

نقش GW0742، آگونیست PPAR β/δ ، بر آنژیوژنز قلبی در رت‌های نرمال و دیابتی

انسیه صالحی^۱، دکتر مجید خزاعی^۲، دکتر بهمن رشیدی^۳

خلاصه

مقدمه: گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم‌ها (PPAR یا Peroxisome proliferator-activated receptors) گروهی از فاکتورهای نسخه برداری وابسته به لیگاند هستند که در انسان دارای ۳ ایزوفرم شناخته شده‌ی α ، β/δ و γ می‌باشند. از آن جایی که PPARs روی عملکرد سیتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد اثر می‌گذارند، اعتقاد بر این است که PPARها ممکن است در مکانیسم‌های مولکولی تنظیم کننده‌ی آنژیوژنز دخالت داشته باشند. هدف ما در این پژوهش، بررسی اثر فعال سازی PPAR β/δ توسط GW0742 به عنوان آگونیست اختصاصی این ایزوفرم بر روی آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی رت‌های شاهد و دیابتی بود.

روش‌ها: ۲۴ رت نر به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم و تحت درمان قرار گرفتند. جهت ایجاد دیابت از داروی استرپتوزوتوسین استفاده گردید. گروه ۱: شاهدهایی که حلال دارو دریافت کردند، گروه ۲: شاهدهایی که روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن GW0742 به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. گروه ۳: دیابتی‌هایی که حلال دارو دریافت کردند و گروه ۴: دیابتی‌هایی که روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم GW0742 به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. پس از ۲۱ روز، عضله‌ی قلب حیوانات خارج شد و میزان تراکم مویرگی آن با استفاده از ایمونوهیستوشیمی بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که میانگین تراکم مویرگی عضله‌ی قلبی در حیوانات دیابتی کمتر از حیوانات شاهد بود ($P = 0.08$). تجویز GW0742 باعث افزایش تراکم مویرگی در عضله‌ی قلبی حیوانات دیابتی ($11/3 \pm 215/82$ در مقابل $13/32 \pm 121/71$ مویرگ در میلی‌متر مربع) گردید ($P < 0.05$)، در حالی که تغییری معنی‌دار در میزان تراکم مویرگی عضله‌ی قلبی حیوانات شاهد ($8/97 \pm 156/3$ در مقابل $11/08 \pm 152/78$ مویرگ در میلی‌متر مربع) ایجاد نکرد ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان داد که دیابت با کاهش آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی همراه است و تجویز GW0742 به عنوان آگونیست PPAR β/δ توانست موجب بهبود آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی رت‌های دیابتی گردد، در حالی که در عضله‌ی قلبی رت‌های شاهد این اثر را نداشت.

واژگان کلیدی: دیابت، آنژیوژنز، گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم.

مقدمه

پروموتور ژن‌های هدف تداخل می‌کنند. در غیاب لیگاند، هترودیمر PPAR/RXR با به کارگیری کمپلکس‌های مهارکننده می‌توانند نسخه برداری از ژن را سرکوب کنند. در حالی که اتصال لیگاند باعث تغییرات ساختاری در واحد هترودیمر شده، منجر به جداسازی مهارکننده و به کارگیری فعال کننده‌های همراه می‌گردد و در نتیجه باعث برداری از ژن هدف می‌شود. سه ایزوفرم شناخته شده‌ی PPARها PPAR β/δ ، PPAR γ

گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم‌ها (Peroxisome proliferator-activated receptors یا PPAR) زیرمجموعه‌ای از ۴۸ نوع گیرنده‌ی هسته‌ای شناخته شده می‌باشند که بیان ژن را در پاسخ به اتصال لیگاند تنظیم می‌کنند (۱). مکانیسم عمل آن‌ها بدین صورت است که با گیرنده‌ی رتینوئیک، اسید هترودیمر تشکیل می‌دهند و با المان‌های پاسخی خاصی در نواحی

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، 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.

تیپ یک دیابتی بود.

روش‌ها

در این مطالعه ۲۴ موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۳۰ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات از انستیتو پاستور تهیه شدند. در طول انجام آزمایش 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 آزمایش در حیوان خانه گروه فیزیولوژی نگهداری شدند. کلیه‌ی مراحل آزمایشگاهی این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت.

پس از گذشت زمان تطابق، رت‌ها به طور تصادفی به ۲ دسته‌ی کلی دیابتی و شاهد تقسیم شدند. جهت ایجاد دیابت از داروی STZ (Streptozotocin) استفاده گردید. STZ به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قبل از تزریق در نرمال سالین سرد حل و به صورت داخل صفاقی و دوز واحد تزریق گردید (۱۰). پس از گذشت ۷۲ ساعت با خون‌گیری از ناحیه‌ی دم، قند خون رت‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۱۶/۷ میلی‌مول در لیتر به عنوان دیابت در نظر گرفته شد.

رت‌ها در ۴ گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه اول حیواناتی بودند که از آغاز تا پایان مطالعه محلول DMSO (حلال GW0742) را به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند (شاهد). گروه دوم حیوانات غیردیابتی بودند که از آغاز تا پایان مطالعه داروی GW0742 را به عنوان آگونیست $\text{PPAR}\beta/\delta$ به صورت محلول در DMSO با دوز روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر

و $\text{PPAR}\alpha$ می‌باشند که از لحاظ مکان قرارگیری روی کروموزوم‌ها، تمایل به لیگاند، بیان، ژن‌های هدف و عملکردهای متابولیکی با یکدیگر تفاوت دارند (۲-۳). تنظیم متابولیسم گلوکز و لیپیدها، التهاب، تنظیم فشار خون و تون عروقی، آنژیوژنز و بهبود بیماری‌های دیابت، سرطان، آترواسکلروز و چاقی از اعمال بیولوژیکی شناخته شده برای آن‌ها می‌باشد (۳).

$\text{PPAR}\delta$ که گیرنده‌ی هورمونی هسته‌ای ۱ یا NUC1 نام دارد به عنوان $\text{PPAR}\beta$ نیز شناخته می‌شود (۴). این گیرنده بر روی کروموزوم ۶ انسانی قرار گرفته (۵) و به طور عمده در عروق شامل سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضله‌ی صاف و ماکروفاژها بیان می‌شود (۶-۷). اسیدهای چرب اشباع ۱۴ تا ۱۸ کربنه و همچنین اسیدهای چرب غیراشباع ۱۶ تا ۲۰ کربنه و پروستاگلاندین‌ها می‌توانند به این ایزوفرم از PPARها باند شوند (۸). از آگونیست‌های سنتتیک $\text{PPAR}\beta/\delta$ می‌توان به GW0742، GW2433، GW9578، L796449 و L165461 اشاره کرد (۹).

مطالعات نشان داده‌اند که $\text{PPAR}\beta/\delta$ می‌تواند نقش‌های زیادی در ترمیم زخم، متابولیسم چربی‌ها، تشکیل بافت چربی، رشد مغز، عملکرد جفت، سرطان کولورکتال و عملکرد عضله‌ی اسکلتی داشته باشد. از سوی دیگر نشان داده شده است که $\text{PPAR}\beta/\delta$ اثر مستقیمی در فرایندهای عروقی گوناگون مثل آپوپتوز، بقا، آنژیوژنز، التهاب و آترواسکلروز ایفا می‌کند (۹). هدف ما در این مطالعه، بررسی اثر GW0742 آگونیست اختصاصی $\text{PPAR}\beta/\delta$ بر آنژیوژنز عضله‌ی قلبی در گروه‌های شاهد و مدل حیوانی

کیلوگرم وزن بدن صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند (۱۱). گروه سوم رت‌هایی بودند که از یک روز بعد از تأیید دیابتی شدن تا پایان مطالعه محلول DMSO (حلال GW0742) به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. گروه چهارم از یک روز بعد از تأیید دیابتی شدن تا پایان مطالعه داروی GW0742 را به عنوان آگونیست $PPAR\beta/\delta$ به صورت محلول در DMSO با دوز روزانه ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. طول مدت مطالعه ۲۱ روز بود.

در پایان مطالعه، حیوانات با روش Cervical dislocation کشته شدند. عضله‌ی بطن چپ قلب هر حیوان خارج و در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد با PH برابر ۷/۲ به مدت ۲۴ ساعت فیکس شد. سپس در دستگاه اتوتکنیکون به ترتیب آبگیری، شفاف‌سازی و آغشته‌سازی به پارافین انجام شد. پس از آن با استفاده از دستگاه میکروتوم مقاطع بافتی ۵ میکرومتری به صورت سریال تهیه گردید. بعد از دپارافینه شدن، مقاطع بافتی با آنتی‌بادی اولیه‌ی مونوکلونال موشی CD31 محصول شرکت Abcam انکوبه شد. توزیع آنتی‌بادی با به کار بردن محلول DAB آشکار گردید. به دنبال آن جهت افزایش کنتراست زمینه از همتاکسیلین 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 CD31 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 (۱۲).

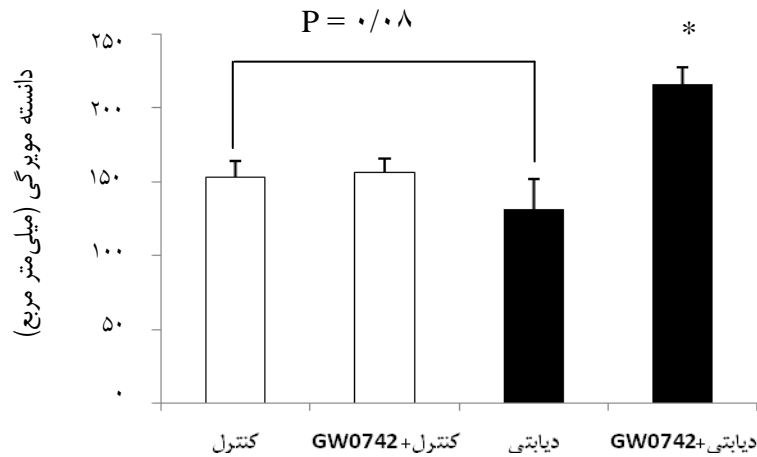
میزان دانسیته‌ی مویرگی عضله‌ی قلب در گروه‌ها به وسیله‌ی آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون (LSD) Post Hoc مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. همه‌ی بررسی‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام گرفت.

یافته‌ها

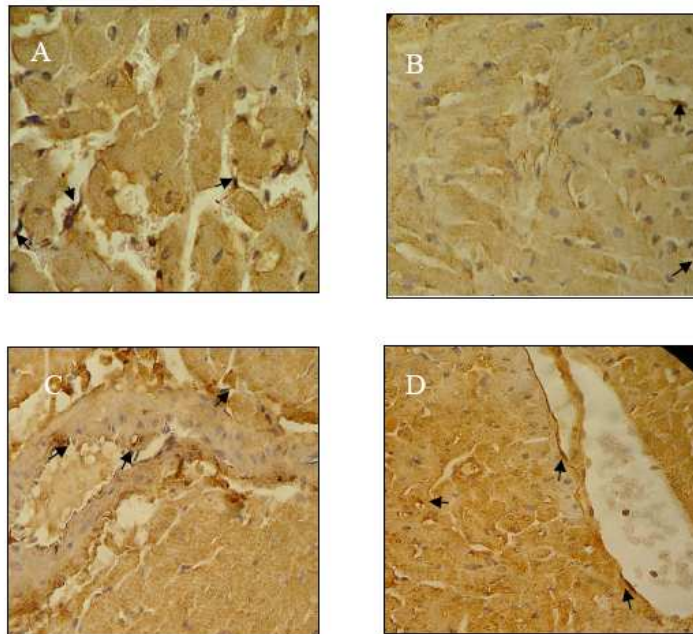
در پایان آزمایش، وزن حیوانات دیابتی کمتر از شروع مطالعه بود ($243/94 \pm 3/21$) گرم در شروع مطالعه در مقابل $212/42 \pm 7/26$ گرم در پایان). تجویز آگونیست $PPAR\beta/\delta$ نتوانست تغییر معنی‌داری در وزن حیوانات دیابتی ($247/66 \pm 4/04$) گرم در شروع در مقابل $230/216 \pm 4/94$ گرم در پایان مطالعه) و شاهد ایجاد نماید.

میانگین تراکم مویرگی بر حسب تعداد مویرگ در میلی‌متر مربع در ۴ گروه مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد میانگین تراکم مویرگی در عضله‌ی قلبی حیوانات دیابتی کمتر از حیوانات شاهد بود ($P = 0/08$). تجویز داروی GW0742 باعث بهبود آنژیوژنز در قلب حیوانات دیابتی گردید ($215/82 \pm 11/3$) مویرگ در میلی‌متر مربع در پایان در مقابل $13/32 \pm 121/71$ در شروع). در حالی که تغییر معنی‌داری در تراکم مویرگی در قلب حیوانات شاهد ایجاد نکرد ($156/3 \pm 8/97$) در مقابل $11/08 \pm 78$) ۱۵۳ مویرگ در میلی‌متر مربع).



شکل ۱. نتایج حاصل از شمارش تراکم مویرگی در گروه‌های مورد مطالعه
* تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها



شکل ۱. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با ایمونوهیستوشیمی در نمونه‌ی عضله‌ی قلبی در (A) گروه‌های شاهد، (B) دیابتی، (C) شاهد درمان شده با GW0742 و (D) دیابتی درمان شده با GW0742D. اشکال با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تهیه شده‌اند. فلش‌ها سلول‌های CD31+ که نشانگر سلول‌های اندوتلیال می‌باشد را نشان می‌دهند.

بحث

در این تحقیق ما به بررسی اثر آگونیست اختصاصی PPAR β/δ بر روی آنژیوژنز قلبی در حالت نورموکسی در رت‌های شاهد و دیابتی پرداختیم. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که تجویز GW0742 باعث

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

(۱۷-۱۸). همچنین نتایج یک مطالعه نشان داد که در رت‌های دیابتی فعال سازی مسیر سیگنالینگ VEGF در مقایسه با حیوانات شاهد از کاهش معنی‌دار برخوردار بود (۱۹). در یک مطالعه‌ی کلینیکی نیز نشان داده شده است در افراد دیابتی که تحت جراحی پیوند عروق کرونر قرار گرفته‌اند میزان فعالیت گیرنده‌ی VEGFR1 به شدت کاهش یافته، به دنبال آن میزان تکثیر سلول‌های اندوتلیال کاهش و میزان آپوپتوز آن‌ها افزایش می‌یابد (۲۰). اما در تضاد با این یافته‌ها پیشنهاد گردیده است که کاهش میزان عوامل آنژیوژنیک مسئول تغییرات عروق میکرو در بافت‌های هیپوکسیک افراد دیابتی نمی‌باشد (۲۱). این گزارش‌های ضد و نقیض شاید ناشی از متفاوت بودن مدت زمان ابتلا به دیابت و نوع دیابت (نوع یک یا دو) باشد (۱۵).

در حالی که مطالعات متعددی در مورد نقش ایزوفرم‌های PPAR α و PPAR γ بر سیستم قلبی-عروقی وجود دارد اما نقش ایزوفرم PPAR β/δ در این حیطه کمتر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (۲۲)، به هر حال مطالعات موجود حاکی از آن است که آگونیست‌های این ایزوفرم در تعدیل آنژیوژنز نقش دارد (۲۳-۲۵).

در مطالعه‌ی حاضر درمان با آگونیست اختصاصی PPAR β/δ (GW0742) به مدت ۲۱ روز باعث بهبود آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی رت‌های دیابتی گردید، در حالی که بر روی آنژیوژنز در عضله‌ی قلبی رت‌های شاهد تأثیر معنی‌داری نداشت. با توجه به این که در این مطالعه نوع داروی به کار رفته، طول مدت درمان، دوز داروی تجویز شده، نحوه‌ی تجویز دارو، بافت هدف و نوع گیرنده‌ی تحریک شده در حیوانات دیابتی و شاهد یکسان بود، نتایج متفاوت در گروه دیابتی و شاهد را می‌توان این طور توجیه کرد که دیابت بر روی تعادل

افزایش معنی‌دار دانسیته‌ی مویرگی در عضله‌ی قلبی رت‌های دیابتی گردید. آنژیوژنز یک پاسخ فیزیولوژیک به پدیده‌ی ایسکمی می‌باشد که به عنوان جوانه زدن عروق جدید از عروق موجود تعریف می‌شود. از عوامل دخیل در این فرایند می‌توان NO (Nitric oxide)، VEGF (Vascular endothelial growth factor) و گیرنده‌های آن‌ها را نام برد (۱۳). از سوی دیگر، مطالعات موجود حاکی از این است که بیماری دیابت با ناهنجاری‌هایی در ساختار عروق میکرو و ماکرو مرتبط است (۱۴-۱۵) و بر روی عوامل آنتی آنژیوژنیک و پرو آنژیوژنیک اثر گذاشته، منجر به بروز ناهنجاری‌های آنژیوژنز بسته به نوع بافت می‌گردد (۱۴). آنژیوژنز افزایش یافته در برخی بافت‌ها مثل چشم و ضایعات آترواسکلروزی و از سوی دیگر آنژیوژنز ناقص در بافت‌هایی مثل بافت قلبی پیشنهاد می‌کند که دیابت به طور متفاوتی عوامل آنژیوژنیک را تغییر می‌دهد (۱۶).

نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر نشانگر کاهش نزدیک به سطح معنی‌دار تراکم مویرگی در عضله‌ی قلبی حیوانات دیابتی در مقایسه با گروه شاهد است. می‌توان نتیجه گرفت که دیابت با کاهش تعداد مویرگ و عروق جانبی کرونر همراه است. یکی از محدودیت‌های این مطالعه این بود که میزان دانسیته‌ی مویرگی قلب در حالت نورموکسی بررسی شد و ایسکمی و شرایط هیپوکسی در قلب ایجاد نشده بود. نظر به این که هیپوکسی یکی از مهم‌ترین تحریک کننده‌های فرایند آنژیوژنز است چه بسا با بررسی آنژیوژنز در شرایط هیپوکسی نتایج بارزتری به دست می‌آمد. مطالعات قبلی نشان دهنده‌ی کاهش سطح عوامل آنژیوژنیک VEGF، NO، bFGF (Basic fibroblast growth factor) در دیابت می‌باشد

ایزوفرم به صورت وابسته به دوز تکثیر سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز و همچنین میزان بیان VEGFmRNA را ظرف ۲۴ ساعت افزایش داد (۲۷). همچنین Wagner و همکاران نشان دادند که فعال‌سازی PPAR β/δ اندازه‌ی بافت انفارکت شده‌ی میوکارد را از طریق القای آنژیوژنز کاهش می‌دهد (۱۱). اما در تضاد با یافته‌های ما مطالعه‌ی دیگری حاکی از مهار سرطان کولون توسط فعال‌سازی PPAR β/δ با تجویز GW0742 بود (۲۸). شاید دلیل مغایرت نتایج ما با این مطالعه متفاوت بودن دوز و طول مدت درمان و مدل آنژیوژنز تحت بررسی باشد.

نتیجه‌گیری

این نتایج پیشنهاد می‌کند که کاربرد آگونیست‌های PPAR β/δ نیاز به بررسی دقیق‌تری در بیماران مبتلا به اختلالات آنژیوژنیک دارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بابت تأمین هزینه‌ی طرح شماره‌ی ۱۸۱۳۸ قدردانی می‌نمایم.

References

1. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med* 2004; 351(11): 1106-18.
2. Touyz RM, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascul Pharmacol* 2006; 45(1): 19-28.
3. Pozzi A, Capdevila JH. PPARalpha Ligands as Antitumorigenic and Antiangiogenic Agents. *PPAR Res* 2008; 2008: 906542.
4. Schmidt A, Vogel RL, Witherup KM, Rutledge SJ, Pitzenberger SM, Adam M, et al. Identification of fatty acid methyl ester as naturally occurring transcriptional regulators of the members of the peroxisome proliferator-activated receptor family. *Lipids* 1996; 31(11): 1115-24.
5. Xu HE, Lambert MH, Montana VG, Parks DJ, Blanchard SG, Brown PJ, et al. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell* 1999; 3(3): 397-403.
6. Wang N. PPAR-delta in Vascular Pathophysiology. *PPAR Res* 2008; 2008: 164163.
7. Kliewer SA, Forman BM, Blumberg B, Ong ES, Borgmeyer U, Mangelsdorf DJ, et al. Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(15): 7355-9.
8. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic

- drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(9): 4312-7.
9. Lee CH, Chawla A, Urbiztondo N, Liao D, Boisvert WA, Evans RM, et al. Transcriptional repression of atherogenic inflammation : modulation by PPARdelta. *Science* 2003; 302(5644): 453-7.
 10. 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): 255-63.
 11. Wagner N, Jehl-Pietri C, Lopez P, Murdaca J, Giordano C, Schwartz C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor beta stimulation induces rapid cardiac growth and angiogenesis via direct activation of calcineurin. *Cardiovasc Res* 2009; 3(1): 61-71.
 12. 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.
 13. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine* 2003; 9: 653-60.
 14. Simons M. Angiogenesis, arteriogenesis, and diabetes: paradigm reassessed? *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(5): 835-7.
 15. 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.
 16. Ebrahimian TG, Tamarat R, Clergue M, Duriez M, Levy BI, Silvestre JS. Dual effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on angiogenesis in type 1 diabetic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(1): 65-70.
 17. Gao L, Yu DM. Molecular mechanism of limbs' postischemic revascularization improved by perindopril in diabetic rats. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121(21): 2129-33.
 18. 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; 105(3): 373-9.
 19. Hazarika S, Dokun AO, Li Y, Popel AS, Kontos CD, Annex BH. Impaired angiogenesis after hindlimb ischemia in type 2 diabetes mellitus: differential regulation of vascular endothelial growth factor receptor 1 and soluble vascular endothelial growth factor receptor 1. *Circ Res* 2007; 101(9): 948-56.
 20. 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.
 21. 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.
 22. Rubenstrunk A, Hanf R, Hum DW, Fruchart JC, Staels B. Safety issues and prospects for future generations of PPAR modulators. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771(8): 1065-81.
 23. Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta goes vascular. *Circ Res* 2008; 102(2): 146-7.
 24. Biscett F, Straface G, Pitocco D, Zaccardi F, Ghirlanda G, Flex A. Peroxisome proliferator-activated receptors and angiogenesis. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2009; 19(11): 751-9.
 25. Muller-Brusselbach S, Komhoff M, Rieck M, Meissner W, Kaddatz K, Adamkiewicz J, et al. Deregulation of tumor angiogenesis and blockade of tumor growth in PPARbeta-deficient mice. *EMBO J* 2007; 26(15): 3686-98.
 26. Gaudel C, Schwartz C, Giordano C, Abumrad NA, Grimaldi PA. Pharmacological activation of PPARbeta promotes rapid and calcineurin-dependent fiber remodeling and angiogenesis in mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(2): E297-E304.
 27. Piqueras L, Reynolds AR, Hodivala-Dilke KM, Alfranca A, Redondo JM, Hatae T, et al. Activation of PPARbeta/delta induces endothelial cell proliferation and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(1): 63-9.
 28. Marin HE, Peraza MA, Billin AN, Willson TM, Ward JM, Kennett MJ, et al. Ligand activation of peroxisome proliferator-activated receptor beta inhibits colon carcinogenesis. *Cancer Res* 2006; 66(8): 4394-401.

Role of GW0742 A PPAR β/δ Agonist on Coronary Angiogenesis in Control and Diabetic Rats

Ensieh Salehi¹, Majid Khazaei MD, PhD², Bahman Rashidi PhD³

Abstract

Background: Peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) are ligand activated transcription factors; comprising of three isoforms in human: PPAR β/δ , PPAR γ and PPAR α . Since PPARs affect on cytokines and growth factors, it is suggested that PPARs may be regulated angiogenesis process. In this study, we investigated the hypothesis that activation of PPAR β/δ by GW0742 can restore coronary angiogenesis in diabetic and control rats.

Methods: Twenty-four male rats were randomly divided into four groups. For induction of diabetes we used streptozotocin (50 mg/kg). The groups were as follows: group 1: control rats were given placebo, group 2: control rats were given GW0742 (1 mg/kg/day) subcutaneously, group 3: diabetic rats were given placebo and group 4: diabetic rats were given GW0742 (1 mg/kg/day) subcutaneously. After 21 days capillary density was evaluated in cardiac muscle by immunohistochemistry.

Findings: The mean capillary density in cardiac muscles of diabetic rats were lower than control ($P = 0.08$). GW0742 administration could restore capillary density of the heart in diabetic rats (215.82 ± 11.3 versus 121.71 ± 13.32 number of capillaries per mm^2) while could not alter capillary density in control rats (156.3 ± 8.97 versus 153.78 ± 11.08 number of capillaries per mm^2).

Conclusion: this study showed that diabetes is associated by reduced capillary density in the heart. PPAR β/δ activation by GW0742 could restore coronary angiogenesis in diabetic rats while did not change angiogenesis in non diabetic rats.

Keywords: Diabetes, Angiogenesis, Peroxisome proliferator-activated receptors.

¹ MSc Student, 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.

Corresponding Author: Majid Khazaei MD, PhD, Email: Khazaei @med.mui.ac.ir