

**ADR-INDUCED CARDIOTOXICITY *IN VIVO* IS REGULATED BY THE  
MnSOD AND iNOS GENES AND IS TIGHTLY CORRELATED WITH  
MITOCHONDRIAL OXIDATIVE/NITRATIVE DAMAGE**

**LUKSANA CHAISWING**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY  
(MEDICAL TECHNOLOGY)**

**FACULTY OF MEDICAL TECHNOLOGY**

**MAHIDOL UNIVERSITY**

**2004**

**ISBN 974-04-5090-3**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ADR-INDUCED CARDIOTOXICITY *IN VIVO* IS REGULATED BY THE MnSOD AND iNOS GENES AND IS TIGHTLY CORRELATED WITH MITOCHONDRIAL OXIDATIVE/NITRATIVE DAMAGE

LUKSANA CHAISWING 4236812 MTMT/D

Ph.D. (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORS: WANIDA ITTARAT, Ph.D., TERRY D. OBERLEY, M.D., Ph.D., SRISURANG TANTIMAVANICH, Ph.D.

ABSTRACT

Adriamycin is an anthracycline antibiotic with broad-spectrum anti-tumor activities. Chronic treatment with this drug can lead to cardiotoxicity. We studied the relationship between oxidative and nitrate damage products – 4-hydroxy-2-nonenal protein adducts and 3-nitrotyrosine, respectively – and cardiomyocyte subcellular organelle damage following adriamycin treatment using wild-type mice and three groups of genetically engineered mice.

In wild-type mice, 4-hydroxy-2-nonenal protein adducts were found to form in mitochondria prior to mitochondrial damage and 3-nitrotyrosine formation in all subcellular organelles. In mice in which there was an overexpression of the antioxidant enzyme, manganese superoxide dismutase, the levels of mitochondrial damage and 4-hydroxy-2-nonenal protein adduct were lower and there was a delay in 3-nitrotyrosine formation; while in mice in which inducible nitric oxide synthase had been knocked out, the levels of damage and 4-hydroxy-2-nonenal protein adduct were higher and there was no change in 3-nitrotyrosine level. However, the levels of damage and damage products in mice in which there was an overexpression of the antioxidant enzyme and the inducible nitric oxide synthase gene had been knocked out were lower, plausibly due to the overexpression.

Our study is the first to demonstrate that manganese superoxide dismutase and inducible nitric oxide synthase genes regulate adriamycin-induced cellular damage and that this damage strongly correlates with the levels of oxidative and nitrate damage products and their location and time of appearance in the cell.

KEY WORDS: ADRIAMYCIN/CARDIAC INJURY /4HNE/iNOS/ MnSOD/ 3NT

183 pp.ISBN 974-04-5090-3

ภาวะหัวใจเป็นพิษที่เป็นผลข้างเคียงของยาต้านมะเร็ง ADRIAMYCIN ถูกควบคุมโดยยีนส์ของ MnSOD และ iNOS ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระใน MITOCHONDRIAL (ADR-INDUCED CARDIOTOXICITY *IN VIVO* IS REGULATED BY THE MnSOD AND iNOS GENES AND IS TIGHTLY CORRELATED WITH MITOCHONDRIAL OXIDATIVE/NITRATIVE DAMAGE)

ลัญฉดา ฉายสวีน 4236812 MTMT/D

ปร.ด. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วนิตา อธิฐรัตน์, Ph.D., TERRY D. OBERLEY, M.D., Ph.D., ศรีสุรางค์ ดันติมาวานิช, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

Adriamycin (ADR) เป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งซึ่งมีรายงานว่ายานี้ส่งผลกระทบต่อหัวใจ แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่ากลไกที่ส่งผลกระทบต่อหัวใจเป็นอย่างไร การศึกษาในครั้งนี้ศึกษาความเป็นไปได้ของกลไกดังกล่าวผ่านทางระบบอนุมูลอิสระ โดยพบว่าเมื่อให้ยาแก่หนู ยาจะส่งผลกระทบต่อหัวใจภายใน 3 ชั่วโมง ซึ่งสามารถตรวจวัดได้จากการเพิ่มระดับของ 4-hydroxy-2-nonenal protein (4HNE) ใน mitochondria ของเซลล์หัวใจหนู และตรวจพบการก่อตัวของ 3-nitrotyrosine (3NT) ใน organelle ทุกชนิดของเซลล์หัวใจ ซึ่งทั้ง 4HNE และ 3NT เป็นสารเคมีที่แสดงถึงปฏิกิริยาของการเกิดอนุมูลอิสระ และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยใช้หนูที่เพิ่มจำนวนยีนส์ MnSOD โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์พบว่าหนูที่มีระดับของ MnSOD เพิ่มขึ้นจะลดระดับของการเกิดทั้ง 4HNE และ 3NT ในเซลล์หัวใจ นอกจากนี้ยังพบว่าการลดลงของเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ส่งผลให้ระดับของ 4HNE เพิ่มขึ้น และเมื่อทำการเพิ่มระดับของ MnSOD และลดระดับ iNOS ในเวลาเดียวกัน พบว่าผลกระทบต่อ organelle เซลล์หัวใจลดลง

ผลการทดลองทั้งหมดบ่งชี้ว่ากลไกของยา ADR ที่ก่อให้เกิดภาวะพิษต่อหัวใจ (cardiotoxicity) นั้นส่วนหนึ่งผ่านการก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อย่างน้อย 2 ชนิดคือ MnSOD และ iNOS มีความสำคัญในการป้องกันผลกระทบของ ADR ต่อหัวใจ งานวิจัยนี้เป็นรายงานแรกๆ ที่แสดงให้เห็นว่า mitochondria เป็น organelle แรกๆ ที่ถูกกระทบโดยยา ADR ส่วน organelle อื่นๆ นั้นเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความเสียหายของ mitochondria