

CURCUMINOIDS ỨC CHẾ SỰ PHÁT TRIỂN CỦA TẾ BÀO UNG THƯ TỦY KMS-20 BẰNG CÁCH LÀM THAY ĐỔI CHỨC NĂNG TY THỂ

Vũ Thị Thu^{1*}, Kim Hyoung Kyu², Lê Thành Long², Tô Thanh Thúy¹,
Bayalagmaa Nyamaa², Phạm Thị Bích¹, Nari Kim², Han Jin²

TÓM TẮT: Trong nghiên cứu này, chúng tôi kiểm tra tác dụng chống ung thư của curcuminoids tách chiết tự nhiên đối với tế bào ung thư dòng tủy KMS-20. Sử dụng phương pháp phân tích CellTOX Green và MTT, chúng tôi thấy curcuminoids (Cu, CuT2) thể hiện tính độc cao và làm giảm tỉ lệ sống của tế bào ung thư KMS-20. Hơn nữa, tương tự với các nhóm tế bào KMS-20 đã được xử lý DOX hay RES, thành phần lipid của màng trong ty thể, mức độ các gốc oxi hóa tự do (O_2^- , H_2O_2) ở nhóm tế bào KMS-20 có được bổ sung Cu, CuT2 giảm mạnh so với nhóm tế bào không được xử lý với thuốc thử. Thành phần cardiolipin ở các nhóm tế bào KMS-20 có được bổ sung Cu, CuT2 và nhóm tế bào KMS-20 chỉ được bổ sung DMSO lần lượt là $38.09 \pm 14.52\%$, $47.87 \pm 12.48\%$ và $100.00 \pm 3.78\%$, $p < 0.05$. Ngược với tác động của DOX hay RES, hiện tượng tăng phân cực điện thế màng ty thể được quan sát thấy ở nhóm các tế bào KMS-20 đã qua xử lý với Cu hay CuT2. Kết quả thu được trong nghiên cứu này đã chỉ ra rằng, curcuminoids được tách chiết tự nhiên có khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư tủy KMS-20 bằng cách làm thay đổi chức năng ty thể.

Từ khóa: ty thể, KMS-20, điện thế màng, curcuminoids

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ty thể giữ vai trò quan trọng trong việc tạo ra nguồn năng lượng của tế bào. Ty thể cũng là bào quan có liên hệ mật thiết đến các cơ chế bệnh sinh như bệnh ung thư [1], bệnh liên quan đến thần kinh [2], bệnh tiểu đường, bệnh chuyển hóa và tim mạch [3]... Với những đặc tính quan trọng đó, ty thể đã và đang được tập chung nghiên cứu như bào quan đích trong chiến lược phòng, điều trị bệnh cũng như xu hướng đánh giá phát triển thuốc [4-6]. Hơn nữa, liệu pháp tây y kết hợp thảo dược hay sản phẩm tách chiết từ dược liệu tiềm năng đã đem lại hiệu quả cao trong công tác phòng và điều trị bệnh [7]. Các hợp chất tách chiết tự nhiên

thể hiện nhiều ưu điểm như: độc tính thấp và khả năng dung nạp vào cơ thể cao, trong đó, có thể kể đến curcuminoids tách chiết từ nghệ [8]. Hoạt tính sinh học của curcuminoids phụ thuộc vào tỉ lệ thành phần curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin. Tác dụng của curcuminoids cũng phụ thuộc vào các thành phần trong hỗn hợp chất [9]. Curcuminoids được chứng minh là có tác dụng tốt trong phòng và điều trị các bệnh liên quan đến chuyển hóa và tim mạch [10, 11], bệnh thần kinh [2], bệnh miễn dịch [12] và ung thư [13]... Vai trò bảo vệ của curcuminoids được thực hiện thông qua hàng loạt các cơ chế hay con đường khác nhau, bao gồm cả đích ty thể [13-16].

Nghệ ở vùng núi Tây Bắc nước ta có hàm lượng curcuminoids cao, đặc biệt là các thành phần demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin (số liệu chưa công bố). Tuy nhiên, chưa có báo cáo nào minh chứng tác dụng chống ung thư của curcuminoids tách chiết từ nghệ tự nhiên

¹ Đại học khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Trường Y, Đại học Inje, Hàn Quốc

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Vũ Thị Thu

Email: thu05061982@yahoo.com

Ngày nhận bài: 2/6/2016

Ngày nhận bài phản biện: 10/6/2016

Ngày chấp nhận đăng: 24/6/2016

Tây Bắc dựa trên mô hình thực nghiệm thông qua việc phân tích chức năng ty thể. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra rằng, hỗn hợp curcuminoids có nguồn gốc tự nhiên (Cu, CuT2) có khả năng kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư tủy KMS-20 nhờ việc làm thay đổi chức năng bào quan ty thể. Chúng tôi hi vọng rằng, kết quả của nghiên cứu có thể hỗ trợ việc khẳng định và củng cố vai trò tiềm năng curcuminoids tách chiết từ nghệ Tây Bắc Việt Nam trong phòng và điều trị bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hóa chất

Doxorubicin (DOX), Resveratrol (RES), Dimethyl Sulfoxide (DMSO) được mua từ Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Curcuminoids (viết tắt là Cu, bao gồm curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin) được tách chiết từ nghệ tự nhiên của vùng Tây Bắc. Độ tinh sạch của curcuminoids được kiểm định đạt tỉ lệ 98%. CuT2 là sản phẩm Cu có bổ sung Saponin.

Nuôi cấy tế bào ung thư tủy (KMS-20)

Tế bào ung thư tủy KMS-20 được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 (Cellgro, Mediatech, VA) có được bổ sung với 10% huyết thanh phôi bê (Fetal bovine serum, FBS; Harlan, Indianapolis, IN) và 1% Penicillin-Streptomycin (PS; ThermoFisher Scientific Inc.) trong điều kiện 37°C và CO₂ 5%. Sau 24 tiếng nuôi cấy trong đĩa 96 giếng, các tế bào sẽ được bổ sung thêm DMSO, Cu, CuT2, DOX hay RES.

Thí nghiệm đánh giá tác động của thuốc lên tế bào ung thư tủy KMS-20

Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng các chất đã biết được dùng trong phòng chống và điều trị ung thư như RES và DOX [17,18] làm đối chứng dương để đánh giá tác động của curcuminoids lên chức năng của ty thể và lên sự phát triển của tế bào ung thư tủy KMS-20. Tế bào

KMS-20 được nuôi cấy ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng trong đĩa nuôi cấy 96 giếng. Sau 24 tiếng nuôi cấy trong đĩa 96 giếng, các tế bào sẽ được bổ sung thêm Cu, CuT2, DOX, RES lần lượt với nồng độ 50 mg/ml, 50 mg/ml, 10 μ M và 10 μ M. Trong tất cả các thí nghiệm, nhóm tế bào KMS-20 đối chứng âm (negative control) sẽ chỉ được bổ sung thêm một thể tích DMSO tương đương với thể tích của chất thử đã được hòa tan trong DMSO. Ở cuối thời điểm thí nghiệm (24 tiếng sau khi bổ sung thêm thuốc thử), các tế bào ung thư tủy KMS-20 sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm phân tích tỉ lệ sống của tế bào (MTT assay), phân tích tính độc đối với tế bào (CellTOX Green assay), đo thành phần lipid màng trong của ty thể - cardiolipin (NAO intensity assay), đo điện thế màng ty thể (TMRE intensity), đo mức độ gốc oxi hoá tự do O₂⁻ ty thể (MitoSOX Red intensity assay) và H₂O₂ tế bào (H₂DCFDA intensity assay). Đối với thí nghiệm phân tích MTT, tế bào ung thư tủy KMS-20 được nuôi trong đĩa nuôi cấy 96 giếng trong (Corning™ 96-Well Clear Polystyrene 96-Well Assay Microplates). Ở các thí nghiệm phân tích giá trị các chỉ số NAO, TMRE, MitoSOX Red, H₂DCFDA và CellTOX Green, tế bào KMS-20 được nuôi trong đĩa nuôi cấy 96 giếng màu đen và có đáy giếng trong (Corning® Costar 96-Well Black). Sự thay đổi các chỉ số chức năng ty thể sẽ được dựa trên giá trị % của các mẫu tế bào được xử lý với chất thử so với mẫu tế bào đối chứng không được xử lý với chất thử.

Đánh giá tác động của thuốc thử lên tỉ lệ sống của tế bào ung thư tủy KMS-20

Tại thời điểm 24 giờ sau khi bổ sung thêm thuốc thử, khả năng sống của tế bào KMS-20 được đánh giá thông qua việc đo màu phân tích với MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). MTT được chuyển dạng thành

formazan sẽ là thông số chỉ ra hoạt động của ty thể trong tế bào sống và giá trị này được đo lại ở bước sóng 570 nm sử dụng máy đọc SpectraMax I3 (Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA). Kết quả tính được biểu thị bằng tỉ lệ so sánh (%) của các mẫu được xử lý với chất thử so với mẫu đối chứng không được xử lý với chất thử.

Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của thuốc thử

Tại thời điểm 24 giờ sau khi bổ sung thêm thuốc thử, tính độc đối với tế bào KMS-20 của thuốc thử được đánh giá thông phân tích huỳnh quang sử dụng kit CellTOX Green (Promega, Madison, WI, USA). CellTOX Green cho phép phân tích tế bào chết thông qua việc đánh giá tính nguyên vẹn của màng tế bào tại thời điểm 1 giờ, 6 giờ và 18 giờ ở bước sóng huỳnh quang 480/530 (excitation/emission = 485 nm/530 nm) sử dụng máy đọc SpectraMax I3 (Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA). Kết quả phân tích được biểu thị bằng tỉ lệ % so sánh của các mẫu được xử lý với chất thử so với mẫu không được xử lý với chất thử.

Phân tích các thông số chức năng ty thể

Ở cuối thời điểm thí nghiệm (24 giờ sau khi bổ sung thêm thuốc thử), các tế bào KMS-20 tiếp tục được nhuộm với các chất nhuộm 10-N-nonyl acridine orange (NAO, 0.1 μ M, ex/em: 495/525), Tetramethylrhodamine, ethyl ester (TMRE, 0.1 μ M, ex/em: 564/580) trong 30 phút, sau đó, các mẫu thí nghiệm này được rửa 2-3 lần bằng phosphate-buffered saline (PBS). Sự thay đổi về mật độ huỳnh quang của NAO và TMRE được kiểm tra bằng máy đọc multi-plate SpectraMax I3 (Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA). Kết quả phân tích được biểu thị thông qua giá trị % (so sánh giữa mẫu được xử lý với chất thử so và mẫu đối chứng).

Phân tích mức độ các gốc oxi hóa tự do (reactive oxygen species, ROS)

Ở cuối thời điểm thí nghiệm (24 giờ sau khi bổ sung thêm thuốc thử), các tế bào KMS-20 tiếp tục được nhuộm với MitoSOX Red mitochondrial superoxide indicator (MitoSOX Red, 5 μ M, ex/em: 510/580), 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA, 5 μ M, ex/em: 495/525) trong 30 phút, sau đó các mẫu thí nghiệm này được rửa thêm 2-3 lần bằng phosphate-buffered saline (PBS). Sự thay đổi về mật độ huỳnh quang của MitoSOX Red và H2DCFDA được kiểm tra bằng máy đọc multi-plate SpectraMax I3 (Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA). Sự khác biệt giữa mẫu thử thuốc và mẫu không thử thuốc được thể hiện bằng giá trị %.

Phân tích kết quả thí nghiệm

Kết quả trong nghiên cứu sẽ được phân tích dựa vào các phần mềm ImageJ, Origin8.0 programe. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0.05$.

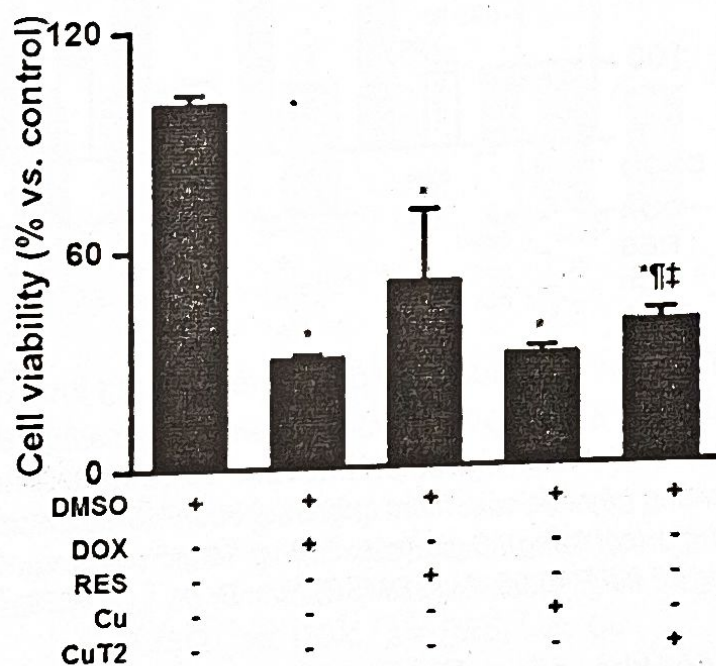
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Curcuminoids có khả năng gây độc và kìm hãm sự phát triển tế bào ung thư tùy KMS-20

Kết quả ở hình 1 cho thấy, các thuốc thử (Cu, CuT2, DOX và RES) đều thể hiện hoạt tính độc và đều kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư tùy KMS-20. Tỉ lệ sống của tế bào KMS-20 ở các nhóm DMSO (negative control), DOX, RES, Cu và CuT2 lần lượt là 100.00 ± 2.76 , 29.96 ± 0.80 , 50.37 ± 19.56 , 30.10 ± 1.99 , 38.47 ± 3.11 (hình 1). Sự giảm tỉ lệ sống sót của tế bào ung thư là có ý nghĩa thống kê giữa nhóm thử thuốc và nhóm chứng (chỉ xử lý DMSO). Đặc biệt, không có sự khác biệt nhiều về tỉ lệ sống của tế bào giữa nhóm tế bào được bổ sung DOX và nhóm tế bào được bổ sung Cu. Đối với nhóm tế bào KMS-20 được xử lý với CuT2, tỉ lệ sống của tế bào cao có ý nghĩa thống kê so với nhóm tế bào được xử lý

DOX hay Cu (điều này không quan sát được ở nhóm tế bào có xử lý RES). Sự khác biệt này có thể do cơ chế tác động của các thuốc thử lên khả năng sống của tế bào KMS-20 là không giống nhau [13, 19-21], và đây có thể là giá trị phản ánh sự

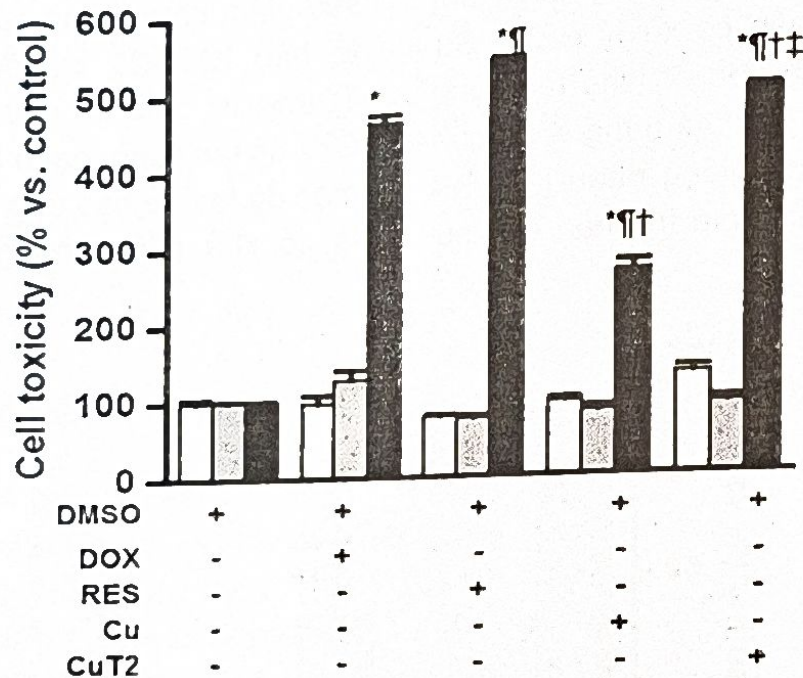
suy giảm chức năng của ty thể trong các tế bào KMS-20 khi được xử lý thuốc. Tương tự các đối chứng dương, Cu và CT2 có tác động mạnh lên tế bào KMS-20 mặc dù loại tế bào ung thư này được cho là có khả năng kháng bortezomib [17].



Hình 1. Ảnh hưởng của thuốc thử lên khả năng sống của tế bào ung thư tủy KMS-20. Tế bào KMS-20 được nuôi cấy ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng trong đĩa nuôi cấy 96 giếng. Sau 24 tiếng nuôi cấy trong đĩa 96 giếng, các tế bào sẽ được bổ sung thêm Cu, CuT2, DOX, RES. Tỷ lệ sống của tế bào KMS-20 (% vs. control) được đánh giá thông qua việc đo màu phân tích trong phép phân tích MTT. Giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0.05$, * vs. DMSO, † vs. DOX, ‡ vs. RES, ‡ vs. Cu.

Để khẳng định thêm tác động của thuốc thử, chúng tôi tiếp tục phân tích độc tính của thuốc thử đối với tế bào KMS-20 tại các thời điểm 1 tiếng, 6 tiếng, 18 tiếng. Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, không có sự khác biệt nhiều về tính độc của các thuốc thử ở thời điểm 1 giờ và 6 giờ (số liệu không báo cáo ở đây). Tuy nhiên, tại thời điểm phân tích 18 giờ, độc tính của tất cả các chất thử đối với tế bào KMS-20 đều tăng đột biến với giá trị có ý nghĩa thống kê (hình 2). Cụ thể, mẫu tế bào được xử lý với DOX, RES, Cu và CuT2 có tỉ lệ giá trị huỳnh quang của chất

nhuộm cyanine (nhuộm DNA của tế bào tổn thương) lần lượt là $459.45 \pm 8.22\%$, $533.51 \pm 1.74\%$, $261.16 \pm 10.64\%$ và $485.84 \pm 2.84\%$ so với nhóm tế bào KMS-20 chỉ được xử lý DMSO ($100.00 \pm 1.39\%$). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu trước đây [19, 20] và có thể lý giải bởi độc tố của thuốc thử đối với tế bào ung thư KMS-20 phụ thuộc vào nồng độ và thời gian [22]. Sự khác biệt về giá trị giữa 2 nhóm Cu và CuT2 có thể là do yếu tố thành phần và hàm lượng curcuminoids và saponin trong hỗn hợp chất thử.



Hình 2. Tính độc của thuốc thử đối với tế bào ung thư KMS-20.

Tế bào KMS-20 được nuôi cấy ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng trong đĩa nuôi cấy 96 giếng màu đen có đáy trong. Tại thời điểm cuối của thí nghiệm, tế bào KMS-20 được xử lý theo hướng dẫn của kit CellTOX Green và khả năng gây độc của thuốc thử lên tế bào KMS-20 (% vs. control) được đo lại tại các mốc thời gian 1 giờ (cột trắng), 6 giờ (cột xám) và 18 giờ (cột đen). Giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0.05$, * vs. DMSO, ** vs. DOX, † vs. RES, †† vs. Cu.

3.2. Curcuminoids có khả năng làm thay đổi chức năng ty thể của tế bào KMS-20

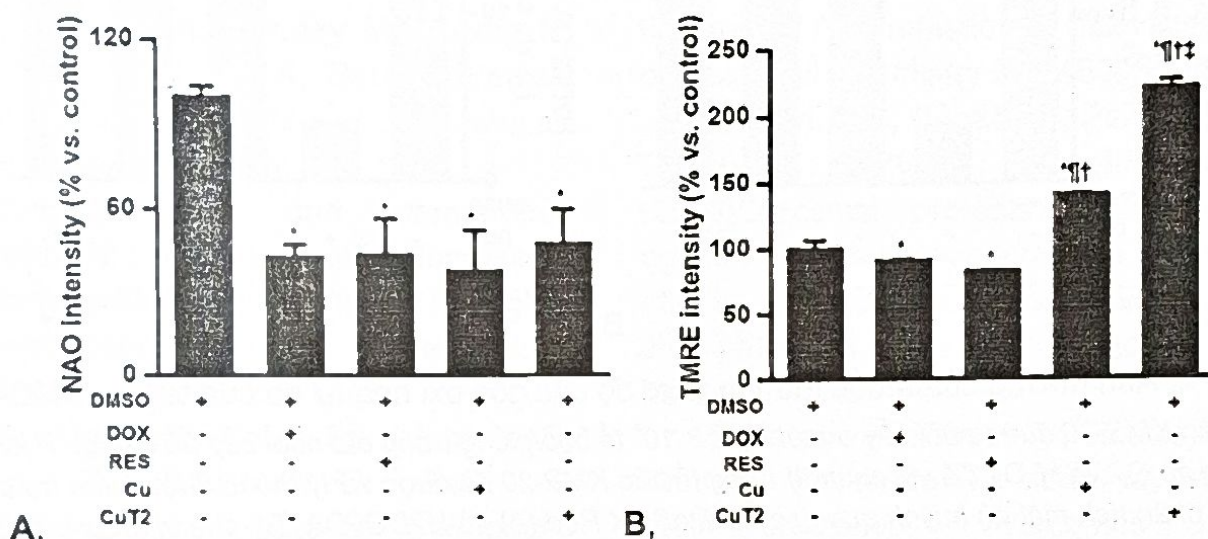
Để tìm hiểu cơ chế tác động của thuốc thử, chức năng ty thể của tế bào KMS-20 cũng được kiểm tra dựa trên việc phân tích thành phần lipid của màng trong ty thể (cardiolipin) và phân tích giá trị điện thế màng ty thể, $\Delta\Psi_m$ (hình 3). Thành phần lipid màng trong ty thể của tế bào KMS-20 ở các nhóm thử thuốc đều giảm mạnh so với nhóm tế bào chỉ được bổ sung DMSO (hình 3A). Giá trị % của mật độ chất nhuộm NAO đo được ở nhóm DMSO, DOX, RES, Cu và CuT2 tương ứng lần lượt là 100 ± 3.78 , 42.85 ± 4.52 , 43.95 ± 12.80 , 38.09 ± 14.53 và 47.87 ± 12.47 . Như vậy, sự giảm mạnh thành phần của cardiolipin dẫn đến sự bất thường điện thế màng ty thể, và đây cũng là một chỉ số đánh giá chức năng ty thể của tế bào ung thư [23]. Giống với các chất thử đối chứng dương DOX hay RES,

Cu và CuT2 đều có khả năng làm thay đổi thành phần lipid màng trong ty thể.

Điều thú vị là đối ngược với chất đối chứng dương DOX hay RES, giá trị $\Delta\Psi_m$ ở tế bào KMS-20 khi được xử lý với Cu hay CuT2 đều tăng mạnh ($140.28 \pm 0.61\%$ và $219.40 \pm 5.34\%$) so với nhóm tế bào chỉ được bổ sung DMSO ($100.00 \pm 6.61\%$). Có thể lý giải kết quả này theo giả thuyết là curcuminoids có cơ chế tác động giống với tác dụng làm tăng phân cực điện thế màng ty thể của VLX600 đối với tế bào ung thư ruột HCT116 (colon cancer) [21]. Giá trị % điện thế màng ty thể của tế bào KMS-20 ở nhóm DOX và RES là $90.83 \pm 0.94\%$ và $82.30 \pm 1.04\%$ (tỉ lệ % khi so với nhóm DMSO). Nghiên cứu trước đây của chúng tôi cũng chỉ ra rằng ty thể là yếu tố có khả năng quyết định đến đặc tính kháng thuốc của tế bào ung thư tử KMS-20 đối với bortezomib [22]. Điều này có thể dẫn đến giá trị $\Delta\Psi_m$ của tế bào KMS-20 là không giống nhau khi thử với các độc tố (chất chống ung thư). Hơn

nữa, đây cũng có thể là điểm khác biệt trong cơ chế tác động của sự kết hợp thành phần hỗn hợp chất tự nhiên

(curcuminoids, curcuminoids-saponin) đối với tế bào ung thư.



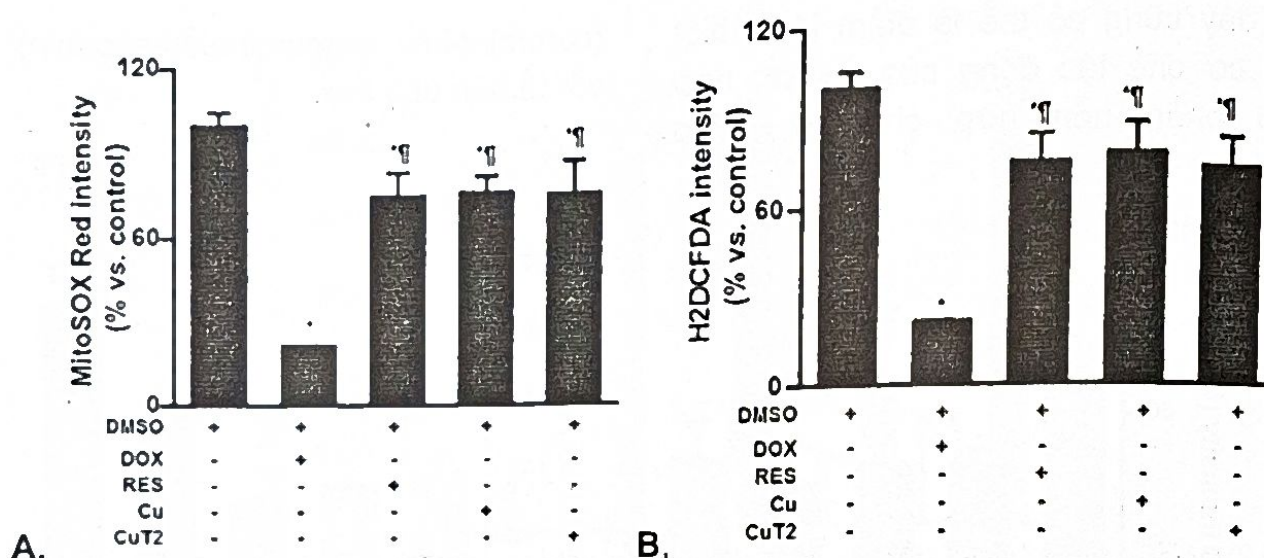
Hình 3. Ảnh hưởng của thuốc thử lên chức năng ty thể của tế bào KMS-20.

Tế bào KMS-20 được nuôi cấy ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng trong đĩa nuôi cấy 96 giếng. Ở cuối thời kỳ thử thuốc, thành phần lipid màng trong ty thể - cardiolipin và giá trị điện thế màng ty thể - $\Delta\Psi_m$ (% vs. control) được đánh giá thông qua việc phân tích mật độ huỳnh quang của NAO (A, % vs. control) và TMRE (B, % vs. control). Giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0.05$, * vs. DMSO, [†] vs. DOX, ^{††} vs. RES, ^{†††} vs. Cu.

3.3. Curcuminoids làm giảm O_2^- và H_2O_2 của tế bào KMS-20

Chúng tôi tiếp tục kiểm tra mức độ gốc oxy hóa tự do (reactive oxygen species, ROS) trong mẫu tế bào ung thư KMS-20 khi chúng được xử lý với thuốc DOX, RES, Cu hay CuT2. Kết quả đo mật độ huỳnh quang các chất nhuộm chỉ thị cho O_2^- và H_2O_2 đều cho thấy, với nhóm tế bào ung thư được xử lý DOX, giá trị mật độ MitoSOX Red (hình 4A) và mật độ H2DCFDA tính theo % so với mẫu đối chứng âm xử lý DMSO (hình 4B) là đều thấp nhất, lần lượt tương ứng với giá trị là 21.55 ± 0.36 và 21.55 ± 0.42 . Tương đồng với cơ chế tác động của RES, Cu và CuT2 làm giảm mức độ ROS trong ty thể và trong tế bào. Kết quả này có thể được lý giải bởi một số nguyên nhân [8, 19, 20], như DOX gây chết tế bào theo chu trình đối với tế bào ung thư buồng trứng (PA-1) và tế bào ung thư vú (MCF-7) nhờ khả năng ức chế p53; trong khi đó, mối liên hệ

ROS, cụ thể là H_2O_2 , là không được đề cập đến [19]. Hơn nữa, sự khác biệt trên cũng có thể do nồng độ DOX có thể kích hoạt hay kìm hãm hệ thống enzyme chống oxy hóa của tế bào [24]. Ngược lại với DOX, RES kích hoạt quá trình chết theo chu trình của tế bào ung thư dạ dày thông qua ROS [20]. Giả thuyết có thể đưa ra là Cu và CuT2 có thể có tác dụng tương tự với RES trong việc gây chết tế bào ung thư xét trong mối liên hệ với ROS. Mặc dù curcuminoids tác động lên tế bào đích thông qua nhiều con đường tác dụng khác nhau [8,12-14], xong kết quả trong nghiên cứu này cho thấy Cu và CuT2 đều có khả năng làm giảm sự phát triển của tế bào ung thư tùy KMS-20 thông qua việc thay đổi chức năng chung của ty thể. Tuy nhiên, các cơ chế chi tiết về tác động hợp chất tự nhiên nói chung và của curcuminoids tự nhiên nói riêng đối với tế bào KMS-20 vẫn cần tiếp tục được nghiên cứu bổ sung thêm.



Hình 4. Ảnh hưởng của thuốc thử lên mức độ các gốc oxy hóa tự do của tế bào KMS-20.

Tế bào KMS-20 được nuôi cấy ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng trong đĩa nuôi cấy 96 giếng. Tỷ lệ gốc oxy tự do O_2^- và H_2O_2 (% vs. control) trong tế bào KMS-20 đã được xử lý thuốc được kiểm tra bằng cách phân tích mật độ huỳnh quang của MitoSOX Red (A) và H2DCFDA (B). Giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0.05$, * vs. DMSO, † vs. DOX, ‡ vs. RES, § vs. Cu.

4. KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng curcuminoids tự nhiên có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư tùy KMS-20 thông qua việc làm thay đổi chức năng bào quan ty thể. Dựa vào kết quả cơ sở này, chúng tôi sẽ tiếp tục triển khai các nghiên cứu tiếp theo với mục đích làm sáng tỏ hơn cơ chế tác dụng của curcuminoids trong phòng và điều trị bệnh.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn Quỹ nghiên cứu BIOFUNDII của Khoa Sinh, Đại học Khoa học Tự Nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội và quỹ nghiên cứu NRF của Hàn Quốc (2010-0020224) đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này. Curcuminoids được công ty cổ phần công nghệ cao Bắc Hà cung cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B (2009) Mitochondria as targets for cancer chemotherapy. *Seminars in Cancer Biology*19:57-66.

2. Shukla P, Khanna V, Ali M, Khan M, Srimal R (2008) Anti-ischemic Effect of

Curcumin in Rat Brain. *Neurochemical Research*33:1036-1043.

3. Halestrap AP. (2010) A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochem Soc Trans*38:841-860.

4. Armstrong JS (2008) Mitochondria-Directed Therapeutics. *Antioxidants & Redox Signaling*10:575-578.

5. Heller A, Brockhoff G, Goepferich A (2012) Targeting drugs to mitochondria. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*82:1-18.

6. Smith RAJ, Hartley RC, Cochemé HM, Murphy MP (2012) Mitochondrial pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*33:341-352.

7. Yao K, Jiang X, He I, Tang Y, Yin G, Zeng Q, et al (2015) Anacardic acid sensitizes prostate cancer cells to radiation therapy by regulating H2AX expression. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*8:15926-15932.

8. Aggarwal BB, Harikumar KB. (2009) Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative,

Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 41:40-59.

9. Sandur SK, Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Murakami A, Sethi G, et al. (2007) Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis* 28:1765-1773.

10. Ahuja S, Kohli S, Krishnan S, Dogra D, Sharma D, Rani V. (2011) Curcumin: a potential therapeutic polyphenol, prevents noradrenaline-induced hypertrophy in rat cardiac myocytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63:1604-1612.

11. Miriyala S, Panchatcharam M, Rengarajulu P. (2007) CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMIN: The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. In: Springer US 359-377.

12. Sun J, Yang D, Li S, Xu Z, Wang X, Bai C. (2009) Effects of curcumin or dexamethasone on lung ischaemia-reperfusion injury in rats. *European Respiratory Journal* 33:398-404.

13. Shim JS, Lee J, Park H-J, Park S-J, Kwon HJ. (2004) A New Curcumin Derivative, HBC, Interferes with the Cell Cycle Progression of Colon Cancer Cells via Antagonization of the Ca²⁺/Calmodulin Function. *Chemistry & Biology* 11:1455-1463.

14. Wang L, Wang L, Song R, Shen Y, Sun Y, Gu Y, et al. (2011) Targeting Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase 2 by Curcumin Induces ER Stress-Associated Apoptosis for Treating Human Liposarcoma. *Molecular Cancer Therapeutics* 10:461-471.

15. Logan-Smith MJ, Lockyer PJ, East JM, Lee AG. (2001) Curcumin, a Molecule That Inhibits the Ca²⁺-ATPase of Sarcoplasmic Reticulum but Increases the Rate of Accumulation of Ca²⁺. *Journal of Biological Chemistry* 276:46905-46911.

16. Fiorillo C, Becatti M, Pensalfini A, Cecchi C, Lanzilao L, Donzelli G, et al. (2008) Curcumin protects cardiac cells against ischemia-reperfusion injury: effects on oxidative stress, NF- κ B, and JNK pathways. *Free Radical Biology and Medicine* 45:839-846.

17. Hatano K, Kikuchi J, Takatoku M, Shimizu R, Wada T, Ueda M, et al. (2008) Bortezomib overcomes cell adhesion-mediated drug resistance through downregulation of VLA-4 expression in multiple myeloma. *Oncogene* 28:231-242.

18. Carter LG, D'Orazio JA, Pearson KJ. (2014) Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. *Endocrine-Related Cancer* 21:R209-R225.

19. Wang S, Konorev EA, Kotamraju S, Joseph J, Kalivendi S, Kalyanaraman B. (2004) Doxorubicin Induces Apoptosis in Normal and Tumor Cells via Distinctly Different Mechanisms: INTERMEDIACY OF H₂O₂- AND p53-DEPENDENT PATHWAYS. *Journal of Biological Chemistry* 279:25535-25543.

20. Wang Z, Li W, Meng X, Jia B. (2012) Resveratrol induces gastric cancer cell apoptosis via reactive oxygen species, but independent of sirtuin1. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 39:227-232.

21. Zhang X, Fryknäs M, Hernlund E, Fayad W, De Milito A, Olofsson MH, et al. (2014) Induction of mitochondrial dysfunction as a strategy for targeting tumour cells in metabolically compromised microenvironments. *Nature Communications* 5.

22. Song IS, Kim HK, Lee SR, Jeong SH, Kim N, Ko KS, et al. (2013) Mitochondrial modulation decreases the bortezomib-resistance in multiple myeloma cells. *International Journal of Cancer* 133:1357-1367.

23. Kiebish MA, Han X, Cheng H, Chuang JH, Seyfried TN. (2008) Cardiolipin and electron transport chain abnormalities in mouse brain tumor mitochondria: Lipidomic evidence

supporting the Warburg theory of cancer. In: *The Journal of Lipid Research*.

24. Verma N, Vinayak M. (2012) A low dose of doxorubicin improves antioxidant defence system and modulates anaerobic metabolism during the development of lymphoma. *Indian Journal of Pharmacology* 44:308-313.

SUMMARY

CURCUMINOIDS SUPPRESS THE DEVELOPMENT OF KMS-20 CELLS VIA ALTERATING MITOCHONDRIAL FUNCTION

Vu Thi Thu¹, Kim Hyoung Kyu², Le Thanh Long², To Thanh Thuy¹, Bayalagmaa Nyamaa², Phạm Thị Bích¹, Nari Kim², Han Jin²

¹Faculty of Biology, VNU University of Science

²Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Inje University, Korea

We examined the effects of natural curcuminoids natural turmeric extract on mitochondrial function and on the development of human multiple myeloma cell line (KMS-20). We found that Cu, CuT2 and positive control drugs (DOX, RES) effectively reduced the survival rate of KMS-20 cell compared to those in DMSO-treated cells. Similar to DOX and RES, cardiolipin contents, a lipid component of inner mitochondrial membrane, were significantly decreased in Cu- and CuT2-cancer cells (38.09 ± 14.52 , 47.87 ± 12.48 , respectively, $p < 0.05$); while in DMSO group, this value was 100.00 ± 3.78 . Interestingly, levels mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species were also markedly altered in DOX-, RES-, Cu-, and CuT2-treated KMS-20 cells. Overall, our results documented for the first time the evidence the roles of natural curcuminoids in suppressing the development of KMS-20 and in changing mitochondrial function.

Keywords: mitochondria, KMS-20, membrane potential, curcuminoids