10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนา และการเสื่อมของสมอง

ศ.ดร.ปิยะรัตน์ โกวิทตรพงศ์ และคณะผู้วิจัย

สิงหาคม 2552

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2565 00:47:52

สัญญาเลขที่ RTA4980007

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนาและการเสื่อมของสมอง

ศ.ดร. ปิยะรัตน์ โกวิทตรพงศ์ และคณะผู้ร่วมวิจัย

มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

Table of Contents

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Page

Abstract..... 1

บทคัดย่อ..... 4

Excultive Summary..... 7

เนื้อหางานวิจัย..... 31

Output 39

กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง.....47

Appendix.....54

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ

เอกสารแนบ 1.1 เมลาโทนินต้านการเสื่อมของสมอง

เอกสารแนบ 1.2 Melatonin, an anti-neurodegenerative agent

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการต่างประเทศ

เอกสารแนบ 2.1 Zinc protects SK-N-SH cells from methamphetamine-induced alpha-synuclein expression

เอกสารแนบ 2.2 Melatonin protects SK-N-SH neuroblastoma cells from amphetamine-induced neurotoxicity

เอกสารแนบ 2.3 Melatonin inhibits MPP^+-induced caspase-mediated death pathway and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cultured cells

เอกสารแนบ 2.4 The presence of melatonin receptors and inhibitory effect of melatonin on hydrogen peroxide-induced endothelial nitric oxide synthase expression in bovine cerebral blood vessels

เอกสารแนบ 2.5 Melatonin inhibits amphetamine-induced increase in α-synuclein but decreases in phosphorylated tyrosine hydroxylase in SK-N-SH cells

เอกสารแนบ 2.6 Melatonin inhibits D-Amphetamine-induced nitric oxide synthase mRNA overexpression in microglial cell lines

เอกสารแนบ 2.7 Zinc rescues dopaminergic SK-N-SH cell lines from methamphetamine-induced toxicity

Table of Contents (cont.)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

		Page
เอกสารแนบ 2.8	Amphetamine and pseudoephredine cross-tolerance measured by c-Fos protein expression in brains of chronically treated rats	
เอกสารแนบ 2.9	1-Methyl-4-phenyl-pyridinium ion-induced oxidative stress, c-Jun phosphorylation and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cells are averted by selegiline	
เอกสารแนบ 2.10	Melatonin attenuates methamphetamine-induced autophagy via the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway	
เอกสารแนบ 2.11	Protection against cell death and sustained tyrosine hydroxylase phosphorylation in hydrogen peroxide- and MPP(+)-treated human neuroblastoma cells with melatonin	
เอกสารแนบ 2.12	Amphetamine-induced alteration of dopaminergic system in early postnatal rat brain	
เอกสารแนบ 2.13	Melatonin reduces induction of Bax, caspase and cell death in methamphetaminetreated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells	
เอกสารแนบ 2.14	Melatonin attenuates methamphetamine-induced deterioration of dopaminergic terminal in neonatal rat brain	
เอกสารแนบ 2.15	Substance P modulates norepinephrine release from rat pineal gland and melatonin synthesis	
เอกสารแนบ 2.16	Transcriptional regulation of iNOS and COX-2 by a novel compound from Curcuma comosa in lipopolysaccharide-induced microglial activation	
เอกสารแนบ 2.17	Increase blood antioxidative stress in amphetamine users	
เอกสารแนบ 2.18	Repeated restraint stress and corticosterone injections during pregnancy alter GAP-43 expression in the hippocampus and prefrontal cortex of rat pups	

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Table of Contents (cont.)

Page

เอกสารแนบ 2.19 Neuroprotective effect of quercetin, rutin and okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.) in dexamethasone-induced stress mice

เอกสารแนบ 2.20 Iteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects

เอกสารแนบ 2.21 Melatonin attenuates amphetamine-induced decrease in vesicular monoamine transporter-2 in postnatal rat striatum

เอกสารแนบ 2.22 Melatonin attenuates methamphetamine-induced deactivation of mammalian target of rapamycin (mTOR), which is involved in the reduction of reactive oxygen species in SK-N-SH cells

เอกสารแนบ 2.23 Ontogenesis of *Per1* and *Aa-nat* expressions in the rat pineal gland

เอกสารแนบ 2.24 Melatonin enhances the proliferation of cultured neural stem cells obtained from adult mouse subventricular zone

Abstract/Proceeding ในประเทศ

เอกสารแนบ 3.1 Melatonin inhibits amphetamine-induced changes in a-synuclein and phosphortlated tyrosine hydroxylase in SK-N-SH cells

เอกสารแนบ 3.2 Amphetamine causes a nuclear translocation of α-synuclein in dopamine SK-N-SH cells

เอกสารแนบ 3.3 Effect of melatonin on synaptophysin expression in the striatum of amphetamine-treated postnatal rats

เอกสารแนบ 3.4 Melatonin attenuates methamphetamine-induced calpain-dependent death pathway in SH-SY5Y cells

เอกสารแนบ 3.5 Melatonin abolishes cell death signaling proteins in methamphetamine-treated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells

Abstract นานาชาติ

เอกสารแนบ 4.1 Melatonin attenuates amphetamine-induced neurotoxicity in the experimental model of Parkinson's Disease

Table of Contents (cont.)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

		Page
เอกสารแนบ 4.2	The neuroprotective effect of melatonin and monoamine uptake blocker on SH-SY5Y dopamine cell line	
เอกสารแนบ 4.3	Amphetamine up-regulated dopaminertic system in developing rat brain	
เอกสารแนบ 4.4	Melatonin and clock gene Per1 expression	
เอกสารแนบ 4.5	Melatonin and neurodegenerative disorders	
เอกสารแนบ 4.6	Tuning down the cell death signaling in oxidative stress- and neurotoxic agents –induced neuronal cell degeneration by melatonin	
เอกสารแนบ 4.7	Amphetamine up-regulated dopaminertic system in developing rat brain	
เอกสารแนบ 4.8	Melatonin prevented amphetamine-induced mitochondrial toxicity and overexpression of alpha-synuclein in SK-N-SH cells	
เอกสารแนบ 4.9	Effect of melatonin on amphetamine-induced structural change of nigrostriatal pathway in early postnatal rats	
เอกสารแนบ 4.10	Melatonin attenuates effect of methamphetamine on mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling protein	
เอกสารแนบ 4.11	The circadian rhythm of Per1 gene expression in the rat striatum	
เอกสารแนบ 4.12	Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in blood of amphetamine abusers	
เอกสารแนบ 4.13	Involvement of Ras proteins in hydrogen peroxide and melatonin-treated SH-SY5Y cultured cells	
เอกสารแนบ 4.14	Protection of cell death and sustained tyrosine hydroxylase phosphorylation in hydrogen peroxide treated human neuroblatoma SH-SY5Y cells by melatonin	
เอกสารแนบ 4.15	Postnatal development of *Per1* and *Aa-nat* expressions in the rat pineal gland	
เอกสารแนบ 4.16	Maternal restraint stress alters growth-associated protein-43 (GAP-43) in postnatal rat brain	

Table of Contents (cont.)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Page

เอกสารแนบ 4.17 The protecting effects of melatonin

เอกสารแนบ 4.18 Melatonin attenuates amphetamine-induced decrease in vesicular monoamine transporter-2 in postnatal rat striatum

เอกสารแนบ 4.19 Melatonin increases the proliferation of neural stem cells in adult mouse subventricular zone

เอกสารแนบ 4.20 Immunohistochemical study on alpha-synuclein expression within nigrostriatal pathway in amphetamine-treated postnatal rats

เอกสารแนบ 4.21 Immunocytochemical study of methamphetamine induced α-synuclein in SK-N-SH cells

เอกสารแนบ 4.22 Calcitonin gene-related peptide mediates an inflammatory response in Schwann cells via a cAMP-dependent ERK signaling cascade

เอกสารแนบ 4.23 Okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.), quercetin and rutin attenuate DEX-induced increase in hippocampal NMDA receptor in mice

เอกสารแนบ 4.24 The effect of melatonin on amphetamine-induced change in BDNF in the neonatal rat brain

เอกสารแนบ 4.25 Melatonin abolishes cell death signaling cascade in methamphetamine-treated SH-SY5Y cultured cells

เอกสารแนบ 4.26 Effect of amphetamine on circadian clock gene expression in the rat pineal gland

เอกสารแนบ 4.27 The rat pineal hosts an endogenous clock whose elements are differentially regulated by noradrenalin

เอกสารแนบ 4.28 Amphetamine-induced change in circadian rhythms of dopaminergic system in the rat striatum

เอกสารแนบ 4.29 Melatonin reduces induction of Bax, caspase and cell death in methamphetamine-treated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells

เอกสารแนบ 4.30 An autonomous oscillation of clock genes in the rat pineal explants culture

Table of Contents (cont.)

Page

เอกสารแนบ 4.31 Methamphetamine induced neurotoxicity in dopaminergic system of the neonatal rat brain

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:17:52

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 00:47:52

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
สืบค้น 30/05/2563 00:47:52

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 09:17:52

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 00:47:52

และความสามารถของเมลาโทนินในการช่วยเพิ่มปริมาณเซลจะนำไปพัฒนาการรักษาผู้มีความผิดปกติการเรียนรู้ การจำอย่างเช่น โรค Alzheimer หรือทดแทนบริเวณ nigrostriatum ในกรณีของโรค Parkinson ได้

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Executive Summary

1. **Background and Significance:**

The brain is the most important organ in the body. It regulates almost entire body functions by having different neuronal innervations. Its complexity is astounding but not beyond our understanding. In the brain lies the ultimate answer to many of our health problem. It is truly the final frontier for medical science. The basic mechanisms of the brain are common to all humans, but the particular circuitry that develops in an individual depends on genetic heritage and environment. Factor influences during prenatal brain development, mainly is genetics, whereas postnatal, adult are regulated by both factors. In infants and children, many disorders disrupt the development of brain with lasting consequences. Developmental disorders of the brain can create serious problems for children-including mental deficiency such as reduction of intelligence, low IQ, autism, developmental language disorders, learning disabilities, cerebral palay, and disorders affecting attention and behavior. These create life-long problem, often being the cause of drug abuse and violence. Recent data reported by a group of researchers in Ramathibodi Hospital have shown that the average IQ of Thai children from 20 provinces is 91 whereas 44 % of these are below 91.

Many of mechanisms that regulate neural development are believed to play a role in the aging of the nervous system. How might development mechanisms contribute to the pathogenesis of neurodegenerative disorders? The nervous system develops and continues to change throughout life. This information has profound implications for the treatment of nervous system diseases. Nearly 1 in 4 Americans are affected each year by one or more neurological or psychiatric disabilities. More people are hospitalized in the United States with neurological and mental disorders than any other major disease group, including heart disease and cancer. These disorders cost US over $ 100 billion a year. There is increasing evidence suggesting that the brain plays major role in regulating lifespan as well as health status during the aging process. The nervous system contains several signaling pathways that influence and regulate lifespan in individuals. Cells in the brain die following stroke, trauma and chronic neurodegenerative disease. The mature brain cannot normally replace lost nerve cells. Neurogenesis, a process of generating functionally integrated neurons from progenitor cells, was

traditionally believed to occur only during embryonic stages in the mammalian nervous system. Only recently as it become generally accepted that new neurons are indeed generated in discrete regions of adult mammalian CNS. Both fetal and adult stem cells respond to a variety of growth factors. Molecules that drive development, including cytokines, neurotransmitters, and hormones, are also critical regulators of neurogenesis during development and aging. While the level of neurogenesis can be modulated by factors such as diet, environmental stimuli and trophic factors, there is little information to date regarding the intrinsic mechanisms underlying the age-related decline in neural stem function. 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.

