Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۰، شماره ۶، صفحه ۹۷۶-۹۶۵ (۱۳۹۳)

اثر عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L.) در بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و نوروتروفین BDNF پس از ضایعه فشاری طناب نخاعی در موش‌های بزرگ

مرجان حشمتی[1*]، محمدرضا جلالی ندوشن[2] و شهرزاد فخریه[3]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

پست الکترونیک: heshmatimarjan@hotmail.com و heshmati@shahed.ac.ir

۲- استاد، گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۳- دانش‌آموخته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۱ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۲

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر عصاره آبی آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L.) در حیات سلول‌های عصبی حرکتی، بیان گیرنده مرگ ($P75^{NTR}$ و نوروتروفینمنتج از مغز) BDNF مورد بررسی قرار گرفت. ۲۴ موش بزرگ بالغ ماده نژاد اسپراگ داولی از انستیتو رازی تهیه شد. حیوانات به ۴ گروه: ۱- لامینکتومی (مهره ۱۱-۹ پشتی) و تزریق عصاره آبی آلوئه‌ورا، ۲- لامینکتومی و تزریق عصاره آبی آلوئه‌ورا به همراه فشار بر نخاع، ۳- لامینکتومی و تزریق سرم فیزیولوژی و ۴- لامینکتومی و تزریق سرم فیزیولوژی به همراه اعمال فشار بر نخاع تقسیم شدند. تزریقات روزانه و داخل صفاقی به مدت ۴ هفته انجام گردید. پس از گذشت ۴ هفته موش‌ها کشته شدند. شمارش سلول‌های عصبی حرکتی نخاع و مورفومتری انجام شد. بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و BDNF به روش ایمنوهیستوشیمیایی بررسی شد. نتایج مطالعات شمارش سلول‌های عصبی حرکتی نخاع و مورفومتری، حکایت از کاهش به همراه خونریزی و ایجاد حفره در لابه‌لای سلول‌های بافت نخاع بدنبال فشار مکانیکی داشت. عصاره آبی آلوئه‌ورا سبب کاهش مرگ سلول‌های عصبی حرکتی ($p \leq 0.05$) به همراه افزایش بیان BDNF گردید ($p \leq 0.05$)؛ باوجود افزایش بیان گیرنده $P75^{NTR}$ در گروه دوم، سبب کاهش معنی‌دار مرگ سلول‌های عصبی گردید ($p \leq 0.05$) که می‌تواند ناشی از نقش دوگانه گیرنده و خواص متعدد و متنوع گیاه آلوئه‌ورا باشد. البته اثر ایمنو مدولاتوری نیز به‌گونه‌ای نقش متعدد آلوئه‌ورا و حیات یا مرگ سلول‌های عصبی در زمان‌های مختلف نقش دوگانه گیرنده $P75^{NTR}$ را همانند نتایج تحقیق حاضر مطرح می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ضایعات مکانیکی طناب نخاع، عصاره آبی آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L.)، گیرنده مرگ ($P75^{NTR}$)، نوروتروفینمنتج از مغز (BDNF).

مقدمه

در بررسی بعمل آمده تصادفات و ترومای حاد عامل بسیاری از مرگ و میرها است. به‌طوری‌که تا سی سال پیش این‌گونه تصور می‌شد که راه مؤثری برای بهبود وضعیت افرادی که دچار ضایعات نخاعی می‌شوند وجود ندارد، اما اخیراً با پیشرفت‌های شگرف در حیطه علوم پایه پزشکی امید بهبودی و پیشرفت درمان در این دسته از بیماران نیز مطرح است (Hulsebosch, 2002). به‌نحوی که بدنبال اتصال لیگاند به گیرنده‌های غشای سلول عصبی آبشاری وقایع درون سلولی در سطح مولکولی رخ می‌دهد (Akhtar *et al.*, 2009). به‌عنوان مثال، در دوران رشد و نمو موجودات زنده ساختمان‌های زیادی تشکیل می‌شود که متعاقباً به‌وسیله مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوز حذف می‌شوند. این پدیده فیزیولوژیک در تمام مراحل

www.SID.ir

Archive of SID

زندگی مهره‌داران ادامه می‌یابد و نقش مهم و حیاتی این مکانیسم چند سالی است که مورد توجه محققان قرار گرفته است. البته در طی دوران تکوین پستانداران، تقریباً نیمی از سلول‌های عصبی سیستم اعصاب مرکزی و محیطی دستخوش این فرایند می‌شوند. در نهایت قسمت‌های مختلف این سیستم باقی مانده و رشد و تمایز طبیعی را می‌یابند (Jacobson *et al*., 1997). امروزه معتقدند تمام سلول‌های موجودات پرسلولی دارای برنامه مرگ سلولی آپوپتوزی‌اند، اما سیگنال‌های محیطی بقا، از فعال شدن این برنامه جلوگیری می‌کند (Liu *et al*., 1997). بنابراین نقش کلیدی آپوپتوز در بیشتر اختلالات رشد و نمو و بیماری‌های انسان مطرح می‌گردد. آپوپتوزیس ناکافی موجب اختلالات خودایمنی و سرطان و آپوپتوزیس بیش از حد موجب اختلالات دژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر و پارکینسون می‌شود، به همین دلیل شناخت جنبه‌های مولکولی این فرایند و نیز نحوه و چگونگی کنترل این فرایند دارای ارزش کلینیکی بالایی است (Le & Gean, 2009). حال این سؤال مطرح است که چه فاکتورها یا سیگنال‌هایی مرگ برنامه‌ریزی شده را به‌طور طبیعی در دستگاه عصبی باعث شده و کنترل این وقایع را به‌عهده دارند. مکانیسم اثر این فاکتورها چگونه است؟ یکی از تئوری‌های مطرح در حال حاضر تئوری انتقال پس‌نورد (retrograde) فاکتورهای نوروتروفینی است. بدین معنی که کاهش اندازه بافت هدف باعث کاهش نورون‌های سیستم عصبی می‌شود و به‌دنبال آن کاهش فاکتورهایی نظیر فاکتور رشد عصبی NGF (Nerve growth factor)، BDNF (Brain derived neurotrophic factor)، نوروتروفین ۳ (NT-3: Neurotrophin-3) و نوروتروفین ۴/۵ (NT-4/5: Neurotrophin-4/5) را درپی دارد (Yu *et al*., 1999).

تشعشعات امواج ماورای بنفش، بعضی از داروها و ترکیب‌های شیمیایی و ضایعات مکانیکی و ضربه سبب تغییرات عملکردی سیستم عصبی می‌گردد (Chopp *et al*., 2000). استفاده از ضایعه مکانیکی طناب نخاعی برای القاء آپوپتوز در نورون‌های حرکتی مورد تأیید محققان است. از آنجایی که اتصال نوروتروفین‌های NGF، BDNF، NT-4/5 و NT-3 به گیرنده‌های مستقر در غشای سلول بسیار اختصاصی است، این اتصال توانایی‌های مختلف و بعضاً متضادی را برای سلول فراهم می‌کند. به گونه‌ای که از یک طرف سبب حفظ نورون، تکثیر، مهاجرت، تمایز، رشد و ادامه روند چرخه سلولی، از سوی دیگر با جلوگیری از موارد فوق سبب آپوپتوز و از بین رفتن سلول خاص می‌شوند (Dolan *et al*., 1995).

