한국전자현미경학회지 제 28 권 제 2 호 1998
Korean J. Electron Microscopy 28(2), 225~236(1998)

Superoxide dismutase 및 Dimethyl thiourea가 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 Adriamycin 투여 후 나타나는 미세구조의 변화에 미치는 영향

백 두 진 · 장 형 심 · 정 호 삼
한양대학교 의과대학 해부학교실

Effects of DMTU and SOD on Ultrastructural Changes of Gastric Chief Cells in Adriamycin Treated Rats

Doo Jin Paik, Hyung Shim Chang and Ho Sam Chung
Department of Anatomy, Collegen of Medicine, Hanyang University, Seoul KOREA
(Received March 31, 1998)

ABSTRACT

Adriamycin is a one of anthracyclin antibiotics isolated from the culture media of *Streptomyces peucetius var casius*. The formation of reactive oxygen metabolite by redox cycling during the metabolism and the inhibition of DNA synthesis results in antineoplastic effects of adriamycin. The authors have demonstrated the effects of SOD(superoxide dismutase) or DMTU (dimethyl thiourea), which are used as an antioxidant, on the ultrastructural changes of the gastric chief cells after the administration of adriamycin in the rat.

Adriamycin (30 mg/kg) was administered intraperitoneally to the Sprague-Dawley rats weighing about 220 gm and SOD (15000 unit/kg) or DMTU (500 mg/kg) were administered intraperitoneally to the rats 30 minutes after the administration of adriamycin.

The gastric chief cells 24, 48 and 72 hours after the administration of adriamycin were observed with Hitachi-600 electron microscope.

The results were as follows.

1. SOD or DMTU alone did not affect the ultrastructures of the gastric chief cells in the rat.
2. Dilation, sacculation and segmentation of the cisternae of rough endoplasmic reticulum, dilation of the saccules of Golgi complex and dilated mitochondria with electron lucent matrix were seen in the adriamycin treated rats. In the course of time, the ultrastructures of the chief cell changed markedly. 72 hours after drug administration, severely dilated cisternae of rough endoplasmic reticulum, with clumping of chromatin around the nuclear envelope and mitochondria with electron lucent matrix and dilated cristae were seen in the chief cell.

3. The treatment of SOD is more effective than DMTU to attenuated the ultrastructural changes of the chief cells in the adriamycin administered rat.

Consequently, it is suggested that adriamycin would induce the degenerative changes of the organelles of the chief cell. The treatment of SOD is more effective than DMTU to attenuate the adriamycin induced damage.

Key words : adriamycin, gastric chief cell, SOD, DMTU

서 론

Adriamycin (14-hydroxy daunorubicin)은 *Streptomyces peucetius var caesius*의 배양여액에서 분리된 anthracycline계 항생제로 daunomycin의 benzen ring의 제14번 탄소위치에서 수소기가 수산기로 치환된 화학적 구조를 하고 있으며 세포에서 DNA와 RNA의 합성을 억제하고, 세포의 분열이나 성장에 꼭 필요한 단백질의 합성이나 구조적 배열에 영향을 미쳐 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim and Kim, 1972; Double and Brown, 1974; Johnson *et al*., 1979).

Bates 및 Winterbourn (1982)은 adriamycin의 대사물인 adriamycin semiquinone이 반응성수산기를 형성하여 DNA구조내 deoxyribose를 변형하여 항암효과를 나타낸다고 하였다. Potmesil 등(1984)은 adriamycin에 의한 DNA의 손상은 고농도의 약제가 존재하면 자유기(free radical) 의존적으로 일어나고, 임상적으로 사용하는 저농도의 약제가 존재하면 자유기의 작용없이 일어난다고 하였다. Keizer 등(1990)은 adriamycin이 aglycone으로 대사되거나 amino-sugar 부위에 구조가 변화되는 과정에서 형성되는 반응성수산기(hydroxyl radical)는 항암효과보다는 약제에 의한 부작용을 일으키는 원인 물질이라고 하였다. Wu 등(1990)은 adriamycin 투여 후 나타나는 단백뇨는 SOD(superoxide dismutase), DMTU (1, 3-dimethyl-2- thiourea) 및 catalase의 투여로 억제할 수 있다고 하였다. 이에 저자들은 adriamycin을 투여한 다음 상피세포의 재생 및 탈락이 활발한 위점막에서 단백질의 합성이 왕성한 위샘 으뜸세포에서 나타나는 미세구조의 변화와 초산소기(superoxide radical)를 제거하는 SOD와 반응성수산기를 제거하는 DMTU를 전처치하고 adriamycin투여 후 으뜸세포에서 나타나는 미세구조의 변화를 비교하기 위하여 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물로는 동일한 환경하에서 시판사료(삼양동물사료)로 사육한 체중 220 gm 내외의 건강한 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 금식시킨 희생전 6시간을 제외하고는 먹이와 물을 무제한 공급하였다.

실험동물은 대조군, adriamycin 투여군, adriamycin 투여 후 DMTU처치군 및 adriamycin 투여 후 SOD처치군으로 나눈 다음 희생시킨 시기를 기준으로 24시간, 48시간 및 72시간 경과군으로 세분하고 각군의 실험동물은 6마리를 사용하였다. Adriamycin 투여군의 대조군에는 생리적 식염수, DMTU (500 mg/kg)와 SOD (1500 U/kg)를 복강내 투여한 다음 24시간 경과 후 희생시켰다.

Adriamycin투여군에는 흰쥐 체중 kg당 30 mg의 adriamycin (Adriamycin® Formitalia Carlo Erba LTD, Italia)을 주사용 증류수에 희석하여 0.4 ml를 복강내 주사하였고 adriamycin투여후 DMTU처치군은 adriamycin 투여 후 30분 경과시에 흰쥐 체중 kg당 500 mg의 DMTU (Sigma)를, adriamycin 투여 후 SOD처치군은 adriamycin 투여 후 30분 경과후에 흰쥐 체중 kg당 15000 unit의 SOD (Bovine Kidney Sigma, St Louis USA)를 복강내 투여하였다. 각군의 실험동물은 adriamycin을 투여한 다음 24시간, 48시간 및 72시간 경과하면 오후 3시가 되게 하였다. 희생전 6시간 동안 금식시킨 실험동물을 희생시킨 다음

개복후 위날문쪽 위몸통을 적출하였다. 적출한 위조직은 즉시 Millonig's phosphate 용액(pH 7.2)으로 완충된 2.5% glutaraldehyde 용액에 담구어 조직을 1 mm^3의 크기로 세절하고 2내지 4시간 고정한 다음 이를 다시 Millonig액에 2시간 담근 후 1% osmium tetroxide로 고정하였다. 탈수는 alcohol-aceton 농도차에 따라 시행하였으며 Epon 812에 포매하여 LKB III ultramicrotome으로 60~80 nm 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate (Watson, 1958)와 lead citrate (Venable 및 Coggeshall 1965)로 이중염색한 후 으뜸세포를 전자현미경 (Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

실 험 결 과

1. 대조군 흰쥐 으뜸세포의 전자현미경 소견

1) 정상대조군

희생시키기 6시간 전부터 절식시킨 대조군 흰쥐의 위장에서 으뜸세포는 위샘바닥쪽에 주로 위치하는 입방형 또는 각뿔형의 세포로 원형의 핵이 세포중심부 혹은 기저부에 위치하고 있었으며, 핵막 주변에는 염색질이 다량 분포되어 있었다. 세포질에는 직경 1~2 μm인 구형 또는 원주형의 사립체가 분포되어 있었으며, 사립체능선은 잘 발달되어 있었다. 과립세포질세망은 핵주변과 세포기저부의 세포질에 풍부하게 분포되어 동심원양의 층판구조를 이루고 있었으며(Fig. 2 참조), 핵상부의 세포질에서는 단독으로 분포된 과립세포질세망의 수조가 관찰되었다. 유리리보소체(ribosome)는 위샘강에 연접한 부위나 핵상부 세포질에 밀집되어 분포되었으며, 핵주위 혹은 핵위쪽에서는 Golgi 복합체와 구형의 효소원 과립이 관찰되었다(Fig. 1).

2) DMTU처치 대조군

DMTU를 전처치한 대조군 흰쥐의 으뜸세포에서는 동심원구조의 과립세포질세망 효소원과립, Golgi 복합체, 사립체가 나타났으며 정상대조군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 2).

3) SOD처치 대조군

SOD를 전처치한 대조군 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망, Golgi 복합체, 효소원과립이 나타났으며 정상대조군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 3).

2. Adriamycin 투여군 흰쥐 으뜸세포의 전자현미경 소견

Adriamycin 투여 24시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되었으며 일부 수조에서는 리보소체가 탈락하였고 Golgi 복합체에서는 층판주머니가 불규칙한 형태로 팽대하였으며 효소원과립은 전자밀도가 다르게 관찰되었다. 효소원과립과 유사한 공포와 용해소체가 출현하였으며 사립체능선이 팽대한 사립체를 관찰하였다(Fig. 4). Adriamycin투여 48시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되었고 주머니모양으로 되었으며 일부 수조에서는 리보소체가 탈락하였고 Golgi 복합체에서는 층판주머니가 불규칙하게 팽대하였다. 전자밀도가 다르게 나타나는 효소원과립은 경계가 불분명하였고 용해소체와 자가포식소체가 나타났으며 사립체기질의 전자밀도가 감소한 사립체를 관찰하였다(Fig. 7).

Adriamycin 투여 72시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대되거나 분절되었고 주머니모양으로 되었으며 현저하게 팽대하고 리보소체가 탈락된 과립세포질세망을 포함하는 세포가 관찰되었다. Golgi 복합체는 층판주머니가 팽대하였으며 용해소체가 출현하였다. 사립체에서는 사립체기질의 전자밀도가 감소하고 일부 사립체능선이 팽대되었으며 핵에서는 염색질이 모여있는 세포를 관찰하였다(Fig. 10).

3. Adriamycin 투여 후 DMTU처치군 흰쥐 으뜸세포의 전자현미경 소견

Adriamycin 투여 후 DMTU처치 24시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되었고 리보소체가 탈락하였으며 Golgi 복합체의 층판주머니는 불규칙한 형태로 나타났다(Fig. 5). Adriamycin 투여 후 DMTU처치 48시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되었고, Golgi 복합체의 층판주머니가 팽대하였으며 일부 사립체에서 사립체기질

의 전자밀도가 감소하였으며 효소원과립과 용해소체를 관찰하였다(Fig. 8). Adriamycin 투여 후 DMTU처치 72시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되고 주머니모양으로 되었으며 리보소체가 탈락한 수조도 나타났다. Golgi 복합체의 층판주머니가 팽대하였으며 사립체는 사립체기질의 전자밀도가 감소하거나 사립체능선이 소실되고 이중막구조가 파괴되거나 기질내부에 수초양소체가 출현한 것을 관찰하였다(Fig. 11).

4. Adriamycin 투여 후 SOD처치군 흰쥐 으뜸세포의 전자현미경 소견

Adriamycin 투여 후 SOD처치 24시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되고 주머니모양으로 되었으며 리보소체가 탈락한 수조도 나타났으며 Golgi 복합체의 층판주머니가 팽대하여 불규칙하게 관찰되었다. 사립체기질의 전자밀도가 감소하거나 사립체능선이 소실된 사립체가 나타났으며 용해소체를 관찰하였다(Fig. 6). Adriamycin 투여 후 SOD처치 48시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대하거나 분절되고 주머니모양으로 되었으며 Golgi 복합체의 층판주머니는 팽대하였고 다수의 용해소체를 관찰하였다(Fig. 9). Adriamycin 투여 후 SOD처치 72시간 경과군에서 흰쥐의 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 주머니모양으로 되거나 분절되었고 일부 Golgi 복합체가 불규칙한 형태로 관찰되었다. 사립체에서는 사립체기질의 전자밀도가 감소하였고 용해소체를 관찰하였다(Fig. 12).

고 찰

Adriamycin의 대사과정 중 형성되는 자유기(free radical)는 반응성이 매우 높은 일시적인 부산물로서 핵산단백질, 막의 지질, 세포질의 분자, 아교질 등과 반응하고 주로 사립체의 손상을 일으키는 것(Freemann and Crapo, 1982; Baud and Ardaillou, 1986; Sugiyama *et al.*, 1989)으로 알려져 있다. Thornalley 및 Dodd (1985)는 흰쥐 심장근세포에서 adriamycin이 NADPH 의존성 quinone reductase와 cytochrome P450 reductase의 작용으로 환원된 adriamycin quinone을 형성하면 산소와 결합하여 초산소기(superoxide radical)를 형성하고 연쇄반응으로 철이온을 매개로 과산화수소와 반응하여 반응성수산기를 형성한다고 하였다. Miura 등(1991)은 혈중 pH가 높을수록 adriamycin 반응기가 형성되며 환원된 pyridine nucleotide는 반응기의 형성을 자극하고, allopurinol 혹은 아비산염(arsenite)과 같은 플라빈 효소억제제가 혈청에서 반응기의 형성을 억제한다고 하였으며, Sokolove 및 Shinaberry (1988)는 5 μM의 adriamycin aglycone의 작용으로 사립체에서 thiol기가 변화하여 사립체 막의 투과도가 증가하며 칼슘이온이 방출되어 사립체는 종창을 일으키고 사립체내 pyridine nucleotide가 산화된다고 하였다. Tarakhovskii 등(1983)과 Thomas 및 Aust (1986)는 adriamycin이 NADPH-cytochrome P450 reductase의 존재아래 산화와 환원을 반복하게 되면서 초산소기를 형성하면 생체에서 철이온 의존성 산화손상을 일으켜 항암효과가 나타난다고 하였으며, Watanabe 등(1995)은 HeLa 세포의 배양시 adriamycin을 처리하면 세포내 TNF (tumor necrotizing factor)의 발현을 억제하여 Mn-SOD의 활성을 감소시키므로 약제의 항암효과가 증가한다고 하였다.

한편, 세포독성을 나타내는 화합물의 투여 혹은 자유산소기의 작용으로 소화장관의 점막 손상이 일어난다는 보고가 있다.

Mizui 등(1987)은 alcohol을 흰쥐에 투여하면 xanthine oxidase의 작용으로 형성된 초산소기에 의하여 지질의 과산화가 일어나 위점막 손상이 야기된다고 하였고, Ogino 등(1990)은 dimethyldithiocarbamate를 투여받은 흰쥐의 위에서는 2시간 경과후 Cu, Zn-SOD의 활성이 감소하고 점막혈류가 52% 감소하며 점막의 충혈이 생겨 유리산소기가 발생하므로 궤양이 생긴다고 하였다. Takeuchi 등(1991)은 indomethacin에 의한 위점막 손상은 점막의 혈류변화, 지방의 과산화 증가와 모세혈관의 투과도가 증가하여 생기는 것으로 atropin이나 16.16-dimethyl prostaglandin E_2로 위장의 과운동성(hypermotility)을 억제시켜 주거나 SOD, allopurinol, dimethyl sulfoxide 등의 자유산소기 제거제를 투여하면 손상정도가

약화된다고 하였다.

본 실험은 단백질의 합성이 활발한 위샘 으뜸세포에서 adriamycin투여후 나타나는 미세구조의 변화에 항산화효소제인 SOD와 DMTU 투여가 미치는 영향을 비교분석한 것으로 세포관찰시 먹이섭취 및 생체리듬에 따라 변화하는 세포활성에 따라 나타나는 세포의 형태변화를 고려하여 실험동물은 희생전 6시간부터 절식시켰고, 오후 3시에 희생시켰으며 위샘바닥부분에 주로 분포하는 으뜸세포를 관찰하였다. 대조군에서 DMTU 혹은 SOD를 단독투여한 흰쥐의 위샘 으뜸세포에서는 미세구조의 변화가 관찰되지 않았다.

Adriamycin 투여 후 시간 경과에 따라 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 세포소기관의 변화는 심하여졌다. 시간경과에 따라 용해소체와 이차 용해소체는 약제에 의해 손상받은 부분을 처리하는 것으로 De Duve 및 Wattiaux (1966)는 이러한 현상을 치사이하(sublethal)의 손상을 받은 세포에서 일반적으로 나타나는 세포생존을 위한 세포회복과정이라고 하였다. Adriamycin 투여 후 72시간 경과군의 으뜸세포에서 나타난 수조가 심하게 팽대한 과립세포질세망의 소견은 물의 유입으로 종창을 일으키거나 분비과립의 비정상적인 축적(Ghadially, 1988)이 그 원인인 것으로 알려져 있으며 본 실험의 경우 막구조의 손상으로 물의 유입이 나타난 결과로 사료된다. Adriamycin투여로 나타나는 변화는 약제가 대사될때 형성되는 자유산소기에 의해 막구조가 손상된 것이며 특히 사립체는 adria-mycin의 작용에 대하여 민감하게 반응하는 세포소기관이다. Helden 및 Wiid (1982)는 adriamycin이 cardiolipin에 대한 친화성이 높아 cardiolipin을 다량 포함하는 사립체가 영향을 받아 효소의 활성이 감소되거나 구조적 변화가 일어난다고 하였고, Broggini 등(1983)은 adriamycin 투여시 50%가 핵에 축적되나 시간이 지나면서 사립체와 microsome에 분포하는 양이 증가하고 약제의 반감기가 사립체에서 특히 길다고 하였다.

Adriamycin 투여 후 DMTU를 처치한 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 약제투여 후 24시간 경과시 DMTU의 작용으로 과립세포질세망과 Golgi 복합체의 변화된 정도가 감소하였으나 48시간 및 72시간 경과시에는 adriamycin 단독투여군과 큰 차이가 없었다. DMTU는 실험실에서 항산화제로 쓰이는 물질로 반응성수산기와 차아염소산기의 제거에 효과가 있으나 DMTU의 자체의 독성으로 접촉하였을 경우 접촉성 피부염 혹은 폐기능의 장애가 나타날 수 있는 것으로 알려져 있다 (McCutchan *et al.*, 1990; Beehler *et al.*, 1994).

본 실험에서 adriamycin 투여 후 DMTU를 처치한 군의 결과에서는 adriamycin이 반응성수산기를 형성하여 여러 부작용을 일으키게 된다는 보고를 고려하면 예상밖의 결과로 DMTU의 투여방법과 투여시기의 문제점으로 adriamycin이 대사되어 반응성수산기를 형성하는 시간과 DMTU의 작용시간이 일치하지 못하였거나 으뜸세포의 생물학적 특징상 철이온의 분포가 적어 반응성수산기의 형성이 미미하거나, adriamycin이 반응성수산기의 작용보다는 과산화수소 혹은 초산소기의 작용으로 세포독성을 일으킬 가능성을 고려할 수 있으나 이런 것을 증명할 증거가 없으므로 계속 연구해야 될 것으로 생각된다.

제1선에서 자유산소기를 처리하는 SOD는 초산소기를 과산화수소와 산소분자로 대사시키는 효소로 세포에는 세포질에서 지속적으로 분포하는 Cu, Zn-SOD와 사립체에 분포하며 산화자극으로 활성화되거나 발현되는 Mn-SOD가 있으며 세포외액에는 EC-SOD가 존재한다고 알려져 있다(McCord 및 Fridovich, 1969; Marklund, 1982; Steink hler 등, 1994). Tainer 등(1991)은 SOD가 산소분자에 노출되면 활성이 증가하는 효소로 염증시 혹은 지혈로 일어나는 지질의 과산화를 억제하며 동물에서는 소염효과가 있다고 하였고, Delanian 등(1994)은 치료목적으로 방사선조사 후 나타나는 피하조직의 섬유화를 liposomal Cu, Zn-SOD의 투여로 약화시킬 수 있다고 하였다. 그러나 SOD는 세포막을 통과하지 못하고(Inoue *et al.*, 1989), 반감기가 짧아(Freeman *et al.*, 1983), 임상이용시 여러 문제점을 가지고 있다.

본 실험에서 adriamycin 투여 후 SOD를 처치한 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 나타난 결과는 본 실험에서 사용한 약제의 용량으로 으뜸세포에서 형성되는 초산소기가 효과적으로 대사되어 약제의 투여방법과 시기가 효과적이었음을 알려주는 것이며, SOD가 세포막을 통과하지 못하는 것을 고려한다면 adriamycin에 의한 세포독성은 세포내에서 발생하는 초산소기 뿐 아니라 세포외액에서 형성되는 초산소기도 관여하는 것

으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면 흰쥐의 위샘 으뜸세포에서 adriamycin 투여 후 SOD를 투여하는 것이 DMTU를 투여하는 것보다 약제에 의한 손상을 더욱 약화시킬 수 있다고 결론지을 수 있다.

결 론

임상에서 유용하게 사용되는 항암제인 adriamycin을 사용할 때 나타나는 부작용은 약제의 대사에서 발생하는 반응성 산소기의 작용에 의한다고 알려져 있다. 이에 저자는 adriamycin (30 m/kg)을 단독투여하거나, 약제투여 후 superoxide기를 대사하는 SOD (15000 unit/kg)와 반응성수산기를 제거하는 DMTU (500 mg/kg)를 처리한 다음 핵산 및 단백질의 합성이 활발한 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 나타나는 미세구조의 변화를 비교 관찰하기 위하여 약제의 단독투여 혹은 SOD 및 DMTU와의 병용투여한 다음 24시간, 48시간 및 72시간 경과후 위몸통부위의 조직을 절취하여 표본을 제작한 다음 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. SOD 혹은 DMTU의 단독투여가 흰쥐 위샘 으뜸세포에서 형태적 변화에 영향을 미치지 않았다.

2. Adriamycin을 투여한 흰쥐 위샘 으뜸세포에서는 과립세포질세망의 수조가 팽대, 분절 및 주머니모양으로 되었고 일부에서는 리보소체가 탈락하였으며, Golgi 복합체의 층판주머니가 팽대하였고 사립체에서는 사립체기질의 전자밀도가 감소하였다. 이러한 변화는 시간이 경과할수록 심해졌으며 72시간 경과시에는 과립세포질세망이 심하게 팽대한 세포에서 핵내 염색질이 모여있었고 사립체에서는 사립체기질의 전자밀도의 감소와 사립체능선이 소실되었다.

3. Adriamycin 투여 후 DMTU를 투여하면 흰쥐 으뜸세포에서 과립세포질세망의 수조가 팽대, 분절 및 주머니모양으로 되었고 Golgi 복합체의 층판주머니가 팽대하였으나 adriamycin 단독투여시 보다 변화의 정도가 약화되었다. 사립체는 사립체기질의 전자밀도가 감소하고 사립체능선이 소실되었으며 사립체내 수초양소체가 출현하였다.

4. Adriamycin을 투여한 흰쥐에 SOD를 투여하면 으뜸세포에서 과립세포질세망의 수조가 팽대, 분절 및 주머니모양으로 되었으며 사립체에서는 사립체 기질의 전자밀도가 감소하였으며 72시간 경과시에는 정상대조군과 유사하였다.

이상의 결과를 종합하면 adriamycin 투여로 나타나는 흰쥐 위샘 으뜸세포의 변화를 SOD가 약화시켰고 DMTU의 약화효과는 미약한 것으로 생각된다.

REFERENCES

Bates DA and Winterbourn CC, 1982. Deoxyribose breakdown by the adriamycin semiquinone and H_2O_2 : evidence for hydroxyl radical participation, FEBS. Lett. 145, 137-142

Baud L, Ardaillou R, 1986. Reactive oxygen species : Production and role in the kidney, Am. J. Physiol. 251, F765-F776

Beehler CJ, Ely ME, Rutledge KS, Simchuck ML, Reiss OK, Shanley PF and Repine JE, 1994. *Toxic effects of dimethyl thiourea in rats*, J. Clin. Lab. Med. 123, 73-80

Broggini M, Ghersa P and Donelli MG, 1983. Subcellular distribution of adriamycin in the liver and tumor of 3LL-bearing mice, Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. 19, 419-426

De Duve C, Wattiaux R, 1966. Functions of lysosome, Am. Rev. Physiol. 28, 435-438

Delanian S, baillet F, Huart J, Lefaix JL, Maulard C, Housset M, 1994. Successful treatment of radiation-induced fibrosis using liposomal Cu/Zn superoxide dismutase clinical trial, Radiotherapy and Oncology 32, 12-20

Double TE and Brown TR, 1974. The interaction of aminoalkylamino-anthraquinones with deoxyribonucleic acid, J. Pharmacol. Exp. Ther. 27, 502-507

Freeman BA, Young SL, Crapo JD, 1983. Liposome mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury, J. Biol. Chem. 258, 12534-12542

Freeman BA, Crapo JD, 1982. Biology of disease : free radicals and tissue injury, Lab. Invest. 47, 412-426

Ghadially FN, 1988. Ultrastructural pathology of the cell and matrix 3rd ed., Butterworth. 428-437

Helden PO, Wiid JF, 1982. Effects of adriamycin on heart and skeletal muscle chromatin, Biochem. Pharmacol. 31, 973-977

Inoue M, Ebashi I, Watanabe N and Morino Y, 1989. Synthesis of a superoxide dismutase derivative that circulates bound to albumin and accumulates in tissues whose pH is decreased, Biochemistry, 28, 6619-6624

Johnson RK, Cheng PKY and Lee WW, Action EM, Henry DW and Cheng CC, 1979. Experimental antitumor activity of aminoanthraquinone, Cancer Treat. Rep. 63, 425-439

Keizer HG, Pinedo HM, Schuurhuis GJ, Joenje H, 1990. Doxorubicin (adriamycin) : a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity, Pharmacol. Ther. 47, 219-231

Kim SH, Kim JH, 1972. Lethal effect of adriamycin on the division cycle of HeLa cells, Cancer Research, 32, 323-325

Marklund SL, 1982. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 7634-7638

McCord JM, Fridovich I, 1969. Superoxide dismutase : an enzymatic function for erybrocuprein (hemocuprein), J. Biol. Chem. 244, 6049-6055

McCutchan JH, Schwappach J, Enquist EG, Walden PL, Terada LS, Reiss OK, Leff JA and Repine JE, 1990. Xanthine oxidase-derived H_2O_2 contributes to reperfusion injury of ischemic skeletal muscle, Am. J. Physiol. 258, H1415-H1419

Miura T, Muraoka S, Ogiso T, 1991. Generation of adriamycin radical by interaction of adriamycin with serum, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 71, 115-124

Mizui T, Sato H, Hirose F, Doteuchi M, 1987. Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats, Life Sci. 41, 755-763

Ogino K, Hobara T, Kawamoto T, Kobayashi H, Iwamoto S, Oka S, Okazaki Y, 1990. Mechanism of diethyldithiocarbamate-induced gastric ulcer formation in the rat, Pharmacol. Toxicol. 66, 133-137

Potmesil M, Israel M, Silber R, 1984. Two mechanisms of adriamycin DNA interaction in L1210 cells, Biochem. Pharmacol. 33, 3137-3142

Sokolove PM, Shinaberry RG, 1988. Na^+-independent release of Ca^{2+} from rat heart mitochondria. Induction by adriamycin aglycone, Biochem. Pharmacol. 37, 803-812

Steink hler C, Carri MT, Micheli G, Knoepfel L, Weser U and Rotilio G, 1994. Copper dependent metabolism of Cu, Zn-superoxide dismutase in human K526 cells, lack of specific transcriptional activation and accumulation of a partially inactivated enzyme, Biochem. J. 302, 687-697

Sugiyama S, Hayakawa M, Kato T, Hanaki Y, Shimizn K and Ozawa T, 1989. Adverse effects of antitumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria; disturbances in glutathione peroxidase activity, Biochem. Biophys. Res. Commun. 159, 1121-1127

Tainer JA, Roberts VA, Fisher CL, Hallewell RA and Getzoff ED, 1991. Mechanism and structure of superoxide dismutase. A Study of enzymes. Vol. II. Mechanism of enzyme action, edited by Kuby S.A, CRC press, 503-504

Takeuchi K, Ueshima K, Hironaka Y, Fujioka Y, Matsumoto J and Okabe S, 1991. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats.; relation to gastric hypermotility, Digestion 49, 175-184

Tarakhovskii AM, Zhmareva EN and Romodanov SA, 1983. The role of the system of superoxide radical formation and detoxication in the mechanism of the antineoplastic effect of adriamycin, Biull. Eksp. Biol. Med. 96, 86-88

Thomas CE, Aust SD, 1986. Release of iron from ferritin by cardiotoxic anthracycline antibiotics, Arch. Biochem. Biophys. 248, 684-689

Thornalley P, Dodd NJ, 1985. Free radical pro-

duction from normal and adriamycin-treated rat cardiac sarcosomes, Biochem-Pharmacol. 34, 669-674

Venable JH, Coggeshall R, 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy, J. Cell Biol. 25, 407-417

Watanabe N, Okamoto T, Tsuji N, Sasaki H, Akiyama S, Kobayashi D, Sato T, Yamauchi N, Niitsu Y, 1995. Reversal of tumor necrosis factor resistance in tumor cells by adriamycin via suppression of intracellular resistance factors, Jpn. J. Cancer Res. 86, 395-399

Watson ML, 1958. Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals, J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 475-478

Wu SH, Yang YC, Wang ZM, 1990. Role of oxygen radicals in adriamycin-induced nephrosis, Chin. Med. J. Engl. 103, 283-289

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. An electron micrograph of chief cell, a control rat. An extensive rough endoplasmic reticulum (rER), well developed Golgi complex (G), rod or oval shaped mitochondria (M) and zymogen granules (Z) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 2. An electron micrograph of chief cell, a DMTU treated control rat. Concentric structured cisternae of rough endoplasmic reticulum (rER) around the nucleus, rod shaped mitochondria (M), well developed Golgi complex (G) and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrates stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 3. An electron micrograph of chief cell, a SOD treated control rat. Rough endoplasmic reticulum (rER), well developed Golgi complex (G) and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 4. An electron micrograph of chief cell, 24 hours of adriamycin. Dilated and fragmented cisternae of endoplasmic reticulum (rER), mitochondria (M) with dilated cristae, Golgi complex (G) composed of irregular shaped dilated saccules, zymogen granules (Z) with electron dense area, vacuole (V) with electron lucent area and lysosome (Ly) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1μm.

Fig. 5. An electron micrograph of chief cell, 24 hours of adriamycin administered rat with DMTU treatment. Dilated, fragmented and ribosome detached cisternae of rough endoplasmic reticulum (rER), Golgi complex (G), mitochondria (M) and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 6. An electron micrograph of chief cell, 24 hours of adriamycin administered rat with SOD treatment. Dilated, fragmented, sacculated and ribosome detached cisternae of endoplasmic reticulum (rER), Golgi complex (G) with dilated saccules, mitochondria (M) with electron lucent matrix and loss of cristae and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 7. An electron micrograph of chief cell, 48 hours of adriamycin administered rat. Dilated fragmented, sacculated and ribosome detached cisternae of rough endoplasmic reticulum (rER), Golgi complex (G) with irregular shaped dilated saccule, mitochondria (M) with electron lucent matrix, heterogenously stained zymogen granules (Z) with indistinct boundary, autophagosome (APS) and lysosome (Ly) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

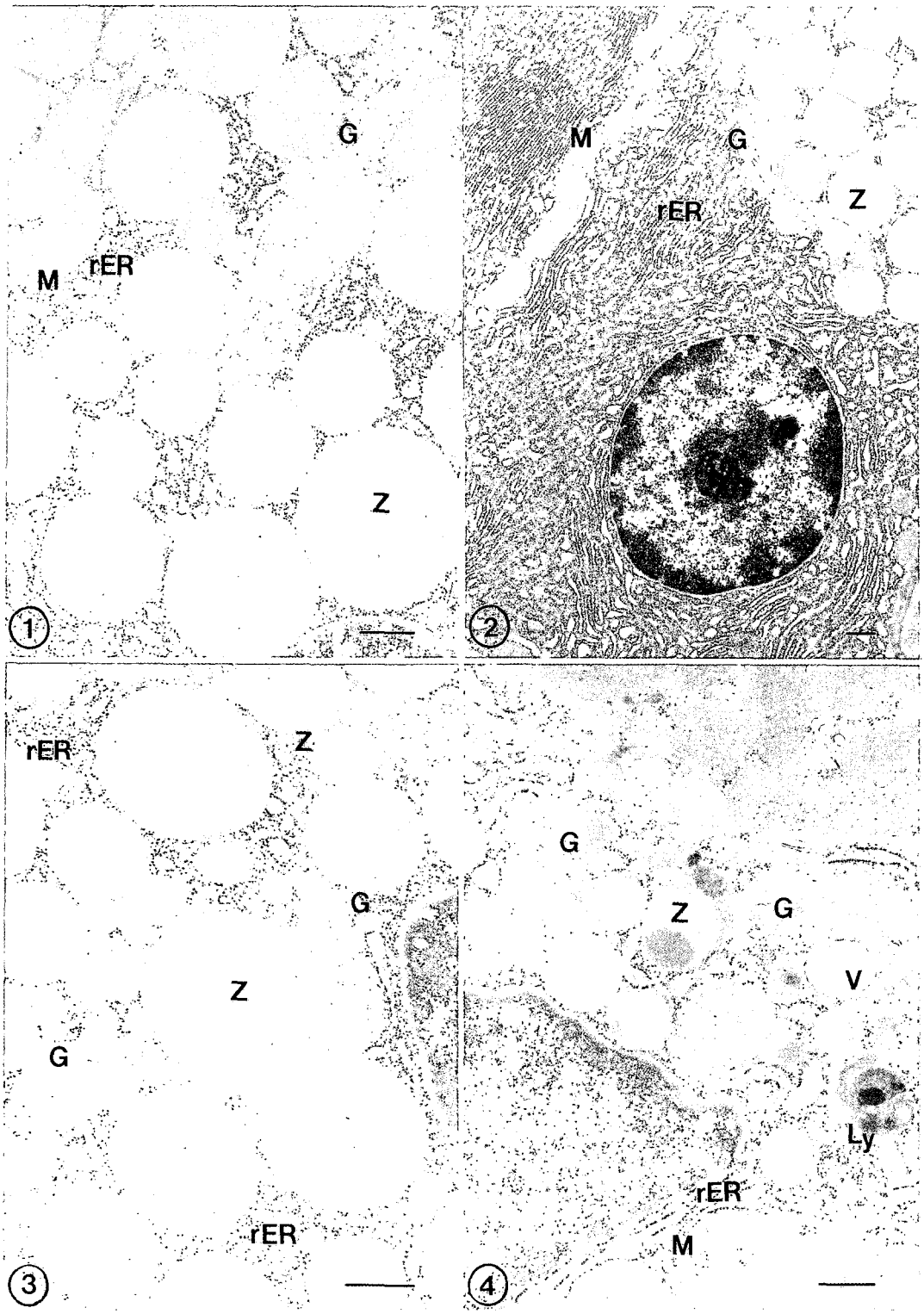
Fig. 8. An electron micrograph of chief cell, 48 hours of adriamycin administered rat with DMTU treatment. Dilated and fragmented cisternae of endoplasmic reticulum (rER). Golgi complex (G) with dilated saccules, mitochondria (M) with electron lucent matrix, zymogen granules (Z) with indistinct boundary and lysosome (Ly) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

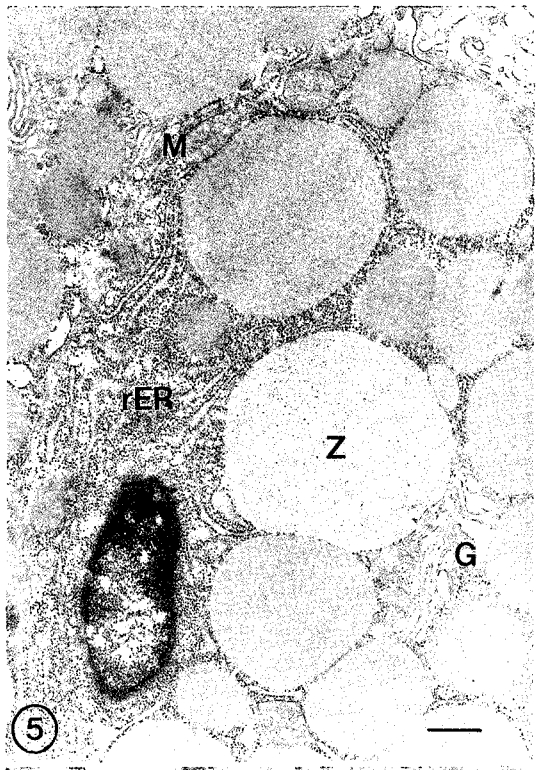
Fig. 9. An electron micrograph of chief cell, 48 hours of adriamycin administered rat with SOD treatment. Dilated, fragmented and sacculated cisternae of endoplasmic reticulum (rER), Golgi complex (G) with dilated saccules, lysosomes (Ly) and mitochondria (M) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 10. An electron micrograph of chief cell, 72 hours of adriamycin administered rat. Dilated, fragmented and sacculated cisternae and markedly dilated and ribosome detached cisternae of endoplasmic reticulum (rER) clumped chromation around nuclear envelope. Golgi complex (G) with irregular shaped dilated saccules mitochondria (M) with electron lucent matrix and loss of cristae and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

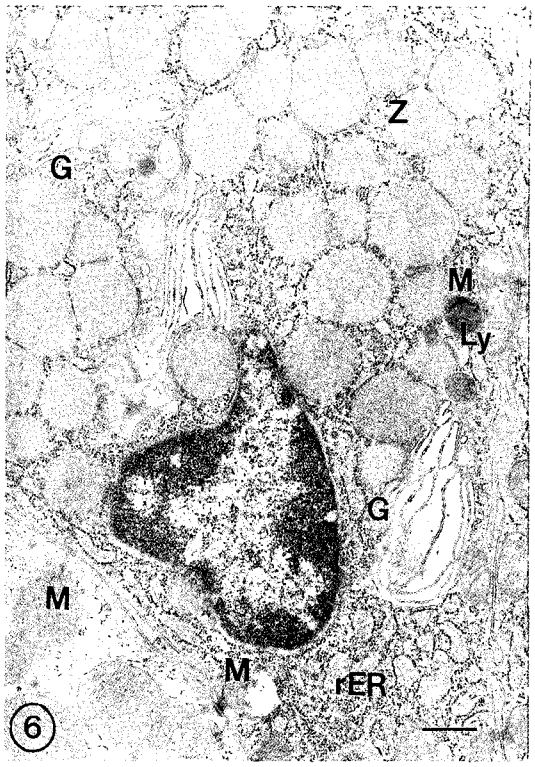
Fig. 11. An electron micrograph of chief cell, 72 hours of adriamycin administered rat with DMTU treatment. Dilated, fragmented, sacculated and ribosome detached cisternae of endoplasmic reticulum (rER), Golgi complex (G) with dilated saccules, mitochondria (M) with electron lucent matrix, loss of cristae, ruptured double membrane and containing of small myelinosome body, lysosome (Ly) and zymogen granules (Z) are seen. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

Fig. 12. An electron micrograph of chief cell, 72 hours of adriamycin administered rat with SOD treatment. Fragmented and sacculated cisternae of endoplasmic reticulum (rER). Golgi complex (G) with dilated saccules, mitochondria (M) with electron lucent matrix, lysosome (Ly) and zymogen granules (Z) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 1 μm.

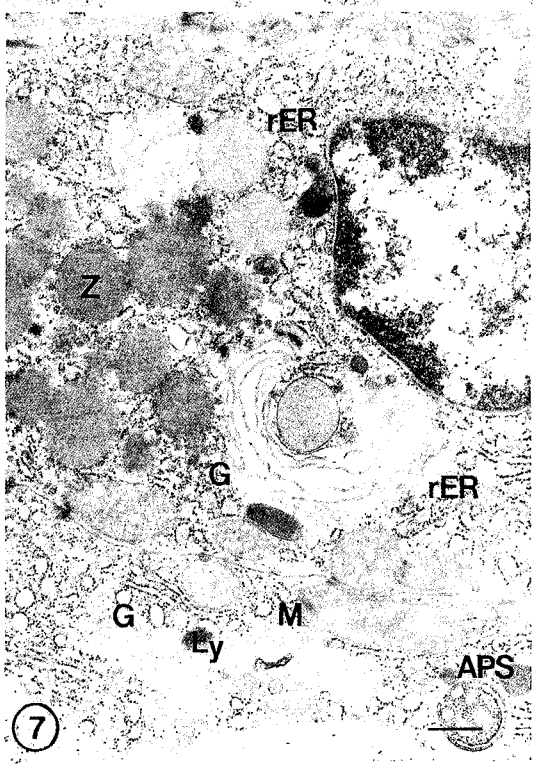

G
M
rER
Z
1
M
G
Z
rER
2
rER
Z
G
Z
G
3
G
Z
G
V
Ly
rER
M
4



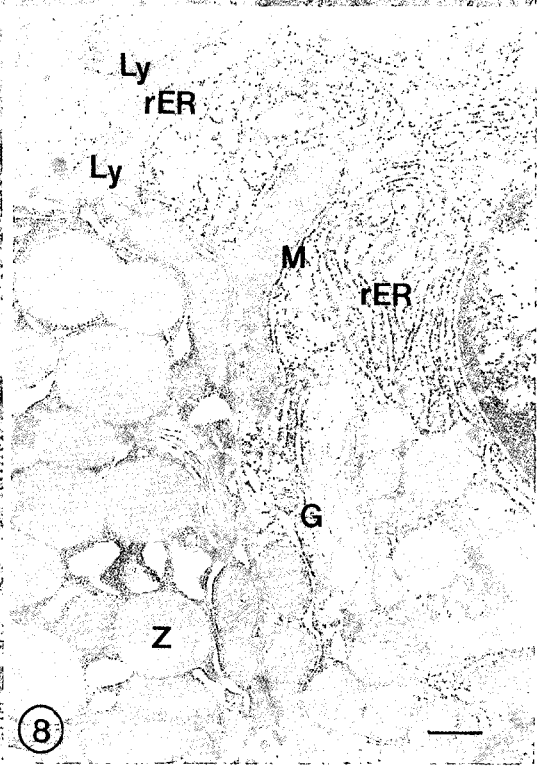
⑤



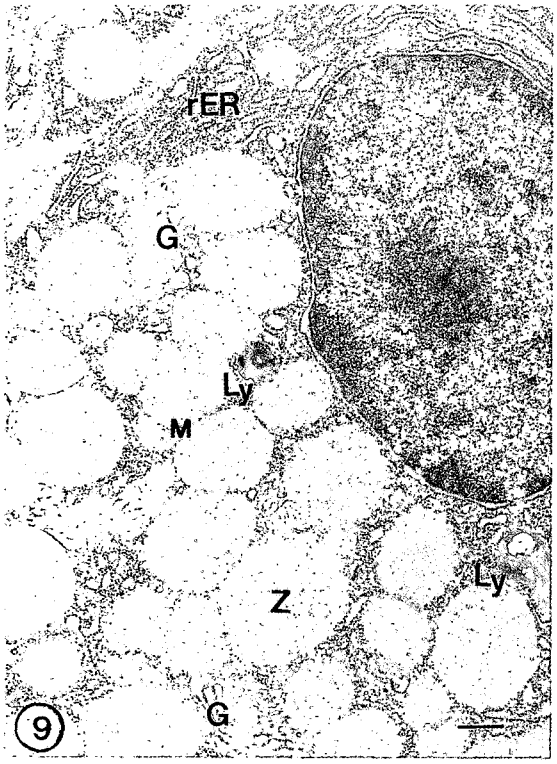
⑥

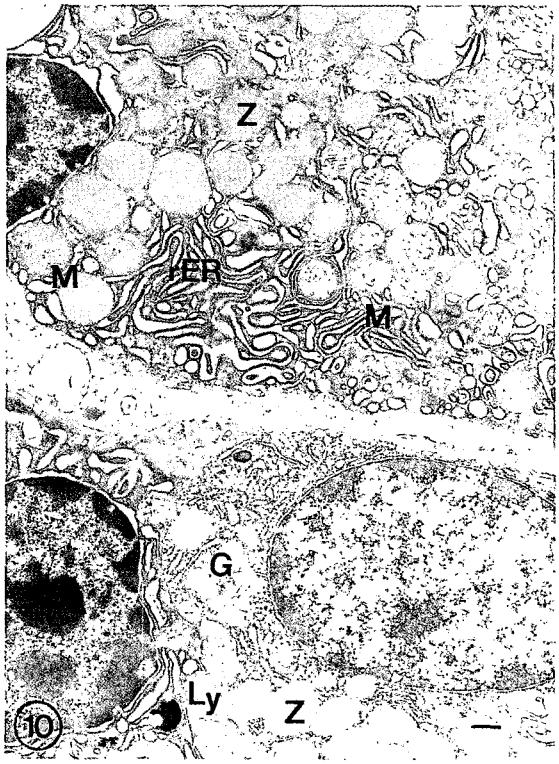


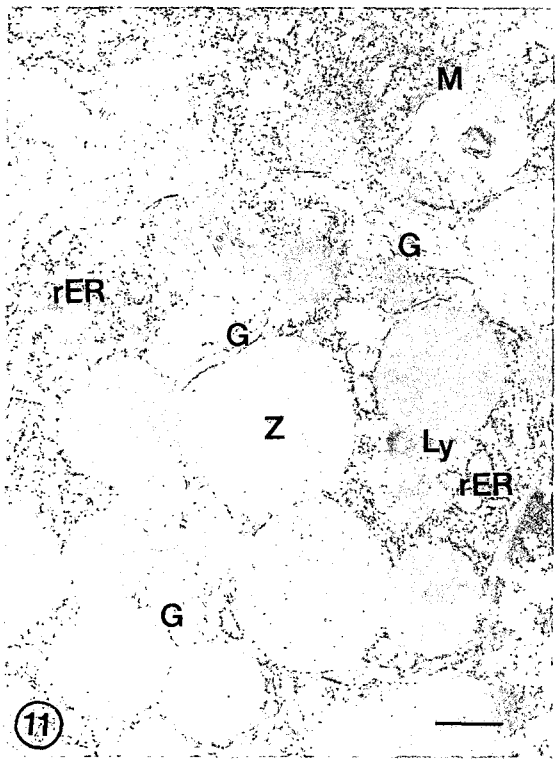
⑦

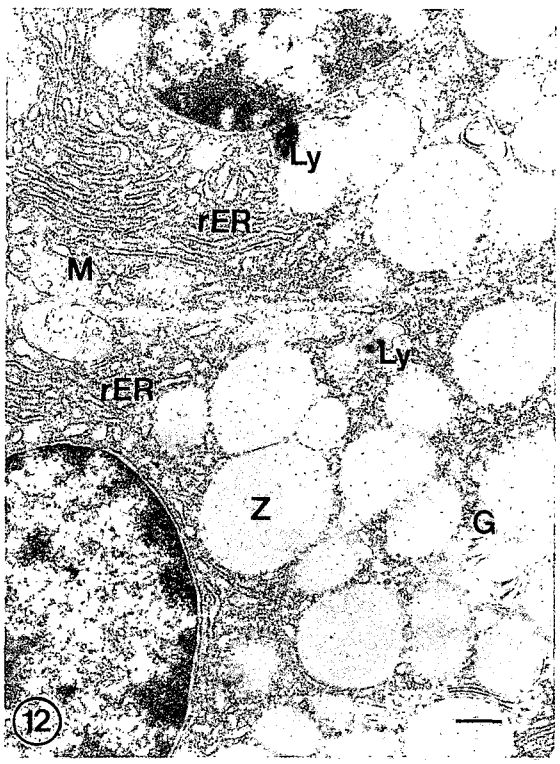


⑧


rER
G
Ly
M
Z
Ly
G
9


Z
M
rER
M
G
Ly
Z
10


M
G
rER
G
Z
Ly
rER
G
11


Ly
rER
M
Ly
rER
Z
G
12