10.14457/MU.res.2009.112
วันที่ 30/05/2563 00:47:52

2. The Specific Aims:

1. To investigate and elucidate the mechanisms of the illicit substances such as amphetamines affecting early brain development and functions.
2. To investigate and elucidate the mechanisms of amphetamine, trigger cell death and induce age-related neurodegeneration.
3. To investigate certain environmental factors, such as stress affecting early brain development.
4. To investigate and elucidate whether “physical exercise” can enhance the neuronal development, restore of surviving neurons and enhance neurogenesis in aging brain.
5. To identify the roles of neuroprotective agents especially of melatonin and natural phenols like phytoestrogens in developing and adult nerve cells, and the pharmacological potential of the factors to prevent death of the nervous, to maintain their functions and to enhance neurogenesis.
6. To investigate different potential candidate genes involved in drug addiction, in age-related neurodegeneration, in neuronal development.

3. Research design

***Sub-project 1*: Effects of drug abuse on prenatal brain development**

10.14457/MUres.2009.112
โดย 30/05/2563 00:47:52

Animal

1). Pregnant rat/ (9-18 days of gestation) divided into 4 groups

1.1 Control

1.2 Amphetamine treated

1.3 Melatonin/or phytoestrogen treated

1.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated group

2). Learning and memory test on rat pups with different prenatal periods (P4, P10, P16, adult)

3). Locomotors activity test

4). Hippocampal region will be dissected and

4.1 Compare protein and mRNA of growth factor (BDNF)

4.2 Compare the glutamate transmission

4.3 Detect and compare neurogenesis

4.4 Detect and compare synaptogenesis

5). Striatal region will be dissected

5.1 Compare protein and mRNA of growth factor (BDNF)

5.2 Determine and compare dopamine system:

- dopamine transporter,
- dopamine D1 receptor gene expression
- dopamine D2 receptor gene expression

Prenatal drug exposure children/ADHD

6). Different parameters of brain development will be performed:

6.1 Motor activity

6.2 Language development

6.3 IQ test

6.4 Different candidate genes related to brain development and cognition (dopamine transporter, adrenergic alpha 2 C receptor, adrenergic alpha 2A receptor, and D2 dopamine receptor will be detected and compared

Sub-project 2: Molecular mechanism of drug addiction induced age-related neurodegeneration

Dopamine Cell Line (SK-N-SH or SH-SY5Y)

1). will be cultured and the following treatments will be performed:

1.1 Control

1.2 Amphetamine treated

1.3 Melatonin/or phytoestrogen treated

1.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated group

2). Compare ROS, NO pathway related to oxidative stress that leads to apoptosis

3). Determine and compare the level of abnormal protein (which is the hallmark for different age-related neurodegenerative diseases): α-synuclein, Lewy's body

Animal

1). Animals are divided into 4 groups

1.1 Control

1.2 Amphetamine treated

1.3 Melatonin/Phytoestrogen treated

1.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated

2). Determine the dopamine system: (striatum, substantia nigra, ventrotegmental area, nucleus accumbens etc): dopamine transporter, dopamine D1/D2 receptor

3). Determine the oxidative stress pathway in different dopamine system

4). Determine the abnormal protein in different brain area

5). Determine the interrelationship of the induction of abnormal protein and the oxidative stress

Drug abuse addicts/Parkinson's Patient

1). Determine the plasma/oxidative stress parameter in amphetamine abused subjects/Parkinson patients

2). Compare the candidate genes (dopamine D2/D4 receptor, dopamine transporter, 5-HT1B receptor, COMT, MAO) in drug abused subjects

3). Compare the candidate genes related to age-related neurodegenerative disorder (Parkinson's disease)

Sub-project 3: Stress affecting early brain development

1). Animals are divided into different groups:

1.1 Control

1.2 Maternal restraint stress

1.3 Maternal separation

1.4 Maternal restraint and maternal separation

2). Plasma corticosterone is detected

10.14457/MU.res.2009.112
วันที่ 30/05/2563 00:47:52

3). Learning and memory test are tested on the above animal groups

4). Hippocampal region will be dissected and

4.1 Determine and compare the level of growth factor (BDNF) protein and mRNA

4.2 Determine and compare neurogenesis

4.3 Determine and compare synaptogenesis

4.4 Detection of glutamate synaptic transmission

4.5 Determination of long term potentiation, and long term depression

4.6 Determination of the oxidative stress pathway

4.7 Determination of the serotonin neurotransmission

5). Melatonin/phytoestrogen treated group:

5.1 Control

5.2 Maternal restraint stress group treated with melatonin/phytoestrogen

5.3 Maternal separation group treated with melatonin/phytoestrogen

5.4 Maternal restraint + maternal separation treated with melatonin/ phytoestrogen

These four groups of animals will be studied and compared with the four untreated groups as items 2-4.

<u>Sub-project 4</u>: Exercise affecting young and aging brain development

1). Animals

1.1 Young adult (6-8 weeks)

1.2 Neonatal (3-4 weeks)

1.3 Aging (> 24 month old)

1.4 Young adult rat + exercise

1.5 Neonatal + exercise

1.6 Aging + exercise

2). Locomotors activity tested on six different animal groups (above)

3). Learning and memory test

4). Hippocampal region will be dissected and the following parameters will be detected

4.1 BDNF protein and mRNA

4.2 neurogenesis

4.3 Synaptogenesis

4.4 Long term potentiation

4.5 Oxidative stress pathway

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

4.6 Glutamate transmission system: glutamate transporter, receptors

5). Striatum will be dissected and the following parameters will be detected as item No. 4.1-4.5

5.1 Dopamine transmission system: dopamine transporter, dopamine D1/D2 receptors

6). Animals in item No. 1 treated with phytoestrogen and compare with animals in item No. 1, as the following parameters:

7). Locomotors activity

8). Learning and memory test

9). Hippocampus will be dissected and determine the following

9.1 BDNF

9.2 Neurogenesis

9.3 Synaptogenesis

9.4 Long term potentiation

9.5 Oxidative stress

9.6 Glutamate transmission

10). Striatum will be dissected and determine parameter as shown in item No. 5

11). Animals in item No. 1 treated with melatonin and compare with animals in item No. 1, and follow the different studies as shown in item No. 9-10.

4. Time Table

10.14457/MU.res.2009.112
โดยที่ 30/05/2563 00:47:52

Time table 1. Subproject 1: Effects of drug abuse on prenatal brain development.

	1st year		2nd year		3rd year	
	Month		Month		Month	
	1-6	7-12	1-6	7-12	1-6	7-12
1st year Animal 1). Pregnant rat/(9-18 days of gestation) devided into 4 groups 1.1 Control 1.2 Amphetamine treated 1.3 Melatonin/or phytoestrogen treated 1.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated group 2). Learning and memory test 3). Locomotor activity test 4). Hippocampal region will be dissected and compared protein and mRNA of growth factor (BDNF)	↔	↔				
5). Hippocampal region will be dissected and						

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ได้ 30/05/2563 00:47:52

compared glutamate transmission, neurogenesis, and synaptogenesis						
<u>2nd year</u> 6). Striatal region will be dissected and compared protein and mRNA of rowth factor (BDNF)			↔			
7). Striatal region will be dissected and compared dopamine, transporter, dopamine D1 and D2 receptor gene expression				↔		
<u>3rd year</u> <u>Prenatal drug exposure children/ADHD</u> 8). Different parameters of brain development will be performed: 8.1 Motor activity 8.2 Language development 8.3 IQ test					↔	
9). Different candidate genes related to brain development and cognition (dopamine transporter, adrenergic alpha 2 C receptor, adrenergic alpha 2A receptor, and D2 dopamine recepotr will be detected and						↔

10.14457/MU.res.2009.112
ยืม 30/05/2563 00:47:52

compared						

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Time table 2. Subproject 2: Molecular mechanism of drug addiction induced age-related neurodegeneration

	1st year		**2nd year**		**3rd year**	
	Month		**Month**		**Month**	
	1-6	7-12	1-6	7-12	1-6	7-12
1st year Dopamine Cell Line (SK-N-SH or SH-SY5Y) 1). will be cultured and the following treatments will be performed: 1.1 Control 1.2 Amphetamine treated 1.3 Melatonin/or phytoestrogen treated 1.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated group 2). Compare ROS, NO pathway related to oxidative stress that leads to apoptosis	↔					
3). Determine and compare the level of abnormal protein.		↔				
2nd year Animal 4). Animals are devided into 4 groups			↔			

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

4.1 Control 4.2 Amphetamine treated 4.3 Melatonin/Phytoestrogen treated 4.4 Amphetamine + melatonin (or phytoestrogen) treated 5). Determine the dopamine system: (striatum, substantia nigra, ventrotegmental area, nucleus accumbens etc): dopamine transporter, dopamine D1/D2 receptor						
6). Determine the oxidative stress pathway in different dopamine system 7). Determine the abnormal protein in different brain area 8). Determine the interrelationship of the induction of abnormal protein and the oxidative stress				↔		
3rd year Drug abuse addicts/Parkinson's Patient 9). Determine the plasma/oxidative stress parameter in amphetamine abused subjects/Parkinson patients					↔	

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล 30/05/2563 00:47:52

10). Compare the candidate genes (dopamine D2/D4 receptor, dopamine transporter, 5-HT1B receptor, COMT, MAO) in drug abused subjects						
11). Compare the candidate genes related to age-related neurodegenerative disorder (Parkinson's disease)						↔

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ 30/05/2563 00:47:52

Time table 3. Subproject 3: Stress affecting early brain development

	1st year		2nd year		3rd year	
	Month		Month		Month	
	1-6	7-12	1-6	7-12	1-6	7-12
1st year 1). Animals are divided into different groups: 1.1 Control 1.2 Maternal restraint stress 1.3 Maternal separation 1.4 Maternal restraint and maternal separation 2). Plasma corticosterone is detected 3). Learning and memory test are tested on the above animal groups	↔					
4). Hippocampal region will be dissected and compare the level of growth factor (BDNF) protein and mRNA, neurogenesis, synaptogenesis, glutamate synaptic transmission, long term potentiation, long term depression, oxidative stress pathway,		↔				

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ได้ 30/05/2563 00:47:52

and serotonin neurotransmission						
2nd year 5). Melatonin treated group: 5.1 Control 5.2 Maternal restraint stress group treated with melatonin 5.3 Maternal separation group treated with melatonin 5.4 Maternal restraint + maternal separation treated with melatonin These four group of animals will be studied and compared with the four untreated groups as items 2-4			↔	↔		
3rd year 6). phytoestrogen treated group: 6.1 Control 6.2 Maternal restraint stress group treated with phytoestrogen 6.3 Maternal separation group treated with phytoestrogen 6.4 Maternal restraint + maternal					↔	↔

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล่าสุด 30/05/2563 00:47:52

separation treated with phytoestrogen These four group of animals will be studied and compared with the four untreated groups as items 2-4						

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ 30/05/2563 00:47:52

Time table 4. Subproject 4: Exercise affecting young and aging brain development

	1st year		2nd year		3rd year	
	Month		Month		Month	
	1-6	7-12	1-6	7-12	1-6	7-12
1st year 1). Animals 1.1 Young adult (6-8 week) 1.2 Neonatal (3-4 week) 1.3 Aging (> 24 month old) 1.4 Young adult rat + exercise 1.5 Neonatal + exercise 1.6 Aging + exercise 2). Locomotor activity tested on six different animal groups (above) 3). Learning and memory test	←→					
4). Hippocampal region will be dissected and the following parameters will be detected 4.1 BDNF protein and mRNA 4.2 neurogenesis 4.3 Synaptogenesis		←→				

