

压力超负荷性心肌肥厚大鼠心肌细胞核钙转运的改变

刘 健¹, 何作云¹, 王培勇²

(1. 第三军医大学新桥医院心内科; 2. 第三军医大学病理生理教研室, 重庆 400037)

摘要:通过腹主动脉缩窄(abdominal aortic coarctation, AAC)心肌肥厚大鼠模型制备、差速离心提纯心肌细胞核、酶学方法测定 Ca^{2+} -ATPase 活性、 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 同位素法测定核钙摄取和荧光分光光度计测定细胞核内自由钙浓度,初步揭示压力超负荷心肌肥厚大鼠心肌细胞核钙转运异常的环节。结果发现:心肌细胞核上存在具有 $[\text{Ca}^{2+}]$ 和 ATP 依赖性的高亲和力 Ca^{2+} -ATPase,以 $[\text{Ca}^{2+}]$ 依赖的方式摄取 $^{45}\text{Ca}^{2+}$,并呈先升高后降低趋势。AAC 术后 4 周大鼠心肌显著肥厚,伴有明显的血流动力学异常,与对照组比较, AAC 大鼠心肌细胞核 Ca^{2+} -ATPase 活性减少 51.93% ($p < 0.001$),但核 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄入量(核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 浓度为 800-1600 nmol/L 时)和核内 $[\text{Ca}^{2+}]$ (核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 浓度为 0-1000 nmol/L 时)均明显增加 ($p < 0.05$);正常组离体心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取受 PKA 刺激 ($p < 0.05$),而被 PKC 抑制剂和 CaM 抑制剂显著抑制 ($p < 0.05$), AAC 大鼠心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取仅受 CaM 抑制剂抑制 ($p < 0.01$),而 PKA 和 PKC 抑制剂对其无明显影响 ($p > 0.05$)。结论为心肌肥厚时,心肌细胞核 Ca^{2+} 转运系统及其磷酸化调节可能发生改变。

关键词:心肌肥厚;细胞核; Ca^{2+} -ATPase; 钙摄取

中图分类号: Q735

文献标识码: A

文章编号: 1000-6737(2002)01-0033-06

近年来研究证明,心肌肥厚发生过程中,心肌细胞核功能发生严重紊乱,基因表达发生重调,表现为胚胎型基因上调,成熟型基因下调。而 Ca^{2+} 是细胞内重要的第二信使,参与许多生命过程的调节。胞浆游离钙 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 调节细胞功能、物质代谢、分泌、舒缩活动,细胞核 Ca^{2+} 调节基因转录表达、细胞增殖、分化等核功能^[1]。有研究发现,某些病理情况下,心肌细胞核钙转运发生严重紊乱^[2],推测心肌肥厚过程中始于细胞膜的肥大信号到心肌细胞核基因表达重排分子机制可能也与细胞核钙调节有关,但细胞核的钙转运在其发生中的变化目前尚缺乏研究。本工作拟采用分离纯化的大鼠心肌细胞核,观察压力超负荷性心肌肥厚心肌细胞核的钙转运和钙泵活性变化,从而揭示心肌重塑时心肌细胞核钙转运异常的环节。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

健康雄性 Wistar 大鼠由本校试验动物中心提供, ATPN₂、EGTA、Dithiothreitol (DTT)、Phenylmethylsulfonyl Fluoride (PMSF)、PKA、PKC 抑制剂 bisindolylmaleimide 和钙调素抑制剂 calmidazolium 以及标志酶测定试剂购自 Sigma 公司, Pepstatin A、leupeptin、Aprotinin 购自 Molec-

ular Probes 公司, $^{45}\text{CaCl}_2$ (74 MBq/ml) 为 Amersham 产品。其余试剂均为国产 GR 或 AR 级。

1.2 AAC 模型制备

健康雄性 Wistar 大鼠 (150-180g), 采用 Ohkusa 等^[3]介绍的方法制备 AAC 模型。大鼠常规饲养 4 周。用生理多道仪记录血流动力学指标, 然后取出心脏, 均沿室间隔剔除心房和右心室, 称左心重, 心肌肥大程度以左室重量指数表示。

