

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลของเคอร์คูมินและแอนนาลอก ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงไมโครเกลียที่ได้รับ amyloid beta

วิธีการศึกษา: นำเซลล์เพาะเลี้ยงไมโครเกลียมาเลี้ยงในอาหาร Dulbecco's Modified Eagle' Medium (DMEM) ที่มี 10% ซีรัม นำเซลล์มาทำการศึกษาความเป็นพิษของสารเคอร์คูมินและแอนนาลอกโดยวิธี MTT reduction assay เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร เคอร์คูมินและแอนนาลอก ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ใช้ในการทดสอบต่อไป จากนั้นนำเซลล์มาทำการเติมสาร เคอร์คูมินและแอนนาลอก และเติมสาร amyloid beta ทั้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นนำไปศึกษาดูการอยู่รอดของเซลล์ การศึกษาต่อไปดูผลของสาร เคอร์คูมินและแอนนาลอก ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์ของยีนกลุ่ม cytotoxic factor โดยนำเซลล์เติมสาร เคอร์คูมินและแอนนาลอก ไว้ 2 ชั่วโมงจากนั้นเติม amyloid beta ทั้งไว้ ทำการสกัดอาร์เอ็นเอ แล้วทำ RT-PCR เพื่อดูการแสดงออกของยีน cytotoxic factor การศึกษาดูผลของ เคอร์คูมินและแอนนาลอก ต่อการลดระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเหนี่ยวนำจำ amyloid beta โดยการเติมสารเคอร์คูมินและแอนนาลอกแก่เซลล์จากนั้นเติมสาร amyloid beta แล้วจึงเติมสาร Dihydrofluorescein diacetate ทั้งไว้เป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดปริมาณฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เครื่อง spectrofluorometer ที่ความยาวคลื่น 485 nm และ 520 nm สำหรับ excitation และ emission ตามลำดับ

ผลการศึกษา: การมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์ไมโครเกลียเมื่อได้รับ amyloid beta จะลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ amyloid beta เพิ่มมากขึ้น พบว่าที่ความเข้มข้นของ amyloid beta 10 μ M เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเหลือ $47.98 \pm 2.09\%$ เมื่อทำการ Pretreated เซลล์ด้วยเคอร์คูมินและแอนนาลอก di-O-demethylcurcumin และ O-demethyldemethoxycurcumin ที่ความเข้มข้น 0.25 μ M ก่อนเติม amyloid beta สามารถป้องกันไม่ให้เซลล์ตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารเคอร์คูมินและแอนนาลอก di-O-demethylcurcumin และ O-demethyldemethoxycurcumin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์ยีนของ TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- β , IFN- γ , IL-8, iNOS เป็นไปตามความเข้มข้น และสารเหล่านี้ยังมีฤทธิ์ในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระที่เกิดจากการกระตุ้นเซลล์ด้วย amyloid beta ได้

สรุปผลการทดลอง: จากการศึกษาพบว่าสารเคอร์คูมินและแอนนาลอกมีฤทธิ์ในการลดความเป็นพิษของ amyloid beta These compounds may be the useful for the treatment of Alzheimer's disease by improve the survival of microglial cell against A β toxicity and the clearance of amyloid pathology.

Objective: The aim of this study was to investigate the protective effect of curcumin and its analogs against A β toxicity in highly aggressively proliferating immortalized (HAPI) microglial cells.

Methods: HAPI microglial cells were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% heat inactivated fetal bovine serum. The cytotoxicity of curcumin and its analogs on HAPI microglial cells were determined by MTT reduction assay to achieve the non toxic concentration of compounds. The cells were exposed with A β ₍₂₅₋₃₅₎ at various concentration in the absence or presence of curcumin and its analogs for 24 h and then determination cell viability. To determine the expression of cytotoxic factor genes, cells were pretreated with curcumin and its analogs for 2 h prior to expose to A β ₍₂₅₋₃₅₎. Total RNA was extracted and examined the cytotoxic factor genes by semi-quantitative RT-PCR. To determine the level of ROS, cell were pretreated with curcumin and its analogs for 2 h prior to expose to A β ₍₂₅₋₃₅₎. Then, Dihydrofluorescein diacetate (DCHF-DA) was added and incubated for 20 min at 37° C in 5% CO₂ incubator. Fluorescence intensity was monitored using 485 nm for excitation and 520 nm for emission in a fluorescence microplate reader.

Results: The viability of HAPI microglial cells incubated with A β ₍₂₅₋₃₅₎ showed a concentration-dependently decreased. Treated with 10 μ M of A β ₍₂₅₋₃₅₎, the viability was reduced to 47.98 \pm 2.09% of the control value. Pretreated with curcumin, di-O-demethylcurcumin and O-demethyldemethoxycurcumin at 0.25 μ M prior exposure to A β ₍₂₅₋₃₅₎ significantly protect HAPI microglial cells from A β ₍₂₅₋₃₅₎ toxicity. Curcumin, di-O-demethylcurcumin and O-demethyldemethoxycurcumin were also inhibited the expression of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- β , IFN- γ , IL-8, iNOS in a dose-dependent manner. In addition, these compounds were also reduced the level of ROS in HAPI microglial cells stimulated with A β ₍₂₅₋₃₅₎.

Conclusions: In summary, this study found that curcumin and its analogs can remarkable reduce the toxicity of A β ₍₂₅₋₃₅₎. These compounds may be the useful for the treatment of Alzheimer's disease by improve the survival of microglial cell against A β toxicity and the clearance of amyloid pathology.