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล่ 30/05/2563 00:47:52

4.4 Long term potentiation 4.5 Oxidative stress pathway 4.6 Glutamate transmission system: glutamate transporter, receptors 5). Striatum will be dissected and the following parameters will be detected as item No. 4.1-4.5 5.1 Dopamine transmission system: dopamine transporter, dopamine D1/D2 receptors						
<u>2nd year</u> 6). Animals in item No. 1 treated with phytoestrogen and compare with animals in item No. 1, as the following parameters: 7). Locomotor activity 8). Learning and memory test			↔			
9). Hippocampus will be dissected and determine the following 9.1 BDNF 9.2 Neurogenesis 9.3 Synaptogenesis				↔		

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล 30/05/2563 00:47:52

9.4 Long term potentiation 9.5 Oxidative stress 9.6 Glutamate transmission 10). Striatum will be dissected and determine parameter as shown in item No. 5						
3rd year 11). Animals in item No. 1 treated with melatonin and compare with animals in item No. 1, and follow the different studies as shown in item No. 9-10					←———	———→

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล่ 30/05/2563 00:47:52

5. Expected benefits:

1. This project will help talented faculty members develop expertise in multidisciplinary approached toward the understanding of basic directed research in neuroscience involving in neural development, normal aging, neurodegeneration, substance abuse and behavioral abnormalities.
2. This will consolidate and strengthen our links with leading research groups in local and abroad.
3. A more complete understanding of the agents or environmental or genetic factors that damage neuron and trigger neuronal death and metabolic steps that carry out the process will certainly lead to new therapeutic strategies for many neurological disorders, such as Parkinson's disease, Alzheimer's disease, attention deficit hyperactive child (ADHD), autism, Down's syndrome, to solve these mysterious of diseases and addiction problems.
4. This will stimulate public awareness in several problems related to child development such as drug addiction, nutrition, environment, and problems related to age-related neurodegeneration such as stress, exercise and nutrition.
5. Natural compounds like BDNF, melatonin, phytoestrogen etc, will be re-engineered so they can fine-tune the brain, to restore balance to mood and to reverse the neurodegenerative process.
6. This will precipitate novel ideas on the understanding of neurogenesis in the process of replacement of lost cell before engaging the treatment via neural stem cell.
7. Solving this project problem will require a mix of ideas, approaches and perspective- but the payoff for both medicine and fundamental neurobiology promises to be high.

6. Output

1. This will encourage the faculty members' abilities to the training of the next generation of scientists, at least 8-9 Ph.D students and 1-2 postdoctoral fellows.
2. This will facilitate and strengthen the basic research skill by publishing at least 5 papers/ year or 15 papers/ 3 years in the high impact factor journals (listed in

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

table) and presenting novel data in national/ and international scientific symposium (10 abstracts/year, 30 abstracts/3 years).

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ล่าสุด 30/05/2563 00:47:52

ผลงาน	ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	รวม
1. จำนวนนักวิจัยรุ่นใหม่ที่สร้างจากโครงการ				
1.1 สถาบันเดียวกัน	5	5	5	5
1.2 ต่างสถาบัน	3	3	3	3
1.3 จำนวนนักศึกษาระดับปริญญาเอก	3	3	3	9
1.4 จำนวนนักศึกษาระดับปริญญาโท	2	2	2	6
2. จำนวนผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ *	5	5	5	15
3. จำนวนผลงานการจดสิทธิบัตร **				
4. จำนวนหนังสือ				
5. จำนวนการนำผลงานไปใช้ประโยชน์				
5.1 เชิงพาณิชย์				
5.2 เชิงสาธารณะประโยชน์				
5.3 เชิงนโยบาย				
6. อื่นๆ				

* ระบุชื่อวารสารวิชาการระดับนานาชาติที่คาดว่าจะลงตีพิมพ์ (แจ้งค่า impact factor ด้วย)

** คาดชื่อเรื่องที่จะจดสิทธิบัตร

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Table 2 Expected Publications

	Title	Journal	Impact factor
1st year			
1	Amphetamines induce neurodegeneration in dopamine cell line and dopaminergic pathways in animal model	Brain Research	2.389
2	Neonatal amphetamine administration alters dopamine receptor gene expression in rat nucleus accumbers, striatum and prefrontal cortex	European Journal of Neuroscience	3.820
3	Amphetamines induce cell death via oxidative stress	Neurotoxicity	2.500
4	Methamphetamine produces α-synuclein, a hall maker of parkinson's disease, in SK-N-SH cell and mice model	Journal of Neurochemistry	4.824
5	Effect of Prenatal Stress on axonal growth in prefrontal cortex of Postnatal Rat	Developmental Neuroscience	3.184
6	Melatonin protects dopaminergic neuron degeneration induced by methamphetamine	Journal of Pineal Research	5.1
2nd year			
1	Prenatal Stress alters the level of serotonin transporter in prefrontal cortex of postnatal rat	Behavioral Neuroscience	2.819

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

2	Exercise induced neurogenesis in dentate gyrus and enhanced learning and memory in adult mice	Journal of Neuroscience	5.275
3	Phytoestrogen induced synaptogenesis in young and aged rat hippocampus	Journal of Neurochemistry	4.824
4	Decreased numbers of synaptophysin in aged brain and its preventation by rearing under enriched environment	Aging Cell	5.960
5	Amphetamines reduce learning and hippocampal neurogenesis in young mice	Developmental Neuroscience	2.384
6	Oxidative stress in blood of Parkinson patient and amphetamine abuses	Neurochem. International	3.211
7	Delayed in language development in prenatal drug addicted child	Behavioral Neuroscience	2.819
8.	Corticosterone alters BDNF expression in hippocampus and learning	Brain Research	2.389
3rd year			
1	Phytoestrogen enhances the production of brain-derived neurotrophic factor and neurogenesis in rat hippocampus	Eur J Neuroscience	3.820
2	Phytoestrogen regulates hippocampal synaptophysin density and learning	Journal of Neuroscience	7.907
3	Synaptic secretion of BDNF in hippocampus after spontaneous exercise	Journal of Neuroscience	7.907

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ถึง 30/05/2563 00:47:52

4	Neuroprotective and neurorestorative signal transduction mechanism of melatonin in aging brain	Journal of Pineal Research	3.261
5	Neuroprotective and neurorestorative effects of melatonin in amphetamine-induced dopaminergic cell damage	Neurotoxicity	2.500
6	Neuroprotective stress response of phytoestrogen	Eur. J. Neuroscience	3.820
7	Genetic and neurochemical modulation of prefrontal cognitive function in prenatal drug abuse children	Journal of Cognitive Neuroscience	5.275
8	Neuronal electrophynological properties of phytoestrogen-induced newly generated hippocampal neuron	Journal of Neuroscience	7.907
9	Interaction between serotonin transporter polymorphism and environmental stress on brain and behaviour development	Behavioral Neuroscience	2.819
10	The COMT polymorphism, memory	Genes Brain Behavior	3.846
11	Genetics influences on oxidative stress involved in cognitive aging	Cognitive Brain Research	2.394

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ถึง 30/05/2563 00:47:52

เนื้อหาผลงานวิจัย

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:17:52

I. To investigate and elucidate the mechanisms of amphetamine trigger all death and induce age-related neurodegeneration

เพื่อศึกษา mechanism ของสารเสพติด amphetamine จะทำให้เซลล์ประสาทเสื่อมและตายได้ จนทำให้เกิดกลไกเหมือนสมองเสื่อมในวัยชรา โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมองเสื่อมแบบ Parkinson หรือไม่นั้นการทดลองนี้จึงศึกษาโดยใช้หลาย model คือใช้

I. **dopamine cell line Model** เหตุผลที่ใช้ cell ชนิดนี้เนื่องจากโรค Parkinson เกิดเนื่องจากการเสื่อมของเซลล์ประสาท dopamine บริเวณ nigrostriatum และเนื่องจากเซลล์ประสาท dopamine บริเวณ ventrogemental area และ nucleus accumbens เป็น target ของ amphetamine ที่จะ act ทำให้เกิดอาการเสพติด ปัจจุบันยังไม่รู้สาเหตุและพยาธิกำเนิดของโรคสมองเสื่อมแบบ Parkinson มีการตั้งสมมุติฐานบางประการคือการเกิด oxidative stress บริเวณ dopamine nigrostriatum การรักษาโรคสมองเสื่อมนี้โดยทั่วไปจะใช้ยาที่ไปเพิ่มปริมาณหรือเพิ่มการทำงานของระบบ dopamine เช่น L-dopa หรือยาที่ไปกระตุ้นการทำงานของ dopamine receptor แต่บ่อยครั้งยาจะไม่มีผลในการรักษาเนื่องจาก L-dopa ถูกเปลี่ยนเป็น dopamine ถ้ามี dopamine มากไปบริเวณ dopamine synatic จะก่อให้เกิด auto-oxidation กลับทำลาย dopamine cell

1. Amphetamine toxic ต่อ Dopamine cell line

ผลการทดลองพบว่าสาร amphetamine ทำให้ dopamine cell line ตาย และกลไกการตายเกิดผ่าน oxidative stress เกิด ROS ลด ATP, เพิ่ม lipid peroxidation เพิ่มการสร้าง abnormal protein, α-synuclein ซึ่งเป็น hall mark ของโรค Parkinson เป็นต้น ซึ่งเป็นกลไกเหมือนใน Parkinson และ Parkinson model (Ajimaporn et al 2007; Klongpanichapale et al 2007 (เอกสารแนบ 2.1, 2.2)

2. สารที่ช่วยยับยั้ง neurodegeneration

สาร melatonin (hormone ที่สร้างโดยต่อมไพเนียล) สามารถป้องกันและยับยั้งการเกิด oxidative stress นี้ได้ และยับยั้งการเกิด α-synuclein ได้ ผลงานชิ้นนี้มีความสำคัญมากที่พบคุณสมบัติของ Melatonin นี้ได้ตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Pineal Research จากคุณสมบัติของ Melatonin ที่มีต่อการเกิด neurodegeneration นั้น ทำให้มีแนวโน้มว่าสามารถใช้เป็นยาต้านความชราภาพหรือไม่ นอกจากนี้กลุ่มผู้วิจัยยังพบว่า amphetamine ทำให้ลดปริมาณของ phosphorylated tyrosine hydroxylase ซึ่ง melatonin สามารถยับยั้งได้ ยิ่งกว่า

นี้ melatonin ยังสามารถเพิ่มปริมาณ p-tyrosine hydroxylase ดังนั้นกลุ่มวิจัยได้หากลไกอธิบายการยับยั้งการเกิด α-synuclein จาก amphetamine ผลงานนี้ได้ตีพิมพ์ในวารสาร Neuroscience Letter 2008; 436:309-313. (Klongpanichapak et al 2007, 2008) (เอกสารแนบ 2.1, 2.2)

