مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶٤/هفته دوم بهمن ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۵

مقایسه‌ی اثرات آنتی آپوپتوتیک داروهای PPAR-Gamma و ACE-I بر روی سلول‌های اندوتلیال ورید نافی کشت داده شده در معرض سرم بیماران مبتلا به آلزایمر و افراد سالم

دکتر رخساره معمار[۱]، دکتر مجید قاسمی[۲]، لیلا دهقانی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آلزایمر یک نوع اختلال در عملکرد مغزی است که طی آن، به تدریج توانایی‌های ذهنی بیمار تحلیل می‌رود. مطالعات نشان داده‌اند که نقص سلول‌های اندوتلیال می‌تواند منجر به بیماری‌های التهابی عصبی مزمن و حاد شود. تیازولیدین دیون‌ها (TZDs یا Thiazolidinediones) داروهای آگونیست گیرنده‌ی پراکسی زوم پرولیفراتور اکتیویتور گاما (PPAR-gamma یا Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) هستند. TZDs (پیوگلیتازون‌ها) نه تنها می‌توانند آسیب ناشی از تخریب‌های عصبی را در برخی بیماری‌های خود ایمن تضعیف کنند؛ بلکه باعث بهبود عملکرد عروق، حفظ سلول‌های اندوتلیال و مانع از پیشرفت بیماری‌های آترواسکلروتیک می‌شوند. برخی داروها نظیر انالاپریل نیز که از خانواده‌ی مهار کننده‌های آنزیم تبدیل‌گر آنژیوتانسین ACE-I (Angiotensin converting enzyme- inhibitor) می‌باشند، دارای نقش فعالی در سیستم رنین آنژیوتانسین در نقص عملکرد عروق و حفظ این سلول‌ها می‌باشند. با توجه به اثرات مفید ACE-I و TZDs بر روی نقص عملکردی سلول‌های اندوتلیال و حفظ این سلول‌ها، پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال ورید نافی تیمار شده با سرم بیماران مبتلا به آلزایمر و مقایسه‌ی اثر محافظتی این دو دارو انجام شد.

روش‌ها: در این بررسی، ۱۰ نفر به عنوان گروه شاهد و ۱۰ نفر به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. برای ارزیابی اثر انالاپریل و پیوگلیتازون بر روی سلول‌های اندوتلیال تیمار شده با سرم بیماران آلزایمری، نمونه‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند. پس از آماده‌سازی گروه‌ها، میزان آپوپتوز با استفاده از کیت تشخیص مرگ سلولی و دستگاه فلوسیتومتری بین گروه‌های شاهد و مورد، ۲۴ ساعت قبل و بعد از اضافه کردن انالاپریل و پیوگلیتازون مقایسه شدند. نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ و آزمون ANOVA یک طرفه با $P < ۰/۰۵$ آنالیز شدند.

یافته‌ها: میزان آپوپتوز در گروه اول که با سرم بیماران آلزایمری تیمار شدند، نسبت به گروه تیمار شده با سرم افراد سالم به طور معنی‌داری بالاتر بود. در گروه تیمار شده با انالاپریل ۲۴ ساعت قبل و بعد از افزودن سرم این بیماران، میزان آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. اما در مقایسه، پیوگلیتازون زمانی که ۲۴ ساعت قبل از تیمار با سرم این بیماران اضافه شد، به میزان بیشتری توانست میزان آپوپتوز را کم کند. در هر دو گروه دارویی، میزان دی اکسید نیتریک بین تیمار ۲۴ ساعت قبل و بعد کاهش یافت؛ اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: پیوگلیتازون در مقایسه با انالاپریل بهتر می‌تواند سطح اکسید نیتریک و عوامل آپوپتوزی را در بیماران آلزایمری کم کند. به نظر می‌رسد که پیوگلیتازون باعث فعال‌سازی پروتئین‌های ضد آپوپتوزی بیشتری می‌شود.

واژگان کلیدی: آلزایمر، آپوپتوز، PPAR-γ، ACE-I

ارجاع: معمار رخساره، قاسمی مجید، دهقانی لیلا. **مقایسه‌ی اثرات آنتی آپوپتوتیک داروهای PPAR-Gamma و ACE-I بر روی سلول‌های اندوتلیال ورید نافی کشت داده شده در معرض سرم بیماران مبتلا به آلزایمر و افراد سالم.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۴): ۲۰۰۴-۱۹۹۷

۱- عضو هیأت پژوهشی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه مغز و اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- مربی آموزشی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: لیلا دهقانی

Email: dehghani.l@pmd.iaun.ac.ir

مقدمه

آلزایمر یک نوع اختلال در عملکرد مغزی است که طی آن، به تدریج توانایی‌های ذهنی بیمار تحلیل می‌رود. بارزترین تظاهر زوال عقل، اختلال حافظه است. اختلال حافظه به طور معمول به تدریج ایجاد می‌شود و پیشرفت می‌کند. در بیماری‌های نورودژنراتیو انسان مثل آلزایمر، پارکینسون و جنون گاوی، پروتئین‌های سلول‌های عصبی به طریقه‌ای نادرست پیچ و تاب می خورند و این امر، باعث شکل غیر طبیعی این پروتئین‌ها می‌شود (۱). این پروتئین‌های معیوب، باعث تشکیل پلاگ‌ها در بیماری آلزایمر و اجسام لوی (Levy body) در بیماری پارکینسون می‌شوند. عوامل خطر مختلفی اعم از افزایش فشار، افزایش کلسترول و هموسیستئین، مرگ سلول‌های عصبی و همچنین آسیب عروق در این بیماری درگیر می‌باشند (۲-۱). مطالعات نشان داده‌اند که نقص سلول‌های اندوتلیال می‌تواند منجر به بیماری‌های التهابی عصبی مزمن و حاد شود (۳). در بیماری‌های عصبی دیگر همچون مولتیپل اسکلروزیس نشان داده شده است که نقص سلول‌های اندوتلیال می‌تواند باعث پیشرفت بیماری در این افراد شود. بنابراین، حفظ این سلول‌ها از آپوپتوز از مکانیسم‌های مهم در سیستم عصبی مرکزی و جلوگیری از جراحات عصبی و التهابات ناشی از مرگ این سلول‌ها می‌باشد (۳).

تیازولیدین دیون‌ها (Thiazolidinediones یا TZDs) داروهای آگونیست گیرنده‌ی پراکسی زوم پرولیفراتور اکتیویتور گاما (PPAR-gamma یا Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) هستند. گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسیزومی (PPARs یا Peroxisome proliferator-activated receptors) متعلق به ابرخانواده‌ی گیرنده‌های هسته‌ای می‌باشند. پیوگلیتازون یکی از داروهای این گروه است که به زیر گروه گاما و آلفا متصل می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که آگونیست‌های PPARγ سبب کاهش تولید واسطه‌های التهابی نظیر TNF-α (Tumor necrosis factor-alpha)، IL-۶ (Interleukin ۶)، تولید نیتریک اکسید (NO یا Nitric oxide) توسط نیتریک اکسید سنتاز (INOS یا Inducible nitric oxide synthase)، MCP-۱ (Monocyte-chemoattractant protein-۱) و VCAM-۱ (Vascular cell adhesion molecule-۱) در سلول‌های مونوسیت و ماکروفاژ می‌شود (۵-۴). همچنین مشخص شده است که آگونیست‌های PPARγ موجب کاهش تولید NO از طریق کاهش سیگنالی (P38 mitogen activated protein kinases) P۳۸-MAPK در سلول‌های میکروگلیالی می‌شود (۶).

امروزه TZDs به عنوان داروهای درمانی در بیماری‌های نورودژنراتیو، آسیب‌های تروماتیک و بیماری‌های نورودمیلینیتیو استفاده‌ی مطلوبی دارند. مطالعات نشان داده‌اند که TZDs نه تنها می‌توانند آسیب ناشی از تخریب‌های عصبی را در برخی بیماری‌های خود ایمن تضعیف کنند؛ بلکه باعث بهبود عملکرد عروق و مانع از پیشرفت بیماری‌های آترواسکلروتیک می‌شوند (۹-۷). برخی داروها نظیر انالاپریل که از خانواده‌ی مهار کننده‌های آنزیم تبدیل‌گر آنژیوتانسین ACE-I (Angiotensin converting enzyme- inhibitor) می‌باشند، دارای نقش فعالی در سیستم رنین آنژیوتانسین در نقص عملکرد عروق می‌باشند. این داروها به عنوان یک عامل ضد فشار باعث حفظ

سلول‌های اندوتلیال و کاهش شیوع دمانس و کاهش سرعت ضعف شناختی ناشی از این بیماری می‌شوند. در مطالعه‌ای ACE-I فعال می‌تواند سرعت زوال شناختی را در افراد مبتلا به آلزایمر کم کند.

با توجه به اثرات مفید ACE-I و TZDs بر روی نقص عملکردی سلول‌های اندوتلیال و حفظ این سلول‌ها، پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال ورید نافی تیمار شده با سرم بیماران مبتلا به آلزایمر و مقایسه‌ی اثر محافظتی این دو دارو انجام شد (۱۴-۱۰، ۸).

روش‌ها

این مطالعه با همکاری مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب اصفهان انجام شد. از تمام بیماران فرم رضایت‌نامه تهیه شد و در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسید. در این بررسی ۱۰ نفر به عنوان گروه شاهد و ۱۰ نفر به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. گروه‌های مختلف از نظر سنی و جنسی در یک محدوده بودند. تشخیص آلزایمر در این بیماران بر اساس معیارهای مؤسسه‌ی بین‌المللی نورولوژیکی انجام شد. بیماران با سابقه‌ی تاریخچه‌ی اعتیاد دارویی، بیماری‌های سیستمیک مزمن مانند دیابت ملیتوس، فشار بالا، بیماری‌های قلبی- کرونری، سابقه‌ی مصرف سیگار و الکل و بیماری‌های حاد مانند تشنج، افسردگی، بیماری‌های عروقی- مغزی، بیماری‌های متابولیکی و دمانس از مطالعه خارج شدند.

آماده‌سازی نمونه و کشت سلول

پس از جمع‌آوری خون وریدی و سانتریفیوژ، سرم بیماران جدا شد و در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره گردید. همه‌ی ارزیابی‌ها در یک زمان انجام شد. سلول‌های اندوتلیال مشتق از ورید نافی جنین (بانک سلول انسیتو پاستور تهران- ایران) در مدیوم پایه‌ی اندوتلیال (EBM یا Electronic body music) همراه با جنتامایسین، امفوتریسین B و سرم ۱۰ درصد FCS (Fetal calf serum) کشت داده شدند. به هر پلیت، ۶ خانه به میزان ۱۰۵ سلول افزوده شد.

برای ارزیابی اثر انالاپریل و پیوگلیتازون بر روی سلول‌های تیمار شده با سرم بیماران (غلظت ۱۰ درصد) آلزایمری، نمونه‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند: ۱- سلول‌ها تنها با سرم بیماران به مدت ۲۴ ساعت تیمارشدند، ۲- سلول‌ها ابتدا ۲۴ ساعت با انالاپریل ۵۰ میکرومولار و بعد با سرم بیماران آلزایمری برای مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند، ۳- سلول‌ها در ابتدا به مدت ۲۴ ساعت با سرم بیماران آلزایمری و بعد از آن ۲۴ ساعت با انالاپریل ۵۰ میکرومولار تیمارشدند، ۴- سلول‌ها تنها با سرم افراد سالم تیمار شدند. مشابه گروه بالا، برای پیوگلیتازون ۱۰ میکرومولار نیز انجام شد.

پس از آماده‌سازی گروه‌ها میزان آپوپتوز با استفاده از کیت تشخیص مرگ سلولی و دستگاه فلوسیتومتری بین گروه‌ها مقایسه شد. در بررسی با دستگاه فلوسیتومتری، مقدار 10^5 سلول با PBS (Phospate buffered solution) سرد شسته شد و بعد با انکسین V و پروپیدیوم یدید (PI یا Propidium iodide) رنگ‌آمیزی شدند. 10^5 سلول در یک میلی‌لیتر با ۱ میکرولیتر انکسین V فلورسئین ایزوتیوسیانات و ۰/۵ میکرولیتر بافر انکوبه شده و سلول‌ها با دستگاه Facial action coding system (FACS) آنالیز شدند. سلول‌های آپوپتوتیک انکسین

V مثبت و PI منفی بودند. از طرفی میزان آپوپتوز (شکستگی DNA متصل به هیستون) با استفاده از کیت تشخیص مرگ سلولی (Basel, Switzerland) طبق پروتکل اندازه‌گیری شد. میزان دی اکسید نیتریک که یکی از متابولیت‌های مهم اکسید نیتریک می‌باشد، در محلول کشت با استفاده از کیت ارزیابی اکسید نیتریک (R and D Systems ،USA، total NO Assay kit ،Parameter TM) بررسی شد. مقدار این متابولیت حاصل رنگ آزو از واکنش گریس می‌باشد. این واکنش بر اساس دو مرحله‌ی دیونیزاسیون صورت می‌گیرد که در آن، نیتریک اکسید می‌شود و ماده‌ی نیتریتی تولید می‌کند و با اسید سولفاتیک یون دیازونیوم را تولید می‌نماید. این یون با دی اتیل دی آمین جفت می‌شود و مشتقات آزوکلروفرم را تشکیل می‌دهد که در طول موج ۵۶۰ نانومتر قابلیت جذب دارد.

یافته‌ها با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از دی اکسید نیتریک سدیم محاسبه شد. نتایج حاصل از این مطالعه، پس از سه بار تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون ANOVA یک طرفه با $P < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شد.

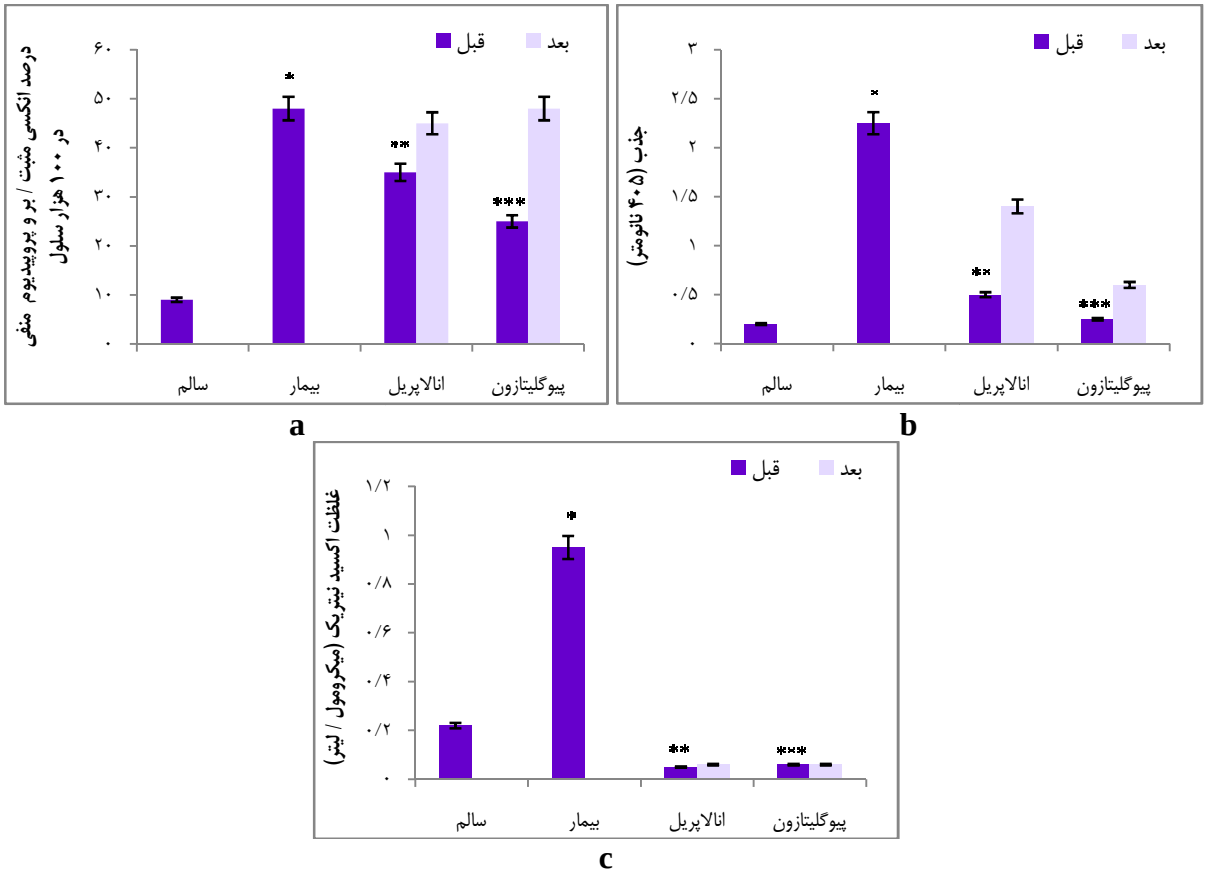
یافته‌ها

میزان آپوپتوز در گروه اول که با سرم بیماران آلزایمری تیمار شدند، نسبت به گروه تیمار شده با سرم افراد سالم، به طور معنی‌داری بالاتر بود. پس از بررسی نتایج بین گروه سلول‌های اندوتلیال تیمار شده با سرم افراد سالم و سرم افراد بیمار، تأثیر انالاپریل و پیوگلیتازون بر میزان آپوپتوز ۲۴ ساعت قبل از تیمار با سرم بیماران آلزایمری و ۲۴ ساعت بعد از تیمار با سرم این بیماران مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آن‌ها نشان داد که در گروه تیمار شده با انالاپریل به صورت ۲۴ ساعت قبل و بعد از افزودن سرم این بیماران، میزان آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (شکل ۱a و ۱b). اما در مقایسه، پیوگلیتازون زمانی که ۲۴ ساعت قبل از تیمار با سرم این بیماران اضافه شد، به میزان بیشتری توانست میزان آپوپتوز را کم کند. در هر دو گروه دارویی، میزان دی اکسید نیتریک بین تیمار ۲۴ ساعت قبل و بعد کاهش یافت؛ اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. در حالی که این کاهش در مقایسه با گروهی که تنها با سرم افراد آلزایمری تیمار شده بودند، در سطح $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار بود (شکل ۱c).

بحث

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که غلظت اکسید نیتریک و میزان آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال تیمار شده با سرم بیماران آلزایمری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. افزایش سطح متابولیت‌های اکسید نیتریک به طور معنی‌داری توسط انکوباسیون این سلول‌ها با ACE-I و TZDs در هر دو گروه ۲۴ ساعت قبل و بعد از تیمار با داروها کاهش یافت. اگر چه برای مارکرهای آپوپتوزی این کاهش زمانی بود که ACE-I و TZDs قبل از تیمار با سرم بیماران افزوده شود.

عواملی در فراموشی ناشی از آلزایمر ناشناخته مؤثر می‌باشد. مطالعات مختلفی استرس‌های اکسیداتیو را در پاتوژنز آلزایمر مؤثر می‌دانند (۱۶-۱۵).



شکل ۱.ارزیابی توقف آپوپتوز ایجاد شده در بیماران آلزایمری۲۴ساعت قبل و بعد از درمان با انالاپریل و پیو گلیتازون بوسیله فلوسیتومتری (a)
کیت بررسی آپوپتوز (b) اندازه گیری میزان غلظت نیترات (c)

از طرفی، اندازه‌گیری آپوپتوز می‌تواند با آغاز پیشرفت بیماری مرتبط باشد. همچنین افزایش میزان پروتئین P۵۳ در کشت نورون و آستروسیت‌های افراد همانند لنفوسیت‌های خون محیطی و مغز بیماران آلزایمری، به دنبال افزایش استرس اکسیداتیو و مارکرهای التهابی نیز افزایش می‌یابد (۲۰-۱۷).

افزایش غلظت اکسید نیتریک در مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که افزایش تولید گونه‌های مختلف نیتروژن و اکسیژن در بیماری‌های نورودژنراتیو مانند مولتیپل اسکلروزیس و آلزایمر اتفاق می‌افتد. در سیستم عصبی اکسید نیتریک به نظر می‌رسد که هم دارای خواص نوروتوکسیک و هم دارای خواص حفاظتی بر روی عصب می‌باشد. اکسید نیتریک می‌تواند از ایزوفرم‌های (Nitrous oxide systems) NOS مشتق شود و یا از بیان ایزوفرم قابل القای NOS تشکیل شود. متابولیت‌های حاصل از اکسید نیتریک در سرم این افراد، قابل اندازه‌گیری می‌باشد.

در این مطالعه، با استفاده از سلول‌های اندوتلیال، اثر آنتی آپوپتوزی ACE و TZDs در این سلول‌ها بررسی شد. فعال‌سازی سیستم رنین آنژیوتانسین در مغز بیماران آلزایمری در مطالعات گذشته نشان داده شده است. بر اساس مطالعات قبل، برخی داروهای ACE می‌تواند میزان تخریب شناختی ناشی از آلزایمر را کم کند (۲۳-۲۱). ACE-I می‌تواند میزان آپوپتوز

سلول‌های اندوتلیال ناشی از استرس‌های اکسیداتیو را از طریق مهار مسیر P۳۸-MAPK تضعیف کند. تیازولیدون‌ها مانند پیوگلیتازون نیز می‌توانند اثرات التهاب عروق ناشی از تخریب سلول‌های اندوتلیال در بیماران آلزایمری را کم کنند (۲۴). همچنین گزارش شده است که PPAR-γ می‌تواند مانع از تولید اکسید نیتریک ناشی از واسطه‌گرهای پیش التهابی در محیط کشت شود. در مطالعه‌ی Heneka و همکاران نشان داده شده است که تروگلیتازون و پیوگلیتازون می‌تواند بیان iNOS (Inducible nitrous oxide systems) را سرکوب نماید و باعث محافظت از سلول‌های گرانول مغزی در مقابل لیپوپلی‌ساکارید و اینترفرون گاما شود (۴).

بر اساس مطالعه‌ی حاضر، پیش تیمار با پیوگلیتازون در مقایسه با انالاپریل بهتر می‌تواند میزان آپوپتوز را در سلول اندوتلیال کم نماید و غلظت متابولیت‌های حاصل از اکسید نیتریک را به حداقل برساند. پیشنهاد بر این است که پیوگلیتازون نسبت به انالاپریل بیشتر می‌تواند سطح پری اکسی نیتریت و رادیکال‌های آزاد تولید شده‌ی ناشی از بیماری آلزایمر را در این بیماران کاهش دهد. همچنین پیوگلیتازون باعث فعال‌سازی پروتئین‌های ضد آپوپتوزی مانند Akt (Protein kinase B)، افزایش نسبت Bc۱۲ به Bax (Blocks programmed cell (Bcl-۲-associated X) و مهار پروتئین پیش آپوپتوزی P۵۳ می‌شود (۲۵). مطالعه‌ی حاضر پیشنهاد می‌کند که این دو دارو نه تنها می‌توانند باعث حفظ و بقای سلول‌های اندوتلیال در این بیماران شوند؛ بلکه می‌توانند میزان رادیکال‌های آزاد مخرب را کاهش دهند.

نتیجه‌گیری

پیوگلیتازون و انالاپریل می‌توانند سطح اکسید نیتریک و میزان مرگ سلول‌های اندوتلیال را در این بیماران کاهش دهند. همچنین شواهدی وجود دارند که PPAR-γ و TZDs می‌توانند باعث حفظ سلول‌های اندوتلیال در مقابل اثرات التهابی ناشی از این بیماران شوند. مطالعات بیشتری لازم است تا نقش اساسی PPARها، در جلوگیری از آسیب‌های سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عصبی در اختلالات نورولوژیکی بررسی شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی بیماران شرکت کننده در این مطالعه و همچنین مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که ما را در انجام این مطالعه یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله منتج از طرح پژوهشی با شماره‌ی ۲۸۹۲۷۹ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفته بود.

References

1. Faraci FM. Protecting against vascular disease in brain. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2011; 300(5): H1566-H1582.
2. Casado A, Encarnacion Lopez-Fernandez M, Concepcion CM, de La TR. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in vascular and Alzheimer dementias. Neurochem Res 2008; 33(3): 450-8.
3. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(2): 168-75.

4. Heneka MT, Landreth GE, Hull M. Drug insight: effects mediated by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in CNS disorders. Nat Clin Pract Neurol 2007; 3(9): 496-504.
5. Zhu Y, Alvares K, Huang Q, Rao MS, Reddy JK. Cloning of a new member of the peroxisome proliferator-activated receptor gene family from mouse liver. J Biol Chem 1993; 268(36): 26817-20.
6. Ji H, Wang H, Zhang F, Li X, Xiang L, Aiguo S. PPARgamma agonist pioglitazone inhibits microglia inflammation by blocking p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. Inflamm Res 2010; 59(11): 921-9.
7. Werner C, Kamani CH, Gensch C, Bohm M, Laufs U. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist pioglitazone increases number and function of endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease and normal glucose tolerance. Diabetes 2007; 56(10): 2609-15.
8. Raikwar HP, Muthian G, Rajasingh J, Johnson CN, Bright JJ. PPARgamma antagonists reverse the inhibition of neural antigen-specific Th1 response and experimental allergic encephalomyelitis by Ciglitazone and 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2. J Neuroimmunol 2006; 178(1-2): 76-86.
9. Gray E, Ginty M, Kemp K, Scolding N, Wilkins A. The PPAR-gamma agonist pioglitazone protects cortical neurons from inflammatory mediators via improvement in peroxisomal function. J Neuroinflammation 2012; 9: 63.
10. Burns KA, Vanden Heuvel JP. Modulation of PPAR activity via phosphorylation. Biochim Biophys Acta 2007; 1771(8): 952-60.
11. Cimini A, Benedetti E, Cristiano L, Sebastiani P, D'Amico MA, D'Angelo B, et al. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and retinoic acid receptors (RXRs) in rat cortical neurons. Neuroscience 2005; 130(2): 325-37.
12. Sink KM, Leng X, Williamson J, Kritchevsky SB, Yaffe K, Kuller L, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and cognitive decline in older adults with hypertension: results from the Cardiovascular Health Study. Arch Intern Med 2009; 169(13): 1195-202.
13. Ohrui T, Tomita N, Sato-Nakagawa T, Matsui T, Maruyama M, Niwa K, et al. Effects of brain-penetrating ACE inhibitors on Alzheimer disease progression. Neurology 2004; 63(7): 1324-5.
14. Benzie IF, Tomlinson B. Antioxidant power of angiotensin-converting enzyme inhibitors in vitro. Br J Clin Pharmacol 1998; 45(2): 168-9.
15. Law A, Gauthier S, Quirion R. Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. Brain Res Brain Res Rev 2001; 35(1): 73-96.
16. Hornig B, Arakawa N, Drexler H. Effect of ACE inhibition on endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure. Eur Heart J 1998; 19(Suppl G): G48-G53.
17. Cesari M, Kritchevsky SB, Atkinson HH, Penninx BW, Di BM, Tracy RP, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition and novel cardiovascular risk biomarkers: results from the Trial of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors (TRAIN) study. Am Heart J 2009; 157(2): 334-8.
18. Rohn TT, Head E, Nesse WH, Cotman CW, Cribbs DH. Activation of caspase-8 in the Alzheimer's disease brain. Neurobiol Dis 2001; 8(6): 1006-16.
19. de la Monte SM, Wands JR. Molecular indices of oxidative stress and mitochondrial dysfunction occur early and often progress with severity of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 2006; 9(2): 167-81.
20. Vural H, Sirin B, Yilmaz N, Eren I, Delibas N. The role of arginine-nitric oxide pathway in patients with Alzheimer disease. Biol Trace Elem Res 2009; 129(1-3): 58-64.
21. Hagiwara S, Iwasaka H, Matumoto S, Hidaka S, Noguchi T. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the inflammatory response in in vivo and in vitro models. Crit Care Med 2009; 37(2): 626-33.
22. Calissano P, Matrone C, Amadoro G. Apoptosis and in vitro Alzheimer disease neuronal models. Commun Integr Biol 2009; 2(2): 163-9.
23. De GC, V, Rossoni G, Rigamonti A, Bonomo S, Manfredi B, Berti F, et al. Enalapril and quinapril improve endothelial vasodilator function and aortic eNOS gene expression in L-NAME-treated rats. Eur J Pharmacol 2002; 450(1): 61-6.
24. Dong YF, Kataoka K, Tokutomi Y, Nako H, Nakamura T, Toyama K, et al. Perindopril, a centrally active angiotensin-converting enzyme inhibitor, prevents cognitive impairment in mouse models of Alzheimer's disease. FASEB J 2011; 25(9): 2911-20.
25. Ceconi C, Francolini G, Bastianon D, Gitti GL, Comini L, Ferrari R. Differences in the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the rate of endothelial cell apoptosis: in vitro and in vivo studies. Cardiovasc Drugs Ther 2007; 21(6): 423-9.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 31, No. 264, 2nd Week, February 2014

Received: 03.09.2013

Accepted: 06.12.2013

Comparing Anti-apoptotic Effects of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma and Angiotensin−Converting Enzyme Inhibitors using Human Umbilical Vein Endothelial Cells Exposed to Sera from Patients with Alzheimer's Disease and Healthy Controls

Rokhsareh Meamar MD, PhD[1], Majid Ghasemi MD[2], Leila Dehghani MSc[3]

Original Article

Abstract

Background: Alzheimer's disease (AD), the most frequent progressive neurodegenerative disorder, is associated with endothelial cell dysfunction. It has been presented that peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) agonists can attenuate neurodegeneration of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) and improve vascular function. On the other hand, angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACE-I) has beneficial effects on endothelial dysfunction and endothelial surveillance. This study aimed to compare the beneficial effects of PPAR-gamma and ACE-I on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) treated with sera from patients with Alzheimer's disease or healthy controls.

Methods: 10 patients with Alzheimer's disease and 10 healthy individuals were arranged in case and control groups, respectively. Apoptosis was identified after and before adding pioglitazone and enalapril on endothelial cells by annexin V-propidium iodide staining and cell-death detection kit. Although, nitrite levels were diminished when the sera exposed to both drugs treated endothelial cells but this difference between them was not significant.

Findings: Pioglitazone and enalapril could attenuate apoptosis rate significantly before treating with sera from patients with Alzheimer's disease but the reduction rate was more when pioglitazone added to the media. Also, nitrite concentration showed significantly greater levels of dissolved NO_2/NO_3 metabolite in the culture media of endothelial cells treated by sera of patients with Alzheimer's disease ($P < 0.05$), while the rate of nitric oxide significantly decreased when both drugs were presented in culture media.

Conclusion: Overally, apoptosis rate reduced more when PPAR agonist was added than ACE-I drugs. It seems that poiglitazone stimulate more anti-apoptotic mechanisms in Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer, Apoptosis, Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) agonist, Angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACE-I)

Citation: Meamar R, Ghasemi M, Dehghani L. **Comparing Anti-apoptotic Effects of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors using Human Umbilical Vein Endothelial Cells Exposed to Sera from Patients with Alzheimer's Disease and Healthy Controls.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(264): 1997-2004

1- Faculty Member, Isfahan Neurosciences Researches Center, Isfahan University of Medical Sciences AND Assistant Professor, Department of Pharmacology, School of Medical Sciences, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Neurology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Instructor, Department of Biology, School of Medical Sciences, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Leila Dehghani MSc, Email: dehghani.l@pmd.iaun.ac.ir