مقاله پژوهشی

ارتباط بین کاهش ترشح پروتئین S100B توسط آروندیک اسید و مهار سمیت سلول‌های گلیای ناشی از بتا آمیلوئید در یک کشت سلول‌های آستروسیتی

مهشید حسینی[۱]، مجتبی کشاورز[۲*]، محمود وصال[۱]

۱- گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: فعال‌سازی سلول‌های گلیا نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی بیماری آلزایمر دارد. S100B یک فاکتور خاص آستروسیتی است که اثرات زیان‌آوری بر روی سلول‌های عصبی و غیر نورونی در سیستم عصبی مرکزی دارد. آروندیک اسید مانع ترشح و تولید S100B در آستروسیت‌ها می‌شود. بنابراین، هدف این پژوهش بررسی اثرات محافظتی آروندیک اسید در برابر سمیت بتا آمیلوئید از طریق کاهش میزان S100B در کشت سلولی آستروسیت 1321N1 بود.

مواد و روش‌ها: سلول‌های آستروسیت انسانی (1321N1) به مدت ۲۴ ساعت با بتا آمیلوئید (200 µM) و یا آروندیک اسید (50 µM) تیمار شدند. زنده‌مانی سلولی با استفاده از روش MTT (۳،۴،۵ دی متیل تیازول ۲،۵ دی فنیل تترازولیوم بروماید) اندازه‌گیری شد. سطح پروتئین S100B با استفاده از روش ELISA (الایزا) اندازه‌گیری گردید.

نتایج: تیمار با بتا آمیلوئید، باعث کاهش بقای سلول نسبت به گروه کنترل شد. در مقابل، اضافه کردن آروندیک اسید به بتا آمیلوئید، کاهش مرگ‌ومیر ناشی از بتا آمیلوئید را مهار کرد. بتا آمیلوئید همچنین سطح پروتئین S100B را افزایش داد. درحالی‌که آروندیک اسید از افزایش سطح پروتئین S100B ناشی از بتا آمیلوئید جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری: کاهش ترشح پروتئین S100B احتمالاً در بروز اثرات محافظتی آروندیک اسید در مقابل سمیت سلول‌های گلیای ناشی از بتا آمیلوئید در کشت آستروسیت‌ها نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: بیماری آلزایمر، پپتید بتا آمیلوئید، زیر واحد بتای پروتئین متصل شونده به کلسیم S100، آروندیک اسید، آستروسیت

مقدمه

بیماری آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو است که با اختلالات شدید شناختی و حافظه همراه بوده و همچنین از علل بسیار شایع فراموشی در افراد پیر است (۱). این بیماری دارای دو خصوصیت نوروپاتولوژیکی مهم است، یکی تجمع پلاک در قسمت خارج سلولی نورون‌ها بوده و پپتیدهای بتا آمیلوئیدی (Aβ)[۱] جزء اصلی این پلاک‌ها را تشکیل می‌دهند و دیگری تشکیل کلافه‌های نوروفیبریلاری در داخل نورون‌ها است که در اثر هیپرفسفریلاسیون پروتئین‌های تاو ایجاد می‌شوند که در قسمت هیپوکامپ و سایر نواحی قشری دیده می‌شوند (۲-۳).

پپتیدهای بتا آمیلوئیدی محصول طبیعی متابولیسم اسیدهای آمینه در بدن هستند و از شکسته شدن پروتئین پیش ساز آمیلوئید توسط عمل آنزیم برش دهنده پروتئین پیش ساز آمیلوئید که یک بتا-سکرتاز بوده و نیز آنزیم گاما -سکرتاز تولید می‌شوند (۴-۵). نپریلیسین و آنزیم تجزیه‌کننده انسولین[۲] دو آنزیم مهم تجزیه‌کننده پپتید بتا آمیلوئید بشمار می‌روند، کاهش این آنزیم‌ها باعث تجمع این پپتید در مغز شده و افزایش آن‌ها از تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئیدی جلوگیری می‌کند (۶-۷). عدم تعادل بین تولید و حذف پپتیدهای بتا آمیلوئیدی باعث تجمع

*نویسنده مسئول: مجتبی کشاورز، مرکز تحقیقات علوم اعصاب شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
E-mail: moj.ph60@yahoo.com
https://orcid.org:/0000-0003-2863-1309

[1]. β Amyloid
[2]. Insulin Degrading Enzyme

این پپتیدها شده و یک عامل شروع‌کننده برای بیماری آلزایمر به‌حساب می‌آید که به آن فرضیه آمیلوئید[3] می‌گویند (۸). این پلاک‌ها شامل رسوبات بتا-آمیلوئید، سلول‌های میکروگلیا، نورون‌های تخریب‌شده و تجمعاتی از آستروسیت‌ها هستند (۹).

در شرایط پاتولوژیک، آستروسیت‌ها دچار تغییرات عملکردی و فعالیتی شده که به آستروگلیوسیس معروف است و طی این فرایند بسیاری از عملکردهای مثبت آن‌ها دچار اشکال شده و شرایط برای آسیب نورونی فراهم می‌شود (۲).

در این شرایط یکی از فاکتورهای تولید و ترشح‌شده توسط آستروسیت‌ها که می‌تواند دارای نقش دوگانه در بیماری آلزایمر باشد، فاکتور S100B است (۱۰). فاکتور S100B ازجمله فاکتورهای وابسته به سلول‌های گلیا است که احتمالاً می‌تواند در اثرات سایتوتوکسیک بتا آمیلوئید نقش داشته باشد. فاکتور S100B بیشتر از سلول‌های گلیا ترشح می‌شود و می‌تواند هم نقش مهار آپوپتوز و هم القا آپوپتوز در سلول‌های نورونی و گلیا را داشته باشد. مشخص شده است که افزایش بیان S100B منجر به گلیوسیس فعال[4] در بیماری آلزایمر می‌شود (۱۱)؛ بنابراین S100B می‌تواند به‌عنوان یک هدف بالقوه و جدید برای درمان بیماری آلزایمر موردتوجه قرار گیرد (۱۲). این نوروتروفیک فاکتور یک پروتئین متصل شونده به کلسیم است که معمولاً توسط آستروسیت‌ها تولید و ترشح می‌شود و در فعالیت‌های متعدد سلولی ازجمله سیستم سیگنالینگ کلسیم، تنظیم شکل سلولی و رشد نورونی نقش دارد. البته شایان‌ذکر است که این نوروتروفیک فاکتور در غلظت‌های متفاوت اثرات متفاوت و گاه متضاد دارد، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های پایین دارای اثرات نوروتروفیک است اما در غلظت‌های بالا می‌تواند باعث آپوپتوز در نورون‌ها و سلول‌های گلیا ازجمله آستروسیت‌ها گردد (۹). شواهد متعدد نشان می‌دهد که سطح S100B می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر حساس برای آشکارسازی آسیب‌های حاد و مزمن سیستم عصبی مرکزی در نظر گرفته شود. به همین دلیل مهار تولید S100B احتمالاً می‌تواند منجر به بروز اثرات سودمند متعدد در سیستم عصبی مرکزی در شرایط پاتولوژیک گردد (۱۳). آروندیک اسید (ONO- 2506)، سروتونین در غلظت‌های نانومولار و غلظت‌های بالایی از گلوتامات ازجمله موادی هستند که می‌توانند باعث کاهش ترشح S100B شوند (۱۴-۱۵).

مطالعات قبلی نشان داده است که مصرف آروندیک اسید باعث کاهش میزان S100B در کشت سلولی نورونی می‌شود (۱۶). مطالعات *in vivo* نیز نشان داده است که مصرف آروندیک اسید باعث کاهش میزان S100B در مایع مغزی-نخاعی[5] شده است (۱۷). در این زمینه نشان داده شده است که آروندیک اسید می‌تواند با کاهش میزان S100B و به دنبال آن افزایش میزان Bcl-2 (از مهم‌ترین ترکیبات محافظت‌کننده نورونی) باعث بروز اثرات محافظت‌کنندگی نورونی گردد (۱۸).

بررسی مطالعات پیشین نشان داده که هیچ مطالعه‌ای به بررسی اثرات محافظت‌کنندگی آروندیک اسید در برابر نوروتروفیک فاکتور S100B در کشت سلول‌های آستروسیتی آلوده‌شده به بتا آمیلوئید در سیستم عصبی مرکزی اشاره نکرده است. ازاین‌رو در مطالعه حاضر اثرات محافظت‌کنندگی آروندیک اسید در برابر نوروتروفیک فاکتور S100B در کشت سلول‌های آستروسیتی آلوده‌شده به بتا آمیلوئید بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

کشت سلول‌های 1321N1

سلول‌های 1321N1 که منشأ این رده سلولی از آستروسیت‌های مغز انسانی است، از انستیتو پاستور ایران خریداری شد (ECACC Number: 86030402) و در فلاسک ۷۵ سانتی‌متر مکعب و در محیط DMEM/F12 (۱۵ میلی‌لیتر در هر فلاسک) همراه با اسیدآمینه غیرضروری Pyruvate(۱میلی‌مول)، FBS (۱۰٪)، پنی‌سیلین و استرپتومایسین (۱۰۰۰۰۰ واحد/ میلی‌لیتر) که از شرکت Gibsonآمریکا تهیه شد در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط مرطوب (هوای ۵٪ CO_2 و رطوبت ۹۵٪) قرار گرفت. پس از سه روز سلول‌ها به پلیت ۹۶ خانه با دانسیته ۳×۱۰^{۴} جهت انجام تست MTT (تهیه‌شده از شرکت Roth) و به پلیت ۶ خانه با دانسیته ۵×۱۰^{۵} در هر خانه، جهت انجام الایزا منتقل شدند (۱۹).