3. Neurotoxic effect ของ amphetamine ที่มีต่อ dopamine cell line ยังสามารถยับยั้งได้ด้วย zinc โดยที่ Zn จะไป induce ให้เกิด Zn binding protein (Metallothionein) Zn สามารถยับยั้งการเกิด α-synuclein โดย amphetamine ผลงานนี้ได้ตีพิมพ์ในวารสาร Neuroscience Letter Zn สามารถยับยั้งการเกิด reduced glutathione การลดลงของ mitochondrial complex I การเกิด lipid peroxidation จาก neurotoxic effect ของ amphetamine ฤทธิ์ของ Zn จะหายไปเมื่อ treat cell ด้วย Zn chelating agent (CaEDTA) กลไก neuroprotective effect นี้ เกิดเนื่องจากการ treat Zn ทำให้เกิด Zn binding protein, metallothionein ขึ้น ผลงานนี้สรุป และตีพิมพ์ในวารสาร Brain Rest Bull (Ajimaporn et al 2008, เอกสารแนบ 2.7)

4. Amphetamine ทำให้เกิด signal molecule ที่เกี่ยวกับ apoptosis

Amphetamine ทำให้เกิด Bax/Bcl2 เพิ่มขึ้น และยับยั้งได้ด้วย melatonin ผลงานนี้จะตีพิมพ์ใน Wisesmith et al 2009 J Pineal Res. (2009) ดังเอกสารแนบ 2.13 ซึ่งมีลักษณะเหมือน H_2O_2 ทำให้ dopamine cell line ตาย effect นี้จะถูกยับยั้งไปด้วย melatonin (Chetsawang et al 2007 (เอกสารแนบ 2.3)) การวิจัยส่วนนี้จะเปรียบเทียมผลการทดลองกับ H_2O_2 และสาร toxin ตัวอื่นๆ เช่น MPTP และ rotenone, paraquate ผลงานเบื้องต้นนี้นำไปเสนอในงานประชุมวิชาการของ Asia-Pacific Society for Neurochemistry และตีพิมพ์ใน J. Neurochem 2008; 106 (suppl 1): p.40

Melatonin สามารถยับยั้งการตายของ dopamine cell จากผลของ H_2O_2 และ MPP^+ สามารถยับยั้งการลดลงของ phosphorylated-tyrosine hydroxylase การลดลงของ phosphorylated CREB จาก toxic effect ของ H_2O_2 หรือ toxic effect ของ MPP^+ ผลงานวิจัยนี้ได้ตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ Chetsawng et al 2008 Neurochem Int. 2008; 53: 283-288 (ดังเอกสารแนบ 2.9)

กลุ่มวิจัยนี้พบว่า การตายของ dopamine cell โดยผ่าน Ras-dependent signaling pathway ซึ่ง melatonin ยับยั้ง toxic effect ของ H_2O_2 โดยผ่าน transsylation ต่อ Ras protein ข้อมูลเหล่านี้นำไปเสนอที่งานประชุมวิชาการ Asiz-Pacific Society for Neurochemistry ซึ่งได้ตีพิมพ์เป็น abstract ในวารสาร J. Neurochem 2008; 106 (suppl 1): p.47 และ J. Pineal Rest, 2009; 46: 36-42. Chetsawang et al 2009 (ดังเอกสารแนบ 2.11)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 06:47:52

5. Amphetamine ทำให้ dopamine cell เกิด autophagy

Amphetamine ทำให้ dopamine cell line ตายโดยผ่านขบวนการ oxidative stress ทำให้เกิด apoptosis นอกจากนี้จากผลงานวิจัยจากกลุ่มวิจัยนี้พบว่า amphetamine ทำให้ SK-N-SH dopamine cell line เกิด autophagy โดยการเกิด mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling protein, mTOR เป็น signaling protein ที่มีหน้าที่ควบคุม growth และ proliferation, mTOR เปลี่ยนแปลงได้โดย growth factor ต่างๆ เช่น amino acid หรือ stress ถูก suppress โดย rapamycin mTOR ถูก activate ไปเป็น p-mTOR ซึ่งจะไป phorphorylate protein อีก 2 ชนิด ชื่อ p70S6K และ 4EBP1 ซึ่งจะทำให้เกิด growth และ proliferation จากผลการทดลองพบว่า amphetamine ไปลด p-mTOR ส่วน melatonin ช่วยป้องกันการลดลงของ p-mTOR จาก amphetamine ป้องกันการ reduction of p-4EB1-induced by amphetamine และ melatonin ป้องกันการเกิด autophagy ข้อมูลวิจัยนี้มีความสำคัญมากเป็นทฤษฎีใหม่ ผลงานนี้นำไปเสนอที่งานประชุมวิชาการ Asia-Pacific Society for Neurochemistry และได้ตีพิมพ์เป็น abstract ในวารสาร J.Neurochem 2008; 106 (suppl 1): p.38 และตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ J Pineal Res. 2009; 46: 199-206. (IF = 4.09) Kongsuphol et al 2009 (ดังเอกสารแนบ 2.10)

นอกจากนี้ กลุ่มวิจัยยังได้ศึกษาต่ออีกว่า การที่ amphetamine ทำให้เซลล์ประสาทตายโดยผ่าน pathway ของ mTOR นั้น จำเป็นต้องเกิดผ่านการเกิด reacetive oxygen species และขบวนการนี้ยับยั้งได้ด้วย melatonin ผลงานนี้กำลังรวบรวมเพื่อตีพิมพ์ Nopparat et al (เอกสารแนบ 2.22)

II. Microglial cell model

1. Amphetamine มีผลต่อ glial cell

การเกิด neurodegeneration เช่น Parkinson, Alzheimer กลไกการเกิด neurodegeneration นั้น นอกจาก oxidative stress ยังมีทฤษฎีอื่นๆ เช่น จากเรื่อง immune, inflammation จากการทดลองของกลุ่มวิจัยนี้พบว่า amphetamine มีผลต่อการทำงานของ glial cell ซึ่งเป็นเซลล์พี่เลี้ยงที่สำคัญของเซลประสาท พบว่า amphetamine ทำให้ glial cell ตายโดยการเกิด nitric oxide การทดลองนี้วัด nitric oxide synthase, melatonin สามารถยับยั้งขบวนการนี้ผลงานวิจัยได้ตีพิมพ์ในวารสาร Neuroscience Letter 2008; 489: 134-137 Torarus et al 2008 (เอกสารแนบ 2.6) นอกจากนี้ยังพบว่า amphetamine ทำให้เกิด cytotoxic factor ต่างๆ เช่น interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor -α (TNF-α) melatonin สามารถยับยั้งการเกิด (IL-1β) แสดงว่า melatonin มีคุณสมบัติในการยับยั้ง inflammatory process โดยผ่าน (TNF-α) และ interleukin รายละเอียดของ mechanism นี้ กลุ่มวิจัยกำลังรวบรวมสรุปเพื่อตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ

คณะผู้ร่วมวิจัยได้พิสูจน์อีกว่าการเกิด inflammatory process ใน microglia cell นี้ โดยใช้ LPS ทำให้ microglia เกิด COX2, NO และ cytoxic factor ต่างๆ ขบวนการนี้จะถูกยับยั้งได้ด้วยสมุนไพร curcuma comosa Roxb (Zingibesaceae) ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าสมุนไพรชนิดนี้มีฤทธิ์เป็น anti-inflammatory ขบวนการอย่างหนึ่งของสมองเสื่อม (neurodegeneration) คือผ่าน inflammation ดังนั้นถ้าสมุนไพรนี้มีฤทธิ์เป็น anti-neurodegeneration จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเพื่อใช้ในวงการแพทย์ต่อไป ผลงานวิจัยนี้จะตีพิมพ์ในวารสาร Neuroscience letter 2009 Thampithak et al (2009) (เอกสารแนบ 2.16)

III. Animal Model

1) ผลของ amphetamine/amphetamine derivative ต่อสมองหนู

การฉีด Amphetamine ในหนู มีผลทำให้หนูผลิต dopamine น้อยลงในบริเวณ striatum ซึ่งเป็นบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค Parkinson นอกจากนั้น amphetamine ยังมีผลลดปริมาณ coenzyme Q10 ในบริเวณ stratum โดย coenzyme Q10 มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำงานของ mitochondria Amphetamine ยังทำให้หนูสร้าง lipid peroxidation เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นส่วนที่สัมพันธ์กับ oxidative stress ในบริเวณสามองส่วนนั้นๆ บริเวณต่างๆ ของสมอง prefrontal cortex, striatum, ventral midbrain มีปริมาณของ α-synuclein เพิ่มขึ้นมาก ในกลุ่มหนูที่ได้รับ amphetamine ส่วนบริเวณ cerebellum เพิ่มขึ้นเล็กน้อย amphetamine ยังทำให้เกิด c-FOS expression, pseudoephedrine ซึ่งเป็นยาที่ใช้กันแพร่หลายในการระงับอาการหวัด น้ำมูกไหล สูตรโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับ amphetamine มาก ดังนั้นกลุ่มวิจัยได้นำมาศึกษาเปรียบเทียบกับ amphetamine, pseudoephedrine ทำให้เกิด c-FOS expression เช่นกัน สามารถไป block (3H)-DA uptake ในสมองบริเวณ striatum และ nucleus accumbens ยาทั้ง 2 ชนิดนี้จะเกิด cross tolerance ซึ่งกันและกันต่อ c-Fos expression ดังนั้นผลงานนี้จะเป็นข้อเตือนว่าถ้าใครใช้ในปริมาณมากอาจเกิดการเสพติดเหมือนติด amphetamine ได้ ผลงานนี้ได้ตีพิมพ์ในวารสาร BMC Neuroscience 2008; 9:99. (Ruksee et al 2008) (ดังเอกสารแนบ 2.8)

2. Amphetamine มีผล neonatal rat brain development

คณะวิจัยฯ ได้ทำการทดลองในหนู rat ที่เป็น ระยะแรกคลอด neonatal (P4-P10) ที่ได้รับ amphetamine เป็นแบบ chronic (7 วัน) การได้รับสารเสพติดในระยะแรกคลอดทำให้ลูกหนูมีการปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบ dopamine ทำให้ dopamine receptor D1 และ D2 เปลี่ยนแปลงไปบริเวณ striatum, nucleus accumbns, prefrontal cortex มีการเพิ่มขึ้นของ DRD1 receptor mRNA บริเวณ striatum และมีการเพิ่มขึ้นของ DRD2 receptor mRNA บริเวณ striatum, nucleus accumbens และ prefrontal cortex และถ้า treat ลูกหนูด้วย amphetamine ที่ P4-P10 จากนั้นหยุดให้สารเสพติดจนลูกหนูโตถึง P28 พบว่าการ

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

เปลี่ยนแปลงของ DRD1 และ DRD2 การเปลี่ยนแปลงของ DRD1 และ DRD2 กลับสู่ปกติ งานวิจัยได้ตีพิมพ์ในวารสาร Developmental Neuroscience 2009, 31: 193-201 (IF = 2.966) Mukda et al 2009 (ดังเอกสารแสบ 2.12)

3. Amphetamine มีผลต่อ dopaminergic structural change in neonatal rat brain

เมื่อนำหนู neonatal ชุดที่ฉีด amphetamine ไปติด section ย้อมสี cresyl ดูลักษณะเซลล์บริเวณ striatum, prefrontal cortex และย้อมสีดู dopamine transporter (DAT), tyrosine hydroxylase ซึ่งเป็น marker ของ dopamine neuron ย้อมดู synaptophysin เพื่อดู nerve terminal ของบริเวณต่างๆ hippocampus, nucleus accumbens จากผลการทดลองพบว่า amphetamine ทำให้ tyrosine hydroxylase neuron ลดลงบริเวณ striatum และ prefrontal cortex ทำให้ growth associated protein (GAP-43) ลดลงบริเวณ nucleus accumbens การลดลงของ neuron ในบริเวณต่างๆ นั้นจะยับยั้งได้ด้วยการฉีด melatonin ก่อน แสดงว่า melatonin สามารถยับยั้งการลดลงของ neuron ต่างๆ ได้ ข้อมูลเหล่านี้ได้นำไปเสนอที่งานประชุมวิชาการ Asia-Pacific Society for Neurochemistry ซึ่งตีพิมพ์เป็น abstract ใน J.Neurochem 2008; 106 (suppl 1) : melatonin ยับยั้งการเกิด α-synuclein ได้ สามารถยับยั้งการลดลงของ phosphorylated-tyrosine hydroxylase ในหนู rat ที่เป็น neonatal (P4-P10) ที่ได้รับ amphetamine เป็นแบบ chronic (7 วัน) ผลงานชิ้นนี้มีความสำคัญมากที่พบคุณสมบัติของ melatonin ส่งตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ Neurochem Int 2009; 55: 397-415 (ดังเอกสารแนบ 2.14)

4. ผลของ amphetamine ที่มี vesicular monoamine transporter ($VMAT_2$)

Amphetamine จะเข้าสู่เซลล์ประสาท dopamine นอกจากผ่าน dopamine transporter (DAT) หรือ diffuse ผ่าน synaptic membrane เข้าไปบริเวณ cytosol ของเซลล์ประสาท จากนั้น amphetamine จะไปแย่ง dopamine เข้าไปใน storage vesicular ทำให้ dopamine ถูกไล่มาอยู่ในบริเวณ cytoplasm จากนั้น dopamine จะถูกเอนไซม์ MAO ย่อยได้ inactive metabolite และ free radical นอกจากนี้ dopamine ยังเปลี่ยนโดย auto oxidation ได้ dopamine quinine ซึ่งเป็น reactive species (RS) โดย RS จะทำให้ปริมาณของ $VMAT_2$ ลดลง และทำให้เกิด α-synuclein จากผลการทดลองนี้ พบว่า ฉีด amphetamine กับหนู P4-P10 ทำให้ $VMAT_2$ ลดลงและเพิ่มปริมาณของ α-synuclein ถ้าฉีด melatonin 30 นาทีก่อนฉีด amphetamine นั้น melatonin จะลดการเกิด α-synuclein และเพิ่มปริมาณ $VMAT_2$ ไปสู่ปกติ ผลงานนี้ได้เตรียมส่งตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ Mukda & Govitrapong, J Pineal Res (2009) (ดังเอกสารแนบ 2.21)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

II ในผู้เสพยาเสพติด

ผลของ amphetamine ต่อ oxidative stress ในผู้ป่วยยาเสพติด

ผลของ amphetamine ในผู้เสพติดยา amphetamine เพื่อพิสูจน์ว่าการติดยา amphetamine กระตุ้นทำให้เกิด oxidative stress และอาจทำให้ผู้เสพติดเหล่านี้มีแนวโน้มเป็นโรค Parkinson ได้ การวัด lipid peroxidation พบว่าสูงขึ้น และยังวัด superoxide dismutase, catalase, และ glutathione peroxidase ลดลงในเลือดของผู้เสพติด แสดงว่า amphetamine ทำให้เกิด oxidative stress ในร่างกายของผู้เสพสารเสพติสารกระตุ้นเหล่านี้ ซึ่งเหมือนในสัตว์ทดลอง และเหมือนกับการทดลอง dopamine cell ใน culture ข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญมากชี้ให้เห็นว่าผู้เสพติดยาทำให้เกิด oxidative stress ซึ่งอาจมีผลต่อสมองบริเวณที่มี dopamine cell ข้อมูลนี้ได้นำไปเสนอที่งานประชุมวิชาการ Asia-Pacific Society for Neurochemistry และได้ตีพิมพ์เป็น abstract ใน J.Neurochem 2008; 106 (suppl 1) : p.43 ตีพิมพ์ในวารสาร Govitrapong et al, Addiction Biology (2009) (ดังเอกสารแนบ 2.17) ซึ่งมี impact factor 4.9

นอกจากนี้กลุ่มวิจัยยังได้ศึกษาผู้ป่วยยาเสพติดที่เคยเสพติดเฮโรอีนพบว่าผู้เสพติดเฮโรอีนมีระบบ immune อ่อนแอลง ดังนั้นกลุ่มวิจัยจึงได้ศึกษาผู้ที่เคยเสพติดเฮโรอีน ขณะที่อยู่ในระหว่างรักษาตัวด้วย methadone พบว่าผู้ป่วยที่ใช้ methadone มีระบบ immune อ่อนแอลง พบว่า opioid receptor ทั้ง mu และ delta receptor บน T-lymphocyte มีปริมาณ receptor ลดลง mRNA ลดลง ผลงานวิจัยนี้ได้ส่งเพื่อตีพิมพ์ Toskulkao et al Neurochem Int. (2009 submitted) (ดังเอกสารแนบ 2.20)

IV. Stress affecting early brain development/brain function stress มีผลต่อ abnormal brain development

เพื่อศึกษา prenatal stress ของหนู rat ทำให้แม่หนูมีความเครียดในระหว่างตั้งท้อง เมื่อได้ลูกหนูจะทดสอบ ความเครียดของหนูและศึกษา brain development ของลูกหนู ผลงานวิจัยเบื้องต้นพบว่าสมองของลูกหนู P14-21 บริเวณ hippocampus ซึ่งเป็นสมองบริเวณเกี่ยวกับการเรียนการจำ เปลี่ยนแปลงปริมาณของ protein ที่เกี่ยวกับการสร้าง axonal growth คือ growth associated protein-43 (GAP-43) จากผลการวิจัยพบว่า GAP43 เพิ่มขึ้นบริเวณ prefrontal บริเวณ hippocampus cortex ในหนูช่วงระยะ P7-P14 ข้อมูลเบื้องต้นนี้นำไปเสนอที่ 8th Biennial Meeting of the Asia-Pacific Society for Neurochemistry ที่เมือง Shanghai ประเทศจีน June 24-27, 2008 ซึ่งตีพิมพ์เป็น abstract ใน J.Neurochem 2008; 106 (suppl 1): p.74 และ accept จะตีพิมพ์ Developmental Neuroscience (ดังเอกสารแนบ 2.18) เมื่อลูกหนูโต ระยะ P60 Gap43 จะกลับลดลงต่ำกว่าลูกหนูปกติ ผลการ

10.14457/MUres.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

ทดลองนี้เหมือนผลการทดลองจากการฉีด stress hormone, corticosterone ให้แม่หนูที่ตั้งท้องช่วง GD14-21 ทำให้มีผลต่อลูกหนู การเพิ่ม GAP43 มากกว่าปกตินั้นในช่วง P7-P14 ซึ่งเป็นระยะที่มีการสร้าง synapse (symaptogenesis) มีผลต่อช่วง synapse pruning ก่อให้เกิด abnormal brain development

Stress มีผลต่อการทำงานของสมองเรื่อง learning, memory

หนูที่ได้รับ stress hormone, dexamethasone นำมาทดสอบ learning memory โดย Morris water maze พบว่าหนูจะมี learning memory แย่และช้าลง สมองของหนูเหล่านี้บริเวณ hippocampus CA3 โครงสร้างเปลี่ยนแปลงไป NMDA receptor immunoreactivity เพิ่มขึ้น เพื่อที่จะหาสมุนไพรที่สามารถป้องกันการทำลายสมองบริเวณที่เกี่ยวข้องกับ learning memory นั้น การวิจัยนี้ได้สาร okra (จากการสกัดต้น *Abelmoschus esculentus Linn*) โดยฉีดสารแต่ละตัวนี้ก่อนให้ dexamethasone พบว่าหนูที่ได้สารเหล่านี้สามารถจะเรียนรู้ได้ดี นอกจากนั้นยังทำให้ NMDA receptor immunoreactivity เหมือนหนูกลุ่ม control แสดงว่าสารสมุนไพร 3 ตัวนี้สามารถยับยั้งการเกิดความผิดปกติของปริมาณ NMDA receptor ที่เกิดจากการเกิด stress บริเวณ CA3 hippocampus ซึ่งเป็นสมองที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเรียนรู้และการจำ ผลงานนี้ได้ส่งเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการ Asia-Pacific Society for Neurochemistry/International Society for Neurochemistry ที่ประเทศเกาหลี จะตีพิมพ์ใน J Neurochem (suppl 2) 2009) และจะตีพิมพ์ใน Tongjaroenbuangam et al Behavior Res. (ดังเอกสารแนบ 2.19)

V. Melatonin/clock gene มีบทบาทต่อ brain development

เมลาโทนินนอกจากมีคุณสมบัติเป็น antioxidant ทำให้มีบทบาทเป็น neuroprotective agent ดังผลงานวิจัยเบื้องต้นที่ได้กล่าวมาแล้ว เมลาโทนินยังมีบทบาทสำคัญอาจเป็น hormone ที่ควบคุมการพัฒนาของสมองโดยทำงานร่วมกับ clock gene ต่างๆ ในเบื้องต้นของการวิจัยนั้นที่ต่อมไพเนียลของหนูแรกคลอดที่ P1-P16 พบว่าการพัฒนาของ serotonin-N-acetyltransferase (NAT) enzyme จะเริ่มแสดงเป็น circadian ตั้งแต่ P16 ส่วน Per1 ซึ่งเป็น clock gene ชนิดหนึ่งเริ่มแสดงเป็น circadian ตั้งแต่ P8 แล้วเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แสดงว่า Per1 อาจเป็น gene ที่สำคัญในการควบคุมการ express ของ NAT ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์เมลาโทนิน ผลงานวิจัยได้นำเสนอที่งานประชุมวิชาการนานาชาติ Asia-Pacific Society for Neurochemistry ซึ่งตีพิมพ์เป็น abstract ใน J. Neurochem 2008; 106 (suppl 1): P.68 และได้ส่งตีพิมพ์ใน Wongchitrat et al, Eur J Neuroscience (ดังเอกสารแนบ 2.23)

VI. Melatonin มีบทบาทต่อการกำเนิดเซลล์ประสาทจาก neural stem cell

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

ข้อมูลเร็วๆ นี้ เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง คือ เซลล์ประสาทในบริเวณ subventricular zone และ subgranular ของ dentate gyrus บริเวณหนึ่งของ hippocampus เซลล์ประสาทนี้สามารถ differentiate ไปเป็น neuron หรือ glial cell ได้ neurogenesis จะเกิดขึ้นเรื่อยๆ ในสมองของผู้ใหญ่ แต่จะลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ยังไม่มีใครทราบว่า มีปัจจัยอะไรมาควบคุม neurogenesis สิ่งที่นักวิจัยตั้งสมมติฐาน คือ ปัจจัยที่มาจากสิ่งแวดล้อม สิ่งกระตุ้น และประสบการณ์ต่างๆ growth factor ต่างๆ เช่น BDNF IGF-I และการลด oxidative stress ดังนั้นกลุ่มวิจัยจึงได้ศึกษาโดย dissociate สมองของหนู mice บริเวณ subventricular zone และได้ neural stem cell มา culture ซึ่งเซลล์นี้ตรวจสอบว่าเป็น neural stem cell สามารถเลี้ยงต่อเป็น passage ต่างๆ ได้ เมื่อใส่ melatonin ความเข้มข้นต่างๆ (0.1-10 nM) melatonin สามารถเพิ่มปริมาณของ neurosphere ได้อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ และตาม concentration dependence เมื่อเซลล์นี้เลี้ยงเป็น passage 10 ขึ้น เพิ่มปริมาณมากขึ้น ข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญมาก กลุ่มวิจัยกำลังพิสูจน์และศึกษา mechanism ให้ลึกซึ้ง เพื่อจะเป็นข้อมูลสำคัญในการนำ neural stem cell นี้มาศึกษาพิสูจน์เพื่อนำไป transplant เข้าไปในสมองที่มีปัญหาเซลล์ประสาทเสียไป เช่น กรณีของ Parkinson กรณีของ Alzheimer ผลงานนี้นับว่าสำคัญ กลุ่มวิจัยจะวิจัยต่ออีก และผลงานนี้จะนำไปเผยแพร่ที่ International Society for Neurochem/Asia Pacific Society for Neurochemistry ที่ประเทศเกาหลี ซึ่งจะตีพิมพ์ใน J. Neurochem (supply 2) (2009) (เอกสารแนบ) และจะตีพิมพ์ Sotthibundhu et al J. Pineal Res. (Submited 2009) (ดังเอกสารแนบ 2.24)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Output: ที่ได้จากโครงการ

1. ผลงานวิจัยที่นำไปเผยแพร่

1 <u>ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ</u> (เอกสารแนบ 1.1.-1.2)

1.1. **ปิยะรัตน์ โกวิทตรพงศ์** เมลาโทนินต้านการเสื่อมของสมอง ใน หนังสือ การวิจัยพื้นฐานเพื่อพัฒนาสุขภาพ หนังสือเฉลิมพระเกียรติเนื่องในโอกาสมหามงคลเฉลิมพระชนพรรษา 80 พรรษา 5 ธันวาคม 2550 กองบรรณาธิการ วันเพ็ญ ชัยคำภา, สุทัศน์ ฟู่เจริญ, อภิวัฒน์ มุทิรางกูล และภิเศก ลุมพิกานนท์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) บทที่ 13, 2551: 196-209.

1. 2. **Govitrapong P.** Melatonin, an anti-neurodegenerative agent. Thai J Pharmacol. 2007; 29 (1):15-21.

2 <u>ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการต่างประเทศ</u> (เอกสารแนบ 2.1 - 2.24)

2.1. Ajjimaporn A, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P**. Zinc protects SK-N-SH cells from methamphetamine-induced alpha-synuclein expression. Neurosci Lett. 2007;419(1):59-63. (IF =2.092)

2.2. Klongpanichapak S, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P.** Melatonin protects SK-N-SH neuroblastoma cells from amphetamine-induced neurotoxicity. J Pineal Res. 2007;43(1):65-73. (IF = 5.086)

2.3. Chetsawang J, **Govitrapong P**, Chetsawang B. Melatonin inhibits MPP^+-induced caspase-mediated death pathway and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cultured cells. J Pineal Res. 2007;43(2):115-20. (IF = 5.086)

2.4. Chucharoen P, Chetsawang B, Putthaprasart C, Srikiatkhachorn A, **Govitrapong P.** The presence of melatonin receptors and inhibitory effect of melatonin on hydrogen peroxide-induced endothelial nitric oxide synthase expression in bovine cerebral blood vessels. J Pineal Res. 2007;43(1):35-41. (IF = 5.086)

2.5. Klongpanichpak S, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P**. Melatonin inhibits amphetamine-induced increase in α-synuclein but decreases in phosphorylated tyrosine hydroxylase in SK-N-SH cells. Neuroscience Lett. 2008; 436:309-313. (IF = 2.139)

2.6. Tocharus J, Chongthammakun S, **Govitrapong P**. Melatonin inhibits D-Amphetamine-induced nitric oxide synthase mRNA overexpression in microglial cell lines. Neurosci Lett. 2008;439:134-137. (IF = 2.139).

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

2.7. Ajjimaporn A, Shavali S, Ebadi M, **Govitrapong P**. Zinc rescues dopaminergic SK-N-SH cell lines from methamphetamine-induced toxicity. Brain Res Bull. 77, (2008); 361-366. (IF= 1.943)

2.8. Ruksee N, Tongjaroenbuangam W, Casalotti SO, **Govitrapong P**. Amphetamine and pseudoephredine cross-tolerance measured by c-Fos protein expression in brains of chronically treated rats. BMC (Neuroscience) 9. (2008); 99. (IF= 2.99)

2.9. Chetsawang B, Kooncumchoo P, **Govitrapong P**, Ebadi M. 1-Methyl-4-phenyl-pyridinium ion-induced oxidative stress, c-Jun phosphorylation and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cells are averted by selegiline. Neurochem Int 2008;53 (6-8):283–288. (IF= 3.159)

2.10. Kongsuphol P, Mukda S, Villarroel A, **Govitrapong P**. Melatonin attenuates methamphetamine-induced autophagy via the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. J Pineal Res. 2009;46:199-206. (IF= 5.086)

2.11. Chetsawang B, Chetsawang J, **Govitrapong P**. Protection against cell death and sustained tyrosine hydroxylase phosphorylation in hydrogen peroxide- and MPP(+)-treated human neuroblastoma cells with melatonin. J Pineal Res. 2009;46:36-42. (IF = 5.086)

2.12. Mukda S, Kaewsuk S, **Govitrapong P**. Amphetamine-induced changes in dopamine receptors in early postnatal rat brain. Dev Neurosci. 2009;31:193-201. (IF= 2.966)

2.13. Wisessmith W, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P,** Chetsawang B. Melatonin reduces induction of Bax, caspase and cell death in methamphetaminetreated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells. J Pineal Res. 2009; 46 :433-440. (IF= 5.086)

2.14. Kaewsuk S, Sae-ung K, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P.** Melatonin attenuates methamphetamine-induced deterioration of dopaminergic terminal in neonatal rat brain. Neurochem Int. 2009; 55: 397-405. (IF= 3.228).

2.15. Mukda S Moller M, Ebadi M, **Govitrapong P**. Substance P modulates norepinephrine release from rat pineal gland and melatonin synthesis. Neurosci Lett. 2009; 461: 258-261. (IF= 2.200)

2.16. Thampithak A, Jaisin Y, Meesarapee B, Chongthammakun S, Piyachaturawat P, **Govitrapong P**, Supavilai P, Sanvarinda Y. Transcriptional regulation of iNOS and COX-2 by a novel compound from Curcuma comosa in lipopolysaccharide-induced microglial activation. Neurosci Lett. 2009 Jul 5. (IF= 2.200)

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

2.17. **Govitrapong P**, Boontem P, Kooncumcho P, Sanvarinda Y, Vatanatunyakum S. Increase blood antioxidative stress in amphetamine users. Addict Biol. (2009, in press) (IF=4.9)

2.18. Jutapakdeegul N, Polboon N, Afadlal S, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P** Repeated restraint stress and corticosterone injections during pregnancy alter GAP-43 expression in the hippocampus and prefrontal cortex of rat pups. Devel Neurosci. (2009 in press) (IF= 2.966)

2.19. Tongjaroenbuangam, W, Chantiratikul, P, Pakdeenarong, N, Kongbuntad, W, **Govitrapong, P**. Neuroprotective effect of quercetin, rutin and okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.) in dexamethasone-induced stress mice. Behav Brain Res (2009 submitted)

2.20. Toskulkao T, Pornchai R, Akkarapatumwong V, Vatanatunyakum S, Sanvarinda Y, **Govitrapong P**. Alteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects. Neurochem Int . (2009 submitted) (IF= 3.228)...

2.21. Mukda S, **Govitrapong P**. Melatonin attenuates amphetamine-induced decrease in vesicular monoamine transporter-2 in postnatal rat striatum. J Pineal Res. (2009, submitted) (IF = 5.086)

2.22. Nopparat C, Mukda S, and **Govitrapong P.** Melatonin attenuates methamphetamine-induced deactivation of mammalian target of rapamycin (mTOR), which is involved in the reduction of reactive oxygen species in SK-N-SH cells. Neurosci. Lett. (2009 submitted). (IF= 2.2).

2.23. Wongchitrat P, **Govitrapong P,** Phansuwan-Pujito P. Ontogenesis of *Per1* and *Aa-nat* expressions in the rat pineal gland. Eur J Neurosci. (2009, submitted). (IF= 2.13)

2.24. Sotthibundhu A, Phansuwan-Pujito P and **Govitrapong P**. Melatonin enhances the proliferation of cultured neural stem cells obtained from adult mouse subventricular zone. J Pineal Res. (2009 submitted) (IF= 5.086).

3. Abstract/Proceeding ในประเทศ (เอกสารแนบ 3.1- 3.5)

3.1. Klongpanichapak S, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M**, Govitrapong P**. Melatonin inhibits amphetamine-induced changes in α-synuclein and phosphortlated tyrosine hydroxylase in SK-N-SH cells. Second Annual Symposium of Protein Society of Thailand, Odyssey in Protein Research, Chulabhorn Research Institute Conference Center. September 20-21, 2007.

10.14457/MU.res.2009.112
วันที่ 30/05/2563 00:47:52

3.2. Nopparat C, Klongpanichapak S, Chetsawang B, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P**. Amphetamine causes a nuclear translocation of α-synuclein in dopamine SK-N-SH cells. Second Annual Symposium of Protein Society of Thailand, Odyssey in Protein Research, Chulabhorn Research Institute Conference Center. September 20-21, 2007.

3. **3.** Sae-ung K, Kaewsuk S, **Govitrapong P**, Chaunchaiyakul S, and Phansuwan-Pujito P. Effect of melatonin on synaptophysin expression in the striatum of amphetamine-treated postnatal rats. Proceedings 32nd Annual Conference of the Anatomy Association of Thailand, Rayong, 29April-1May, 2009.

3.4. Suwanjang W, **Govitrapong P**, and Chetsawang B**.** Melatonin attenuates methamphetamine-induced calpain-dependent death pathway in SH-SY5Y cells. Proceedings 32nd Annual Conference of the Anatomy Association of Thailand, Rayong, 29April-1May, 2009. p 19-20.

3.5. Wisessmith W, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong** P, and Chetsawang B. Melatonin abolishes cell death signaling proteins in methamphetamine-treated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells. Proceedings 32nd Annual Conference of the Anatomy Association of Thailand, Rayong, 29 April-1 May, 2009. p 59-60.

4. Abstract นานาชาติ (เอกสารแนบ 4.1 - 4.-31)

4.1. Klongpanichapak S, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P**. Melatonin attenuates amphetamine-induced neurotoxicity in the experimental model of Parkinson's Disease. Proceedings 13th Annual Conference of the Thai Neuroscience Society 9th IBRO-APRC Associate Neuroscience School, Phitsanulok, July 22-29, 2007, pp.7.

4.2. Nopparat C, **Govitrapong P**, Chetsawang B. The neuroprotective effect of melatonin and monoamine uptake blocker on SH-SY5Y dopamine cell line. Proceedings 13th Annual Conference of the Thai Neuroscience Society in Conjection with 9th IBRO-APRC Associate School, Phitsanulok, July 22-29, 2007, pp.44..

4.3. Mukda S, Kaewsuk S, **Govitrapong P.** Amphetamine up-regulated dopaminertic system in developing rat brain. IBRO World congress of Neuroscience, Melbourne, Australia, July 12-17, 2007

4.4. Phansuwan-Pujito P, Wongchirat P, **Govitrapong P**. Melatonin and clock gene Per1 expression. The First International Congress of the International Society for

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Brain-Behavioral Science and Medicine (BBSM2007), Organized by NBBC, TSBM, TSRSMS and WASM, October 6-9, 2007, Sofitel Centara Grand Hotel, Bangkok, Thailand. 6-9 October, 2007 p. 67.

