

مهار متیلاسیون H3K9 می تواند بیان پروتئین های مرتبط با حافظه را حفظ کرده و از اختلال شناختی ناشی از دمانس عروقی پیش گیری کند

فردین صحتی^۱ (PhD)، قربانگل اصحابی^{۱*} (استادیار)، مینا رنجبران^۱ (استادیار)، فاطمه نبوی زاده^۱ (استاد)، سید مرتضی کریمیان^۱ (استاد)، الهام زاهدی^۱ (دانشجوی دکتری)

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

فردین صحتی: sehaty-f@razi.tums.ac.ir

چکیده

هدف: دمانس عروقی (VD) در نتیجه انسداد، پارگی عروق و نهایتاً ایسکمی مغزی به وقوع پیوسته و منجر به کاهش پیش رونده قوای شناختی می گردد. متیلاسیون لایزین ۹ در هیستون شماره ۳ (H3K9me2) در طول دمانس عروقی افزایش یافته و بیان ژن های نوروپروتکتیو را مهار می کند.

مواد و روش ها: شریان های کاروتید در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر به منظور ایجاد مدل VD بسته شد و درمان با BIX01294 (مهارگر H3K9me2) به مدت یک ماه ادامه یافت (۲۲/۵ μm). میزان بیان پروتئین های P-CREB, cfos, brain derived neurotrophic factor (BDNF), H3K9me2, B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax) تست های رفتاری، رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (H&E)، کنگورد و تانل نیز به انجام رسید. به علاوه، تست های فلوسایتومتری و MTT در شرایط اینویترو انجام شد.

یافته ها: درمان با BIX01294 بیان پروتئین های P-CREB ($P < 0.05$), cfos ($P < 0.01$), BDNF ($P < 0.01$) را در ناحیه هیپوکمپ گروه درمان نسبت به گروه کنترل بهبود بخشیده و نسبت Bax/Bcl2 را کاهش داد ($P < 0.05$). تزریق داروی BIX01294 سطح آپوپتوز را کاهش داده ($P < 0.05$) و تعداد سلول های زنده را در گروه درمان نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($P < 0.01$). اما تأثیر معنی داری بر تجمع آمیلوئید بتا نداشت. اختلال شناختی و رفتار شبه اضطرابی در گروه درمان نسبت به گروه کنترل به شکل معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). درمان با BIX01294 هم چنین عملکرد حافظه ی فضایی و حافظه اجتنابی را در مقایسه با گروه کنترل به شکل قابل توجهی بهبود بخشید ($P < 0.01$ و $P < 0.05$ به ترتیب). اثر ضد آپوپتوزی BIX01294 در تست فلوسایتومتری هم تایید شد و نهایتاً تست MTT نشان از افزایش معنی دار میزان زندهمانی نورونی در گروه درمان نسبت به گروه کنترل داشت ($P < 0.001$).

نتیجه گیری: به طور خلاصه، استفاده ی طولانی مدت از BIX01294 می تواند مانع از آسیب پیش رونده ی نورونی پس از ایسکمی مغزی شده و با افزایش بیان عوامل نوروتروفیک و کاهش سطح آپوپتوز، خطر VD را کاهش دهد.

واژه های کلیدی: دمانس عروقی، ایسکمی، متیلاسیون هیستونی، H3K9



Inhibiting the H3K9 methylation can preserve the expression of the memory-related protein and ameliorate neurological deficits in vascular dementia

Fardin Sehati^{1*} (Ph.D candidate), Ghorbangol Ashabi¹ (Associate Professor), Mina Ranjbaran¹ (Associate Professor), Fatemeh Nabavizadeh¹ (Professor), Seyed Morteza Karimian¹ (Professor), Elham Zahedi¹ (PhD candidate)
1- Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Fardin Sehati: sehati-f@razi.tums.ac.ir

Introduction: Dementia develops as a result of multiple factors including cerebrovascular disease which is called vascular dementia (VD). Histone 3 lysine 9 dimethylation (H3K9me2) broadly increases during VD and inhibits neuroprotective gene expression.

Methods and Materials: Common carotid artery occlusion was employed in order to VD induction in male Wistar rats and followed by BIX01294 (H3K9me2 inhibitor) treatment (22.5 μ m) intraperitoneally for one month. P-CREB, cfos, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), H3K9me2, B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), and Bcl-2-associated X protein (Bax) were detected at the end of the experimental period. Behavioral tests, hematoxylin and eosin (H&E), Congo red, and TUNEL staining were carried out after treatment. Additionally, Flow cytometry and MTT test were performed in an invitro condition.

Results: Treatment with BIX01294 restored the expression of P-CREB ($P<0.05$), cfos ($P<0.01$), BDNF ($P<0.01$) and lowered the Bax/Bcl2 ratio ($P<0.05$) by suppressing the H3K9me2 ($P<0.001$) in the hippocampus of treatment group when compared to the VD group. BIX01294 injection reduced the apoptosis level in TUNEL staining ($P<0.05$) and raised neural cell count in H&E staining ($P<0.01$); however, it couldn't affect amyloid beta accumulation. Furthermore, neurological deficit and anxiety-related behavior significantly reduced in the treatment group against the VD group ($P<0.05$ for both). BIX01294 consumption also improved spatial and passive avoidance memory ($P<0.01$ and $P<0.05$ respectively) against the VD group. The anti-apoptotic impact of BIX01294 was validated by flow cytometry, and finally, the treatment group's cell viability considerably increased as compared to the VD group in the MTT assay ($P<0.001$).

Conclusion: In summary, long-term treatment with BIX01294 can prevent the progression of neuronal loss after ischemia and reduce the risk of VD by raising the expression of neurotrophic factors and reducing the apoptosis level.

Keywords: Vascular dementia, Ischemia, Histone methylation, H3K9