تعیین سمیت سلولی

برای تعیین سمیت سلولی از تست MTT استفاده شد (۲۰). بدین‌صورت که در پلیت‌های ۹۶ خانه سلول‌های 1321N1 با دانسیته ۳×۱۰^{۴} کاشته شدند و بعد از ۲۴ ساعت ماندن در

[3]. Amyloid Hypothesis
[4]. Reactive gliosis
[5]. Spinal Fluid

انکوباتور محیط حاوی ۱۰٪ FBS با محیط حاوی ۱٪ FBS و دارو (جهت تعیین دوز مؤثر بتا آمیلوئید و داروی آروندیک اسید) جایگزین شده و به مدت ۲۴ ساعت دیگر انکوبه شده و در پایان پروتکل، MTT در هر چاهک با غلظت نهایی 0.5mg/ml در محلول آب مقطر استریل اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون برای ۴ ساعت قرار گرفت سپس محیط حاوی MTT از پلیت‌ها خارج‌شده و 100 µl DMSO (تهیه‌شده از شرکت Charlee) به هر خانه اضافه گردید. دوز مؤثر انتخاب‌شده برای بتا آمیلوئید از بین دوزهای 50 µM-200 µM دوز 200 µM و برای آروندیک اسید از بین دوزهای 10 µM- 50 µM دوز 50 µM بود (۲۱). غلظت‌های فوق بر اساس آزمایش پایلوت با غلظت‌های مختلف هرکدام از مواد انجام شد و مناسب‌ترین غلظت مورداستفاده قرار گرفت. جذب نوری هر خانه پلیت در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا اندازه‌گیری شد.

گروه‌ها

گروه کنترل: در این گروه سلول‌های 1321N1 با حلال دارو مواجه شده و مانند گروه‌هایی که دارو دریافت کردند FBS محیط از ۱۰ درصد به ۱ درصد تغییر پیدا کرد.

گروه بتا آمیلوئید: در این گروه پس از به دست آمدن دوز مؤثر بتا آمیلوئید از بین دوزهای 50 µM- 200µM بر اساس تست (MTT assay) سلول‌ها با دوز مؤثر 200 µM مواجه شدند.

گروه بتا آمیلوئید به همراه آروندیک اسید: در این گروه پس از به دست آمدن دوز پروتکتیو آروندیک اسید از بین دوزهای 10 µM-50 µM سلول‌ها با دوزهای مؤثر 200 µM بتا آمیلوئید به همراه ۵۰ µM آروندیک اسید که از مطالعات MTT به‌دست‌آمده مواجه شدند. به این صورت که سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تماس با آروندیک اسید بوده سپس به مدت ۲۴ ساعت در تماس با بتا-آمیلوئید قرار گرفتند.

تعیین میزان S100B با استفاده از روش ELISA

سلول‌های 1321N1 کشت داده شده به‌واسطه بافر PBS لیز شدند. با استفاده از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه و در دور 5000g به مدت ۵ دقیقه، باقیمانده‌های سلولی جدا شدند و محلول به‌دست‌آمده مورداستفاده قرار گرفت. پس‌ازآن میزان پروتئین S100B با استفاده از کیت‌های اختصاصی ELISA که از شرکت My Bio source کانادا خریداری شد به روش الایزای ساندویچی (Sandwich ELISA) و با توجه به روش کار ارائه‌شده توسط شرکت‌های تولیدکننده هر کیت تعیین گردید (My Bio source # MBS2503148) (۲۲).

داروها

بتا آمیلوئید که از شرکت Sigma آمریکا تهیه شد در آب مقطر دیونیزه با غلظت ۲ میلی‌مولار حل شد. ۵۰ میکرومولار آروندیک اسید (تهیه‌شده از شرکت Tories انگلیس) در DMSO حل گردید (۵٪ v/v)، به‌طوری‌که غلظت نهایی DMSO در چاهک‌ها ۰/۱ ٪ در DMEM/F12 همراه با ۱٪ FBS بود.

آزمون آماری

برای بررسی آماری از تست آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن از تست Tukey برای مقایسه گروه‌های مختلف (۴ نمونه در هر گروه) دریافت‌کننده دارو استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. بررسی‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد.

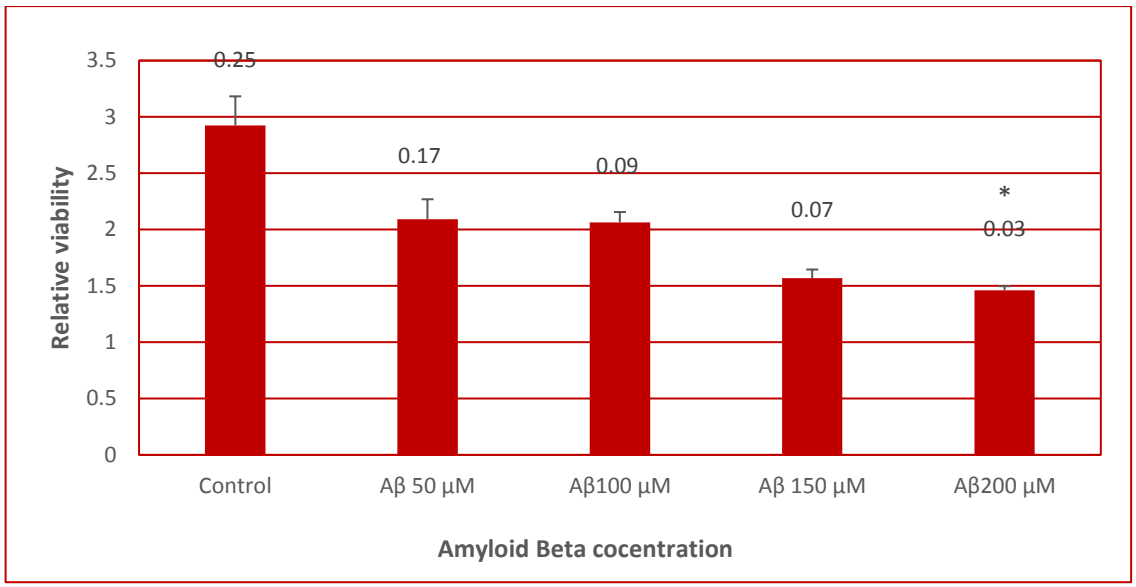
نتایج

انتخاب دوز مؤثر برای بتا آمیلوئید و آروندیک اسید

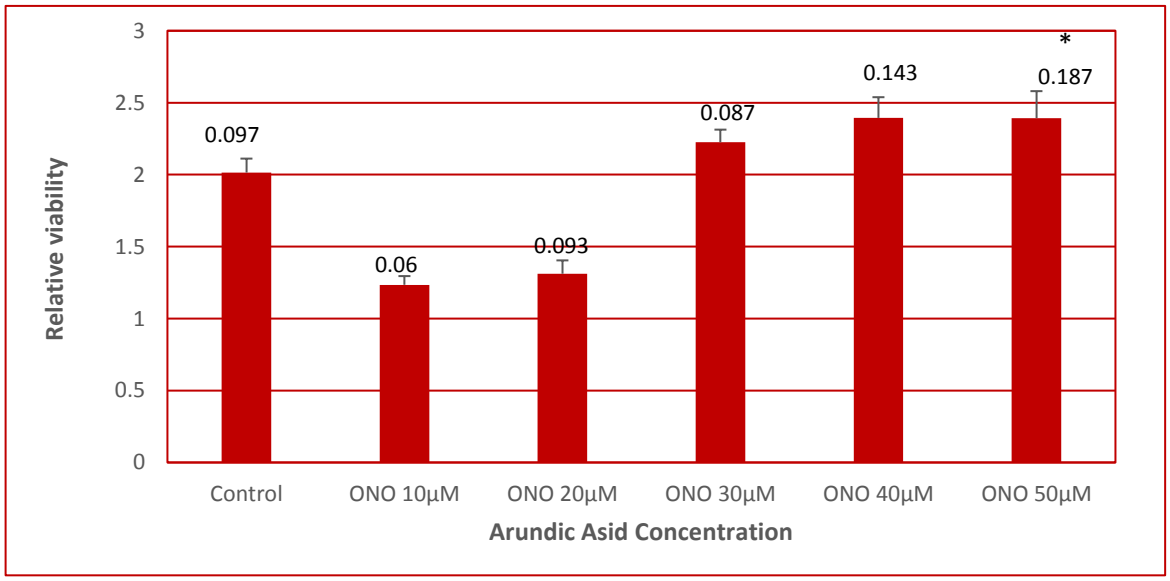
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دوز مؤثر بر اساس میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی 1321N1 برای بتا آمیلوئید از بین دوزهای 50 µM-200 µM دوز 200 µM و برای آروندیک اسید از بین دوزهای 10 µM- 50 µM دوز 50 µM بود. بررسی‌های بعدی نشان داد که بتا آمیلوئید در غلظت 200 µM به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی شد (p=0.000). درحالی‌که برای آروندیک اسید در غلظت 50 µM به‌صورت معنی‌داری باعث افزایش میزان زنده‌مانی شد، به‌گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری ازنظر زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت (p=0.239). غلظت‌های فوق بر اساس آزمایش پایلوت با غلظت‌های مختلف هرکدام از مواد انجام شد و مناسب‌ترین غلظت مورداستفاده قرار گرفت (نمودار ۱ و ۲).

میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی 1321N1 در سه گروه موردبررسی (گروه کنترل منفی، گروه دریافت‌کننده بتا آمیلوئید (غلظت 200 µM) و گروه دریافت‌کننده آروندیک اسید (50 µM) + بتا آمیلوئید (200 µM) به‌صورت معنی‌داری متفاوت بود (p=0.000). بررسی‌های بعدی نشان داد که بتا آمیلوئید در غلظت 200 µM به‌صورت معنی‌داری



نمودار ۱. میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی 1321N1 و انتخاب دوز مؤثر برای بتا آمیلوئید (Aβ). * سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است. تعداد تکرارها در هر گروه (n=4) است و نتایج بر اساس Mean± SE بیان شدند.



نمودار ۲. میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی 1321N1 و انتخاب دوز مؤثر برای آروندیک اسید (ONO).* سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است. تعداد تکرارها در هر گروه (n=4) است و نتایج بر اساس Mean± SE بیان شدند.

باعث کاهش میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی در مقایسه با گروه کنترل شد (p=0.000). علاوه بر این، اضافه شدن آروندیک اسید به بتا آمیلوئید باعث افزایش میزان زنده‌مانی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بتا آمیلوئید شد، به‌گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری ازنظر زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی بین گروه‌های کنترل منفی و دریافت‌کننده آروندیک اسید + بتا آمیلوئید وجود نداشت (p=0.134). درحالی‌که میزان زنده‌مانی در گروه دریافت‌کننده آروندیک اسید + بتا آمیلوئید به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گروه دریافت‌کننده بتا آمیلوئید بود (p=0.000) (نمودار ۳).

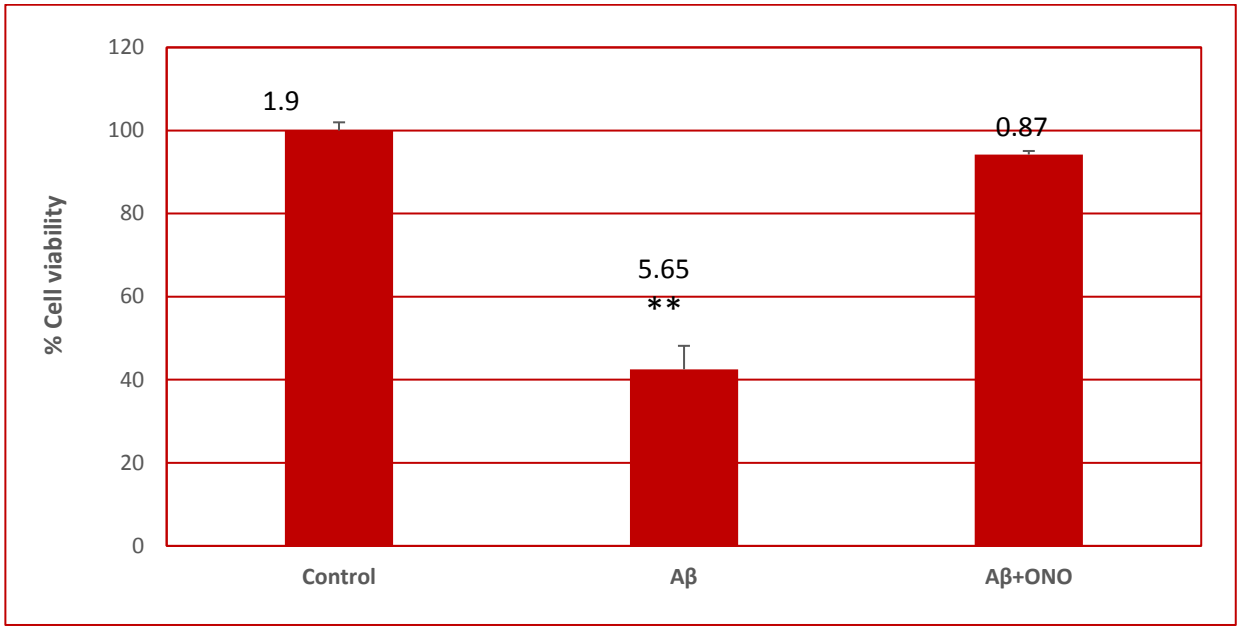
میزان پروتئین S100B در سلول‌های آستروسیتی

نتایج بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری نشان داد که سطح پروتئین S100B داخل سلولی به‌صورت معنی‌داری بین سه گروه موردمطالعه متفاوت بود (p=0.000). بررسی‌های بعدی نشان داد

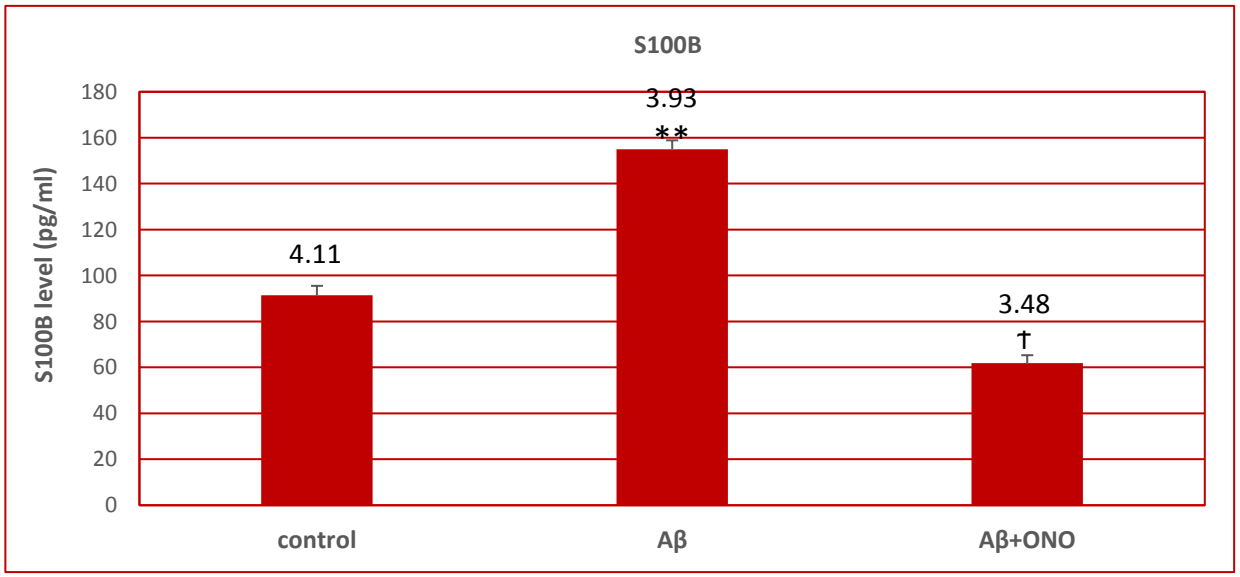
که استفاده از بتا آمیلوئید باعث افزایش میزان S100B در مقایسه با گروه کنترل در سلول‌های آستروسیتی شد (p=0.000). علاوه براین، مصرف آروندیک اسید باعث کاهش میزان S100B در مقایسه با گروه‌های کنترل (p=0.000) و گروه دریافت‌کننده بتا آمیلوئید (p=0.000) شد (نمودار ۴).

بحث

در مطالعه کنونی نشان داده شد که بتا آمیلوئید می‌تواند باعث مرگ سلول‌های آستروسیتی شود. مطالعات قبلی نیز تائید کردند که افزایش میزان بتا آمیلوئید باعث افزایش مرگ‌ومیر نورون‌ها



نمودار ۳. میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی 1321N1 پس از تیمار با بتا آمیلوئید (۲۰۰ میکرومولار) و آروندیک اسید (۵۰ میکرومولار). مرگ سلولی با استفاده از تست (MTT) اندازه‌گیری شد. ** سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است. تعداد تکرارها در هر گروه (n=4) است و نتایج بر اساس Mean± SE بیان شدند.Aβ:بتا آمیلوئید پپتید، ONO: آروندیک اسید.



نمودار ۴. سطح پروتئین S100B در سلول‌های آستروسیتی 1321N1 در گروه‌های تیمار شده با بتا آمیلوئید (۲۰۰ میکرومولار) و آروندیک اسید (۵۰ میکرومولار). میزان پروتئین S100B با استفاده از روش ELISA و کیت اختصاصی اندازه‌گیری شده است. ** سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل و † سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بتا آمیلوئید به‌تنهایی است. تعداد تکرارها در هر گروه (n=4) است و نتایج بر اساس Mean± SE بیان شدند. Aβ: بتا آمیلوئید پپتید، ONO: آروندیک اسید.

در نواحی مختلف مغزی مخصوصاً در نواحی هیپوکامپ و مغز جلویی می‌گردد (۲۳-۲۴).

طبق مطالعات گذشته افزایش غلظت بتا آمیلوئید و تغییرات پس از ترجمه در بتا آمیلوئید سرعت تجمع آن‌ها را به‌صورت انواع سمی و نامحلول تسریع می‌بخشد که با گسترش آن‌ها از یک ناحیهٔ از مغز به نواحی دیگر و پیشرفت بیماری آلزایمر همراه است (۲۵-۲۶). این مطالعه نیز نشان داد که بتا آمیلوئید در غلظت‌های بالا باعث افزایش میزان مرگ سلول‌های آستروسیتی می‌شود.

مطالعه حاضر بیان کرد که بتا آمیلوئید باعث افزایش میزان S100B می‌شود و احتمالاً افزایش میزان S100B نشان‌دهنده افزایش میزان مرگ آستروسیتی است. این موضوع از این نظر حائز اهمیت است که از بین رفتن آستروسیت‌ها احتمالاً می‌تواند روند تخریب نورونی را تسریع کرده و پیشرفت بیماری را تسریع کند. مطالعات پیشین نشان دادند که افزایش قابل‌توجه تولید S100B توسط آستروسیت‌ها باعث فعال شدن مسیرهای سیگنالیگ متعدد داخل سلولی می‌شود که این مسیرها خود باعث فعال شدن سایتوکاین‌های التهابی، افزایش بیان فیبرهای سلول‌های گلیال به دلیل پروتئین‌های اسیدی[6]، کاهش بیان ترانسپورتر گلوتامات و گیرنده گابا، کاهش سنتز گلوتاتیون و احتمالاً فعال شدن سیستم‌های آپوپتوز در نورون‌ها می‌شود (۱۸). به همین دلیل مهار تولید S100B احتمالاً می‌تواند منجر به بروز اثرات سودمند متعدد در سیستم عصبی مرکزی در شرایط پاتولوژیک گردد.

