

**THE EFFECTS OF CURCUMIN ON H₂O₂-INDUCED CELL DEATH
IN THE HUMAN RETINAL PIGMENT EPITHELIAL CELLS**

NAPARPORN WANNASILP

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(NEUROSCIENCES)**

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ผลของสารเคอร์คิวมินต่อเซลล์เยื่อบุจอประสาทตาที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการตายโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (THE EFFECTS OF CURCUMIN ON H₂O₂-INDUCED CELL DEATH IN THE HUMAN RETINAL PIGMENT EPITHELIAL CELLS)

นภาพร วรรณศิลป์ 4736864 STNS/M

วท.ม. (ประสาทวิทยาศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: นवलจันทร์ จุฑาทักดีกุล, ปร. ค., นายพินิจ ฌษภักดี, Ph.D., ยินดี กิตยานันท์, สพ.บ., วท. ม., กนกพรพรณ วงศ์ประเสริฐ, ปร.ค.

บทคัดย่อ

โรคสภาวะจลรับภาพเสื่อมที่พบในผู้สูงอายุถูกสันนิษฐานว่าเกิดจากภาวะ oxidative stress มีรายงานจำนวนมากที่ใช้สารต้านอนุมูลอิสระเพื่อลดภาวะ oxidative stress ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดสอบสารเคอร์คิวมินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบในพืชตระกูลขมิ้นในการป้องกันการตายของเซลล์เยื่อบุจอประสาทตา (ARPE-19) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการตายโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การศึกษาการมีชีวิตของเซลล์โดยวิธี MTT assay และ สันฐานวิทยาของนิวเคลียสโดยการย้อมสี Hoechst 33342 พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดการตายของเซลล์และพบลักษณะการขดแน่นของเส้นใยโครมาติน (nuclear chromatin condensation) ซึ่งเป็นการตายแบบอะพอพโทซิส และจากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนชนิด caspase-3, Bax, Bcl-2 และ MnSOD โดยวิธี Western Blot analysis พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดการลดลงของสัดส่วนปริมาณ Bcl-2 ต่อ Bax และปริมาณโปรตีน MnSOD และทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีน caspase-3 เมื่อให้สารเคอร์คิวมินกับเซลล์ก่อนได้รับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่า การตายของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการตายของเซลล์จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากการศึกษาปริมาณโปรตีนในเซลล์ที่ให้สารเคอร์คิวมินก่อนการให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นไม่พบการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีน caspase-3 และสัดส่วนของปริมาณโปรตีน Bcl-2 ต่อ Bax รวมทั้งปริมาณโปรตีน MnSOD อยู่ในระดับเดียวกับเซลล์ ARPE-19 ปกติที่ไม่ได้รับสารใดๆ จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าเคอร์คิวมินสามารถป้องกันการตายของเซลล์เยื่อบุจอประสาทตาจากการเหนี่ยวนำโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารเคอร์คิวมินออกฤทธิ์ต้านการตายแบบอะพอพโทซิสและเพิ่มปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ MnSOD ในเซลล์เยื่อบุจอประสาทตา

72 หน้า.

THE EFFECTS OF CURCUMIN ON H₂O₂-INDUCED CELL DEATH IN THE HUMAN RETINAL PIGMENT EPITHELIAL CELLS

NAPARPORN WANNASILP 4736864 STNS/M

M.Sc. (NEUROSCIENCES)

THESIS ADVISORS: NUANCHAN JUTAPAKDEEGUL, Ph.D., NAIPHINICH KOTCHABHAKDEE, Ph.D., YINDEE KITIYANANT, D.V.M., M.Sc., KANOKPAN WONGPRASERT, Ph.D.

ABSTRACT

Oxidative stress on retinal pigment epithelial cells (RPE) has been suggested as a cause of age-related macular degeneration (AMD), the leading cause of blindness among the elderly. Nevertheless, a number of studies have been expanded on counteracting oxidative damage contributing to AMD by dietary direct-acting antioxidants. It has been reported that curcumin, a polyphenolic compound found in *Curcuma longa*, exhibits strong antioxidant properties to scavenge the reactive oxygen species. Thus, this present study aimed to investigate if curcumin could prevent the hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced RPE cell death and the possible mechanisms of protection were also studied. ARPE-19 cells were pretreated with curcumin at various concentrations, followed by expose to H₂O₂. The cell viability was determined by MTT assay. Nuclear morphology was examined by Hoechst 33342 staining. The expressions of apoptotic related proteins, caspase-3, Bax, Bcl-2, and anti-oxidant enzyme MnSOD were studied by Western blot analysis. The results demonstrated that H₂O₂ caused a significant decrease in cellular viability with an increase in the percentage of the number of cells containing nuclear condensed chromatin. Western blot analysis indicated that application of H₂O₂ on ARPE-19 cells caused the up-regulation of caspase-3, decrease of Bcl-2:Bax ratio and the down-regulation of MnSOD expression. Significant protection of H₂O₂-induced ARPE-19 cell death was obtained by pretreatment with curcumin at the concentration of 100 µM. Pretreated ARPE-19 cells with curcumin prior to H₂O₂ treatment could reverse the cytotoxicity of H₂O₂ and the nuclear chromatin condensed cell was not found. Moreover, Western blot analysis indicated that the pretreatment with curcumin, ARPE-19 cells could maintain the level of Bcl-2: Bax ratio and MnSOD expression which resulted in the cells survival. This study demonstrated that oxidative stress induced by H₂O₂ could lead to RPE cell death and can be prevented by curcumin. Thus, curcumin may serve as a potential agent in the treatment of AMD and other oxidative stress-associated degenerative diseases.

KEY WORDS: RETINAL PIGMENT EPITHELIAL CELLS/ AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION/OXIDATIVE STRESS/ CURCUMIN