4.5. **Govitrapong P.** Melatonin and neurodegenerative disorders. The First International Congress of the International Society for Brain-Behavioral Science and Medicine (BBSM2007), Organized by NBBC, TSBM, TSRSMS and WASM, October 6-9, 2007, Sofitel Centara Grand Hotel, Bangkok, p. 68.

4.6. Chetsawang B, Putthaprasart C, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P**. Tuning down the cell death signaling in oxidative stress- and neurotoxic agents –induced neuronal cell degeneration by melatonin. The First International Congress of the International Society for Brain-Behavioral Science and Medicine. Bangkok, Thailand, 6-9 October, 2007 p. 69.

4.7. Mukda S, Kaewsuk S, **Govitrapong P**. Amphetamine up-regulated dopaminertic system in developing rat brain. The First International Congress of the International Society for Brain-Behavioral Science and Medicine. Bangkok, Thailand, 6-9 October, 2007 p. 78.

4.8. Klongpanichapak S, Phansuwan-Pujito P, Ebadi M, **Govitrapong P**. Melatonin prevented amphetamine-induced mitochondrial toxicity and overexpression of alpha-synuclein in SK-N-SH cells. Society for Neuroscience, San Diego, California. Nov.3-7, 2007, p. 265.1.

4.9. Sae-ung K, **Govitrapong P**, Phansuwan-Pujito P. Effect of melatonin on amphetamine-induced structural change of nigrostriatal pathway in early postnatal rats. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 22.

4.10. Mukda S, Kongsuphol P, Nopparat C, Villarroel A, **Govitrapong P**. Melatonin attenuates effect of methamphetamine on mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling protein. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 22.

4.11. Mukda S, Wongchitrat P, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P.** The circadian rhythm of Per1 gene expression in the rat striatum. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 23.

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

4.12. Boontem P, Vatanatunyakum S, **Govitrapong P**. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in blood of amphetamine abusers. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 24.

4.13. Chetsawang B, **Govitrapong P**. Involvement of Ras proteins in hydrogen peroxide and melatonin-treated SH-SY5Y cultured cells. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 25.

4.14. Chetsawang J, **Govitrapong P**, Chetsawang B. Protection of cell death and sustained tyrosine hydroxylase phosphorylation in hydrogen peroxide treated human neuroblatoma SH-SY5Y cells by melatonin. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 26.

4.15. Wongchitrat P, Sae-ung K, **Govitrapong P**, Phansuwan-Pujito P. Postnatal development of *Per1* and *Aa-nat* expressions in the rat pineal Gland. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem. 2008;106:suppl 1, p 42-43.

4.16. Szeifoul, Polaboon N, Phansuwan-Pujito P, Jutapakdeegul N, **Govitrapong P**. Maternal Restraint Stress Alters Growth-Associated Protein-43 (GAP-43) in Postnatal Rat brain. 8th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 23-26 June 2008, Shanghai, P.R. of China. J Neurochem 2008;106:suppl 1, p 45.

4.17. **Govitrapong P**, Klongpanichapak S, Mukda S, Nopparat C, Chetsawang B, Phansuwan-Pujito P. The protecting effects of melatonin. The 3rd FAONS Symposium 2008, December 4-6, 2008, Bangkok, Thailand., p. 32.

4.18. Mukda S. and **Govitrapong P**. Melatonin attenuates amphetamine-induced decrease in vesicular monoamine transporter-2 in postnatal rat striatum. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 39.

4.19. Sotthibundhu A and **Govitrapong P**. Melatonin increases the proliferation of neural stem cells in adult mouse subventricular zone. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 30.

4.20. Sae-ung K, Govitrapong P, Ueda K and Phansuwan-Pujito P. Immunohistochemical study on alpha-synuclein expression within nigrostriatal

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

pathway in amphetamine-treated postnatal rats. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 41.

4.21. Boontem P, Phansuwan-Pujito P, Ueda K, **Govitrapong P.** Immunocytochemical study of methamphetamine induced α-synuclein in SK-N-SH cells. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 33.

4. 22. Permpoonputtana K, **Govitrapong P** and Porter JE. Calcitonin gene-related peptide mediates an inflammatory response in Schwann cells via a cAMP-dependent ERK signaling cascade. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 236.

4. 23. Tongjaroenbuangam W, Tuayjun A, Inpao D, Mungkung R, **Govitrapong P**. Okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.), quercetin and rutin attenuate DEX-induced increase in hippocampal NMDA receptor in mice. J. Neurochem 2009; 110:suppl 2, 42.

4.24. Ruksee N, and **Govitrapong P**. The effect of melatonin on amphetamine-induced change in BDNF in the neonatal rat brain.J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 169.

4.25. Wisessmith W, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong** P, and Chetsawang B. Melatonin abolishes cell death signaling cascade in methamphetamine-treated SH-SY5Y cultured cells. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 206.

4.26. Wongchitrat P, **Govitrapong P,** and Phansuwan-Pujito P. Effect of amphetamine on circadian clock gene expression in the rat pineal gland. J. Neurochem 2009; 110: suppl 2, p. 253. .

4.27. Wongchitrat P, Simonneaux V, **Govitrapong P**, Phansuwan-Pujito P. The rat pineal hosts an endogenous clock whose elements are differentially regulated by noradrenalin. European Biological Rhythms Society (EBRS), Strasbourg, France, 22-28 August, 2009.

4.28. Mukda S, Wongchitrat P, **Govitrapong P**. Amphetamine-induced change in circadian rhythms of dopaminergic system in the rat striatum**.** European Biological Rhythms Society (EBRS), Strasbourg, France, 22-28 August, 2009.

4.29. Wisessmith W, Phansuwan-Pujito P, **Govitrapong P**, Chetsawang B. Melatonin reduces induction of Bax, caspase and cell death in methamphetamine-treated human neuroblastoma SH-SY5Y cultured cells. The 32nd Annual meeting of the Japan Neuroscience Society, Nagoya, Japan, 16-18 September, 2009.

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

4.30. Wongchitrat P, Simonneaux V, **Govitrapong P**, Phansuwan-Pujito P. An autonomous oscillation of clock genes in the rat pineal explants culture. SFN 2009 in press.

4.31 . **Govitrapong P**, Mukda S, Kaewsuk S, Sae-ung K, Chetsawang B, Phansuwan-Pujito P. Methamphetamine induced neurotoxicity in dopaminergic system of the neonatal rat brain. SFN 2009 in press.

10.14457/MU.res.2009.112
ใช้ได้ 30/05/2563 00:47:52

กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

1. นำผลงานไปเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการดังนี้

1. International Brain Research Organization (IBRO) Congress of neuroscience (ที่ Melbourne Austratia, July 1-17, 2007)
2. From molecular clocks to human health m Adelaide, Australia, July 7-10, 2007
3. Society for Neuroscience ที่ San Diego สหรัฐอเมริกา วันที่ 3-7 พฤศจิกายน 2007
4. สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยได้เชิญไปบรรยายเรื่อง "Drugs in Neurodegenerative diseases" วันที่ 21 มีนาคม 2550
5. Society for Neuroscience ที่ San Diego สหรัฐอเมริกา วันที่ 3-7 พฤศจิกายน 2550
6. The First International Congress of the International Society for Brain – Behavioral Science and Medicine "The Human Brain and the Future of mankind" ที่ Sofitel Certara Grand Hotel, Bangkok, Thailand วันที่ 6-9 ตุลาคม 2550
7. ร่วมประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย 9 เรื่อง ที่งา 8th Biennial Meeting of the Asia-Pacific Soceity for Neurochemistry (APSN) ที่เมืองเซียงไฮ้ ประเทศจีน ระหว่างวันที่ 24-27 มิถุนายน 2551 นอกจากงานประชุมวิชาการแล้ว อ.ปิยะรัตน์ ซึ่งเป็น council member ของสมาคม APSN ได้รับการเสนอให้ประเทศไทยเป็นเจ้าภาพจัด APSN-IBRO Workshop และจัด APSN Symposium ในปี ค.ศ. 2010
8. เป็นเจ้าภาพร่วมกันจัดเตรียมงานประชุมวิชาการ Federation Asia –Oceasianic for Neuroscience (FAON) ซึ่งจะจัดขึ้นในเดือน ธันวาคม 2551 นี้
9. เป็นเจ้าภาพจัดงานประชุมวิชาการ ประจำปี เมธีวิจัยอาวุโส ครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ กันยายน 2550
10. เป็นเจ้าภาพจัดงานประชุมวิชาการประจำปี เมธีวิจัยอาวุโสครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 ตุลาคม 2551
11. เป็นเจ้าภาพจัดงานประชุมวิชาการประจำปี เมธีวิจัยอาวุโสครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 14 สิงหาคม 2552
12. ร่วมประชุมวิชาการและเสนอผลงานที่งานประชุม International Society for Neurochemistry/22nd Biennial Meeting of the ISN/APSN Joint meeting ระหว่างวันที่ 23-28 สิงหาคม 2552 ที่เมือง Busan ประเทศเกาหลี

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

13. ร่วมประชุมวิชาการและเสนอผลงานที่ Society for Neuroscience 2009 ที่เมือง Chicago สหรัฐอเมริกา ระหว่างวันที่ 17-22 ตุลาคม 2552

2. วิทยากรรับเชิญในการประชุมระดับนานาชาติ

1. เป็นวิทยากรรับเชิญบรรยายเรื่อง "Melatonin and Neurodegenerative disorders" ในงานประชุมวิชาการนานาชาติ The First International Congress of the International Society for Brain-Behavioral Science and Medicine (BBSM2007), Organized by NBBC, TSBM, TSRSMS and WASM, October 6-9, 2007, Sofitel Centera Grand Hotel, Bangkok, Thailand

2. เป็นวิทยากรรับเชิญบรรยาย เรื่อง "Melatonin attenuates amphetamine-induced neurotoxicity in the experimental model of Parkinson's disease" ในงานประชุมวิชาการนานาชาติ The Thirteenth Annual Conference of the Thai Neuroscience Society in Conjunction with 9th IBRO-APRC Associate Neuroscience School, July 22-29, 2007, Phitsanulok, Thailand.

3. เป็นวิทยากรรับเชิญบรรยายเรื่อง "The Protecting effects of melatonin" ในงานประชุมวิชาการ 3rd Federation Asia-Oceania of Neuroscience (FAONS) Symposium.

4. เป็นวิทยากรรับเชิญบรรยาย เรื่อง Methamphetamine induced "Neurotoxicity in dopaminergic system of the neonatal rat brain" ในงานประชุมวิชาการ Society for Neuroscience (SFN)-2009 ที่ Chicago สหรัฐอเมริกา ระหว่างวันที่ 17-23 ตุลาคม 2552

3. รางวัลที่ได้รับระหว่างรับทุนส่งเสริมกลุ่มวิจัย

1. รางวัลศิษย์เก่าดีเด่น (ประเภทวิชาการ/วิจัย) บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล ประจำปี 2551

2. รางวัลอาจารย์ที่ปรึกษาหลักของนักศึกษาปริญญาเอก (ดร.นพพร จงกมลวิวัฒน์) ผู้ได้รับรางวัลวิทยานิพนธ์ดีเด่น เมื่อ 31 มกราคม 2550 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

3. อาจารย์ที่ปรึกษา (montor) รางวัลดีเด่นในการนำเสนอผลงานวิจัยนักวิจัยหลังปริญญาเอกทุน สกอ ดร.สุจิรา มุกดา เมื่อวันที่ 7 กันยายน 2551

4. รางวัลอาจารย์ที่ปรึกษาหลักของนักศึกษาดุษฎีบัณฑิตประกวดวิทยานิพนธ์ดีเด่น ของ ดร.ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์ เมื่อวันที่ กุมภาพันธ์ 2552 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

4. นักวิจัยในโครงการที่ได้รับรางวัลหรือได้รับทุนวิจัยอื่นในระหว่างที่รับทุนส่งเสริมกลุ่มวิจัย

1. รศ.ดร.บัณฑิต เจตน์สว่าง

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

ได้รับทุน สกว.รุ่นกลาง ปีที่ได้รับ สิงหาคม 2547-2549
สิงหาคม 2550-2552

2. ผศ.ดร.จิราภรณ์ โตจรัส

ได้รับทุน สกอ. อาจารย์รุ่นใหม่ ปีที่ได้รับ สิงหาคม 2548-2550
สิงหาคม 2550-2552

3. ดร.สุจิรา มุกดา

ได้รับทุนนักวิจัยหลังปริญญาเอก ปีที่ได้รับ มกราคม 2550- 2552
เครือข่ายเชิงกลยุทธ์เพื่อการพัฒนาบุคลากรมหาวิทยาลัย

4. ดร.อารีจรรย์ โสตถิพันธุ์

ได้รับทุนนักวิจัยหลังปริญญาเอกจากมหาวิทยาลัยมหิดล
ปีที่ได้รับ เมษายน 2552- 2554

5. รศ.ดร.ปานสิริ พันธุ์สุวรรณ

ได้รับทุนรายได้ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ปีที่ได้รับ สิงหาคม 2547-2549
ทุนงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สิงหาคม 2550-2552

6. รศ.ดร.สุขุมาล จงธรรมคุณ

ได้รับทุนงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยมหิดล ปีที่ได้รับ สิงหาคม 2547-2549

7. ดร.อมรพันธ์ อัจจิมาพร

ได้รับทุนกาญจนาภิเษก (คปก.) ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2547-2549

8. ดร.ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์

ได้รับทุนกาญจนาภิเษก (คปก.) ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2547-2549

9. นางสาวประพิมพรรณ วงศ์จิตรัตน์

ได้รับทุนกาญจนาภิเษก (คปก.) ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2546-2550

10. นางสาวขวัญคนิฐ แซ่อึ้ง

ได้รับทุนกาญจนาภิเษก (คปก.) ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2548-2552

11. นายชุติกร นพรัตน์

ได้รับทุนกาญจนาภิเษก (คปก.) ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2548-2553

12. ดร. สุกิจ แก้วสุข

ได้รับทุนพัฒนาอาจารย์ สกอ. ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2548-2550

13. นางสาวกันนิกา เพิ่มพูนพัฒนา

ได้รับทุนพัฒนาอาจารย์ สกอ. ปีที่ได้รับ มิถุนายน 2549-2552

14. ดร. สุจิรา มุกดา

ได้รับทุนสนับสนุนการเดินทางไปเสนอผลงานวิจัยที่
IBRO World congress of Neuroscience
Melbourne, Australia จากสมาคม International

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Brain Research Organization (IBFO) ปีที่ได้รับ 12-17 กรกฎาคม 2550

15. ดร.ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์

ได้รับทุนสนับสนุนการเดินทางจาก สกว. (คปก.)
เดินทางไปเสนอผลงานวิจัยที่ Society for
Neuroscience, San Diego, California, US ปีที่ได้รับ 12-17 พฤศจิกายน 2550

16. ดร.สุจิรา มุกดา

17. นางสาวขวัญคนิฐ แซ่อึ้ง

18. นางสาวปาริชาติ บุญเต็ม

19. นางสาวประพิมพรรณ วงศ์จิตรัตน์

20. Mr. Szeifoul

ได้รับทุนสนับสนุนการเดินทางจากสมาคม Asia Pacific
Society for Neurochemistry (APSN)
เพื่อไปเสนอผลงานวิจัยของงานประชุมวิชาการนานาชาติ
APSN-2008 ที่เมือง Shanghai ประเทศจีน ปีที่ได้รับ 23-26 มิถุนายน 2551

21. ดร.สุจิรา มุกดา

22. ดร.อารีจรรย์ โสตถิวัฒน์

23.นางสาวขวัญคนิฐ แซ่อึ้ง

24. นางสาวปาริชาติ บุญเต็ม

25. นางสาวกันนิกา เพิ่มพูนพัฒนา

26. นางสาวนุชนารถ รักษ์ศรี

27. นางสาววิไลวรรณ วิเศษสมิธ

ได้รับทุนสนับสนุนการเดินทางจากสมาคม Asia Pacific
Society for Neurochem (APSN) /สมาคม
International Society for Neurochemistry (ISN)
เพื่อไปเสนอผลงานวิจัย APSN/ISN -2009 ที่เมือง
Busan ประเทศเกาหลี ปีที่ได้รับ 23-28 สิงหาคม 2552

28. **ดร.ประพิมพรรณ วงศ์จิตรัตน์**

ได้รับทุนสนับสนุนจาก European Biological Rhythms
Society (EBRS) เพื่อไปเสนอผลงานวิจัยของสมาคม
EBRS ที่เมือง Strasburg ประเทศฝรั่งเศส ปีที่ได้รับ 23-28 สิงหาคม 2552

29. **นางสาววิไลวรรณ วิเศษสมิธ**

ได้รับทุนสนับสนุนการเดินทางจากสมาคม Japan
Neuroscience Society เพื่อไปเสนอผลงานวิจัยที่งานประชุม

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

The 32nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society ที่เมือง Nagoya ประเทศญี่ปุ่น ปีที่ได้รับ 16-18 กันยายน 2552

5. การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่น ๆ กับต่างประเทศ
มีผู้เชี่ยวชาญจากต่างประเทศมาให้คำปรึกษาแนะนำคือ

1. Professor M. Ebadi (Department of Pharmacology, University of Noeth Dakota, US) ให้คำแนะนำในวิจัยร่วมนี้ และมี exchange program สำหรับนักศึกษา และนักวิจัยหรืออาจารย์หลังปริญญาเอก Professor M. Ebadi ร่วมวิจัยในโครงการนี้ โดยรับนักศึกษาในโครงการวิจัยนี้ 2 คน คือ ดร.อมรพันธ์ อัจจิมาพร , ดร.ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์

2. Professor Peter Dodd (Neuroscience Laboratory, University of Queensland, Australia และ **Professor Alfreda Stadlia** (School of Medical Science, Griffith University, Australia) Professor ทั้ง 2 ท่านเชี่ยวชาญทางด้าน Drug addiction & Genetics ทั้ง 2 ท่านเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมของ นางสาวสุกิจ แก้วสุข นักศึกษาปริญญาเอก โดยมี ศ.ดร.ปิยะรัตน์ โกวิทตรพงศ์ เป็น major advisor โดยทั้ง 2 ท่านเดินทางมาสอบนักศึกษาในวันที่สอบป้องกันวิทยานิพนธ์ นอกจากนี้ทั้ง 2 ท่านและ ศ.ดร.ปิยะรัตน์ ยังไปสอบนักศึกษาปริญญาโทที่สอบป้องกันวิทยานิพนธ์ในเรื่องเกี่ยวกับปัญหาผู้เสพสารเสพติด

3. Professor James Porter (Department of Pharmacology, University of North Dakota, Grand Fork, US) ได้ปรึกษาและให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิจัย และตกลงจะวิจัยร่วมกันโดยจะมี exchange program สำหรับนักศึกษาปริญญาเอก ซึ่งขณะนี้มีนักศึกษาปริญญาเอก (โดยมี ศ.ดร.ปิยะรัตน์ เป็น major advisor) ไปทำงานวิจัยส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ 3 คน ที่ Lab ของ Dr. Porter คือนางสาวกันนิกา เพิ่มพูนพัฒนา , นางสาวลลิดา โรจนธรรมณี และนายชุติกร นพรตน์ (รับทุนคปก.)

4. Professor Kenji Ueda เป็น Professor ที่มหาวิทยาลัยโตเกียว ผู้เชี่ยวชาญวิจัยด้าน neurodegeneration โรค Alzheimer และ Parkinson เป็นนักวิจัยคนแรกที่ผลิต α-synuclein antibody ที่ against α-synuclein epitope ต่างๆ ยินดีให้ความร่วมมือโดยการส่ง antibody เหล่านี้มาให้ ซึ่งจะทำให้กลุ่มวิจัยของ ศ.ดร.ปิยะรัตน์ สามารถศึกษาผลของ amphetamine ทำให้เกิด abnormal protein, α-synuclein ได้ลึกซึ้งขึ้น และกำลังพิจารณาจะส่งนักศึกษาปริญญาเอก คปก. คือ นางสาวขวัญคนิฐ แซ่อึ้ง ไปฝึกกับ Professor Ueda ที่ประเทศญี่ปุ่น

5. Professor P. Pevet และคณะวิจัย มหาวิทยาลัย L-Pasteur ประเทศฝรั่งเศส ให้ความร่วมมือการวิจัยเกี่ยวข้องกับ melatonin และ clock gene ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำงานของสมอง โดยมีนักศึกษาปริญญาเอก 2 คน ได้เคยไปร่วมวิจัยที่ National Institute of

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

Neuroscience, University of L. Pasteur คือ ดร.กมลทิพย์ ราศี และ ดร.ประพิมพรรณ วงศ์จิตรัตน์

6. Dr. Stefano Casalotti จาก University of London ได้ให้คำปรึกษาแก่นักศึกษาในการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบ amphetamine และ pseudoephedrine ซึ่งอาจเป็นยาที่ทำให้เสพติดได้

6. ความก้าวหน้าในการสร้างทีมวิจัย

นักวิจัยหลังปริญญาเอก

1. ดร.สุจิรา มุกดา
2. ดร.อารีจรรย์ โสตถิพันธุ์

นักศึกษาปริญญาเอกที่สำเร็จการศึกษาแล้ว

1. ดร. อมรพันธ์ อัจจิมาพร
2. ดร. ศิริรัตน์ คล่องพานิชภักดิ์
3. ดร. สุกิจ แก้วสุข
4. ดร. กิตติคุณ วิวัฒน์ภิญโญ
5. ดร. ศิริพร จำเนียรสวัสดิ์
6. ดร. อนุสรณ์ ธรรมพิทักษ์
7. ดร. กมลทิพย์ ราศี
8. ดร. ลลิดา โรจนธรรมณี
9. ดร. ประพิมพรรณ วงศ์จิตรัตน์

ปริญญาโทที่สำเร็จการศึกษาแล้ว

1. นางสาววิไลวรรณ วิเศษสมิต

นักศึกษาปริญญาเอกที่กำลังศึกษาอยู่

1. นายชุติกร นพรัตน์
2. นางสาวกันนิกา เพิ่มพูนพัฒนา
3. นางนุชนารถ รักษ์ศรี
4. นางสาว วิไลวรรณ วิเศษสมิต
5. นางสาว รัชฎาภรณ์ ประมงค์
6. นาย ราเชนทร์ สิงหกุมาร
7. นางสาว ขวัญคนิฐ แซ่อึ้ง

นักศึกษาปริญญาโทที่กำลังศึกษาอยู่

1. นางสาว นัทยา มหาศักดิ์สวัสดิ์
2. นางสาว อรณิช วิมลรัตน์

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52

3. นางสาว วิลาสินี สุวรรณจ่าง

4. Miss Mayuri Shukal

5. นางสาว จตุพร นามเย็น

6. นาง พรหรหม สุระกุล

7. Mr. Szeifoul

10.14457/MU.res.2009.112
เมื่อ 30/05/2563 00:47:52