همچنین در این مطالعه نشان داده شد که آروندیک اسید باعث جلوگیری از مرگ آستروسیت‌ها به دلیل مواجهه با بتا آمیلوئید شده است. آروندیک اسید احتمالاً از طریق آستروسیت‌ها باعث ایجاد اثرات محافظت‌کنندگی در بیماری‌های نورودژنراتیو می‌شود. مطالعات پیشین نشان دادند که افزایش میزان S100B در کشت سلولی آستروسیت‌ها باعث افزایش بیان سنتز نیتریک اکسید می‌گردد و متعاقب آن وجود نیتریک اکسید سبب مرگ سلول‌های کشت‌شده آستروسایتی می‌گردد (۲۷). مطالعات قبلی نشان دادند که عمل محافظت‌کنندگی نورونی آروندیک اسید در ایسکمی مغزی با مهار سنتز S100B در آستروسایت‌ها همراه است. این مهار احتمالاً جزء مهم‌ترین وظیفه محافظت‌کنندگی نورونی آروندیک اسید است (۲۸).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که آروندیک اسید باعث افزایش زنده‌مانی سلولی و کاهش مرگ سلولی ناشی از بتا آمیلوئید در سلول‌های آستروسیتی 1321N1 می‌شود. استفاده از بتا آمیلوئید باعث افزایش میزان سطح پروتئین S100B در سلول‌های آستروسیتی شد و بنابراین، احتمالاً افزایش میزان S100B باعث کاهش میزان زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی می‌شود درحالی‌که مصرف آروندیک اسید باعث کاهش میزان سطح پروتئین S100B شد و افزایش زنده‌مانی سلول‌های آستروسیتی گردید؛ بنابراین شاید بتوان پیشنهاد کرد که اثرات محافظت‌کنندگی نورونی آروندیک اسید احتمالاً از طریق محافظت از آستروسیت‌ها و جلوگیری از افزایش میزان S100B در اثر فعال شدن آستروسیت‌ها اعمال می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر مجید رضا فرخی ریاست محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب شیراز و همچنین زحمات سرکار خانم آتنا امیری کارشناس آن آزمایشگاه که ما را در انجام کارهای عملی این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد. ضمناً مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه خانم مهشید حسینی با کد ثبت ۱۶۳۳۰۵۲۰۹۵۲۰۰۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

[6]. Glial fibrillary acidic protein (GFAP)

References

1. Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA, The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. Ann Neurol. 2009; 66(2):200-8.
2. Thal DR, Walter J, Saido TC, Fandrich M.Neuropathology and biochemistry of Aβ and its aggregates in Alzheimer's disease. Acta Neuropathol.2015; 129(2):167-82.
3. Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Gotz J. Tau aggregation and its interplay with amyloid-β. Acta Neuropathol. 2015; 129(2): 207-20.
4. Haass C, Selkoe DJ, Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β-peptide. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007; 8(2):101-12.
5. Cai H, Wang Y, McCarthy D, Wen H, Borchelt DR, Price DL, Wong PC, BACE1 is the major β secretase for generation of Aβ peptides by neurons. Nat Neurosci. 2001; 4(3):233-4.
6. Hersh LB, Rodgers DW, Neprilysin and amyloid beta peptide degradation. Curr Alzheimer Res. 2008; 5(2):225-31.
7. Miners JS, Baig S, Tayler H, Kehoe PG, Love S, Neprilysin and insulin-degrading enzyme levels are increased in Alzheimer disease in relation to disease severity. J Neuropathol Exp Neurol. 2009; 68(8):902-14.
8. Hardy J. The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: a critical reappraisal. J Neurochem. 2009; 110(4):1129-34.
9. Selkoe DJ, Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. Physiol Rev.2001; 81(2):741-66.
10. Sastre M, Klockgether T, Heneka MT.Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. Int J Dev Neurosci. 2006; 24(2-3):167-76.
11. Mrak RE, Griffinb WST,The role of activated astrocytes and of the neurotrophic cytokine S100B in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Neurobiol aging.2001; 22(6):915-22.
12. Sheng J, Mrak R, Griffin W,S100β protein expression in Alzheimer disease: potential role in the pathogenesis of neuritic plaques. J neuroscience research.1994; 39(4):398-404.
13. Michetti F, Corvino V, Geloso MC, Lattanzi W, Bernardini C, Serpero L, Gazzolo D. The S100B protein in biological fluids: more than a lifelong biomarker of brain distress. J Neurochem. 2012; 120(5):644-59.
14. Gonçalves D, Karl J, Leite M, Rotta L, Salbego C, Rocha E, et al. High glutamate decreases S100B secretion stimulated by serumdeprivation in astrocytes. Neuroreport. 2002; 13(12):1533–35.
15. Nardin P, Tramontina F, Leite MC, Tramontina AC, Quincozes-Santos A, de Almeida LM,et al. S100B content and secretion decrease in astrocytes cultured in high-glucose medium. Neurochem Int. 2007; 50(5):774-82.
16. Asano T, Mori T, Shimoda T, Tateishi N, Arundic acid (ONO-2506) ameliorates delayed ischemic brain damage by preventing astrocytic overproduction of S100B. Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders.2005; 4(2):127-42.
17. Steiner J, Bielau H, Bernstein HG, Bogerts B, Wunderlich MT. Increased cerebrospinal fluid and serum levels of S100B in first-onset schizophrenia are not related to a degenerative release of glial fibrillar acidic protein, myelin basic protein and neurone-specific enolase from glia or neurons. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2006; 77(11):1284-7.
18. Wajima D, Nakagawa I, Nakase H, Yonezawa T, Neuroprotective effect of suppression of astrocytic activation by arundic acid on brain injuries in rats with acute subdural hematomas. Brain Res.2013;26(1519):127-35.
19. Leite MC, Galland F, Brolese G, Guerra MC, Bortolotto JW, Freitas R et al. A simple,sensitive and widely applicable ELISA for S100B: Methodological features of the measurement of this glial protein.J Neurosci Methods. 2008; 169(1):93-9.
20. Salarian AA. JalaliA. Zare Mirakabadi A. Vatanpour H. Shirazi FH. Cytotoxic Effects of two Iranian Scorpions Odontobuthusdoriae and Bothutus saulcyi on Five Human Cultured Cell lines and Fractions of Toxic Venom. Iran J Pharm Res. 2012; 11(1):357-67.
21. Karki P, Hong P, Johnson JR, Pajarillo E, Son DS, Aschner M, et al. Arundic Acid Increases Expression and Function of Astrocytic Glutamate Transporter EAAT1 Via the ERK, Akt, and NF-κB Pathways. Mol Neurobiol. 2018; 55(6):5031-46.
22. Naganuma F, Yoshikawa T, Nakamura T, Iida T,Harada R, Mohsen AS, et al. Predominant role of plasma membrane monoamine transporters in monoamine transport in 1321N1, a human astrocytoma-derived cell line.J neurochem.2014;129(4):591-601.
23. Khaledi SH, Ahmadi SH. Amyloid Beta and Tau: from Physiology to Pathology in Alzheimer's disease. Neurosci J Shefaye Khatam. 2016; 4(4):67 -88. [in Persian]
25. Verkhratsky A, Zorec R, Rodrı´guez JJ, Parpura V, Astroglia dynamics in ageing and Alzheimer's disease. Curr Opin Pharmacol.2016; 26:74-9.
25. Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Munoz FJ, Ruiz F, Leighton F, The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease. Prog Neurobiol.2000; 62(6):633-48.
26. Wes PD, Sayed FA, Bard F, Gan L, Targeting microglia for the treatment of Alzheimer's disease. Glia.2016; 64(10):1710-32.
27. Esposito G, Cirillo C, Sarnelli G, De Filippis D, D'Armiento FP, Rocco A, et al. Enteric glial-derived S100B protein stimulates nitric oxide production in celiac disease. Gastroenterology. 2007; 133(3):918-25.

