

α -倒捻子素对过氧化氢诱导的人视网膜色素上皮细胞损伤的保护作用

苏途, 方圆, 谢平, 袁松涛, 范雯, 许译丹, 刘庆淮

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划 No. 2013CB967500; No. 2011CB510200); 国家自然科学基金项目面上项目 (No. 81170855); 江苏省临床医学科技专项--重点病种的规范化诊疗研究 (No. BL2014089); “六大人才高峰” D 类资助项目 (No. 2013-WSW-015)

作者单位: (210029) 中国江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院眼科

作者简介: 苏途, 南京医科大学在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 视网膜、玻璃体疾病。

通讯作者: 刘庆淮, 主任医师, 主任, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 玻璃体、视网膜疾病. liuqh@njmu.edu.cn

收稿日期: 2015-03-16 **修回日期:** 2015-05-15

Protective effects of α -Mangostin on injury of human retinal pigment epithelium cells induced by hydrogen peroxide

Tu Su, Yuan Fang, Ping Xie, Song-Tao Yuan, Wen Fan, Yi-Dan Xu, Qing-Huai Liu

Foundation items: National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2013CB967500 and No. 2011CB510200); General Project of National Natural Science Foundation of China (No. 81170855); Jiangsu Provincial Special Program of Medical Science (No. BL2014089); Six Talent Peaks Project in Jiangsu Province (No. 2013-WSW-015)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Qing-Huai Liu. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. liuqh@njmu.edu.cn

Received: 2015-03-16 Accepted: 2015-05-15

Abstract

• **AIM:** To study protective effects of α -Mangostin in human retinal pigment epithelial (RPE) cells induced by hydrogen peroxide (H_2O_2).

• **METHODS:** ARPE-19 cells were treated with different concentrations of α -Mangostin and H_2O_2 . The effect of α -Mangostin and H_2O_2 respectively on cell activity was detected by CCK8. ARPE-19 cells were pretreated with different concentrations of α -Mangostin for 24h before they were administrated with $200\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 for another 24h. Then the changes of cell activity were observed. The expression of reactive oxygen species (ROS) level was detected by flow cytometry (FCM) and the expression of NF- κ B protein was measured by Western blot analysis.

• **RESULTS:** CCK8 examination results showed that: within $0 \sim 12\mu\text{mol/L}$, α -Mangostin had no damage effects on cell activity. When the concentration of $16\mu\text{mol/L}$, cell viability began to decrease ($P < 0.05$). And α -Mangostin pretreatment gradually increased cell viability of ARPE-19 induced by H_2O_2 when the concentrations of α -Mangostin were within $0 \sim 16\mu\text{mol/L}$. ROS results showed: the expression of ROS level significantly increased after H_2O_2 induced ($P < 0.05$); 8 and $12\mu\text{mol/L}$ α -Mangostin pretreatment down-regulated ROS expression of ARPE-19 induced by H_2O_2 ($P < 0.05$). Western blot results showed that the expression of NF- κ B protein after H_2O_2 induced increased ($P < 0.05$); $12\mu\text{mol/L}$ α -Mangostin pretreatment up-regulated NF- κ B of ARPE-19 induced by H_2O_2 ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** H_2O_2 induced oxidative damage in RPE cells by decreasing cell viability and increasing the expression of ROS level. α -Mangostin can protect RPE cells from the injury of H_2O_2 , the mechanism may be related to the clear of ROS and the activation of NF- κ B.

• **KEYWORDS:** α -Mangostin; retinal pigment epithelial cell; oxidative damage; NF- κ B; reactive oxygen species

Citation: Su T, Fang Y, Xie P, *et al.* Protective effects of α -Mangostin on injury of human retinal pigment epithelium cells induced by hydrogen peroxide. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(6):959-962

摘要

目的: 研究 α -倒捻子素对过氧化氢 (H_2O_2) 诱导的人视网膜色素上皮细胞株 ARPE-19 氧化损伤的保护作用。

方法: 分别用不同浓度的 α -倒捻子素和 H_2O_2 处理 ARPE-19, CCK8 法检测 α -倒捻子素和 H_2O_2 对 ARPE-19 细胞毒性作用。不同浓度的 α -倒捻子素预处理 ARPE-19, 再用 $200\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理 24h, 观察细胞活性变化。流式细胞仪检测细胞活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平变化, 免疫印迹法 (Western blot) 检测 NF- κ B 蛋白表达变化。**结果:** CCK8 法检测结果显示: 当 α -倒捻子素浓度在 $0 \sim 12\mu\text{mol/L}$ 时, ARPE-19 活性无明显变化; 当浓度达到 $16\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞活性开始下降 ($P < 0.05$)。 H_2O_2 诱导后, 当 α -倒捻子素浓度在 $0 \sim 16\mu\text{mol/L}$ 之内时, α -倒捻子素预处理均可提高 ARPE-19 细胞活性。ROS 结果表明: H_2O_2 诱导后, ROS 表达量增高 ($P < 0.05$); 8 和 $12\mu\text{mol/L}$ α -倒捻子素预处理, 均可有效清除 H_2O_2 诱导产生的 ROS ($P < 0.05$)。Western blot 结果显示: H_2O_2 诱导后 NF- κ B 蛋白表达增高 ($P < 0.05$), $12\mu\text{mol/L}$ α -倒捻子素预处理可以继续上调 H_2O_2 诱导后 ARPE-19 的 NF- κ B 蛋白表达 ($P < 0.05$)。

结论: H₂O₂ 诱导 ARPE-19 细胞氧化损伤, 造成细胞活性下降, ROS 表达量增加, 经过 α-倒捻子素预处理后, 可有效提高细胞活性, 清除 ROS, 活化 NF-κB。

关键词: α-倒捻子素; 视网膜色素上皮细胞; 氧化损伤; 细胞核因子-κB; 细胞活性氧

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2015.6.05

引用: 苏途, 方圆, 谢平, 等. α-倒捻子素对过氧化氢诱导的人视网膜色素上皮细胞损伤的保护作用. 国际眼科杂志 2015; 15(6): 959-962

0 引言

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是一种累及黄斑部不可逆的退行性疾病, 严重损害老年人视力。随着我国人口老龄化, AMD 发病率日渐增高^[1]。但是 AMD 的发病机制目前并不十分清楚, 多认为其是一种多因素疾病, 受个体、环境因素等多方面影响。研究表明, 氧化损伤在 AMD 的发生发展中有重要作用^[2-4], 更有研究证实, 氧化损伤诱导的人视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium, RPE) 在 AMD 发病的分子机制中起到重要作用^[2,5]。RPE 细胞具有多种重要的生理功能, 它位于视网膜最外层, 代谢活跃, 在一些视网膜疾病, 如 AMD、视网膜光损伤等易受到氧化损伤^[5]。α-倒捻子素 (1,3,6-三羟基-7-甲氧基-2,8-双(3-甲基-2-丁烯基)-9H-氧杂蒽-9-酮) 是从藤黄科藤黄属植物山竹子果壳中分离出来, 具有重要的生物活性。现代药理研究表明, α-倒捻子素具有抗氧化、抗炎^[6]、抗菌^[6]、抗癌^[8]等多种生物活性。本实验通过建立体外培养的 RPE 细胞氧化损伤模型, 进一步探讨 α-倒捻子素对 RPE 细胞氧化损伤的保护机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人视网膜色素上皮细胞株 ARPE-19 (美国 ATCC 公司); DMEM/F12 培养基, 胎牛血清, 胰蛋白酶, 青霉素和链霉素 (美国 Hyclone 公司)。α-倒捻子素、H₂O₂ 试剂 (美国 Sigma 公司); CCK8 试剂盒 (上海翊圣生物科技有限公司)、核蛋白提取试剂盒, 苯甲基磺酰氟 (Phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF) (碧云天生物技术研究); NF-κB 单克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司); HRP 标记羊抗兔二抗 (碧云天生物技术研究)。酶标仪 (Molecular Devices 公司); 流式细胞仪 (美国 BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 ARPE-19 细胞培养 将 ARPE-19 细胞用含 10% 胎牛血清和青霉素、链霉素各 100U/mL 的 DMEM/F12 培养液, 37℃、体积分数为 5% CO₂ 培养箱中培养, 接种后第二天换液, 以后每两天换液 1 次, 当细胞融合至 80% ~ 90% 时, 用无血清培养液培养 24h 后用于实验。

1.2.2 CCK8 检测 α-倒捻子素对 ARPE-19 细胞的毒性作用 将对数期生长的 ARPE-19 细胞接种至 96 孔板中, 接种密度为 8×10⁴ 个/L, 待细胞贴壁后, 换成含 α-倒捻子素浓度分别为 0, 8, 12, 16, 20, 30, 40 μmol/L 的含 10% 血清的培养液孵育 24h, 每浓度 5 孔。弃去培养液, 每孔加入现配置的含 10 μL CCK8 的培养液 110 μL, 37℃ 避光孵育 3h 左右, 用酶标仪在 450nm 波长处测定吸光度 (OD) 值, 记录结果。公式为: 细胞活性 (%) = (实验孔 OD 值 - 空白孔 OD 值) / (正常对照孔 OD 值 - 空白孔 OD 值) × 100%。

表 1 不同浓度 α-倒捻子素对 ARPE-19 细胞活性的影响

α-倒捻子素浓度 (μmol/L)	细胞活性 (%)	P
0 (正常对照组)	100	
8	101.600±0.598	0.274
12	102.073±0.587	0.162
16	95.537±2.791 ^a	0.007
20	80.497±1.732 ^a	0.000
30	65.263±2.501 ^a	0.000
40	41.897±1.721 ^a	0.000
F	534.205	
P	0.000	

^aP<0.05 vs 正常对照组。

正常对照孔为正常培养细胞, 未予任何处理; 空白孔里无细胞, 只有含 CCK8 的培养液。

1.2.3 H₂O₂ 氧化损伤模型的建立 将呈对数期生长的 ARPE-19 细胞接种至 96 孔板中, 密度为 8×10⁴ 个/L, 贴壁后, 加入 H₂O₂ 浓度分别为 0, 100, 200, 400, 600, 800 μmol/L 的含 10% 血清培养液, 培养 24h。每个浓度 5 孔。CCK8 检测方法同上, 确定 H₂O₂ 最佳浓度。

1.2.4 CCK8 检测 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞活性的影响 将对数期生长的 ARPE-19 细胞接种至 96 孔板中, 密度为 7×10⁴ 个/L, 细胞贴壁后, 换含 10% 血清培养液稀释的浓度分别为 0, 8, 12, 16, 20, 30 μmol/L 的 α-倒捻子素孵育 24h, 弃去培养液, 更换为含 200 μmol/L H₂O₂ 的培养液继续培养 24h。每个浓度 5 孔。CCK8 检测方法同上。

1.2.5 流式细胞仪检测 ROS 水平 ARPE-19 细胞接种至六孔板中, 随机分为 4 组: 正常对照组: 始终用等体积的 10% 血清培养液; H₂O₂ 诱导组: 等体积的 10% 血清培养液 24h, 含 200 μmol/L H₂O₂ 的培养液继续培养 24h; 8 μmol/L α-倒捻子素治疗组: 8 μmol/L α-倒捻子素预处理细胞 24h, 再予 200 μmol/L H₂O₂ 处理 24h; 12 μmol/L α-倒捻子素治疗组: 12 μmol/L α-倒捻子素预处理细胞 24h, 再予 200 μmol/L H₂O₂ 处理 24h。胰蛋白酶消化, 预冷的 PBS 洗涤 2 次。利用荧光探针双氯荧光素 (DCFH-DA), 按 ROS 检测试剂盒说明, 收集细胞, 装载探针, 用流式细胞仪检测各组细胞 ROS 水平。

1.2.6 Western blot 检测各组 NF-κB 蛋白表达 将 ARPE-19 细胞接种至 10cm 皿中, 随机分为 4 组, 分组和每组细胞的处理同前。取细胞, 按核蛋白提取试剂盒步骤, 提取各组细胞核蛋白, 检测各组 NF-κB 蛋白表达水平。

统计学分析: 实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组数据均先进行正态性检验和方差齐性检验, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法。P<0.05 表示差异有统计学意义。研究数据均来自 3 次或 3 次以上独立实验。

2 结果

2.1 不同浓度 α-倒捻子素对 ARPE-19 细胞活性的影响 不同浓度 α-倒捻子素组细胞活性的总体比较差异有统计学意义 (F=534.205, P=0.000)。α-倒捻子素在 0 ~ 12 μmol/L 浓度范围内, 细胞活性没有明显改变, 差异不具备统计学意义 (P>0.05); 当浓度达到 16 μmol/L 及其以上时, 细胞活性开始下降, 与正常对照组比较差异有统计学意义 (P<0.05, 表 1)。

表2 不同浓度 H₂O₂ 作用 24h 后对 ARPE-19 细胞活性的影响

H ₂ O ₂ 浓度 (μmol/L)	细胞活性 (%)	P
0 (正常对照组)	100	
100	99.147±1.909	0.598
200	81.293±1.943 ^a	0.000
400	40.347±2.660 ^a	0.000
600	28.017±2.597 ^a	0.000
800	25.310±1.048 ^a	0.000
F	994.082	
P	0.000	

^aP<0.05 vs 正常对照组。表3 不同浓度 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞活性的影响

组别	H ₂ O ₂ 浓度 (μmol/L)	细胞活性 (%)	P
正常对照组	0	100	
H ₂ O ₂ 诱导组	200	78.997±2.274 ^a	0.000
8μmol/L α-倒捻子素	200	82.450±2.265	0.066
12μmol/L α-倒捻子素	200	94.363±1.542 ^c	0.000
16μmol/L α-倒捻子素	200	82.193±1.856	0.086
20μmol/L α-倒捻子素	200	53.75±3.531 ^d	0.000
30μM α-倒捻子素	200	45.743±1.721 ^d	0.000
F	267.164		
P	0.000		

^aP<0.05 vs 正常对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs H₂O₂ 诱导组。

2.2 不同浓度 H₂O₂ 对 ARPE-19 细胞活性的影响 不同浓度 H₂O₂ 组的细胞活性总体比较差异有统计学意义 (F=994.082, P=0.000)。如表 2 所示: 当 H₂O₂ 浓度为 200μmol/L 时, ARPE-19 的细胞活性开始明显下降, 相对于正常对照组差异有统计学意义 (P<0.05, 表 2)。

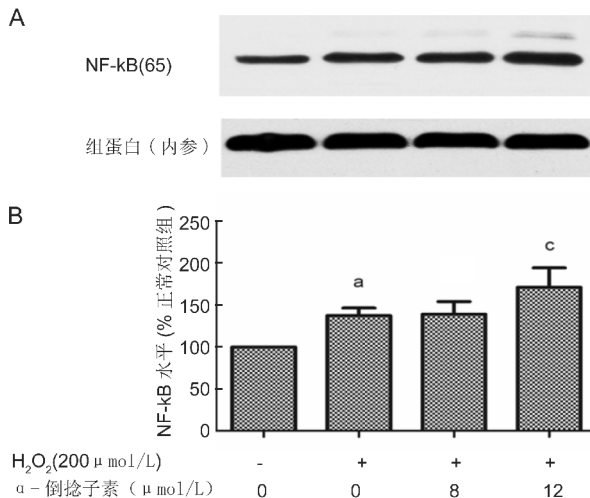
2.3 不同浓度 α-倒捻子素预处理对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞活性的影响 各组细胞活性的总体比较差异有统计学意义 (F=267.164, P=0.000)。如表 3 所示, 与正常对照组相比, H₂O₂ 诱导组细胞活性明显降低, 差异具有统计学意义 (P<0.05)。与 H₂O₂ 诱导组比较, 当 α-倒捻子素浓度在 0~16μmol/L 浓度范围内, 各组细胞活性与 H₂O₂ 诱导组比较有所增高, 其中 12μmol/L α-倒捻子素组差异具有统计学意义 (P<0.05); 当 α-倒捻子素浓度达到 20μmol/L 及其以上时, ARPE-19 细胞活性较 H₂O₂ 诱导组降低, 差异均具有统计学意义 (P<0.05, 表 3)。

2.4 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞生成 ROS 的影响 各组生成 ROS 量的总体比较差异有统计学意义 (F=34.426, P=0.000)。与正常对照组相比, H₂O₂ 诱导组细胞内 ROS 水平显著增高, 差异具有统计学意义 (P<0.05)。与 H₂O₂ 诱导组比较, 8μmol/L 和 12μmol/L α-倒捻子素均表现出一定的 ROS 清除能力, 其中 12μmol/L α-倒捻子素清除能力较强, 差异均具有统计学意义 (P<0.05, 表 4)。

2.5 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞 NF-κB 蛋白表达的影响 Western blot 结果显示: 与正常对照组相比, H₂O₂ 诱导组 NF-κB 表达量增强 (P<0.05); 与 H₂O₂

表4 不同浓度 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞生成 ROS 的影响

组别	H ₂ O ₂ 浓度 (μmol/L)	ROS 荧光强度	P
正常对照组	0	321.52±46.73	
H ₂ O ₂ 诱导组	200	611.01±21.40 ^a	0.000
8μmol/L α-倒捻子素	200	526.44±28.20 ^c	0.033
12μmol/L α-倒捻子素	200	359.58±55.73 ^c	0.000
F		34.426	
P		0.000	

^aP<0.05 vs 正常对照组; ^cP<0.05 vs H₂O₂ 诱导组。图1 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞 NF-κB 蛋白表达的影响 A: Western blot 结果; B: NF-κB 相对表达量, ^aP<0.05 vs 正常对照组; ^cP<0.05 vs H₂O₂ 诱导组。

诱导组相比, 8μmol/L α-倒捻子素组 NF-κB 表达无明显差异 (P>0.05), 而 12μmol/L α-倒捻子素组 NF-κB 表达明显增高 (P<0.05, 图 1)。

3 讨论

近年来, 通过抗氧化剂治疗 AMD 已成为眼科研究热点。α-倒捻子素具有抗氧化、抗炎^[6]、抗菌^[7]、抗癌^[8]等多种生理活性。已有研究发现^[9], α-倒捻子素可以抑制 LDL 的氧化, 延长 LDL 被铜诱导氧化的时间。其能够有效清除氧自由基如单线态氧, 超氧化物阴离子等, 从而改善由三硝基丙酸 (3-Nitropropionic Acid, 3-NP) 引起的神经元损伤^[10], 通过诱导血红素氧合酶-1 (Heme Oxygenase-1, HO-1) 表达增多对神经元起到保护作用^[11]。本研究进一步研究了 α-倒捻子素对 H₂O₂ 诱导的 ARPE-19 细胞是否具有保护作用。

在正常的生理条件下, 体内的抗氧化系统和机体产生的自由基, 处在动态平衡中。当机体处在病理条件或遭受有害刺激时, 这种平衡被破坏, 体内自由基生成过多, 超过自由基清除剂的清除能力, 机体失去平衡, 产生氧化应激反应, 造成细胞氧化损伤, 进而引起细胞凋亡。H₂O₂ 是活性氧自由基的一种, 已有很多国内外文献证实, H₂O₂ 可以诱导 RPE 细胞氧化损伤, 导致细胞凋亡或坏死, 可用于体外模拟 AMD 的发生^[12,13]。

本实验使用 CCK8 法检测 ARPE-19 细胞活性。CCK8 法测定是一种有色反应, 可以间接反映活细胞数量。我们研究结果发现: α-倒捻子素在 0~12μmol/L 浓度范围内, ARPE-19 细胞活性基本无变化, 当浓度大于等

于16 μ mol/L时,ARPE-19细胞活性开始下降,表明 α -倒捻子素在RPE细胞的安全浓度范围在0~12 μ mol/L。不同浓度 α -倒捻子素预处理ARPE-19细胞后经过200 μ mol/L H₂O₂诱导,当 α -倒捻子素浓度在0~16 μ mol/L,细胞活性增高,其中12 μ mol/L的 α -倒捻子素预处理的细胞活性最高,具有统计学意义。表明 α -倒捻子素对200 μ mol/L H₂O₂诱导的ARPE-19细胞损伤具有保护作用。

研究显示氧化损伤时产生的ROS可以诱导细胞凋亡^[14]。ROS积聚导致氧化应激发生,通过脂质过氧化物、酶失活、蛋白质氧化,继而损伤RPE细胞^[15]。在本实验中,不同浓度的 α -倒捻子素预处理均可以清除H₂O₂诱导的RPE细胞的ROS生成。与正常对照组相比,H₂O₂诱导组ROS生成量明显增加, α -倒捻子素预处理后,ROS生成量减少,提示 α -倒捻子素可能通过清除H₂O₂诱导生成的ROS,对RPE细胞氧化损伤产生保护作用。

NF- κ B是一个核转录因子,具有多向性调节作用,其通过调控多种基因的表达,参与细胞凋亡、炎症反应、免疫反应、肿瘤等生理和病理过程。体内外的多种刺激,如缺血^[16]、缺氧、H₂O₂^[17]和氧化应激^[18]等均可诱导NF- κ B表达。ROS也是诱导NF- κ B的活化的重要因素之一^[19],在本实验中,H₂O₂诱导组细胞ROS表达量增高,NF- κ B蛋白表达增高也验证了这一点。此外,NF- κ B的活化可调节细胞抗氧化防御功能,激活抗凋亡基因的表达,进而抑制细胞凋亡^[20],这在多种类型的细胞实验中均得到证实^[21,22]。在本实验中, α -倒捻子素预处理后,H₂O₂诱导损伤的RPE细胞胞核内NF- κ B蛋白表达量增强,表明其可能促使NF- κ B转移入核,活化NF- κ B,从而抑制H₂O₂诱导的RPE细胞凋亡。