یکی از انواع گیرنده‌ها $P75^{NTR}$ است، که می‌توان اعمال زیر را به آن نسبت داد: همکاری با گیرنده‌های تیروزین کیناز A، B و C (Trk-A، Trk-B، Trk-C) مهاجرت سلول شوان، انتقال سیناپسی، تنظیم فعالیت نرون حسی، تنظیم تمایز سلول‌های مربوطه، تنظیم جریان یون کلیسم و مرگ آپوپتوزی سلول (Xie *et al*., 2003). با اتصال نوروتروفین‌های NGF، BDNF، NT4/5 و NT-3 به گیرنده $P75^{NTR}$، دایمر شدن دو مولکول $P75^{NTR}$ رخ می‌دهد و بدین ترتیب آنها توانایی فسفریله کردن همدیگر را بدست می‌آورند؛ بدنبال آن فعال شدن پروتئین Ras و MAPKs (Mitogen activated protein) صورت می‌گیرد و پس از فسفریله شدن آنها سگینالی آبشاری هزاران پروتئین درون سلولی را فسفریله می‌کند (Ameloot *et al*., 2001). علاوه بر این، ترکیب گیرنده‌های Trk و $P75^{NTR}$ نیز کمپلکس‌های پیچیده‌ای می‌سازند که هر کدام از حالت‌های کمپلکس کنش و واکنش ویژه و اختصاصی را به همراه تغییر ساختار گیرنده در پی دارد (Ibanez & Simi, 2012).

به‌منظور تلفیق این مطالعه با طب گیاهی مطالعات زیادی در گروه طب سنتی دانشگاه شاهد انجام شده‌است و در نهایت از بین گونه‌های مختلف گیاهی، گیاه آلوئه‌ورا انتخاب گردید (Heshmati *et al*., 2013). این گیاه دارای تاریخچه بسیار قدیمی و کاملی در طب پزشکی بشر از قرن پنجم میلادی تا به امروز است (Loots du *et al*., 2008).

برای بررسی اثر نوروپروتکتیوی عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا از طریق تأثیر بر روی فعالیت گیرنده‌ها فرضیه‌ای مطرح شد مبنی بر اینکه: آیا گیاه آلوئه‌ورا خاصیت نوروپروتکتیوی دارد؟ آیا این تأثیر از طریق مکانیسم گیرنده $P75^{NTR}$ در سطح غشاء سلول اعمال می‌گردد؟ با در نظر گرفتن این فرضیات ایده‌ای طراحی شد که هدف از انجام آن تعیین نقش گیرنده و ارائه راهکارهای لازم و منطقی در کاهش و یا به حداقل رساندن فعالیت گیرنده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روشها

۲۴ موش بزرگ بالغ ماده به وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم از انستیتو رازی حصارک کرج تهیه گردید. سپس موش ها به‌طور تصادفی در ۴ گروه به تعداد مساوی قرار گرفتند. به‌طوری که در هر گروه ۶ حیوان قرار گرفت که ۳ حیوان برای مطالعات مورفولوژیک و شمارش سلولی و ۳ حیوان برای مطالعات ایمنوهیستوشیمیایی در نظر گرفته شد.

عمل لامینکتومی به‌روی مهره‌های نهم تا یازدهم پشتی انجام شد. تمام مراحل تحقیق با توجه به رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شاهد انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات

گروه ۱، گروه تحت تیمار با عصاره آبی آلوئه‌ورا ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بود که پس از لامینکتومی این عصاره را هر روز به میزان ۰/۲cc از طریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۲، گروه تحت تیمار با عصاره آبی آلوئه‌ورا ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بود (همانند گروه اول) که به همراه فشار مکانیکی به نخاع به میزان ۳۰ گرم بر واحد سطح به مدت ۱ دقیقه دریافت کردند.

گروه ۳، گروهی که پس از عمل لامینکتومی هر روز ۰/۲cc سرم فیزیولوژی از طریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۴، گروهی که تزریق روزانه ۰/۲cc سرم فیزیولوژی (همانند گروه سوم) به همراه فشار مکانیکی به نخاع به میزان ۳۰ گرم بر واحد سطح به مدت ۱ دقیقه دریافت کردند.

تهیه عصاره آبی آلوئه‌ورا

براساس روشی که قبلاً توسط Farahnejad و همکاران (۲۰۱۱) توصیف شده بود، تهیه شد. به‌طوری که برای ۲/۵mg/kg عصاره آبی آلوئه ورا، ۲۵ گرم از ژل وسط برگ را در ۱cc محلول سرم فیزیولوژی تهیه می‌کنیم؛ سپس با گذراندن مخلوط حاصل از میکروفیلتر ۰/۲ میکرومتر در ۳ مرحله، محلول استریل تهیه شد؛ محلول بدست‌آمده که به‌صورت محلول شفاف زرد رنگی است داخل سرنگ انسولین تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه در محیط یخچال نگهداری شد (Farahnejad *et al.*, 2011).

روش جراحی

ابتدا موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۲۵-۲۰ واحد سرنگ انسولین از محلول ترکیبی کتامین (به میزان ۲cc) و گزیلایزین (به میزان ۱/۲۵cc) بیهوش عمیق شده و با شمارش دنده‌های موش مهره ۱۳ پشتی مشخص و لامینکتومی مهره‌های نهم تا یازده پشتی انجام شد.

پس از رؤیت نخاع گیره کلیپس آنوریسم را در طرفین طناب نخاعی به مدت ۱ دقیقه قرار دادیم. سپس محل‌های برش زده شده را بخیه و آنتی‌بیوتیک سفازولین به میزان ۲ واحد از سرنگ انسولین را برای جلوگیری از عفونت مثانه تزریق کردیم (Dolan & Tator, 1979). تزریق روزانه داخل صفاقی عصاره آبی آلوئه‌ورا یا سرم فیزیولوژی پس از عمل لامینکتومی در حیوانات برحسب اینکه مربوط به کدام گروه هستند ادامه یافت.

تهیه نمونه‌های بافتی و ایمنوهیستو شیمیایی

نمونه‌های بافتی هر حیوان تهیه گردید. بدین منظور، بعد از گذشت ۲۸ روز یا ۴ هفته از روز عمل لامینکتومی، موش‌ها بی‌هوش عمیق و به‌وسیله پرفیوژن قلبی کشته شدند. پس از خروج نخاع مراحل مختلف آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی و قالب‌گیری با پارافین به روش روتین انجام شد (Bancroft & Stevens, 1990). سپس برش‌های ۶ میکرومتری به کمک دستگاه میکروتوم مدل ۸۲۰ لایکا انجام گردید.