1.3 心肌细胞核的提纯

按王培勇等介绍的方法^[4]进行。所有操作在 0-4℃ 下进行。酶鉴定排除法确定提纯的心肌细胞核, 其他细胞器标志酶的污染小于 5% (质膜: Na^+ K^+ -ATPase, 内质网: 葡萄糖 6 磷酸酶, 线粒体: 琥珀酸脱氢酶)。采用 Lowry 法行蛋白质定量。用分离纯化的心肌细胞核进行下述实验。

1.4 核 Ca^{2+} -ATPase 活性测定^[2]

反应液为下述成分 (mmol/L): KCl 100.0,

收稿日期: 2001-03-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870347, 39870392)

作者简介: 刘健, 1968 年生, 主治医师、讲师, 博士, 电话: (023) 68755000-74601, E-mail: jiana001@yahoo.com.cn 或 pywang@mail.tmmu.com.cn.

Histidine 50.0, MgCl₂ 5.0, NaN₃ 10.0, pH 7.5, 加入 50 μg 细胞核, 终反应体积为 1.0 ml。反应液中的游离 Ca²⁺ 浓度 4.0 μmol/L, 所需要的 EGTA 和总 [Ca²⁺] 计算, 根据 Chris Patton 的软件 WinMAXC (<http://www.stanford.edu/~cpatton/maxc.html>) 的多元缓冲对确定, 双平行管测定。37°C 预温 5 min 后, 通过加入 ATP 2.0 mmol/L 始动反应, 37°C 孵育反应 10 min。之后加入终止液 (0.812 g/L 孔雀石绿 : 23.2 g/L 聚乙烯醇 : 57.2 g/L 钼酸铵 : 超纯水 = 2 : 1 : 1 : 2) 2.5 ml, 同时加入 3.4% 的柠檬酸钠防止 ATP 分解, 用分光光度计在波长 623 nm 测定无机磷产量。在酶活性与 [Ca²⁺] - 反应关系研究中, ATP 浓度为 2.0 mmol/L。在酶活性与 [ATP] - 反应关系研究中, 游离 Ca²⁺ 浓度为 4.0 mol/L。Ca²⁺ - ATPase 活性为总 ATPase 活性与非钙 ATPase 活性之差。酶活性单位为 μmol/(min · mg)。

1.5 核 ⁴⁵Ca²⁺ 摄取的测定^[5]

反应液为 (mmol/L): Tris/HCl 50.0, 蔗糖 250.0, MgCl₂ 4.0, K₂HPO₄ 4.0, EGTA 2.0, pH 7.0, ATP 2.0, ⁴⁵Ca²⁺ 2.0 μCi/ml, 终反应体积 0.2 ml, 反应均双复管。37°C 预温 5 min 后通过加入 0.1 mg 细胞核, 始动反应, 37°C 孵育 10 min, 迅速在 Millipore 抽滤器上以 0.45 μm 微孔滤膜抽滤, 用预冷的反应液冲洗三次。滤膜干燥后加入闪烁液, 在 β-液闪计数器上测定 ⁴⁵Ca²⁺ 的放射强度。同时做非特异性摄入管, 操作同上, 但反应液中不加 ATP。钙摄取的 [Ca²⁺] 反应关系测定时, 反应液中的 [Ca²⁺] 为 0 - 3.2 μmol/L。核 ⁴⁵Ca²⁺ 转运 = 总摄入 - 非特异摄入, 以 nmol/mg 蛋白质表示。

1.6 蛋白磷酸化对核 ⁴⁵Ca²⁺ 摄取的影响

方法同 1.5 核反应液中加入 PKA 0.1 mg/ml, PKC 抑制剂 bisindolylmaleimide 5 μmol/L 和钙调素抑制剂 calmidazolium 1.0 μmol/L。

1.7 核外 Ca²⁺ 浓度对心肌细胞核钙的影响

提纯的心肌细胞核于 Fluo-4/AM (终浓度为

4 μmol/L) 和 20% 的 F127 (2 μl/ml) 的等渗核保存液 (mmol/L: HEPES 25, KCl 125.0, KH₂PO₄ 2.0, MgCl₂ 4.0, EGTA 1.0, pH 7.0) 中, 室温下负载 30 min, 之后加入 10 倍体积的核保存液离心 (12000 r/min, 5 min) 洗涤, 用滤纸充分吸净离心管的残留液体, 核经洗涤后悬浮于 1.0 ml 含有 ATP 1.0 mmol/L 和不同浓度的自由钙 (0, 1 × 10⁻⁷, 1 × 10⁻⁶, 1 × 10⁻⁵, 1 × 10⁻⁴ 和 1 × 10⁻³ mol/L) 的等渗核保存液中, 在由 FL Winlab 软件控制的 PERKIN ELMER LS-50B 型荧光分光光度计上, 激发波长 494 nm, 发射波长 520 nm 时测定核 [Ca²⁺] 荧光值。均三复管测定。[Ca²⁺] 浓度按下列公式计算:

