

Abstract

Project Code: MRG5380171

Project Title: Apoptosis and the expression of Bcl-2 family and transforming growth factor β ₁ (TGF β ₁) signaling proteins in canine myxomatous mitral valve disease

Investigator: Dr. Sirilak Disatian Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok

E-mail address: sirilakd@hotmail.com

Project Period: 1 year

Myxomatous mitral valve disease (MMVD) is the most common acquired heart disease in dogs. An increased cell density has been reported in myxomatous valves. Cell proliferation is unlikely a major mechanism of increased cellularity. Decreasing in cell death or anti-apoptosis may play roles implicating persistence of cells in diseased valves. To determine apoptosis, the expression of cleaved caspase-3, DNA fragmentation (TUNEL marker) and apoptotic bodies was evaluated in normal (n=15), early stage (n=20) and late stage (n=20) MMVD valves. Cells in normal and both stages of MMVD expressed the TUNEL marker and cleaved caspase-3, but not apoptotic bodies. The percentage of TUNEL marker and cleaved caspase-3 positive nuclei was non-significantly different in three groups of dogs ($p < 0.05$). To determine the relationship between TGF β ₁ signaling and apoptosis, the expression of activated TGF β ₁ signaling protein, phosphorylated Smad2/3 (p-Smad2/3) and Bcl-2 family proteins (*bax* and *bcl-2*) was reviewed. P-Smad2/3 and pro-apoptotic protein, *bax* were up-regulated in myxomatous valve; whereas, anti-apoptotic protein, *bcl-2* was decreased. P-Smad2/3 expression increased only in late stage MMVD. These data suggest that cells in myxomatous valves undergo pro-apoptotic condition; however, these cells do not undergo execute apoptosis. The apoptosis remains unchanged during disease progression. The role of TGF β ₁-Smad signaling pathways in inducing pro-apoptotic state is unclear.

Keywords: apoptosis, *bax/bcl-2*, dogs, myxomatous valves, TGF β

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5380171

ชื่อโครงการวิจัย: การตายของเซลล์และการปรากฏของโปรตีนในตระกูลบีซีแอลสอง และทรานสฟอร์มมิงโกรวท์ แฟคเตอร์ เบต้า 1 ในโรคกล้ามเนื้อหัวใจไม่ทราบสาเหตุในสุนัข

ชื่อนักวิจัย: อ.สพ.ญ.ดร. สิริลักษณ์ ดิษเสถียร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

E-mail address: sirilakd@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 1 ปี

โรคกล้ามเนื้อหัวใจไม่ทราบสาเหตุเป็นโรคหัวใจที่เป็นภายหลังกำเนิดที่พบได้บ่อยในสุนัข มีรายงานการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ในกล้ามเนื้อหัวใจที่เสื่อม โดยที่การเพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) อาจไม่ใช่กลไกสำคัญในการเพิ่มจำนวนเซลล์ การตายที่ลดลงหรือการยับยั้งกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) อาจเป็นกลไกที่ทำให้เซลล์ในกล้ามเนื้อหัวใจที่เป็นโรคยังคงอยู่ การศึกษานี้ทำการประเมินการตายของเซลล์ โดยดูจากการปรากฏของ cleave caspase-3 การแตกของสายดีเอ็นเอ (TUNEL marker) และ apoptotic bodies ในกล้ามเนื้อหัวใจของสุนัขปกติ (n=15) สุนัขที่มีปัญหาหัวใจเสื่อมช่วงแรก (n=20) และช่วงท้าย (n=20) ผลการศึกษาพบการปรากฏของ TUNEL marker และ cleaved caspase-3 ในกล้ามเนื้อหัวใจปกติและกล้ามเนื้อหัวใจที่เป็นโรค แต่ไม่พบการปรากฏของ apoptotic bodies ร้อยละการปรากฏของ TUNEL marker และ cleave caspase-3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสุนัขทั้งสามกลุ่ม ($p < 0.05$) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง $TGF\beta 1$ signaling และการตายของเซลล์ โดยดูการปรากฏของ phosphorylated Smad2/3 (p-Smad2/3) และโปรตีนในตระกูล Bcl-2 (*bax* และ *bcl-2*) พบว่า p-Smad2/3 และ *bax* ซึ่งเป็นโปรตีนเหนี่ยวนำการตาย มีการปรากฏเพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อหัวใจที่เกิดการเสื่อม ในขณะที่ *bcl-2* โปรตีนที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการตายของเซลล์มีการปรากฏลดลง พบว่าการปรากฏของ p-smad2/3 จะมีการเพิ่มขึ้นเฉพาะในกล้ามเนื้อหัวใจที่เกิดการเสื่อมช่วงท้าย โดยสรุปจากข้อมูลที่ได้ เซลล์ในกล้ามเนื้อหัวใจเสื่อมน่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ภาวะเหนี่ยวนำให้เกิดการตาย (pro-apoptotic) อย่างไรก็ตามเซลล์เหล่านี้ไม่ได้เข้าสู่กระบวนการตายโดยสมบูรณ์ การตายของเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเกิดโรค ส่วนบทบาทของ $TGF\beta 1$ -Smad signaling ในการเหนี่ยวนำการตายของเซลล์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

คำหลัก: การตายของเซลล์ *bax/bcl-2* สุนัข กล้ามเนื้อหัวใจเสื่อม $TGF\beta 1$