

**Thesis Title** Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Structure and Function of Isolated Rat Kidney Mitochondria Following Cadmium Exposure

**Author** Miss Anongporn Kobroob

**Degree** Master of Science (Physiology)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Orawan Wongmekiat Advisor

Prof. Dr. Nipon Chattipakorn Co-advisor

## ABSTRACT

Cadmium is an environmental and industrial pollutant that impact greatly on human health. The kidney is the critical target organ for cadmium toxicity. Evidence has accumulated implicating the reactive oxygen species (ROS) generation with subsequent oxidative stress in mediating cadmium nephrotoxicity. Since mitochondria are major source of ROS production and defective mitochondria are related to various disease conditions, this study was carried out to determine whether caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a potent phenolic antioxidant, could protect kidney mitochondria against the toxic effect of cadmium. Four sets of experiments were

performed using mitochondria isolated from rat kidney. First, the different concentrations of cadmium (10-40  $\mu\text{M}$ ) on mitochondrial function were investigated. Second, the effects of CAPE (0.1, 1, 10  $\mu\text{M}$ ) on mitochondrial function were explored in the presence and absence of cadmium. Next, the impacts of cadmium and CAPE on mitochondrial oxidative stress were evaluated by assessments of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels. Finally, the influence of cadmium and CAPE on mitochondrial structure was examined using electron microscopy. The results demonstrated that cadmium dose-dependently induced mitochondrial damage as indicated by mitochondrial swelling, increased ROS production, decreased membrane potential and impaired mitochondrial ultrastructure. Mitochondrial injury was accompanied by a marked rise in MDA and a substantial fall in GSH. Pretreatment with CAPE dose-dependently attenuated all the changes caused by cadmium, while CAPE itself had no meaningful effect on both mitochondrial structure and function. The findings reported herein clearly demonstrate that CAPE can directly act on the mitochondria to block all cadmium-induced ROS-dependent mediated injury by inhibiting ROS generation, decreasing lipid peroxidation and/or maintenance of the mitochondrial antioxidant GSH pool, and further suggesting that it may be useful to unravel the nephrotoxicity induced by cadmium.

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** ผลของ caffeic acid phenethyl ester ต่อ โครงสร้างและหน้าที่ของ ไมโทคอนเดรียที่แยกจากไตของหนูขาวหลังได้รับแคดเมียม

**ผู้เขียน** นางสาวอนงค์ภรณ์ ขอบรูป

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สรีรวิทยา)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รศ. ดร. อรวรรณ วงศ์มีเกียรติ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ศ. ดร. นพ. นิพนธ์ นัตริทิพากร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

แคดเมียมเป็นสารพิษทางสิ่งแวดล้อมและอุตสาหกรรมที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ไตเป็นอวัยวะเป้าหมายที่สำคัญของพิษเนื่องจากแคดเมียม มีหลักฐานแสดงว่าพิษของแคดเมียมที่ไตเกิดจากการสร้างอนุมูลอิสระและส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน เนื่องจากไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งสร้างอนุมูลอิสระที่สำคัญและการเสียหายของไมโทคอนเดรียเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่างๆมากมาย การวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาว่า caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มฟีนอลที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถป้องกันไมโทคอนเดรียของไตต่อการเกิดพิษจากแคดเมียมได้หรือไม่ การวิจัยประกอบด้วย 4 ชุดการทดลองโดยใช้ไมโทคอนเดรียที่แยกจากไตของหนูขาวในการศึกษา การทดลองชุดแรกศึกษาถึงผลของแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่างๆกัน (10 – 40 ไมโครโมลลาร์) ต่อการทำงานของไมโทคอนเดรีย การทดลองที่สองศึกษาผลของ CAPE (0.1, 1, 10 ไมโครโมลลาร์) ต่อการทำงานของไมโทคอนเดรียทั้งในสถานะที่มีและไม่มีแคดเมียม การทดลองต่อมาศึกษาผลของแคดเมียมและ CAPE ต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในไมโทคอนเดรียโดยการประเมินระดับ malondialdehyde (MDA) และ glutathione (GSH) การทดลองสุดท้ายศึกษาผลของแคดเมียมและ CAPE ต่อโครงสร้างของไมโทคอนเดรียโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ผลการศึกษาพบว่าแคดเมียมทำให้หน้าที่ของไมโทคอนเดรียผิดปกติโดยแสดงจากการบวมของไมโทคอนเดรีย การสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

ศักย์ไฟฟ้าระหว่างเมมเบรนลดลง และการเสียดสภาพของโครงสร้างภายในไมโทคอนเดรียซึ่งระดับความรุนแรงขึ้นกับความเข้มข้นของแคดเมียม ความเสียหายของไมโทคอนเดรียที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA และการลดลงของ GSH การให้ CAPE ก่อนแคดเมียมสามารถลดทุกการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากแคดเมียมได้ ขณะที่ CAPE เพียงอย่างเดียวไม่มีผลใดๆต่อโครงสร้างและหน้าที่ของไมโทคอนเดรีย ผลการวิจัยแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า CAPE สามารถป้องกันพิษจากแคดเมียมได้จากการออกฤทธิ์โดยตรงที่ไมโทคอนเดรียผ่านทางกลไกการยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ ลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันและ/หรือรักษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระ GSH ภายในไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้จากผลการวิจัยสามารถสันนิษฐานได้ว่า CAPE อาจมีประโยชน์ในการป้องกันและแก้ไขภาวะพิษต่อไตที่เกิดจากแคดเมียมได้