

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและอะพอโทซิส ของสารสกัดจาก *Sargassum oligocystum* Montagne

Antiproliferative activities and induction of apoptosis by the extracts of *Sargassum oligocystum* Montagne on cancer cells

ชื่อผู้วิจัย นางสาวจันทวรรณ แสงแข ¹นางสาวธิดารัตน์ น้อยรักษา² นางสาวจงกลณี จงอร่ามเรือง ³
ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท...การวิจัยพื้นฐาน .ประจำปี...2553...จำนวนเงิน...153,200.-....

ระยะเวลาทำการวิจัย 1.2 ปี ตั้งแต่...ธันวาคม 2552.ถึง...กุมภาพันธ์...2554.....

หน่วยงาน ¹ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ² สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ³
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

244084

สาหร่ายสีน้ำตาลถูกใช้ในยุคโบราณ มีส่วนประกอบหลายชนิดออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่นยับยั้งเซลล์มะเร็งและกระตุ้นอะพอโทซิส การศึกษานี้ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum oligocystum* Montagne (SOM) บริเวณฝั่งทะเลอ่าวไทย ต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก และอะพอโทซิส ตัวอย่างสดของ SOM ถูกนำมาสกัดด้วย dichloromethane และ ethyl acetate (1:1) ได้เป็นสารสกัดหยาบ นำมาบ่มกับเซลล์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันนาน 72 ชั่วโมง ศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยในเซลล์มีชีวิตมีเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase ซึ่งจะเปลี่ยนสารละลาย tetrazolium salt (MTT) ได้เป็น formazan นับจำนวนนิวเคลียสที่มีลักษณะอะพอโทซิสโดยการย้อมสี DAPI และ Propidium iodide (PI) ศึกษาการแตกของ DNA โดย agarose gel electrophoresis สารสกัด SOM ทำให้เซลล์ตาย โดยการตายเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้น $132 \pm 5.63 \mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ 50% โดยเซลล์ที่ตายหลุดจากพื้นผิวง่าย มี apoptotic body เซลล์มีลักษณะกลม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่หยดยึดเกาะพื้นเป็นรูปกระสวย การประเมินเชิงปริมาณโดยย้อมสีนิวเคลียสด้วย DAPI และ PI พบโครมาตินหนาแน่น นิวเคลียสแตก เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีลักษณะกลมคิดเฉลี่ยบนเนิน พบเซลล์มีชีวิตที่มีลักษณะอะพอโทซิส $20 \pm 3.9\%$, เซลล์ตายแบบอะพอโทซิสระยะหลัง $6.84 \pm 0.7\%$ และเซลล์ปกติ $40.32 \pm 4.5\%$ นอกจากนี้ยังพบการแตกของ DNA ฝู่งกระจายใน agarose gel ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัด SOM ทำให้เซลล์ตายร่วมกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่เป็นลักษณะเฉพาะของอะพอโทซิสเช่น ผนังเซลล์เป็นตุ่ม, โครมาตินหนาแน่น, นิวเคลียสและDNA แตก ซึ่งอะพอโทซิสเป็นกลไกที่สำคัญที่ใช้รักษาโรคมะเร็ง ในการศึกษาครั้งต่อไปควรเพิ่มรายละเอียดในกลไกของอะพอโทซิส

คำสำคัญ : *Sargassum oligocystum* Montagne, HeLa cells, ยับยั้งการเจริญเติบโต, อะพอโทซิส, การแตกของ DNA

Abstract

214084

Brown seaweeds have been historically used and contained a wide variety of compounds with various biological activities including inhibit cell proliferation and stimulate apoptosis. In this study, we examined the anti-proliferative and apoptotic properties of *Sargassum oligocystum* Montagne (SOM) from the east coast of the Gulf of Thailand using human cervical cancer cell line (HeLa) as a model system. The fresh samples were extracted and treated with HeLa cells. The cell proliferation assay is based on metabolic reduction of soluble tetrazolium salt (MTT) by mitochondrial dehydrogenase of viable cells to formazan dye. The quantitation of apoptotic nuclear morphology was counted using fluorescence double staining: DAPI and Propidium iodide (PI). Qualitative analysis of DNA fragmentation by agarose gel electrophoresis was observed. The SOM extracts inhibited the proliferation of HeLa cells in a dose-dependent manner with an IC_{50} of 132 ± 5.63 μ g/ml. Morphological alteration in SOM-treated HeLa cells were detached from the surface and rounded with apoptotic body when compared with cuboid and polygonal in control cells. Nuclear morphology stained with DAPI and PI exhibited chromatin condensation and nuclear fragmentation as compared to control with rounded nuclei. Quantitative estimation was $20 \pm 3.9\%$ (apoptotic nuclei), $6.84 \pm 0.7\%$ (late apoptotic nuclei), and $40.32 \pm 4.5\%$ (normal nuclei). Qualitative DNA fragmentation by agarose gel electrophoresis showed undefined outline due to DNA diffusing into agarose. These results indicated that SOM extracts induced cell death via morphological changes typical of apoptosis including membrane blebbing, chromatin condensation, nuclear and DNA fragmentation. Because apoptosis may have a major impact on the therapy of cancer, further investigation is needed to confirm and characterize the apoptotic pathway.

Key words: *Sargassum oligocystum* Montagne, HeLa cells, Anti-proliferation, Apoptosis, DNA fragmentation