

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG 5480023

ชื่อโครงการ: ผลของแอนาโลกของเคอร์คิวมินอยด์ต่อกระบวนการอักเสบในแบบจำลองโรคพาร์คินสัน

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

ดร. วรชรี เทียงอยู่
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

อีเมล: watchareet@nu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ:

2 ปี (15 มิถุนายน 2554-15 มิถุนายน 2556)

บทคัดย่อ:

เคอร์คิวมินและเคอร์คิวมินอยด์เป็นสารที่มีคุณประโยชน์มากมายที่พบได้ในเหง้าของขมิ้นชัน แต่สารเคอร์คิวมินอยด์ก็มีข้อจำกัด จึงได้มีการพัฒนาแอนาโลกของเคอร์คิวมินอยด์ขึ้นมาเพื่อให้มีประสิทธิภาพที่เหมาะสมในการนำมาวิจัยคุณประโยชน์ในด้านต่าง ๆ รวมทั้งประโยชน์ในด้านการต้านความเสื่อมในระบบประสาทด้วย กระบวนการอักเสบในระบบประสาทก็เป็นปัจจัยหนึ่งของการเกิดโรคระบบประสาทเสื่อม โดยในโรคพาร์คินสัน มีการศึกษาพบว่าสารที่มีพิษต่อเซลล์ประสาท MPP⁺ สามารถกระตุ้นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบได้ด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของเคอร์คิวมินอยด์และแอนาโลกที่มีฤทธิ์ต้านการตายของเซลล์โดยออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการอักเสบของเซลล์ในระบบประสาทเพาะเลี้ยง neuroblastoma (SK-N-SH) และ glioblastoma (T98G) ผลการศึกษาพบว่า เซลล์ประสาท SK-N-SH ที่ได้รับเคอร์คิวมิน เตตระไฮโดรเคอร์คิวมิน และเตตระไฮโดรดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ที่ความเข้มข้น 5 μ M ช่วยลดการตายของเซลล์ที่ได้รับ MPP⁺ และ H₂O₂ ที่ทำให้เกิดออกซิเดทีฟสเตรสและการตายของเซลล์ แต่อย่างไรก็ตามเซลล์ทั้งสองประเภทไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงระดับ nitric oxide (NO) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) หรือ MPP⁺ ซึ่งเป็นตัวกลางที่จะกระตุ้นกระบวนการอักเสบให้เกิดขึ้นตามมา อย่างไรก็ตามการศึกษาระดับโปรตีน inflammatory enzyme COX-2 พบว่า MPP⁺ ทำให้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง SK-N-SH มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของ COX-2 ($p < 0.001$) ส่วนเคอร์คิวมิน และเตตระไฮโดรดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน สามารถช่วยลด COX-2 ($p < 0.001$) จากผลของ MPP⁺ ได้ เมื่อศึกษาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายโดยมีวิธีการตายผ่านไมโทคอนเดรีย

ได้แก่ Bax และ Bcl-2 พบว่า MPP⁺ และ H₂O₂ จะกระตุ้นให้โปรตีน Bax ซึ่งเป็น pro-apoptotic protein เพิ่มขึ้น ($p < 0.001$) ซึ่งจะทำให้เกิดการรั่วของ cytochrome c ออกจากไมโทคอนเดรียและทำให้เกิดกระบวนการอะพอพโทสิสตามมา เมื่อเซลล์ได้รับ เคอร์คูมิน และ เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน พบว่าปริมาณ Bax ในไซโตซอลและไมโทคอนเดรีย ลดลง ($p < 0.001$) และมี Bcl-2 ในไมโทคอนเดรียเพิ่มขึ้น ($p < 0.001$) ซึ่งเป็นการแสดงออกที่สอดคล้องกับการเพิ่มอัตราการอยู่รอดของเซลล์ ทำให้สรุปได้ว่ากลไกการทำงานของเคอร์คูมิน เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน และเตตระไฮโดรดีเมทอกซีเคอร์คูมิน ในการช่วยต้านการตายนั้นเป็นกลไกที่ช่วยปกป้องการสูญเสียการทำงานของไมโทคอนเดรีย และช่วยลด inflammatory enzyme COX-2 ของเซลล์ประสาทโดยตรง โดยไม่ได้มีผลยับยั้งการสร้าง nitric oxide ของ glia cells ร่วมด้วย การศึกษาครั้งนี้เป็นการช่วยเพิ่มพูนองค์ความรู้เกี่ยวกับกลไกการทำงานของสารสกัดสำคัญที่อยู่ในสมุนไพรขมิ้นชัน และส่งเสริมการนำสารสกัดเคอร์คูมิน และแอนาลอก เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน เตตระไฮโดรดีเมทอกซีเคอร์คูมิน มาพัฒนาให้เกิดประโยชน์ในการช่วยลดหรือชะลอความเสื่อมและการตายของเซลล์ประสาท ซึ่งจะเป็นการป้องกันการเกิดโรคความเสื่อมในระบบประสาท เช่น โรคพาร์กินสัน หรือโรคอื่น ๆ ที่ไม่มียารักษาให้หายขาดได้