به‌منظور شمارش سلولی و مورفومتری از روش رنگ‌آمیزی کرسیل فست ویولت (۰/۱٪ شرکت مرک آلمان) استفاده گردید. برای تهیه محلول رنگ‌آمیزی ۰/۱ گرم پودر کرسیل فست ویولت با فرمول C17H17CiN3N محصول شرکت Merck در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید که به این ترتیب محلول ۰/۱٪ رنگ بدست آمد. تمام نورون‌های حرکتی که در قسمت قدامی خارجی در هر دو نیمه نخاع قرار دارد در برش‌های سریال با بزرگنمایی X400 میکروسکوپ نوری زایس مورد شمارش قرار گرفتند. با تکنیک روتین هماتوکسیلین ائوزین درصد سلول‌های موجود در این منطقه نیز محاسبه شد.

برای بررسی نوروتروفین BDNF و گیرنده $P75^{NTR}$ از هر بلوک ۲۰ برش به‌صورت تصادفی ساده انتخاب شد. با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمی غیرمستقیم دو مرحله‌ای

www.SID.ir

Archive of SID

رنگ‌آمیزی انجام شد. ابتدا آنتی‌بادی اولیه پلی‌کلونال Rabbit Anti-Brain Derived neurotrophic Factor polyclonal antibody (شرکت کمیکون آمریکا) که به نسبت ۱/۵۰۰ با (فسفات بافر سالین) PBS ۰/۰۱ مولار رقیق شده بود، مورد استفاده قرار گرفت؛ همچنین آنتی‌بادی اولیه مونوکلونال Mouse anti low affinity NGF Receptor; $P75^{NTR}$ monoclonal antibody (شرکت کمیکون آمریکا) که به نسبت ۱/۳۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

در مرحله دوم از آنتی‌بادی حاوی پراکسیداز بر علیه آنتی‌بادی اولیه استفاده گردید، یعنی:

Peroxidas conjugated goat anti Rabbit immunoglobulins (شرکت DAKO آلمان) که آن به نسبت ۱/۱۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق و مورد استفاده قرار گرفت.

Peroxidase Conjugated goat anti Mouse immunoglobulins (شرکت DAKO آلمان) که به نسبت ۱/۱۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق و مورد استفاده قرار گرفت.

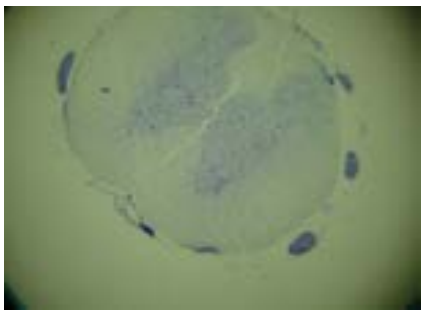
در نهایت با بکار بردن (دی‌آمینو بنزیدین) DAB (Diaminobenzidine tetrahydro chloride) بر روی نمونه‌ها، DAB به پراکسیداز موجود در آنتی‌بادی ثانویه واکنش نشان داده و رسوب قهوه‌ای رنگی ایجاد کرد که در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد. در پایان تکنیک، سلول‌های عصبی حرکتی که با بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده $P75^{NTR}$ واکنش نشان دادند شمارش شده، سپس میانگین و درصد آن محاسبه شد.

بررسی آماری

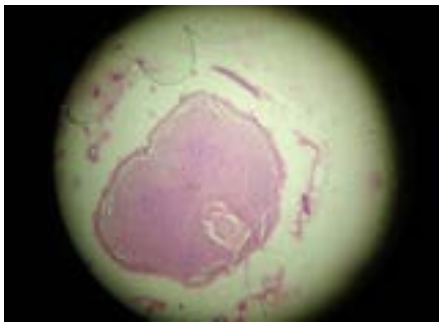
داده‌های بدست‌آمده به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج از آزمون تی‌تست و آنووای یک‌طرفه با نرم‌افزار SPSSVer19 استفاده گردید. به‌علاوه اینکه سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) برای تمام آنالیزها در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی سلول‌های عصبی حرکتی نخاع حکایت از حضور سلول‌های حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع دارد (شکل ۱). نتایج نشان داد در دو گروهی که علاوه‌بر لامینکتومی، فشار مکانیکی را نیز دریافت کردند، کاهش سلول‌های عصبی حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع به همراه ایجاد حفره در بین سلول‌ها و خونریزی در لابه‌لای سلول‌ها و داخل این حفرات داشت (شکل ۲).



شکل ۱- برش عرضی از نخاع موش بزرگ بالغ برای نمایش سلول‌های عصبی حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع (با رنگ‌آمیزی کرسیل فست ویولت و بزرگنمایی ۱۰۰)

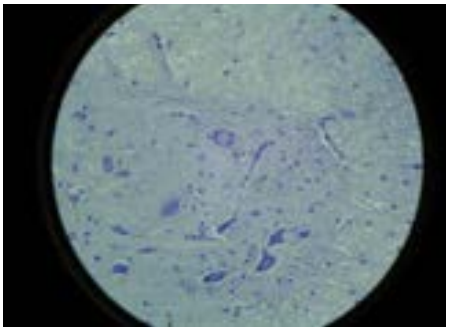


شکل ۲- برش عرضی از نخاع موش بزرگ بالغ برای نمایش بافت سفید و خاکستری در پشت کانال مرکزی حفره در بین سلول‌ها و خونریزی در لابه‌لای سلول‌ها و داخل این حفرات مشخص است. (با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و بزرگنمایی ۱۰۰)

نتایج رنگ‌آمیزی اختصاصی اجسام نیسل حکایت از کروماتولیز شدن وآپوپتوز سلول‌های عصبی حرکتی دارد. اجسام نیسل به‌ویژه در اطراف هسته از بین رفته‌اند. دانیسیته کاملاً افزایش یافته و هسته و سیتوپلاسم از یکدیگر قابل تشخیص نیست و سلول کاملاً چروکیده شده است (شکل ۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- برش عرضی از بافت نخاع موش بزرگ (تصویر نورون‌ها را در مراحل آپوپتوز در کنار نورون سالم نشان می‌دهد.) (با رنگ‌آمیزی کرسیل فست ویولت و بزرگ‌نمایی ۴۰۰)

تعداد سلول‌های عصبی حرکتی در دو گروهی که هیچ‌گونه فشار مکانیکی دریافت نکردند تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. در صورتی‌که مقایسه این دو گروه (گروه ۱ و گروه ۳) با دو گروه دیگر (گروه ۲ و گروه ۴)، یعنی گروه‌هایی که به همراه عصاره آبی آلوئه‌ورا یا سرم فیزیولوژی فشار مکانیکی نیز دریافت کردند، نشان داد که فشار مکانیکی سبب کاهش سلول های عصبی حرکتی گردید (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه بین شمارش سلولی کل سلول های عصبی حرکتی بین دو گروه (گروه ۲ و گروه ۴) که فشار مکانیکی را دریافت نمودند با استفاده از آزمون تی‌تست نشان می‌دهد که در گروه درمان نشده (گروه ۴) سلول‌های عصبی حرکتی کاهش معنی‌داری دارد ($p \leq 0.05$). البته در گروهی که ۴ هفته عصاره آبی آلوئه ورا (گروه ۲) دریافت کردند تأثیر عصاره در حفظ سلول‌های عصبی با اختلاف معنی داری بیشتر است ($p \leq 0.05$) (شکل ۶).

پس از شمارش سلول‌های عصبی حرکتی در هر ۴ گروه (جدول ۱) بیشترین میزان سلول مربوط به گروه ۱ تحقیق است. این عدد به‌عنوان مبنا برای بررسی تغییرات ۳ گروه دیگر در نظر گرفته شد. البته درصد کاهش نورون‌های حرکتی در گروه‌ها بدست آمد (جدول ۲).

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار تعداد کل سلول‌های عصبی حرکتی در گروه‌ها

زیر گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی در بخش آسیب‌دیده	تحلیل آماری
گروه ۱: تحت تیمار با تزریق روزانه عصاره آلوئه‌ورا پس از لامینکتومی	۲۴۸۹ ± ۱۰۱	$p < ۰/۰۵$
گروه ۲: تحت تیمار با تزریق روزانه عصاره آلوئه‌ورا پس از لامینکتومی به همراه اعمال فشار مکانیکی بر نخاع	۱۳۷۶ ± ۱۳۵ ❋	$p < ۰/۰۵$
گروه ۳: تزریق روزانه سرم فیزیولوژی پس از لامینکتومی	۲۳۴۲ ± ۱۴۲	$p < ۰/۰۵$
گروه ۴: تزریق روزانه سرم فیزیولوژی به همراه اعمال فشار مکانیکی بر نخاع	۶۰۱ ± ۱۱۳ ❋	$p < ۰/۰۵$

❋= Significant ($p \leq 0.05$)

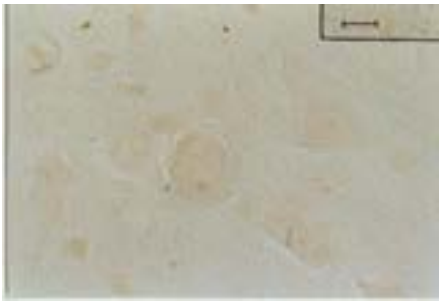
جدول ۲- درصد کاهش نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع

گروه‌های بررسی	درصد کاهش یا افزایش تعداد سلول‌های حرکتی نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره آلوئه‌ورا (گروه ب)
گروه ۱	٪۰
گروه ۲	٪-۴۰/۶ ❋
گروه ۳	٪ - ۵/۵
گروه ۴	٪ -۷۵/۵ ❋

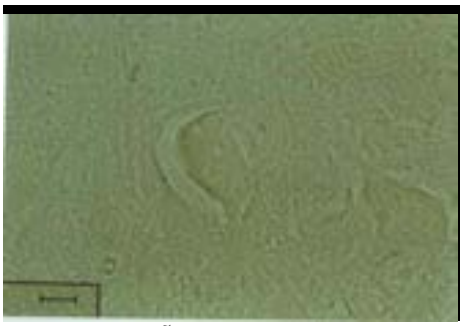
❋= Significant ($p \leq 0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴- چند سلول عصبی حرکتی که با آنتی بادی علیه BDNF واکنش مثبت نشان داده‌اند (با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰)



شکل ۵- سلول عصبی حرکتی که با آنتی‌بادی علیه $P75^{NTR}$ واکنش مثبت نشان داده (با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰)

در بررسی ایمنوهیستوشیمیایی سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی نخاع که دارای واکنش BDNF یا $P75^{NTR}$ مثبت بودند، شمارش گردیدند (شکل ۴ و ۵). میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی که واکنش مثبت نشان دادند در این نمونه‌ها بدست آمد (جدول ۳). با محاسبه میانگین و انحراف معیار کل سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی خارجی نخاع، درصد بیان در هر ۴ گروه مشخص شد (جدول ۴). با استفاده از آزمون آماری S-K test برای بررسی نرمالیتی، نتایج نشان می‌دهد که داده‌های گروه‌های مورد بررسی از توزیع نرمال تفاوتی ندارد ($p \leq 0.05$)، بدین ترتیب با استفاده از روشهای آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) مقایسه بین میانگین سلول‌هایی که واکنش مثبت نشان داده‌اند در هر۴ گروه با یکدیگر انجام شد.

نتایج نشان می‌دهد که بیان نوروتروفین BDNF در گروه اول از تمام گروه‌ها با اختلاف معنی‌داری بیشتر است ($p \leq 0.05$). مقایسه بیان نوروتروفین در دو گروه اول و سوم نیز اختلاف معنی‌داری دارد. یادآور می‌گردد که این دو گروه از نظر تعداد سلول‌های عصبی حرکتی بیشترین مقدار را داشتند (جدول ۱)، در حالی که مقایسه بیان نوروتروفین BDNF بین گروه دوم و سوم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. گیرنده $P75^{NTR}$ نیز در تمام گروه‌ها بیان گردید. گروه دوم و چهارم بیشترین میزان بیان را داشتند. البته در گروه دوم بیان گیرنده $P75^{NTR}$ با اختلاف معنی‌دار از همه گروه‌ها بیشتر است. به‌عبارتی فشار مکانیکی موجب افزایش بیان گیرنده $P75^{NTR}$ گردید.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی که در واکنش ایمنوهیستوشیمیایی پاسخ مثبت داده‌اند

نوع واکنش ایمنوهیستوشیمیایی	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
BDNF	۹/۷ ± ۲/۲ ❊	۵/۳ ± ۲/۱	۵/۳ ± ۱/۳	۰/۳ ± ۰/۱
$P75^{NTR}$	۰/۴ ± ۰/۱	۶/۱ ± ۱/۱ ❊	۰/۶ ± ۰/۱	۲/۰ ± ۰/۲

Significant ($p \leq 0.05$) =❊

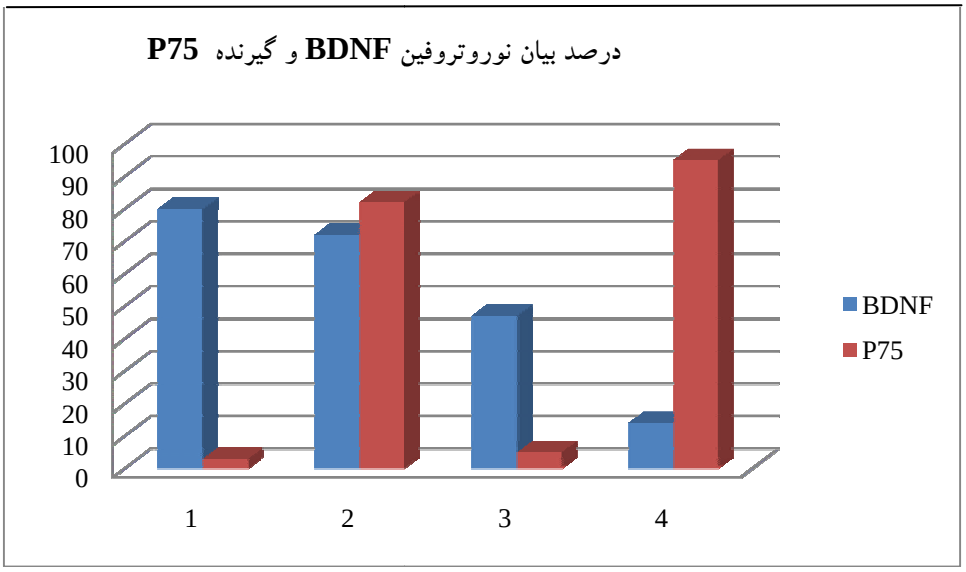
جدول ۴- درصد پاسخگویی سلول‌های عصبی حرکتی در واکنش ایمنوهیستوشیمیایی نسبت به کل سلول‌های عصبی حرکتی منطقه