综上所述, α -倒捻子素具有抗氧化、抗炎等多种生理活性,它显著提高ARPE-19细胞对抗H₂O₂诱导的细胞损伤的能力,其机制可能和清除ROS,活化NF- κ B,抑制凋亡相关,但其具体的作用机制仍需进一步研究探索。

参考文献

- 1 Chen SJ, Cheng CY, Peng KL, et al. Prevalence and associated risk factors of age-related macular degeneration in an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(7):3126-3133
- 2 Bertram KM, Baglione CJ, Phipps RP, et al. Molecular regulation of cigarette smoke induced-oxidative stress in human retinal pigment epithelial cells: implications for age-related macular degeneration. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009;297(5):C1200-1210
- 3 Cai J, Nelson KC, Wu M, et al. Oxidative damage and protection of the RPE. *Prog Retin Eye Res* 2000;19(2):205-221
- 4 Thurman JM, Renner B, Kunchithapautham K, et al. Oxidative stress renders retinal pigment epithelial cells susceptible to complement-mediated injury. *J Biol Chem* 2009;284(25):16939-16947
- 5 Kopitz J, Holz FG, Kaemmerer E, et al. Lipids and lipid peroxidation

products in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Biochimie* 2004;86(11):825-831

- 6 Nguemfo EL, Dimo T, Dongmo AB, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of some isolated constituents from the stem bark of *Allanblackia monticola* Staner L. C (Guttiferae). *Inflammopharmacology* 2009;17(1):37-41
- 7 Sakagami Y, Iinuma M, Piyasena KG, et al. Antibacterial activity of alpha-mangostin against vancomycin resistant Enterococci (VRE) and synergism with antibiotics. *Phytomedicine* 2005;12(3):203-208
- 8 Akao Y, Nakagawa Y, Iinuma M, et al. Anti-cancer effects of xanones from pericarps of mangosteen. *Int J Mol Sci* 2008;9(3):355-370
- 9 Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Orozco-Ibarra M, et al. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food Chem Toxicol* 2008;46:3227-3239
- 10 Pedraza-Chaverri J, Reyes-Fermín LM, Nolasco-Amaya EG, et al. ROS scavenging capacity and neuroprotective effect of alpha-mangostin against 3-nitropropionic acid in cerebellar granule neurons. *Exp Toxicol Pathol* 2009;61(5):491-501
- 11 Reyes-Fermín LM, González-Reyes S, Tarco-Álvarez NG, et al. Neuroprotective effect of α -mangostin and curcumin against iodoacetate-induced cell death. *Nutritional Neuroscience* 2012;15(5):34-41
- 12 Jin GF, Hurst JS, Godley BF. Hydrogen peroxide stimulates apoptosis in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Curt Eye Res* 2001;2(3):165-173
- 13 Hampton MB, Orrenius S. Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: Implications for apoptosis. *FEBS Lett* 1997;414(3):552-556
- 14 Buttke TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today* 1994;15(1):7-10
- 15 Wassell J, Davies S, Bardsley W, et al. The photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin. *J Biol Chem* 1999;274(34):23828-23832
- 16 Li C, Browder W, Kao RL. Early activation of transcription factor NF- κ B during ischemia in perfused rat heart. *Am J Physiol* 1999;276(2 Pt2):H543-552
- 17 Kim DK, Cho ES, Lee BR, et al. NF- κ B mediates the adaptation of human U937 cells to hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med* 2001;30(5):563-571
- 18 Lezoualc'h F, Sagam Y, Holsboer F, et al. High constitutive NF- κ B activity mediates resistance to oxidative stress in neuronal cells. *J Neurosci* 1998;18(9):3224-3232
- 19 Siomek A. NF- κ B signaling pathway and free radical impact. *Acta Biochim Pol* 2012;59(3):323-331
- 20 Baldwin AS. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF- κ B. *J Clin Invest* 2001;107(3):241-246
- 21 Bian X, Opipan AW Jr, Ratanaproecka AB, et al. Constitutively active NF- κ B is required for the survival of S-type neuroblastoma. *J Biol Chem* 2002;277(44):42144-42150
- 22 Giri DK, Aggarwal BB. Constitutive activation of NF- κ B causes resistance to apoptosis in human cutaneous T cell lymphoma HuT-78 cells. *J Biol Chem* 1998;273(22):14008-14014