

DUALISTIC ROLE OF CAFFEINE, AS MAIN ADDITIVE OF YABA, ON METHAMPHETAMINE-INDUCED NEUROTOXICITY**RUJIRAPORN PITAKSALEE 5337571 SCPM / M****M.Sc. (PHARMACOLOGY)****THESIS ADVISORY COMMITTEE: YUPIN SANVARINDA, Ph.D., PIMTIP SANVARINDA, Ph.D., NATTINEE JANTARATNOTAI, Ph.D.****ABSTRACT**

Methamphetamine (METH) is an illicit CNS stimulant, commonly used in Thailand and worldwide. METH has long been known to cause neurotoxicity, specifically to dopaminergic neurons, resulting in the loss of neurons in substantia nigra and the development of Parkinson's disease later in life. Recent study demonstrated that caffeine potentiates the toxic effect of METH in neuroblastoma cells possibly via an increase in ROS production and an increase in the induction of apoptosis. However, the underlying mechanism is not clearly understood. METH could also induce autophagy, an intracellular degradation process important for cellular homeostasis. Therefore we aimed to investigate the involvement of autophagy and apoptosis pathways on the potentiating effect of caffeine on METH-induced neurotoxicity. The effects of caffeine could be produced *in vitro* using SH-SY5Y, a dopaminergic neuroblastoma cell line. Combined treatment of caffeine and METH increased the induction of apoptosis, as shown by expression of cleaved caspase-3. Inhibition of autophagy by PI3K inhibitor, 3-Methyladenine (3-MA) increased the toxicity of METH with the increasing of caspase-3 activation, in METH treatment alone and in combination with caffeine. However, study of proteins involved in autophagy pathways, including LC3II, p-mTOR, and p-4Ebp1 revealed that, in fact, caffeine induces autophagy and enhancing autophagic flux in METH treated cells. It is also noted that 3-MA did not significantly alter the viability of caffeine treated-cells. The result demonstrated the protective role of autophagy against apoptotic cell death, which we proposed as a major toxic mechanism of METH. The study also revealed the dual roles of caffeine in the toxic effect of METH. Caffeine potentiates METH-induced neurotoxicity by enhancing apoptosis cell death. Another side is that caffeine causes an increase of autophagic flux, which is considered a protective mechanism that can antagonize apoptotic cell death. Nonetheless, in the setting of Ya-Ba, which contains both caffeine and METH, the induction of apoptosis is predominated. Further study of the significance of the dual properties of caffeine in clinical circumstances is of necessity.

KEY WORDS: METHAMPHETAMINE/ CAFFEINE/ NEUROTOXICITY/ AUTOPHAGY/ APOPTOSIS

69 pages

บทบาทคู่ควบของคาเฟอีนซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของยาบ้าต่อเซลล์ประสาทที่ได้รับพิษจากสารเสพติด
เมทแอมเฟตามีน

DUALISTIC ROLE OF CAFFEINE, AS MAIN ADDITIVE OF YABA, ON METHAMPHETAMINE-
INDUCED NEUROTOXICITY

รุจิราพร พิทักษ์สาธิตี 5337571 SCPM/M

วท.ม. (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ยูพิน สังวรินทะ, Ph.D., พิมพ์พิย สังวรินทะ, Ph.D., ณัฏฐิณี จันทรรัตน์ไธย, Ph.D.

บทคัดย่อ

เมทแอมเฟตามีนเป็นสารเสพติดกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เมทแอมเฟตามีนเป็นพิษต่อระบบประสาทโดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ประสาทที่ผลิตสารสื่อประสาทโดปามีน (dopaminergic neuron) สร้างความเสียหายกับสมองส่วน substantia nigra และเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคพาร์กินสันในอนาคต งานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าคาเฟอีนเสริมความเป็นพิษของเมทแอมเฟตามีนในเซลล์ประสาทโดยการเพิ่มอนุมูลอิสระและกระตุ้นการตายแบบ apoptosis อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดเกี่ยวกับกลไกการเพิ่มพิษนี้ และจากการที่เมทแอมเฟตามีนสามารถกระตุ้น autophagy ซึ่งเป็นกระบวนการย่อยสลายภายในเซลล์ที่สำคัญ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาความเกี่ยวข้องของกระบวนการ autophagy และกระบวนการ apoptosis ในการที่คาเฟอีนเพิ่มพิษของสารเสพติดเมทแอมเฟตามีนต่อเซลล์ประสาท จากการศึกษาความมีชีวิตของเซลล์และการศึกษาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับทั้งสองกระบวนการในเซลล์ประสาทโดปามีน (SH-SY5Y) พบว่าการให้คาเฟอีนร่วมกับเมทแอมเฟตามีนเพิ่มการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis และ autophagy การยับยั้งกระบวนการ autophagy โดยใช้สาร 3-methyladenine ส่งผลเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์ อีกทั้งยังเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis ซึ่งให้เห็นถึงบทบาทการปกป้องเซลล์ของกระบวนการ autophagy ในการต้านเซลล์ตายแบบ apoptosis ซึ่งคาดว่าเป็นกลไกหลักในความเป็นพิษของเมทแอมเฟตามีน งานวิจัยนี้เผยให้เห็นถึงบทบาทคู่ควบของคาเฟอีนต่อเซลล์ประสาทที่ได้รับพิษจากสารเสพติดเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีนเสริมพิษของสารเสพติดเมทแอมเฟตามีนโดยเพิ่มการกระตุ้นการตายแบบ apoptosis และในอีกบทบาทหนึ่งคือ คาเฟอีนเพิ่มการกระตุ้นกระบวนการ autophagy ซึ่งช่วยปกป้องเซลล์จากการตายแบบ apoptosis อย่างไรก็ตามในยาบ้าซึ่งประกอบด้วยเมทแอมเฟตามีนและคาเฟอีน กลไกที่แสดงผลเด่นกว่าคือการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis