اثر نوروپروتکتیو اسید اوریک بر نورون‌های حرکتی آکسوتومی شده شاخ قدامی نخاع در نوزاد موش صحرایی

علیرضا عزیززاده دلشاد [*۱](Ph.D)، محمدرضا جلالی ندوشن [۱](M.D)، فاطمه غفوری مهر [۲](M.Sc)

۱- *دپارتمان علوم آناتومی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران*

۲- *دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران*

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر نقش نوروپروتکتیو اسید اوریک به عنوان یک ماده بیوشیمیایی طبیعی، در بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح گردیده است. از آن‌جا که در بسیاری از بیماری‌های دستگاه عصبی آپوپتوز نقش اساسی دارد، لذا مطالعه حاضر جهت بررسی اثر آنتی‌آپوپتوتیک اسید اوریک بر نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در نوزاد موش صحرایی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: ۱۰ سر نوزاد دو روزه موش صحرایی به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند. در هر دو گروه، عصب سیاتیک در سمت راست قطع شد و در گروه آزمایش بلافاصله پس از جراحی ۱۰ mg/kg اسید اوریک به شکل داخل صفاقی تزریق گردید. در روز پنجم پس از آکسوتومی، مقاطع عرضی نخاع در سطح L5 برای شمارش سلولی مورفومتریک و تکنیک TUNEL تهیه گردیدند.

یافته‌ها: در گروه کنترل در سمت آکسوتومی در مقایسه با نیمه‌ی سالم، ۳۰/۴۸٪ از نورون‌های حرکتی کاهش پیدا کردند که نشان‌دهنده کارایی مدل آکسوتومی در القای مرگ سلولی نورون‌های حرکتی می‌باشد. استفاده از تکنیک TUNEL ویژگی آپوپتوتیک مرگ سلولی نورون‌ها را تأیید نمود. مقایسه میانگین نورون‌های حرکتی سمت آکسوتومی گروه کنترل و گروه تحت درمان با اسید اوریک تفاوت معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵). تفاوت میان شاخص آپوپتوز در دو سمت آکسوتومی و سمت سالم نیز در هر دو گروه کنترل و آزمایش معنادار بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: اسید اوریک از طریق مهار آپوپتوز، بر روی نورون‌های حرکتی آکسوتومی شده شاخ قدامی نخاع اثر نوروپروتکتیو دارد.

واژه‌های کلیدی: اسید اوریک، نوروپروتکشن، نورون حرکتی، آپوپتوز، آکسوتومی، نوزاد موش صحرایی.

مقدمه

مرگ سلولی، در تکوین نرمال سیستم عصبی مرکزی و نیز در اختلالات نورودژنراتیو حاد یا مزمن نقش مهمی دارد. با توجه به سن و مرحله تکوین، شدت ضایعه و نوع سلول، عوامل آسیب‌رسان می‌توانند مکانیسم‌های متفاوت مرگ سلولی را فعال سازند [۳-۱]. آپوپتوز مرگ سلولی فیزیولوژیکی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب‌دیده، اضافی و مضر می‌شود و برای تکامل و هموستاز بافتی ضروری است [۴]. هر گونه اختلال در روند آپوپتوز می‌تواند منجر به بیماری شود. کاهش مرگ سلولی آپوپتوتیک می‌تواند در رشد سلول‌های سرطانی و یا اختلالات خود ایمنی مؤثر باشد و یا بالعکس افزایش

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۶۴۷۹۲

Email: delshad@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۷

غیرطبیعی آپوپتوز منجر به بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر، پارکینسون و ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis) می‌گردد [۵].

هر روش درمانی که بتواند از آسیب نورون‌ها و آکسون‌ها جلوگیری کند، نوروپروتکشن نامیده می‌شود و چنین درمانی می‌تواند برای همه اختلالات نورودژنراتیو مناسب باشد. نوروپروتکشن در برگیرنده مجموعه مکانیسم‌هایی است که علیه عوامل آسیب‌رسان عمل می‌کنند و باید قبل از وقوع مرگ سلولی و ظهور علائم بالینی آغاز شود [۶]. از آن‌جا که آپوپتوز با تأخیر زمانی بیش‌تری روی می‌دهد، مهار آپوپتوز می‌تواند استراتژی درمانی مناسبی باشد. هر چند در نخاع موش صحرایی مرگ سلولی طبیعی قبل از تولد پایان می‌یابد، اما به دنبال قطع اعصاب محیطی در حیوان نابالغ، نورون‌های حرکتی و حسی کماکان دست‌خوش مرگ سلولی آپوپتوتیک می‌شوند، بنابراین آکسوتومی حیوان نابالغ می‌تواند مدل مناسبی برای القای آپوپتوز و مطالعه مکانیسم‌های نوروپروتکتیو مؤثر بر آپوپتوز باشد [۷].

در حال حاضر مطالعات فراوانی برای دستیابی به یک روش نوروپروتکتیو مناسب در حال انجام بوده یافتن یک دارو یا ترکیب نوروپروتکتیو مؤثر هدف بسیاری از دانشمندان می‌باشد. علی‌رغم تحقیقات گسترده به عمل آمده در راستای کشف روش‌های درمانی مناسب، کماکان بررسی‌های بیش‌تری در راستای کشف داروها و روش‌های جدید و مؤثر، ضروری به نظر می‌رسد [۸]. در سال‌های اخیر از اسید اوریک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مؤثر بر دستگاه‌های مختلف بدن از جمله دستگاه عصبی نام برده شده است و اثر نوروپروتکتیو آن در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح شده است؛ اما اثر آنتی‌آپوپتوتیک این ماده در سلول‌های عصبی نخاع بررسی نشده است [۹]. با توجه به آن‌که در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند ALS و پارکینسون، آسیب وارده به نورون‌های حرکتی موجب بروز علائم بالینی می‌گردد [۱۰،۱۱]، لذا در مطالعه حاضر بر آن شدیم که اثر نوروپروتکتیو اسید اوریک بر نورون‌های حرکتی، پس از قطع عصب سیاتیک در نوزاد موش صحرایی و القای آپوپتوز ناشی از آکسوتومی را در شاخ قدامی نخاع بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

تهیه اسید اوریک. جهت انجام پژوهش، اسید اوریک ($C_5H_4N_4O_3$)از شرکت MERCK با جرم مولی ۱۶۸/۱۱ gr/mol خریداری گردید. دوز مورد نیاز اسید اوریک برای هر نوزاد ۱۰ mg/kg در نظر گرفته شد [۱۲]. جهت تهیه دوز مورد نظر ۰/۱ g از اسید اوریک در ۱۰۰cc نرمال سالین رقیق و ۰/۱ ml از محلول مورد نظر به هر نوزاد تزریق شد.

تهیه و گروه‌بندی حیوانات و آکسوتومی. ۱۰سر نوزاد دو روزه موش صحرایی نژاد اسپراگ داولی (مؤسسه رازی/کرج) به همراه موش‌های مادر، تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری و به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند. نوزادان هر دو گروه با روش هیپوترمی و پایین آوردن دمای بدن به وسیله یخ بی‌هوش شدند. هیپوترمی روشی مؤثر، ایمن و کارآمد برای القای بی‌هوشی عمومی در نوزاد جوندگان می‌باشد که از دهه ۱۹۳۰ میلادی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۳]. پس از بی‌هوشی پوست پشت ران سمت راست حیوان برش داده شد و با استفاده از استرئومیکروسکوپ و تحت شرایط استریل عصب سیاتیک سمت راست در عمق عضله دو سر رانی قطع گردید. سپس محل برش با نخ شماره‌ی ۰-۶ بخیه شد. در گروه آزمایش بلافاصله پس از به هوش آمدن نوزادان ۰/۱ ml (معادل ۱۰ mg/kg) اسید اوریک، و در گروه کنترل نیز حجم مساوی از محلول نرمال سالین به شکل داخل صفاقی تزریق شد.

تهیه نمونه‌های بافتی. در هر دو گروه در روز پنجم پس از آکسوتومی [۱۴]، نوزادان با استفاده از ترکیب ۱۰۰ mg/kg کتامین / ۱۰mg/kg زایلازین به نسبت وزن بدن بی‌هوش شده و تحت بی‌هوشی عمیق با پرفیوژن داخل قلبی سرم فیزیولوژیک حاوی ۵۰ U/ml هپارین و محلول پارافرمآلدئید ۴ درصد در بافر فسفات ۰,۱ مولار کشته شدند [۱۵]. سپس

قطعه L5 نخاع از طریق لامینکتومی خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت به محلول فیکساتیو مشابه منتقل گردید. در تمام نمونه‌های بافتی نیمه چپ نخاع به عنوان گروه کنترل داخلی در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت نگه‌داری در محلول فیکساتیو مراحل آماده‌سازی بافتی انجام و در نهایت از هر یک از نمونه‌ها قالب‌های پارافینی به دست آمد.

شمارش سلولی و ارزیابی آپوپتوز. با استفاده از میکروتوم روتاری مدل ۸۲۰ لایکا از قالب‌های پارافینی برش‌های عرضی سریال با ضخامت ۸ میکرومتر تهیه و با کرزیل فست ویوله ۰/۱٪ رنگ‌آمیزی شد. از هر ۱۰ برش رنگ‌آمیزی شده یک برش برای بررسی مورفومتری و شمارش نورون‌های حرکتی موجود در شاخ‌های قدامی دو طرف نخاع انتخاب گردید (مقاطع ۱، ۱۱، ۲۱ و...). به این ترتیب از هر نمونه نخاع ۱۰ برش و در مجموع در هر یک از گروه‌های آزمایشی و کنترل ۵۰ برش مورد شمارش قرار گرفت. در همه برش‌ها، نورون‌های حرکتی واقع در بخش خارجی شاخ قدامی نخاع (Rexed's lamina IX)که عموماً مربوط به اندام حرکتی خلفی حیوان می‌شوند مورد شمارش قرار گرفتند. برای این منظور سلول‌های دارای هسته روشن و با قطر بیش از ۱۰ µm و هستک برجسته و متمایز با بزرگ‌نمایی x ۴۰۰ شمارش شدند (شکل۱). با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در هر دو گروه، میانگین نورون‌های حرکتی شاخ قدامی هر دو نیمه نخاع و درصد میانگین کاهش نورون‌ها در سمت آکسوتومی در مقایسه با سمت سالم با روش آماری T-Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

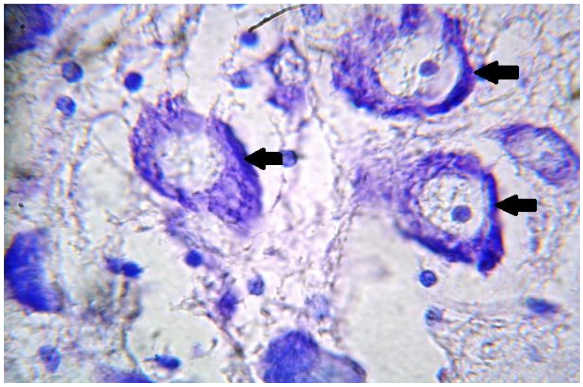
در تمامی گروه‌ها به منظور بررسی آپوپتوز سه برش مجاور برش‌های شمارش سلولی به شکل تصادفی انتخاب و برای مطالعه TUNEL assay به کار گرفته شد. به منظور افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، مقاطع بافتی ۸ دقیقه در معرض Triton X-100 (سیگما/ آلمان) قرار داده شد و پس از شستشو با PBS بر اساس دستورالعمل شرکت Roche آلمان تحت رنگ‌آمیزی TUNEL قرار گرفت. به طور خلاصه نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در یک محفظه مرطوب و تاریک با ۵۰ µl از مخلوط واکنش TUNELانکوبه گردید. پس از شستشو توسط PBS، به مدت ۳۰ دقیقه با ۵۰ µl محلول convertor-POD حاوی آنتی‌بادی کنژوگه با پراکسیداز انکوبه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵-۲۰ °C و در محیط تاریک در معرض ۱۰۰ µl Diaminobenzidine (سیگما/آلمان) قرار داده شد. در پایان نمونه‌ها پس از شستشو با PBS با لامل پوشانده شد و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی سلول‌های دچار آپوپتوز به شکل دانه‌های کاملاً متراکم قهوه‌ای تیره قابل تشخیص می‌باشد (شکل۲). در هریک از سه برش تهیه شده از هر گروه میانگین و درصد سلول‌های آپوپتوتیک به تعداد کل نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع محاسبه و به عنوان شاخص آپوپتوز (AI) در نظر گرفته شد [۱۶].

یافته‌های حاصل از شمارش سلولی و بررسی آپوپتوز به صورت میانگین ± انحراف معیار در آمده و معنی‌دار بودن تفاوت‌های آماری توسط T-Test تعیین شد. در تمام آنالیزهای آماری $P\leq ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

شمارش سلولی مقاطع رنگ‌آمیزی شده با رنگ کرزیل فست ویوله (شکل۱) نشان داد که قطع عصب سیاتیک موجب کاهش معنادار میانگین سلول‌های عصبی مربوطه در شاخ قدامی نخاع گردید. در گروه کنترل، در شاخ قدامی نیمه‌ی آکسوتومی شده نخاع در مقایسه با نیمه‌ی سالم، میانگین نورون‌های حرکتی با ۳۰/۴۸٪ کاهش از ۲/۴۴۶±۱۲/۴۶۷ به ۲/۲۹۴±۸/۶۶۷ تغییر یافت. در گروه آزمایشی نیز در نیمه‌ی آکسوتومی شده نخاع در مقایسه با نیمه‌ی سالم، ۱۶/۷۱٪ از نورون‌های حرکتی کاهش یافته میانگین سلول‌ها از ۳/۱۲۴±۱۲/۳۶۷ به ۲/۸۱۸±۱۰/۳۰۰ تغییر یافت. مقایسه میانگین نورون‌های حرکتی دو نیمه‌ی آکسوتومی شده و سالم نخاع در هر دو گروه آزمایش و کنترل با روش‌های

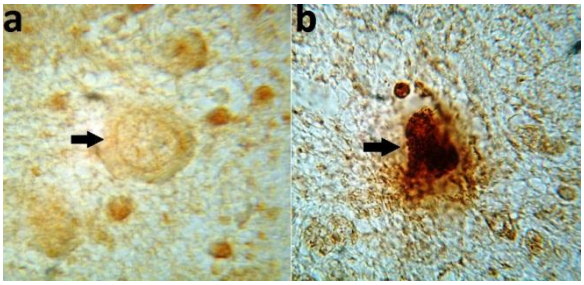
آماری t-test و one-way ANOVA، نشان‌دهنده تفاوت معنادار سمت آکسوتومی شده و سمت سالم (P<۰/۰۵)، و نیز تفاوت معنادار سمت آکسوتومی شده گروه کنترل و گروه تحت درمان با اسید اوریک بود (P<۰/۰۵) (شکل ۲).



شکل۱. نورون های حرکتی شاخ قدامی نخاع در سطح L5. رنگ آمیزی کرزیل فست ویوله، بزرگ نمایی x۱۰۰۰.

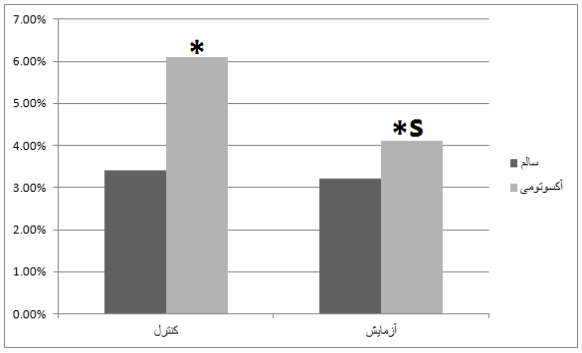
شکل ۲. میانگین نورون های حرکتی شاخ قدامی دو نیمه ی آکسوتومی و سالم نخاع در گروه های کنترل و تحت درمان با اسید اوریک. ❋: تفاوت معنادار با نیمه ی سالم در همان گروه. S (p<0.05): تفاوت معنادار با نیمه ی آکسوتومی در گروه کنترل (p<0.05).

برای تأیید نوع مرگ سلولی نورون‌ها از تکنیک TUNEL استفاده شد که در این روش نورون‌های آپوپتوتیک به شکل یک توده متراکم قهوه‌ای تیره مشاهده می‌شوند (شکل۳). درصد سلول‌های آپوپتوتیک شمارش شده به تعداد کل سلول‌ها به عنوان شاخص آپوپتوز یا Apoptotic Indexc (AI) در نظر گرفته شد. AI در نورون‌های حرکتی آکسوتومی شده گروه کنترل، ۶/۰۹٪ و در گروه آزمایش ۴/۱۱٪ محاسبه شد. این شاخص در نورون‌های حرکتی سمت سالم این دو گروه به ترتیب ۳/۴۱٪ و ۳/۲۱٪ بود.



شکل۳. رنگ آمیزی TUNEL. تصویرa: یک نورون حرکتی سالم در شاخ قدامی نخاع به رنگ قهوه ای روشن، تصویرb: یک نورون آپوپتوتیک. بزرگنمایی: x۱۰۰۰.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از T-Test، نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان AI در دو سمت آکسوتومی و سمت سالم در هر دو گروه کنترل و آزمایش بود (p<۰/۰۵). همچنین شایان ذکر است که تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در گروه کنترل با اختلاف معناداری از گروه آزمایش بیش‌تر بود (p<۰/۰۵) (شکل ۴).



شکل ۴. نسبت درصد سلول‌های آپوپتوتیک به تعداد کل نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در دو نیمه ی سالم و آکسوتومی شده نخاع در هر دو گروه کنترل و تحت درمان با اسید اوریک در تکنیک TUNEL. ❋: تفاوت معنادار با نیمه ی سالم در همان گروه (p<0.05) . S: تفاوت معنادار با نیمه ی آکسوتومی در گروه کنترل (p<0.05).

بحث و نتیجه‌گیری

وجود اختلاف معنادار بین میانگین نورون‌های حرکتی در نیمه سالم و نیمه آکسوتومی شده نخاع در گروه کنترل مؤید کارایی روش آکسوتومی در القای مرگ سلولی در نورون‌های حرکتی مربوطه می‌باشد و تکنیک TUNEL مورد استفاده در مطالعه حاضر نیز نشان داد که مکانیسم این مرگ سلولی، از نوع آپوپتوز می‌باشد. مدل آکسوتومی در مطالعات فراوانی به

عنوان شیوه‌ای استاندارد جهت القای آپوپتوز در نورون‌های حسی [۱۷] و حرکتی نوزاد [۱۸،۱۶] و نورون‌های حرکتی حیوان بالغ [۲۰،۱۹] مورد استفاده قرار گرفته است. اختلاف معنادار میانگین نورون‌های حرکتی سمت آکسوتومی شده گروه کنترل و گروه تحت درمان با اسید اوریک نشانگر آن بود که اسید اوریک نوروپروتکتیو بوده، می‌تواند از مرگ نورون‌های حرکتی آکسوتومی شده جلوگیری نماید. کاهش معنادار سلول‌های TUNEL مثبت در گروه تحت درمان با اسید اوریک، نشان داد که خاصیت نوروپروتکشن اسید اوریک عمدتاً از طریق مهار آپوپتوز می‌باشد. مقایسه یافته‌های شمارش سلولی و تکنیک TUNEL در این دو گروه نشانگر آن بود که تفاوت میان درصد آپوپتوز در نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در نیمه‌ی سالم و نیمه‌ی آکسوتومی شده به طور قابل توجهی کم‌تر از تفاوت بین میانگین نورون‌های حرکتی شمارش شده می‌باشد، به عبارت دیگر درصد سلول‌های آپوپتوتیک TUNEL مثبت کم‌تر از درصد سلول‌های از دست رفته بود. این امر می‌تواند به علت فاگوسیتوز و حذف سریع سلول‌های آپوپتوتیک موجود در بافت توسط سلول‌های اطراف باشد، که در نتیجه درصد قابل توجهی از سلول‌های آپوپتوتیک پیش از آن‌که بتوان آن‌ها را شمارش کرد از محیط حذف شده و در نمونه‌های تهیه شده با تکنیک TUNEL قابل شناسایی نخواهد بود.

در سال ۲۰۱۴ آبراهام و همکاران با مطالعه بیماران مبتلا به ALS، کاهش معنادار میزان اسیداوریک خون را در مقایسه با گروه شاهد گزارش نمودند [۱۱]. هم‌چنین گائو و همکاران در سال ۲۰۰۸ به منظور بررسی نقش اسیداوریک در بیماری پارکینسون، با تغذیه بیماران با مواد غنی از پورین و افزایش سطح اسید اوریک خون آنان، مشاهده نمودند که شدت علائم حرکتی بیماری کاهش یافت [۲۱]. در مطالعات متعددی در بیماران مبتلا به MS نیز مشاهده گردید که میزان اسید اوریک سرم در فعال شدن و عود علائم بیماری مؤثر است [۲۳،۲۲]. هم‌چنین در مطالعه دیگری بر روی بیماران مبتلا به استروک ایسکمیک حاد، مشاهده گردید که در بیماران دارای سطح اسید اوریک خون بالا، درمان ترومبولیز داخل وریدی نتایج بهتری را به دنبال داشت [۲۴]. در یک مطالعه تجربی بر روی موش‌های آزمایشگاهی C57BL/6، تزریق داخل صفاقی اسید اوریک موجب افزایش معنادار گلوتاتیون در هیپوکامپ حیوان گردید. در همین مطالعه با بررسی مقاطع بافتی هیپوکامپ در محیط کشت نیز مشاهده گردید که نورون‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ پس از تیمار با اسید اوریک در مقابل اکسیدان‌ها مقاوم‌تر بودند. بر اساس نتایج فوق پیشنهاد گردید که احتمالاً اسید اوریک با القای سنتز گلوتاتیون نورونی موجب نوروپروتکشن می‌شود [۱۲]. رومانوس و همکارانش نیز با مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی اسید اوریک در مدل تجربی ایسکمی مغزی در موش‌های صحرایی بالغ، نشان دادند که تجویز اسید اوریک در زمان کوتاهی پس از ایسکمی نوروپروتکتیو بوده حجم آسیب بافتی ناشی از ایسکمی را کاهش داده، عملکرد نورولوژیک را بهبود بخشیده و پاسخ‌های التهابی را تضعیف می‌نماید [۲۵]. در بیش‌تر مطالعات انجام شده عمدتاً اثر مقدار اسید اوریک سرم خون بیماران نورودژنراتیو و نقش نوروپروتکتیو آن بررسی شده است [۲۱،۱۱-۲۳]، و تنها تعداد کمی از مطالعات به شکل تجربی با تجویز اسید اوریک اگزوژن و افزایش اسید اوریک خون اثر نوروپروتکتیو آن را در حیوان‌های آزمایشگاهی بررسی نموده‌اند [۲۵،۱۲]. در جستجوهای انجام شده در پایگاه‌های اطلاعاتی مختلف، مطالعه‌ای جهت بررسی اثر آنتی‌آپوپتوتیک اسید اوریک بر نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع با روش مورفومتری و شمارش سلولی یافت نشد، و این خصیصه را می‌توان به عنوان مهم‌ترین جنبه نوآورانه مطالعه حاضر در نظر گرفت.

استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌هایی است که در بیماری‌های نورودژنراتیو می‌تواند به طور مستقیم سبب مرگ سلولی شود [۲۶] اسید اوریک در فرم محلول خود دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، ۶۰٪ از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون را فراهم می‌کند. اسید اوریک فعالیت آنزیم پراکسیداز را حفظ کرده منجر به حذف

رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد. هم‌چنین اسیداوریک می‌تواند با آهن باند شده از استرس اکسیداتیو ناشی از آن جلوگیری کند [۲۸،۲۷]. از آن‌جا که در بیماری‌های نورودژنراتیو استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آسیب سلولی ایفا می‌کند، بنابراین کاهش سطح اسیداوریک می‌تواند موجب افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب سلول‌های عصبی شود. البته مطالعات نشان می‌دهند که تمام اثر نوروپروتکتیو اسیداوریک در سیستم عصبی مرکزی فقط وابسته به نقش آنتی‌اکسیدانی آن نمی‌باشد [۲۹]. به عنوان مثال نشان داده شد که اسید اوریک می‌تواند از طریق تحریک بیان رسپتورهای گلوتامات در سلول‌های آستروگلیا از مسمومیت القا شده توسط گلوتامات پیشگیری کند [۲۲]. بنابراین اسید اوریک هم از طریق نقش آنتی‌اکسیدانی خود به صورت مستقیم و هم احتمالاً از طریق فعال کردن سلول‌های آستروگلیا به شکل غیر مستقیم نقش نوروپروتکتیو خود را اعمال می‌کند.

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق داخل صفاقی اسیداوریک می‌تواند از آپوپتوز القاشده توسط آکسوتومی در نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه دانشجویی مصوب دانشگاه شاهد می‌باشد.

منابع

[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: 317-130.

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

[4] Israels LG, Israels ED. Apoptosis. Oncologist 1999; 4: 332-339.

[5] Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Scince 1995; 267: 1456-1462.

[6] Palace J. Neuroprotection and repair. J Neurol Sci 2008; 265: 21-25.

[7] Kinugasa T, Ozaki S, Hamanaka S, Kudo N. The effects of sciatic nerve axotomy on spinal motoneurons in neonatal Bax-deficient mice. Neurosc Res 2002; 44: 439-446.

[8] Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, Graham SM, McDonald S, Gergel I. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. JAMA 2004; 291: 317-324.

[9] Squadrito GL, Cueto R, Splenser AE, Valavanidis A, Zhang H, Uppu RM, Pryor WA. Reaction of Uric Acid with Peroxynitrite and Implications for the Mechanism of Neuroprotection by Uric Acid. Arch Biochem Biophys 2000; 376: 333-337.

[10] Hooper DC, Spitsin S, Kean RB, Champion JM, Dickson GM, Chaudhry I, et al. Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyellitis and multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 675-680.

[11] Abraham A, Drory VE. Influence of serum uric acid levels on prognosis and survival in amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis. Neurol 2014; 261: 1133-1138.

[12] Aoyama K, Matsumura N, Watabe M, Wang F, Kikuchi-utsumy K, Nakaki T. Caffeine and uric acid mediate glutathione neuroprotection. Neuroscience 2011; 181: 206-215.

[13] Phiffer CB, Terry LM. Use of hypothermia for general anesthesia in preweaning rodents. Physiol Behav 1986; 38: 887-890.

[14] 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: 125-130.

[15] Gage GJ, Kipke DR, Shain W. Whole animal perfusion fixation for rodents. J Vis Exp 2012; 65: 3564.

[16] 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: 4446-4451.

[17] Deshad A, Parvizi M. The neuroprotective effect of Nepeta Mentoides on axotomized dorsal root ganglion sensory neuron in neonate rats. J Basic Clinical Pathophysiol 2014; 2: 13-20.

[18] 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. (Persian).

[19] Groves MJ, Christopherson T, Giometto B, Scaravilli F. Axotomy-induced apoptosis in adult rat primary sensory neurons. Neurocytol 1997; 26: 615-624.

[20] 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: 125-128.

[21] Gao X, Chen H, Choi HK, Curhan G, Schwarzschild MA, Ascherio A. Diet, Urate and Parkinson's disease risk in men. Am J Epidemiol 2008; 167: 831-838.

[22] Zoccolella S, Tortorella C, Laffaldano P, Direnzo V, D'Onghia M, Luciannatelli E, et al. Low serum Urate levels are associated to female gender in Multiple Sclerosis patients. Plos One 2012; 7: 221-226.

[23] Ashtari F, Bahar M, Aghaei M, Zahed A. Serum uric acid level in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. J Clin Neurosci 2013; 20: 676-678.

[24] Liu X, Liu M, Chen M, Ge QM, Pan SM. Serum uric acid is neuroprotective in Chinese patients with acute ischemic stroke treated with intravenous recombinant tissue plasminogen activator. J Stroke Cerebrovasc Dis 2015; 24: 1080-1086.

[25] Romanos E, Planas EM, Amaro S, Chamarro A. Uric acid reduces brain damage and improves the benefits of rt-PA in a rat model of thromboembolic stroke. J Cereb Blood Flow Metab 2007; 27: 14-20.

[26] Patel VP, Chu CT. Nuclear transport, oxidative stress, and neurodegeneration. Int J Clin Exp Pathol 2011; 4: 215-229.

[27] Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical caused aging and cancer: a hypothesis. Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 6858-6862.

[28] Du Y,Chen CP, Tseng CY, Eisenberg Y, Firestein BL. Astroglia mediated effects of uric acid to protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. Glia 2007; 55: 463-472.

[29] Drulovic J, Dujmovic I, Stojsavljev N, Mesaros S, Andjelkovic S. Uric acid levels in sera from patients with Multiple Sclerosis. Neurol 2001; 248: 121-126.

Neuroprotective effects of uric acid on axotomized spinal motoneurons in neonate rats

Alireza Azizzadeh Delshad (Ph.D)[*1], Mohammad Reza JalaliNadoushan (M.D)[1], Fatemeh GhafooriMehr (M.D Student)[2]

1 – Department of Anatomical Sciences and Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

2 - Faculty of Medicineran, Shahed University, Tehran, Iran

(Received: 11 Jan 2015; Accepted: 8 Aug 2015)

Introduction: Recently the neuroprotective role of uric acid (UA), as a natural biochemical substance, in neurodegenerative diseases has been proposed. Due to the critical role of apoptosis in many diseases of the nervous system, the present study was designed to investigate the anti-apoptotic effect of UA on motor neurons of the ventral spinal horn in neonate rats.

Materials and Methods: Two-day-old rat neonates (n=10) were subdivided into experimental and control groups. In both groups, right sciatic nerve was transected. Experimental neonates were immediately treated with 10mg/kg UA intraperitoneally, while the control's wound was closed without treatment. Five days after axotomy, transverse sections of spinal cord at L5 level were prepared for morphometric cell count and TUNNEL assay.

Results: The motor neuron loss in axotomized side compared to intact side was 30.48%, which illustrates the effectiveness of axotomy in inducing motoneuron cell death. The TUNNEL assay confirmed the apoptotic characteristics of cell death. Comparing the mean motoneurons loss in the axotomized side of the control and UA-treated neonates, revealed a significant difference between the two groups ($p<0.05$). Also in both control and experimental groups, the difference between the apoptotic Index of the axotomized and intact sides was statistically significant ($p<0.05$).

Conclusion: Neuroprotective effect of UA is possibly through inhibiting the apoptotic cell death, which occurred with the axotomized motoneurons in ventral spinal horn.

Keywords: Uric Acid, Neuroprotection, Motoneuron, Apoptosis, Axotomy, Neonate Rat

* Corresponding author. Tel: +98 21 88964792

delshada@yahoo.com