extract of *Kaempferia parviflora* on blood glucose and lipid profile in rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 376 - 8

Background : *Kaempferia parviflora* (*K. parviflora*) is a traditional medicinal plant that has long been used to attenuate human health problem in Asia. The major phytochemical ingredients of *K. parviflora* extract are methoxyflavones which possess various pharmacological activities.

Objectives : Therefore, This study aimed to evaluate the effect methoxyflavone-enriched extract of *Kaempferia parviflora* (KDE) on blood glucose and lipid profile in rats.

Methods : Male Wistar rats were randomly divided into 4 groups ($n = 8$) which were orally administered with distilled water (control), carboxy methyl cellulose (vehicle), KDE at doses of 150 and 300 mg/kg/day for 6 weeks. Body weight, fasting blood glucose and serum lipid profile (total cholesterol, triglyceride, HDL) were bi-weekly monitored. Low-density lipoprotein (LDL) and atherogenic index (AI) were determined as follows: $LDL = (TC-HDL) - TG/5$ and $AI = (TC-HDL)/HDL$. For histological examination, liver, kidney, and pancreas sections were stained with hematoxylin and eosin.

Results : Rats receiving KDE 150 mg/kg had significantly lower blood glucose level than control and vehicle groups ($P < 0.05$). At 6th week, triglyceride and LDL levels of KDE150 mg- and KDE 300 mg - treated rats decrease as compared to control group. Level of atherogenic index in KDE 300 mg - treated rats was significantly lower than vehicle group. Additionally, alteration of body weight and the damaged of histological structure of liver, kidney and pancreas were not observed as compared to control and vehicle groups.

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Mahasarakham University

***Center for Research and Development of Herbal Health Products, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

Conclusion : *The results suggest the safe dose and promoting health benefit in long-term administration of KDE.*

Keywords : *Kaempferia parviflora, methoxyflavones, blood glucose, lipid profile.*

สมสุดา โสมอินทร์, ชวดี ปรีวัฒนากุล, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย.
ฤทธิ์ของเมทอกซีฟลาโวนในสารสกัดกระชายดำต่อระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือดของ
หนูแรท. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.; 62 (3): 376 – 8

เหตุผลของการทำวิจัย : กระชายดำเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย
เพื่อบรรเทาอาการเจ็บป่วยหรือรักษาโรค องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ
ของสารสกัดกระชายดำ คือ เมทอกซีฟลาโวน ซึ่งออกฤทธิ์หลากหลาย
ทางเภสัชวิทยา

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารเมทอกซีฟลาโวนในสารสกัดกระชายดำต่อระดับ
น้ำตาลและระดับไขมันในเลือดของหนูแรท

วิธีการทำวิจัย : หนูแรทเพศผู้ถูกสุ่มแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มกลุ่มละ 8 ตัว และให้สารทาง
ปากทุกวัน วันละครั้ง ดังนี้ น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส
(กลุ่ม vehicle) และสารสกัดกระชายดำขนาด 150 และ 300 มก./กก.
เป็นเวลา 6 สัปดาห์ น้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือด
(คอเลสเตอรอล, ไตรกลีเซอไรด์, เอชดีแอล) ของหนูได้ถูกบันทึกทุก ๆ 3 วัน
ระดับ LDL และดัชนีชี้วัดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว
คำนวณจากสมการ $LDL = (TC-HDL) - TG/5$ และ $AI = (TC-HDL)/HDL$
ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ศึกษาจากเนื้อเยื่อตับ ไตและตับอ่อน
ซึ่งย้อม hematoxylin และ eosin

ผลการศึกษา : หนูที่ได้รับสารสกัดกระชายดำขนาด 150 มก./กก./วัน สามารถลดระดับ
น้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม
ควบคุมและกลุ่ม vehicle ในสัปดาห์ที่ 6 สารสกัดกระชายดำทั้ง 2 ขนาด
ลดระดับไตรกลีเซอไรด์และแอลดีแอลเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับ
สารสกัดกระชายดำ 300 มก./กก./วัน มีค่าดัชนีชี้วัดอัตราเสี่ยงต่อการเกิด
ภาวะหลอดเลือดแข็งตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle
นอกจากนี้ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวและไม่พบการทำลาย
โครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อตับ ไตและตับอ่อน ในกลุ่ม
ที่ได้รับสารสกัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่ม vehicle

สรุป : การให้สารสกัดกระชายดำทั้ง 2 ขนาด ในระยะยาว ไม่มีความเป็นพิษต่อ
อวัยวะต่าง ๆ และยังสามารถนำมาบริโภคเพื่อส่งเสริมสุขภาพได้

คำสำคัญ : สารสกัดกระชายดำ, เมทอกซีฟลาโวน, ระดับน้ำตาลในเลือด, ระดับไขมัน.

Changes of the testicular-tyrosine phosphorylated proteins and seminal vesicle epithelia of adult rats treated with methotrexate

Sitthichai Iamsaard* Jariya Umka Welbat*
Wannisa Sukhorum** Suchada Krutsri*
Supatcharee Arun* Tarinee Sawatpanich*

Iamsaard S, Welbat JU, Sukhorum W, Krutsri S, Arun S, Sawatpanich T. Changes of the testicular-tyrosine phosphorylated proteins and seminal vesicle epithelia of adult rats treated with methotrexate. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 379 - 81

Background : Methotrexate (MTX) is commonly used chemotherapy agent and immune system suppressant but its adverse effects on male reproductive system have never been reported.

Objective : This study aimed to investigate the effect of MTX on structure and functional proteins of testis and seminal vesicle.

Methods : Adult male rats were divided into control and MTX groups (n =12). In 30 experimental days, the treated animals were injected with MTX (tail i.v., 75 mg/KgBW) at days 8 and 15. Then, the reproductive parameters and histology of both groups were examined. Thickness of seminal vesicle epithelia was analyzed. Also, the expressions of testicular tyrosine phosphorylated proteins and steroidogenic acute regulatory (StAR) protein were investigated.

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Department of Anatomy, School of Medicine, Mae Fah Luang University

Results : *The results showed that MTX could significantly decrease epididymal sperm concentration. In addition, the germ cell degeneration, increased spaces of interstitial tissues, and low epididymal sperm mass density were observed in MTX group. The thickness of seminal vesicle epithelia in MTX group was significantly lower than that of control group. Moreover, the intensity of testicular phosphorylated proteins of 31, 32, 72, and 85 kDas was significantly increased while of 42 and 47 kDas in MTX group was decreased as compared to the control. The expression of testicular StAR protein in MTX group was also significantly decreased as compared to the control.*

Conclusion : *This study has demonstrated that MTX affects testicular and seminal tissues and changes testicular functional proteins in adult rats.*

Keywords : *Methotrexate, phosphorylated proteins, testis, seminal vesicle, male rat.*

สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด, จริญญา อำคา เวลบาท, วรณิศา สุโชรัมย์, สุชาติดา ครุทศรี, สุภัจฉรี อรัญ, ธาธิณี สวัสดิ์พาณิชย์. การเปลี่ยนแปลงของ testicular-tyrosine phosphorylated proteins และ เนื้อเยื่อบุผิวของ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ตัวเต็มวัยที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเมโทเทรกเซท. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 379 - 81

เหตุผลของการทำวิจัย : สารเมโทเทรกเซท (methotrexate, MTX) ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในแง่ของการใช้เป็น chemotherapeutic agent และยาระงับอาการทางระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย อย่างไรก็ตามผลซึ่งเป็นอันตรายต่อระบบสืบพันธุ์เพศชายยังคงจำกัดอยู่

วัตถุประสงค์ : เพื่อตรวจสอบผลของสาร MTX ต่อโครงสร้างและ functional proteins ของอัณฑะและถุงผลิตน้ำอสุจิ

วิธีการทำวิจัย : หนูแรทเพศผู้ตัวเต็มวัย ถูกแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่ม MTX (n =12) ตลอดการทดลอง 30 วัน หนูแรทกลุ่ม MTX จะได้รับการฉีดสาร MTX เข้าทางเส้นเลือดดำที่หาง (ขนาด 75 มก./กก.) ในวันที่ 8 และ 15 ของการทดลอง หลังจากนั้นตรวจวัดพารามิเตอร์ต่าง ๆ และลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ของทั้ง 2 กลุ่ม ความหนาของชั้นเนื้อเยื่อบุผิวของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ รวมทั้งการแสดงออกของโปรตีน testicular tyrosine phosphorylated proteins และ steroidogenic acute regulatory (StAR) protein

ผลการศึกษา : สาร MTX สามารถลดความเข้มข้นของอสุจิที่เก็บจากส่วน caudal epididymis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบ germ cell degeneration การเพิ่มขึ้นของขนาดพื้นที่ระหว่างเซลล์และความหนาแน่นของอสุจิใน epididymis ต่ำ ความหนาของเนื้อเยื่อบุผิวของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิก่อน MTX น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นการแสดงออกของโปรตีน phosphorylated proteins ขนาด 31, 32, 72 และ 85 kDas ในอัณฑะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ โปรตีนขนาด 42 และ 47 kDas ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่ม MTX เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการแสดงออกของ StAR protein ในอัณฑะมีการแสดงออกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม MTX เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

สรุป : สาร MTX ส่งผลต่อเนื้อเยื่ออัณฑะและถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ และการเปลี่ยนแปลงของ functional proteins ของหนูแรทตัวเต็มวัย

คำสำคัญ : เมโทเทรกเซท, phosphorylated proteins, อัณฑะ, seminal vesicle, หนูแรทเพศผู้ตัวเต็มวัย.

