

Abstract

Project Code : TRG5880158

Project Title : Investigation of the roles of mitochondrion and ER to Golgi protein trafficking in the molecular mechanisms of artemisinin toxicity

Investigator : Amornrat Naranuntarat Jensen

Faculty of Science, Mahidol University

E-mail Address : amornrat.nar@mahidol.ac.th

Project Period : 2 years

Keywords : Artemisinin, mitochondria, iron, protein trafficking

The development of artemisinin resistance in parasites is an increasing problem that is made more difficult due to the lack of a clear mechanistic knowledge on artemisinin actions. Several potential mechanisms have been proposed including, but not limited to, artemisinin inactivation of a calcium ATPase, PfATP6, in the endoplasmic reticulum and cellular oxidative damage from increased production of reactive oxygen species. In addition, mitochondria were also proposed to be a direct target of artemisinin toxicity. Artemisinin treatment causes rapid mitochondrial depolarization, which was hypothesized to be the result of increased ROS production within the mitochondria. In this study, we utilized baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model to study the role of mitochondrial iron, mitochondrial electron transport chain complexes, and mitophagy on artemisinin toxicity. An alteration in mitochondrial iron levels or defects in mitophagy pathway do not affect the toxicity of artemisinin suggesting that neither the iron in the mitochondria nor the mitophagy process is involved in artemisinin action. We observed that mutants lacking the component of complex II (*sdh2Δ*) shows significant increased tolerance to artemisinin while mutants of the downstream electron acceptor displays increased sensitivity to artemisinin treatment suggesting the role of complex II is for delivering reducing equivalents for activation of the artemisinin. In addition, the inhibition of ER to Golgi transport does not appear to enhance the cellular toxicity of artemisinin. The significant changes in mitochondrial structure and increased mitochondrial DNA mutations due to artemisinin exposure were reported herein suggesting mitochondria as one of the major target of artemisinin toxicity.

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5880158

ชื่อโครงการ: การศึกษาบทบาทของไมโทคอนเดรียและการขนส่งโปรตีนจาก ER ไปยัง Golgi

ในการออกฤทธิ์ของยาต้านมาลาเรียอาร์ทีมิซินิน

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.อมรรัตน์ นรานุพันธุ์ เจนเซน

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : amornrat.nar@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

Keywords : อาร์ทีมิซินิน, ไมโทคอนเดรีย, เหล็ก, การขนส่งโปรตีน

อุปสรรคหนึ่งในการเข้าใจถึงกลไกที่เชื้อมาลาเรียสามารถดื้อต่อยาอาร์ทีมิซินินนั้นคือการที่กลไกของการออกฤทธิ์ของยาอย่างไม่เป็นที่แน่ชัด ทั้งนี้มีการเสนอความเป็นไปได้ของกลไกของยาอาร์ทีมิซินิน คือ 1) การที่ยาไปยับยั้งการทำงานของโปรตีนขนส่งแคลเซียมบน endoplasmic reticulum (PfATP6) และ 2) การก่อให้เกิดภาวะการสะสมอนุมูลอิสระภายในเซลล์ นอกจากนี้ไมโทคอนเดรียก็ถูกเสนอเป็นเป้าหมายของยาอาร์ทีมิซินินเช่นกันเนื่องจากอาร์ทีมิซินินทำให้เกิดภาวะ mitochondrial depolarization อย่างรวดเร็วซึ่งคาดว่ามาจากการที่อาร์ทีมิซินินทำให้เกิดการสะสมของอนุมูลออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species; ROS) ภายในไมโทคอนเดรีย ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษารolesของธาตุเหล็กในไมโทคอนเดรีย mitochondrial electron transport chain complexes และ mitophagy ต่อกลไกของการออกฤทธิ์ของยาอาร์ทีมิซินินโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นโมเดลในการศึกษา จากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับธาตุเหล็กในไมโทคอนเดรียหรือการมีความผิดปกติของกระบวนการ mitophagy ไม่มีผลกระทบต่อความไวของเชื้อต่ออาร์ทีมิซินิน บ่งชี้ว่าธาตุเหล็กในไมโทคอนเดรียหรือกระบวนการ mitophagy ไม่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยา เซลล์ที่มีความผิดปกติของโปรตีนใน complex II (*sdh2Δ*) มีความต้านทานต่อยามากขึ้นในขณะที่เซลล์ที่มีความผิดปกติของ complex II อื่นๆ จาก complex II มีความไวต่อยามากขึ้น บ่งชี้ว่า complex II อาจเป็น complex ที่ขนส่งอิเล็กตรอนไปยังอาร์ทีมิซินินเพื่อกระตุ้นความเป็นพิษต่อเซลล์ของยาอาร์ทีมิซินิน การใช้ยาที่ยับยั้งการขนส่งโปรตีนจาก ER ไปยัง Golgi ร่วมกับอาร์ทีมิซินินไม่ได้ส่งผลทำให้ความเป็นพิษของยาอาร์ทีมิซินินเพิ่มขึ้นแบบออกฤทธิ์เสริม ทั้งนี้ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าอาร์ทีมิซินินทำให้ไมโทคอนเดรียของเซลล์มีความผิดปกติทางโครงสร้างอย่างมีนัยสำคัญรวมถึงทำให้ความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียเพิ่มมากขึ้นซึ่งสนับสนุนทฤษฎีที่ระบุว่าไมโทคอนเดรียเป็นหนึ่งในเป้าหมายหลักของการออกฤทธิ์ของยาอาร์ทีมิซินิน