10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:34:52

Abstract

Factor influences during prenatal brain development, mainly is genetics, whereas postnatal, adult are regulated by genetics and environment. Developmental disorders of the brain can create serious problems for children-including mental deficiency. These create life-long problem, often being the cause of **drug abuse** and violence. Thus, studies are encouraged and needed to identify, characterize and elucidate mechanisms of certain factors that are both **positive** and **negative**, influencing the brain development throughout life-span, including prenatal, postnatal, adult and aging periods. The specific aims of these studies are 1) To investigate and elucidate the mechanisms of the **illicit substances** such as **amphetamines**, trigger cell death and induce age-related neurodegeneration, 2.) to investigate and elucidate the mechanisms of amphetamine affecting early brain development and functions, 3.) to investigate certain environmental factors, such as stress affecting early brain development, and 4) to identify the roles of neuroprotective agents especially of melatonin and natural phenols like phytoestrogens in developing and adult nerve cells.

Methamphetamine (METH) is a drug of abuse and also a neurotoxin that may cause long lasting changes in the dopaminergic pathways of CNS. It is considered as one of the models for drug-induced parkinsonism.Our study found that METH induced dopamine cell line, SK-N-SH cell death by generating reactive oxygen species. METH can disrupt the electron transport chain by inhibiting complex I activity, an event which may be associated with the decrease in ATP production.METH caused overp roduction of lipid peroxidation and induction of abnormal protein found in Parkinsonian brain, α-synuclein expression. Furthermore we found that amphetamine induces the expression of LC3-II, a protein associated on autophagosome membrane, in a dose dependent manner. Moreover, amphetamine inhibits phosphorylated of mammalian target of the rapamycin (mTOR) and the action of its downstream target, the eukaryotic initiation factor (eIF)4E-binding protein, 4EBP1. The present study attempted to investigate the effects of METH induced neurotoxicity in the dopaminergic system of the neonatal rat brain. The results showed that in chronic METH administration in postnatal rat, tyrosine hydroxylase enzyme levels were significantly decreased in the dorsal striatum, prefrontal cortex, nucleus accumbens and substantia nigra, whereas synaptophysin levels decreased in the striatum and prefrontal. METH induced a decrease in VMAT-2 immunoreactivity and a decrease in phosphorylated tyrosine hydroxylase expression. We also observed an increase in α-synuclein

immunoreactivity in striatum of postnatal rat. Dopamine D1 receptor (DRD1) levels increased in the dorsal striatum whereas dopamine D2 receptor (DRD2) levels significantly decreased in both the prefrontal cortex and the dorsal striatum but significantly increased in the nucleus accumbens. DRD1 mRNA levels were significantly increased in the dorsal striatum whereas DRD2 mRNA levels were significantly increased in all three brain regions. We also detected the over expression of iNOS induced by METH in cultured microglial cells this could be an important source of NO in CNS inflammatory disorders associated with the death of neurons and oligodendrocytes. We examined the lipid peroxidation and antioxidant enzymes in the blood of human amphetamine users. The plasma lipid peroxidation was significantly increased, whereas the activities of the erythrocyte antioxidant enzymes glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase were significantly decreased in human amphetamine users. These results implicated the potential role of oxidative stress in amphetamine-induced neurotoxicitity.

Little was known about how prenatal stress can permanently alter developmental trajectories of pup's brain. The present study examined the effects of repeated maternal restraint stress on the level of GAP-43 in the brain of rat pups. The results showed that prenatal stress significantly increased GAP-43 level in the prefrontal cortex of rat pup during PND 7-14 . Increased GAP-43 expression was also observed in the pup's hippocampus during the same postnatal periods. However, when observed at PND 60, pups born from stressed mother showed a significant lower ($p<0.001$) GAP-43 expression as compare with control group. The results suggested that maternal stress is harmful to the developing brain. Administration of dexamethasone, a synthetic glucocorticoid receptor agonist, causes neuronal death in the CA3 layer of the hippocampus which has been associated with learning and memory impairments by water maze performance.Prolonged treatment with dexamethasone caused morphological changes and increased the expression of NMDA –glutamate receptor subunit in hippocampal CA3 region. Prenatal stress alter the normal developmental trajectories in the pup's brain may underlies the mechanism link between early life stress and neuropsychopathology in later life.

In order to identify the roles of neuroprotective agents, we examined especially of **melatonin** and some natural products in developing and adult nerve cells studies. Melatonin is a methoxyindole secreted mainly, by the pineal gland. An increasing body of evidence indicates that melatonin can exert neuroprotective effects in various models

10.14457/MU.res.2009.112
วันที่ 30/05/2563 00:31:52

of neurodegeneration. Our results indicate that pretreatment with melatonin markedly prevented the loss of cell viability caused by amphetamine treatment in the SK-N-SH cells. It prevented the overproduction of ROS, lipid peroxidation, depletion of intracellular ATP levels and induction of α-synuclein expression, caused by amphetamine. We found that a pre-treatment with melatonin enhances mTOR activity and 4EBP1 phosphorylation and protects against the formation of LC3-II in SK-N-SH cells exposed to amphetamine. Pretreatment with 2 mg/kg melatonin 30 min prior to METH administration in rats prevented METH-induced reduction in tyrosine hydroxylase, synaptophysin and growth-associated protein-43 protein levels in different brain regions. Besides the roles as the antioxidative stress of melatonin, there is increasing evidence that melatonin can modulate the expression of neurotrophins or neurotrophic factors which play essential roles in neurogenesis and neuroprotection. In this study, we examined whether melatonin could affect adult brain tissue functions, especially in high-level adult neurogenesis area, subventricular zone. We found that adult subventricular zone of the lateral ventricle, the main neurogenic area of the adult brain, expresses melatonin receptor. In addition, treatment NSCs derived from this area with melatonin during proliferation period increases the total number of neurospheres. As stem cell replacement is thought to play an important therapeutic role in neurodegenerative diseases, melatonin might be beneficially used for stimulating endogenous neural stem cells. In addition, it is interesting to further investigate whether melatonin can enhance the neurogenesis in hippocampus in order to promote the learning and memory process in young and/or elderly individual. It may also be possible to enhance brain function during early and aging brain development and resistance to injury and disease in humans.

Key words: amphetamine, brain development, dopamine, drug abuse, neurodegeneration, Parkinson's disease, melatonin, neural stem cell, oxidative stress, stress

10.14457/MU.res.2009.112
ผลิต 30/05/2563 00:34:52

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:34:52

บทคัดย่อ

ปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาของสมองในวัยแรกคลอดนั้นขึ้นกับพันธุกรรม ส่วนในระยะเจริญวัยแล้วนั้นขึ้นกับทั้งพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม เมื่อการพัฒนาสมองเกิดความผิดปกติจะทำให้เกิดความผิดปกติของสมองและร่างกายตลอดชีวิต เช่น ยาเสพติดและการเกิดความรุนแรงนั้น การศึกษาเพื่อทราบกลไกอะไรคือปัจจัยที่ส่งเสริม และปัจจัยที่จะทำให้สมองเสื่อม จึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง ดังนั้นวัตถุประสงค์สำคัญของการวิจัยนี้คือ 1. ศึกษากลไกที่สารเสพติดแอมเฟตามีนก่อให้เกิดสมองเสื่อม 2. ศึกษากลไกที่สารเสพติดแอมเฟตามีนต่อการพัฒนาสมองในวัยแรกคลอด 3. ศึกษาความเครียดต่อการทำงานและการพัฒนาสมอง 4. ศึกษาหาสาร เช่น เมลาโทนินและสารสกัดจากสมุนไพรที่ช่วยป้องกันการเสื่อมของสมองและช่วยส่งเสริมการพัฒนาการทำงานของสมอง

แอมเฟตามีนเป็นสารเสพติดที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง การเสพสารแอมเฟตามีนอาจมีผลทำให้เกิดการผิดปกติในการทำงานของระบบประสาทที่ใช้โดปามีนเป็นสารสื่อประสาท ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคพาร์กินสันได้เมื่ออายุมากขึ้น การศึกษาความเป็นพิษและกลไกการเกิดพิษของสารเสพติดแอมเฟตามีน อาจทำให้สามารถอธิบายและเข้าใจถึงกลไกของการเกิดการตายของเซลล์ประสาทโดปามีนในโรคพาร์กินสันได้ดีขึ้น ในการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารเสพติดแอมเฟตามีน การศึกษาในเซลล์ประสาท SK-N-SH พบว่าสารแอมเฟตามีนทำให้เกิดการตายของเซลล์ โดยพบว่ามีสภาวะ oxidative stress เกิดขึ้นจากการเพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระและทำให้เกิด lipid peroxidation มากขึ้น มีการยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรียมีผลให้การสร้างพลังงาน (ATP) และปริมาณเอนไซม์ complex I ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าสารแอมเฟตามีนมีผลเพิ่มปริมาณและทำให้เกิดการรวมกลุ่มกันของโปรตีน α-synuclein และมีผลลดปริมาณเอนไซม์ TH-phospho Ser 40 จากผลที่กล่าวมาพบว่า oxidative stress เป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ประสาทโดปามีนจากสารแอมเฟตามีน นอกจากนี้กลุ่มวิจัยยังพบเป็นครั้งแรกว่าแอมเฟตามีนยังก่อให้เกิดเซลประสาเกิด autophogy โดยเกิด LC3-II เป็นโปรตีนของ autophagosome membrane และแอมเฟตามีนยับยั้งการ phsosphosylate mTOR และ eukaryotic initiation factor 4EBEP1

การวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของแอมเฟตามีนต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบโดปามีนในสมองหนูแรกคลอด การศึกษาในหนูทดลองโดยการฉีดหนูหลังคลอดวันที่ 4 ด้วยสารแอมเฟตามีนขนาด 5-15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักหนูเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารแอมเฟตามีนทำให้เอนไซม์ tyrosine hydroxylase ลดลงในสมองส่วน prefrontal cortex, nucleus accumbens และ striatum ตัวรับโดปามีนดี 1 เพิ่มขึ้นใน striatum ส่วนตัวรับโดปามีนดี 2 ลดลงในสมองส่วน prefrontal cortex และ striatum แต่เพิ่มขึ้นใน nucleus accumbens นอกจากนี้ยังพบว่าทำให้ synaptophysin ลดลงในสมองส่วน prefrontal cortex และ striatum และมีการลดลงของ GAP-43 บริเวณ nucleus accumbens และจากการศึกษายังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นใน

ระดับ RNA โดยพบว่าตัวรับโดปามีนดี 1 เพิ่มขึ้นในสมองส่วน striatum ในขณะที่ตัวรับโดปามีนดี 2 เพิ่มขึ้นทั้งสามบริเวณที่ศึกษา ทำให้เกิด α-synuclein บริเวณ striatum ลดปริมาณของ vesicular monoamine transporter protein (VMAT2) นอกจากนี้การวิจัยนี้ยังพบว่าแอมเฟตามีนเพิ่ม iNOS, NO และ inflammatory cytokine ต่างๆ เป็นการชี้ให้เห็นว่าแอมเฟตามีนมีผลกระทบต่อขบวนการ Inflammatory นอกจากนี้ยังศึกษาจากกลุ่มผู้เสพติดยาแอมเฟตามีนเพิ่ม lipid peroxidation ใน plasma และลดปริมาณ antioxidant enzyme เช่น glutathione peroxidase, catalase และ superoxide dismutase

การเกิดความเครียดของลูกหนูที่เกิดจากช่วงที่แม่ตั้งครรภ์มีความเครียด จะส่งผลต่อลูกหนู การวิจัยนี้พบว่าสมองส่วนต่างๆ ของลูกหนูเกิดความผิดปกติ GAP43 ซึ่งเป็น protein บริเวณ presynaptic ของเซลประสาท เพิ่มปริมาณมากกว่าปกติ บริเวณ prefrontal cortex, hippocampus ในระยะแรกคลอด P7-14 และลดลงกว่าปกติในระยะ P60 ส่วนหนูที่ได้รับ dexamethasone ทำให้เซลประสาทตาย CA3 บริเวณ hippocampus ทดลองหนูกลุ่มนี้จะลด learning และ memory ตรวจสอบบริเวณ NMDA glutamate receptor subunit เกิดความผิดปกติบริเวณ CA3 ดังนั้นจะเห็นว่าความเครียดทำให้การพัฒนาสมองผิดปกติ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางจิต-ประสาทได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เมื่อหาสารที่จะปกป้องการเสื่อมของสมองนั้น เช่น เมลาโทนินและสารสกัดจากสมุนไพร การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของเมลาโทนินต่อความเป็นพิษของเซลประสาท SK-N-SH ที่เกิดจากสารแอมเฟตามีน ซึ่งเมลาโทนินเป็นสารที่หลั่งจากต่อมไพเนียลและมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ผลงานวิจัยนี้พบว่าเมลาโทนินสามารถป้องกันการตายของเซลล์ประสาท SK-N-SH ได้ มีการสร้างอนุมูลอิสระลดลง ลดการเกิด lipid peroxidation มีผลต่อการทำงานของไมโตรคอนเดรียทำใหมีการสร้างพลังงานและมีปริมาณของเอนไซม์ complwx I มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลลดปริมาณและการรวมกลุ่มกันของโปรตีน α-synuclein และมีผลทำให้ปริมาณเอนไซม์ TH-phosphoSer40 เพิ่มขึ้น เพิ่ม mTOR activity และ 4EBP1 phosphorylation ยับยั้งการเกิด LC3 ลด autophagy ศึกษาผลของเมลาโทนินต่อความเป็นพิษของเซลล์ประสาทโดปามีนที่เกิดจากแอมเฟตามีนในหนูแรกคลอด พบว่าเมลาโทนินสามารถป้องกันการเสื่อมของเซลล์ได้โดยมีผลทำให้ปริมาณของ Tyrosine hydroxylas, synaptophysin และ GAP-43 เพิ่มขึ้นเท่ากับกลุ่มควบคุม ลดการเกิด α-synuclein จากการได้รับแอมเฟตามีน

เมลาโทนินนอกจากมีคุณสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระแล้ว อาจยังมีคุณสมบัติเป็น neurotrophic factor ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษา neurogenesis โดยการเตรียมเซลต้นกำเนิดของเซลล์ประสาทบริเวณ subventricular zone พบว่าเมลาโทนินสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ประสาท (proliferation) ได้ กลไกการเพิ่มนี้เกิดผ่านเมลาโทนิน receptor เซลล์ต้นกำนิดจะมีประโยชน์ในการทดแทนเซลล์ต่างๆ ที่หายเสื่อมไปได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลประสาทบริเวณ hippocampus ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับ learning, memory ดังนั้นการทดแทนโดยเซลต้นกำเนิด

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:34:52

และความสามารถของเมลาโทนินในการช่วยเพิ่มปริมาณเซลจะนำไปพัฒนาการรักษาผู้มีความผิดปกติการเรียนรู้ การจำอย่างเช่น โรค Alzheimer หรือทดแทนบริเวณ nigrostriatum ในกรณีของโรค Parkinson ได้

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:34:52