HMGB1 protein decreases genomic instability

Sirapat Settayanon*

Maturada Petchsung* Apiwat Mutirangura*

Settayanon S, Petchsung M, Mutirangura A. HMGB1 protein decreases genomic instability. Chula Med J 2018 May – Jun;62 (3): 382 - 3

Background : *The preservation of genomic stability is essential for living cell processes including cell survival and proliferation. There are many biological molecules that control each cellular process. HMGB1 is a DNA-binding protein with multifunction related in many cellular processes, both intracellular and extracellular. We focused on the functions of HMGB1 and its A box structure in DNA binding activity and regulation of essential nuclear processes including replication, transcription, recombination and repair, which serve an important role in maintaining nuclear stability. Previously, we found that yeasts lacking group of this protein decreased physiologic-RIND-EDSBs or non-pathologic EDSBs level which resulted in genomic instability.*

Objective : *Thus, we proposed that the part of nuclear HMGB1 might prevent genomic instability by reducing endogenous DNA damages.*

Method : *Two normal cell lines, i.e., HEK293 and HK-2 cells were used in this study. We determined the endogenous DNA damage level (8-OHdG and AP-sites) using ELISA assay and investigated cell proliferation by MTT assay in normal cells with HMGB1 and HMG A box overexpression.*

Results : *We found that an A-box domain of HMGB1 protein could prevent the endogenous DNA damages, increased resistance to DNA damaging agents and increased cell proliferation.*

Conclusion : *Genomic instability is a hallmark of aging. We are employing this HMGB1 domain in animal experiment to determine if aging process can be prevented.*

Keywords : *HMGB1, A-box, endogenous DNA damages, genomic instability.*

สิริภัทร เศรษฐยานนท์, มธุรดา เพชรสังข์, อภิวัฒน์ มุทิตราภรณ์. บทบาทโปรตีน HMGB1 ต่อการลดความไม่เสถียรของจีโนม. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - มิ.ย.;62(3): 382 -3

เหตุผลของการทำวิจัย : การคงความเสถียรของจีโนม (genomic stability) นับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เนื่องจากทำให้กระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ทำงานเป็นปกติ ลดโอกาสผิดพลาดอันนำไปสู่การกลายพันธุ์ HMGB1 เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีหน้าที่หลากหลาย เมื่ออยู่ในนิวเคลียสจะจับกับเส้นดีเอ็นเอ และมีบทบาทในการควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ได้แก่ กระบวนการจำลองดีเอ็นเอ, V(D)J recombination, การซ่อมแซมดีเอ็นเอ, การถอดรหัสยีน เป็นต้น ทำให้เกิดความเสถียรภายในนิวเคลียส ก่อนหน้านี้พบว่าเซลล์ยีสต์ที่ไม่มียีนในกลุ่ม HMGB (nhp6a และ HMO1) มีระดับ physiologic-RIND-EDSBs หรือ non-pathologic EDSBs ลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความไม่เสถียรของจีโนม

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาบทบาทของโครงสร้าง A box ของโปรตีน HMGB1 ในการป้องกันความไม่เสถียรของจีโนม โดยลดการเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (endogenous DNA damage)

วิธีการทำวิจัย : วัดระดับ endogenous DNA damages และอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติที่เพิ่มการแสดงออกของ HMGB1 และโครงสร้าง A box ด้วยเทคนิค ELISA และ MTT ตามลำดับ เพื่อพิสูจน์ว่าการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน HMGB1 และโครงสร้างส่วน A box สามารถลดการเกิด endogenous DNA damage

ผลการศึกษา : พบว่าการแสดงออกของ HMGB1 และ A box เพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลทำให้ระดับ endogenous DNA damage ลดลง และมีผลให้อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เพิ่มขึ้น

สรุป : โปรตีน HMGB1 และ โครงสร้าง A box สามารถช่วยลดการเกิดดีเอ็นเอที่เสียหายที่เกิดขึ้นภายในเซลล์และเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติ ดังนั้นโปรตีน HMGB1 และโครงสร้าง A box อาจใช้เป็นเป้าหมายสำคัญในการลดความไม่เสถียรของจีโนมได้ เช่น การแก้ไขของเซลล์ ซึ่งควรมีการศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อพิสูจน์บทบาทในการต้านการแก่ชราของโปรตีนนี้ต่อไป

คำสำคัญ : โปรตีน HMGB1, โครงสร้าง A box, ความไม่เสถียรของจีโนม, ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายในเซลล์

Comparative study of variations of cystic artery in male and female cadavers

Sirinad Tankruad* Erika Ijima**

Worawit Suphamungmee* Chinnawut Suriyonplengsaeng*

Ronnarong Palasoon*** Porncharn Saitongdee***

Tankruad S, Ijima E, Suphamungmee W, Suriyonplengsaeng C, Palasoon R, Saitongdee P. Comparative study of variations of cystic artery in male and female cadavers. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 384 - 7

Background : *Relationship of cystic artery and Calot's (cystohepatic) triangle is essential for conventional and laparoscopic cholecystectomy. Cystic artery normally originated from the right hepatic artery passes into the Calot's triangle to supply the gallbladder. The Calot's triangle is a small triangular space bordered by the cystic duct, common hepatic duct, and inferior surface of the liver. Cystic artery, a content of this triangle, typically courses posterior to the triangle. The anatomical variations of the source and location of cystic artery are very important for cholecystectomy*

Objective : *This study aimed to investigate the type of variations of cystic artery based on its source and location related to the Calot's triangle in male and female cadavers.*

Methods : *In all, 105 cadavers (48 female, 57 male from the Faculty of Science, Mahidol University and the Faculty of Science, Rangsit University) were dissected and identified the boundaries of the cystohepatic triangle. The locations and origins of cystic artery were investigated, identified, photographed, and recorded. The data were analyzed.*

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** International College, Mahidol University

***Anatomy Unit, Department of Medical Science, Faculty of Science, Rangsit University

Results : Based on the origin and number of cystic artery and its location related to the Calot's triangle, the variation can be classified into 4 types. Type-1a: single cystic artery located inside the triangle posterior to the common hepatic duct and originated from right hepatic artery were observed in female 25/48 (52.08%) and male 25/57(43.86%). Type-1b: similar location and origin to those of type-1a but having double cystic arteries were found in female 4/48 (8.33%) and male 5/57(8.77%). Type-2: various numbers of cystic arteries located outside the triangle anterior to the common hepatic duct and originated from right or left hepatic artery or common hepatic artery or gastroduodenal artery were observed in female 15/48 (31.25%) and male 26/57(45.61%). Type-3: several cystic arteries located both inside and outside the triangle and originated from right hepatic artery and left hepatic artery or gastroduodenal artery, found in female 3/48 (6.25%) and male 1/57(1.75%). Type-4, rare cases, the cystic arteries located outside the triangle, and originated from superior mesenteric artery, were found only in female 1/48 (2.08%).

Conclusion : The anatomical variations of cystic artery have been concerned during laparoscopic cholecystectomy due to the close relationship of cystic artery and cystic duct. The most common type of cystic artery was type-1 that was found in female 60.42% and male 52.63% whereas type-2 was found more in male (45.61%) than female (31.25%). However, more variations of cystic artery were observed in female.

Keywords: : Cystic artery, Calot's triangle, cystic duct, common hepatic duct, gallbladder, cholecystectomy.

สิรินาถ ตันกรวด, Erika Ijima, วรวิทย์ ศุภมั่งมี, ชินวุฒิ สุรียนเปล่งแสง, ธรรงค์ พลະศุณย์, พรจันทร์ สายทองดี. การศึกษาความหลากหลายของหลอดเลือดแดง cystic ในร่างอาจารย์ใหญ่เปรียบเทียบระหว่างเพศชายและเพศหญิง. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – มี.ย.; 62 (3): 384 – 7

เหตุผลของการทำวิจัย : ความสัมพันธ์ของตำแหน่งหลอดเลือดแดง cystic และช่องสามเหลี่ยมของ Calot (cystohepatic) นั้นมีความสำคัญสำหรับการผ่าตัดถุงน้ำดี ทั้งวิธีดั้งเดิมและวิธีส่องกล้อง โดยปกติแล้วหลอดเลือดแดง cystic เป็นแขนงของหลอดเลือดแดง right hepatic ที่ผ่านมาในช่องสามเหลี่ยมของ Calot เพื่อไปเลี้ยงถุงน้ำดี โดยช่องสามเหลี่ยม Calot เป็นช่องสามเหลี่ยมขนาดเล็กที่มีขอบเขตประกอบด้วยท่อน้ำดี cystic ท่อน้ำดี common hepatic และขอบล่างของตับ ความผันแปรของตำแหน่งและแหล่งกำเนิดแขนงของหลอดเลือดแดง cystic มีความสำคัญต่อการผ่าตัดถุงน้ำดี

วัตถุประสงค์ : เพื่อจำแนกชนิดจากความผันแปรของหลอดเลือดแดง cystic โดยค้นหาแหล่งกำเนิดแขนงและดูความสัมพันธ์ของตำแหน่งหลอดเลือดแดง cystic กับช่องสามเหลี่ยม Calot ในร่างอาจารย์ใหญ่

วิธีการทำวิจัย : ร่างอาจารย์ใหญ่จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และมหาวิทยาลัยรังสิตจำนวน 105 ร่าง โดยแบ่งเป็นเพศชาย 57 ร่างและเพศหญิง 48 ร่าง ทำการชำแหละเพื่อหาขอบเขตของสามเหลี่ยม cystohepatic โดยบันทึกข้อมูลตำแหน่งและแหล่งที่มาของหลอดเลือดแดง cystic ทำการถ่ายภาพ และวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษา : จากข้อมูลความผันแปรของแหล่งกำเนิด จำนวน และตำแหน่ง ซึ่งสัมพันธ์กับช่องสามเหลี่ยม Calot สามารถจำแนกหลอดเลือดแดง cystic ออกเป็น 4 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1a: พบหลอดเลือดแดง cystic หนึ่งแขนง โดยเป็นแขนงจากหลอดเลือดแดง right hepatic และอยู่ในช่องสามเหลี่ยม Calot อยู่หลังต่อท่อน้ำดี common hepatic พบในเพศหญิง 25 ร่างจาก 48 ร่าง (ร้อยละ 52.08) พบในเพศชาย 25 ร่างจาก 57 ร่าง (ร้อยละ 43.86), รูปแบบที่ 1b: พบคล้ายรูปแบบที่ 1a แต่หลอดเลือดแดง cystic พบมีสองแขนงออกจากหลอดเลือดแดง right hepatic พบในเพศหญิง 4 ร่างจาก 48 ร่าง (ร้อยละ 8.33) และพบในเพศชาย 5 ร่างจาก 57 ร่าง (ร้อยละ 8.77), รูปแบบที่ 2: พบหลอดเลือดแดง cystic มีแขนงย่อยอยู่นอกช่องสามเหลี่ยม Calot มีตำแหน่งอยู่หน้าต่อท่อน้ำดี common hepatic โดยอาจเป็นแขนงมาจากหลอดเลือดแดง right hepatic หรือ

หลอดเลือดแดงอื่น เช่น หลอดเลือดแดง left hepatic, common hepatic หรือ gastroduodenal พบในเพศหญิง 15 ร่องจาก 48 ร่อง (ร้อยละ 31.25) และพบในเพศชาย 26 ร่องจาก 57 ร่อง (ร้อยละ 45.61), รูปแบบที่ 3: พบหลอดเลือดแดง cystic มีแขนงอยู่ทั้งในและนอกช่องสามเหลี่ยม Calot โดยอาจเป็นแขนงมาจากหลอดเลือดแดง right hepatic หรือ หลอดเลือดแดงอื่น ได้แก่ หลอดเลือดแดง left hepatic หรือ gastroduodenal พบในเพศหญิง 3 ร่องจาก 48 ร่อง (ร้อยละ 6.25) และพบในเพศชาย 1 ร่องจาก 57 ร่อง (ร้อยละ 1.75), รูปแบบที่ 4: พบหลอดเลือดแดง cystic เป็นแขนงมาจากหลอดเลือดแดง superior mesenteric และอยู่นอกช่องสามเหลี่ยม เป็นชนิดที่พบได้น้อยโดยพบเฉพาะในเพศหญิงเพียง 1 ร่อง (ร้อยละ 2.08)

สรุป : ความผันแปรทางกายวิภาคของหลอดเลือดแดง cystic มีความสำคัญต่อการผ่าตัดถุงน้ำดี เนื่องจากตำแหน่งของหลอดเลือดแดง cystic อยู่ชิดกับท่อน้ำดี cystic โดยความผันแปรของหลอดเลือดแดง cystic นี้ ส่วนมากพบในรูปแบบที่ 1 ซึ่งในเพศหญิงพบได้ถึงร้อยละ 60.42 และในเพศชายพบร้อยละ 52.63 ในขณะที่รูปแบบที่ 2 พบได้ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง คือ ร้อยละ 45.31 และ 31.25 ตามลำดับ ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ข้อมูลความผันแปรโดยรวมพบมีมากในเพศหญิง

คำสำคัญ : หลอดเลือดแดง cystic, ช่องสามเหลี่ยม Calot, ท่อน้ำดี cystic, ท่อน้ำดี common hepatic, ถุงน้ำดี, การผ่าตัดถุงน้ำดี.

Expression and Localization of endogenous phospholipase D (PLD1 & 2) in the submandibular glands of mice

Suthankamon Khrongyut*

Atsara Rawangwong* Hisatake Kondo*

Waraporn Sakaew* Tarinee Sawatpanich*

Yada Polsan* Wiphawi Hipkaeo*

Khrongyut S, Rawangwong A, Kondo H, Sakaew W, Sawatpanich T, Polsan Y, Hipkaeo W. Expression and Localization of endogenous phospholipase D (PLD1 & 2) in submandibular glands of mice. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 388 - 91

Background : *There have been substantial numbers of studies suggesting the involvement of phospholipase D (PLD) in the secretion mechanism of exocrine and neuro-endocrine cells. Although there has been some information about the localization in some cultured cells of genetically overexpressed PLD which has always some risks inducing its erroneous intracellular distribution different from its intrinsic one. However, little information is available on the localization in any secretory cells in situ of endogenous PLD that is critical to understand the mechanism of its involvement in the body function.*

Objective : *It was to clarify the expression and localization of endogenous PLD1 & 2 in the submandibular glands, a representative exocrine gland, of mice at various postnatal stages.*

Methods : *Immuno-DAB-light microscopy, immuno-gold-electron microscopy and immunoblotting were performed with specific antibodies for PLD1 & 2. Mice of both sexes were used at stages of newborn, postnatal 2 week (P2W), P4W and P8W.*

Results : *In immunoblotting analysis, the expression of PLD1 was non-detectable at birth and it increased and reached a peak at postnatal 4 week (P4W) and P8W, while that of PLD2 was already at a substantial level at birth and was intense at P2W and decreased thereafter. The expression of both isoforms showed female dominance. In accord with the immunoblotting finding, the immunoreactivity for PLD1 was faint throughout the gland at birth, it progressively increased in granular convoluted tubule cells and striated ductal cells and the immunoreactive material was deposited along their apical plasmalemma and intramembranous organelles such as Golgi apparatus and various vesicles/vacuoles at P2W-P8W. On the other hand, PLD2-immunoreactivity was distinctly positive in terminal tubule cells and ductal cells at birth, and it increased along both apical and basal plasmalemma of ductal cells at P2W, and it progressively attenuated thereafter. In contrast, acinar cells were immunonegative for PLD1 or PLD2 throughout the postnatal stages.*

Conclusion : *PLD1 is suggested to be dominantly involved in the signaling for saliva production/secretion of ductal cells. In contrast, PLD2 is suggested to be involved more intimately in the proliferation/differentiation of glandular cells than their saliva production/secretion.*

Keywords : *PLD, submandibular gland, mice.*

สุธารกมล ครองยุติ, อัครา ระวีวงศ์, อีสะทะเคะ คอนโด, วราภรณ์ สาแก้ว, ธารินทร์ สวัสดิ์พานิช, ญาดา พลแสน, วิภาวี หีบแก้ว. การแสดงออกและการระบุตำแหน่งของโปรตีน phospholipase D (PLD1 & 2) ในต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรของหนูไมซ์. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - มิ.ย.;62(3): 388 - 91

เหตุผลของการทำวิจัย : มีการศึกษาจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่า phospholipase D (PLD) มีส่วนในกลไกการหลั่งสารของเซลล์ต่อมมีท่อและต่อมประสาทรไท่อ อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลเพียงเล็กน้อยเกี่ยวกับการระบุตำแหน่งการแสดงออกของ PLD ซึ่งถือเป็นส่วนสำคัญในการสร้างความเข้าใจกลไกการทำงานภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตที่สร้างสารเหล่านั้นของร่างกาย แม้ว่ามีข้อมูลเกี่ยวกับการระบุตำแหน่งการแสดงออกของยีน PLD แบบ overexpress ในเซลล์เพาะเลี้ยงอยู่บ้างแล้วก็ตาม แต่ก็ถือว่าเสี่ยงที่นำไปอธิบายกับเซลล์สัตว์ทั่วไป เนื่องจากความแตกต่างในลักษณะการกระจายโครงสร้างภายในต่าง ๆ ของเซลล์

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการแสดงออกและการระบุตำแหน่งของโปรตีน PLD1 & 2 ในต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรซึ่งถือเป็นตัวแทนต่อมมีท่อ โดยศึกษาในหนูไมซ์ในระยะหลังคลอดที่ช่วงอายุต่าง ๆ

วิธีการทำวิจัย : การทดลองนี้ได้ศึกษาในต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรของหนูไมซ์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ในช่วงอายุแรกเกิด, 2, 4 และ 8 สัปดาห์ ด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี-DAB ในระดับกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี-gold ในระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อระบุตำแหน่งการแสดงออกของโปรตีน PLD1 & 2 พร้อมทั้งศึกษาด้วย immunoblotting analysis เพื่อศึกษาการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าว

ผลการศึกษา : จากผล immunoblotting ไม่พบการแสดงออกของ PLD1 ในต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรหนูแรกคลอด แต่พบเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่ออายุหลังคลอดเพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงสุดเมื่อหนูอายุ 4 สัปดาห์ (P4W) และ P8W ในขณะที่ PLD2 นั้นพบว่ามีแสดงออกชัดเจนตั้งแต่แรกคลอด และสูงสุดที่ P2W แล้วหลังจากนั้นจึงค่อย ๆ ลดลง โดยการแสดงออกของทั้ง 2 isoforms มีในหนูเพศเมียเด่นชัดกว่า ทั้งนี้ผลการศึกษาด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีสอดคล้องกับผล immunoblotting โดยที่ PLD1 นั้นพบเพียงปฏิกิริยาอิมมูโนฮิสโตเคมีติดสีจางในต่อมน้ำลายหนูแรกคลอด และพบ

ปฏิกิริยาชัดเจนมากขึ้นเมื่อหนูเจริญเติบโตมากขึ้นเป็นลำดับตั้งแต่ P2W-P8W โดยพบในของเซลล์บุท่อ *granular convoluted tubule* และ *striated duct* ซึ่งอยู่ตาม *apical plasmalemma* และออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้มต่าง ๆ เช่น *Golgi apparatus* และ *vesicles/vacuoles* ในขณะที่พบปฏิกิริยาอิมมูโนฮิสโตเคมีของ PLD2 นั้นชัดเจนตั้งแต่ระยะแรกคลอด โดยพบที่บริเวณเซลล์ *terminal tubule* และเซลล์บุท่อ ซึ่งพบปฏิกิริยาเพิ่มชัดเจนมากในช่วงอายุ P2W โดยอยู่ตามบริเวณ *apical* และ *basal plasmalemma* ของเซลล์บุท่อ และหลังจากนั้นพบปฏิกิริยาลดลงเรื่อย ๆ ตามอายุที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้กลับไม่พบปฏิกิริยาอิมมูโนฮิสโตเคมีของทั้ง PLD1 และ PLD2 บนเซลล์กระเปาะเลยตลอดทุกช่วงอายุ

สรุป

:

ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า PLD1 มีส่วนเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิด ในการส่งสัญญาณสำหรับการผลิตน้ำลายของเซลล์บุท่อน้ำลาย ขณะที่ PLD2 นั้นมีส่วนในกระบวนการ *proliferation/differentiation* ของต่อมน้ำลายมากกว่าการหลั่งน้ำลาย

คำสำคัญ

:

PLD, ต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกร, หนูไม่ซี.

Effects of saponin extract from *Holothuria leucospilota* in hypertensive rabbits with hypercholesterolemia

Soontaree Petchdee*

Wanita Kaewphalug** Worawit Suphamungmee**

Petchdee S, Kaewphalug W, Suphamungmee W. Effects of saponin extract from *Holothuria leucospilota* in hypertensive rabbits with hypercholesterolemia. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 392 - 4

Background : Saponins are effective compounds found in many kinds of plants and some animals. They are widely known for medicinal purposes as one of the key compounds that have anti-cancer, anti-inflammation and anti-apoptosis properties. Several saponin compounds have been studied in sea cucumber, *Holothuria leucospilota*, as well as their efficacies for human well-being.

Objective : This study aimed to investigate the effects of the *H. leucospilota* saponins from butanol-extracted body wall in hypertensive and hypercholesterolemic rabbits.

Methods : The animals were divided into four groups, namely: (group 1) normal diet; (group 2) high-fat diet with vehicle; (group 3) high-fat diet in addition of 15 mg per day of the saponin extract for 2 months; and (group 4) high-fat diet in addition of 30 mg per day of the saponin extract for 2 months. Arterial ligation was done in order to induce the hypertension as well as the monitoring of physical and blood parameters during the experiment. Effects of the extract at the cellular level were interpreted from both thick and thin sections of the heart and liver tissues.

Results : Saponin consumption groups exhibited significantly improved the plasma glucose, triglyceride and cholesterol levels together with reducing the mean arterial blood pressure. The reduction of blood pressure and cholesterol was significantly dose-dependent. Surprisingly, anti-hypertension and anti-cholesterolemia of the extracts rather affected vascular changes. Lipid clearance from cardiac and liver tissues, however, tended to be slow in progression.

* Department of Large Animal and Wildlife Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

**Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

Conclusion : *Our study clearly demonstrates that saponins obtained from H. leucospilota body wall provide the cardio-protective effect and lowering the extent of the heart remodeling produced by chronic hypertensive and obesity conditions. These biological actions of the sea cucumber saponins may gain from the use of the metabolite products as a possible prophylactic lifestyle intervention.*

Keywords : *Sea cucumber, saponins, hypertension, cholesterol, heart disease.*

สุนทรื เพ็ชรดี, วนิตา แก้วผลึก, วรวิทย์ ศุภมั่งมี. ฤทธิ์ของสารซาโปนินสกัดจากปลิงดำต่อ ภาวะความดันและคอเลสเตอรอลในเลือดสูง. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 392 - 4

- เหตุผลของการทำวิจัย** : สารประกอบซาโปนินมักพบมีมากอยู่ในพืชรวมถึงในสัตว์บางชนิด มีการศึกษาประโยชน์ของสารอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ ได้แก่ ผลการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ลดการอักเสบ และชะลอกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis สำหรับสารซาโปนินที่ได้จากปลิงดำ นั้นได้มีการศึกษามาแล้วว่ามีคุณสมบัติที่ดี ซึ่งน่าจะนำไปใช้ได้ของคน เช่นกัน
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดซาโปนินจากปลิงดำ (*H. leucospilota*) ต่อการ ลดความดันเลือดและระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของกระต่ายซึ่งใช้ เป็นสัตว์ทดลอง
- วิธีการทำวิจัย** : สัตว์ทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารตามปกติ, กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารไขมันสูง, กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ สารสกัด 15 มิลลิกรัมต่อวันเป็นเวลา 2 เดือน และกลุ่มที่ 4 ได้รับอาหาร ไขมันสูงร่วมกับสารสกัด 30 มิลลิกรัมต่อวันเป็นเวลา 2 เดือน สัตว์ทดลอง ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะความดันเลือดสูงร่วมกับตรวจดูค่าเคมีเลือดทั้ง ก่อนและระหว่างการทดลอง การเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ศึกษาจาก สไลด์เนื้อเยื่อหัวใจและตับที่เก็บจากสัตว์ในทุกกลุ่มการทดลอง
- ผลการศึกษา** : กระต่ายกลุ่มที่ได้รับสารสกัดแสดงผลค่าเลือดดีขึ้น ได้แก่ น้ำตาลในเลือด ระดับไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอล ร่วมกับมีค่าความดันเลือดที่ลดลง การลดลงของความดันเลือดและระดับคอเลสเตอรอลมีความสัมพันธ์กับ ปริมาณสารสกัดที่ได้รับ ฤทธิ์ของสารสกัดซาโปนินส่งผลต่อลักษณะ และการทำงานของหลอดเลือดโดยตรง จากค่าความดันและไขมันที่ลดลง อย่างชัดเจน ในขณะที่การลดไขมันในระดับเซลล์และเนื้อเยื่อเกิดขึ้นอย่าง ค่อยเป็นค่อยไป
- สรุป** : ผลจากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ของสารสกัดซาโปนินจากปลิงดำ ต่อการป้องกันการเกิดโรคหัวใจ และยังสามารถลดปัญหาภาวะที่หัวใจ ทำงานหนัก อันเนื่องมาจากภาวะความดันเลือดสูงแบบเรื้อรังและ โรคอ้วนได้ ผลการศึกษาดังกล่าวจะช่วยผลักดันให้เห็นคุณค่าและ ประโยชน์ทางด้านสุขภาพจากสารสกัดจากปลิงดำ
- คำสำคัญ** : ปลิงทะเล, ซาโปนิน, ความดันเลือดสูง, คอเลสเตอรอล, โรคหัวใจ.

Protective effect of *Phyllanthus emblica* L. leaves extract on testicular damages in chronic stressful rats

Supatcharee Arun *,**

Jaturon Burawat* Apichakan Sampannang*

Wannisa Sukhorm*** Bangorn Sripanidkulchai**

Akgpol Limpongsa** Sitthichai Lamsaard*,**

Arun S, Burawat J, Sampannang A, Sukhorm W, Sripanidkulchai B, Limpongsa A, Lamsaard S. Protective effect of *Phyllanthus emblica* L. leaves extract on testicular damages in chronic stressful rats. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 395 - 7

Background : *Stress adversely affects male reproductive system especially in the testis, causing infertility. Recently, the natural products have been used as alternative medicine to treat the side effect of stress.*

Objectives : *This study aimed to investigate the effects of *Phyllanthus emblica* L. aqueous leaves extract (PE) on testicular impairment and testicular protein markers in chronic stress rats.*

Methods : *Male rats were divided into 4 groups (control, chronic stress [CS], PE 50, and 100 mg/ kgBW + CS; N=8). In treatment group, animals were fed with different doses of PE extract before chronic stress induction by immobilization (4h/day) and forced-cold swimming (15 min/ day) for 42 consecutive days. The sperm quality, histologies of testis and caudal epididymis, and levels of corticosterone, testosterone, and malondialdehyde (MDA) were examined. The expressions of testicular steroidogenic acute regulatory (StAR) and tyrosine phosphorylated proteins were analyzed by Western blot.*

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

** Center for Research and Development of Herbal Health Product, Faculty of Pharmaceutical Sciences

***School of Medicine, Mae Fah Luang University

Results : *PE (50mg/kg body weight) significantly increased ($P < 0.05$) sperm concentration and testosterone level and decreased ($P < 0.05$) corticosterone, MDA level, sperm head abnormality (%), and acrosome reacted sperm (%) in CS rats. PE could also minimize testicular histopathology in CS rats. Moreover, PE 50 significantly increased ($P < 0.05$) the StAR protein expression and altered the intensity of tyrosine phosphorylated proteins in CS testis.*

Conclusion : *PE leaves extract could prevent damages of the tissue, sex hormone, sperm quality, and crucial proteins in testis of chronic stressful rats.*

Keywords : *Phyllanthus emblica L., testicular damages, chronic stress, tyrosine phosphorylated proteins, rats.*

สุภัจฉรี อรัญญ, จาตุรนต์ บุรวัดน์, อภิฉกรรจ์ สัมปญันง, วรณิศา สุโขรัมย์, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, เอกพล ลิมพงษา, สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด. ผลการป้องกันของสารสกัดมะขามป้อมต่อการทำลายของเนื้อเยื่ออวัยวะในหนูภาวะเครียดเรื้อรัง. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 395 - 7

เหตุผลของการทำวิจัย : ความเครียดมีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์เพศชายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในอวัยวะซึ่งนำไปสู่ความไม่สมบูรณ์พันธุ์ได้ ปัจจุบันนี้ได้มีการนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้สำหรับการแพทย์ทางเลือก

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลการป้องกันของสารสกัดน้ำจากใบมะขามป้อมต่อการทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่สำคัญในเนื้อเยื่ออวัยวะหนูแรทที่มีภาวะเครียดแบบเรื้อรัง

วิธีการทำวิจัย : หนูแรทเพศผู้ออกเป็น 4 กลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ประกอบด้วย กลุ่มควบคุม กลุ่มความเครียดเรื้อรัง และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมะขามป้อม 20 และ 50 มก./กก.ของน้ำหนักตัว ร่วมกับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดเรื้อรัง โดยหนูได้รับสารสกัดมะขามป้อมตามขนาดดังกล่าวก่อน จากนั้นทำการตรึงโดยใช้กรงบังคับ 4 ชม. ตามด้วยการบังคับให้ว่ายน้ำ 15 นาที/วัน เป็นเวลาต่อเนื่อง 42 วัน แล้วทำการตรวจสอบคุณภาพอสุจิ พยาธิสภาพของอวัยวะรวมทั้งถุงเก็บอสุจิ ระดับของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน เทสโทสเทอโรน และมาลอนไดอัลดีไฮด์ ตามลำดับ รวมทั้งศึกษาการแสดงออกของ *steroidogenic acute regulatory (StAR)* และ *tyrosine phosphorylated proteins* ในเนื้อเยื่ออวัยวะโดยวิธี *Western blot*

ผลการศึกษา : สารสกัดมะขามป้อมขนาด 50 มก./กก.ของน้ำหนักตัว สามารถเพิ่มความเข้มข้นของอสุจิและระดับของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในหนูแรทที่มีความเครียดเรื้อรังเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัด อีกทั้งยังลดระดับของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน มาลอนไดอัลดีไฮด์ เปอร์เซ็นต์ของหัวอสุจิที่ผิดปกติ และเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่เกิดอะโครโซมรีแอคชันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และยังสามารถลดการเกิดพยาธิสภาพในอวัยวะหนูแรทภาวะเครียดเรื้อรังอีกด้วย ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดมะขามป้อมเพิ่มการแสดงออกของระดับโปรตีน *StAR* และพบการเปลี่ยนแปลงของระดับ *tyrosine phosphorylated proteins* ในอวัยวะหนูที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยกรงบังคับ

สรุป : สารสกัดจากใบมะขามป้อมสามารถป้องกันการทำลายเนื้อเยื่อ อวัยวะเพศ คุณภาพอสุจิและโปรตีนที่สำคัญในอวัยวะของหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยให้เกิดภาวะเครียดเรื้อรัง

คำสำคัญ : มะขามป้อม, การทำลายของอวัยวะ, ภาวะเครียดเรื้อรัง, *tyrosine phosphorylated protein*, หนูแรท.

