รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เอนโดธีเลียมที่ถูกกระตุ้นด้วยอนุมูลอิสระในภาวะน้ำตาลสูง

โดย

ดร.กาญจนา จิตติพร

ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

โครงการ ผลของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เอนโดธีเลียมที่ถูกกระตุ้นด้วยอนุมูลอิสระในภาวะน้ำตาลสูง

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เบาหวานเป็นปัญหาสาธารณสุขของประชากรทั่วโลก ในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้นั้น ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนจากการทำงานผิดปกติของหลอดเลือดทั่วร่างกาย ทั้งความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดใหญ่โดยส่งเสริมให้เกิดหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) และความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็กได้แก่ ความผิดปกติของหลอดเลือดเลี้ยงจอประสาทตา (diabetic retinopathy) และหลอดเลือดเลี้ยงไต (diabetic nephropathy)

เซลล์เอนโดธีเลียม (endothelial cells) เป็นเซลล์ที่อยู่ในสุดของหลอดเลือด มีหน้าที่สำคัญในการควบคุม vascular homeostasis หลายประการ โดยการหลั่งสารที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัว ได้แก่ nitric oxide (NO) และ endothelial derived hyperpolarizing factor (EDHF) และสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว ได้แก่ endothelin-1 (ET-1) และ angiotensin II เพื่อควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด (vascular tone) การเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด (platelet aggregation) การตอบสนองของระบบคุ้มกัน (immune response) และการเจริญของหลอดเลือด (vascular cell growth) ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงจะกระตุ้นการเกิดสารอนุมูลอิสระ สารอนุมูลอิสระทำให้เกิดเอนโดธีเลียมทำงานผิดปกติ (endothelial dysfunction) เนื่องจากเซลล์เอนโดธีเลียมถูกกระตุ้นให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส (Bhatt et al., 2013) ซึ่งมีรายงานว่าภาวะน้ำตาลสูงกระตุ้นการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เอนโดธีเลียม โดยผ่าน JNK pathway ใน Human umbilical vein endothelial cells (Ho et al., 2000) และผ่าน JAK/STAT pathway ใน aortic endothelial cell (Tawfik et al., 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าภาวะน้ำตาลสูงกระตุ้น eNOS activity และ expression ดังนั้นจึงสร้าง NO เพิ่มขึ้นแต่ NO ทำปฏิกริยาอย่างรวดเร็วกับ superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) เกิดเป็น peroxynitrite anion ($ONOO^-$) (Cosentino et al., 1997; El-Remessy et al., 2003) และทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิส ซึ่งการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เอนโดธีเลียมส่งผลให้เกิดโรคหลายอย่าง เช่น หลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) และความดันโลหิตสูง เป็นต้น (Štefanec, 2000) ดังนั้นการใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจจะลดการตายของเซลล์เอนโดธีเลียมแบบอะพอพโทซิสจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูง เป็นการป้องกันหรือบรรเทาจากโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่เกิดจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงได้

สารสกัดจากมังคุด (Garcinia mangostana Linn) เป็นสาร polyphenolic xanthone ซึ่งสารสกัดที่ได้จากมังคุดมีมากกว่า 50 สาร มีหลายงานวิจัยแสดงว่า α-mangostin ซึ่งเป็นหนึ่งในสารที่สกัดได้จากมังคุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้ง peroxynitrite ได้ (Jung et al., 2006) นอกจากนี้ α-mangostin ยังลด singlet oxygen, superoxide anion และ peroxynitrite anion ใน เซลล์ cerebellar granule neurons (Pedraza-Chaverri et al., 2009) และในการศึกษาครั้งก่อนของผู้วิจัยพบว่า α-mangostin ยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งกระตุ้นด้วยภาวะพร่องออกซิเจนใน retinal endothelial cells (Jittiporn et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดมังคุดที่มี α-mangostin น้อยกว่า 4% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Moongkarndi et al., 2014b) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ α-mangostin และสารสกัดมังคุดที่มี α-mangostin น้อยกว่า 4% พบว่าสารทั้งสองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแต่ α-mangostin เกิด cytotoxicity และกระตุ้นเซลล์ตายแบบอะพอพโทซิสมากกว่า (Moongkarndi et al., 2014a) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจจะศึกษาสารสกัดมังคุดที่มี α-mangostin น้อยกว่า 4% ร่วมกับยังไม่มีการศึกษาผลของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซิสในภาวะระดับน้ำตาลสูงมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการ การตายแบบอะพอพโทซิสในภาวะน้ำตาลสูง ใน human umbilical vein endothelial cells ของสารสกัดมังคุด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดมังคุดต่อการกระตุ้นการเกิดสารอนุมูลอิสระในภาวะน้ำตาลสูง
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซิสในภาวะน้ำตาลสูง
3. เพื่อศึกษากลไกของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซิสในภาวะน้ำตาลสูง

วัสดุและวิธีการ

สารเคมี DMEM medium, fetal bovine serum (FBS) และ penicillin และ streptomycin ซื้อของบริษัท Gibco-Invitrogen (Grand Island, NY, USA) 2', 7' dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF-DA) ซื้อของบริษัท Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)

1. สารสกัดมังคุด

สารสกัดมังคุดได้รับจาก รศ.ดร.ปริ่มเฉนียน มุ่งการดี คณะเภสัชศาสตร์ ม.มหิดล สารสกัดด้วยน้ำที่มีแอลฟาแมงโกสทีนน้อยกว่าร้อยละ 2 นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ โดยสารสกัดมังคุดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และละลายในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เก็บที่ -80 องศาเซลเซียส

2. เซลล์เอนโดธีเลียม

เซลล์ EA.hy926 เลี้ยงใน DMEM ประกอบด้วย 10% FBS 100 ยูนิต/มิลลิลิตร penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin และเพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส ในการศึกษานี้ใช้เซลล์ passage 5-18

3. ทดสอบขนาดของสารสกัดมังคุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เอนโดธีเลียม

เซลล์ EA.hy926 เพาะเลี้ยงใน 96 well plate ด้วยอาหาร DMEM ประกอบด้วย 10% FBS 100 ยูนิต/มิลลิลิตร penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin และเพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็น DMEM ประกอบด้วย 1% FBS 100 ยูนิต/มิลลิลิตร penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นเซลล์จะได้รับ vehicle และสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) บ่มเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติม DMSO 50 ไมโครลิตร เขย่าเป็นเวลา 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

4. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมังคุดในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะน้ำตาลสูง ด้วย DCF-DA

เนื่องจากสารอนุมูลอิสระเป็นตัวกลางที่สำคัญในการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์เอนโดธีเลียม ดังนั้นศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมังคุดด้วย DCF-DA DCF-DA เป็นวิธีการวัดปริมาณ H_2O_2, OH^- และ $ONOO^-$ ภายในเซลล์ โดย DCF-DA สามารถเข้าสู่เซลล์และถูกออกซิไดซ์โดย intracellular ROS เซลล์เพาะเลี้ยงใน 96 well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเซลล์เปลี่ยนเป็น DMEM ประกอบด้วย 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เป็นเวลา 1 คืน และเซลล์ได้รับ vehicle และสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเซลล์ถูกบ่มด้วย 20 ไมโครโมล DCF-DA เป็นเวลา 30นาที แล้วจึงปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วย 5 mM glucose หรือ 25 mM glucose วัดความเข้มของการเรืองแสงด้วย microplate reader ที่ excitation/emission 504/529 nm

5. ทดสอบฤทธิ์ต้านการตายแบบอะพอพโทซิสในภาวะน้ำตาลสูง

เซลล์ถูกเลี้ยงใน cover slip ขนาด 18 มิลลิลเมตร ใน 12 well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเซลล์เปลี่ยนเป็น DMEM ประกอบด้วย 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เป็นเวลา 1 คืน และเซลล์ได้รับ vehicle และสารสกัดมังคุดขนาด

1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็น DMEM ประกอบด้วย 5 mM กลูโคส 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin หรือ 25 mM กลูโคส 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเซลล์ถูก fixation ด้วย 1% paraformaldehyde เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วย PBS นาที จำนวน 2 ครั้ง แล้วย้อมด้วย TUNEL assay kit ตามวิธีที่บริษัทแนะนำ ถ่ายภาพการเรืองแสงด้วยกล้องฟลูโอเรสเซน ด้วยกำลังขยาย 400X นับจำนวนเวลล์ที่ติดสีเขียว