28. Tateishi N, Mori T, Kagamiishi Y, Satoh S, Katsube N, Morikawa E, et al, Astrocytic activation and delayed infarct expansion after permanent focal ischemia in rats. Part II: suppression of astrocytic activation by a novel agent, (R)-(_)-2-propyloctanoic acid (ONO-2506) leads to mitigation of delayed infarct expansion and early improvement of neurologic deficits. J Cereb Blood Flow Metab.2002; 22(6):723-34.

Original Article

The Contribution of S100B Suppression by Arundic Acid to the Inhibition of the Glio-Toxicity Induced by Beta-Amyloid in an Astrocytes Culture

Hosseini M[1], Keshavarz M[2*], Vessal M[1]

1. Department of Biochemistry, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Shiraz Neuroscience Research Center, Shiraz University of Medical sciences, Shiraz, Iran

Received: 14 Sep 2018 Accepted: 18 May 2019

Abstract

Background & Objective: It has been shown that glial activation has important role in the pathophysiology of Alzheimer's disease. S100B is an astrocyte specific factor with deleterious effects on the neuronal and non-neuronal cells in the central nervous system. Arundic acid is an agent that inhibits the secretion and production of S100B in astrocytes. Therefore, we aimed to evaluate the contribution of S100B in the cyto-protective effects of Arundic acid against beta-amyloid in 1321N1 astrocyte cell culture.

Materials & Methods: Human astrocyte cells (1321N1) were treated with beta-amyloid (200 μM) and / or Arundic acid (50 μM) for 24 hours. Cell viability was measured using the MTT (3, 4, 5-dimethylthiazole-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide) method. The S100B protein level was measured by the ELISA method.

Results: Beta-amyloid treatment reduced cell survival compared to the control-treated groups. In contrast, the addition of Arundic acid to beta-amyloid suppressed the beta-amyloid-induced cell death. Beta-amyloid also increased the S100B protein level. However, Arundic acid prevented the rise of S100B protein level induced by beta-amyloid.

Conclusion: The reduction of S100B protein secretion may be involved in the protective effects of Arundic acid against the beta-amyloid induced Glio-toxicity in the astrocyte culture.

Keywords: Alzheimer Disease, Amyloid beta-Peptides, S-100 Calcium Binding Protein beta Subunit, Arundic acid, Astrocytes

***Corresponding Author: : Keshavarz Mojtaba,** Shiraz Neuroscience Research Center, Shiraz University of Medical sciences, Shiraz, Iran
E-mail: moj.ph60@yahoo.com
https://orcid.org:/0000-0003-2863-1309

Journal of Fasa University of Medical Sciences 9 (2019): 1399-1407