

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG 4880155
ชื่อโครงการ : อิทธิพลของ อายุ เพศ และการออกกำลังกาย ต่อการแสดงออกของ parvalbumin ในหัวใจหนู
ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร. อูราพร วงศ์วัชรานนท์ และ คณะ ฯ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
E-mail Address : uraporn.v@psu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี

เรื่อง ความสัมพันธ์ของอายุกับการแสดงออกของ parvalbumin ภายในหัวใจหนูขาวใหญ่เพศเมีย

การศึกษาในครั้งนี้ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของ parvalbumin (PV) ในช่วงการพัฒนาของหัวใจภายหลังคลอด ว่ามีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหัวใจหรือไม่ โดยนำหัวใจหนูสายพันธุ์ Wistar แรกเกิด อายุ 3 เดือน (วัยเด็ก) 6 เดือน (วัยก่อนวัยหนุ่มสาว) และ 12 เดือน (วัยหนุ่มสาว) มาศึกษาโดยใช้เทคนิค immunohistochemistry และ Western blot จากการศึกษาโดยใช้ทั้ง 2 เทคนิคพบ PV ในหัวใจหนูทุกช่วงอายุตั้งแต่แรกเกิดไปจนถึง 12 เดือน แต่พบว่าการแสดงออกของ PV ในหัวใจน้อยกว่าอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับในกลุ่มเนื้อลาย extensor digitorum longus (EDL) พบปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV ในกล้ามเนื้อหัวใจหนูแรกเกิดบรรจุอยู่ไม่เต็มภายในไซโตพลาสซึม และการแสดงออกของ PV น้อย (60.14 ± 9.98 %) เมื่อเทียบกับในกลุ่มอื่นๆ ที่พบปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV มีความเข้มมากและบรรจุอยู่เต็มภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจทุกเซลล์ การแสดงออกของ PV เพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้น คือ 3 เดือน (76.90 ± 9.75 %) 6 เดือน (86.60 ± 10.69 %) และ 12 เดือน (100%) ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นการแสดงออกของ PV ที่เพิ่มขึ้นตามอายุ (จากแรกเกิดถึง 12 เดือน) ซึ่งอาจจะสัมพันธ์กับการปรับให้เกิดความเหมาะสมในการคลายตัวของหัวใจตาม การเพิ่มขึ้นของการทำงานของหัวใจ ในช่วงที่ร่างกายมีการเจริญเติบโต

คำหลัก หัวใจหนูเพศเมีย parvalbumin, calcium binding protein, ความสัมพันธ์ของอายุ พัฒนาการหลังคลอด immunohistochemistry, Western blot

Abstract

Project Code : MRG 4880155
Project Title : Influences of sex aging and exercise on the expression of parvalbumin in rat hearts
Investigator : Assit. Prof. Dr. Uraporn Vongvatcharanon et al.
Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University
E-mail Address: uraporn.v@psu.ac.th
Project Period : 3 years

Age-related expressions of parvalbumin in the female rat heart

Changes of parvalbumin (PV) expressions during the postnatal development of the female rat heart were investigated in order to determine if they correlated with the age-related changes of the heart function. Newborn, 3-month (young), 6-month (young adult) and 12-month (adult) female Wistar rat's heart were processed for immunohistochemistry and Western blotting assay. PV was detected, by both methods, in all age groups from newborn to 12-month old rats but was very low compared to that in EDL fibers. However, in the newborn rat heart, PV immunoreactivity did not fully fill the cytoplasm of the cardiac myocytes and the PV expression was low ($60.14 \pm 9.98\%$) compared to the adult level. In contrast with 3-month to 12-month animals, strong PV immunoreactivity was detected throughout the cytoplasm of all cardiac myocytes and the expression of PV increased with increasing age: 3-month ($76.90 \pm 9.75\%$), 6-month ($86.60 \pm 10.69\%$) and 12-month (100%). Our study indicates that an increase of PV in the female rat heart with increasing age (from newborn to adult) may be associated with maintaining proper relaxation of the cardiac myocytes that is needed to cope with an increasing workload of the heart during body growth.

Keywords: Female rat heart; Parvalbumin; Calcium-binding protein; Age-related postnatal development; Immunohistochemistry; Western blotting

บทคัดย่อ

เรื่อง อิทธิพลของการชราภาพและการว่ายน้ำเป็นระยะเวลานาน ต่อการแสดงออกของ parvalbumin ภายในหัวใจหนูขาวใหญ่

Parvalbumin (PV) เป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็ก พบอยู่ภายในไซโทพลาสซึม มีความสามารถจับกับแคลเซียม และสามารถชักนำให้กล้ามเนื้อหัวใจเกิดการคลายตัวได้ การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของปัจจัย การชราภาพและการออกกำลังกายต่อการแสดงออกของ PV ภายในหัวใจหนู โดยหนูสายพันธุ์ Wistar อายุ 3, 6, 12 และ 18 เดือน จะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่กลุ่มที่ไม่ได้ออกกำลังกาย (S) และกลุ่มออกกำลังกาย (E) โดยกลุ่มออกกำลังกายจะถูกฝึกให้ว่ายน้ำเป็นเวลา 6 เดือน หลังจากนั้นนำหัวใจหนูทั้ง 2 กลุ่มมาศึกษาโดยใช้เทคนิค immunohistochemistry และ Western blot ผลการศึกษาพบว่า หัวใจหนูอายุ 9 และ 12 เดือน มีปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV เข้มมาก ในขณะที่หัวใจหนูอายุ 18 เดือน มีปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV ลดลง และหัวใจหนูกลุ่มอายุ 24 เดือน มีปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV น้อยที่สุด การแสดงออกของ PV ไม่แตกต่างกันในหัวใจหนูอายุ 9 เดือน (62.35 ± 16.33) และ 12 เดือน (67.67 ± 15.12) ในขณะที่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของการแสดงออกของ PV ในหัวใจหนูอายุ 18 เดือน (49.05 ± 11.98) และ 24 เดือน (45.67 ± 4.64) เมื่อเทียบกับหัวใจหนูอายุ 12 เดือน ($p < 0.05$) การแสดงออกของ PV ไม่แตกต่างกันในหัวใจหนูอายุ 18 และ 24 เดือน หัวใจหนูกลุ่มออกกำลังกาย อายุ 9, 12 และ 18 เดือน มีความเข้มของปฏิกิริยาอิมมูโนของ PV เพิ่มขึ้น และพบการแสดงออกของ PV เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (9 เดือน S = 62.35 ± 16.33 , E = 83.20 ± 7.41 ; 12 เดือน S = 67.67 ± 15.12 , E = 87.46 ± 15.47 ; $p < 0.05$; 18 เดือน S = 49.05 ± 11.98 , E = 82.01 ± 21.11 ; $P < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ออกกำลังกายอายุเดียวกัน ในขณะที่กลุ่มอายุ 24 เดือน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการแสดงออกของ PV ระหว่างกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มที่ไม่ได้ออกกำลังกาย จากการศึกษาเสนอแนะว่าการแสดงออกของ PV ลดลงในหัวใจหนูวัยชรา ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้อาจจะนำไปอธิบายถึงการบดบังของการคลายตัวของหัวใจซึ่งพบมากในผู้สูงอายุ นอกจากนี้ผลการศึกษาเสนอแนะว่า การออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำเป็นระยะเวลานานสามารถชักนำให้การแสดงออกของ PV เพิ่มขึ้น ซึ่งข้อมูลนี้อาจจะนำไปอธิบายถึงกลไกพื้นฐานของการออกกำลังกายที่ทำให้การคลายตัวของหัวใจดีขึ้น

คำหลัก วัยชรา, ว่ายน้ำ, parvalbumin, calcium binding protein, immunohistochemistry, Western blot

Abstract

Influences of aging and long-term swimming exercise on the expression of parvalbumin in rat hearts

Parvalbumin (PV), a small (12 kDa) cytoplasmic calcium binding protein, has been implicated in mediating relaxation in cardiac myocytes. The influence of aging and exercise on the expression of PV in rat heart was investigated. Male Wistar rats at each of the following ages: 3, 6, 12 and 18-months were divided into sedentary and exercise groups. The exercise group had been trained to swim for 6 months. The hearts were processed for immunohistochemistry and Western blotting. The intensity of PV immunoreactivity (PV-ir) was strong in the 9 and 12-month hearts and decreased in the 18-month hearts. The smallest amount was in the 24-month rat heart when compared to those of the 9,12 and 18 month rat hearts. The expression of PV was not significantly different between the 9-month (62.35 ± 16.33) and 12-month hearts (67.67 ± 15.12). A significant decrease of PV expression was found at 18-months (49.05 ± 11.98) and 24-months (45.67 ± 4.64) compared to that of the 12-month rat heart ($P < 0.05$). No significant difference of PV expression was observed in the 18-month and 24-month rat hearts. The intensity of PV-ir was obviously stronger in the 9-month, 12-month and 18-month exercised rat hearts than those of the sedentary rat heart whereas, in the 24-month rat heart, PV-ir was slightly stronger in the exercised rat heart than that of the sedentary rat heart. A significant increase of PV expression was identified in the exercised rat heart compared to those of the sedentary rat heart in the 9-month (S= 62.35 ± 16.33 , E = 83.20 ± 7.41),12-month (S= 67.67 ± 15.12 , E= 87.46 ± 15.47) ($P < 0.05$) and 18-month samples (S= 49.05 ± 11.98 , E= 82.01 ± 21.11) ($P < 0.01$). No significant difference of PV expression was found in the 24-month sedentary and exercised rat hearts. Our data indicate that PV expression is down regulated in rat heart during aging. This may explain the diastolic dysfunction which has been predominantly found in the elderly. In addition, our data indicate that long-term swimming exercise could induce an increase of PV expression and this may explain the fundamental mechanism of exercise on improving the aging-induced decrease in cardiac myocyte relaxation.

Keywords: aging, swimming, parvalbumin, calcium binding protein, immunohistochemistry, Western blot

Executive Summary

โรคหัวใจล้มเหลวชนิดไดแอสโตลิก (Diastolic heart failure) เป็นโรคที่มีอันตรายร้ายแรงถึงชีวิตและยังไม่มีแนวทางในการป้องกันหรือรักษา เป็นโรคที่พบบ่อยในผู้สูงอายุและโดยเฉพาะเพศหญิงพบได้มากกว่าเพศชาย เนื่องจากโรคหัวใจชนิดดังกล่าวเกิดจากความบกพร่องของการคลายตัวของหัวใจ จึงนำมาสู่ความสนใจที่จะศึกษาโปรตีน parvalbumin (PV) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบอยู่ภายในกล้ามเนื้อหัวใจ และได้มีการเสนอแนะว่าน่าจะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ PV จึงน่าจะส่งผลกระทบต่อความสามารถในการคลายตัวของหัวใจ จึงนำมาสู่ความสนใจที่จะศึกษาถึงปัจจัยต่างๆที่อาจจะมีผลต่อการแสดงออกของ PV ได้แก่ เพศ อายุ และการออกกำลังกาย สำหรับปัจจัยทางด้านเพศนั้น ได้ศึกษาการแสดงออกของ PV ในหัวใจหนูเพศเมีย ตั้งแต่แรกเกิด 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน พบว่าการแสดงออกของ PV เพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่าจะเป็นสัมพันธ์กับการปรับให้หัวใจมีการคลายตัวที่เหมาะสมกับการเพิ่มขึ้นของการทำงานของหัวใจ ในช่วงที่ร่างกายมีการเจริญเติบโต ส่วนปัจจัยทางด้านอายุนั้นได้ศึกษาการแสดงออกของ PV ในหัวใจหนูเพศผู้ตั้งแต่วัยหนุ่มสาวไปจนถึงวัยชรา (9 เดือน 12 เดือน 18 เดือน และ 24 เดือน) โดยใช้เทคนิคเดียวกันกับการศึกษาปัจจัยทางด้านเพศพบว่า การแสดงออกของ PV ลดลงในหนูวัยชรา ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ อาจจะนำไปอธิบายถึงการบกพร่องของการคลายตัวของหัวใจซึ่งพบบ่อยในผู้สูงอายุ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงปัจจัยทางด้าน การออกกำลังกาย โดยเลือกศึกษาการว่ายน้ำแบบเป็นระยะเวลาสั้นและใช้เทคนิคเดียวกันกับการศึกษาปัจจัยทางด้านเพศและอายุ ผลจากการศึกษาพบว่าหนูวัยหนุ่มสาวสามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่ม การแสดงออกของ PV ได้ดีกว่าการว่ายน้ำในวัยชรา ผลของการว่ายน้ำในการทำให้การแสดงออกของ PV เพิ่มขึ้นนั้น อาจนำไปอธิบายถึงกลไกพื้นฐานของการออกกำลังกายในการทำให้การคลายตัวของหัวใจดีขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและรักษาโรคหัวใจล้มเหลวชนิดไดแอสโตลิกในอนาคต