

## اثر آگونیست‌های مختلف گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم‌ها (PPARs) بر سطح سرمی عوامل التهابی در رت‌های مبتلا به دیابت

دکتر مجید خزاعی<sup>۱</sup>، دکتر زویا طاهرگورابی<sup>۲</sup>، انسیه صالحی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** التهاب، نقش مهمی در پاتوژنز بسیاری از فرایندها از جمله آترواسکلروز دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پرواکسی‌زوم‌ها (PPAR یا Peroxisome proliferator-activated receptor) در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی نقش دارند. هدف این مطالعه، بررسی اثر آگونیست‌های مختلف PPAR شامل آگونیست PPAR $\alpha$  (فتوفیبرات)، آگونیست PPAR $\beta/\delta$  (GW $\cdot$ ۷۴۲)، آگونیست PPAR $\gamma$  (رزیکلتازون) و آگونیست تمام گیرنده‌های PPAR (pan PPAR) بزافیبرات) بر سطح سرمی hsCRP (High sensitive C-reactive protein) و اینترلوکین ۶ (IL-۶ یا Interleukin-۶) در رت‌های مبتلا به دیابت بود.

**روش‌ها:** رت‌های ویستار نر تحت تزریق استرپتوزوتوسین برای القای دیابت تیپ یک قرار گرفتند. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند: مبتلا به دیابت، مبتلا به دیابت + فتوفیبرات (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز با گاواژ)، مبتلا به دیابت + GW $\cdot$ ۷۴۲ (یک میلی‌گرم/کیلوگرم؛ زیرجلدی)، مبتلا به دیابت + رزیکلتازون (۸ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ گاواژ) و مبتلا به دیابت + بزافیبرات (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با گاواژ). پس از ۲۱ روز، سطح سرمی عوامل مورد نظر با استفاده از کیت‌های الیزا اندازه‌گیری گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که سطح سرمی hsCRP و IL-۶ پس از مصرف آگونیست‌های مختلف PPAR نسبت به گروه مبتلا به دیابت که تحت هیچ درمانی قرار نداشتند، تغییر معنی‌داری نداشته است.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد حداقل در مدل حیوانی دیابت تیپ یک، تجویز آگونیست‌های مختلف PPAR نمی‌تواند با اثر بر دو عامل اصلی در فرایند التهاب، بر پدیده‌هایی چون آترواسکلروز مؤثر باشد و مکانیسم‌های دیگری برای آن باید مد نظر قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** عامل التهابی، اینترلوکین، پروتئین واکنشی C، دیابت

**ارجاع:** خزاعی مجید، طاهرگورابی زویا، صالحی انسیه. اثر آگونیست‌های مختلف گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم‌ها (PPARs) بر سطح سرمی عوامل التهابی در رت‌های مبتلا به دیابت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۷): ۲۶۱-۲۵۶

واکنشی C (C-reactive protein یا CRP) است که به عنوان یک عامل پیش‌بینی کننده در حوادث قلبی-عروقی شناخته شده است (۲). التهاب، نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌های مهم انسان از جمله دیابت دارد و

### مقدمه

مشخص شده است که آبخار التهاب، نقش بسیار کلیدی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز دارد (۱). یکی از این عوامل مهم التهابی، پروتئین

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

رزیکلیتازون) و آگونیست تمام گیرنده‌های PPAR (pan PPAR) بزافیبرات) بر سطح سرمی hsCRP (High sensitive C-reactive protein) و اینترلوکین-۶ (Interleukin-۶) در رت‌های مبتلا به دیابت نوع یک می‌باشد.

### روش‌ها

رت‌های ویستار نر با وزن تقریبی  $200 \pm 20$  گرم یک هفته قبل از شروع آزمایش از انستیتو پاستور ایران خریداری گردیدند. حیوانات در لانه‌ی حیوانات گروه فیزیولوژی دانشکده‌ی پزشکی در دمای حدود ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و با رطوبت و نور کافی نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته از تطابق حیوانات با محیط لانه، کلیه‌ی رت‌ها تحت تزریق استریپتوزوتوسین برای القای دیابت تیپ یک قرار گرفتند.

استریپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در نرمال سالین سرد حل و به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از ۴۸ ساعت، حیواناتی که قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر داشتند، به عنوان حیوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند: مبتلا به دیابت (بدون دریافت دارو)، مبتلا به دیابت + فنوفیبرات (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز با گاوآژ) (۱۴)، مبتلا به دیابت + GW۰۷۴۲ (یک میلی‌گرم/کیلوگرم؛ زیرجلدی) (۱۵)، مبتلا به دیابت + رزیکلیتازون (۸ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ گاوآژ) (۱۶) و مبتلا به دیابت + بزافیبرات (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با گاوآژ). پس از ۲۱ روز حیوانات کشته شدند و سطح سرمی عوامل التهابی اندازه‌گیری گردید.

مطالعات نشان داده است که پدیده‌ی التهاب در ایجاد عوارض عروقی دیابت به صورت کمپلیکاسیون‌های میکرو و ماکروواسکولار نیز نقش زیادی دارد (۳).

گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسی‌زوم‌ها (Peroxisome proliferator-activated receptor) یا PPAR در سال ۱۹۹۰ برای اولین بار معرفی شدند (۴)، اما پس از مدتی به اثرات متعدد آن‌ها بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیولوژیکی در انسان پی برده شد. این گیرنده‌ها در بسیاری از بیماری‌های انسان از جمله دیابت، سرطان، هموستاز لیپیدها و چاقی نقش دارند (۵) و می‌توانند در تعدیل مکانیسم‌های درگیر در فرایند التهاب و آنژیوژنز نقش داشته باشند (۶-۵). سه ایزوفرم PPAR شناخته شده است: PPAR $\alpha$ ، PPAR $\beta/\delta$  و PPAR $\gamma$  و به نظر می‌رسد هر ایزوفرم از جهات مختلفی همچون عملکردهای متابولیکی اثرات مخصوص به خود را دارد (۷، ۵).

مطالعات نشان داده‌اند که انواع مختلف PPAR اثرات متعددی بر سیستم قلبی-عروقی دارند. این مطالعات، به صورت مقالات مروری در سال‌های اخیر مورد بحث قرار گرفته‌اند (۸-۱۰)، اما اثرات این گیرنده‌ها بر فرایند التهاب و عوامل التهابی مورد بحث است. از یک سو، مطالعاتی نشان دهنده‌ی اثرات کاهنده‌ی التهابی این گیرنده‌ها می‌باشند و از سوی دیگر، مطالعات دیگر نشان دهنده‌ی بی‌اثر بودن و یا حتی اثرات پیش التهابی برخی از این گیرنده‌ها می‌باشند (۱۱-۱۳).

هدف از این مطالعه، بررسی اثر آگونیست‌های مختلف PPAR شامل آگونیست PPAR $\alpha$  (فنوفیبرات)، آگونیست PPAR $\beta/\delta$  (GW۰۷۴۲)، آگونیست PPAR $\gamma$

معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

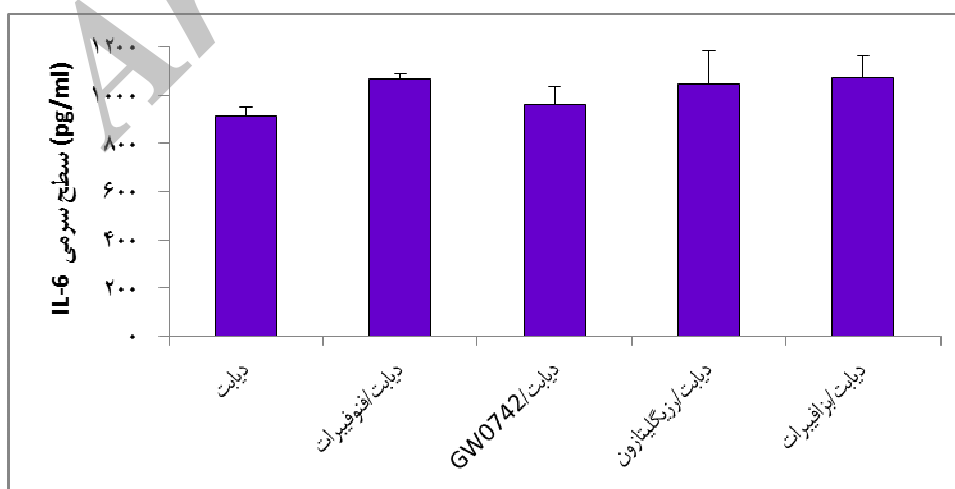
تجویز آگونیست‌های مختلف PPAR به مدت ۲۱ روز در موش‌های مبتلا به دیابت نوع یک، تغییر معنی‌داری در سطح سرمی عامل التهابی hsCRP ایجاد نکرد ( $P > 0/050$ ) (شکل ۱). همچنین تجویز این داروها نتوانست تغییر معنی‌داری در سطح سرمی اینترلوکین-۶ در موش‌های مبتلا به دیابت ایجاد نماید ( $P > 0/050$ ) (شکل ۲).

اندازه‌گیری سطح سرمی hsCRP و اینترلوکین-۶ با استفاده از کیت‌های الیزا (به ترتیب از شرکت‌های Biovender, USA و BD Bioscience, USA) انجام گردید.

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده گردید. داده‌های مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way analysis of variance) یا (One-way ANOVA) و آزمون Posthoc LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. P کمتر از ۰/۰۵۰



شکل ۱. سطح سرمی (High sensitive C-reactive protein) hsCRP در گروه‌های مختلف آزمایش



شکل ۲. تغییرات سطح سرمی اینترلوکین-۶ در گروه‌های آزمایش

## بحث

هدف این مطالعه، بررسی اثر آگونیست‌های مختلف PPAR بر سطح سرمی عوامل التهابی در رت‌های مبتلا به دیابت بود. مطالعات قبلی نشان داده است که گیرنده‌های PPAR اثرات مختلفی بر بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از جمله بر سیستم قلبی-عروقی دارند و این گیرنده‌ها در بسیاری از بافت‌های بدن از جمله سلول‌های اندوتلیال، ماکروفاژها و سلول‌های عضله صاف بیان می‌شوند (۸-۹).

از سوی دیگر، نشان داده شده است که گیرنده‌های PPAR می‌توانند بر بیماری‌هایی که التهاب در آنان نقش دارند (مثل چاقی و دیابت) اثر داشته باشند (۱۷)، اما تناقضاتی در خصوص اثرات این گیرنده‌ها بر فرایند التهاب وجود دارد. یکی از جدیدترین مطالعات دوسوکور نشان داده است که ۱۶ هفته درمان با یک داروی آگونیست PPAR $\gamma$  به نام پیوگلیتازون سطح سرمی CRP، گلوکز و انسولین را در مقایسه با متفورمین کاهش بیشتری داده است (۱۸) و آن‌ها از این دارو به عنوان یک داروی پیشگیری کننده‌ی پدیده‌ی آترواسکلروز نام برده‌اند. مطالعات دیگری نیز نشان دهنده‌ی اثرات آگونیست‌های مختلف PPAR بر کاهش پدیده التهاب وجود دارد (۲۱-۱۹).

اما در عین حال، مطالعات متناقضی نیز در این

زمینه وجود دارد. به عنوان مثال، در مطالعاتی نشان داده شده است که آگونیست‌های PPAR $\gamma$  هیچ گونه اثر کاهنده‌ی التهابی ندارند (۱۱) که مشابه نتایج به دست آمده از این مطالعه است و حتی نشان داده شده است که ممکن است این داروها اثرات پیش التهابی نیز داشته باشند (۱۳). یک مطالعه نشان داده است که آگونیست‌های PPAR $\alpha$  با کاهش التهاب سبب بهبود فرایند آترواسکلروز می‌شوند (۱۰)، اما نتایج متناقض آن به صورت اثرات پیش التهابی این داروها نیز گزارش شده است (۹، ۱۲).

## نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تجویز آگونیست‌های مختلف گیرنده‌های PPAR در رت‌های مبتلا به دیابت تیپ یک، اثر معنی‌داری بر سطح سرمی hsCRP و ایترولوکین-۶ ندارند و بررسی‌های بیشتری در خصوص مکانیسم اثرات این داروها بر پدیده‌ی آترواسکلروز مورد نیاز است.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بابت تأمین هزینه‌های این مطالعه قدردانی می‌نمایند.

## References

1. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(9): 2045-51.
2. Bisoendial RJ, Boekholdt SM, Vergeer M, Stroes ES, Kastelein JJ. C-reactive protein is a mediator of cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2010; 31(17): 2087-91.
3. Pradhan AD, Ridker PM. Do atherosclerosis and type 2 diabetes share a common inflammatory basis? *Eur Heart J* 2002; 23(11): 831-4.
4. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990; 347(6294): 645-50.
5. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000; 405(6785): 421-4.
6. Touyz RM, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical

- implications. *Vascul Pharmacol* 2006; 45(1): 19-28.
7. Jones AB. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) modulators: diabetes and beyond. *Med Res Rev* 2001; 21(6): 540-52.
  8. Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta goes vascular. *Circ Res* 2008; 102(2): 146-7.
  9. Wang N. PPAR-delta in Vascular Pathophysiology. *PPAR Res* 2008; 2008: 164163.
  10. Zandbergen F, Plutzky J. PPARalpha in atherosclerosis and inflammation. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771(8): 972-82.
  11. Thieringer R, Fenyk-Melody JE, Le Grand CB, Shelton BA, Detmers PA, Somers EP, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma does not inhibit IL-6 or TNF-alpha responses of macrophages to lipopolysaccharide in vitro or in vivo. *J Immunol* 2000; 164(2): 1046-54.
  12. Hill MR, Clarke S, Rodgers K, Thornhill B, Peters JM, Gonzalez FJ, et al. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators on tumor necrosis factor expression in mice during endotoxemia. *Infect Immun* 1999; 67(7): 3488-93.
  13. Delerive P, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol* 2001; 169(3): 453-9.
  14. Katayama A, Yamamoto Y, Tanaka K, Matsubara K, Sugitani M, Fujihara S, et al. Fenofibrate enhances neovascularization in a murine ischemic hindlimb model. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54(5): 399-404.
  15. 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; 83(1): 61-71.
  16. Wang CH, Ciliberti N, Li SH, Szmítko 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.
  17. Moraes LA, Piqueras L, Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. *Pharmacol Ther* 2006; 110(3): 371-85.
  18. Genovese S, De BG, Nicolucci A, Mannucci E, Evangelista V, Totani L, et al. Effect of pioglitazone versus metformin on cardiovascular risk markers in type 2 diabetes. *Adv Ther* 2013; 30(2): 190-202.
  19. Youssef J, Badr M. Role of peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Biomed Biotechnol* 2004; 2004(3): 156-66.
  20. Vijay SK, Mishra M, Kumar H, Tripathi K. Effect of pioglitazone and rosiglitazone on mediators of endothelial dysfunction, markers of angiogenesis and inflammatory cytokines in type-2 diabetes. *Acta Diabetol* 2009; 46(1): 27-33.
  21. Libby P, Plutzky J. Inflammation in diabetes mellitus: role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists. *Am J Cardiol* 2007; 99(4A): 27B-40B.

## Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Agonists on Serum Inflammatory Markers in Diabetic Rats

Majid Khazaei MD, PhD<sup>1</sup>, Zoya Tahergorabi PhD<sup>2</sup>, Ensieh Salehi MSc<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Inflammation had a key role in several pathological conditions including atherosclerosis. Previous studies indicated that the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) are involved in numerous physiological and pathological conditions. The aim of this study was to investigate the effect of PPAR agonists including PPAR $\alpha$  (fenofibrate), PPAR $\beta/\delta$  (GW0742), PPAR $\gamma$  (rosiglitazone) and pan PPAR (bezafibrate) administration on serum high-sensitive C-reactive protein (hsCRP) and interleukine-6 (IL-6) in male diabetic rats.

**Methods:** The male Wistar rats were received streptozotocin for induction of type I diabetes. Then, they were randomly divided into five groups: diabetic, diabetic + fenofibrate (100 mg/kg/day; gavage), diabetic + GW0742 (1 mg/kg/day, subcutaneous), diabetic + rosiglitazone (8 mg/kg/day; gavage) and diabetic + bezafibrate (400mg/kg/day; gavage). After 21 days, the serum levels of hsCRP and IL-6 were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits.

**Findings:** Administration of different PPAR agonists did not alter serum hsCRP and IL-6 concentrations in diabetic animals.

**Conclusion:** It seems that changes of serum inflammatory markers are not responsible for effects of PPARs agonist in atherosclerosis process and other mechanisms should be studied.

**Keywords:** Inflammatory factor, Interleukine, C-reactive protein, Diabetes

**Citation:** Khazaei M, Tahergorabi Z, Salehi E. Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Agonists on Serum Inflammatory Markers in Diabetic Rats. J Isfahan Med Sch 2014; 32(277): 256-61

1- Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

3- 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