

Project Code : PDF15/43

Project Title : การศึกษาบทบาทของเอนไซม์ ชนิดหัวใจในการนำพลังงานกลับมาใช้และการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจหนูที่เพาะเลี้ยงขึ้น

Investigator : กรรณิกา เสริมสุวิทยวงศ์ (Kannika Sermsovitayawong)

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

E-mail Address : kannikasermso@yahoo.com

Project Period : since Jul 2000 (2 years extended)

Keywords : Adenosine, Early hypoxia, Reperfusion injury, High glucose, Apoptosis, Expression

Title for publication: Endogenous adenosinergic effect in cardiac protection under high glucose after early hypoxic reperfusion injury

Sermsovitayawong K¹, Wilairat P².

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

²Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University

Abstract

Worsen prognosis and high prevalence of death is often found in nondiabetic MI patients with stress hyperglycemia during onset of infarction. Adenosine triggers the intracellular signaling that inhibits apoptotic process in both preconditioning and postconditioning conditions. Whether either adenosine signaling or adenosine metabolism regulates the protective pathway in the model of hyperglycemic hypoxia remains unclear.

Method Mimicry to infarct model with hyperglycemia, the system was established by culture of cardiac myoblasts in the presence of high glucose and very low O₂ tension in a closed chamber. Reperfusion injury of H9C2 cardiac myoblast rescued by medium with serum was assayed. Role of either adenosine metabolism or adenosine triggering have been evaluated by use of either adenosine or non-selective antagonist for adenosine receptor, theophylline and analyses of DNA fragmentation and transcript levels.

Result Reduction of LDH release confirmed the prevention of cardiac necrosis by new medium. The antagonist for adenosine receptor inhibits anti-apoptotic process by new medium as shown by the lower number of fragmented DNA. As expected, the prolong treatment of adenosine during reperfusion period did not prevent apoptosis as shown by a similar pattern of DNA fragmentation. Comparison of RNA analyses of H9C2 cells after rescue demonstrated the high level of up-regulated genes of ADGL, ENT2, Bax, Nix, and HIF1- β . Bnip3 and Nix, but

not Bax, were activated when post-treated with theophylline. Further expression analysis confirmed the involvement of adenosine signaling and adenosine metabolism to this rescued mechanism for inhibition of apoptosis.

Conclusion The obtained data from this study suggested that adenosine signaling appears to be the active cardio-protective mechanism from Bax independent cardiac apoptosis after hyperglycemic hypoxia-reperfusion.

หัวเรื่องเพื่อการเผยแพร่ : การศึกษาวิเคราะห์กลไกของอะดีโนซีนภายในเซลล์ในการป้องกันเซลล์หัวใจในสภาวะที่มีระดับของกลูโคสสูงจากการทำลายโดยออกซิเจนที่ไหลเวียนกลับหลังการขาดออกซิเจนระยะต้น

กรรณิกา เสริมสุวิทยวงศ์¹ ประพนธ์ วิไลรัตน์²

¹ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

²ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือดที่ไม่มีโรคเบาหวานร่วมแต่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงจากภาวะเครียดขณะที่มีอาการหัวใจขาดเลือดมักมีการพยากรณ์ของอาการของโรคที่ไม่ดีและมีอัตราการตายสูง adenosine กระตุ้นสัญญาณภายในเซลล์หัวใจเพื่อป้องกันการตายแบบ apoptosis ของเซลล์ทั้งก่อนและหลังกระบวนการไหลเวียนกลับของเลือดหลังการขาดเลือด อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลชัดเจนเกี่ยวกับการส่งสัญญาณของ adenosine ในเซลล์หรือระบบเมแทบอลิซึมของ adenosine ว่ามีผลต่อกลไกการต้านการตายแบบ apoptosis ของหัวใจในผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือดที่มีภาวะที่มีกลูโคสในเลือดสูงหรือไม่

การดำเนินการวิจัย เซลล์ตัวอ่อนของเซลล์หัวใจ (H9C2) ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีระดับของกลูโคสที่สูงและมีระดับออกซิเจนต่ำมากในระบบปิดและทำการตรวจสอบการช่วยชีวิตเซลล์ หลังการเลี้ยงในระบบได้รับออกซิเจนกลับไปใหม่โดยการทดแทนด้วยอาหารใหม่ที่มีซีรัมได้มีการศึกษาบทบาทของการส่งสัญญาณของ adenosine ในเซลล์หรือระบบเมแทบอลิซึมของ adenosine โดยใช้ทั้ง adenosine และ/หรือตัวยับยั้งตัวรับ adenosine แบบไม่เจาะจง (theophylline) และประเมินระดับ DNA fragmentation และระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง

ผลการทดลอง การลดระดับการหลั่งเอนไซม์ LDH ยืนยันการป้องกันการตายของเซลล์แบบ necrosis โดยการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงใหม่ ตัวยับยั้งตัวรับ adenosine แบบไม่เจาะจงยับยั้งกลไกการ

ด้านการตายของเซลล์โดยการทดแทนด้วยอาหารใหม่โดยการเพิ่มปริมาณของ DNA fragment เป็นไปตามที่คาดการณ์ว่าการบ่มเซลล์ด้วย adenosine ในระยะยาวไม่ป้องกันการตายแบบ apoptosis ในการเปรียบเทียบปริมาณระดับการแสดงออกของยีนต่างๆ กับยีนควบคุมในเซลล์ที่บ่มในที่มีระดับออกซิเจนต่ำมากและได้รับออกซิเจนกลับไปใหม่โดยการทดแทนด้วยอาหารใหม่พบว่า ยีนของ ADSL ENT2 Bax Nix และ HIF1- β มีระดับการแสดงออกสูงมากเมื่อเทียบกับเซลล์ที่เลี้ยงในระบบที่มีออกซิเจนปกติ เมื่อให้ theophylline กับเซลล์ที่ได้รับออกซิเจนกลับไปใหม่พบว่า Bnip3 และ Nix มีการแสดงออกของยีนเพิ่มเติมไม่พบปรากฏการณ์นี้กับ Bax การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนเพิ่มเติมยืนยันความเกี่ยวข้องของการส่งสัญญาณของ adenosine ในเซลล์หรือระบบเมแทบอลิซึมของ adenosine ในการช่วยเซลล์อยู่ในสภาวะที่มีระดับของกลูโคสจากการบาดเจ็บหลังได้รับออกซิเจนกลับไปใหม่

สรุป ผลการวิจัยนำไปสู่ข้อเสนอแนะว่า การทำงานของ adenosine ในเซลล์เป็นกลไกที่ทำงานในการป้องกันเซลล์หัวใจที่อยู่ในสภาวะที่มีระดับของกลูโคสสูงจากการตายของเซลล์ชนิดไม่ผ่านกลไกของ Bax และการบาดเจ็บหลังได้รับออกซิเจนกลับไปใหม่