

**Thesis Title: Nitric Oxide-mediated Manganese Superoxide Dismutase Inactivation:
An Insight into the Mechanisms of Chemotherapeutic-induced
Neuronal Dysfunction**

Author: Ms. Jitbanjong Tangpong

Major Program: Biomedical Sciences

Academic Year 2005

ABSTRACT

The clinical effectiveness of adriamycin (ADR), a potent chemotherapeutic, is limited by severe acute cardiotoxicity. However, the somnolence syndrome, so called “chemobrain” in cancer patients receiving ADR, is generally thought not to be the direct effect of ADR, which does not cross the blood brain barrier. In the present study, we demonstrate that ADR can cause central nervous system (CNS) toxicity via the systemic release of cytokines with subsequent induced iNOS and generation of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) in the brain. Treatment of wild type mice with ADR leads to an increase circulating level of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and a strong TNF immunoreactivity in the cerebral cortex and hippocampus. Systemic injection of ADR or TNF leads to a decline in brain mitochondrial respiration via complex I substrate, nitration of manganese superoxide dismutase (MnSOD) and subsequent reduction of its activity in wild type mice but not iNOSKO mice. The levels of the known anti-apoptotic protein, Bcl-xL, and the pro-apoptotic proteins, p53 and Bax, were increased in mitochondria led to mitochondrial membrane pore opened, cytochrome c released, increased active-caspase 3 activity and TUNEL positive cell death in ADR-treated mouse brain tissues. Neutralizing antibodies against circulating TNF completely abolished both the increased TNF immunoreactivity and the observed mitochondrial injury in brain tissues, where as the nitric oxide donor exacerbates ADR-induced brain injury in iNOSKO mice. These

results are consistent with the notion that nitric oxide is a mediator coupling the effect of ADR with cytokine production and subsequent inactivation of MnSOD in both chemotherapeutic, ADR, and in neurodegenerative disease, Alzheimer's disease, in the brain tissues. Thus, prevention of MnSOD inactivation by neutralizing TNF level or removal of NO production could be an effective means for the prevention of ADR- or Alzheimer's disease induced CNS toxicity.

ชื่อวิทยานิพนธ์	กลไกของไนตริกออกไซด์ที่ก่อให้เกิดการสูญเสียการทำงานของเอ็นไซม์แมงกานีสซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเทสและระบบประสาทสมองถูกทำลายจากการใช้เคมีบำบัด
ผู้เขียน	นาง จิตบรรจง ตั้งปอง
สาขาวิชา	ชีวเวชศาสตร์
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

เอเดรียมัยซินเป็นยาที่สำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง แต่จัดจำกัดในการใช้ของยาชนิดนี้คือเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดกล้ามเนื้อหัวใจถูกทำลายเฉียบพลัน ซึ่งพบในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโรคมะเร็งด้วยยาชนิดนี้ ในระบบประสาทสมองเป็นที่เชื่อกันว่า เอเดรียมัยซินไม่สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาทสมอง เนื่องจากตัวยาชนิดนี้ไม่สามารถผ่านเซลล์เยื่อกั้นสมอง แต่พบว่าเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาชนิดนี้มีอาการทางสมองซึ่งเรียกว่า Somnolence syndrome ซึ่งเป็นอาการที่สูญเสียความทรงจำชั่วคราว ในการศึกษาวิจัยในระบบประสาทสมองในครั้งนี้พบว่า เอเดรียมัยซินก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาทสมอง โดยเอเดรียมัยซินกระตุ้นให้มีการสร้าง tumor necrosis factor alpha (TNF) ในกระแสเลือด และ TNF จากกระแสเลือดสามารถผ่านเข้าสู่ระบบประสาทสมองได้โดยตรงและกระตุ้นเซลล์ให้มีการสร้าง TNF เพิ่มขึ้นในสมอง ซึ่งพบว่าเป็นสมองส่วน cortex และ hippocampus มีการเพิ่มขึ้นของ TNF สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่สร้างไนตริกออกไซด์ (NO) และจากผลการศึกษายังพบว่า การหายใจระดับเซลล์ลดลง มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนไนเตรชันรวมทั้งไนเตรชันของเอ็นไซม์แมงกานีส ซูเปอร์ออกไซด์ ดีสมูเทส (MnSOD) ซึ่งเป็นแอนไทออกซิเดนท์เอ็นไซม์ที่สำคัญในไมโทคอนเดรีย และก่อให้เกิดการสูญเสียระบบการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ นำไปสู่ไมโทคอนเดรียเมมเบรนมีการเปลี่ยนแปลงการควบคุมการทำงาน ทำให้ไซโตโครม ซี

รั้วสู่ไซโต-พลาสซึม และกระตุ้นเอ็นซายม์ Caspase-3 ก่อให้เกิดกระตุ้นการตายของเซลล์ประสาทสมอง ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้อย่างพบว่า เมื่อใช้แอนไทบอดีต่อ TNF สามารถป้องกันการเพิ่มระดับของ TNF ในเซลล์สมอง และป้องกันการหายใจระดับเซลล์ลดลงได้ และยังพบอีกว่า ไนตริกออกไซด์เป็นตัวกลางที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระดับเซลล์ เมื่อใช้หนูทดลองที่ไม่มีเอ็น iNOS ซึ่งไม่มีการสร้างไนตริกออกไซด์ สามารถป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทสมอง เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่มีเอ็นดังกล่าว ดังนั้นการป้องกันโดยการใส่แอนไท TNF แอนไทบอดี และการป้องกันการสร้างไนตริกออกไซด์ในระบบประสาทสมอง จึงเป็นวิธีในการป้องกันการสูญเสียความทรงจำซึ่งเกิดจากเซลล์ประสาทสมองถูกทำลาย ซึ่งพบในผู้ป่วยที่มีการรักษาโรคมะเร็งด้วยเอครีมัยซิน และพบในผู้ป่วยโรคความจำเสื่อมอัลไซเมอร์ (Alzheimers' disease)