คำหลัก : เคอร์คูมิน เคอร์คูมินอยด์ เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน เตตระไฮโดรดีเมทอกซีเคอร์คูมิน
อะพอพโทสิส กระบวนการอักเสบ โรคพาร์กินสัน

Abstract

Project Code : MRG 5480023

Project Title : Effects of curcuminoid analogs on inflammatory *in vitro* model of
Parkinson's disease

Investigator : Watcharee Tiangyou

Department of Anatomy, Faculty of Medical Science, Naresuan University

E-mail Address : watchareet@nu.ac.th

Project Period : 2 Years (15 June 2011 – 15 June 2013)

Abstract:

Curcumin and curcuminoid analogs have been revealed the neuroprotective benefits. However, it is water insoluble and unstable in light. Curcuminoid analogs are structurally modified curcuminoids and curcuminoid metabolites which have more stability and efficacy equal to or better than that of curcumin. The promising results of curcuminoid analogs may be a candidate for developing strategies in prevention or treatment of neurodegenerative diseases. Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by a loss of midbrain dopaminergic neurons which has been demonstrated neurotoxicity and microglial activation by the neurotoxin MPP⁺ (1-methyl-4-phenylpyridinium). Thus we aimed to study the protective effects of curcuminoids and curcuminoid analogs on apoptosis and inflammatory-induced neuroblastoma (SK-N-SH) and glioblastoma (T98G) cell line cultures. Cytotoxicity of curcumin, curcuminoid analogs, MPP⁺, H₂O₂ and lipopolysaccharide (LPS) were tested by MTT assay. The production of nitric oxide (NO) from glia cell line was measured by Griess assay. Apoptosis and inflammatory factors; Bcl-2, Bax and COX-2 were quantified using Western blot analysis. The results showed that MPP⁺ and H₂O₂ induced apoptosis in neuronal cell line SK-N-SH. Cells pretreated two hours with 5uM of curcumin, tetrahydrocurcumin (THC) or tetrahydrodemethoxycurcumin (THDC) showed the most increasingly the cell viability. Although all treatments did not significantly change the NO production. The MPP⁺ treatment raised the COX-2 level in neuronal cell line ($p < 0.001$), moreover, curcumin and THDC helped reduce this inflammatory enzyme ($p < 0.001$). The level of proteins involved with mitochondria-mediated apoptotic mechanism; Bcl-2 and Bax protein were also changed by

means of anti-apoptotic effect of curcumin, THC and THDC toward MPP⁺ and H₂O₂-induced apoptosis. The pro-apoptotic Bax protein was increased when treated with MPP⁺ or H₂O₂ ($p < 0.001$), which illustrated the following apoptosis pathway and led to cell death. Curcumin, THC and THDC alleviated the cell death by reducing this Bax protein ($p < 0.001$), curcumin and THC also increased the level of Bcl-2 in mitochondria ($p < 0.001$). In conclusion, the present study has found that curcumin and its analog; the tetrahydrocurcumin and the tetrahydrodemethoxycurcumin have shown anti-apoptotic effect by inhibiting the mitochondria-mediated apoptotic pathway and reducing the inflammatory COX-2 protein in neurons which did not significantly involve with the inflammatory process in glia cells. This study may support and help to elucidate the benefits of curcumin and curcuminoid analogs for help people in risk of PD and other neurodegenerative diseases of aging such as Alzheimer's disease.

Keywords: curcumin, tetrahydrocurcumin, tetrahydrodemethoxycurcumin, inflammation, apoptosis, Parkinson's disease