View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Repository of Research and Investigative Information

مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۵، اردیبهشت ۱۳۹۷، صفحه ۲۲-۱۶

تاثیر پیوگلیتازون بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو بعد از صدمه نخاعی در موش صحرایی

زهرا جهانبخش (MSc)[۱]، حسن قشونی (PhD)[۱]، مریم صالحی (PhD)[۲]، محمدتقی محمدی (PhD)[۱و۲*]

۱-گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
۲-مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

دریافت: ۹۶/۷/۲۵، اصلاح: ۹۶/۱۲/۸، پذیرش: ۹۷/۱/۲۸

خلاصه

سابقه و هدف: کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو نقش کلیدی در گسترش ضایعه بعد از صدمه نخاعی دارد. از آنجایی که پیوگلیتازون (آگونیست PPAR-gamma) دارای ماهیت آنتی‌اکسیدانی قوی است، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر پیوگلیتازون بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو در ناحیه ضایعه دیده نخاع در موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به سه گروه ۶تایی: شاهد، کنترل ضایعه و ضایعه تیمار با پیوگلیتازون، تقسیم شدند. ضایعه نخاعی بر اساس مدل رها کردن وزنه (کوفتگی) در موش صحرایی انجام شد. حیوانات پیوگلیتازون (۳mg/kg) به صورت داخل‌صفاقی در زمان‌های ۱۵ دقیقه پس از ایجاد ضایعه و سپس هر ۱۲ساعت تا یک هفته دریافت نمودند. در پایان، میزان مالون‌دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز (SOD) و همچنین تغییرات آسیب‌شناختی نخاع ارزیابی شدند.

یافته ها: القای ضایعه نخاعی در حیوانات کنترل ضایعه میزان مالون‌دی‌آلدهید را افزایش (۵۶٪) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۴۸٪) و سوپراکساید دیسموتاز (۶۵٪) را در مقایسه با حیوانات گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد (به ترتیب P=۰/۰۰۴، P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۰۸). پیوگلیتازون در حیوانات ضایعه تیمار شده میزان مالون‌دی-آلدهید را کاهش (۳۸٪) و فعالیت آنزیم کاتالاز را (۳۴٪) در مقایسه با حیوانات گروه کنترل ضایعه به طور معنی‌داری افزایش داد (به ترتیب P=۰/۰۳۵ و P=۰/۰۱۴). همچنین پیوگلیتازون از تغییرات آسیب‌شناختی بافت نخاع در محل ضایعه جلوگیری کرد.

نتیجه گیری: یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد تیمار با پیوگلیتازون از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت نخاع ضایعه دیده باعث کاهش آسیب اکسیداتیو و همچنین تغییرات آسیب‌شناختی نخاع می‌گردد.

واژه های کلیدی: ضایعه نخاعی، پیوگلیتازون، آسیب اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدهید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

آسیب به طناب نخاعی (Spinal cord injury =SCI) با وقوع سالانه ۴۰-۱۵ مورد از هر میلیون نفر در سراسر جهان رخ می‌دهد (۱). میزان بروز عوارض ناشی از صدمات نخاعی همچون نقص‌های حرکتی با شدت آسیب مکانیکی اولیه و با مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک ثانویه بعد از آسیب نخاعی مرتبط می باشند (۳و۲). صدمات مکانیکی اولیه در ابتدا خود باعث ایجاد نکروز، ادم، خونریزی و وازواسپاسم در ناحیه صدمه دیده می‌شود (۴). سپس در این ناحیه برخی مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک ثانویه فعال شده که مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز)، پاسخ التهابی و تولید رادیکال‌های آزاد از مهم ترین آنها هستند (۶و۵و۲). افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species =ROS) و نهایتا بروز پدیده استرس اکسیداتیو از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌های آسیب نخاعی پس از صدمه می‌باشد (۷و۲). هر چند در شرایط طبیعی رادیکال‌ها و اکسیدان‌های تولید شده در بافت عصبی توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شود اما پس از بروز آسیب نخاعی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ناحیه صدمه دیده بافت عصبی تضعیف می گردد (۸). بخش مهمی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از آنزیم‌های کلیدی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز تشکیل شده که به ترتیب باعث خنثی شدن آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می شوند (۹). در نواحی صدمه دیده نخاع، تجمع رادیکال‌های آزاد به طور گسترده‌ای زیاد می‌گردد که بخشی به دلیل تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی بوده و بخشی دیگر به دلیل افزایش آنزیم‌های پرواکسیدان می باشد (۱۰و۷). تجمع این رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث صدمه به ماکرومولکول‌های حیاتی سلول‌ها نظیر پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند (۹). بنابراین حذف این رادیکال‌ها در نواحی صدمه دیده نخاع تا حد زیادی می تواند از عوارض ناشی از آسیب نخاعی بکاهد (۱۱). آگونیست‌های فعال کننده تکثیر پراکسیزوم‌ها (PPAR-gamma) مانند پیوگلیتازون جزء دسته داروهای تیازولیدین‌دیون ها

▣ این مقاله حاصل پایان نامه زهرا جهانبخش دانشجوی دکترا رشته فیزیولوژی و طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۹۶،۱۷۱ .IR.BMSU.REC دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر محمدتقی محمدی
آدرس: تهران، خیابان ملاصدرا، خیابان شیخ بهایی جنوبی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله. تلفن: ۸۲۴۸۳۴۱۹-۰۲۱
E-mail: mohammadi.mohammadt@yahoo.com

(TZDs) می‌باشند. استفاده از این آگونیست‌ها باعث فعال شدن مسیرهای متنوعی از فرآیند های بیولوژیکی همچون متابولیسم گلوکز، رگ زایی، چربی زایی و تکثیر سلولی می گردند (۱۴-۱۲). این داروها همچنین دارای چندین خصوصیت دیگر از جمله ماهیت ضدالتهابی، مهارکننده آپوپتوز، ضد سرطان و اثرات محافظت کننده عصبی می‌باشند (۱۵و۱۲).

فعال شدن PPAR-gamma از ایجاد اختلال در عملکرد عصبی بعد از خونریزی مغزی جلوگیری کرده و پاسخ التهابی را به همراه آسیب بافتی مهار می‌کند (۱۶). تحقیقات قبلی برخی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این آگونیست‌ها را در شرایط پاتولوژیک سیستم عصبی مثل بیماری پارکینسون، آلزایمر و سکته مغزی گزارش کرده‌اند (۱۸و۱۷و۱۴). در تحقیقی اثرات بهبودی بخش عملکرد حرکتی توسط پیوگلیتازون در مدل آزمایشگاهی آسیب نخاعی گزارش شده است (۱۹). در تحقیق Meng و همکاران رزیگلیتازون در مقایسه با پردنیزولون (تنها داروی انتخابی درمان آسیب نخاعی) اثرات بهبودی بخش بهتری بر عملکرد حرکتی در آسیب نخاعی داشته است (۱۲). استفاده از رزیگلیتازون همچنین میزان بیان فاکتورهای رشد عصبی Brain Derived Neurotrophic Factor =BDNF را در شرایط بروز ضایعه نخاعی افزایش داده و میزان بیان فاکتور نسخه برداری-κB (NF-κB) که نقش کلیدی در بیان بسیاری از فاکتورهای التهابی دارد را کاهش داده است (۲۰).

استفاده از آگونیست‌های PPAR-gamma همچنین موجب کاهش فاکتورهای التهابی مثل فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-α) و اینترلوکین-یک بتا (IL-1β) در حیوانات دچار ضایعه نخاعی شده و علاوه بر کاهش میزان آنزیم میلوپراکسیداز، علائم حرکتی را بهبود بخشیده است (۱۹و۱۲). نهایتا مشخص شده استفاده از این آگونیست‌ها سبب افزایش تکثیر سلول‌های زایای عصبی درون‌زا می‌گردد (۱۲).

بر پایه تحقیقات انجام شده، آگونیست‌های PPAR-gamma مانند پیوگلیتازون دارای ماهیت آنتی‌اکسیدانی قدرتمند هستند. بنابراین با توجه به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت نخاع ضایعه دیده و نقش کلیدی آسیب اکسیداتیو در تشدید و گسترش ضایعه نخاعی بعد از صدمه به نخاع، مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر داروی پیوگلیتازون بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو در ناحیه ضایعه دیده نخاع در موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مداخله‌ای-تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق داانشگاه علوم پزشکی بقیه الله با کد IR.BMSU.REC.۱۳۹۶.۱۷۱ بر روی ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار تهیه شده از مرکز پژوهشی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات بدون داشتن محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی با درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. ایجاد ضایعه براساس مدل Contusion و به روش رها کردن وزنه در موش صحرایی انجام شد (۲۱). حیوانات پس از بیهوشی با ایزوفلوران ۲/۵ درصد (فوران، انگلستان)، بر روی میز جراحی تثبیت و موهای ناحیه پشتی پوست تراشیده شد. بعد از ضدعفونی ناحیه مورد نظر، یک برش طولی در طول ستون مهره ها ایجاد شده و بافت‌های سست برداشته و بعد از کنار زدن عضلات پاراورتبرال و رباط‌ها، عمل لامینکتومی بر روی مهره T-13 حیوان انجام شد. جهت ایجاد ضربه نخاعی از یک وسیله طراحی شده با رها کردن وزنه ۱۰ گرمی از ارتفاع ۶ سانتیمتری استفاده گردیده و ضایعه نسبتا شدیدی در ناحیه مشخصی از نخاع ایجاد شد.

پس از ایجاد ضربه نخاعی تمامی برش‌های ایجاد شده در دو لایه مجزا دوخته شد و سپس حیوان تا هوشیاری کامل در محل مناسب نگه‌داری گردیدند. ابتدا موش‌های صحرایی سالم به صورت تصادفی به سه گروه۶تایی شاهد، گروه کنترل ضایعه و گروه ضایعه تیمار شده با پیوگلیتازون تقسیم شدند. در حیوانات گروه شاهد فقط عمل جراحی لامینکتومی انجام شد. ولی انداختن وزنه و ضایعه نخاعی ایجاد نگردید. در گروه کنترل ضایعه، بعد از انجام جراحی و آشکار کردن نخاع، ضایعه نخاعی با روش انداختن وزنه بر روی نخاع انجام گرفت. در گروه ضایعه تیمار شده با داروی پیوگلیتازون نیز مشابه گروه کنترل ضایعه آسیب نخاعی ایجاد شده و حیوانات داروی پیوگلیتازون (آویناش، هندوستان) با دوز ۳ mg/kg به صورت داخل صفاقی در زمان‌های ۱۵ دقیقه پس از ایجاد ضایعه نخاعی و سپس هر ۱۲ساعت تا یک هفته دریافت نمودند. انتخاب دوز دارو، شیوه و مدت تزریق بر اساس جمع بندی مطالعات انجام گرفته می‌باشد (۲۳و۲۲). ضمنا حیوانات گروه شاهد و کنترل ضایعه DMSO به عنوان حلال پیوگلیتازون معادل حیوانات گروه ضایعه تیمار شده به صورت زیر صفاقی دریافت کردند.

در پایان آزمایش حیوانات تحت بیهوشی عمیق قرار گرفته و بافت نخاع در ناحیه T-12 تا L-1 با دقت کامل خارج شد. برای بررسی سیستم آنتی‌اکسیدانی در نیتروژن مایع و آسیب‌شناسی در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. مطالعه آسیب-شناسی بر اساس روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین انجام گردید. همچنین بافت‌های منجمد شده به نسبت ۱:۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه شده و پس از آن نمونه‌ها در g ۱۴۰۰۰ و ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. از محلول رویی جهت اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید و سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز استفاده شد.

برای تعیین میزان مالون‌دی‌آلدئید، به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه، ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰٪ اضافه و به‌مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ شد، سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک ۰/۶۷٪ به آن اضافه شد و به‌مدت۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار گرفت؛ سپس ۲ میلی‌لیتر ۱- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدئید برحسب نانومول بر میلی‌لیتر محاسبه گردید (۲۴). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به حجم معینی از عصاره بافتی، اتانول مطلق (۰/۰۱ میلی لیتر/میلی لیتر) اضافه شد و مدت ۳۰ دقیقه در یخ اینکوبه گردید. سپس تریتون X-100 ده درصد با غلظت نهایی یک درصد اضافه شد.

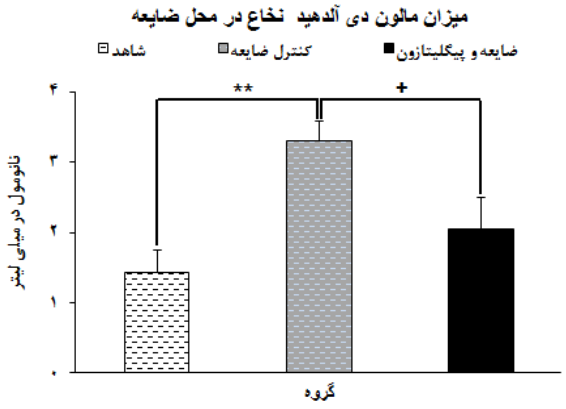
این محلول جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بکار برده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۰۵ میلی لیتر H_2O_2 ۳۰ میلی مولار به نمونه بافتی در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار pH=۷ شروع شد. سپس جذب در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه گردید (۲۵). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز ۰/۲ میلی لیتر

EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۱/۵ میلی مولار و ۲۰۰ میکرولیتر بافت هموژنیزه (یا بافر برای کنترل) به یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

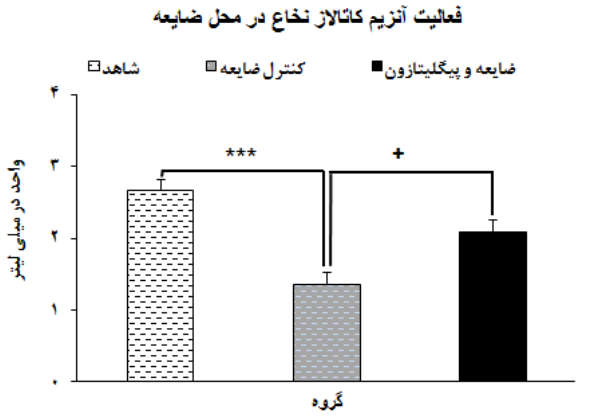
سپس ۰/۰۵ میلی لیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار pH= ۷/۸ اضافه و به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه گردید (۲۶). نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۱ و از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) به همراه آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

ایجاد ضایعه نخاعی میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت نخاع در حیوانات گروه کنترل ضایعه (۳/۳۲±۰/۲۸ نانومول بر میلی‌لیتر) را در مقایسه با گروه شاهد (۱/۴۴±۰/۳۱ نانومول بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری افزایش داد (p=۰/۰۰۴). در حالی که پیوگلیتازون میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت نخاع در مناطق آسیب دیده را در گروه ضایعه تیمار شده (۲/۰۶±۰/۴۴ نانومول بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل ضایعه به‌طور معنی‌داری کاهش داد (p=۰/۰۳۵). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در محل جراحی شده نخاع در گروه شاهد برابر با ۲/۶۸±۰/۱۵ واحد بر میلی‌لیتر می‌باشد (نمودار ۱). ایجاد ضایعه نخاعی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت نخاع حیوانات گروه کنترل ضایعه (۱/۳۷±۰/۱۷ واحد بر میلی‌لیتر) را در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش داد (p=۰/۰۰۱). در حالی که تیمار با داروی پیوگلیتازون میزان فعالیت این آنزیم را در مناطق آسیب دیده نخاع حیوانات گروه ضایعه درمان شده در مقایسه با گروه کنترل ضایعه به‌طور معنی‌داری افزایش داد (p=۰/۰۱۴)، که میزان عددی آن در این گروه برابر با ۲/۰۹±۰/۱۷ واحد بر میلی‌لیتر می باشد (نمودار ۲).



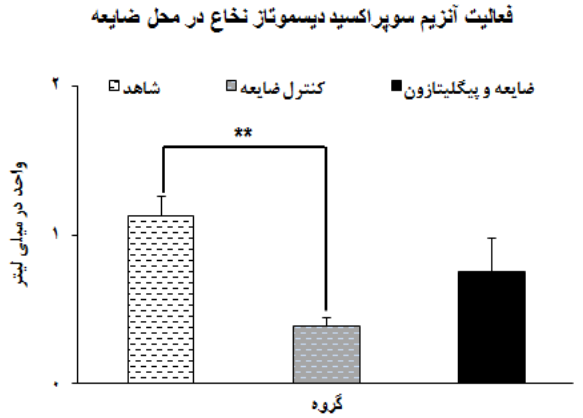
نمودار ۱. تاثیر داروی پیگلیتازون بر میزان مالون‌دی‌آلدهید (نانومول بر میلی‌لیتر) بافت نخاع در گروه‌های مورد مطالعه: داده ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. ** نشانگر تفاوت معنی دار با p=۰/۰۰۴ در مقایسه با گروه شاهد. + نشانگر تفاوت معنی دار با p=۰/۰۳۵ در مقایسه با گروه کنترل ضایعه



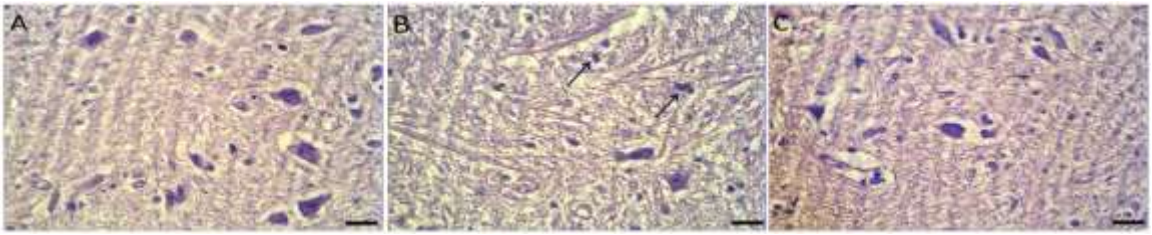
نمودار ۲. تاثیر داروی پیگلیتازون بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی‌لیتر) بافت نخاع در گروه‌های مورد مطالعه: داده ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. * نشانگر تفاوت معنی دار با p=۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد. + نشانگر تفاوت معنی دار با p=۰/۰۱۴ در مقایسه با گروه کنترل ضایعه**

میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت نخاع در حیوانات گروه شاهد جراحی برابر با ۱/۱۳±۰/۱۳ واحد بر میلی‌لیتر بود (نمودار ۳). ایجاد ضایعه نخاعی میزان فعالیت این آنزیم در حیوانات گروه کنترل ضایعه (۰/۳۹±۰/۰۶ نانومول بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه شاهد را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (p=۰/۰۰۸). پیوگلیتازون گرچه میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز در گروه ضایعه تیمار شده (۰/۷۶±۰/۲۲ واحد بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل ضایعه را افزایش داد اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p=۰/۱۳۵).

بر اساس تصاویر میکروسکوپی تهیه شده از بافت نخاع در حیوانات گروه شاهد، بافت نخاع و نحوه قرار گیری نورون ها طبیعی هستند. در حیوانات گروه کنترل ضایعه آسیب نورونی به صورت نورون‌هایی با هسته های پیکنوته و نکروز شده (هسته‌های متراکم و چروکیده) به وضوح قابل مشاهده است. میزان این تغییرات در بافت نخاع حیوانات گروه ضایعه تیمار شده با داروی پیوگلیتازون به مراتب کم‌تر از حیوانات گروه کنترل ضایعه است (شکل ۱).



نمودار ۳. تاثیر داروی پیگلیتازون بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر) بافت نخاع در گروه‌های مورد مطالعه: داده ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. ** نشانگر تفاوت معنی دار با p=۰/۰۰۸ در مقایسه با گروه نرمال



شکل ۱. تصاویر مقاطع عرضی بافت نخاع در نواحی ضایعه دیده با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در گروه‌های شاهد (A)، کنترل ضایعه (B) و ضایعه تیمار شده با داروی پیگلیتازون (C) را نشان می دهد. در گروه کنترل ضایعه آسیب به بافت نخاع به همراه نورون های نکروز شده و پیکنوته به وضوح مشاهده می شود (Scale bars: 20 µm، 400X).

بحث و نتیجه گیری

بر پایه یافته‌های مطالعه حاضر، ایجاد ضایعه نخاعی با استفاده از روش انداختن وزنه باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو و کاهش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت نخاع در ناحیه ضایعه دیده شد. درحالیکه تیمار با پیوگلیتازون آسیب اکسیداتیو و تغییرات آسیب‌شناختی نخاع ضایعه دیده را به مقدار قابل توجهی کاهش داده و باعث بهبود ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی گردید. بر این اساس تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی توسط پیوگلیتازون می‌تواند باعث کاهش آسیب اکسیداتیو و تغییرات آسیب‌شناختی ناشی از ضایعه نخاعی گردد. آسیب اکسیداتیو نقش کلیدی در گسترش ضایعه اولیه و ایجاد آسیب‌های ثانویه بعد از صدمه به طناب نخاعی داشته و باعث گسترش آسیب اولیه و تشدید ضایعه می‌گردد (۷و۸). نتایج مطالعه حاضر همانند یافته‌های مطالعات قبلی نشان می‌دهد بعد از ایجاد ضایعه نخاعی، آسیب اکسیداتیو در ناحیه صدمه دیده بروز کرده زیرا میزان مالون-دی‌آلدهید که شاخصی از آسیب اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها بوده به مقدار زیادی در این ناحیه افزایش یافته است.

بر پایه تحقیقات قبلی آسیب اکسیداتیو نقش اساسی در ایجاد صدمات نورونی و آسیب به بافت عصبی دارد (۷)، به طوری که نتایج بافت شناسی نخاع در ناحیه صدمه دیده به خوبی این آسیب‌ها را نشان می‌دهد. بعد از بروز ضایعه نخاعی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به شدت تضعیف می‌گردد (۲۷و۸)، که نتایج مطالعه حاضر این موضوع را به خوبی نشان می‌دهد. طبق نتایج این مطالعه کاهش فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز باعث تجمع آنیون سوپراکسید در ناحیه ضایعه می‌گردد. از طرفی آنیون سوپراکسید با نیتریک اکساید، که میزان آن به دلیل افزایش آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز القایی افزایش یافته، ترکیب شده (۲۷) و باعث ایجاد ترکیب سمی تحت عنوان پراکسی نیتریت می‌گردد که برای نورون ها و بافت عصبی به شدت سمی است (۹).

همچنین در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به مقدار قابل ملاحظه-ای در بافت نخاع صدمه دیده کاهش یافت. عدم فعالیت این آنزیم باعث تجمع پراکسید هیدروژن و سپس تجزیه آن به رادیکال‌های هیدروکسیل شده که برای ماده DNA بسیار سمی و مضر می‌باشد (۹). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش پایه‌ای در ایجاد آسیب اکسیداتو در بافت نخاع صدمه دیده دارد. آگونیست‌های PPAR-gamma مثل پیوگلیتازون دارای اثرات محافظت کننده نورونی و بافت عصبی هستند (۱۷و۱۵). براساس نتایج تحقیقات، استفاده از این آگونیست‌ها، که دارای ماهیت آنتی‌اکسیدانی هستند، از ایجاد صدمه به بافت عصبی جلوگیری می‌کند (۱۸). طبق نتایج مطالعه حاضر تیمار با پیوگلیتازون بعد از ایجاد ضایعه نخاعی از تجمع رادیکال‌های آزاد و آسیب اکسیداتیو جلوگیری کرد زیرا پیوگلیتازون میزان مالون‌دی‌آلدهید را در بافت نخاع صدمه دیده به مقدار زیادی کاهش داد. به نظر می‌رسد، با توجه به اهمیت آسیب اکسیداتیو در تشدید و گسترش ضایعه نخاعی بعد از صدمه به نخاع، پیوگلیتازون از طریق ممانعت از بروز آسیب اکسیداتیو باعث کاهش آسیب نورونی و بافت عصبی در ضایعه نخاعی می‌گردد. برخی از ماهیت‌های آنتی‌اکسیدانی پیوگلیتازون به دلیل ایجاد تغییر در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌های بدن می‌باشد (۲۸).

طبق نتایج تحقیقات قبلی استفاده از پیوگلیتازون موجب تغییر در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون گلوتانیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در برخی شرایط پاتولوژیک می گردد (۳۰و۲۸و۱۸). در مطالعه حاضر تیمار با پیوگلیتازون بعد از ایجاد ضایعه نخاعی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در نواحی ضایعه دیده به میزان زیادی نسبت به گروه کنترل ضایعه افزایش داد. همچنین میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز در گروه ضایعه تیمار شده نسبت به گروه کنترل ضایعه بالاتر بود. مشابه این نتایج، اثرات تقویت کننده ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی توسط پیوگلیتازون در برخی شراط پاتولوژیک همچون ایسکمی و ضربه‌های مغزی گزارش شده است (۲۹). از طرفی چون آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمدتا در پراکسیزوم‌ها قرار گرفته، استفاده از آگونیست‌های PPAR-gamma همچون پیوگلیتازون می‌توانند به طور موثری باعث القای بیان این آنزیم ها شوند (۶). بنابراین طبق نتایج مطالعه حاضر و تحقیقات قبلی، به نظر می‌رسد پیوگلیتازون از طریق افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و ممانعت از تجمع رادیکال‌های آزاد از آسیب اکسیداتو و تغییرات آسیب‌شناختی نخاع صدمه دیده جلوگیری می‌کند. بعلاوه، برخی از اثرات محافظت بافت عصبی و نورونی همچون مهار سیگنال‌های آپوپتوز (۱۵) و مهار پاسخ التهابی (۱۲)، از آگونیست-های PPAR-gamma گزارش شده است.

طبق نتایج مطالعه حاضر، استفاده از پیوگلیتازون با تقویت ظرفیت دفاع آنتی-اکسیدانی نخاع ضایعه دیده از آسیب اکسیداتیو و تغییرات آسیب‌شناختی حین ضایعه نخاعی جلوگیری می‌کند. بر این اساس، استفاده از پیوگلیتازون بعد از صدمه به نخاع ممکن است از آسیب‌های ثانویه و گسترش ضایعه جلوگیری کرده و به عنوان یکی از گزینه‌های درمانی برای کاهش عوارض ناشی از ضایعات نخاعی مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله و گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی جهت فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

Effect of Pioglitazone on Antioxidant Capacity and Oxidative Damage after Spinal Cord Injury in Rat

Z. Jahanbakhsh (MSc)[1], H. Ghoshooni (PhD)[1], M. Salehi (PhD)[2], M.T. Mohammadi (PhD)[*1, 2]

1.Department of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.
2.Research Center of Neuroscience, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 20(5); May 2018; PP: 16-22
Received: Oct 17th 2017, Revised: Feb 27th 2018, Accepted: Apr 17th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Reduction of the antioxidant capacity and oxidative damage has a crucial role in development of damage after spinal cord injury. Since pioglitazone (PPAR-gamma agonist) have a powerful antioxidant property, the present study aimed to evaluate the effect of pioglitazone on antioxidant capacity and oxidative damage in the injured areas of spinal cord in rat.

METHODS: In the present experimental study eighteen male Wistar rats divided into three groups as follow (n=6); sham, control injured and pioglitazone-treated injured group. Spinal cord injury was performed according to the Ping-Weight Drop (contusion) model in rat. The animals received pioglitazone (3 mg/kg) intraperitoneally at times of 15 min after injury and then each 12 hours until a week. At the end, malondialdehyde level, activity of catalase and superoxide dismutase (SOD) enzymes and also histopathological alterations of spinal cord were assessed.

FINDINGS: Induction of spinal cord injury in control injured animals significantly increased the malondialdehyde levels (56%) and decreased the activity of catalase (48%) and SOD (65%) enzymes compared to sham group (p=0.004, p=0.001 and P=0.008, respectively). Pioglitazone in treated injured group significantly decreased the malondialdehyde levels (38%) and increased the activity of catalase (34%) enzyme compared to control injured group (p=0.038 and p=0.014, respectively). Also, pioglitazone prevented the histopathological changes of injured areas in spinal cord.

CONCLUSION: The findings of present study indicate that treatment with pioglitazone through potentiation of the antioxidant defense capacity of injured spinal cord decreases oxidative damage and also histopathological changes of spinal cord.

KEY WORD: *Spinal cord injury, Pioglitazone, Oxidative damage, Malondialdehyde, Antioxidant capacity*.

Please cite this article as follows:
Jahanbakhsh Z, Ghoshooni H, Salehi M, Mohammadi MT. Effect of Pioglitazone on Antioxidant Capacity and Oxidative Damage after Spinal Cord Injury in Rat. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(5): 16-22.

*Corresponding Author: M.T. Mohammadi (PhD)
Address: Baqiyatallah University of Medical Sciences, South Sheikh Bahai St, Mullah Sadra Street, Tehran, I.R.Iran.
Tel: +98 21 82483419
E-mail: mohammadi.mohammadt@yahoo.com

References

1.Piatt J, Imperato N. Epidemiology of spinal injury in childhood and adolescence in the United States: 1997-2012. J Neurosurg Pediatr. 2018:1-8.

2.Visavadiya NP, Patel SP, VanRooyen JL, Sullivan PG, Rabchevsky AG. Cellular and subcellular oxidative stress parameters following severe spinal cord injury. Redox Biol. 2016;8:59-67.

3.Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. Spine. 2001;26(24):2-12.

4.Mortazavi MM, Verma K, Harmon OA, Griessenauer CJ, Adeeb N, Theodore N, et al. The microanatomy of spinal cord injury: a review. Clin Anat. 2015;28(1):27-36.

5.Hayta E, Elden H. Acute spinal cord injury: A review of pathophysiology and potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs for pharmacological intervention. J Chem Neuroanat. 2018;87:25-31.

6.Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, Fehlings MG. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. Neurosurg Focus. 2008;25(5):E2.

7.Fatima G, Sharma VP, Das SK, Mahdi AA. Oxidative stress and antioxidative parameters in patients with spinal cord injury: implications in the pathogenesis of disease. Spinal cord. 2015;53(1):3-6.

8.Bains M, Hall ED. Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury. Biochim Biophys Acta. 2012;1822(5):675-84.

9.Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):44-84.

10.Bermudez S, Khayrullina G, Zhao YJ, Byrnes KR. NADPH oxidase isoform expression is temporally regulated and may contribute to microglial/macrophage polarization after spinal cord injury. Mol Cell Neurosci. 2016;77:53-64.

11.Fu S, Lv R, Wang L, Hou H, Liu H, Shao S. Resveratrol, an antioxidant, protects spinal cord injury in rats by suppressing MAPK pathway. Saudi J Biol Sci. 2018;25(2):259-66.

12.Meng QQ, Liang XJ, Wang P, Wang XP, Yang JW, Wu YF, et al. Rosiglitazone enhances the proliferation of neural progenitor cells and inhibits inflammation response after spinal cord injury. Neurosci Lett. 2011;503(3):191-5.

13.Jia HB, Wang XM, Qiu LL, Liu XY, Shen JC, Ji Q, et al. Spinal neuroimmune activation inhibited by repeated administration of pioglitazone in rats after L5 spinal nerve transection. Neurosci Lett. 2013;543:130-5.

14.Kapadia R, Yi JH, Vemuganti R. Mechanisms of anti-inflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. Front Biosci. 2008;13:1813-26.

15.Zhu J, Zhang J, Ji M, Gu H, Xu Y, Chen C, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptor and effects of its agonist, pioglitazone, on a rat model of optic nerve crush: PPARgamma in retinal neuroprotection. PloS One. 2013;8(7):e68935.

16.Pei L, Meng S, Yu W, Wang Q, Song F, Ma L. Inhibition of MicroRNA-383 Ameliorates Injury After Focal Cerebral Ischemia via Targeting PPARgamma. Cell Physiol Biochem. 2016;39(4):1339-46.

17.Kumari R, Willing LB, Patel SD, Krady JK, Zavadoski WJ, Gibbs EM, et al. The PPAR-gamma agonist, darglitazone, restores acute inflammatory responses to cerebral hypoxia-ischemia in the diabetic ob/ob mouse. J Cereb Blood Flow Metab. 2010;30(2):352-60.

18.Al Rouq F, El Eter E. PPAR-gamma activator induces neuroprotection in hypercholesterolemic rats subjected to global cerebral ischemia/reperfusion injury: in vivo and in vitro inhibition of oxidative stress. Exp Gerontol. 2014;51:1-7.

19.Li X, Du J, Xu S, Lin X, Ling Z. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone reduces secondary damage in experimental spinal cord injury. J Int Med Res. 2013;41(1):153-61.

20.Meng B, Zhang Q, Huang C, Zhang HT, Tang T, Yang HL. Effects of a single dose of methylprednisolone versus three doses of rosiglitazone on nerve growth factor levels after spinal cord injury. J Int Med Res. 2011;39(3):805-14.
21.Gruner JA. A monitored contusion model of spinal cord injury in the rat. J Neurotrauma. 1992;9(2):123-6.
22.McTigue DM, Tripathi R, Wei P, Lash AT. The PPAR gamma agonist Pioglitazone improves anatomical and locomotor recovery after rodent spinal cord injury. Exp Neurol. 2007;205(2):396-406.
23.Park SW, Yi JH, Miranpuri G, Satriotomo I, Bowen K, Resnick DK, et al. Thiazolidinedione class of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists prevents neuronal damage, motor dysfunction, myelin loss, neuropathic pain, and inflammation after spinal cord injury in adult rats. J Pharmacol Exp Ther. 2007;320(3):1002-12.
24.Darabi S, Mohammadi MT. Fullerenol nanoparticles decrease ischaemia-induced brain injury and oedema through inhibition of oxidative damage and aquaporin-1 expression in ischaemic stroke. Brain Inj. 2017;31(8):1142-1150.
25.Arjmand Abbassi Y, Mohammadi MT, Sarami Foroshani M, Raouf Sarshoori J. Captopril and Valsartan May Improve Cognitive Function Through Potentiation of the Brain Antioxidant Defense System and Attenuation of Oxidative/Nitrosative Damage in STZ-Induced Dementia in Rat. Adv Pharm Bull. 2016;6(4):531-9.
26.Vani JR, Mohammadi MT, Foroshani MS, Jafari M. Polyhydroxylated fullerene nanoparticles attenuate brain infarction and oxidative stress in rat model of ischemic stroke. EXCLI J. 2016;15:378-90.
27.Vaziri ND, Lee YS, Lin CY, Lin VW, Sindhu RK. NAD(P)H oxidase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and nitric oxide synthase expression in subacute spinal cord injury. Brain Res. 2004;995(1):76-83.
28.Ketsawatsomkron P, Sigmund CD. Molecular mechanisms regulating vascular tone by peroxisome proliferator activated receptor gamma. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2015;24(2):123-30.
29.Reel B, Guzeloglu M, Bagriyanik A, Atmaca S, Aykut K, Albayrak G, et al. The effects of PPAR-gamma agonist pioglitazone on renal ischemia/reperfusion injury in rats. J Surg Res. 2013;182(1):176-84.