Teratogenic effect of pyrethroid pesticide on neural tubes and eyes *in Ovo* chick embryo

Suwicha Thongphanich*

Phutthaporn Tonglon**

Thongphanich S, Tonglon P. Teratogenic effect of pyrethroid pesticide on neural tubes and eyes *in Ovo* chick embryo. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 398 - 9

Background : *Pyrethroid pesticide is an external teratogen that is widely used in Thailand agricultural industries. It has been reported that pyrethroid contamination in infant's blood and meconium, and the infants born from mothers who were living in the contaminated areas during pregnancy suffered birth defects more than those living in cleaned areas.*

Objective : *Therefore, this research was to study the effects of pyrethroid on the development of neural tubes and eyes using fertilized chick eggs as the model.*

Methods : *In the experimental group, 0.1 milliliters of 1% pyrethroid was injected into the yolk sac at 21 hours of incubation, and sacrificed on the 7th and 14th embryonic days. Then, we observed the mortality rate, gross anomalies, H&E tissue stained, and clear stained with Alcian blue and Alizarin red dyes. The control group was injected with 0.9% normal saline solution.*

Results : *The mortality rate in experimental group were 0.15 in day 7, and 0.19 in day 14, that was significant difference compared with that of the control ($P < 0.05$). Gross defects showed the growth retardation, microphthalmia, anophthalmia, and signs of the neural tube defects as the craniorachischisis, and caudal regression syndrome. The clear stained embryos demonstrated that absent of the skull bone and the caudal part of vertebral column. The histological results showed malformation of the eyeball including the retina, cornea, and lens. In addition, the neural canal was narrowed with thin wall of the diencephalon, and degeneration of the neural crest cells occurred.*

Conclusion : *In conclusion, pyrethroid pesticide increased the mortality rate and affected to the neural tube and the eye in developing chick embryo.*

Keywords : *Teratogen, pesticide, pyrethroid, chick embryo.*

* Department of Medical Science, Faculty of Science, Rangsit University

** Department of Anatomy, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

สุวิชา ธงพานิช, พุทธิพร ทองลั่น. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดไพรีทรอยด์ ต่อท่อประสาท และลูกตาของตัวอ่อนไก่ ไนโซไคฟัก. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.; 62 (3): 398 - 9

- เหตุผลของการทำวิจัย** : สารกำจัดศัตรูพืชชนิดไพรีทรอยด์ จัดเป็นสารก่อรูปวิกลภายนอก (external teratogen) ในภาคเกษตรกรรมของประเทศไทย ที่ผ่านมามีรายงานพบการตกค้างในชี้เทา และเลือดของทารกแรกเกิด รวมทั้งมีรายงานพบว่าทารกแรกเกิดที่มารดาอาศัยอยู่ใกล้แหล่งตกค้างของสารไพรีทรอยด์ มีอัตราการเกิดความพิการแต่กำเนิดมากกว่าบริเวณอื่น
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มไพรีทรอยด์ ที่มีต่อการเจริญของท่อประสาท และลูกตา โดยใช้ไนโซไคฟักเป็นโมเดลในการทดลอง
- วิธีการทำวิจัย** : กลุ่มทดลองทำการฉีดสารไพรีทรอยด์ที่ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เข้าไปทางถุงไข่แดง หลังนำเข้าสู่ตู้ฟัก 21 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บตัวอ่อนในวันที่ 7 และ 14 เพื่อบันทึกอัตราการตาย ศึกษาลักษณะภายนอก และนำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin และย้อมด้วยเทคนิค clear staining ด้วยสี Alcian blue และ Alizarin red เพื่อศึกษากระดูก สำหรับกลุ่มควบคุมใช้ 0.9% normal saline solution แทนสารกำจัดศัตรูพืช
- ผลการศึกษา** : ผลการศึกษาพบว่าตัวอ่อนไก่ในกลุ่มทดลองระยะ 7 วัน และ 14 วัน มีอัตราการตาย 0.15 และ 0.19 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับผลการศึกษาลักษณะภายนอกพบว่า ตัวอ่อนมีลักษณะของการเจริญที่ช้ากว่าปกติ (growth retardation) ตาเล็ก (microphthalmia) ไม่มีลูกตา (anophthalmia) และพบความผิดปกติของท่อประสาท ได้แก่ craniorachischisis และ caudal regression syndrome เมื่อนำไปย้อมสีด้วยเทคนิค clear staining พบว่าไม่มีส่วนของกะโหลกศีรษะ และส่วนปลายกระดูกสันหลังหดสั้นลง สำหรับผลทางจุลกายวิภาคศาสตร์ พบมีความผิดปกติทั้งในส่วนของจอประสาทตา กระจกตา และเลนส์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม มีการตีบแคบของท่อประสาท และสมองในส่วนของ diencephalon มีผนังบาง รวมทั้งมีการสลายตัวของกลุ่มเซลล์ neural crest
- สรุป** : สารกำจัดศัตรูพืชชนิดไพรีทรอยด์ทำให้ตัวอ่อนมีอัตราการตายที่สูงขึ้น และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติต่อการเจริญของระบบประสาท และลูกตาในตัวอ่อนไก่ได้
- คำสำคัญ** : สารก่อรูปวิกล, สารกำจัดศัตรูพืช, ไพรีทรอยด์, ตัวอ่อนไก่.

Anatomical and histological characteristics of Linburg–Comstock variation in Thai population

Athikhun Suwannakhan*

Laphatrada Yurasakpong* Krai Meemon*

Suwannakhan A, Yurasakpong L, Meemon K. Anatomical and histological characteristics of Linburg–Comstock variation in Thai population. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 400 - 2

Background : *Linburg–Comstock variation refers to an occasional interconnection between flexor pollicis longus and flexor digitorum profundus to the index finger. The connection can be found in around 21% of the population. Individuals with this connection will simultaneously flex the distal phalange of the index while actively flexing distal phalange of the thumb. Although the connection remains asymptomatic in most cases, it may cause unexplained chronic pain. To date, only four studies were performed to determine the cadaveric prevalence and anatomical characteristics of the Linburg–Comstock variation, and none was done to examine its histological appearance.*

Objective : *The aim of the study was to investigate the anatomical and histological characteristics of Linburg–Comstock variation in Thai population.*

Methods : *One hundred and thirty cadaveric upper limbs were dissected. The tendons of the flexor pollicis longus and flexor digitorum profundus to the index finger were identified for the possible occurrence of the intertendinous connection. As for histological analysis, selected specimens were sampled, stained with hematoxylin and eosin, and visualized under light microscope.*

Results : *Out of 130 dissected upper extremities, Linburg–Comstock connection was present in 32 limbs (24.6%). It was classified into three types according to histological characteristics, namely, fibrous, tendinous, and musculotendinous. In 29 cases (22.3%), the connection was simply the thickening of synovial sheath between the two tendons. In two cases (1.5%) the connection was found as an additional tendinous slip of dense regular collagen bundles running from the flexor pollicis longus to flexor digitorum profundus of the index. In one case (0.8%), there was an aberrant reversed musculotendinous unit running from flexor pollicis longus, which later joined the first lumbrical.*

Conclusion : *This is the first study to report the histological characteristics and classification of Linburg–Comstock variation. Its etiology, clinical relevance, and anatomical nomenclature describing the connection are discussed.*

Keywords : *Linburg–Comstock variation, anatomical variants, anatomical characteristic.*

อธิคุณ สุวรรณพันธ์, ลภัสสรดา ยุรศักดิ์พงศ์, ไกร มีมล. ลักษณะทางกายวิภาคและจุลกายวิภาคของโครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock ในประชากรไทย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. - ม.ย.;62(3): 400 - 2

- เหตุผลของการทำวิจัย** : โครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock คือโครงสร้างที่เชื่อมระหว่างเอ็นกล้ามเนื้อ *flexor pollicis longus* และ *flexor digitorum profundus* ของนิ้วชี้ ซึ่งพบได้ในประมาณร้อยละ 21 ของประชากร บุคคลที่มีโครงสร้างดังกล่าวจะพบการงอของ *distal phalanges* ของนิ้วชี้ขณะทำการงอ *distal phalanges* ของนิ้วหัวแม่มือ ส่วนใหญ่โครงสร้างนี้ไม่ก่อให้เกิดอาการใด ๆ และยังไม่มียานวิจัยใดที่ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของโครงสร้างนี้
- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาคและจุลกายวิภาคของโครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock ในประชากรไทย
- วิธีการทำวิจัย** : การศึกษานี้เป็นงานวิจัยเชิงพรรณนาโดยการชำแหละท่อนแขนของร่างกายอาจารย์ใหญ่จำนวน 130 ซ้างเพื่อศึกษาการเชื่อมกันของเอ็นกล้ามเนื้อ *flexor pollicis longus* และ *flexor digitorum profundus* หรือโครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock ตัวอย่างบางส่วนของโครงสร้างได้นำมาย้อมด้วยสี *hematoxylin* และ *eosin* เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค
- ผลการศึกษา** : โครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock สามารถพบได้ใน 32 ท่อนแขน ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 24.6 โครงสร้างดังกล่าวสามารถจำแนกได้เป็นสามแบบตามลักษณะทางจุลกายวิภาค ประกอบด้วยแบบ *fibrous* แบบ *tendinous* และแบบ *musculotendinous* ผลการศึกษาพบว่ามี การเชื่อมต่อระหว่างเอ็นสองเส้นเป็นเพียงการหนาตัวขึ้นของ *synovial sheath* ใน 29 ท่อนแขน (ร้อยละ 22.3) และพบเส้นเอ็นซึ่งแยกออกจากเอ็น *flexor pollicis longus* ไปยังเอ็น *flexor digitorum profundus* ของนิ้วชี้ ในสองท่อนแขน (ร้อยละ 1.5) ส่วนในอีกหนึ่งท่อนแขนพบ *reversed musculotendinous unit* ซึ่งแยกจากเอ็น *flexor pollicis longus* และเชื่อมกับกล้ามเนื้อ *lumbrical* ของนิ้วชี้
- สรุป** : การศึกษานี้เป็นงานวิจัยแรกที่จำแนกและศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของโครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock และได้อภิปรายสาเหตุ ความสำคัญทางคลินิก และนิยามทางกายวิภาคของโครงสร้างนี้
- คำสำคัญ** : โครงสร้างผังแปร Linburg-Comstock, ความหลากหลายทางกายวิภาค, ลักษณะทางกายวิภาค.

