مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۳٤/هفته دوم خرداد ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۲۸

اثر رزیگلیتازون بر آنژیوژنز قلبی در رت‌های نرمال و دیابتی

انسیه صالحی[۱]، دکتر مجید خزاعی[۲]، دکتر بهمن رشیدی[۳]، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد[۴]

خلاصه

مقدمه: گیرنده‌های فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم‌ها (Peroxisome proliferator–activated receptors یا PPAR) گروهی از رسپتورهای هسته‌ای وابسته به لیگاند می‌باشند که به عنوان فاکتورهای نسخه‌برداری عمل می‌کنند. PPARها دارای ۳ ساب‌تایپ α، γ، β/δ هستند. PPARها ممکن است در تنظیم آنژیوژنز دخالت داشته باشند. هدف ما در این پژوهش، بررسی اثر فعال‌سازی PPARγ توسط رزیگلیتازون به عنوان یک آگونیست اختصاصی این ساب‌تایپ بر آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی در رت‌های دیابتی و غیر دیابتی بود.

روش‌ها: ۲۴ رت نر به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم و تحت درمان قرار گرفتند. گروه ۱، شاهد که حلال دارو دریافت کردند؛ گروه ۲، شاهدهایی که روزانه ۸ میلی‌گرم بر حسب هر کیلوگرم رزیگلیتازون به صورت خوراکی دریافت کردند؛ گروه ۳، دیابتی‌هایی که حلال دارو دریافت کردند و گروه ۴، دیابتی‌هایی که روزانه ۸ میلی‌گرم بر حسب هر کیلوگرم رزیگلیتازون به صورت خوراکی دریافت کردند. همه‌ی حیوانات ۲۱ روز بعد کشته و عضله‌ی قلبی آن‌ها جهت ایمونوهیستوکمیستری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که میانگین تراکم مویرگی در قلب حیوانات دیابتی کمتر از حیوانات شاهد بود (P = ۰/۰۸). تجویز رزیگلیتازون نتوانست تغییر معنی‌داری در تراکم مویرگی قلب در حیوانات دیابتی (۱۳/۳۲ ± ۱۲۱/۷۱ در مقابل۷/۰۲ ± ۱۳۶/۶۲ تعداد در میلی‌متر مربع) و غیر دیابتی (۱۱/۰۸ ± ۱۵۳/۷۸ در مقابل ۴/۳ ± ۱۳۵/۹۶ تعداد در میلی‌متر مربع) ایجاد کند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان داد که دیابت با کاهش آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی همراه است و فعال‌سازی PPAR γ توسط رزیگلیتازون، نتوانست آنژیوژنز را در عضله‌ی قلبی در رت‌های دیابتی و شاهد تغییر دهد.

واژگان کلیدی: آنژیوژنز، دیابت، PPAR γ، رزیگلیتازون.

مقدمه

گیرنده‌های فعال‌کننده‌ی تکثیر پراکسیزوم‌ها (Peroxisome proliferator–activated receptors یا PPAR) گروهی از رسپتورهای هسته ای وابسته به لیگاند می‌باشند که به عنوان فاکتورهای نسخه‌برداری و تنظیم‌کننده‌های بیان ژن عمل می‌کنند (۱). PPARها در سال ۱۹۹۰ توسط Issemann و همکار معرفی شدند. علت نام‌گذاری آن‌ها القای تکثیر ارگانل سلولی پراکسیزوم در جوندگان بود، هر چند که هیچ کدام از اعضای خانواده‌ی PPARها در انسان تکثیر پراکسیزوم‌ها را القا نمی‌کنند (۲). PPARها اثرات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی متعدد دارند به طور مثال در هموستاز گلوکز و لیپیدها، التهاب، تمایز سلولی، آنژیوژنز و ترمیم زخم و در بیماری های مثل دیابت، سرطان، آترواسکلروز و چاقی نقش دارند (۱). سه ایزوفرم PPAR در انسان شناخته شده اند که توسط ژن های متفاوتی کد می‌شوند: PPARα، PPARβ(δ) و PPARγ. به نظر می‌رسد ایزوفرم‌ها عملکرد

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] استادیار، گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴] گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خزاعی
Email: Khazaei@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir

فیزیولوژیک خاصی دارند و از نظر افینیتی بـه لیگانـد، اکسپرشن، توزیع بافتی، ژن‌های هدف و فعالیـت‌هـای مختلف متابولیک متفاوتن هستند (۳).

PPARγ روی کروموزوم ۳ انسـانی قـرار داشـته و دارای ۲ ایزوفـرم PPARγ1 و PPARγ2 اسـت کـه از نظر تعداد اسیدهای آمینـه بـا هـم تفـاوت دارنـد (۴). PPARγ به طـور عمـده در بافـت چربـی و عضـلات اسکلتی اکسپرس می‌شود و اثـرات متابولیـک خـود را اعمال می‌کند، امـا در عـروق و از جملـه سـلول‌هـای انـدوتلیال، عضـلات صـاف عـروق و ماکروفاژهـا و تخمدان نیـز بیـان مـی‌شـود (۵). لیگانـدهای سـنتتیک PPARγ شامل داروهای خانواده‌ی تیازولیدین دیون‌هـا مثـل Rosiglitazone و Pioglitazone مـی‌باشـد (۶). آگونیست‌هـای ایـن ایزوفـرم سـبب افـزایش فعالیـت سلول‌های بتای پانکراس و افزایش حساسیت به اعمال متابولیـک انسـولین مـی‌شـود (۷). همچنـین ایـن آگونیست‌ها اثرات مفیدی بر روی کاهش عوامل خطر بیمـاری‌هـای قلبـی-عروقـی و اثـرات ضـدالتهابی و آنتی‌آتروژنیک قدرتمندی دارند (۹-۸).

در سـال‌هـای اخیـر مطالعـات نشـان داده‌انـد کـه PPARها ممکـن اسـت در فراینـد آنژیـوژنزنیز نقـش داشته باشند، هر چند که نقش آن‌ها به عنوان محرک یا مهارکننده‌ی آنژیوژنز به خـوبی شـناخته نشـده اسـت. آنژیوژنز فرایند بیولوژیک جوانه زدن رگ‌هـای جدیـد از رگ‌های موجود در بافت است. این فرایند در موارد فیزیولوژیکی هـم‌چـون تـرمیم زخـم‌هـا، سـیکل‌هـای قاعدگی و موارد پاتولوژیکی همچون رتینوپاتی دیابتی، آندومتریوز و رشد عروق در انواع تومورها نقش دارد. تعدادی از مطالعات نشان داده‌انـد کـه Ciglitazone و Troglitazone بـه عنـوان محـرک PPARγ مهـاجرت، تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال را مهار نموده، موجب مهار آنژیوژنز می‌شوند (۱۱-۱۰). بـر عکـس مطالعـات دیگـری اثـرات پروآنژیوژنیـک ایـن داروهـا را نشـان داده‌اند.از سوی دیگر شواهد روزافزونی وجود دارد که دیابت باعث کاهش آنژیوژنز، کاهش قطر مـویرگ هـا، کاهش نسبت مویرگ‌هـا بـه فیبرهـا و تشـکیل عـروق جانبی قلب در انسان و مـدل‌هـای حیـوانی مـی‌گـردد (۱۳-۱۲). بنابراین ما در ایـن مطالعـه بـا بـه کـاربردن مدل‌های حیوانی دیابتی و غیردیابتی، این فرضیه که آیا فعال‌سـازی PPARγ (بـا اسـتفاده‌ی از آگونیسـت آن) می‌تواند موجب تغییر آنژیـوژنز در عضـله‌ی قلـب در رت‌های دیابتی و غیردیابتی گردد را مورد مطالعه قرار دادیم.

روش‌ها

در این مطالعه ۲۴ موش صحرایی نر از نژاد ویستار بـا وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۳۰ گرم بررسی شدند. حیوانـات از انستیتو پاستور تهیه شدند. در طول انجـام آزمـایش، حیوانات در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. حیوانات جهت تطابق با محیط لانه‌ی حیوانات حداقل به مدت یک هفته قبل از آزمـایش در حیوان‌خانه‌ی گروه فیزیولوژی نگهداری شدند. پس از گذشت زمان مذکور، رت‌هـا بـه طـور تصـادفی بـه ۲ دسته‌ی کلی دیابتی (مداخلـه) و غیـر دیـابتی (شـاهد) تقسـیم شـدند. جهـت ایجـاد دیابـت از داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin یا STZ) که باعـث تخریب نسبی یا مطلق سلول‌هـای پـانکراس مـی‌شـود استفاده گردید. STZ به میزان ۵۰ میلی‌گرم بـر حسـب هر کیلوگرم وزن در نرمال سـالین سـرد حـل و درون پانکراس به صورت دوز واحد تزریق شـد (۱۴). پـس

www.mui.ac.ir

از گذشت ۷۲ ساعت با خون‌گیری از ناحیه‌ی دم، قند خون رت‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان دیابت در نظر گرفته شد. سپس هر گروه از حیوانات دیابتی و غیردیابتی به طور تصادفی به دو زیرگروه تقسیم و به مدت ۲۱روز دارودرمانی شدند.

گروه اول، حیوانات شاهد بودند که از آغاز مطالعه تا پایان روز ۲۱، محلول DMSO (حلال رزیگلیتازون) به صورت خوراکی دریافت کردند. حیوانات شاهدی که از آغاز مطالعه تا پایان روز ۲۱ داروی رزیگلیتازون به عنوان آگونیست PPARγ به صورت محلول در DMSO با دوز روزانه ۸ میلی‌گرم بر حسب هر کیلوگرم وزن به صورت خوراکی دریافت کردند در گروه دوم قرار داشتند (۹).

گروه سوم، حیواناتی که از یک روز بعد از تأیید دیابتی شدن تا پایان مطالعه محلول DMSO (حلال رزیگلیتازون) به صورت خوراکی دریافت کردند و گروه چهارم، حیواناتی که از یک روز بعد از تأیید دیابتی شدن تا پایان مطالعه داروی رزیگلیتازون به عنوان آگونیست PPARγ به صورت محلول در DMSO با دوز روزانه ۸ میلی‌گرم بر حسب هر کیلوگرم وزن به صورت خوراکی دریافت کردند (۹).

در پایان مطالعه، حیوانات با روش Exsanguition کشته شدند. عضله‌ی قلبی هر حیوان خارج و در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد با PH = ۷/۲ به مدت ۲۴ ساعت فیکس شد. در دستگاه اتوتکنیکون به ترتیب آبگیری، شفاف‌سازی وآغشته‌سازی به پارافین انجام شد. سپس با استفاده‌ی از دستگاه میکروتوم مقاطع بافتی ۵ میکرومتری به صورت سریال تهیه گردید. بعد از دپارافینه شدن، مقاطع بافتی با آنتی‌بادی اولیه‌ی مونوکلونال موشی CD_{31} محصول شرکت Abcam انکوبه شده، توزیع آنتی‌بادی با به کار بردن محلول DAB آشکار گردید. به دنبال آن جهت افزایش کنتراست زمینه، از هماتوکسیلین استفاده گردید. در پایان، مقاطع بافتی عضلات قلبی حیوانات دیابتی و شاهد در زیر میکروسکوپ نوری Olympus با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ بررسی شدند و سلول‌های اندوتلیال رنگ شده با CD_{31} در ۱۰ فیلد انتخابی به صورت تصادفی از هر نمونه‌ی بافتی شمارش گردید.تراکم مویرگی (Capillary density) به صورت تعداد مویرگ‌ها در هر میلی‌متر مربع گزارش شد (۱۵).

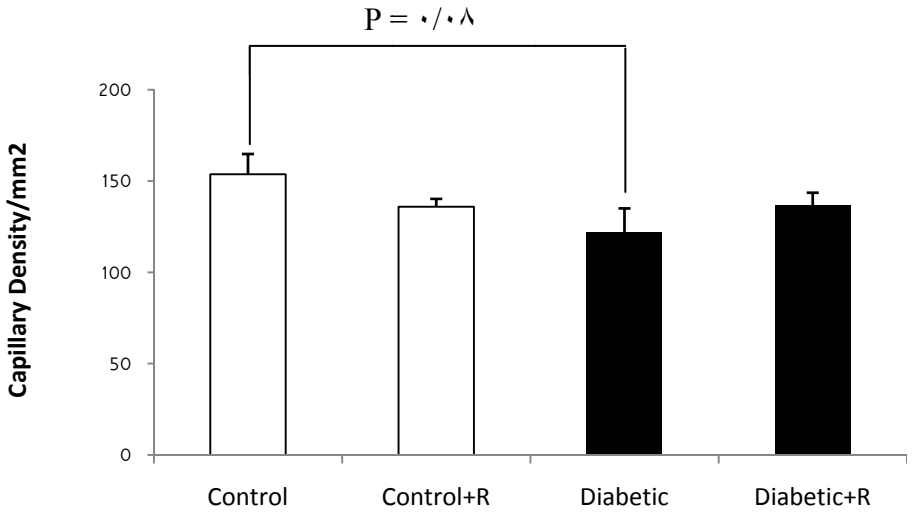
داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) وارد گردید. میزان دانسیته‌ی مویرگی گروه‌ها توسط آزمون One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار P کمتر از ۰/۰۵به عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

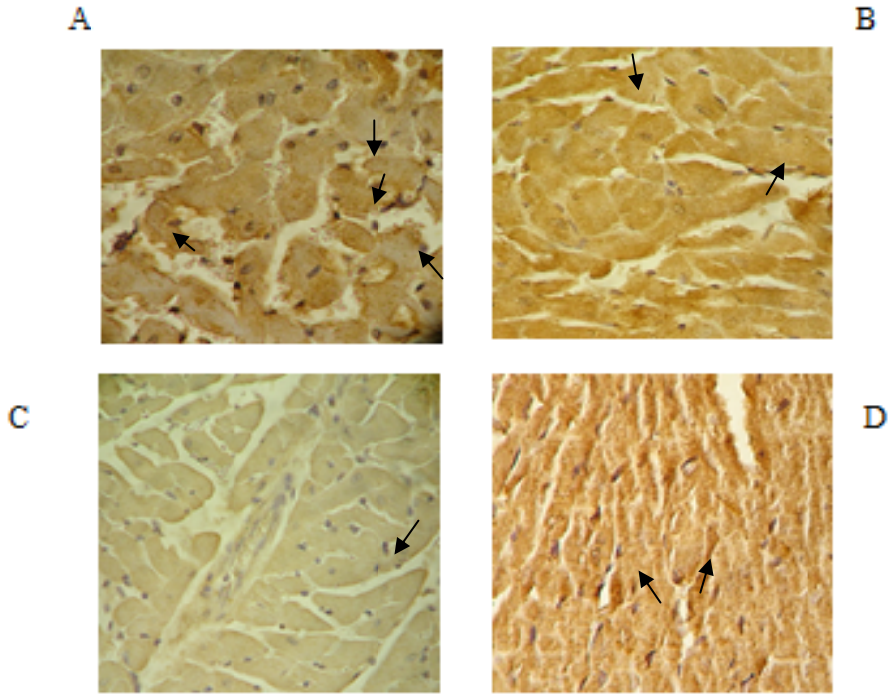
میانگین تراکم مویرگی بر حسب تعداد مویرگ در میلی‌متر مربع در ۴ گروه مورد مطالعه در نمودار شماره‌ی ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد میانگین تراکم مویرگی در قلب حیوانات دیابتی کمتر از حیوانات شاهد بود که البته معنی‌دار نبود (P = ۰/۰۸). تجویز روزیگلیتازون نتوانست تغییر معنی داری در تراکم مویرگی قلب در حیوانات دیابتی (۱۳/۳۲ ± ۱۲۱/۷۱ در مقابل ۷/۰۲ ± ۱۳۶/۶۲) و غیر دیابتی (۱۱/۰۸ ± ۱۵۳/۷۸ در مقابل ۴/۰ ± ۱۳۵/۹۶) ایجاد کند (نمودار ۱).

www.mui.ac.ir

اشکالی از نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با ایمونوهیستوکمیستری در عضله‌ی قلبی در گروه‌های آزمایش که با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تهیه شده در شکل ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱. نتایج حاصل از شمارش تراکم مویرگی در گروه‌های مورد مطالعه. R: رزیگلیتازون



شکل ۱. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با ایمونوهیستوکمیستری در نمونه‌ی عضله‌ی قلبی در گروه‌های شاهد (A)، شاهد درمان شده با رزیگلیتازون (B)، دیابتی (C) و دیابتی درمان شده با رزیگلیتازون (D). اشکال با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تهیه شده است.

www.mui.ac.ir

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تراکم مویرگی در حیوانات دیابتی نسبت به گروه شاهد کاهش نشان می‌دهد. با توجه به این نتیجه می‌توان گفت که دیابت باعث کاهش تعداد مویرگ‌ها و تشکیل عروق جانبی کرونر در قلب می‌گردد. دیابت یکی از مهم‌ترین عوامل خطر قلبی–عروقی بوده که منجر به اختلال عملکرد اندوتلیوم، توسعه بیماری‌های عروقی و در نهایت افزایش مرگ و میر ناشی از این بیماری‌ها می‌شود. نتیجه به دست آمده از مطالعه‌ی ما با مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد. Abaci برای نخستین بار اعلام نمود که دیابت ملیتوس باعث کاهش معنی‌داری در رشد و توسعه‌ی عروق جانبی کرونر می‌شود (۱۶). Chou و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ با مطالعه‌ای که بر روی رت‌های مبتلا به دیابت انجام دادند، گزارش نمودند که بیان فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF یا Vascular Endothelial Growth Factor) که یک بیومارکر کلیدی در فرایند آنژیوژنز است در میوکارد قلبی این حیوانات در مقایسه‌ی با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (۱۷). نتایج مطالعه‌ی دیگر ما نیز نشان داد که فاکتورهای آنژیوژنیک در سرم خونی رت‌های دیابتی از کاهش معنی‌داری در مقایسه‌ی با گروه شاهد برخوردار است (۱۸). از علل مطرح شده در توجیه کاهش تراکم مویرگی در دیابت می‌توان به کاهش بیان فاکتورهای آنژیوژنیک مثل VEGFA و گیرنده‌ی VEGF در میوکارد افراد دیابتی، تجزیه‌ی نامناسب غشای پایه، نقص عملکردی سلول‌های پیش ساز اندوتلیال (EPC) و تغییرات در تعادل فاکتورهای رشد را ذکر نمود. اما یکی از جدیدترین دلایل ارائه شده در این مورد توسط Waltenberger بیان گردید که پیشنهاد نمود در بیماری دیابت دو نوع سلول اصلی درگیر در فرایند تشکیل و توسعه‌ی عروق جانبی (سلول‌های اندوتلیال که میزان Shear را احساس می‌کنند و مونوسیت‌های در گردش که در رشد عروق جانبی به کار گرفته می‌شوند) دچار نقص عملکرد می‌شوند (۲۰–۱۹). همچنین هیپرگلیسمی باعث نقص سیگنالینگ در عملکرد VEGFR2 (رسپتور VEGF که مولکول کلیدی در فرایند آنژیوژنز است) درسلول‌های اندوتلیال می‌گردد (۱۹). Sasso و همکاران نیز گزارش کردند در افراد دیابتی که تحت جراحی بای پس شریان کرونر قرار گرفته‌اند میزان فعالیت FLK1 (گیرنده‌ی نوع یک VEGF) به شدت کاهش نشان می‌دهد که این پدیده خود منجر به کاهش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید اندوتلیالی (که یکی از افکتورهای مسیر سیگنالینگ VEGFاست) و به دنبال آن کاهش تولید نیتریک اکساید که برای تکثیر سلول‌های اندوتلیال و مهار آپوپتوز آن‌ها لازم است می‌گردد و شاید بدین ترتیب حفظ تمامیت عروق در بافت‌ها دچار اشکال گردد (۲۱).

نتایج مطالعه ی ما همچنین نشان داد که درمان حیوانات دیابتی با یک آگونیست PPARγ (رزیگلیتازون) تغییر معنی‌داری در تعداد مویرگ‌ها و آنژیوژنز عروقی در قلب حیوانات شاهد و دیابتی ایجاد نکرد. مطالعات مختلفی نشان داده است که اختلال عملکرد اندوتلیال که عامل خطر مهمی برای اختلالات عروقی دیابت است توسط لیگاندهای PPARγ تعدیل می‌یابد (۲۴–۲۲). اما نتایج مطالعات بر روی اثرات آنژیوژنیک یا آنتی آنژیوژنیک این داروها متناقض است. در یک مطالعه نشان داده شده

www.mui.ac.ir

است که تجویز تیازولیدین دیون‌ها باعث مهار آنژیوژنز پاتولوژیکی در رتینوپاتی قرنیه می‌گردد (۲۵). هم چنین این داروها با مهار آنژیوژنز، رشد و توسعه و متاستاز تومور را در مدل‌های حیوانی مهار کردند (۱۰). اما از سویی دیگر مطالعه ای در سال ۲۰۰۷ نشان داد که پیوگلیتازون (Pioglitazone) که لیگاند دیگری برای PPARγ از خانواده ی تیازولیدین دیون‌ها است باعث بهبود آنژیوژنز در مدل Hind limb ischemia در عضله‌ی اسکلتی در miceهای دیابتی و هم‌چنین تعدیل عملکرد اندوتلیال گردید (۲۶). همچنین در یک مطالعه‌ی in vivo، استفاده‌ی از رزیگلیتازون با دوز ۳ میلی‌گرم بر حسب عر کیلوگرم وزن به مدت ۱۰ روز باعث افزایش آنژیوژنز در رت‌ها پس از ایسکمی مغزی گردیده است (۲۷). یک مطالعه‌ی کلینیکال نیز نشان داد که استفاده‌ی از رزیگلیتازون در بیماران دیابتی به مدت ۴ هفته باعث افزایش سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال گردید (۲۸). اما نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که رزیگلیتازون اثر معنی‌داری بر تراکم مویرگی قلبی در رت های دیابتی و غیر دیابتی ندارد. شاید دلیل عدم هم‌خوانی مطالعه‌ی ما با مطالعات دیگر ناشی از متفاوت بودن مدل و تکنیک به کار رفته جهت بررسی آنژیوژنز، طول مدت درمان و یا به کار بردن آگونیست های متفاوت این خانواده ی دارویی که میزان افینیته متفاوتی به رسپتور PPARγ دارند، باشد.

یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های مطالعه‌ی ما این است که ما تراکم مویرگی در قلب را در حالت نورموکسی بررسی نموده و ایسکمی و شرایط هیپوکسی را در قلب (به طور مثال با بستن شریان کرونر) ایجاد نکردیم. به هر حال با توجه به این که یکی از مهم‌ترین تشدید کننده‌های آنژیوژنز هیپوکسی و ایسکمی است شاید نتایج این مطالعه را نتوان به اثرات رزیگلیتازون در شرایط هیپوکسی نیز تعمیم داد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد مطالعه‌ی حاضر در شرایط ایسکمی قلبی نیز انجام گردد تا بتوان به اثرات این دارو در آن شرایط نیز پی برد.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های ضد و نقیض در مورد نقش لیگاند های PPARγ در اختلالات قلبی–عروقی و آنژیوژنز مطالعات بیشتری جهت شفاف سازی نقش این خانواده‌ی دارویی بر روی عملکرد قلبی–عروقی به ویژه در شرایط ایسکمی در بیماران مبتلا به دیابت ضروری است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بابت تأمین هزینه‌ی طرح شماره‌ی ۱۸۸۱۳۸ قدردانی می‌نماییم.

References

1. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. Nature 2000; 405(6785): 421-4.
2. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. Nature 1990; 347(6294): 645-50.
3. Pozzi A, Capdevila JH. PPARalpha Ligands as Antitumorigenic and Antiangiogenic Agents. PPAR Res 2008; 2008: 906542.
4. Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. J Biol Chem 1997; 272(30): 18779-89.
5. Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Najib J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit throm-

www.mui.ac.ir

bin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. Circ Res 1999; 85(5): 394-402.
6. Shearer BG, Hoekstra WJ. Peroxisome proliferator-Activated receptors (PPARs): Choreographers of Metabolic Gene Transcription. Cell transmissions 2002; 18(3): 3-10
7. Lazar MA. PPAR gamma, 10 years later. Biochimie 2005; 87(1): 9-13.
8. Blaschke F, Takata Y, Caglayan E, Law RE, Hsueh WA. Obesity, peroxisome proliferator-activated receptor, and atherosclerosis in type 2 diabetes. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26(1): 28-40.
9. Wang CH, Ciliberti N, Li SH, Szmitko PE, Weisel RD, Fedak PW, et al. Rosiglitazone facilitates angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in glitazone pleiotropy. Circulation 2004; 109(11): 1392-400.
10. Panigrahy D, Singer S, Shen LQ, Butterfield CE, Freedman DA, Chen EJ, et al. PPARgamma ligands inhibit primary tumor growth and metastasis by inhibiting angiogenesis. J Clin Invest 2002; 110(7): 923-32.
11. Peeters LL, Vigne JL, Tee MK, Zhao D, Waite LL, Taylor RN. PPAR gamma represses VEGF expression in human endometrial cells: implications for uterine angiogenesis. Angiogenesis 2005; 8(4): 373-9.
12. Boodhwani M, Sodha NR, Mieno S, Xu SH, Feng J, Ramlawi B, et al. Functional, cellular, and molecular characterization of the angiogenic response to chronic myocardial ischemia in diabetes. Circulation 2007; 116(11 Suppl): I31-I37.
13. Kivela R, Silvennoinen M, Lehti M, Jalava S, Vihko V, Kainulainen H. Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. Cardiovasc Diabetol 2008; 7: 13.
14. Rivard A, Silver M, Chen D, Kearney M, Magner M, Annex B, et al. Rescue of diabetes-related impairment of angiogenesis by intramuscular gene therapy with adeno-VEGF. Am J Pathol 1999; 154(2): 355-63.
15. . Jacobi J, Porst M, Cordasic N, Namer B, Schmieder RE, Eckardt KU, et al. Subtotal nephrectomy impairs ischemia-induced angiogenesis and hindlimb re-perfusion in rats. Kidney Int 2006; 69(11): 2013-21.
16. Abaci A, Oguzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Unal S, Arinc H, et al. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. Circulation 1999; 99(17): 2239-42.
17. Chou E, Suzuma I, Way KJ, Opland D, Clermont AC, Naruse K, et al. Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue. Circulation 2002 Jan 22; 105(3): 373-9.
18. Khazaei M. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum biomarkers of angiogenesis in male rats. Journal of Isfahan Medical School 2011; 29(132): 1-14
19. Waltenberger J, Lange J, Kranz A. Vascular endothelial growth factor-A-induced chemotaxis of monocytes is attenuated in patients with diabetes mellitus: A potential predictor for the individual capacity to develop collaterals. Circulation 2000; 102(2): 185-90.
20. Waltenberger J. Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications. Cardiovasc Res 2001; 49(3): 554-60.
21. Sasso FC, Torella D, Carbonara O, Ellison GM, Torella M, Scardone M, et al. Increased vascular endothelial growth factor expression but impaired vascular endothelial growth factor receptor signaling in the myocardium of type 2 diabetic patients with chronic coronary heart disease. J Am Coll Cardiol 2005; 46(5): 827-34.
22. Balakumar P, Rose M, Ganti SS, Krishan P, Singh M. PPAR dual agonists: are they opening Pandora's Box? Pharmacol Res 2007; 56(2): 91-8.
23. Martens FM, Rabelink TJ, Op't RJ, de Koning EJ, Visseren FL. TNF-alpha induces endothelial dysfunction in diabetic adults, an effect reversible by the PPAR-gamma agonist pioglitazone. Eur Heart J 2006; 27(13): 1605-9.
24. Natali A, Baldeweg S, Toschi E, Capaldo B, Barbaro D, Gastaldelli A, et al. Vascular effects of improving metabolic control with metformin or rosiglitazone in type 2 diabetes. Diabetes Care 2004; 27(6): 1349-57.
25. Murata T, He S, Hangai M, Ishibashi T, Xi XP, Kim S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands inhibit choroidal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(8): 2309-17.
26. Huang PH, Sata M, Nishimatsu H, Sumi M, Hirata Y, Nagai R. Pioglitazone ameliorates endothelial dysfunction and restores ischemia-induced angiogenesis in diabetic mice. Biomed Pharmacother 2008; 62(1): 46-52.
27. Chu K, Lee ST, Koo JS, Jung KH, Kim EH, Sinn DI, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-agonist, rosiglitazone, promotes angiogenesis after focal cerebral ischemia. Brain Res 2006; 1093(1): 208-18.
28. Pistrosch F, Herbrig K, Oelschlaegel U, Richter S, Passauer J, Fischer S, et al. PPARgamma-agonist rosiglitazone increases number and migratory activity of cultured endothelial progenitor cells. Atherosclerosis 2005; 183(1): 163-7.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 134, 2nd week, June 2011 Received: 24.2.2011 Accepted: 17.4.2010

Effect of Rosiglitazone on Coronary Angiogenesis in Diabetic and Control Rats

Ensieh Salehi MSc[1], Majid Khazaei MD, PhD[2], Bahman Rashidi PhD[3], Shaghayegh Haghjooye Javanmard MD, PhD[2]

Abstract

Background: Peroxisome proliferator–activated receptors (PPARs) are ligand-activated transcription factors of nuclear receptor superfamily, consisting of three subtypes: PPARα, γ, β/δ. Clinical evidence suggests that PPARs may be involved in regulating angiogenesis. In this study, we examined the hypothesis that whether activation of PPARγ by Rosiglitazone, a PPARγ agonist, can alter coronary angiogenesis in diabetic and control rats.

Methods: Twenty four male rats were randomly divided into four groups as follows: group 1: control rats received vehicle; group 2: control rats received Rosiglitazone (8mg/kg/day) by gavage every day; group 3: diabetic rats received vehicle; group 4: diabetic rats received Rosiglitazone (8mg/kg/day) by gavage everyday. All rats were sacrified after 21 days and their hearts muscles were harvested for immonohistochemistry.

Findings: The mean capillary density in control rats was higher than diabetic rats (P = 0.08). Rosiglitazone treatment could not change capillary density of the heart in diabetic rats (121.71 ± 13.32 versus 136.62 ± 7.02/mm^2) and nondiabetic rats (153.78 ± 11.08 versus 135.96 ± 4.3/mm^2).

Conclusion: Our findings demonstrate that diabetes is associated with reduced capillary density in the heart and PPARγ activation by Rosiglitazone could not alter angiogenesis in diabetic and non-diabetic rats.

Keywords: Angiogenesis, Diabetes, PPARγ, Rosiglitazone.

[1] MSc Student, Student Research Committee, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Assistant Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Majid Khazaei MD, PhD, Email: Khazaei@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir