

**PROTECTIVE EFFECT OF MANGOSTEEN EXTRACT
AGAINST APOPTOTIC CELL DEATH INDUCED BY
HYDROGEN PEROXIDE ON SK-N-SH HUMAN
NEUROBLASTOMA CELL LINE**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2009**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดมังคุดในการป้องกันการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์สมอง SK-N-SH ที่ถูกชักนำโดยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

PROTECTIVE EFFECT OF MANGOSTEEN EXTRACT AGAINST APOPTOTIC CELL DEATH INDUCED BY HYDROGEN PEROXIDE ON SK-N-SH HUMAN NEUROBLASTOMA CELL LINE

พชรจจี เจริญศิลป์ 4836210 SIBC/M

วท.ม. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : นิโบล เนื่องตัน, พ.บ. ว.ว. (กุมารฯ), ปรีมฉนิย นุ่งการดี, Dr.rer.nat. (Immunology)

บทคัดย่อ

โรคอัลไซเมอร์เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของภาวะสมองเสื่อมในผู้สูงอายุ สาเหตุของการเกิดโรคนี้นี้ยังไม่ทราบแน่ชัด เชื่อว่ามีการสะสมของสารอะมีลอยด์บีต้าในสมอง ที่เป็นพิษต่อเซลล์ และยังชักนำให้เกิดภาวะ oxidative stress จากอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) ทำให้เกิดการกระตุ้นผ่านวิถีภายในเซลล์เป็นผลให้เซลล์ประสาทตายแบบอะพอพโตซิส นอกจากนี้ ROS ยังทำอันตรายต่อไลโปโปรตีน โปรตีน ดีเอ็นเอและระบบต่างๆในร่างกาย ปัจจุบันนิยมใช้สมุนไพรที่ออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระได้ในทางการแพทย์ มีรายงานว่าสารสกัดเปลือกมังคุดซึ่งมีสารแซนโทนประกอบอยู่ด้วยมากที่สุด และสารนี้สามารถทำปฏิกิริยาทางเคมีกับอนุมูลอิสระให้หมดฤทธิ์ได้ จึงอาจช่วยป้องกันและ/หรือ รักษาภาวะสมองเสื่อม และ โรคอัลไซเมอร์ได้

งานวิจัยนี้ได้ชักนำเซลล์สมอง SK-N-SH ที่เพาะเลี้ยงในห้องทดลองให้เกิดภาวะ oxidative stress ด้วยสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นจึงทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดมังคุดในการป้องกันการตายของเซลล์ โดยประเมินผลจากการวิเคราะห์ต่างๆ ได้แก่ การย้อมคลั่งกษณะการตายของเซลล์ด้วยยีส Trypan blue การวัดค่าร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตโดยการทดสอบ MTT วัดค่าร้อยละของเซลล์ในระยะต่างๆด้วยวิธี Flow cytometry รวมทั้งวิเคราะห์ฤทธิ์ของเอนไซม์ caspase-3 และปริมาณ ROS ภายในเซลล์

ผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดมังคุด 200 $\mu\text{g/ml}$ ช่วยเพิ่มอัตราการการอยู่รอดและลดอัตราการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์จากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 150 μM ได้ค่าเฉลี่ย 22.21% และ 19.44% ตามลำดับ สามารถลดฤทธิ์ของ caspase-3 ที่ถูกชักนำลงได้ถึง 56.52% รวมทั้งลดระดับ ROS ที่เพิ่มขึ้นให้ลดลงได้ 37.86% ค่าที่เปลี่ยนไปเหล่านี้มีความแตกต่างจากภาวะที่ไม่ได้รับสารสกัดมังคุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลที่ได้ช่วยสนับสนุนฤทธิ์ป้องกันภาวะ oxidative stress ของเซลล์ จากสารสกัดมังคุดได้อย่างชัดเจน และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกัน โรคสมองเสื่อม และ โรคอัลไซเมอร์ได้ต่อไป

PROTECTIVE EFFECT OF MANGOSTEEN EXTRACT AGAINST APOPTOTIC CELL DEATH INDUCED BY HYDROGEN PEROXIDE ON SK-N-SH HUMAN NEUROBLASTOMA CELL LINE

PATCHARAKAJEE CHAROENSILP 4836210 SIBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : NEELOBOL NEUNGTON, M.D.
Dip.Thai.Brd.Ped, PRIMCHANIEN MOONGKARNDI, Dr.rer.nat.(IMMUNOLOGY)

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in elderly. The etiology of the disease is not well clarified. β -amyloid ($A\beta$) accumulated in the AD brain is accepted to induce neurotoxicity and oxidative stress from reactive oxygen species (ROS). ROS induce neuron cells injuries then apoptosis and also damage the lipid membrane, protein, DNA and other organ systems in the body. Recently, many medicinal plants have been widely used as antioxidants to protect against ROS. Several studies reported that mangosteen pericarp from *Garcinia mangostana L.*, containing a rich source of phenolic compounds such as xanthenes, which have scavenging activity against ROS. Mangosteen extract could therefore be useful for prevention and/or treatment in dementia and AD.

The study induced oxidative stress in SK-N-SH human neuroblastoma cells by adding H_2O_2 in the cultured medium. Mangosteen extract was preincubated to show the protective effect against H_2O_2 induced cell death. The assessment of cell viability and apoptosis was determined by Trypan blue staining, MTT assay and Flow cytometry. Further assays of Caspase-3 activity and ROS production confirmed the signal pathway of apoptosis.

The average results from all studies demonstrated that mangosteen extract at 200 μ g/ml could protect SK-N-SH cell death induced by H_2O_2 150 μ M by increasing cell viability and decreasing apoptosis to 22.21% and 19.44%, respectively. The activity of caspase-3 was decreased to 56.52% and ROS production was suppressed to 37.86% by the protection of mangosteen extract. These results were statistically significant when compared with H_2O_2 induced alone ($p < 0.001$). The data suggested that mangosteen extract could be useful as an antioxidant to protect against dementia and AD in the future.

KEY WORDS : HYDROGEN PEROXIDE / ROS / OXIDATIVE STRESS /
ANTIOXIDANT / APOPTOSIS / MANGOSTEEN /
DEMENTIA / ALZHEIMER'S DISEASE

123 pages