Localization of muscarinic receptor M1 in three major salivary glands of adult mice in immuno-light and electron microscopy

Atsara Rawangwong* Suthankamon Khrongyut*

Hisatake Kondo* Tarinee Sawatpanich*

Waraporn Sakaew* Wiphawi Hipkaeo*

Rawangwong A, Khrongyut S, Kondo H, Sawatpanich T, Sakaew W, Hipkaeo W. Localization of muscarinic receptor M1 in three major salivary glands of adult mice in immuno-light and electron microscopy. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 403 - 6

Background : *The regulation of saliva secretion is crucial for oral homeostasis and it is maintained under the autonomic nervous function. The cholinergic regulation of salivation is initiated by muscarinic receptors M_1 and M_3 with the latter being a major contributor. In view of the general idea that a minor of the two contributors in a given function exerts a crucial modulatory role.*

Objective : *The present study was attempted to localize M_1 in three major salivary glands of adult mice.*

Methods : *Three major salivary glands of male adult mice were utilized for immuno-light and electron microscopic analyses.*

Results : *M_1 -immunoreactivity was observed in the cytoplasm of all ductal cells, but not in acini. In parotid gland ducts, the immunoreactivity was variable in intensity in different cells along their trajectory. Some moderately immunoreactive cells might show their individual cell contour distinctly because the immunoreactivity was denser along the apical and lateral plasmalemma. In submandibular granular convoluted tubules, the immunoreactivity was weak along the basal plasmalemma. In sublingual striated ducts, the immunoreactivity was diffusely weak throughout the cytoplasm. In intercalated ducts of submandibular and sublingual glands, though short in the latter, some epithelial cells were often present exhibiting moderate immunoreactivity throughout the cytoplasm. Such cells were infrequently found in parotid intercalated ducts.*

Conclusion : *The present findings suggest that pharmacologically reported heterogeneous Ca^{2+} mobilization in response to muscarinic receptor-agonists may be ascribed to the heterogeneity in the distribution of M_1 -immunoreactivity in glandular cells and on their plasma membranes along the longitudinal trajectory of the secretory tubular system.*

Keywords : *Muscarinic receptor M1, major salivary gland, mice.*

อัศรา ระวังวงศ์, สุธารกมล ครองยุติ, อีสะทะเคะ คอนโต, ธาริณี สวัสดิ์พาณิชย์, วราภรณ์
สาแก้ว, วิภาวี หีบแก้ว. การระบุตำแหน่งของ muscarinic receptor M1 ในต่อมน้ำลายหลัก
ของหนูไมซ์ ด้วยเทคนิค immuno-light และ electron microscopy. จุฬาลงกรณ์เวชสาร
2561 พ.ศ. - มิ.ย.; 62 (3): 403 - 6

เหตุผลของการทำวิจัย : กระบวนการหลั่งน้ำลายมีความสำคัญในการรักษาความสมดุลภายใน
ช่องปาก ซึ่งถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ การควบคุม
การหลั่งน้ำลายโดยสารสื่อประสาท cholinergic เริ่มจากการกระตุ้น
muscarinic receptors M_1 และ M_3 โดย M_3 มีบทบาทร่วมที่สำคัญจาก
ส่วน $M1$ ซึ่งมีบทบาทร่วมที่สำคัญรองลงมา ในแง่การปรับเปลี่ยน
กระบวนการดังกล่าว

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการระบุตำแหน่งของ muscarinic receptor M1 ในต่อมน้ำลาย
หลักของหนูไมซ์

วิธีการทำวิจัย : ต่อมน้ำลายหลักของหนูไมซ์โตเต็มวัย ได้ถูกนำมาทำการศึกษา ด้วยวิธี
immunohistochemistry ในระดับ immuno-light และ electron
microscopy

ผลการศึกษา : พบการแสดงออกของ M_1 ในส่วนไซโทพลาซึมของเซลล์ที่ต่อมน้ำลายแต่
ไม่พบในเซลล์กระเปาะน้ำลาย โดยที่ต่อมน้ำลายหน้าหูพบว่า ความเข้ม
ของการติดสีจากการย้อมนั้นมีความแตกต่างกันในแต่ละเซลล์ตลอดท่อ
ทางเดินน้ำลาย ในบางเซลล์พบการติดสีย้อมที่สามารถบ่งชี้ขอบเขตของ
เซลล์ได้ชัดเจน เนื่องจากการติดสีย้อมนั้นเกิดขึ้นบริเวณผิวด้านบน
และผิวด้านข้างของเซลล์ ในส่วน granular convoluted tubule ของ
ต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรพบการติดสีย้อมน้อย โดยพบตามตำแหน่งผิว
ด้านบนของเซลล์ และในส่วน striated duct ของต่อมน้ำลายใต้ลิ้น
พบการติดสีย้อมน้อยเช่นกัน โดยมีลักษณะกระจายทั่วทั้งไซโทพลาซึม
นอกจากนี้ยังพบการติดสีย้อมซึ่งบ่งถึงการแสดงออกของ $M1$ ใน
intercalated duct ของต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรและใต้ลิ้นด้วย ซึ่งใน
บางเซลล์พบความเข้มของการติดสีย้อม ระดับปานกลางกระจายทั่วทั้ง
เซลล์ ทั้งนี้ที่กล่าวมาในต่อมน้ำลายใต้ลิ้นสันกว่า ส่วน intercalated
duct ของต่อมน้ำลายหน้าหูพบการติดสีย้อม $M1$ มากกว่าต่อมน้ำลาย
อื่น ๆ

สรุป : การศึกษาครั้งนี้ สามารถบ่งชี้ผลการรายงานทางเภสัชวิทยาที่ผ่านมาที่พบว่าการกระตุ้นด้วย muscarinic receptor-agonists ทำให้เกิด Ca^{2+} mobilization ในแต่ละเซลล์ของต่อมน้ำลายมีความแตกต่างกัน โดยสามารถอ้างจากการกระจายของการติดสีย้อมซึ่งบ่งถึงการแสดงออกของ M_1 ในเซลล์ของต่อมน้ำลายที่มีความหลากหลายแตกต่างกันไป ซึ่งพบทั้งในเซลล์และบนผิวเซลล์ของเซลล์บุผิวต่อมน้ำลายตลอดเส้นทางเดินน้ำลาย

คำสำคัญ : Muscarinic receptor M_1 , ต่อมน้ำลายหลัก, หนูไมซ์.

Existence and distribution of neurotransmitters in nervous system and reproductive organs during ovarian cycle in sea cucumbers, *Holothuria scabra*

Arada Chaiyamoorn*

Ruchanok Tinikul** Tanes Poomthong****

Supakant Chaichotranunt***** Worawit Suphamungmee*

Prasert Sobhon****** Yotsawan Tinikul *****

Chaiyamoorn A, Tinikul R, Poomthong T, Chaichotranunt S, Suphamungmee W, Sobhon P, Tinikul Y. Existence and distribution of neurotransmitters in the nervous system and reproductive organs during ovarian cycle in sea cucumbers, *Holothuria scabra*. Chula Med J 2018 May – Jun;62(3): 407 - 9

Background : Serotonin (5-HT) and dopamine (DA) are major neurotransmitters playing important physiological roles, including the regulation of reproduction, ovarian maturation, and embryonic development in several invertebrate species, including insects, mollusks and crustaceans. However, there have been no investigations on the existence and distribution of 5-HT and DA in the neural and gonad tissues during ovarian maturation cycle in sea cucumbers, *H. scabra*.

Objectives : Therefore, the aims of this study were to investigate the existence and dynamic distribution pattern of 5-HT and DA in nervous system and ovary, and to examine dynamic changes of these neurotransmitters during the ovarian maturation cycle of *H. scabra*.

Methods : In the present study, the distribution and dynamic expression of 5-HT and DA in nervous system and ovary of sea cucumbers, *H. scabra*, during different ovarian stages were investigated using histology and immunohistochemistry.

* Department of Anatomy, Faculty of Science, Mahidol University

** Department of Biochemistry and Center for Excellence in Protein and Enzyme Technology, Faculty of Science, Mahidol University

*** Mahidol University, Nakhonsawan Campus

**** Coastal Fisheries Research and Development Center

*****Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

- Results** : *We found that 5-HT-immunoreactivity (ir) was more intense in the neurons and neutrophils of the outer ectoneural part, the inner hyponeural part, and the wall of hyponeural canal of radial nerve cord during the mature stages of ovarian cycle, whereas DA-ir was detected at a higher intensity in these tissues during the early stages. Both neurotransmitters were detected in the ectoneural part of the nerve ring. In the ovary, 5-HT-ir was more intense in the late oocytes, while DA-ir was more intense in the early stages.*
- Conclusion** : *These findings suggest that the presence and dynamic expression pattern during ovarian development cycle of these two neurotransmitters may indicate opposing modulatory effects on ovarian development in this sea cucumber species.*
- Keywords** : *Neurotransmitters, serotonin, dopamine, Holothuria scabra, ovarian development, radial nerve cord, nervous system.*

อารดา ไชยมูล, รัชนก ตินิกุล, ธเนศ พุ่มทอง, ศุภกานต์ ชัยโชติรานันท์, วรวิทย์ ศุภมังมี, ประเสริฐ โศภน, ยสวัฒน์ ตินิกุล. การปรากฏและการกระจายตัวของสารสื่อประสาทในระบบประสาทและระบบสืบพันธุ์ ช่วงวงจรการพัฒนารังไข่ในปลิงทะเลขาว *Holothuria scabra*. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2561 พ.ศ. – ม.ย.;62(3): 407 – 9

เหตุผลของการทำวิจัย : ซีโรโทนิน (5-HT) และโดพามีน (DA) เป็นสารสื่อประสาทที่มีบทบาทสำคัญในด้านสรีรวิทยา รวมถึงการควบคุมระบบสืบพันธุ์ การพัฒนาของรังไข่ และการเจริญของตัวอ่อน ในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังหลากหลายชนิด เช่น แมลง หอย กุ้ง และสัตว์ทะเลที่มีเปลือกแข็ง อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาการปรากฏและการกระจายตัวของซีโรโทนินและโดพามีนในเนื้อเยื่อประสาทและต่อมเพศในช่วงการพัฒนารังไข่ในปลิงทะเลขาว *Holothuria scabra*

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการปรากฏและการกระจายตัวของซีโรโทนินและโดพามีนในระบบประสาทและรังไข่ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของสารสื่อประสาททั้งสองชนิดนี้ในช่วงการพัฒนารังไข่ของปลิงทะเลขาว *Holothuria scabra*

วิธีการทำวิจัย : การศึกษาการกระจายตัวของสารสื่อประสาททั้งซีโรโทนินและโดพามีนของปลิงทะเลขาว *H. scabra* ช่วงไข่ระยะอ่อนและไข่ระยะแก่โดยวิธีย้อมสีแบบฮีมาทอกไซลินและอีโอซิน (H & E) และ อิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี (Immunohistochemistry)

ผลการศึกษา : การกระจายตัวของสารสื่อประสาทและนิวโรเปปไทด์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมเซลล์สืบพันธุ์ สารสื่อประสาทซีโรโทนินนั้นพบมากในส่วนของ ectoneural, hyponeural และ wall of hyponeural canal ของ radial nerve cord ในระยะโตเต็มวัย ขณะที่สารสื่อประสาทโดพามีนนั้นพบมากในระยะตัวอ่อน โดยสารสื่อประสาททั้งสองนี้ยังพบว่ามีการกระจายในส่วนของ ectoneural ของ nerve ring ส่วนในรังไข่นั้นซีโรโทนิน พบมากในไซโทพลาซึมของไข่ระยะแก่ ในขณะที่โดพามีนพบในไข่ระยะอ่อน นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงระดับของซีโรโทนินมากขึ้นในระบบประสาทและไขในระยะโตเต็มวัย ส่วนโดพามีนมีการลดลงมากในระยะแก่

สรุป : การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารสื่อประสาททั้งสองนี้ อาจชี้ให้เห็นว่าสารสื่อประสาทสองชนิดนี้มีหน้าที่และบทบาทที่ตรงข้ามกันในการควบคุมการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของปลิงทะเลนี้

คำสำคัญ : สารสื่อประสาท, ซีโรโทนิน, โดพามีน, ระบบประสาท, รังไข่, วงจรการพัฒนารังไข่.

Changed expression in peripheral blood mononuclear cells by the effect of head and neck cancer cells

Areeya Arayataweegool* Nakarin Kitkumthorn** **

Apiwat Mutirangura*

Arayataweegool A, Kitkumthorn N, Mutirangura A. Changed expression in peripheral blood mononuclear cells by the effect of head and neck cancer cells. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 410 - 1

Background : *From previous studies, breast cancer cells secreted substances that alter expression level of MUC-1 gene in surrounding plasma cells. Furthermore, it could be applied to diagnose micrometastasis lymph nodes from breast cancer patients.*

Objective : *Here, the purpose of this study was to investigate the changed expression in Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) when exposed to secretions from head and neck cancer (HNC) cells.*

Methods : *The co-culture model between normal PBMC and HNC cell lines comparing to mock experiment was performed. Then, RNA was extracted from co-cultured PBMC and examined the expression level by RNA-sequencing technique. By the way, expression array data was harvested from GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) to analyze with the RNA-sequencing data by Connection Up- and Down-Regulation Expression Analysis of Microarray Extension (CU-DREAMX) program. Finally, the candidate gene was validated in PBMC of HNC patients compare with PBMC of normal control by real-time polymerase chain reactions.*

Results : *PBMC from cancer patients showed a significantly higher expression of candidate gene compared to the control.*

Conclusion : *This study shows that the cancer cells secretion influences the expression of PBMC. In the future, the results of this study can be used to develop a biomarker for screening cancers of the head and neck.*

Keywords : *Head and neck cancer, co-culture, RNA-sequencing, microarray.*

* Center of Excellence in Molecular Genetics of Cancer and Human Disease, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

** Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Mahidol University

อารียา อารยะทวีกุล, นครินทร์ กิตกำธร, และอภิวัฒน์ มุทิรางกูร. การศึกษาการแสดงออกของ ยีนที่เซลล์เม็ดเลือดขาวเมื่อได้รับสัญญาณจากเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ค. - มิ.ย.; 62 (3): 410 - 1

เหตุผลของการทำวิจัย : จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเซลล์มะเร็งเต้านมสามารถหลั่งสารที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีน MUC-1 ที่พลาสมาเซลล์ได้ และสามารถนำมาใช้ในกาตรวจหาต่อมน้ำเหลืองที่มีการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์เมื่อได้รับสารที่หลั่งมาจากเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ

วิธีการทำวิจัย : ผู้วิจัยทำการจำลองสถานะการรับส่งสารระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์ของคนปกติ และเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอโดยใช้โมเดลโคคัลเจอร์เลี้ยงเซลล์สองชนิดรวมกันเป็นเวลาสี่ชั่วโมง จากนั้นเก็บเซลล์เม็ดเลือดขาวมาสกัดอาร์เอ็นเอแล้วตรวจสอบการแสดงออกของเซลล์ด้วยวิธี RNA-sequencing เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูล Expression array ในฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม Connection Up- and Down-Regulation Expression Analysis of Microarray Extension (CU-DREAMX) ทำให้ได้ยีนคัดเลือกที่น่าสนใจ จากนั้นจึงตรวจสอบการแสดงออกของยีนนี้ในตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์จากผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์ของคนปกติด้วยวิธี Real-time Polymerase Chain Reaction

ผลการศึกษา : จากการศึกษาตรวจสอบการแสดงออกของยีนคัดเลือกพบว่าตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์จากผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอมีการแสดงออกของยีนคัดเลือกสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์จากคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป : สารที่สร้างจากเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์ได้ โดยในอนาคตสามารถนำผลจากการวิจัยไปพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อใช้ในการคัดกรองการเป็นมะเร็งศีรษะและลำคอต่อไปได้

คำสำคัญ : โรคมะเร็งศีรษะและลำคอ, โคคัลเจอร์, RNA-sequencing, Microarray.

Prevalence of face types and facial index among students of Devdaha Medical College, Nepal

Anup Pandeya*

Alok Atreya**

Pandeya A, Atreya A. Prevalence of face types and facial index among students of Devdaha Medical College, Nepal. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 412 - 3

Background : *Facial dimensions and the face types are the most variable factors in human community. These dimensions have practical implications for the anthropologists, forensic experts, anatomists and surgeons. The present study aimed to determine the facial index and face types among the medical and nursing students.*

Objective : *Therefore, this study aimed to compare the face types and facial index among male and female students of a medical college. One hundred and fifty-five students were recruited into the study (n = 155), i.e., seventy-two males (n = 72) and eighty-three females (n = 83).*

Methods : *A systemic random sampling was done among medical and nursing students of Devdaha Medical College and Research Institute from January 2017 to February 2018. Their facial heights and widths were measured and facial indices were calculated. The differences in facial indices among the male and female were calculated. With the facial index range and face types were classified by Banister's classification into five categories, namely: hypereuroprosopic (very broad face, $FI \leq 80$), europrosopic (broad face, $FI = 80 - 84.99$), mesoprosopic (round face, $FI = 85 - 89.99$) leptoprosopic (long face, $FI = 90 - 94.99$) and hyperleptoprosopic (very long face, $FI \geq 95$).*

* Department of Anatomy, Faculty of Medical Science, Kathmandu University extended program, Devdaha Medical College and Research Institute, Rupandehi, Nepal.

** Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Kathmandu University extended program, Devdaha Medical College and Research Institute, Rupandehi, Nepal.

Results : *The mean value of both facial heights and facial widths were slightly higher in the male participants. The range of facial index was higher in the male with the mean (89.33 ± 5.02) when compared to the female (85.80 ± 4.00). The difference in facial index values among male and female participants was statistically significant ($P = <0.001$). In males, leptoprosopic faces were prevalent ($n = 33, 45.84\%$) whereas mesoprosopic face were dominant in the female ($n = 38, 45.79\%$). The prevalent face type in both the gender was mesoprosopic ($n = 59, 38.06\%$) and least prevalent was hyperleptoprosopic ($n = 7, 4.52\%$). The europrosopic face type was the least prevalent face in males ($n = 5, 6.94\%$) whereas hyperleptoprosopic face type was rare in females.*

Conclusion : *The present study depicts higher values of facial height, width and facial index for men when compared to women. The present finding is based upon the indices and classification obtained from developed nations. Further studies with local data would help develop indices and classification for Nepalese population.*

Keywords : *Face types, facial index, medical students.*

**Effect of hand preference on second to fourth digit
(2D: 4D) ratio and its role in sexual dimorphism
in Tibeto-Nepalese and Indo-Nepalese adult
population of Dharan municipality,
Sunsari district of Eastern Nepal :
An anthropometric study**

Shah S*

Khanal L* Koirala S*

Shah S, Khanal L, Koirala S. Effect of hand preference on second to fourth digit (2D: 4D) ratio and its role in sexual dimorphism in Tibeto-Nepalese and Indo-Nepalese adult population of Dharan municipality, Sunsari district of Eastern Nepal : An anthropometric study. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 414 - 5

Background : *The 2nd to 4th digit ratio (2D:4D) is a sexually dimorphic biometric marker, related to prenatal estrogen and testosterone levels in utero and determined genetically by HOX genes. The prenatal effects of testosterone on development of brain hemispheres are considered as a key factor in etiology of left-handedness.*

Objectives : *The aim of the present study was to provide an authentic database on right and left 2D:4D ratios in two different ethnic groups of a particular age and sex, and study its correlation with handedness and sexual dimorphism.*

Methods : *The study was conducted in 400 Tibeto-Nepalese(TN) (200 each of either sex) and 400 Indo-Nepalese(IN) (200 each of either sex) of the age group is 18 years and above. The values for 2D:4D ratio was calculated for both the hands. Hand preference was established according to Edinburgh Inventory and five hand-preference determination groups were constituted after calculation of laterality score. The results were tabulated and subjected to statistical analysis. A $P < 0.05$ was considered to indicate statistical significance.*

Results : Mean values for left 2D:4D ratio in TN males were higher than IN males but lower in females. The mean value for left 2D:4D ratio in TN males were lower than IN males but higher in females. When the values of 2D:4D ratio were assessed by gender, the values were found to be statistically significant ($P < 0.001$), whereas when were assessed by ethnicity only right hand 2D:4D ratio was found be statistically significant ($P < 0.001$). When relationship between laterality score and 2D:4D were examined, the values were found to be significant in both ethnic groups on the left side only.