$$[Ca^{2+}] = K_d [(F - F_{min}) / (F_{max} - F)] \text{ (nmol/L)}$$

K_d 为解离常数 (345 nmol/L), F 为测定的荧光强度, F_{max} 为加入 Ca²⁺ ionophore 4-bromo-A23187 (10⁻⁵ mol/L) 和 CaCl₂ 2.0 mmol/L 后测得的最大荧光强度, F_{min} 为加入 EGTA (5 mmol/L) 后测得的最小荧光强度。

1.8 统计学处理

实验数据以均值 ± 标准差表示 ($\bar{x} \pm s$), 两组比较采用 Welch t 检验, 多组间比较采用方差分析 (one way ANOVA or two way ANOVA) 组间 q 检验。

2 结果

2.1 血流动力学指标

实验组大鼠与对照组大鼠体重无显著差异 (232 ± 4.8 vs 237 ± 0.4 g), AAC 大鼠左室重量指数较对照增加 52.6%, 平均颈总动脉压较对照组高 42.5%, 颈总动脉收缩压增加 44.7%, 颈总动脉舒张压增加 44.8%, 左室收缩末压增加 26.1%, 左室舒张末压减少 58.8%, ± dp/dt_{max} 分别下降 22.1% 和 27.3%, P 值均小于 0.01 (见表 1)。

2.2 AAC 大鼠心肌细胞 Ca²⁺ - ATPase 活性变化 心肌细胞核钙 Ca²⁺ - ATPase 活性具有 [Ca²⁺]

Table 1 Hemodynamic changes of hypertrophy group ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Group	LVW/BW (mg/g)	SAP (kPa)	DAP (kPa)	MABP (kPa)	LVSP (kPa)	LVDEP (kPa)	+ dp/dt _{max} (kPa/s)	- dp/dt _{max} (kPa/s)
Control	2.30 ± 0.24	18.2 ± 1.5	11.7 ± 2.0	14.4 ± 1.7	21.2 ± 2.0	2.7 ± 0.6	1322 ± 150	1128 ± 208
	3.51 ± 0.44**	26.3 ± 3.3**	16.9 ± 1.8**	20.6 ± 2.2**	26.7 ± 2.9**	1.1 ± 0.7**	1029 ± 189**	820 ± 289**

** $P < 0.01$ vs Control; BW: body weight; LVW: left ventricular weight; SAP: systolic arterial pressure; DAP: diastolic arterial pressure; MABP: mean arterial blood pressure; LVSP: left ventricular systolic pressure; LVDEP: left ventricular diastolic end pressure; dp/dt: developing pressure

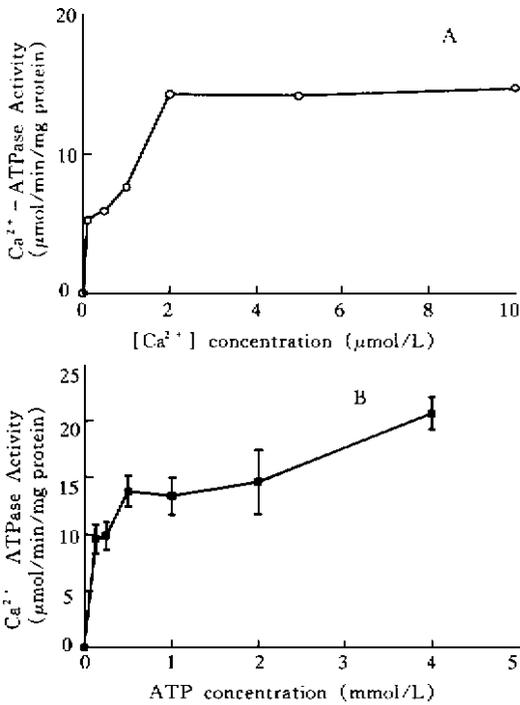


Fig.1 A: $[Ca^{2+}]$ -response curve of myocardial nuclear Ca^{2+} -ATPase activity. B: $[ATP]$ -response curve of nuclear Ca^{2+} -ATPase activity ($n = 3 \bar{x} \pm s$)

和 ATP 依赖性。当 $[ATP]$ 为 2.0 mmol/L 时,游离 $[Ca^{2+}]$ 在 0~2 μ mol/L 范围内,心肌细胞核 Ca^{2+} -ATPase 活性随 $[Ca^{2+}]$ 增加而增加。当 $[Ca^{2+}]$ 超过 2 μ mol/L 时, Ca^{2+} -ATPase 活性则维持在高水平。如图 1(A) 所示。

当反应液中的 $[Ca^{2+}]$ 为 4.0 μ mol/L 时, Ca^{2+} -

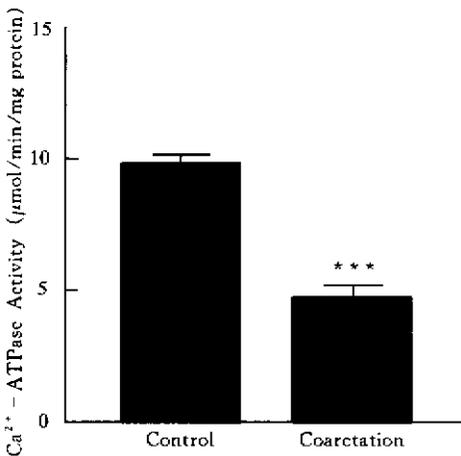


Fig.2 The changes of rat cardiac nuclear Ca^{2+} -ATPase activity during pressure overload-induced cardiac hypertrophy ($n = 7, \bar{x} \pm s, ***P < 0.001$ vs control group)

ATPase 活性随 ATP 增加而增加, V_{max} 为 18.015 μ mol/(min·mg), K_m 值为 0.165 μ mol/L。如图 1(B) 所示。

在反应液中的自由 $[Ca^{2+}]$ 为 4.0 μ mol/L 时,与对照组相比, AAC 大鼠心肌细胞核 Ca^{2+} -ATPase 活性降低 51.93% (4.691 ± 0.541 vs $9.757 \pm 0.426 \mu$ mol/(min·mg), $P < 0.001$)。见图 2。

2.3 心肌细胞核 Ca^{2+} 转运改变

在 2.0mmol/L 终浓度的 ATP 存在下,心肌细胞核 $^{45}Ca^{2+}$ 摄取具有 $[Ca^{2+}]$ 浓度依赖性,呈先升高后降低的趋势。与对照组相比较,核外 $[Ca^{2+}]$ 浓度为 50~400 和 3200nmol/L 时, AAC 组心肌细胞核 $^{45}Ca^{2+}$ 摄入量均增加不显著 ($P > 0.05$), 而核外 $[Ca^{2+}]$ 浓度为 800~1600 nmol/L 时,核 $^{45}Ca^{2+}$ 摄取显著增加 ($P < 0.05$)。见图 3 所示。

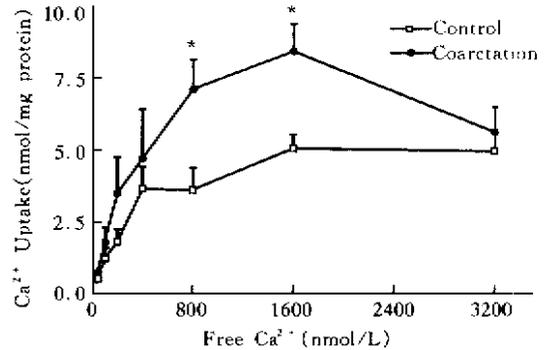


Fig.3 $[Ca^{2+}]$ -response curve of myocardial nuclear $^{45}Ca^{2+}$ transport and the alteration in calcium uptake during pressure overload-induced cardiac hypertrophy ($n = 3, \bar{x} \pm s$, Each point shown in the figure is the average of pooled values from four animals of each group, * $P < 0.05$ vs control group)

2.4 PKA、PKC 抑制剂和钙调素抑制剂对心肌细胞核 Ca^{2+} 转运的影响

$[Ca^{2+}]$ 浓度为 1600nmol/L 时, PKA 使正常组心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取明显增加 ($P < 0.05$), PKC 抑制剂 (bisindolylmaleimide) 和 CaM 抑制剂 (calmidazolium) 显著抑制其摄取 ($P < 0.05$)。AAC 大鼠心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取仅受 CaM 抑制剂抑制 ($P < 0.01$), 而 PKA 和 PKC 抑制剂对其无明显影响 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.5 核外 Ca^{2+} 浓度对心肌细胞核钙的影响

核内 $[Ca^{2+}]$ 浓度与核外 $[Ca^{2+}]$ 浓度的变化不完全同步,在核外 $[Ca^{2+}]$ 为 0nmol/L 时,核内 $[Ca^{2+}]$ 仍高于核外。正常心肌细胞核钙含量在核外 $[Ca^{2+}]$

Table 2 Effects of bisindolylmaleimide, calmidazolium and PKA on $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake of rat myocardial nuclear in 1600 nmol/L extranuclear $[\text{Ca}^{2+}]$ (Each figure is the average of pooled values from four animals of each group $n = 3 \bar{x} \pm s$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$)

	nuclear $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake (nmol/mg protein)	
	Control	Coarctation
No drug	4.184 \pm 0.804	7.378 \pm 2.219
PKA	6.099 \pm 1.015*	8.806 \pm 1.291
(-)PKC	2.028 \pm 0.658*	5.815 \pm 1.100
(-)CaM	2.244 \pm 1.904*	3.657 \pm 1.194**

* $P < 0.05$ vs no drug in control group;

** $P < 0.01$ vs no drug in coarctation group

为 0–1000 nmol/L 时基本维持不变, AAC 组随核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的增加, 核内游离 $[\text{Ca}^{2+}]$ 呈先升高后降低趋势, 正常组高峰在 1500 nmol/L, 而 AAC 组于 800–1000 nmol/L 核外 Ca^{2+} 时, 核内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 达高峰。

在核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 浓度为 0–1000 nmol/L 范围时, AAC 组核内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 明显高于对照组 ($P < 0.05$ or $P < 0.001$), 在核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 为 1500–2000 nmol/L 时, 两组间无显著差异 ($P > 0.05$)。见图 4。

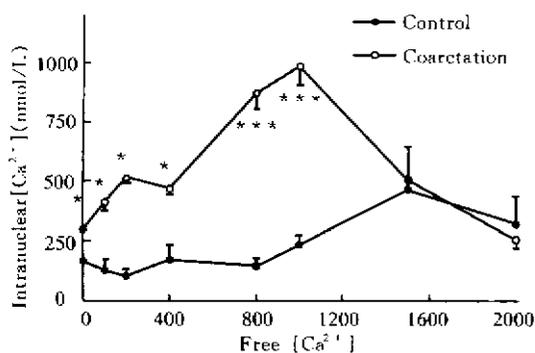


Fig. 4 Effects of extracellular $[\text{Ca}^{2+}]$ on the changes of intracellular $[\text{Ca}^{2+}]$ in pressure overload-induced cardiac hypertrophic nuclei. ($n = 6, \bar{x} \pm s$, nmol/L, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs control)

3 讨 论

压力负荷引起心肌肥厚的机制已进行了大量的研究。近年来的研究证明, 胞内 Ca^{2+} 信号途径与心肌肥厚的发生有关, Ca^{2+} 的调节是多种信号传导通路的中心环节, Ca^{2+} 既能作为诱导心肌肥厚的胞外刺激, 又直接参与各种肥大信号在胞内的传导。然

而, 胞浆 Ca^{2+} 如何通过影响核 Ca^{2+} 进一步参与心肌肥大信号的转导尚不清楚。最新的研究提示, 心肌细胞核上可能存在 Ca^{2+} 调节系统^[6]。推测心肌重塑从本质上可能是细胞 Ca^{2+} 稳态失衡引起核 Ca^{2+} 调节紊乱而引起核反应异常的过程, 而 Ca^{2+} 跨膜转运是心肌核 Ca^{2+} 信号转导的关键环节。本文试图研究心肌重塑时核钙转运系统的改变。

Ca^{2+} -ATPase 是 Ca^{2+} 摄取的关键酶, 最早发现它存在于内质网、肌浆网, 而新近研究表明肝细胞核膜上也存在此 Ca^{2+} 泵, 并证实存在 ATP 介导的核 Ca^{2+} 摄取, 核被膜上的 Ca^{2+} -ATPase 是调节核 Ca^{2+} 浓度的关键酶^[4, 7]。本研究发现心肌细胞核上存在高活性的 Ca^{2+} 泵, 心肌肥厚时, 细胞核 Ca^{2+} -ATPase 活性显著降低, 心肌细胞核在 ATP 存在下可以主动摄取 Ca^{2+} , 在核外 Ca^{2+} 低于 1600 nmol/L 时, 心肌肥厚大鼠心肌细胞核 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取能力增强, 心肌细胞核 Ca^{2+} -ATPase 和 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取的变化不一致, 推测心肌细胞核上可能还存在其它类型的 Ca^{2+} 摄取方式, 其机制尚不清楚。有研究报道, 肝细胞核上除存在 Ca^{2+} -ATPase 外, 还有 IP₄ 受体参与调节核 Ca^{2+} 摄取, 即存在 IP₄ 介导的不依赖 ATP 的 Ca^{2+} 摄取^[8]。但 IP₄ 受体是否介导压力负荷心肌肥厚细胞核钙摄取增加, 尚待进一步研究和证实。

蛋白质磷酸化与去磷酸化是受体、离子通道等功能蛋白活性调节的最重要和最普遍的方式, 也是细胞信号转导的中心环节, 细胞核作为生物信息细胞内传递的最终场所, 是细胞内蛋白磷酸化活性最高的部位。本实验发现 PKA 使心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取增加, CaM 抑制剂和 PKC 抑制剂引起心肌细胞核 Ca^{2+} 摄取下降, 说明 PKA、PKC 和 CaM 可能通过蛋白质磷酸化调节, 刺激核 Ca^{2+} 摄取。而经 PKA 和 PKC 抑制剂作用后, 正常组细胞核 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取显著增加, 但心肌肥厚组心肌细胞核 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取均无显著变化, 说明心肌肥厚时, 细胞核 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取的 PKA 和 PKC 磷酸化调节可能发生改变。有研究发现 cAMP (10^{-3} 和 10^{-4} mol/L) 和 IP₃ (10^{-5} 和 10^{-6} mol/L) 可显著抑制大鼠肝细胞核 Ca^{2+} -ATPase 活性^[9], 而 PKA 磷酸化和钙调素则刺激其活性^[10, 11]。推测细胞信号转导第二信使的启动和胞内蛋白磷酸化去磷酸化修饰, 可能在 Ca^{2+} -ATPase 活性调节和核 Ca^{2+} 摄取中起重要作用。

我们进一步采用 fluo4/AM 负载心肌细胞核, 进行荧光分光光度计测定, 发现核外 $[\text{Ca}^{2+}]$ 浓度为 0 nmol/L 时, 核内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 仍高于核外, 且正常组心

肌细胞核钙含量在核外 $[Ca^{2+}]$ 为 $0 - 1000 \text{ nmol/L}$ 时基本维持不变,说明离体心肌细胞核对 Ca^{2+} 并非自由通透,而是具有屏障功能。在核外 $[Ca^{2+}]$ 为 $0 - 1000 \text{ nmol/L}$ 范围时,心肌肥厚组核内 $[Ca^{2+}]$ 随核外 $[Ca^{2+}]$ 浓度的升高而升高,且较对照组明显增加,此结果与核 $^{45}Ca^{2+}$ 的摄取结果大体一致,说明在核外 $Ca^{2+} < 1500 \text{ nmol/L}$ 时,核 Ca^{2+} 摄取系统起主要作用,心肌肥厚组的核 Ca^{2+} 摄取能力明显增强。但在核外 $[Ca^{2+}]$ 为 $1500 - 2000 \text{ nmol/L}$ 时,心肌肥厚组核内 $[Ca^{2+}]$ 随核外 $[Ca^{2+}]$ 浓度的升高而显著下降,核 $^{45}Ca^{2+}$ 摄取实验也发现此现象,在核外 $[Ca^{2+}]$ 为 $1600 - 3200 \text{ nmol/L}$ 范围时,心肌肥厚组心肌细胞核 $^{45}Ca^{2+}$ 摄入随 $[Ca^{2+}]$ 增加而明显下降。此改变的机制尚待进一步研究,推测心肌肥厚时,核内高 Ca^{2+} 摄取可能启动心肌细胞核的 Ca^{2+} 释放和外排,进一步引起核 Ca^{2+} 降低,提示心肌肥厚时,除核 Ca^{2+} 摄取系统发生改变外,核 Ca^{2+} 释放系统也可能发生了改变,它可能是一种 Ca^{2+} 引起 Ca^{2+} 释放机制,且 Ca^{2+} 引起核 Ca^{2+} 释放的阈值下降。

参考文献:

- [1] Allbitton NL, Oancea E, Kuhn MA, et al. Source of nuclear calcium signals[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994,91:12458 - 12462.
- [2] 王培勇,叶赤,庞永政,等. 败血症大鼠肝细胞核钙转运的改变[J]. 生理学报, 1997,49(2):191 - 196.
- [3] Ohkusa T, Hisamotsu Y, Yano M, et al. Altered cardiac mechanism and sarcoplasmic reticulum function in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rats[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997,29:45 - 54.
- [4] 王培勇,姚兴海,苏静怡,等. 异丙肾上腺素致大鼠心肌坏死时心肌细胞核钙转运功能的变化[J]. 中国病理生理杂志, 1999,15(5):426 - 429.
- [5] Humbert JP, Matter N, Artault JC, et al. Inositol 1,4,5-triphosphate receptor is located to the inner nuclear membrane vindicating regulation of nuclear calcium signalling by inositol 1,4,5-triphosphate[J]. *J Biol Chem*, 1996,271(1):478 - 485.
- [6] Bootman MD, Thomas D, Tovey SC, et al. Nuclear calcium signalling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000,57(3):371 - 378.
- [7] Petersen OH, Gerasimenko OV, Gerasimenko JV, et al. The calcium store in the nuclear envelope[J]. *Cell Calcium*, 1998,23(2-3):87 - 90.
- [8] Malviya AN. The nuclear inositol 1,4,5-trisphosphate and inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate receptors[J]. *Cell Calcium*, 1994,16(4):301 - 313.
- [9] Katsumata T, Murata T, Yamaguchi M. Alteration in calcium content and Ca^{2+} -ATPase activity in the liver nuclei of rats orally administered carbon tetrachloride[J]. *Mol Cell Biochem*, 1998,185(1-2):153 - 159.
- [10] Rogue PJ, Humbert JP, Meyer A, et al. cAMP-dependent protein kinase phosphorylates and activates nuclear Ca^{2+} -ATPase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998,95(16):9178 - 9183.
- [11] Tsurusaki Y, Yamaguchi M. Role of endogenous regucalcin in the regulation of Ca^{2+} -ATPase activity in rat liver nuclei[J]. *J Cell Biochem*, 2000,78(4):541 - 549.

ALTERATIONS IN CALCIUM TRANSPORT AND Ca^{2+} -ATPase ACTIVITY IN CARDIAC NUCLEI OF RAT HEART DURING OVERLOAD-INDUCED CARDIAC HYPERTROPHY

LIU Jian¹, HE Zuo-yun¹, WANG Pei-yong²

(1. Department of Cardiology, Xinqiao Hospital; 2. Department of Pathophysiology, Third Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: The hypertrophy rat model was established by abdominal aortic constriction, and differential centrifugation was used to fractionate the cardiac nuclei. The alterations in Ca^{2+} -ATPase activity and $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake as well as intranuclear $[\text{Ca}^{2+}]$ of the cardiac nuclei were investigated. The Ca^{2+} -ATPase activity in cardiac nuclei was decreased by 51.93% ($P < 0.001$). $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake were significantly augmented in the range of 800–1600 nmol/L of incubating free $[\text{Ca}^{2+}]$, while intranuclear free $[\text{Ca}^{2+}]$ elevated markedly in the range of 0–1000 nmol/L ($P < 0.05$), as compared with those of control. PKC inhibitor (bisindolylmaleimide $5\mu\text{mol/L}$) and CaM inhibitor (calmidazolium $1\mu\text{mol/L}$) inhibited while PKA stimulated $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in the normal cardiac nuclei, but the $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in the hypertrophic cardiac nuclei were inhibited only by CaM inhibitor and not affected by PKA and PKC inhibitor. These results suggested that the alterations in calcium transport system in the myocardial nuclei may be partly responsible for the modified cardiac function in pressure overload-induced cardiac hypertrophy, while they also might be regulated by PKA, CaM and PKC.

Key Words: Cardiac hypertrophy; Cell nucleus; Ca^{2+} -ATPase; $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake