

<b>Thesis Title</b>	Cardioprotective Effects of Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) Against Mitochondrial Damage Under Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress Condition in Isolated Cardiac Mitochondria
<b>Author</b>	Miss Savitree Thummasorn
<b>Degree</b>	Master of Science (Physiology)
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Prof. Dr. Nipon Chattipakorn, M.D., Advisor Assoc.Prof.Dr. Orawan Wongmekiat, Co-advisor

### ABSTRACT

During cardiac ischemia-reperfusion (I/R) injury, the level of reactive oxygen species (ROS) is markedly increased, leading to oxidative stress in cardiomyocytes and eventually resulting in cardiac mitochondrial dysfunction. Recently, granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) has been reported to have cardioprotective effect in ischemic heart. However, its effects on cardiac mitochondria during oxidative stress have never been investigated. We tested the hypothesis that under oxidative stress G-CSF can prevent cardiac mitochondrial dysfunction by preventing mitochondrial swelling, decreasing the ROS production and attenuating mitochondrial depolarization. **Methods:** Isolated cardiac mitochondria obtained from the heart of Wistar rats were used.  $H_2O_2$  at 2 mM was used to induce oxidative stress in cardiac mitochondria. G-CSF at various concentrations was used to study its

protective effects on mitochondrial swelling, mitochondrial membrane potential changes ( $\Delta\Psi_m$ ) and ROS production. Cyclosporine A (CsA, a mitochondrial permeability transition pore (mPTP) inhibitor) and 4'-chlorodiazepam (CDP, an inner membrane anion channel (IMAC) blocker) were used to investigate the mechanism of G-CSF on cardiac mitochondria. **Results:** G-CSF completely prevented mitochondrial swelling and depolarization, and markedly reduced ROS production caused by  $H_2O_2$ -induced oxidative stress condition. Its effects on mitochondrial swelling and  $\Delta\Psi_m$  were similar to those in CsA and CDP, whereas its protective effects on ROS production was less effective than CsA and CDP. **Conclusions:** G-CSF could prevent mitochondrial swelling, mitochondrial membrane depolarization, and attenuate ROS production under  $H_2O_2$ -induced oxidative stress condition. Its protective mechanism could be via blocking mPTP opening.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลในการป้องกันหัวใจของแกรนูโลไซต์-โคโลนี สติมูเลติง แฟกเตอร์ ต่อความเสียหายของไมโทคอนเดรียภายใต้ภาวะเครียดจนเกิดออกซิเดชันซึ่งกระตุ้นโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในไมโทคอนเดรียของหัวใจ	
ผู้เขียน	นางสาว สาวิตรี ธรรมสอน	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สรีรวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. ดร. นพ. นิพนธ์ ฉัตรทิพากร	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. ดร. อรวรรณ วงศ์มีเกียรติ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

ในภาวะหัวใจขาดเลือดนั้นพบว่าภายในหัวใจจะมีระดับของรีแอคทีฟ ออกซิเจน สปีชีส์หรือ อาร์ โอ เอส เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งภายหลังผลที่เกิดขึ้นนี้จะนำไปสู่การเกิดภาวะเครียดจนเกิดออกซิเดชันและภาวะที่ทำให้เกิดไมโทคอนเดรียทำงานผิดปกติได้ เมื่อไม่นานนี้ด้วยที่ชื่อว่าแกรนูโลไซต์-โคโลนี สติมูเลติง แฟกเตอร์หรือ จี-ซีเอสเอฟ มีการรายงานว่ามีผลในการป้องกันหัวใจจากภาวะหัวใจขาดเลือดได้ อย่างไรก็ตามผลของจี-ซีเอสเอฟ ต่อการทำงานของไมโทคอนเดรียยังไม่เคยมีการถูกทดสอบ ดังนั้นในการศึกษานี้เราจึงทำการทดสอบสมมุติฐานที่ว่าจี-ซีเอสเอฟสามารถช่วยป้องกันการเกิดไมโทคอนเดรียจากภาวะผิดปกติต่างๆเช่น ป้องกันภาวะไมโทคอนเดรียบวม, ลดระดับการสร้างอาร์ โอ เอส และลดการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าของเมมเบรนไมโทคอนเดรียได้ **วิธีการทดลอง:** ไมโทคอนเดรียจะถูกแยกออกจากหัวใจของหนูพันธุ์วิสตา จากนั้นไมโทคอนเดรียจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดจนเกิดออกซิเดชันโดยการให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ จี-ซีเอสเอฟที่ความเข้มข้นต่างๆจะถูกนำมาใช้ในการศึกษา ภาวะไมโทคอนเดรียบวม, ภาวะการเปลี่ยนแปลงโพเทนเชียลของเมมเบรนไมโทคอนเดรีย และ ระดับการสร้างอาร์ โอ เอสในไมโทคอนเดรีย ในการศึกษานี้จะใช้ไซโครสปอริน เอ (ซี เอส เอ) ( สารที่ยับยั้งการเปิดของ เอ็ม พี ที พี) และ โฟฟลามคลอโรไดซีแพม (ซี ดี พี) ( สารที่ยับยั้งการเปิดของ ไอ เอ็ม เอ ซี) มาทำการศึกษากลไกการทำงานของ จี-ซีเอสเอฟ ต่อไมโทคอนเดรียของหัวใจ **ผลการศึกษา:** จี-ซีเอสเอฟ สามารถช่วยป้องกันภาวะไมโทคอนเดรียบวม, ภาวะการเปลี่ยนแปลงความต่าง

ศักย์ไฟฟ้าของเมมเบรนไมโทคอนเดรีย และ ลดระดับการสร้างอาร์ โอ เอสในไมโทคอนเดรียของหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดจนเกิดออกซิเดชัน โดยผลการศึกษาของจี-ซีเอสเอฟ สามารถป้องกันภาวะไมโทคอนเดรียบวมและภาวะการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าของเมมเบรนไมโทคอนเดรียได้เหมือนกับผลของยา ซี เอส เอ และ ซี ดี พี แต่มีผลในการลดระดับการสร้างอาร์ โอ เอสได้น้อยกว่า ซี เอส เอและ ซี ดี พี **สรุปผลการศึกษา:** จี-ซีเอสเอฟ สามารถช่วยป้องกันภาวะไมโทคอนเดรียบวม, ภาวะการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าของเมมเบรนไมโทคอนเดรีย และ ลดระดับการสร้างอาร์ โอ เอสในไมโทคอนเดรียของหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดจนเกิดออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผ่านทางกลไกการยับยั้งการเปิดของ เอ็ม พี ที พี ได้