ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลของโบรมีเลนต่อลักษณะเฉพาะของเซลล์และการ แสดงออกของยืนบางชนิดในเซลล์กระคูกอ่อนสุนัขที่ เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ผู้เขียน

นางสาว ปัณฑิตา เสียงดี

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช ประธานกรรมการ ผศ. นสพ. ดร. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์ กรรมการ รศ. ดร. ศิริวรรณ องค์ไชย กรรมการ

บทคัดย่อ

โบรมีเลนเป็นสารสกัดที่ได้จากลำต้นของสับปะรด (Ananas comosus) จัดเป็นสารในกลุ่ม cysteine proteinase มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบ การศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายใน การศึกษาผลของโบรมีเลนที่มีต่อเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ (chondrocyte) ของสุนัข ในสภาพ เพาะเลี้ยง (in vitro) เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญก่อนพัฒนาโบรมีเลนมาใช้ทดแทนยาปกป้อง กระดูกอ่อน ในการทดลองนี้ศึกษาอัตราความมีชีวิต อัตราการตายแบบ apoptosis อัตราการ เจริญเติบโต ผลต่อการสร้างสารในกลุ่มโปรตีโอกลัยแคน และการแสดงออกของยืนที่สำคัญใน กระบวนการแมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อน จากเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ โดยทดสอบให้เซลล์กระดูก อ่อนได้รับโบรมีเลนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลานาน 4, 16 และ 32 ชั่วโมง พบว่าภายหลังจากการได้รับสารและเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าอัตราการมี ชีวิตของเซลล์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสาร ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ทุก ช่วงเวลาที่ได้รับสารมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และผลของโบรมีเลนต่อการแสดงออก ของยืนด้วยเทคนิค real-time PCR พบว่า สามารถลดระดับการแสดงออกของยืน TIMP-1 และ MMP-3 ในเซลล์กระดูกอ่อนลงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้น

พบว่าความเข้มข้นของสารในช่วง 2 มิลลิกรัม ถึง 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้เซลล์กระคูก อ่อนหลุดลอยขึ้นมาจากพื้นผิวพลาสติกเลี้ยงเซลล์ในขณะทดสอบสาร แต่ไม่พบการตายของเซลล์ จากผลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานที่แสดงแนวโน้มที่ดีของโบรมีเลนในการรักษาเยียวยาโรคข้อ เสื่อมก่อนจะนำไปใช้จริงในทางคลินิก

คำสำคัญ; โบรมีเลน เซลล์กระดูกอ่อน โรคข้อเสื่อม



Thesis Title Effects of Bromelain on Cell Characteristics and

Expressions of some Genes of in vitro Canine

Chondrocyte Culture

Author Miss Puntita Siengdee

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej Chairperson

Asst. Prof. Dr. Korakot Nganvongpanit Member

Assoc. Prof. Dr. Siriwan Ongchai Member

ABSTRACT

Bromelain is a crude extract from stems of pineapple (*Ananas comosus*) that belongs to a group of cysteine proteinase, has been demonstrated to show anti-inflammatory properties. The purpose of this study was to determine the effect of bromelain treatment on *in vitro* canine articular chondrocytes. To achieve the essential basic knowledge before generate bromelain instead of chondroprotective drugs. This research evaluated the cell viability, apoptotic rate, mitotic rate, effect of bromelain in proteoglycan competently productivity and the expression of some genes that play an important role in cartilage metabolisms from articular chondrocyte. Chondrocyte were exposed 50 µg/ml of bromelain for 4, 16 and 32 hours. The results after treatment and incubated cell in 48 hours showed that there were no difference in viability rate between control and the treatment groups. The apoptotic rate in the treatment groups were significantly lower than control groups that were incubated with media only (p<0.05) and mitotic rate in treatment groups were significantly higher than control groups (p<0.05), in all exposed duration. The effect of bromelain in genes expression by real-time PCR technique found that bromelain could significant decrease TIMP-1

and MMP-3 expression from chondrocyte less than control groups. In addition, this result showed that during bromelain treatment concentration 2 mg/ml - 200 μ g/ml could relieve chondrocyte free from plastic culture surface but not found non-viable cell. In summary, using bromelain in the role of treatment has been show positive fundamental knowledge to heal and modulate osteoarthritis before using in clinical practice.

Keyword; bromelain, chondrocyte, osteoarthritis

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved