مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲٤، شماره‌ی ۱۰۳، خرداد و تیر ۱۳۹۵، صفحات ۵۲ تا ٦۱

اثر حفاظت عصبی اریتروپویتین بر نورون‌های حرکتی نخاعی به دنبال آکسوتومی در نوزاد موش صحرایی

دکتر علیرضا عزیززاده دلشاد[۱]، دکتر محمد حسین قینی[۲]، ریحانه میرطهماسب محمدی[۳]

نویسنده‌ی مسوول: گروه علوم تشریحی و آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران delshada@yahoo.com

دریافت: ۹٤/۲/۲۹ پذیرش: ۹٤/۵/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: *به علت جایگاه بسیار مهم مرگ سلولی در پاتولوژی بیماری‌های نورودژنراتیو، جلوگیری از مرگ سلولی یکی از مهم‌ترین اهداف استراتژی‌های حفاظت عصبی می‌باشد. با توجه به گزارش‌های موجود در مورد نقش حفاظت عصبی اریترپویتین، در مطالعه‌ی حاضر به‌دنبال آکسوتومی، اثر دوزهای مختلف اریتروپویتین بر نورون‌های نخاعی حرکتی نوزاد موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *۲۰ سر نوزاد ۲ روزه موش صحرایی، پس از قطع عصب سیاتیک سمت راست و القای آپوپتوز در نورون‌های حرکتی نخاعی مربوطه، به ۳ گروه آزمایشی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. به گروه‌های آزمایشی به‌ترتیب ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم اریتروپویتین نوترکیب انسانی، و به گروه کنترل حجم مساوی نرمال سالین به مدت ۵ روز متوالی و به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، از نخاع موش‌ها مقاطع بافتی تهیه و نورون‌های حرکتی واقع در شاخ قدامی نخاع شمارش شد. در همه‌ی گروه‌ها نیمه‌ی سالم نخاع به‌عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد.*

یافته‌ها: *در همه‌ی گروه‌ها اختلاف میانگین نورون‌های حرکتی دو نیمه‌ی سالم و آکسوتومی نخاع معنادار بود. با مقایسه‌ی نیمه‌ی آکسوتومی گروه‌های مختلف، هر دو گروه ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ با گروه کنترل، و همچنین گروه ۱۰۰۰۰ با گروه ۲۵۰۰ اختلاف معناداری داشتند، ولی بین بقیه‌ی گروه‌ها اختلاف معناداری مشاهده نگردید. به این ترتیب دوز ۵۰۰۰ دارای اثر حفاظت عصبی بوده و از مرگ نورون‌های آکسوتومی شده جلوگیری نمود.*

نتیجه گیری: *اریتروپویتین نوترکیب انسانی دارای اثر حفاظت عصبی وابسته به دوز بر نورون‌های حرکتی آکسوتومی شده می‌باشد.*

واژگان کلیدی: اریتروپویتین، حفاظت عصبی، نورون حرکتی نخاعی، مرگ سلولی، آکسوتومی

مقدمه

مرگ سلولی، در تکوین نرمال سیستم عصبی مرکزی و نیز در اختلالات نورودژنراتیو حاد یا مزمن نقش مهمی دارد (۳-۱). عوامل متعددی همچون سن و مرحله‌ی تکوین، شدت و نوع ضایعه و نوع سلول، بر مکانیسم‌های مرگ سلولی موثر می‌باشند. اطلاعات کلینیکی نشان داده است که عوارض و پیامدهای ضایعه‌ی حاد سیستم عصبی وابسته به‌سن بوده و در نوزادان پاسخ‌های شدیدتری ایجاد می‌شود (۴). هر چند در نخاع موش صحرایی مرگ سلولی طبیعی قبل

۱- دکترای تخصصی آناتومی، دانشیار گروه علوم تشریحی و آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
۲- دکترای تخصصی آسیب شناسی، استادیار گروه علوم تشریحی و آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

Archive of SID
www.SID.ir

از تولد پایان می‌یابد، اما در طول هفته‌ی اول پس از تولد، نورون‌های نخاعی موش صحرایی هنوز به سیگنال‌های تروفیک وابسته بوده، قطع این سیگنال‌ها به‌دنبال قطع عصب محیطی در هفته اول موجب مرگ آپوپتوتیک نورون‌های حرکتی نخاعی (۶و ۵) و نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی (۸و ۷) می‌شود، بنابراین آکسوتومی حیوان نابالغ می‌تواند مدل مناسبی برای القای آپوپتوز و مطالعه‌ی مکانیسم‌های حفاظت عصبی باشد.