Conclusions : Besides sexual dimorphism, 2D:4D ratio shows significant ethnic and population differences.

Keywords : Digit ratio, sexual dimorphism, hand preference.

3D co-culture in bone tissue engineering

Bao Jibo*,**

Soonsawad Pan*

Jibo B, Pan S. 3D coculture in bone tissue engineering. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 416 - 7

There are three key elements, namely: 1) scaffold, 2) stem cells, and 3) inducers that are involved in engineering most of the bone tissues. In the past, studies have been mainly focused on osteoblasts. However, in both remodeling and modeling of the bone, the cooperation between the osteoblasts and osteoclasts should be considered. In this investigation, we establish 3D co-culture model to include the osteoclasts and the osteoblasts in order to consider the native environment that mimics the implant-related bone regeneration. Moreover, conditions of the platelet-rich fibrin will also be evaluated in bone graft implant surgeries and acquired satisfied clinic efficacy. With our co-culture model, the study is expected to unveil the mechanism of the bone and implant-healing environment in vitro.

* Department of Anatomy, Faculty of Dentistry Mahidol University

** Faculty of Dentistry, Kunming Medical University

วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกขึ้นอยู่กับการวิจัยสำคัญสามประการ ได้แก่ โครงข่ายการเกาะของเซลล์ (scaffold) เซลล์ต้นกำเนิด และโมเลกุลชักนำ การศึกษาที่ผ่านมามุ่งศึกษาเฉพาะเซลล์สร้างกระดูก osteoblasts อย่างไรก็ตาม กระบวนการปรับแต่งโครงสร้างกระดูกต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของทั้งเซลล์สร้างกระดูกและเซลล์สลายกระดูก osteoblasts ดังนั้นในการศึกษาคั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกและเซลล์สลายกระดูกร่วมกันร่วมกับการใช้วัสดุรากเทียม (implant) และส่งเสริมกระบวนการสร้างกระดูกหลังผ่าตัดฝังรากเทียมด้วย เพลทเลทริทไฟบริน เพื่อพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมและส่งเสริมการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกรอบรากเทียมในห้องปฏิบัติการอย่างสมบูรณ์แบบมากขึ้น

Positive immunohistochemistry of estrogen receptor-beta in marine polychaete *Perinereis nuntia* corresponding to its reproductive age

Chotip Phooim* Acharawan Thongmee*

Benjamart Pratoomthai** Gun Anantasomboon*

Phooim C, Thongmee A, Pratoomthai B, Anantasomboon G. Positive immunohistochemistry of estrogen receptor-beta in marine polychaete *Perinereis nuntia* corresponding to its reproductive age. Chula Med J 2018 May – Jun; 62(3): 418 - 21

Background : *It is known that the role of estrogen receptor beta (ER β) and estrogen hormone in mammalian cells involves in the communication between cell groups of the reproductive system. The literature review by Linlan LV and co-workers (2017) on the molecular biology of the full-length paER and the gene expression in northern Pacific nematode species (*P. aibuhitensis*) showed that ER-mRNA expression was found highest in the intestine. There is an assumption about the function of this gene on the development of the reproductive cells. Because of marine polychaetes are fully segmented animal that have no permanent gonad, so the reproductive cells are found in all segments of the body. Germ cells are made up of cell lines at the base of the walking leg, and then sends the reproductive cells to accumulate in the middle of the body cavity. Therefore, the stimulation of all the segments of the body to work simultaneously may come from stimulation by sex hormones through the hormone receptors. The authors were interested to investigate the location of ER protein in the *Perinereis nuntia* which is living in the Indo-Pacific marine and which is widely cultured to use as a nourishment for the economic aquatic broodstocks.*

Objective : *To determine the presentation of estrogen receptor-beta (ER β) in marine polychaete *Perinereis nuntia* tissues compared between reproductive and pre-reproductive ages.*

* Biomedical Science Program, Department of Medical Science, Faculty of Science, Rangsit University

** Department of Basic Medical Science, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University

Methods : Five living samples of each female and male polychaete broodstocks at 5 - 6 month of age and pre-reproductive animals (at 2 - 3 month) were collected and determined for (ER β) tissue deposition using indirect immunohistochemical labeling.

Results : Result from immunohistochemistry revealed positive reactions of anti-estrogen receptor-beta at the clusters of cells close to the stump of parapodia with all of female and male brooders. An intense immunoreaction also deposited at the cytoplasm of ovum, whereas non-immunoreactive signal was observed in pre-reproductive specimens.

Conclusion : The presence of (ER β) in marine polychaete corresponding to the reproductive tissue and reproductive age of both gender indicates that this protein receptor is involved in reproductive function. Therefore, the ER may be further used as a biomarker for sex determination or examination for reproductive maturation in *P. nuntia*.

Keywords : Estrogen receptor, reproduction, gametes, polychaete, *Perinereis nuntia*, parapodium.

ช่อทิพย์ โพธิ์อ้อม, อัจฉราวรรณ ทองมี, เบญจมาศ ประทุมไทย, กัญญ์ อนันตสมบุรณ์. การตรวจพบผลบวกของวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดบีต้าในไส้เดือนทะเล *Perinereis nuntia* โดยสัมพันธ์กับระยะเจริญพันธุ์. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2561 พ.ศ. – มิ.ย.; 62(3): 418 – 21

- เหตุผลของการทำวิจัย :** เป็นที่ทราบกันดีว่าตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดบีต้า (ERβ) และฮอร์โมนเอสโตรเจนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมทำหน้าที่สื่อสารระหว่างกลุ่มเซลล์เพื่อกระตุ้นการทำงานของระบบสืบพันธุ์ จากการทบทวนวรรณกรรมโดยคุณ Linlan LV และคณะซึ่งทำการศึกษาด้านชีวโมเลกุลของยีนตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจน (full-length paER) และเนื้อเยื่อที่มีการแสดงออกของยีนนี้ในไส้เดือนทะเลแถบแปซิฟิกตอนเหนือสายพันธุ์ *P. aibuhitensis* ได้เป็นครั้งแรกโดยพบการแสดงออกของ ER-mRNA สูงสุดที่ลำไส้ และมีข้อสันนิษฐานเกี่ยวกับหน้าที่ของยีนนี้ต่อการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ เนื่องจากไส้เดือนทะเลเป็นสัตว์ที่มีลำตัวแบ่งเป็นปล้องอย่างสมบูรณ์ ไม่มีต่อมเพศอยู่ร่วมกันชัดเจน การสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะพบได้กับทุกปล้องของลำตัว โดยสร้างจากกลุ่มเซลล์บริเวณโคนขาที่ใช้เดินแล้วจึงส่งเซลล์สืบพันธุ์เข้าไปสะสมไว้ในช่องว่างกลางลำตัว ดังนั้นการกระตุ้นให้ระบบสืบพันธุ์ทุกปล้องของลำตัวทำงานพร้อมกันได้ อาจมาจากการกระตุ้นโดยฮอร์โมนเพศผ่านตัวรับฮอร์โมนเพศ ผู้วิจัยจึงสนใจตรวจสอบตำแหน่งที่พบโปรตีนตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดบีต้า (ERβ) ในพ่อแม่พันธุ์ไส้เดือนทะเลสายพันธุ์ *P. nuntia* ซึ่งมีถิ่นอาศัยอยู่ในทะเลแถบอินโดแปซิฟิกและถูกนำมาเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลาย เพื่อใช้เป็นอาหารบำรุงสำหรับพ่อแม่พันธุ์สัตว์น้ำเศรษฐกิจ
- วัตถุประสงค์ :** เพื่อตรวจสอบการมีอยู่ของตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดบีต้า (ERβ) ในเนื้อเยื่อของไส้เดือนทะเล *P. nuntia* เปรียบเทียบระหว่างวัยเจริญพันธุ์และวัยก่อนเจริญพันธุ์
- วิธีการทำวิจัย :** ทำการคัดเลือกและเก็บตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ไส้เดือนทะเลอายุ 5 - 6 เดือนที่มีชีวิตทั้งเพศผู้และเพศเมียและวัยก่อนเจริญพันธุ์ (อายุ 2 - 3 เดือน) ชนิดละ 5 ตัวอย่างตามกรรมวิธีเฉพาะเพื่อตรวจสอบหาตำแหน่งสร้างและสะสมของ (ERβ) ในเนื้อเยื่อโดยวิธี indirect immunohistochemical labeling.

- ผลการศึกษา** : พบผลบวกจากปฏิกิริยาอิมมูโนฮิสโตเคมีของแอนติบอดีจำเพาะต่อตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดปีศาจกับกลุ่มเซลล์ที่อยู่บริเวณโคนรยางค์สองข้างของแต่ละปล้องของพ่อและแม่พันธุ์ไส้เดือนทะเลทั้งสองเพศ และยังพบปฏิกิริยาอิมมูโนซัดเจนที่บริเวณไซโตพลาสซึมของเซลล์ไข่จำนวนมาก แตกต่างจากผลทดสอบกับตัวอย่างไส้เดือนทะเลระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ ซึ่งไม่พบสัญญาณของปฏิกิริยาอิมมูโนในเนื้อเยื่อ
- สรุป** : การตรวจพบตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจนชนิดปีศาจในไส้เดือนทะเลโดยสัมพันธ์กับชนิดของเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ และเฉพาะกับระยะวัยเจริญพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งให้เห็นว่าโปรตีนตัวรับฮอร์โมนเพศนี้เกี่ยวข้องกับหน้าที่การเจริญพันธุ์ จึงอาจนำ ER มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของ *P. nuntia*
- คำสำคัญ** : ตัวรับฮอร์โมนเพศเอสโตรเจน, การเจริญพันธุ์, เซลล์สืบพันธุ์, ไส้เดือนทะเล, *Perinereis nuntia*, รยางค์สองข้างของแต่ละปล้อง.