نوع واکنش ایمنوهیستوشیمیایی	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
BDNF	٪۷۹/۵۰	٪۷۱/۶۲	٪۴۶/۹۰	٪۱۴/۲۸
$P75^{NTR}$	٪۳/۲۷	٪۸۲/۴۳	٪۵/۳۰	٪۹۵/۲۳

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج نشان می‌دهد که ۷۹/۵۰٪ سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی نخاع در گروه ۱ به واکنش آنتی‌بادی علیه BDNF پاسخ مثبت داده‌اند، در حالی‌که در گروه ۲، ۳ و ۴ این درصد پاسخگویی به‌ترتیب ۹۰/۶۲، ۴۶/۷۱ و ۱۴/۲۸ است. البته درصد بیان در دو گروه اول و دوم تفاوت معنی داری ندارد. همچنین نتایج نشان می‌دهد سلول هایی که توسط آنتی‌بادی $P75^{NTR}$ شناسایی شدند در گروه ۱، ۳/۲۷٪ بوده‌است و در گروه‌های ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب ۳۰/۴۳٪، ۵/۸۲٪ و ۹۵/۲۳٪ است (شکل ۶). البته درصد بیان گیرنده در دو گروه دوم و چهارم با اختلاف معنی داری بیشتر از دو گروه دیگر یعنی گروه‌های اول و سوم است.



شکل ۶- درصد بیان سلول‌های عصبی حرکتی که در واکنش ایمنوهیستوشیمیایی پاسخ مثبت داده‌اند

بحث

از آنجایی‌که معلوم شده زمان بیان گیرنده‌ها و نوع فاکتورهایی که به‌عنوان لیگاند گیرنده نقش بازی می‌کنند کلید اصلی فعالیت گیرنده‌های سطح سلولی است. بنابراین میزان، نوع و زمان حضور نوروتروفین‌ها سبب فعالیت‌های مختلف و بعضاً متضاد گیرنده‌ها می‌شود و گیرنده‌ها نقش دوگانه خود را برای مرگ یا حیات سلول ایفا می‌کنند (Ibanez & Simi, 2012). ازاین‌رو بر آن شدیم برای پی بردن به اثر عصاره آبی آلوئه‌ورا در سل سیگنالینگ، چگونگی بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده $P75^{NTR}$ را بررسی کنیم.

نتایج بدست‌آمده در این تحقیق حکایت از کاهش تعداد سلول‌های عصبی حرکتی، به‌دلیل مرگ سلول‌های عصبی حرکتی پس از اعمال فشار مکانیکی بر نخاع دارد. البته تاکنون مکانیسم‌های دخیل در مرگ سلول‌های عصبی حرکتی پس از صدمه مکانیکی بر نخاع به خوبی شناخته نشده‌است، اما شواهدی مبنی بر مرگ از نوع آپوپتوزی مشخص است. مطالعات مورفومتری با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی اجسام نیسل، نشان داد که تعداد سلول‌های عصبی حرکتی در دو گروه دوم و چهارم که فشار مکانیکی دریافت کردند کاهش معنی‌داری داشت. این کاهش در مقایسه با تعداد سلول‌ها در دو گروه ۱ و ۳ مشهود است. اثر نوروپروتکتیوی عصاره سبب حفظ سلولهای عصبی حرکتی گردید. این نکته در مقایسه نتایج دو گروه دوم و چهارم که نخاع تحت فشار مکانیکی قرار گرفت، مشخص است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد عصاره در گروه دوم جلوی مرگ را گرفته، در حالی‌که گروه چهارم یعنی گروهی که سرم فیزیولوژی دریافت نمودند مرگ سلول‌های عصبی حرکتی به بیشترین میزان رسیده است. یعنی عصاره آبی آلوئه‌ورا می‌تواند جلوی روند مرگ اپوپتوتیکی را تا حدی بگیرد و کاهش مرگ سلول‌های عصبی خود دلیلی بر این ادعاست. حتی مقایسه دو گروه اول و دوم تصور این‌که

www.SID.ir

Archive of SID

به‌گونه‌ای عصاره سبب افزایش تعداد سلول‌های عصبی حرکتی می‌گردد را امکان‌پذیر می‌کند. به‌طوری که شمارش سلولی در گروه ۱ بیشترین میزان را نشان داد ($p \leq 0.05$) و این افزایش نسبت به گروه سوم که هیچ دستکاری بجز لامینکتومی نداشتند بدون اختلاف معنی‌دار دیده شد. بنابراین فرضیه احتمال تأثیر عصاره با دوزهای مختلف بر مکانیزم حفظ و نگهداری حیات سلول در این تحقیق مطرح است.

همچنین نتایج این تحقیق هم‌راستا با نتایج تحقیقات Liu و همکاران (۱۹۹۷) است که خصوصیات مرگ سلول‌های عصبی حرکتی و سلول‌های گلیال را در صدمات مکانیکی طناب نخاعی از نوع مرگ آپوپتوتیک ارائه کرده است. نتایج تحقیق دیگری نیز وقوع آپوپتوز را به‌دنبال ضربات مکانیکی نخاع مطرح و اظهار کرده‌اند که سلول‌های آپوپتوتیک را از ۶ ساعت تا ۳ هفته بعد از ضایعه به‌خصوص در بافت سفید نخاع مشاهده کردند (Crowe *et al*., 1997). در راستای همین نتایج محققان دیگری نیز مرگ سلول‌های عصبی و سلول‌های گلیال را در صدمات مکانیکی طناب نخاعی از نوع مرگ آپوپتوتیک ارائه نمودند (Hains *et al*., 2001).

نتایج مطالعات ایمنوهیستوشیمیایی نشان می‌دهد که درصد پاسخگویی سلول‌های عصبی حرکتی در منطقه شاخ قدامی خارجی نخاع (جدول ۴) حکایت از اختلاف بیان نوروتروفین و گیرنده در بین ۴ گروه تحقیق دارد، به‌طوری که در گروه‌های اول، سوم و چهارم نسبت بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده P75 به‌صورت معکوس است (جدول ۳). به‌طوری که در گروه اول بیان نوروتروفین با حداکثر میزان است. در حالی‌که در این گروه بیان گیرنده بسیار کم است. در گروه چهارم بعکس گروه اول میزان بیان گیرنده بیشتر از سایر گروه‌ها و میزان بیان نوروتروفین کمترین میزان است. در گروه سوم نیز به‌همین ترتیب بین بیان نوروتروفین و گیرنده رابطه معکوس است. این نتایج هم‌راستا با نتایج Scott و Ramer (۲۰۱۰) است که در گزارش خود ارتباط معکوس بین بیان گیرنده P75 را با نوروتروفین BDNF در دوران بلوغ و همچنین در دوران جنینی ارائه نمودند (Taylor *et al*., 2012). در دو دهه اخیر فرضیه‌ها و نظریه‌های متعددی در این زمینه ارائه شده است. در یکی از این نظریه‌ها کلید اصلی حفظ یا مرگ سلول‌های عصبی را به مکانیسم سیگنال سلولی ارتباط می‌دهد. بخشی از این گزارش‌ها معطوف به انتقال پس‌نورد عوامل تروفیکی مشتق از بافت هدف یا سلول‌های اطراف ضایعه می‌باشد و از آنجایی‌که این عوامل نقش مؤثری در حفظ نورون‌ها دارند با اعمال فشار، تأثیر عوامل نروتروفیکی بافت هدف یا بافت اطراف به‌روی سلول‌های موتونورون قطع یا مختل می‌شود (Sadel *et al*., 1999).

همانند نتایج تحقیقی که به تأثیر متفاوت دوزهای نوروتروفین می‌پردازد (Boyd & Gordon, 2002) و در تحقیقی دیگر که نتایج آن هم‌راستا با نتایج بدست‌آمده در تحقیق حاضر می‌باشد، تأثیر عصاره آبی آلوئه‌ورا به‌صورت عاملی کمکی در برگشت سلول‌ها از مرگ در روند مرگ آپوپتوتیک ذکر شد. این تأثیر از طریق مکانیسم نقل و انتقالات پیام شیمیایی به‌ویژه افزایش سیناپتوفیزین (پروتئین غشاء وزیکول سیناپسی) عنوان گردید (Heshmati *et al*., 2013). همچنین در تحقیق دیگری افزایش بیان گیرنده P75 را مجدداً در دوران پیری نشان داد و این افزایش بیان با افزایش بیان نوروتروفین NGF همزمان گزارش گردید (Friedman, 2000).

نتایج گروه دوم متفاوت از سایر گروه‌هاست. یعنی با وجود افزایش بیان گیرنده P75 به‌دنبال فشار مکانیکی بر نخاع و مرگ سلول‌ها درصد بیان نوروتروفین BDNF نیز بیشتر است. یعنی در این گروه مرگ سلولی می‌تواند ناشی از فعالیتی غیر از مسیرهای سه گروه دیگر باشد. نتایج بدست‌آمده همسو با نتایج تحقیق دیگری است که نشان داده به‌دنبال صدمات مکانیکی بر نخاع تغییراتی در بیان گیرنده‌ها و نوروتروفین‌های وابسته ایجاد می‌شود که در نمونه موش بالغ با صدمه مکانیکی بر نخاع بیان گیرنده P75 و نوروتروفین BDNF افزایش یافت (Widenfalk *et al*., 2001). نتایج نشان داد که بین درصد بیان نوروتروفین در بین دو گروه اول و دوم تفاوت معنی‌دار نیست. به‌طوری که در گروه دوم با وجود کاهش تعداد سلول‌ها نسبت به گروه اول درصد بیان مشابه گروه اول است. این نشان می‌دهد که در گروه دوم حدود ۷۱٪ از سلول‌های زنده باقی‌مانده به واکنش نوروتروفین واکنش مثبت نشان داده‌اند. در گروه اول ۷۹٪ از سلول‌ها پاسخ مثبت نشان دادند که از نظر آماری بین دو گروه اول و دوم تفاوت معنی‌داری نیست؛ این افزایش بیان می‌تواند ناشی از تأثیر عصاره به‌دنبال صدمه مکانیکی بر نخاع باشد. بدین ترتیب تأثیر نوروپروتکتیوی عصاره مطرح می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

همان‌طور که ذکر شد، افزایش نوروتروفین احتمال فعال‌سازی مسیرهای دیگر را امکان‌پذیر می‌سازد. این تصور چند سالی است نظر محققان را به‌خود جلب کرده که مسیر فعالیت نوروتروفین‌ها از طریق اتصال به گیرنده‌های دیگر نظیر تیروزین کینازها باشد (Ichim *et al*., 2012)، یا از سوی دیگر نقش دوگانه گیرنده P75 مطرح می‌شود که فرضیه نقش دوگانه گیرنده P75 امروزه به‌عنوان موضوعی جدید و قابل تحقیق مطرح است (Song *et al*., 2010).

گیرنده $P75^{NTR}$ نیز در تمام گروه‌ها بیان گردید. به‌طوری که بیشترین درصد پاسخگویی مربوط به گروه چهارم (۹۵/۲۳٪) است. این میزان در مقایسه با گروه دوم تفاوت آماری معنی‌داری ندارد. در حالی‌که در مقایسه با گروه اول و گروه سوم تفاوت معنی‌دار است ($p \leq 0.05$)، به‌عبارتی کمترین میزان بیان گیرنده $P75^{NTR}$ مربوط به گروه اول (۳/۲۷ ٪) است. نتایج تحقیق نشان داد با وجود افزایش بیان گیرنده مرگ و نوروتروفین، در گروه دوم که فشار مکانیکی بر نخاع داشتند، مرگ سلولی کمتر است و این می‌تواند کلید حل معمای تحقیق باشد که با تأثیر عصاره آلوئه‌ورا نقش دوگانه گیرنده مطرح شده و گیرنده $P75^{NTR}$ در کنار نوروتروفین BDNF می‌تواند مانع از مرگ سلول حرکتی در گروهی که فشار مکانیکی دریافت نمودند، شود. در حالی‌که در گروه چهارم فشار مکانیکی سبب افزایش بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و مرگ سلول‌های عصبی حرکتی شد. نتایج این مطالعه هم‌راستا با مطالعاتی است که اذعان می‌کند نقش پیچیده و دوگانه این گیرنده‌ها به‌خوبی مشخص نیست و به‌دنبال اتصال نوروتروفین NGF، BDNF، NT-4/5 و NT-3 به گیرنده $P75^{NTR}$ و اتصال BDNF به‌طور اختصاصی به گیرنده Trk-B سبب فعال شدن مکانیسم‌های درون سلولی با طیف گسترده مرگ تا حیات را در سلول‌های عصبی موجب می‌شود (Hajebrahimi *et al*., 2008). تحقیق دیگر نقش حفاظت‌کننده برای گیرنده $P75^{NTR}$ قائل است و عملکرد آن را در حفظ نورون مؤثر می‌داند (DeFreitas *et al*., 2001). از طرف دیگر عده‌ای معتقدند مرگ آپوپتوتیک سلول‌های عصبی به‌دنبال فعال شدن گیرنده $P75^{NTR}$ است، به‌طوری که اتصال فاکتور نوروتروفینی PRO-NGF به گیرنده $P75^{NTR}$ سبب فعال شدن آن دسته از وقایع درون سلولی می‌شود که نهایتاً مرگ سلولی را درپی دارد (Friedman, 2000). تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهد که نوروتروفین NGF در دوران جنینی سبب مرگ سلول‌های عصبی می‌شود که مرگ آپوپتوتیک در این دوران به علت بیان گیرنده $P75^{NTR}$ است، در حالی‌که در این زمان گیرنده تیروزینی (Trk-A) برای نوروتروفین NGF بیان نمی‌شود (Sadel *et al*., 1999). همچنین در همین راستا مطالعات نشان می‌دهد که بیان گیرنده $P75^{NTR}$ در دوران تکوین، کمی قبل از تولد و بعد از تولد افزایش یافته و بدین ترتیب مکانیسم مرگ آپوپتوتیک سلول‌ها را تنظیم می‌کند و این گیرنده مجدداً در دوران پیری فعالیتش افزایش می‌یابد (Singh *et al*., 2008). در همین راستا گزارش مرگ آپوپتوتیک سلول‌های اولیگودندروگلیال‌ها را پس از ضایعه طناب نخاعی و دژنره شدن عصب محیطی مربوطه به‌واسطه بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و Fas نشان می‌دهد (Song *et al*., 2004). در تأیید این نتایج بررسی نشان می‌دهد در موش‌هایی که فاقد گیرنده $P75^{NTR}$ می‌باشند پس از صدمه عصب سیاتیک مرگ آپوپتوتیک سلول‌های شوان سیاتیک دیده نمی‌شود (Longo & Massa, 2008).

بدین ترتیب گیرنده $P75^{NTR}$ نقش دوگانه‌ای نشان می‌دهد که می‌تواند سبب حفظ یا مرگ سلول عصبی شود و مطالعات در این راستا فاکتورهایی نظیر نوع سلول، ساختار مولکولی و وراثتی را مؤثر می‌داند. البته نتایج تحقیقی نشان می‌دهد که گیرنده $P75^{NTR}$ نقش آپوپتوتیک خود را در وضعیت دایمر از دست می‌دهد (Zagrebelsky *et al*., 2005).

اینک با توجه به نظرات مختلف و بعضاً متضاد در خصوص بیان گیرنده و نقش آنها که به دفعات گزارش شده‌است می‌توان توجیهی را در خصوص بیان گیرنده در این تحقیق ارائه نمود، که کمترین میزان بیان در گروه اول و سوم ناشی از بالا بودن میزان بیان نوروتروفین و اتصال آن به گیرنده تیروزین کیناز است (همانند شرایط عادی فعالیت سلول عصبی). در حالی که پس از اعمال فشار مکانیکی سلول‌ها دستخوش تغییراتی می‌شوند که در نهایت مرگ سلولی را به‌دنبال دارد و این تغییرات در گیرنده و نوروتروفین‌ها نیز اعمال می‌شود. به‌طوری که در گروه دوم و چهارم درصد بیان گیرنده بدون تفاوت معنی‌دار بالاست، اما در نهایت واکنشی که از سلول‌ها در پاسخ به فشار مکانیکی دیده می‌شود، متفاوت است. به‌طوری که در مورد سلول‌هایی که آلوئه‌ورا دریافت کردند میزان مرگ کمتر است، با وجودی که بیان گیرنده مرگ بالاست. در توجیه این مطلب می‌توان

www.SID.ir

Archive of SID

به نقش دیگر گیرنده که به‌عنوان گیرنده حفظ سلولی است یا فعال شدن گیرنده‌های تیروزینی، اشاره نمود. یعنی گروه دوم که آلوئه‌ورا دریافت کردند میزان نوروتروفین به‌طور معنی‌داری بیشتر شد و در گروه سوم نیز این افزایش مشاهده شد و شاید همین افزایش نوروتروفین سبب فعال شدن گیرنده‌های دیگر نظیر تیروزین کیناز می‌شود، به‌طوری که فعالیت این گیرنده روند مرگ سلولی را کاهش می‌دهد. از آنجایی‌که در تمام نمونه‌های بررسی شده حضور گیرنده مرگ در سلول‌های عصبی حرکتی مشخص است، این احتمال را می‌توان داد که حضور گیرنده‌هایی از خانواده تیروزین کیناز بیشتر مطرح است. همچنین در خصوص تأثیر عصاره آبی آلوئه‌ورا، نتایج این تحقیق هم‌راستا با نتایج تحقیقاتی است که تأثیر آلوئه‌ورا را در فعالیت گیرنده‌ها و انتقالات نوروترنسمیترهای سطح غشاء سلول گزارش کرده است (Heshmati *et al*., 2013). برای طیف گسترده اثرات گیاه آلوئه‌ورا، فرضیه‌هایی مبنی بر تأثیر در روند ترمیم و بهبودی زخم مطرح است، ولی اینکه با چه مکانیسمی روی حفظ یا جلوگیری از مرگ تأثیر دارد تاکنون مشخص نشده است.

پیشنهادها

از آنجایی‌که در هر سلول امکان حضور دو نوع گیرنده است و برایند عملکرد این دوگیرنده سبب مرگ یا حیات سلول عصبی می‌شود، بنابراین احتمال این وجود دارد که عصاره آبی آلوئه‌ورا سبب افزایش میزان بیان گیرنده تیروزینی گردد. برای اثبات این فرضیه پیشنهاد می‌شود عصاره آبی آلوئه‌ورا در دوزهای مختلف بر روی سایر گیرنده‌های سطح سلولی و لیگاندهای اختصاصی آنها بررسی شود.

منابع مورد استفاده

- Akhtar, A.Z., Pippin, J.J. and Sandusky, C.B., 2009. Animal studies in spinal cord injury: a systematic review of methylprednisolone. Alternatives to Laboratory Animals, 37: 43-62.
- Ameloot, P., Fiers, W., De Bleser, P., Ware, C.F., Vandenabeele, P. and Brouckaert, P., 2001. Identification of tumor necrosis factor (TNF) amino acids crucial for binding to the murine P75 TNF receptor and construction of receptor-selective mutants. The Journal of Biological Chemistry, 276(40): 37426-37430.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1990. Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone, Londen, 740p.
- Boyd, J.G. and Gordon, T., 2002. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. European Journal of Neuroscience, 15(4): 613-626
- Chopp, M., Zhang, X.H., Li, Y., Wang. L., Chen, J., Lu, D., Lu, M. and Rosenblum, M., 2000. Spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation. Neuro Report, 11(13): 3001-3005.
- Crowe, M.J., Bresnahan, J.C., Shuman, S.L., Masters, J.N. and Beattie, M.S., 1997. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. Nature Medicine, 3: 73-76.
- DeFreitas, M.F., McQuillen, P.S. and Shatz, C.J., 2001. A novel P75NTR signaling pathway promotes survival, not death, of immunopurified neocortical subplate neurons. The Journal of Neuroscience, 21(14): 5121-5129.
- Dolan, E.J. and Tator, C.H., 1979. A new method for testing the force of clips for aneurysms or experimental spinal cord compression. Journal of Neurosurgery, 51(2): 229-233.
- Dolan, E.J., Tator, C.H. and Endrenyi, L., 1995. The value of decompression for acute experimental spinal cord compression injury. Journal of Neurosurgery, 53(6): 749-755.
- Farahnejad, Z., Ghazanfari, T. and Yaraee, R., 2011. Immunomodulatory effects of *Aloe vera* and its fractions of macrophages against *Candida albicans*. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 33(4): 676-681.
- Friedman, W.J., 2000. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the P75 receptor. The Journal of Neuroscience, 20(17): 6340-6346.
- Hains, B.C., Yucra, J.A. and Hulsebosch, C.E., 2001. Reduction of pathological and behavioral deficits following spinal cord contusion injury with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398. Journal of Neurotrauma, 18(4): 409-423.
- Hajebrahimi, Z., Mowla, S.J., Movahedin, M. and Tavallaei, M., 2008. Gene expression alterations of neurotrophins, their receptors and prohormone convertase in a rat model of spinal cord contusion. Neuroscience Letters, 441(3): 261-266.
- Heshmati, M., Jalali Nadoushan, M.R., Entezari, E. and Khodashenas, Z., 2013. The effect of aquae extract of *Aloe vera* on synaptophysin expression after spinal cord compression in adult rats. Journal of Medicinal Plants, 12(46): 38-46.
- Hulsebosch, C.E., 2002. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. Advances in Physiology Education, 26(1-3): 238-255.
- Ibanez, C.F. and Simi, A., 2012. Review-P75 neurotrophin receptor signaling in nervous system injury and degeneration: paradox and opportunity. Trends in Neurosciences, 35(7): 431-440.

www.SID.ir

Archive of SID

- Song, X.Y., Zhong, J.H., Wang, X. and Zhou, X.F., 2004. Suppression of p75ntr does not promote regeneration of injured spinal cord in mice. The Journal of Neuroscience, 24(2): 542-546.
- Song, W., Volosin, M., Cragnolini, A.B., Hempstead, B.L. and Friedman, W.J., 2010. ProNGF induces PTEN via p75NTR to suppress Trk-mediated survival signaling in brain neurons. The Journal of Neuroscience, 30(46): 15608-15615.
- Taylor, A.R., Gifondorwa, D.J., Robinson, M.B., Strupe, J.L., Prevette, D., Johnson, J.E., Hempstead, B., Oppenheim, R.W. and Milligan, C.E., 2012. Motoneuron programmed cell death in response to proBDNF. Developmental Neurobiology, 72(5): 699-712.
- Widenfalk, J., Lundströmer, K., Jubran, M., Brene, S. and Olson, L., 2001. Neurotrophic factors and receptors in the immature and adult spinal cord after mechanical injury or kainic acid. Journal of Neuroscience, 21(10): 3457-3475.
- Xie, Y., Yao, Z., Chai, H., Wong, W.M. and Wu, W., 2003. Expression and role of low-affinity nerve growth factor receptor (p75) in spinal motor neurons of aged rats following axonal injury. Developmental Neurobiology, 25: 65-71.
- Yu, M., Bergman, E., Edstrom, E. and Ulfhake, B., 1999. Reciprocal changes in the expression of neurotrophin mRNA target tissues and peripheral nerves of aged rats. Neuroscience Letters, 273(3): 187-90.
- Zagrebelsky, M., Holz, A., Dechant, G., Barde, Y.A., Bonhoeffer, T. and Korte, M., 2005. The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. The Journal of Neuroscience, 25(43): 9989-9999.
- Ichim, G., Tauszig-Delamasure, S. and Mehlen, P., 2012. Neurotrophins and cell death. Experimental Cell Research, 318(11): 1221-1228.
- Jacobson, M., Weil, M. and Raff, M.C., 1997. Programmed cell death in animal development. Cell, 88(3): 347-354.
- Le, T.H. and Gean, A.D., 2009. Neuroimaging of traumatic brain injury. The Journal of Spinal Cord Medicine, 76(2): 145-162.
- Liu, X.Z., Xu, X.M., Hu, R., Du, C., Zhang, S.X., McDonald, J.W., Dong, H.X., Wu, Y.J., Fan, G.S., Jacquin, M.F., Hsu, C.Y. and Choi, D.W., 1997. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. The Journal of Neuroscience, 17(14): 5395-5406.
- Longo, F.M. and Massa, S.M., 2008. Small molecule modulation of p75 neurotrophin receptor functions. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets, 7: 63-70.
- Loots du, T., van der Westhuizen, F.H. and Botes, L., 2008. *Aloe ferox* leaf gel phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(17): 6891-6896.
- Sadel, F., Bechade, C. and Triller, A., 1999. Nerve growth factor induces motoneuron apoptosis in rat embryonic spinal cord in vitro. European Journal of Neuroscience, 11(11): 3904-3912.
- Scott, A.L.M. and Ramer, M.S., 2010. Differential regulation of dendritic plasticity by neurotrophins following deafferentation of the adult spinal cord is independent of p75(NTR). Brain Research, 1323: 48-58.
- Singh, K.K., Park, K.J., Hong, E.J., Kramer, B.M., Greenberg, M.E., Kaplan, D.R. and Miller, F.D., 2008. Developmental axon pruning mediated by BDNF-p75 NTR-dependent axon degeneration. Nature Neuroscience, 11(6): 649-658.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of aqueous extract of *Aloe vera* L. on the expression of 75^{NTR} and BDNF after spinal cord compression in adult rats

M. Heshmati[1]*, M.R. Jalali Nadoushan[2] and S. Fakhrieh[3]

1*- Corresponding author, Department of Anatomy and Pathology, Shahed University, Tehran, Iran
E-mail: heshmati@shahed.ac.ir, heshmatimarjan@hotmail.com
2- Department of Anatomy and Pathology, Shahed University, Tehran, Iran
3- Medical Graduate, Shahed University, Tehran, Iran

Received: December 2012 Revised: June 2013 Accepted: July 2013

Abstract

This research was aimed to evaluate the effects of aqueous extract of *Aloe vera* L., on motoneuron survival, $P75^{NTR}$ and BDNF expression. Twenty-Four Sprague-Dawley rats were obtained from Razi Institute. They were divided into four groups:1-laminectomy ((T9-T11 vertebra)+injection of *Aloe vera* extract. 2- laminectomy+injection *Aloe vera* extract+compression. 3- laminectomy+injection of saline normal. 4- laminectomy+injection of normal saline + compression. Intraprituneal injection continued for four weeks. After four weeks, they were sacrificed. Spinal cord motoneurons were counted and their morphometry was studied. Expression $P75^{NTR}$ and BDNF were analyzed by immunohistochemistry. Results showed that compression caused motoneurons reduction with hematoma among the cells and in cavitation. The aqueous extract of *Aloe vera* caused to decrease the motoneurons death and increase the BDNF expression ($p \leq 0.05$). In the second group, despite increasing expression of P75NTR, motoneuron death decreased significantly ($p \leq 0.05$) which may be due to the dual role of the receptor or various properties of *Aloe vera*. The immunomodulatory effect of *Aloe vera* and multiple action of P75 in survival or motoneuron death in different times of life were confirmed in this research.

Keywords: Mechanical spinal cord injury, aquae extract of *Aloe vera* L., $P75^{NTR}$ receptor, BDNF.

www.SID.ir