MECHANISM OF CHANGES IN CARDIAC MYOFILAMENT ACTIVATION IN OVARIECTOMIZED RATS WITH DIABETIC COMPLICATION

ARIYAPORN THAWORNKAIWONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHYSIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2008

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

กลไกการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเส้นใยกล้ามเนื้อหัวใจในหนูตัดรังไข่ที่เป็นเบาหวาน
(MECHANISM OF CHANGES IN CARDIAC MYOFILAMENT ACTIVATION IN OVARIECTOMIZED RATS WITH DIABETIC COMPLICATION)

อริยพร ถาวรไกรวงศ์ 4436910 SCPS/D

ปร.ด. (สรีรวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: จงกลณี วัฒนาเพิ่มพูล Ph.D. (Physiology & Biophysics), นทีทิพย์ กฤษณามระ ปร.ด. (สรีรวิทยา), สุวรรณเกรียติ สว่างคุณ Ph.D. (Physiology)

บทคัดย่อ

การศึกษาของห้องปฏิบัติการเราได้พบแล้วว่าเอสโตรเจนมีผลควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ แต่กลไกยังไม่เป็นที่ทราบชัด จากผลกระทบร่วมของเอสโตรเจนและอินซูลินต่อหัวใจ จึงใช้ภาวะเบาหวานเพื่อรบกวนผลของเอสโตรเจนในการควบคุมการทำงานของเส้นใยกล้ามเนื้อ เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของค่าปฏิกิริยาการหดตัวที่ปริมาณแคลเซียมระดับต่างๆ ของหนูกลุ่มควบคุม กลุ่มตัดรังไข่ที่เป็นหรือไม่เป็นเบาหวาน และกลุ่มตัดรังไข่เป็นเบาหวานร่วมแล้วให้ฮอร์โมนทดแทน พบการลดลงที่เท่ากันของค่าปฏิกิริยาการหดตัวสูงสุดของเส้นใยกล้ามเนื้อในหนูตัดรังไข่ หนูเบาหวาน และหนูตัดรังไข่เป็นเบาหวานร่วม ส่วนความไวต่อการกระตุ้นของแคลเซียมพบสูงขึ้นจำเพาะในหนูตัดรังไข่แม้เมื่อเป็นเบาหวานร่วม และมีการเพิ่มจำนวนเบต้าอะดรีเนอร์จิกรีเซพเตอร์ที่หัวใจในลักษณะจำเพาะทำนองเดียวกัน แต่การเปลี่ยนแปลงค่าปฏิกิริยาการหดตัวสูงสุดพบสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณของฮีทช็อคโปรตีน72

เมื่อศึกษาผลของเอสโตรเจนต่อจลนศาสตร์การหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อหัวใจโดยการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างค่าปฏิกิริยาการหดตัวสูงสุดกับปริมาณแอลฟาไมโอซินเฮฟวีเชนในหนูกลุ่มตัดรังไข่ หนูเบาหวาน และหนูตัดรังไข่เป็นเบาหวานร่วม ที่มีปริมาณแอลฟาไมโอซินเฮฟวีเชนแตกต่างกันจากการเพิ่ม/ลดปริมาณไทรอยด์ฮอร์โมน พบความสัมพันธ์แบบเส้นตรงในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวาน แต่ความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งในหนูตัดรังไข่ ซึ่งแสดงถึงอิทธิพลของแอลฟาไมโอซินเฮฟวีเชนเพียงอย่างเดียวสำหรับหนูเบาหวานในการควบคุมปฏิกิริยาการหดตัวสูงสุดของเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่มีผลกระทบเพิ่มจากการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อสำหรับหนูตัดรังไข่ ผลกระทบเพิ่มของเอสโตรเจนที่เส้นใยกล้ามเนื้อนี้น่าจะเป็นกลไกหนึ่งที่รองรับการปรับเปลี่ยนความไวของเส้นใยกล้ามเนื้อต่อการกระตุ้นของแคลเซียม เมื่อศึกษาความเกี่ยวข้องของการเก็บกลับแคลเซียมโดยซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม พบว่าหนูตัดรังไข่ หนูเบาหวาน และหนูตัดรังไข่เป็นเบาหวานร่วม ล้วนมีค่าปฏิกิริยาสูงสุดในการดึงเก็บแคลเซียมเข้าซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม และจำนวนของโปรตีนซาร์โคพลาสมิกเรทิคูลัมเอทีพีเอสลดลงแต่ความไวเพิ่มขึ้นเท่ากันในทุกกลุ่ม ดังนั้นการเก็บกลับแคลเซียมโดยซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมมีส่วนเกี่ยวข้องน้อยหรือแทบไม่มีต่อการปรับเปลี่ยนความไวของเส้นใยกล้ามเนื้อต่อการกระตุ้นของแคลเซียม

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าเอสโตเจนควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ที่ปริมาณของเบต้าอะดรีเนอจิกรีเซพเตอร์ ฮีตช็อคโปรตีน72 ไมโอซินเฮฟวีเชน และโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งอิทธิพลต่อเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นส่วนหนึ่งของกลไกการปรับเปลี่ยนความไวของเส้นใยกล้ามเนื้อต่อแคลเซียมโดยไม่มีหรือมีส่วนร่วมน้อยจากการเก็บกลับแคลเซียมโดยซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม

146 หน้า

Copyright by Mahidol University

MECHANISM OF CHANGES IN CARDIAC MYOFILAMENT ACTIVATION IN OVARIECTOMIZED RATS WITH DIABETIC COMPLICATION

ARIYAPORN THAWORNKAIWONG 4436910 SCPS/D

Ph.D. (PHYSIOLOGY)

THESIS ADVISORS: JONGGONNEE WATTANAPERMPOOL, Ph.D., NATEETIP KRISHNAMRA, Ph.D., SUWANNAKIET SAWANGKOON, Ph.D.

ABSTRACT

The cardio-protective effect of estrogen (E_2) on the myofilament activation has been reported from our laboratory in a series of experiments. However, the underlying mechanisms are still unclear. Based on the possible interactive action of E_2 and insulin (INS) on cardiac myofilament activation, diabetes (DM) was then used as an approach in this study to challenge the regulatory effect of E_2 on myofilament response to Ca^{2+}. The relationships of pCa-myofilament ATPase activity were compared among sham, ovariectomized (OVX) rats with and without DM complication, and DM-OVX rats with E_2 and/or INS supplementation. The same magnitude of suppression in maximum myofilament ATPase activity was confirmed in OVX, DM and DM-OVX rats, and was restored by supplementation with E_2, INS and coadministration of E_2 and INS, respectively. Specific induction in myofilament Ca^{2+} hypersensitivity after E_2 deficiency was further confirmed in DM-OVX rats in which could be reversed by E_2 supplementation. Additionally, upregulation of β_1-adrenoceptors (β_1-AR) was found to be associated with the myofilament Ca^{2+} hypersensitivity in E_2-deficient groups. Conversely, changes in the heat shock protein 72 (HSP72) paralleled that of maximum myofibrillar ATPase activity.

The cardio-regulatory effect of E_2 on crossbridge (CB) cycling kinetics of the contractile activation was further analyzed. Relations of maximum myofilament ATPase activity and the % α-myosin heavy chain (MHC) were compared among OVX, DM and DM-OVX groups using thyroid hormone or propyl thiouracil (PTU) in inducing varying range of α-MHC. While linear relations with the same slope were detected in DM and DM-OVX groups, a concave relation was observed in OVX groups. These results indicated that maximum myofilament ATPase activity was solely determined by α-MHC in DM rats but also other contractile modifications in E_2-deficient group. Moreover, the effect of E_2 on the contractile modifications may, in part, underlie the induction of cardiac myofilament Ca^{2+} sensitivity. The mechanistic role of E_2 in affecting myofilament Ca^{2+} sensitivity was further studied by evaluating effects of E_2 deficiency with DM complication on the intracellular Ca^{2+} handling by sarcoplasmic reticulum (SR). A similar magnitude of suppression in maximum SR Ca^{2+} uptake and SR Ca^{2+}-ATPase (SERCA2a) activities with increased sensitivity was clearly demonstrated in OVX, DM, and DM-OVX rats. Immunoblot analysis also showed the same degree of reduction in SERCA proteins in these rats. All changes were abolished by E_2 and/or INS supplementation. Thus, there was no or less contribution of the SR Ca^{2+} uptake function in affecting myofilament Ca^{2+} sensitivity.

The whole series of results indicated that E_2 affects the cardiac myofilament Ca^{2+} activation through changes in protein expressions of β_1-AR, HSP72, MHC and modifications of the contractile proteins. It is the contractile proteins modification that contributes to an induction in the myofilament Ca^{2+} hypersensitivity with less or no contribution of SR Ca^{2+} uptake function.

KEY WORDS: CARDIAC CONTRACTILE ACTIVATION/ ESTROGEN/ INSULIN/ β_1-ADRENOCEPTORS/ HEAT SHOCK PROTEIN 72/ MYOSIN HEAVY CHAIN ISOFORM/ SERCA2a

146 pp.

Copyright by Mahidol University