

Abstract

Project Code: TRG4580091

Project Title: Antioxidant effect on HL-60 cell apoptosis induced by curcumin

Investigators: Assist. Prof. Dr. Ratana Banjerdpongchai

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

Prof. Dr. Praon Wilairat

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University

Email address: ratana@chiangmai.ac.th

Project period: Jul 1, 2002 – Dec 31, 2004

Curcumin is the main biologically active phytochemical compound in turmeric. Curcumin has anti-inflammatory, antioxidant, anticarcinogenic and antiproliferative activities. The research aims were to identify the mode and mechanism of cell death of human promyelocytic leukemic (HL-60) cells induced by curcumin and to determine the effects of vitamin C, Trolox, reduced glutathione (GSH) and *N*-acetylcysteine (NAC) on this process. HL-60 cells were incubated with curcumin for 4 and 24 h and apoptotic cells were quantitated by flow cytometry following staining with annexin V-FITC and propidium iodide. Curcumin induced apoptosis in a dose-dependent manner over the concentration range 2.5-25 μM , which was also confirmed by the decrease in mitochondrial membrane potential. PI3K inhibitor (LY294002) and MAPKK/MEK inhibitor (PD98059) had different effect on the apoptotic cell death induced by curcumin (20 μM). There was an increase in free radical generation, as measured by dichlorofluorescein diacetate and flow cytometry, indicating the existence of oxidative stress in curcumin-treated HL-60 cells. In the presence of 10 μM curcumin, vitamin C (56, 560 nM and 5.6 μM) and GSH (1, 10 and 100 μM) reduced the number of apoptotic cells, but NAC and Trolox had a dual effect, being protective at 1, 10 μM , and 1 mM for NAC and 1 μM , for Trolox; and synergistic at 100 μM for NAC and 10, 100 μM , and 1 mM for Trolox.

Keywords: apoptosis, curcumin, HL-60 cells, antioxidants

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG4580091

ชื่อโครงการ: ผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ถูกกระตุ้นโดยขมิ้น

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน: ผศ. ดร. รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศ. ดร. ประพนธ์ วิไลรัตน์

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

email address: ratana@chiangmai.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2545-31 ธันวาคม 2547

เคอร์คิวมินเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในเหง้าของขมิ้น เคอร์คิวมินเป็นสารต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และมีฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาชนิดของการตาย กลไกการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (HL-60) ที่กระตุ้นโดยเคอร์คิวมิน และผลของไวตามินซี ไทโรลิกซ์ กลูตาไธโอน (GSH) และเอ็นอะเซติลซิสเตอีน (NAC) ต่อการตายดังกล่าว เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวถูกบ่มด้วยเคอร์คิวมินเป็นเวลา 4 และ 24 ชั่วโมงและนำมาบ่มเซลล์ด้วยแอนเน็กซินไฟว์-เอฟไอทีซี และโพรพิเดียมไอโอไดด์และตรวจวัดการตายด้วยวิธีโฟลไซโตเมทรี เคอร์คิวมินกระตุ้นการตายแบบอะพอพโทซิสโดยขึ้นกับความเข้มข้นในช่วง 2.5-25 ไมโครโมลาร์ ซึ่งยืนยันว่าเป็นการตายแบบอะพอพโทซิสด้วยการลดลงของไมโทคอนเดรียลเมมเบรนโพเทนเชียล สาร PI3K (LY294002) และสารยับยั้ง MAPKK/MEK (PD98059) มีผลต่อการตายแบบอะพอพโทซิสที่กระตุ้นโดยเคอร์คิวมิน (20 ไมโครโมลาร์) มีการสร้างสารอนุมูลอิสระวัดโดยใช้ไดคลอโรฟลูออเรสเซิน ไดอะซีเตท และวิธีโฟลไซโตเมทรี พบว่าในเซลล์ HL-60 มีภาวะเครียดออกซิเดชันเกิดขึ้น ในภาวะที่ให้เคอร์คิวมิน (10 ไมโครโมลาร์) ไวตามินซี (56, 560 นาโนโมลาร์ และ 5.6 ไมโครโมลาร์) และ GSH (1, 10 และ 100 ไมโครโมลาร์) จะลดจำนวนเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโทซิส แต่ NAC และไทโรลิกซ์มีผลสองแบบ คือ ลดจำนวนเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโทซิสที่ความเข้มข้นของ NAC เท่ากับ 1, 10 ไมโครโมลาร์ และ 1 มิลลิโมลาร์ และที่ความเข้มข้นของไทโรลิกซ์ 1 ไมโครโมลาร์ และเสริมฤทธิ์เพิ่มการตายที่ความเข้มข้นของ NAC 100 ไมโครโมลาร์ และที่ 10, 100 ไมโครโมลาร์และ 1 มิลลิโมลาร์ของไทโรลิกซ์

คำสำคัญ: การตายแบบอะพอพโทซิส, เคอร์คิวมิน, เซลล์ HL-60, สารต้านอนุมูลอิสระ