6. ทดสอบกลไกของสารสกัดมังคุดในภาวะน้ำตาลสูงโดยใช้ Western blot

เซลล์ถูกเลี้ยงใน 24 well plate จน 70% confluence อาหารเลี้ยงเซลล์เปลี่ยนเป็น DMEM ประกอบด้วย 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เป็นเวลา 1 คืน และเซลล์ได้รับ vehicle และสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็น DMEM ประกอบด้วย 5 mM กลูโคส 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin หรือ 25 mM กลูโคส 1% FBS 100 ยูนิต/มล. penicillin และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร streptomycin เป็นเวลา 5, 15, 30 นาที โปรตีนถูกแยกด้วย RIPA buffer ที่มี protease inhibitor, cocktail inhibitor และ phenyl methyl sulfonyl fluoride (PMSF) หลังจากนั้น 20 ไมโครกรัม จะถูกนำไปแยกด้วย 10% SDS-PAGE แล้วนำโปรตีนที่แยกบนเจลไปทำการ transfer สู่ membrane ด้วยวิธีการ semidry transfer membrane blocking ด้วย 5% skim milk in TBST เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้าง membrane ด้วย TBST 5 นาที 3 ครั้ง แล้วบ่มด้วย primary antibody ต่อ MAPK (p-p38, p-JNK, p-ERK) ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ล้าง membrane ด้วย TBST 5 นาที 3 ครั้ง แล้วบ่มด้วย horse-radish peroxidase-conjugated secondary antibody ใน 2% BSA in TBST ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วย TBST 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที แถบโปรตีน (protein band) ตรวจด้วย chemiluminescence และความเข้มของโปรตีน (protein band intensity) ที่ต้องการถูกวิเคราะห์ด้วย Image J software

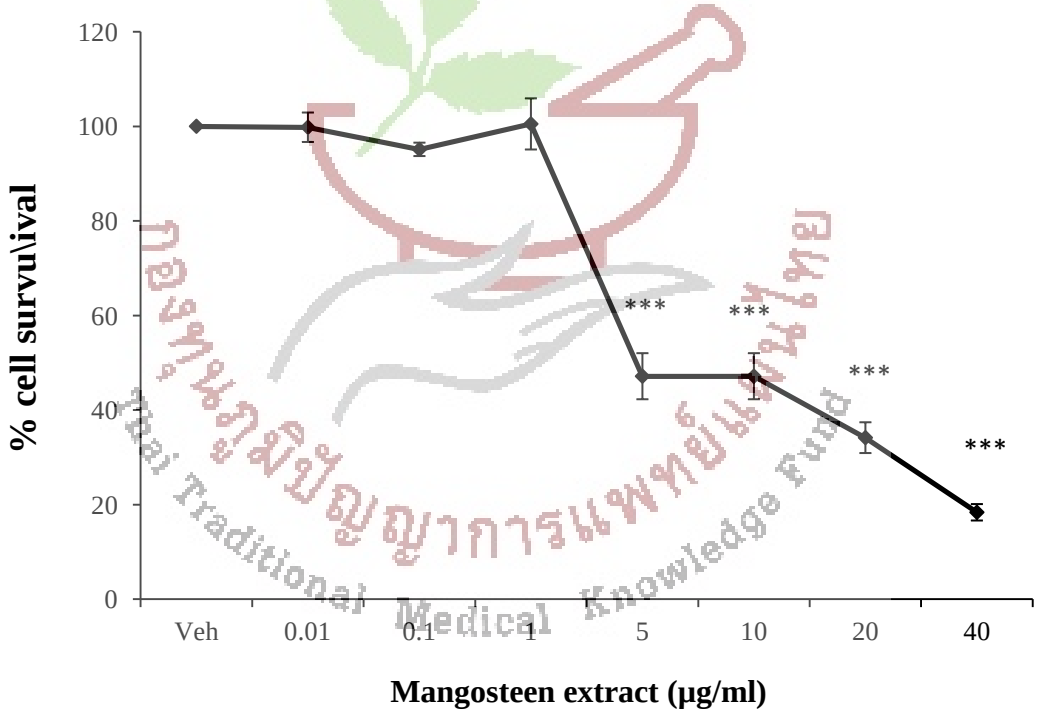
7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลแสดงเป็น mean ±SEM ใช้สถิติ One way-analysis of variance (ANOVA) ในการทดสอบความแตกต่างของข้อมูล และใช้ Tukey Post Hoc test ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยกำหนดค่านัยสำคัญที่ ***p- value*** น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

1. ขนาดของสารสกัดมังคุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์

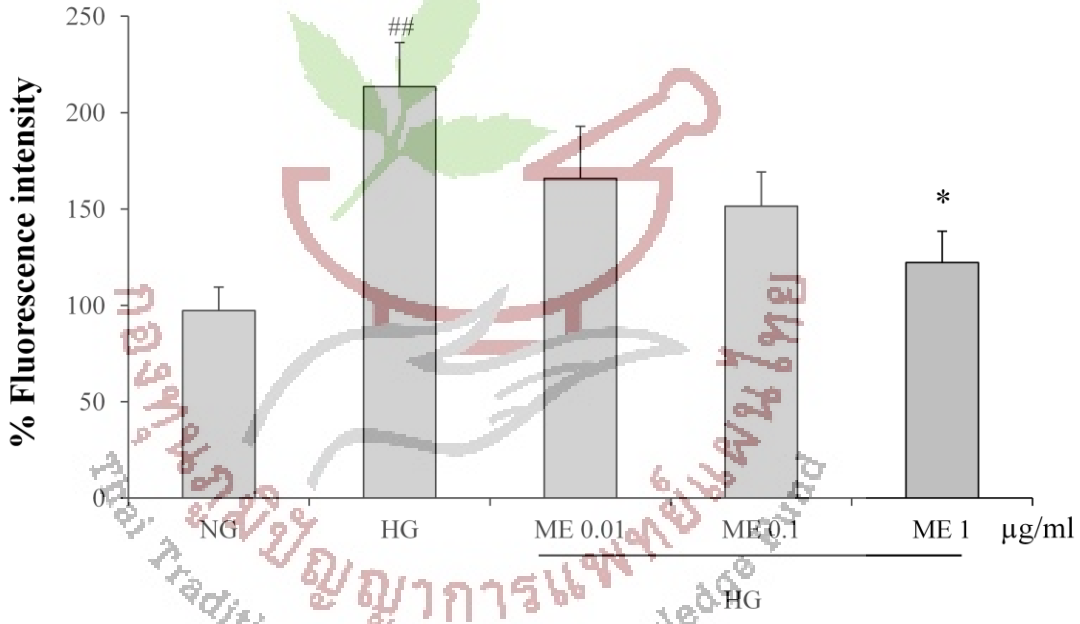
เพื่อหาขนาดของสารสกัดมังคุดที่ไม่ทำลายเซลล์โดยทดสอบด้วย MTT พบว่า เมื่อเซลล์ได้รับสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1, 1, 5, 10,20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ร้อยละ 99.79±3.11, 95.11±1.41, 100.49±5.41, 47.14±4.87, 47.14±4.87, 34.16±3.25 และ 18.37±1.73 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดมังคุดขนาด 5, 10, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ลดจำนวนเซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p-value*<0.05) ดังนั้นสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ถูกนำมาศึกษาในการทดลองต่อไป (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงผลของสารสกัดมังคุดต่อเซลล์รอดชีวิต เซลล์เอนโดธีเลียม EA.hy926 ถูกบ่มด้วยสารสกัดมังคุดขนาดต่าง ๆ เป็นเวลา 72 ชม. และทดสอบด้วย MTT (mean ±SD, n = 3, *** p< 0.001 vs vehicle)

2. สารสกัดมังคุดต้านอนุมูลอิสระที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูง

การศึกษานี้พบว่าเซลล์ในภาวะระดับน้ำตาลสูง มีการสร้างอนุมูลอิสระร้อยละ 213.50±22.92 เมื่อเทียบกับภาวะน้ำตาลปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p-value*<0.01) และสารสกัดมังคุดความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในภาวะระดับน้ำตาลสูง มีการเกิดอนุมูลอิสระร้อยละ 165.85±27.05, 151.45±17.76 และ 122.17±16.35 ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดมังคุดขนาด 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูง โดยที่สารสกัดมังคุดขนาด 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p-value*<0.05) (รูปที่ 2)

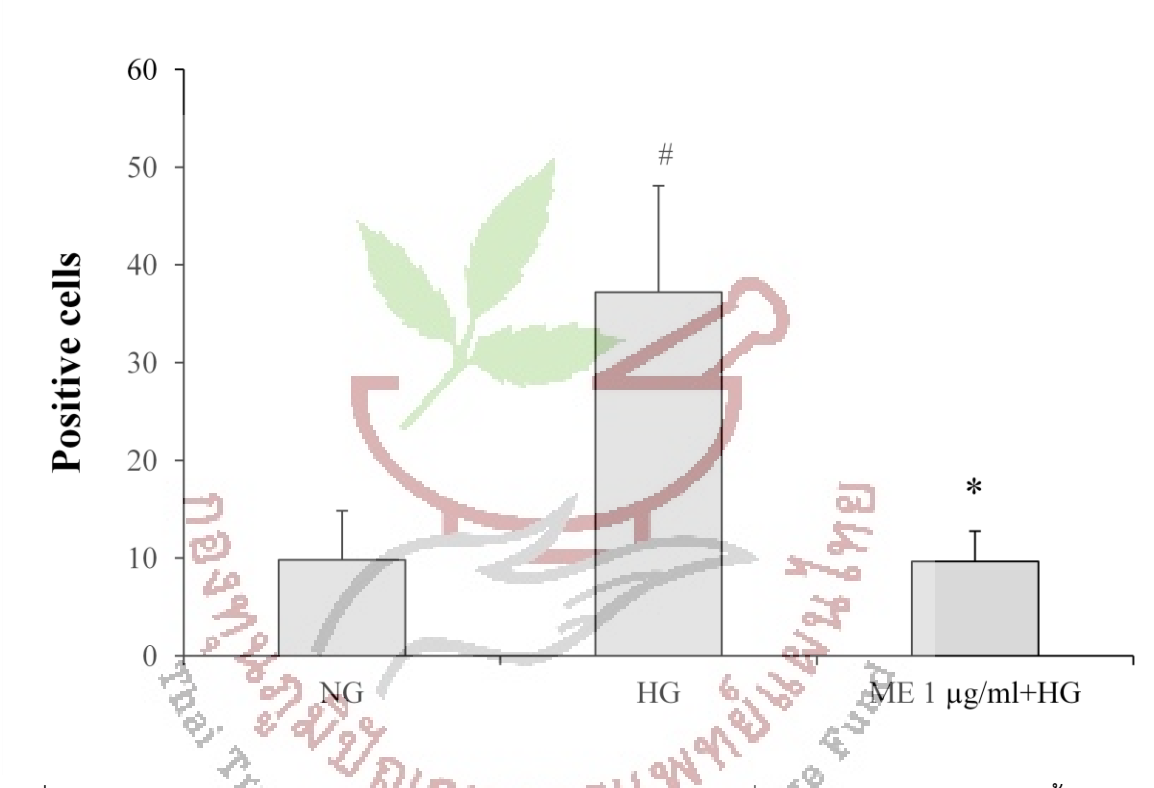


รูปที่ 2 แสดงผลของสารสกัดมังคุดต่อระดับอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูงด้วย DCF-DA เซลล์เอนโดธีเลียมได้รับและไม่ได้รับสารสกัดมังคุดและบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาล 5 mM (NG) หรือ 25 mM (HG) เป็นเวลา 5 นาที ทดสอบระดับอนุมูลอิสระภายในเซลล์ด้วย DCF-DA วัดความเข้มของการเรืองแสงด้วย microplate reader ที่ excitation/emission 504/529 nm (mean ±SEM, n = 3, $^{\#\#}$ *p-value*<0.01 VS NG, **p-value*<0.05 VS HG)

ภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย Thai Traditional Medical Knowledge

3. ผลของสารสกัดมังคุดต่อการเกิด apoptosis ในภาวะน้ำตาลสูง

ภาวะน้ำตาลสูงมีการกระตุ้นเซลล์ตายแบบอะพอพโทซีส 37.20 ± 10.91 เซลล์ ในขณะที่สารสกัดมังคุดความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในภาวะระดับน้ำตาลสูง ลดการตายแบบอะพอพโทซีส 9.67 ± 3.08 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p-value*<0.05) (รูปที่ 7)



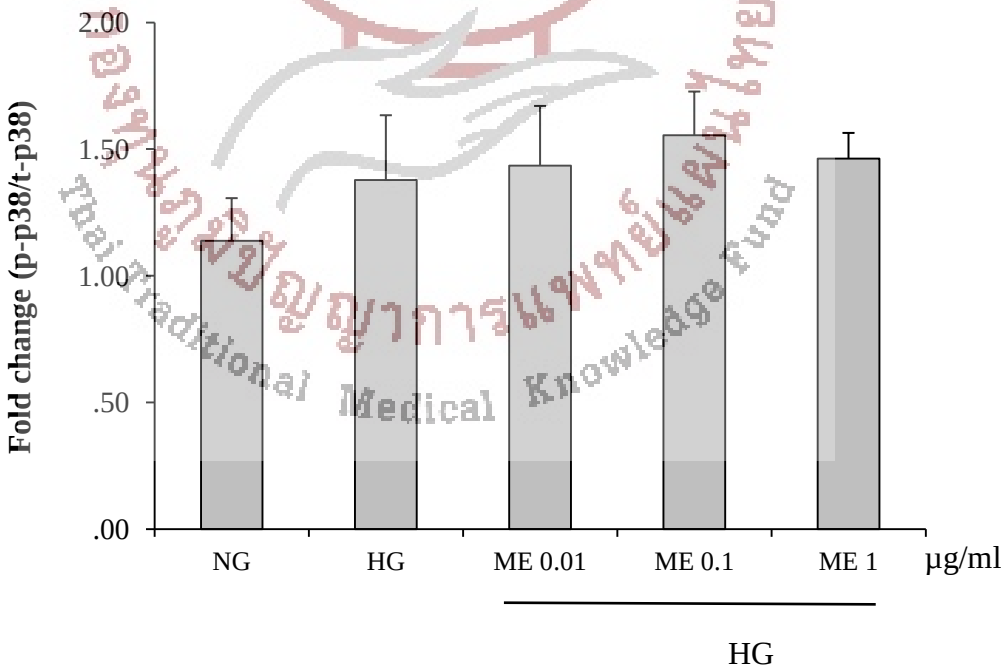
รูปที่ 3 แสดงผลของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซีสที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูงด้วย TUNEL เซลล์เอนโดธีเลียมได้รับและไม่ได้รับสารสกัดมังคุดและบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาล 5 mM (NG) หรือ 25 mM (HG) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทดสอบการตายแบบอะพอพโทซีสด้วย TUNEL ถ่ายภาพการเรืองแสงด้วยกล้องฟลูโอเรสเซน (mean ±SEM, n = 3, # *p-value*<0.05 VS NG, **p-value*<0.05 VS HG)

กองทุนสนับสนุนการวิจัย Thai Traditional and Alternative Medical Knowledge Fund

4. กลไกของสารสกัดมังคุดในภาวะน้ำตาลสูงโดยใช้ Western blot

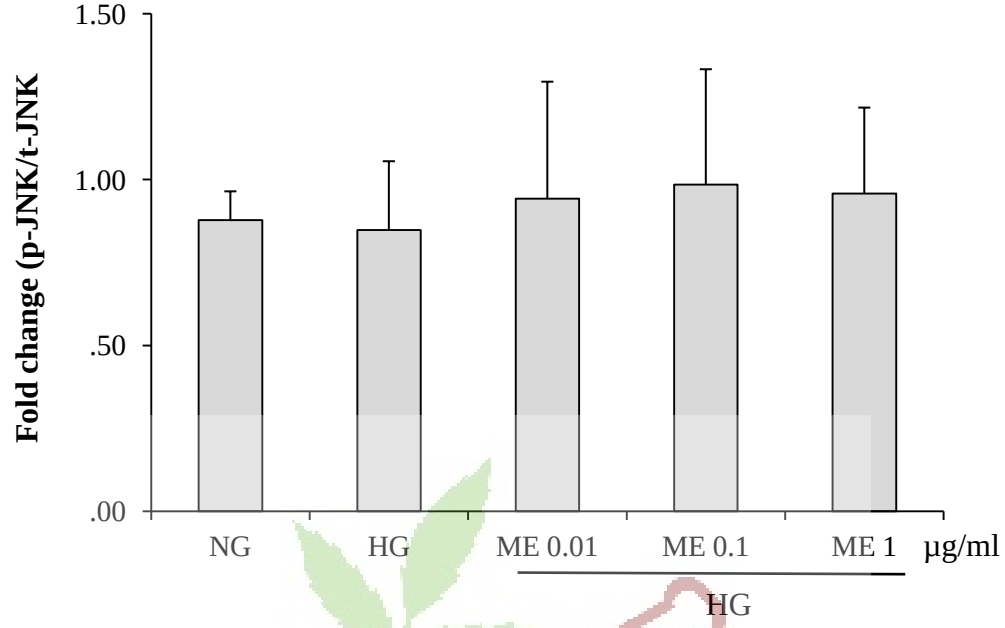
Mitogen-activated protein kinase (MAPK) เป็น downstream signaling ของภาวะน้ำตาลสูงที่กระตุ้นให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซีส ซึ่ง MAPK ประกอบด้วย p38 JNK และ ERK ในการศึกษานี้พบว่าภาวะน้ำตาลสูงกระตุ้น p-p38 1.38±0.26 เท่าเมื่อเทียบกับเซลล์ในภาวะน้ำตาลปกติ สารสกัดมังคุดความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในภาวะระดับน้ำตาลสูงไม่สามารถลดการกระตุ้น p-p38 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) (รูปที่ 4 (ก)) ภาวะน้ำตาลสูงและสารสกัดมังคุดความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในภาวะระดับน้ำตาลสูงไม่มีผลต่อการกระตุ้น p-JNK (รูปที่ 4 (ข)) ภาวะน้ำตาลสูงกระตุ้น p-ERK 1.1 ±0.04 เท่าเมื่อเทียบกับเซลล์ในภาวะน้ำตาลปกติ สกัดมังคุดความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในภาวะระดับน้ำตาลสูง ลดการกระตุ้น p-ERK 1.13 ±0.13, 1.07 ±0.15 และ 0.86 ±0.08 เท่าเมื่อเทียบกับเซลล์ในภาวะน้ำตาลปกติตามลำดับ แต่ไม่สามารถลดการกระตุ้น p-ERK ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) (รูปที่ 4 (ค))

ก)

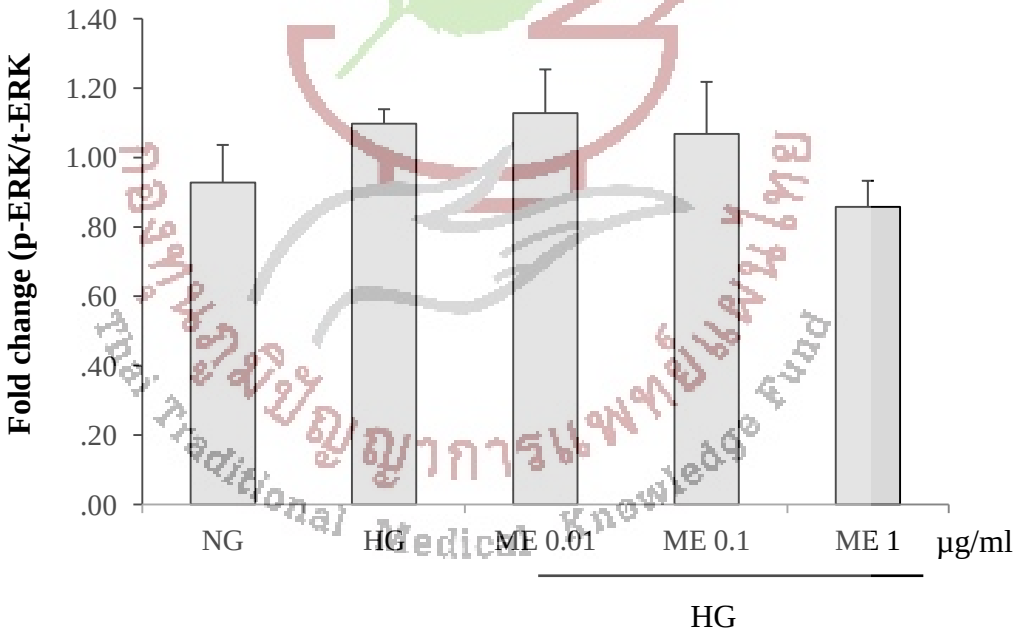


สถาบันวิทยบริการการแพทย์แผนไทย
Thai Traditional Medical Knowledge Fund

ข)



ค)



รูปที่ 4 แสดงกลไกของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซีสที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะระดับน้ำตาลสูง ด้วย western blot เซลล์เอนโดธีเลียมได้รับและไม่ได้รับสารสกัดมังคุดและบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาล 5 mM (NG) หรือ 25 mM (HG) เป็นเวลา 30 นาที แยกโปรตีนด้วย SDS-PAGE หลังจากนั้นบ่มด้วยแอนติ้บอดีต่อ p-p38 (ก) p-JNK (ข) และ p-ERK (ค) วิเคราะห์ความเข้มของโปรตีน (protein band intensity) ด้วย Image J software (mean ±SEM, n = 4)

สถาบันวิจัยและองค์ความรู้การแพทย์แผนไทย Thai Traditional Medical Knowledge Fund

สรุป

การศึกษานี้พบว่าสารสกัดมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งสารอนุมูลอิสระภายในเซลล์เอนโดธีเลียมและลดการตายแบบอะพอพโทซีสเมื่อถูกกระตุ้นด้วยภาวะน้ำตาลสูง ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดมังคุดในการยับยั้งการตายแบบอะพอพโทซีสไม่ผ่านการเติมฟอสเฟตให้กับ MAPK คือ p38, JNK และ ERK ซึ่งกลไกการตายแบบอะพอพโทซีสมีหลายกลไก ดังนั้นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดมังคุดต่อการตายแบบอะพอพโทซีสในภาวะน้ำตาลสูง

เอกสารอ้างอิง

Bhatt, M.P., Lim, Y.C., Hwang, J., Na, S., Kim, Y.M.,Ha, K.S., 2013. C-peptide prevents hyperglycemia-induced endothelial apoptosis through inhibition of reactive oxygen species-mediated transglutaminase 2 activation. Diabetes. 62, 243-253.

Cosentino, F., Hishikawa, K., Katusic, Z.S.,Luscher, T.F., 1997. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. Circulation. 96, 25-28.

El-Remessy, A.B., Abou-Mohamed, G., Caldwell, R.W.,Caldwell, R.B., 2003. High glucose-induced tyrosine nitration in endothelial cells: role of eNOS uncoupling and aldose reductase activation. Invest Ophthalmol Vis Sci. 44, 3135-3143.

Giacco, F.,Brownlee, M., 2010. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res 107, 1058-1070.

Ho, F.M., Liu, S.H., Liau, C.S., Huang, P.J.,Lin-Shiau, S.Y., 2000. High glucose-induced apoptosis in human endothelial cells is mediated by sequential activations of c-Jun NH(2)-terminal kinase and caspase-3. Circulation. 101, 2618-2624.

Jittiporn, K., Suwanpradid, J., Patel, C., Rojas, M., Thirawarapan, S., Moongkarndi, P., Suvitayavat, W.,Caldwell, R.B., 2014. Anti-angiogenic actions of the mangosteen polyphenolic xanthone derivative α-mangostin. Microvascular Research 93, 72-79.

Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., Mehta, R.G.,Kinghorn, A.D., 2006. Antioxidant xanthones from the pericarp of Garcinia mangostana (Mangosteen). J Agric Food Chem 54, 2077-2082.

Kageyama, S., Yokoo, H., Tomita, K., Kageyama-Yahara, N., Uchimido, R., Matsuda, N., Yamamoto, S.,Hattori, Y., 2011. High glucose-induced apoptosis in human coronary artery endothelial cells involves up-regulation of death receptors. Cardiovasc Diabetol. 10:73.

Moongkarndi, P., Jaisupa, N., Samer, J., Kosem, N., Konlata, J., Rodpai, E.,Pongpan, N., 2014a. Comparison of the biological activity of two different isolates from mangosteen. Journal of Pharmacy and Pharmacology 66, 1171-1179.

Patel, C., Rojas, M., Narayanan, S.P., Zhang, W., Xu, Z., lemtalsi, T., Jittiporn, K., Caldwell, R.W.,Caldwell, R.B., 2013. Arginase as a mediator of diabetic retinopathy. Frontiers in Immunology 4, 173.

Pedraza-Chaverri, J., Reyes-Fermin, L.M., Nolasco-Amaya, E.G., Orozco-Ibarra, M., Medina-Campos, O.N., Gonzalez-Cuahutencos, O., Rivero-Cruz, I.,Mata, R., 2009. ROS scavenging capacity and neuroprotective effect of alpha-mangostin against 3-nitropropionic acid in cerebellar granule neurons. Exp Toxicol Pathol 61, 491-501.

Štefanec, T., 2000. Endothelial apoptosis: Could it have a role in the pathogenesis and treatment of disease? CHEST Journal 117, 841-854.

Tawfik, A., Jin, L., Banes-Berceli, A.K.L., Caldwell, R.B., Ogbi, S., Shirley, A., Barber, D., Catravas, J.D., Stern, D.M., Fulton, D., Caldwell, R.W.,Marrero, M.B., 2005. Hyperglycemia and reactive oxygen species mediate apoptosis in aortic endothelial cells through Janus kinase 2. Vascular Pharmacology 43, 320-326.

Wautier, M.P., Chappey, O., Corda, S., Stern, D.M., Schmidt, A.M.,Wautier, J.L., 2001. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. Am J Physiol Endocrinol Metab 280(5), E685-694.

Yao, L., Chandra, S., Toque, H.A., Bhatta, A., Rojas, M., Caldwell, R.B.,Caldwell, R.W., 2013. Prevention of diabetes-induced arginase activation and vascular dysfunction by Rho kinase (ROCK) knockout. Cardiovasc Res. 97(3), 509-519.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Thai Traditional Medical Knowledge Fund