

เบญจพร ชูสิงห์ : ผลทางชีวภาพบางประการของผลผลิตองุ่นพันธุ์ชिरาซซึ่งปลูกในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีต่อเซลล์มะเร็งไมอีโลมา (SOME BIOLOGICAL EFFECTS OF SHIRAZ GRAPE PRODUCTS, GROWN AT SURANAREE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY FARM, ON MYELOMA CELLS). อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.กรกช อินทรพิเชษฐ, 194 หน้า.

ผลทางชีวภาพของกากรวมเมล็ดสกัดและไวน์ผงจากองุ่นพันธุ์ชिरาซประเมินจากการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก การต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการชักนำการตายในเซลล์แบบอะพอพโทซิส กากรวมเมล็ดซึ่งสกัดด้วย 70% เอทานอล วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ $1,907.085 \pm 0.003 \mu\text{g of GAE/g}$ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในไวน์ ($1,907.085 \pm 0.003 \mu\text{g of GAE/g}$) อย่างมีนัยทางสถิติ ปริมาณฟลาโวนอยด์ของไวน์สูงกว่ากากรวมเมล็ดสกัดประมาณ 1.5 เท่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระประเมินจากการยับยั้ง DPPH ในตริกออกไซด์และการเกิดออกซิเดชันของไลปิด พบว่า ไวน์ (ค่า EC_{50} คือ 12.853, 2.377 และ 8.035 ตามลำดับ) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้สูงกว่ากากรวมเมล็ดสกัด (ค่า EC_{50} คือ 22.336, 23.823 และ 14.191 ตามลำดับ) อย่างมีนัยทางสถิติ ความเป็นพิษต่อเซลล์ของกากรวมเมล็ดสกัดและไวน์ประเมินจากวิธี brine shrimp lethality test (BSLT) แสดงผลว่า การตายของไรทะเล จากสารที่ทดสอบซึ่งแสดงค่าการตายสูงกว่า 50% ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและเวลาที่ทดสอบ ไวน์มีความเป็นพิษต่อไรทะเลที่ความเข้มข้นต่ำ แต่กากรวมเมล็ดสกัดมีความเป็นพิษที่ความเข้มข้นสูงกว่าอย่างมีนัยทางสถิติ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกากรวมเมล็ดสกัดกับความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ทดสอบในเซลล์มะเร็งไมอีโลมา จากหนูเมาส์ด้วยวิธี MTT ไวน์สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้สูงกว่าตามความเข้มข้นและเวลาที่ทดสอบอย่างมีนัยทางสถิติ การชักนำการตายในเซลล์มะเร็งไมอีโลมา แบบอะพอพโทซิสของกากรวมเมล็ดสกัดและไวน์ประเมินจากลักษณะทางสัญญาณของการแตกหักของนิวเคลียสและดีเอ็นเอ และตรวจสอบโปรตีนจากการตายในเซลล์แบบอะพอพโทซิส ด้วยวิธีการทางภูมิคุ้มกันแบบ Western blotting หลังจากทดสอบกากรวมเมล็ดสกัดและไวน์ในเซลล์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าเซลล์มะเร็งมีการบวม และการแตกหักของดีเอ็นเอ การตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์มะเร็งที่เกิน 50% เกิดจากการชักนำโดยไวน์เป็นจำนวนมากกว่ากากรวมเมล็ดสกัด การตรวจสอบโปรตีนจากการตายในเซลล์แบบอะพอพโทซิส พบการแสดงออกของโปรตีน caspase-3 (17 kDa), caspase-8 (20 kDa) และ p53 (53 kDa) มีระดับสูงขึ้นตามความเข้มข้นและเวลาที่ตรวจสอบ ส่วนโปรตีน Bcl-2 (26 kDa) มีระดับการแสดงออกลดลง การศึกษาชี้ว่า กากรวมเมล็ดสกัดและไวน์จากองุ่นพันธุ์ชिरาซเป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูล

อิสระที่มีในธรรมชาติและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แม้ว่าไวนน์มีผลทางชีวภาพสูงกว่าการรวมเมล็ดสกัด แต่ผลจากการศึกษานี้ได้คาดหวังว่า สามารถนำการรวมเมล็ดสกัดมาเพิ่มมูลค่าและพัฒนาเป็นสารต้านมะเร็งตามธรรมชาติหรืออาหารเสริมได้ต่อไป

สาขาวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

BENJABHORN CHUSING : SOME BIOLOGICAL EFFECTS
OF SHIRAZ GRAPE PRODUCTS, GROWN AT SURANAREE
UNIVERSITY OF TECHNOLOGY FARM, ON A CANCER CELL LINE.
THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KORAKOD INDRAPICHATE, Ph.D.
194 pp.

SHIRAZ GRAPE/ TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS/ ANTIOXIDANT/
CYTOTOXICITY/ CELL PROLIFERATION/ APOPTOSIS

Effects of pomace extract and dried wine from Shiraz grape on the phenolic compounds availability, radical scavenging activities, cytotoxicity effects and apoptotic activities were investigated. The ethanolic pomace extract (70% ethanol extraction) contained total phenolic compounds of $1,743.504 \pm 0.003 \mu\text{g GAE/g}$ was significantly lower than wine, $1,907.085 \pm 0.003 \mu\text{g GAE/g}$. The amount of flavonoids of dried wine was near 1.5-fold higher than that of pomace extract. The antioxidant capacities from inhibition (%) in DPPH, nitric oxide assay and lipid peroxidation (LPO) of wine (EC_{50} of DPPH*, NO* and LPO as followed 12.853, 2.377 and 8.035, $p < 0.05$) were significantly higher than in pomace (EC_{50} of DPPH*, NO* and LPO as followed 22.336, 23.823 and 14.191, $p < 0.05$). Cytotoxicity using brine shrimp lethality test (BSLT) resulted the 50% higher mortality by dose- and time-dependent. Wine was significantly toxic at low doses; however, the extracted pomace was toxic at high doses. The relationship between concentration of pomace extract and wine and their cytotoxic effects on myeloma cells was investigated by MTT assay. Significantly, wine suppressed higher myeloma cell proliferation (%) depended on dose and time.

To investigate the effects of pomace extract and wine-induced apoptosis in myeloma, the morphologically monitored by nuclear fragment and DNA fragments and the apoptotic proteins were evaluated by immunodetection in Western blotting. After 3 hours of the incubation with pomace extract and wine, the nuclei of treated cells were fragmented with blebbing and the ladder-like DNA fragments. Wine increased the apoptotic 50 % cells higher than pomace extract. Wine and pomace extract induced the expressions of apoptotic proteins: caspase-3 (17 kDa), caspase-8 (20 kDa), and p53 (53 kDa) and reduced the expressions of Bcl-2 (26 kDa). Overall, the present data suggest that pomace extract and wine have a high and real potential as a safe and effective of natural antioxidants with many pharmaceutical properties. However, wine presented high properties when compared with pomace extract, our study especially expected that pomace extract might consider to be added-value by-products and to be developed as natural anticancer agents or nutraceuticals in the future.

School of Biology

Student's Signature _____

Academic Year 2008

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____