هر روش درمانی و حافظتی که بتواند آسیب نورون‌ها و آکسون‌ها را کنترل کرده از مرگ نورون جلوگیری نماید حفاظت عصبی نامیده می‌شود، که می‌تواند در همه‌ی اختلالات نورودژنراتیو کاربرد داشته باشد (۹). حفاظت عصبی موثر باید قبل از ظهور علایم کلینیکی آغاز شود تا بتواند از مرگ آپوپتوتیک سلول جلوگیری نماید (۱۰). از آن جا که آپوپتوز با تاخیر زمانی بیشتری روی می‌دهد، مهار آپوپتوز می‌تواند یکی از اهداف استراتژی‌های حفاظت عصبی باشد. یافتن داروها یا ترکیبات موثر محافظ عصبی، هدف بسیاری از دانشمندان می‌باشد. ترکیبات شیمیایی متعددی همچون هورمون‌های استروژن، پروژسترون، هورمون‌های تیروئیدی و اریتروپویتین، که به‌طور طبیعی در بدن موجودات زنده وجود دارند، همواره به‌عنوان یک گزینه حفاظت عصبی بالقوه مورد توجه دانشمندان بوده است و مطالعات فراوانی در مورد اثرات درمانی آن‌ها انجام شده است. اریتروپویتین به‌عنوان یک هورمون گلیکوپروتئینی هماتوپویتیک در تولید، تمایز و طول عمر اریتروسیت‌ها نقش دارد (۱۱). به‌عنوان مثال افزایش کارایی آن در بیماران کلیوی مبتلا به آنمی می‌تواند موجب بهبود بیماران گردد (۱۲). از طرفی وجود گیرنده‌های اریتروپویتین در سطح سلول‌های اندوتلیال کاردیومیوسیت‌ها، کلیه، سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌تواند نمایانگر سایر اثرات فیزیولوژیک این گلیکوپرتئین در بدن باشد (۱۳). اریتروپویتین که امروزه کاربرد کلینیکی وسیعی در درمان بیماری‌هایی همچون انواع کم خونی‌ها دارد، احتمالا می‌تواند از طریق تعدیل فاکتورهای التهابی دخیل در آپوپتوز (۱۴)، در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو نیز به عنوان یک داروی محافظ عصبی (۱۶و ۱۵)، و یا همراه با پیوند سلول‌های بنیادی به منظور افزایش شانس تمایز این سلول‌ها به سلول عصبی و بقای آن‌ها موثر باشد (۱۷). هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات حفاظت عصبی اریتروپویتین در جلوگیری از مرگ نورون‌های حرکتی نخاعی نوزاد موش صحرایی، در مدل آکسوتومی و یافتن دوز موثر آن می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه‌ی حاضر با مجوز شماره‌ی ٤١/٢٣٥٤١٩ در کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه شاهد مورد تصویب قرار گرفت. در این مطالعه از ۲۰ سر نوزاد ۲ روزه موش صحرایی نژاد اسپراگ–داولی استفاده شد. نوزادان به همراه موش صحرایی مادر، تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و در طول مدت مطالعه با شیر مادر تغذیه می‌شدند. موش‌های نوزاد را به‌طور تصادفی به سه گروه آزمایشی و یک گروه شاهد تقسیم نمودیم. در هر چهار گروه پس از بیهوش کردن نوزادان با روش هیپوترمی (۱۸)، پوست پشت ران سمت راست برش داده شد و با استفاده از استرئومیکروسکوپ و تحت شرایط استریل عصب سیاتیک سمت راست در قسمت میانی ران و در عمق عضله دو سر رانی قطع شد. برای اطمینان از عدم اتصال مجدد دو انتهای عصب ۲ میلی‌متر از آن خارج گردید. سپس محل برش با نخ شماره‌ی ۰ تا ٦ بخیه شد. در همه‌ی گروه‌ها کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی رعایت گردید. حیوان‌ها در سه گروه آزمایشی بلافاصله پس از آکسوتومی به‌ترتیب ۵۰۰۰،۲۵۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم هورمون اریتروپویتین نوترکیب انسانی (شرکت Janssen-Cilag/

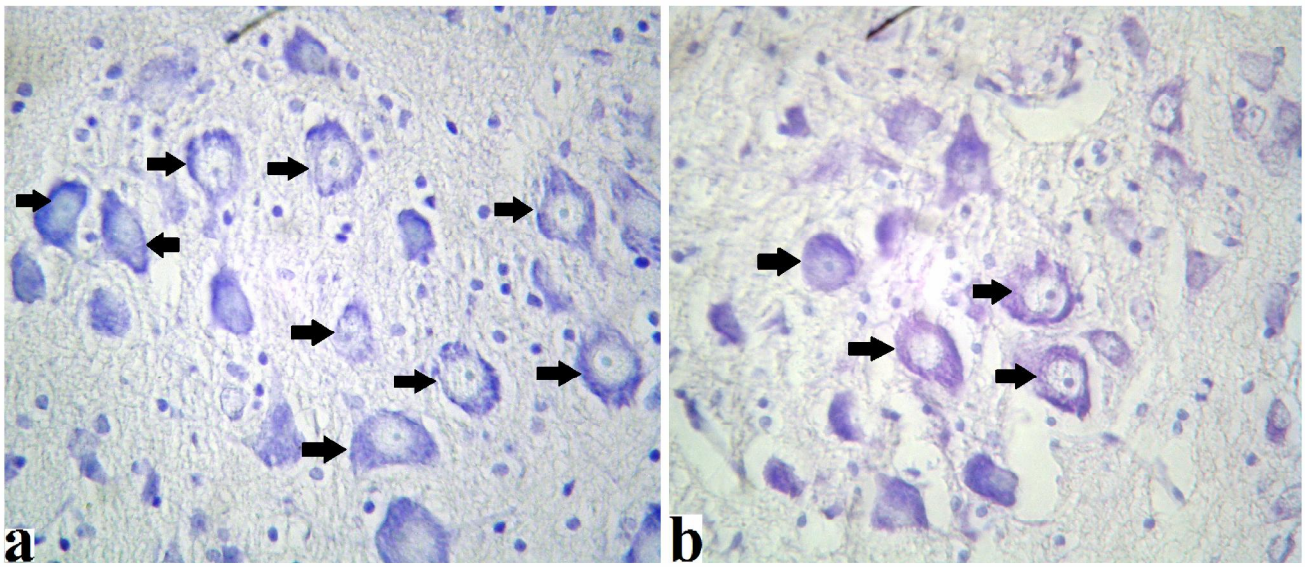
Archive of SID
www.SID.ir

سوییس)، و به گروه کنترل نیز حجم مساوی از محلول نرمال سالین به شکل داخل صفاقی تزریق شد. برای به‌دست آوردن غلظت‌های مختلف اریتروپویتین، آن را در نرمال سالین حل نمودیم. موش‌های نوزاد پس از به‌هوش آمدن به کنار مادرانشان انتقال داده شدند. تزریق های بعدی نیز در همان ساعت تزریق اول در چهار روز متوالی انجام شد. ۲٤ ساعت پس از آخرین تزریق، نوزادان با استفاده از ترکیب کتامین ۱۰۰ میلی‌گرم/زایلازین ۱۰ میلی‌گرم به نسبت کیلوگرم وزن بدن بیهوش شده و تحت بی‌هوشی عمیق با پرفیوژن داخل قلبی سرم فیزیولوژیک حاوی ۵۰ واحد بر میلی‌لیتر هپارین و محلول پارافرمآلدئید ٤ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار کشته شدند (۱۹). سپس قطعه L4-L6 نخاع از طریق لامینکتومی خارج شده و به مدت ۲٤ ساعت در محلول پارافرمآلدئید ٤ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار فیکس و در نهایت از هر یک از نمونه‌ها قالب‌های پارافینی و برش‌های عرضی سریال به ضخامت ۸ میکرومتر به‌دست آمد که به‌منظور رنگ آمیزی نیسل با کرزیل فست ویوله رنگ‌آمیزی گردید (۲۰). در تمام نمونه‌های بافتی نیمه‌ی چپ نخاع به‌عنوان گروه کنترل داخلی در نظر گرفته شد.

نورون‌های حرکتی واقع در شاخ قدامی دو طرف نخاع را در حداقل ۱۰ برش شمارش کردیم. برای این منظور، در یک برش از هر ۱۰ برش متوالی (مقاطع ۱، ۱۱، ۲۱ و...)، نورون‌های دارای هسته بزرگتر از ۱۰ میکرومتر و هستک مشخص مورد شمارش قرار گرفت. میانگین تعداد نورون های حرکتی هر دو نیمه‌ی نخاع در گروه‌های مختلف محاسبه، و نتایج به‌دست آمده با تست‌های آماری آنووای یک طرفه و تست توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر در ۱۰ برش از هریک از نمونه‌های نخاع، نورون‌های حرکتی دارای هسته روشن و قطر بیش از ۱۰ میکرومتر و هستک برجسته (شکل ۱). در شاخ ونترال



شکل ۱: نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در سطح L4-L6 در نیمه‌ی سالم (a) و نیمه‌ی آکسوتومی (b) گروه کنترل. سلول‌های بزرگ با هسته روشن و قطر بیش از ۱۰ میکرومتر و هستک برجسته و متمایز با فلش‌های سیاه رنگ مشخص شده‌اند. در نیمه‌ی آکسوتومی تعداد نورون‌های حرکتی به شکل معناداری کمتر از نیمه ی سالم نخاع است. (P<۰/۰۵). رنگ آمیزی کرزیل فست ویوله، بزرگ نمایی x۱۰۰۰

www.SID.ir
Archive of SID

هر دو نیمه نخاع مورد شمارش قرار گرفته میانگین نورون‌های حرکتی هر دو نیمه‌ی نخاع در گروه‌های مختلف به دست آمد (شکل ۱). مقایسه‌ی دو نیمه‌ی سالم و آکسوتومی در گروه کنترل نشان داد که میانگین نورون‌های حرکتی در سمت آکسوتومی با اختلافی معنا دار کمتر از سمت سالم بود (P<۰/۰۵). در نیمه‌ی آکسوتومی هر سه گروه آزمایشی نیز، هر چند میانگین نورون‌های حرکتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت، اما در همه‌ی گروه ها اختلاف بین دو نیمه‌ی نخاع کماکان معنادار بود (P<۰/۰۵). با مقایسه نیمه‌ی سالم گروه‌های کنترل و آزمایشی، هیچ تفاوت معناداری بین میانگین نورون‌های حرکتی در گروه‌های مختلف مشاهده نگردید (P>۰/۵۳۲).

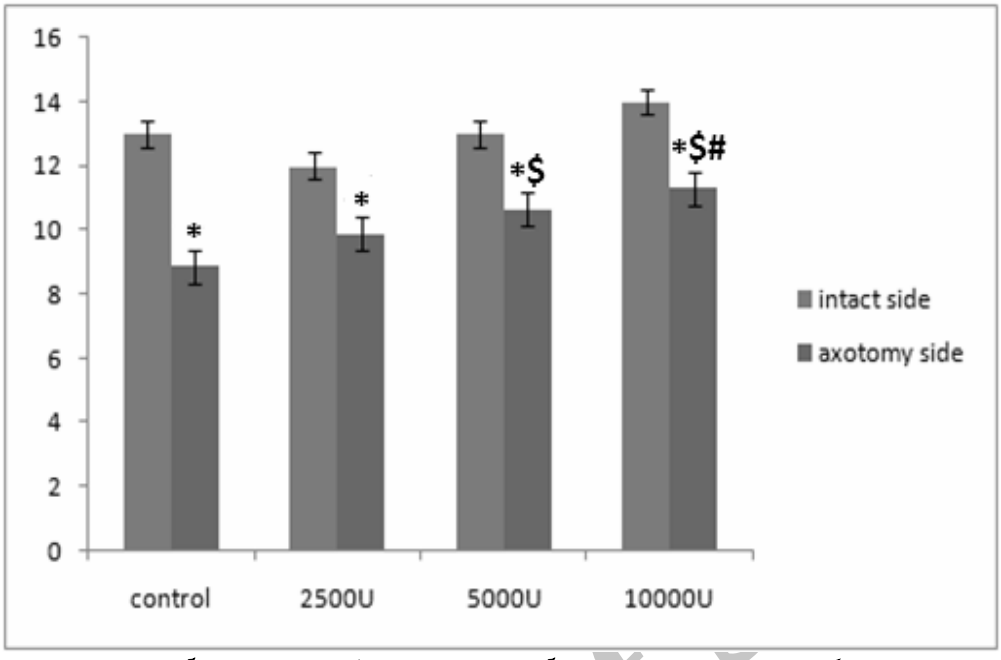
در مقایسه نیمه‌ی آکسوتومی گروه‌های مختلف، در گروه کنترل کمترین میانگین نورون‌های حرکتی مشاهده گردید. در گروه‌های آزمایشی تجویز اریتروپویتین به شکل وابسته به دوز موجب افزایش میانگین نورون‌های حرکتی در نیمه‌ی آکسوتومی گردید، به‌طوری که بیشترین افزایش در گروه ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم و کمترین افزایش در گروه ۲۵۰۰ واحد بر کیلوگرم روی داد. با مقایسه‌ی دو به دوی گروه کنترل با هر یک از گروه‌های آزمایشی دریافت کننده دوزهای مختلف اریتروپویتین، بین گروه کنترل و گروه ۲۵۰۰ واحد بر کیلوگرم اختلاف معناداری مشاهده نگردید، اما اختلاف بین گروه کنترل و هر دو گروه دریافت کننده ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم از نظر آماری معنادار بود (P<۰/۰ ۵). همچنین با مقایسه‌ی دو به دوی گروه‌های آزمایشی با یکدیگر، تنها بین دو گروه ۲۵۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم اختلاف معنادار مشاهده گردید (P<۰/۰ ۵). در حالی که اختلاف بین گروه‌های ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰، و نیز بین گروه‌های ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ از نظر آماری معنادار نبود (جدول و نمودار ۱).

جدول ۱: نتایج حاصل ازشمارش مورفولوژیک سلولی. میانگین و انحراف معیار نورون‌های حرکتی شاخ قدامی دو نیمه‌ی نخاع در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	نیمه‌ی سالم	نیمه‌ی آکسوتومی شده
گروه کنترل	۱۳/۳۴ ± ۲/۵۱	۸/۸۲ ± ۲/٦۹
۲۵۰۰ (واحد بر کیلوگرم) اریتروپویتین	۱۲/۸ ± ۳/۰۱	۹/۸۴ ± ۲/۷۲
۵۰۰۰ (واحد بر کیلوگرم) اریتروپویتین	۱۲/۸۴ ± ۳/۱٤	۱۰/۷ ± ۲/۳۹
۱۰۰۰۰ (واحد بر کیلوگرم) اریتروپویتین	۱۳/۳۲ ± ۳/۰۲	۱۱/۲۸ ± ۲/۵۳

در نیمه‌ی سالم بین گروه‌های مختلف اختلاف معناداری مشاهده نگردید، اما در نیمه‌ی آکسوتومی بین هر دو گروه ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ با گروه کنترل و نیز بین گروه ۱۰۰۰۰ و گروه ۲۵۰۰ اختلاف معنادار مشاهده شد (P<۰/۰۵) در همه گروه‌ها اختلاف بین دو نیمه‌ی سالم و آکسوتومی نیز معنادار بود (P<۰/۰۵)

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱: ***مقایسه‌ی میانگین شمارش سلولی در نیمه ی آکسوتومی و سالم در گروه‌های کنترل و آزمایشی دریافت کننده‌ی ۳ دوز مختلف اریتروپویتین***

در نمودار ۱ همه گروه‌ها میانگین نورون‌های حرکتی در نیمه‌ی آکسوتومی با اختلافی معنادار ($P<۰/۰۵$) کمتر از نیمه‌ی سالم است (*). میانگین نورون‌های حرکتی نیمه‌ی آکسوتومی در گروه‌های دریافت کننده اریتروپویتین با دو دوز ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم، با اختلافی معنادار ($P<۰/۰۵$) بیشتر از گروه کنترل می‌باشد ($). همچنین اختلاف گروه ۲۵۰۰ و ۱۰۰۰۰ نیز معنادار است ($P<۰/۰۵$) (#).

بحث

وجود اختلاف معنی‌دار در میانگین تعداد نورون‌های موجود در سمت آکسوتومی و سمت سالم در تمام گروه‌های مورد بررسی، موید این امر است که آکسوتومی روشی موثر در القای آپوپتوز در نورون‌های حرکتی نخاعی می‌باشد. در مطالعات متعدد دیگری نیز این روش برای القای آپوپتوز در دوره‌ی نوزادی به کار گرفته شده‌است (۲۲و ۲۱و ۸و ۷). البته شایان ذکر است که نتیجه‌ی حاصل از القای آپوپتوز و تعداد نورون‌های از دست‌رفته به سن موش‌های مورد بررسی و نیز روش القای آپوپتوز بستگی دارد (۲۴و۲۳)، و هر چه سن موش‌ها کمتر باشد پاسخ شدیدتری در مقابل آسیب عصبی ایجاد خواهدشد (۴). مقایسه‌ی میانگین نورون‌های حرکتی نیمه‌ی آکسوتومی در گروه‌های آزمایشی دریافت کننده دوزهای مختلف اریتروپویتین در مطالعه حاضر، نشان داد که دوز ۲۵۰۰ واحد بر کیلو گرم اریتروپویتین فاقد اثر نوروپروتکتیو معناداری بود، در حالی که هر دو دوز ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم توانستند به شکل معناداری از مرگ نورون‌های حرکتی جلوگیری نمایند. یافته‌های فوق موید اثر وابسته به دوز اریتروپویتین در حفاظت از بافت عصبی است. هر چند نقش اریتروپویتین به عنوان یک سایتوکاین هماتوپویتیک در تولید، تمایز و طول عمر اریتروسیت‌ها به خوبی شناخته شده‌است (۲۵)، در دو دهه‌ی اخیر تحولات قابل توجهی در درک نقش هورمون اریتروپویتین به‌عنوان یک

Archive of SID

www.SID.ir

عامل محافظ عصبی نیز به وقوع پیوسته‌است. شایان ذکر است میزان اریتروپویتین و تعداد رسپتورهای آن به‌دنبال هیپوکسی و تحریک سایتوکاین های التهابی بعد از ایجاد ضایعات عصبی افزایش می‌یابد (۲۶). اریتروپویتین در بخش های مختلف سیستم عصبی عملکردهایی چون اثرات ضد آپوپتوزی، ضد اکسیدانی، ضد التهابی، اثر محافظتی بر سلول‌های گلیال و اندوتلیوم عروق مغزی و تحریک آنژیوژنز و نوروژنز دارد (۲۷). باید توجه داشت که علاوه بر دوز اریتروپویتین، تعداد دفعات تجویز، نحوه‌ی تجویز به اشکال داخل صفاقی، داخل وریدی و یا از راه بینی (۲۸) و تجویز همزمان آن همراه با کورتون و دیگر روش‌های درمانی همچون هیپوترمی و ... نیز بر نتیجه‌ی کار اثر خواهد گذاشت. در سال ۲۰۱۴ راجرز و همکارانش میزان اثر بخشی هورمون اریتروپویتین با دوز بالا همراه با هیپوترمی را در بهبود روند تکامل عصبی نوزادان مبتلا به انسفالوپاتی ناشی از هیپوکسی مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آنان نشان داد به کار بردن همزمان اریتروپویتین و هیپوترمی موجب تشدید اثر حفاظت عصبی اریتروپویتین می‌گردد (۲۹).

همچنین اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۱۵ با تزریق داخل صفاقی اریتروپویتین به‌مدت ۱۲ روز به رت نر بالغ مدل آلزایمری، اریتروپویتین را به عنوان یک عامل حفاظت عصبی موثر بر فرآیند بهبود حافظه‌ی رت‌های بالغ معرفی کردند (۳۰). فریتگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ با تزریق تک دوز هورمون اریتروپویتین به رت مبتلا به آسیب نخاعی، مشاهده نمودند که اریتروپویتین باعث کاهش فاکتورهای التهابی و کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک گردید (۳۱). در سال ۲۰۱۵ ژائو و همکاران گزارش نمودند که در مدل تجربی استروک مغزی در موش صحرایی، تزریق مستقیم دوز کم اریتروپویتین به داخل شریان مغزی نقش محافظتی دارد (۳۲). در سال ۲۰۱۴ راتیلال و همکاران با تزریق تک دوز ۱۰۰۰ واحد بر کیلوگرم اریتروپویتین، قبل از قطع گذرای شریان مغزی داخلی نشان دادند که هر چند اریتروپویتین با حفاظت از سد خونی- مغزی باعث کاهش ادم مغزی می‌شود، اما فاقد اثر ضد آپوپتیک بود (۳۳). در سال ۲۰۰۵ سولا و همکاران با بررسی اثر تجویز داخل صفاقی ۳ دوز ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم اریتروپویتین در رت مبتلا به آسیب مغزی، مشاهده نمودند که دوز ۱۰۰۰ واحد اریتروپویتین موثرترین دوز در کاهش آپوپتوز است. بررسی‌های ایمونوآنالیز این مطالعه نشان داد که اریتروپویتین با فعال کردن گیرنده‌های کیناز و فعال‌کننده‌های نسخه‌برداری پروتئین پروآپوپتوتیک Bcl-xL، اثر حفاظت عصبی خود را اعمال می‌کند (۳۴). در مطالعه‌ی ما دوز ۲۵۰۰ نقش نوروپروتکتیو واضحی نداشت، در حالی که در مطالعه‌ی سولا دوز ۱۰۰۰ واحد برکیلوگرم موثرترین دوز بوده است؛ این تفاوت ممکن است به علت مدل‌های متفاوت القای آپوپتوز در این دو مطالعه باشد. همان‌گونه که مشاهده گردید در بعضی مطالعات دوزهای بسیار پایین و در برخی دیگر دوزهای بالای اریتروپویتین دارای اثر حفاظت عصبی بودند که این اختلاف‌های شدید می‌تواند ناشی از تفاوت در مدل‌های آزمایشی و روش اعمال آسیب عصبی باشد. در مطالعه‌ی ما نیز با توجه به مدل آپوپتوز ناشی از آکسوتومی در نوزاد موش صحرایی دوز ۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم دارای اثر حفاظت عصبی معناداری بود. هورمون اریتروپویتین می‌تواند با تاثیر بر آبشار التهابی و رها سازی مدیاتورهای التهابی از سلول‌های آسیب دیده، تاثیر بر فرآیندهای مولکولی آپوپتوز و محافظت از تمامیت غشای میتوکندری اثر محافظتی خود را به عنوان یک محافظ عصبی موثر اعمال کند(۳۲). نتایج این مطالعه و دیگر مطالعات مشابه کاربرد خود را آن جا می‌یابند که در هزاره‌ی سوم میلادی و در عصر پست‌ژنومیک که نوروبیولوژی در اوج شکوه خود است، کماکان در بسیاری از مراکز درمانی، آسیب‌های نخاعی تنها با تزریق استروییدها مدیریت می‌شوند و هنوز مداخله‌ی چندان موثری موجود نمی‌باشد. بنابراین معرفی

Archive of SID
www.SID.ir

کارکرد حفاظت عصبی اریتروپویتین به‌عنوان یک هورمون طبیعی موجود در بدن، با قابلیت استفاده‌ی بالینی می‌تواند درهای جدیدی را در درمان ضایعات نخاعی و جلوگیری از پیشرفت عوارض آن‌ها به روی بشریت بگشاید.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه موید اثر حفاظت عصبی وابسته به دوز هورمون نوترکیب انسانی اریتروپویتین، بر نورون‌های حرکتی نخاعی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل پایان نامه پزشکی عمومی مصوب دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه شاهد می‌باشد. از تمامی همکاران و بیمارانی که ما را در انجام این طرح یاری کردند کمال تشکر را داریم.

References

1- Graber MB, Moran LB. Mechanisms of cell death in neurodegenerative diseases: fashion, fiction and facts. *Brain Pathol.* 2002; 12: 385-90.

2- Honig LS, Rosenberg RN. Apoptosis and neurologic disease. *Am J Med.* 2000; 108: 317-30.

3- Yakovlev AG, Faden AI. Mechanisms of cell death: implications for development of neuroprotective treatment strategies. *Neuro Rx.* 2004; 1: 5-16.

4- Adelson PD, Kochanek PM. Head injury in children. *J Child Neurol.* 1998; 13: 2-15.

5- Oliveira ALR, Risling M, Negro A, Langone F, Cullheim S. Apoptosis of spinal interneurons induced by sciatic nerve axotomy in the neonatal rat is counteracted by nerve growth factor and ciliary neurotrophic factor. *J Comp Neurol.* 2002; 447: 381-93.

6- Delshad A, Naseri M, Parvizi M, Fattah N, Sharayeli M. The Iranian traditional herbal medicine ostokhodus can prevent axotomy-induced apoptosis in spinal motoneurons in neonate rats. *J Med Plant Res.* 2011; 5: 4446-51.

7- Bahadori MH, Al-Tiraihi T, Valojerdi MR. Sciatic nerve transection in neonatal rats induces apoptotic neuronal death in L5 dorsal root ganglion. *J Neurocytol.* 2001; 30: 125-30.

8- Delshad AA, Heshmati M, Hajizadeh Z. The neuroprotective effect of uric acid on prevention of apoptosis of dorsal root ganglion neurons. *J Zanjan Univ Med Sci.* In press

9- Palace J. Neuroprotection and repair. *J Neurol Sci.* 2008; 265: 21-5.

10- Muresanu DF. Neuroprotection and neuroplasticity- a holistic approach and future perspectives. *J Neurol Sci.* 2007; 257: 38-43.

11- Chatagner A, Huppi PS, Ha-Vinh Leuchter R, Sizonenko S. Erythropoiethin and neuroprotection. *Arch Pediatr*. 2010; 17: 78-84.

12- Khodaverdi M, Zamzami E, Mousavinasab SN, Khodaverdi S, Amirmoghadami HR, Ahmadi J. Evaluation of the influence of intravenous carnitine on hemoglobin and hematocrit levels in end stage chronic renal failure patients under hemodialysis. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2010; 18: 58-63.

Archive of SID

www.SID.ir

13- Mariaz K, Maciey B, Dimitri M, Sord K. Erythropoiethin. *Med Science.* 2011; 11: 240.

14- Wanker SD, Chamorro ME, Vito DC, Nesse AB. Protective action of erythropoiethin on neural damage induced by activated microglia. *FEBSJ.* 2013; 2087: 1630-42.

15- McPherson RJ, Juul SE. Recent trends in erythropoietin-mediated neuroprotection. *Int J Dev Neurosci*. 2008; 26: 103-11.

16- Mofidi A, Bader A, Pavlica S. The use of erythropoietin and its derivatives to treat spinal cord injury. *Mini Rev Med Chem.* 2011; 11: 763-70.

17- Jing M, Shingo T, Yashuara T, et al. The combined therapy of intrahippocampal transplantation of adult neural stem cells and intraventricular erythropoietin-infusion ameliorates spontaneous recurrent seizures by suppression of abnormal mossy fiber sprouting. *Brain Res*. 2009; 1259: 203-17.

18- Phiffer CB, Terry LM. Use of hypothermia for general anesthesia in preweaning rodents. *Physiol Behavior*. 1986; 38: 887-90.

19- Gage GJ, Kipke DR, Shain W. Whole animal perfusion fixation for rodents. *J Vis Exp.* 2012; 65: 3564-69.

20- Aoyama K, Matsumura N, Watabe M, Wang F, Kikuchi-utsumy K, Nakaki T. Caffeine and uric acid mediate glutathione neuroprotection. *Neuroscience.* 2011; 181: 206-15.

21- Chiarotto GB, Drummond L, Cavarretto G, Bombeiro AL, deOliveira AL. Neuroprotective effect of tempol (4 hydroxy-tempo) on neuronal death induced by sciatic nerve transection in neonatal rats. *Brain Res Bull.* 2014; 106: 1-8.

22- Azizzadeh Delshad AR, Farzan AR. The prophylactic capacity of nepeta menthoides (ostokhodus) in prevention of spinal motoneuron injury. *J Kerman Univ Med Sci.* 2013; 20: 20-30.

23- Delshad A, Al-Tiraihi T. Ultrastructure of apoptotic oligodendrocytes in the spinal cord of adult rat with long-standing axotomized sciatc nerve. *Folia neuropathol.* 2001; 39: 125-8.

24- Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, Rasmussen JA, Gonzalez Polo V, Patterson SI. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. *J Neurosci Methods.* 2014; 227: 166-80.

25- Chtgner A, Huppei Ps, Ha Vinh Leuchter R, Sizonehko S. Erythropoiethin and neuroprotection. *Arch Pediatr*. 2010; 17: 78-84.

26- Rangarajan V, Juul SE. Erythropoietin: emerging role of erythropoietin in neonatal neuroprotection. *Pediatr Neurol.* 2014; 51: 481-8.

27- Ehrenreich H, Weissenborn K, Prange H, et al. Recombinant human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke. *Stroke.* 2009; 40: 647-56.

28- Merelli A, Czornyj L, Lazarowski A. Erythropoietin as a new therapeutic opportunity in brain inflammation and neurodegenerative diseases. *Int J Neurosci.* 2015, In press.

29- Rogers EE, Bonifacio SL, Glass HC, et al. Erythropoietin and hypothermia for hypoxic-

Archive of SID

www.SID.ir

ischemic encephalopathy. *Pediatr Neurol.* 2014; 51: 657-62.

30- Esmaeili Tazangi P, Moosavi SM, Shabani M, Haghani M. Erythropoietin improves synaptic plasticity and memory deficits by decrease of the neurotransmitter release probability in the rat model of alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav.* 2015; 130: 15-21.

31- Freitag MT, Márton G, Pajer K, et al. Monitoring of short-term erythropoietin therapy in rats with acute spinal cord injury using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *J Neuroimaging.* 2014; 1: 1111-19.

32- Zhao H, Wang R, Wu X, et al. Erythropoietin delivered via intra-arterial infusion reduces endoplasmic reticulum stress in brain microvessels of rats following cerebral ischemia and reperfusion. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2015; 10: 153-61.

33- Ratilal BO, Arroja MM, Rocha JP, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin pretreatment in a rodent model of transient middle cerebral artery occlusion. *J Neurosurg.* 2014; 121: 55-62.

34- Sola A, Rogido M, Lee BH, Genetta T, Wen TC. Erythropoietin after focal cerebral ischemia activates the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription signaling pathway and improves brain injury in postnatal day 7 rats. *Pediatr Res.* 2005; 57: 481-7.

Archive of SID

www.SID.ir

The Neuroprotective Effect of Erythropoietin on Spinal Motoneurons Following Axotomy in Neonate Rats

Azizzadeh Delshad A[1], Ghaini MH[1], Mirtahmaseb Mohamadi R[1]

[1]Dept. of Anatomical Sciences & Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Delshad AA, Dept of Anatomical Sciences & Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

E-mail: delshada@yahoo.com

Received: 9 May 2015 **Accepted:** 8 Aug 2015

Background and Objective: Because of the critical role of cell death in the pathology of neurodegenerative diseases, its prevention is regarded as one of the most salient ends in neuroprotective strategies. Concerning the bulk of reports about the putative neuroprotective effects of erythropoietin (Epo), in the present study following axotomy, the effects of different doses of Epo on spinal motoneurons in neonates was investigated.

Materials and Methods: Following transection of the right sciatic nerve of 20 two-day-old neonate rats and induction of apoptotic cell death in related motoneurons, the animals were subdivided into three experimental and one control groups. The experimental groups received different doses of 2500, 5000, 10000U/kg recombinant human Erythropoietin (rhEpo), and the control group was treated with equal volume of normal saline, intraperitoneally for 5 successive days. 24 hours following the last injection, histologic sections from the neonate spinal cords were prepared for counting of spinal motoneurons. In all samples, the intact side was regarded as the internal control.

Results: The difference between motoneuron means of intact and axotomy sides was significant in all groups, which advocates the efficacy of axotomy in cell death induction. Comparison of axotomized side of different groups indicated significant differences between both 5000 and 10000U/kg groups with control, and also between 10000 and 2500 groups, but no significant differences could be seen between other groups. Thus, 5000U/kg of rhEpo can be considered as the neuroprotective dose which can prevent cell death of axotomized motoneurons.

Conclusion: rhEpo has dose-dependent neuroprotective effects on axotomized spinal motoneurons.

Keyword: Erythropoietin, Neuroprotection, Spinal motoneuron, Cell death, Axotomy

Archive of SID

www.SID.ir