

اثر محافظت عصبی اسید اوریک در پیشگیری از آپوپتوز نورون‌های گانگلیون

ریشه پشته‌ی اعصاب نخاعی

دکتر علیرضا عزیززاده دلشاد^۱، دکتر مرجان حشمتی^۲، زهرا حاجی‌زاده اورنج^۳

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

دریافت: ۹۳/۸/۶ پذیرش: ۹۴/۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: اثر حفاظت عصبی اسید اوریک به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی بدن در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح شده است ولی تاکنون اثر آنتی آپوپتوتیک آن بر سلول‌های گانگلیون ریشه پشته‌ی عصب نخاعی بررسی نشده است. از آن جا که در روند بهبودی ناشی از هر استراتژی درمانی حفاظت عصبی نورون‌های حسی نقش اساسی دارند، لذا در مطالعه‌ی حاضر اثر ضد آپوپتوزی اسید اوریک بر گانگلیون‌های ریشه پشته‌ی عصب نخاعی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۰ نوزاد ۲ روزه موش صحرایی به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند. در هر دو گروه، آکسوتومی عصب سیاتیک سمت راست انجام شد و در گروه آزمایش بلافاصله ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم اسید اوریک و در گروه کنترل هم حجم آن نرمال سالین به شکل داخل صفاقی تزریق گردید. در روز پنجم پس از آکسوتومی، گانگلیون‌های ریشه پشته‌ی L5 هر دو نیمه‌ی نخاع در هر دو گروه برای شمارش سلولی مورفومتريک و تکنیک TUNEL آماده گردیدند.

یافته‌ها: در گروه کنترل در نیمه‌ی آکسوتومی در مقایسه با نیمه‌ی سالم، ۳۷/۴۱ درصد از نورون‌های حسی گانگلیون ریشه پشته‌ی عصب نخاعی کاهش پیدا کردند که نشانگر کارایی مدل آکسوتومی در القای مرگ سلولی نورون‌های حسی می‌باشد؛ یافته‌های تکنیک TUNEL مؤید آپوپتوتیک بودن نوع مرگ سلولی نورون‌ها بود. مقایسه گروه کنترل و گروه آزمایش نشان داد تزریق داخل صفاقی اسید اوریک نتوانست از آپوپتوز نورون‌های حسی گانگلیون ریشه پشته‌ی عصب نخاعی جلوگیری نماید.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که اسید اوریک فاقد اثر نوروپروتکتیو بر روی نورون‌های حسی آکسوتومی شده گانگلیون ریشه پشته‌ی عصب نخاعی می‌باشد.

واژگان کلیدی: اسید اوریک، گانگلیون ریشه پشته‌ی، آکسوتومی، آپوپتوز، حفاظت عصبی

مقدمه

آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) یکی از انواع مرگ سلولی می‌باشد که در روندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک دستگاه‌های مختلف بدن نقش مهمی دارد (۱). در طی تکامل جنینی، آپوپتوز نقش بسزایی در شکل دهی

۱- دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشیار گروه علوم تشریحی و آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد تهران

۲- دکترای تخصصی علوم تشریحی، استادیار گروه علوم تشریحی و آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد تهران

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد تهران

و اصلاح اندام‌هایی همچون انگشتان دارد. پس از تولد، تعادل میان فرایند میتوز و آپوپتوز سبب حفظ تخریب و تجدید سلولی به شکل ثابت و پایدار و حذف سلول‌های ناخواسته می‌گردد. آپوپتوز زودرس در سلول‌های عصبی از جمله پیامدهایی است که به دنبال شرایط پاتولوژیک مانند تروما، ایسکمی و بیماری‌های نورودژنراتیو مانند پارکینسون و آلزایمر اتفاق می‌افتد (۴-۲). از لحاظ مورفولوژیک آپوپتوز به‌وسیله چروکیده شدن سلول، به داخل کشیده شدن پاهای کاذب، کاهش حجم سلول، متراکم شدن کروماتین، قطعه قطعه شدن هسته با یا بدون تغییر ارگانل‌های سیتوپلاسمی، حباب‌دار شدن غشای پلاسمایی و در نهایت بلعیده شدن اجسام آپوپتوتیک توسط فاگوسیت‌های مستقر ایجاد می‌شود (۵). حفاظت عصبی به‌عنوان راهی برای محافظت نسبی عملکرد و ساختار نورون‌ها شناخته شده است که منجر به کاهش سرعت تخریب نورون‌ها در پروسه‌های نورودژنراتیو می‌شود (۶). حفاظت عصبی باید قبل از ظهور علائم کلینیکی آغاز شود تا از مرگ سلولی جلوگیری شود (۷) و از آن جا که آپوپتوز با تاخیر زمانی بیشتری روی می‌دهد، مهار آن می‌تواند استراتژی درمانی مناسبی باشد. هر چند در نخاع موش صحرایی بالغ 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 (۸). بنابراین آکسوتومی حیوان نابالغ می‌تواند مدل مناسبی جهت القای آپوپتوز و مطالعه مکانیسم‌های حفاظت عصبی باشد (۹). در حال حاضر مطالعات فراوانی برای یافتن یک روش حفاظت عصبی مناسب در حال انجام بوده و یافتن یک دارو یا ترکیب موثر محافظ عصبی هدف بسیاری از دانشمندان می‌باشد (۱۰). در سال‌های اخیر از اسید اوریک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی موثر در دستگاه‌های مختلف از جمله دستگاه عصبی نام برده شده است و اثر حفاظت عصبی آن در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح شده

است اما اثر ضد آپوپتوزی این ماده در سلول‌های عصبی نخاع و گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی بررسی نشده است (۱۱). در بیشتر مطالعات صورت گرفته، اثر حفاظت عصبی اسید اوریک در نورون‌های حرکتی مورد بررسی قرار گرفته است. در بسیاری از ضایعات دستگاه عصبی مرکزی، سیستم‌های حسی هم گرفتار می‌شوند و این آسیب‌های حسی علاوه بر اختلال حس، از طریق قطع فیدبک‌های ورودی به دستگاه عصبی مرکزی به‌طور غیر مستقیم بر عملکرد حرکتی نیز اثر می‌گذارد (۱۲). از آنجا که فیدبک‌های حسی در کنترل رفلکسی عملکرد عضلات بسیار حیاتی است و با آسیب حسی، فعالیت‌های حرکتی فرد نیز مختل می‌گردد، لذا طراحی استراتژی‌های درمانی حفاظت عصبی در سیستم‌های حسی نیز حایز اهمیت است. در مطالعه حاضر به‌منظور بررسی قابلیت حفاظت عصبی اسید اوریک بر نورون‌های حسی گانگلیون ریشه پشتی اعصاب نخاعی، پس از قطع عصب سیاتیک در نوزاد موش صحرایی و القای آپوپتوز ناشی از آکسوتومی در نورون‌های مربوطه، اثر اسید اوریک در جلوگیری از مرگ آپوپتوتیک نورون‌های حسی واقع در گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی مطالعه گردید.

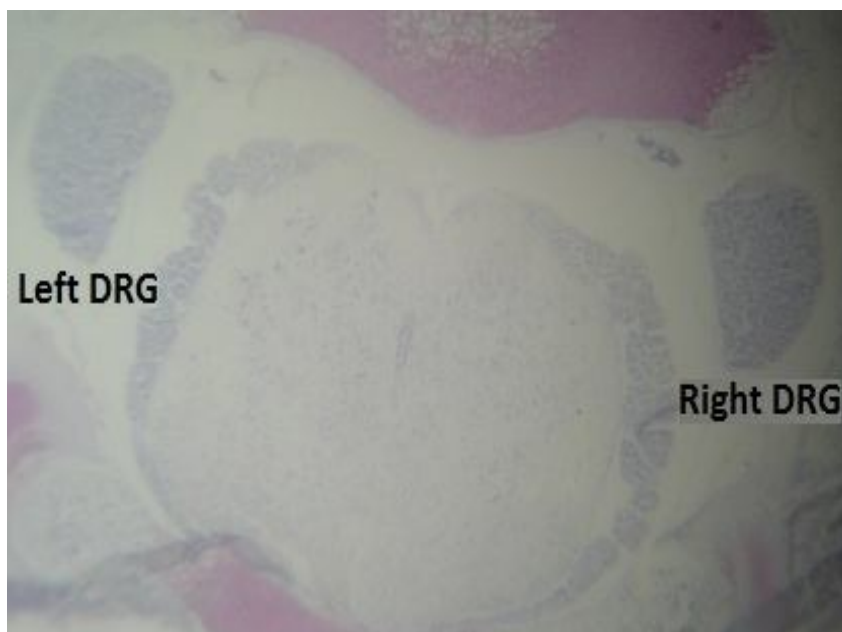
روش بررسی

تهیه اسیداوریک: جهت انجام پژوهش، اسیداوریک (C5H4N4O3) از شرکت MERCK / آلمان خریداری گردید. دوز مورد نیاز اسید اوریک برای هر نوزاد ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در نظر گرفته شد (۱۳). جهت تهیه دوز مورد نظر ۰/۱ گرم از اسید اوریک توسط ۱۰۰ سی‌سی نرمال سالین رقیق و با عبور از میکروفیلتر ۰/۲ میکرومتر استریل گردید و مورد استفاده قرار گرفت.

نمونه‌های حیوانی و گروه‌های آزمایش: ۱۰ سر نوزاد دو روزه موش صحرایی نژاد اسپراگ داوولی از موسسه رازی کرج خریداری شد. نوزادان به همراه موش صحرایی

مادر، تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند (N=5). تمامی حیوانات هر دو گروه با روش هیپوترمی و پایین آوردن دمای بدن به وسیله یخ بیهوش شدند. پس از بیهوشی پوست پشت ران سمت راست حیوان برش داده شد و با استفاده از استرومیروسکوپ و تحت شرایط استریل، عصب سیاتیک سمت راست حیوانات در قسمت میانی ران در عمق عضله دو سر ران قطع و برای اطمینان از عدم اتصال مجدد دو انتهای عصب، ۲ میلی‌متر از آن خارج گردید. پس از به هوش آمدن نوزادان تزریق داخل صفاقی آغاز گردید. به گروه آزمایش بلافاصله پس از آکسوتومی حدود ۰/۱ میلی‌لیتر (معادل ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اوریک) و به گروه کنترل نیز حجم مساوی از محلول نرمال سالین به شکل داخل صفاقی تزریق شد.

پس از تزریق، نوزادان به کنار مادرانشان انتقال داده شدند. **تهیه نمونه‌های بافتی:** در هر دو گروه در روز پنجم پس از آکسوتومی (۹)، نوزادان تحت بی‌هوشی عمیق و با روش پرفیوژن داخل قلبی کشته شده و با روش لامینکتومی، سگمان‌های نخاعی L4-L6 به پارافرمالدئید ۴ درصد منتقل گشت. در تمام نمونه‌های بافتی گانگلیون ریشه پشتی نیمه‌ی چپ نخاع به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در محلول فیکساتیو مراحل آب‌گیری، شفاف سازی، آغشتگی و قالب‌گیری انجام و از هر یک از نمونه‌ها قالب‌های پارافینی و برش‌های عرضی سریال با ضخامت ۸ میکرومتر تهیه شد، به‌طوری که در هر یک از مقاطع هر دو گانگلیون ریشه پشتی L5 دو طرف قابل مشاهده بود (شکل ۱).



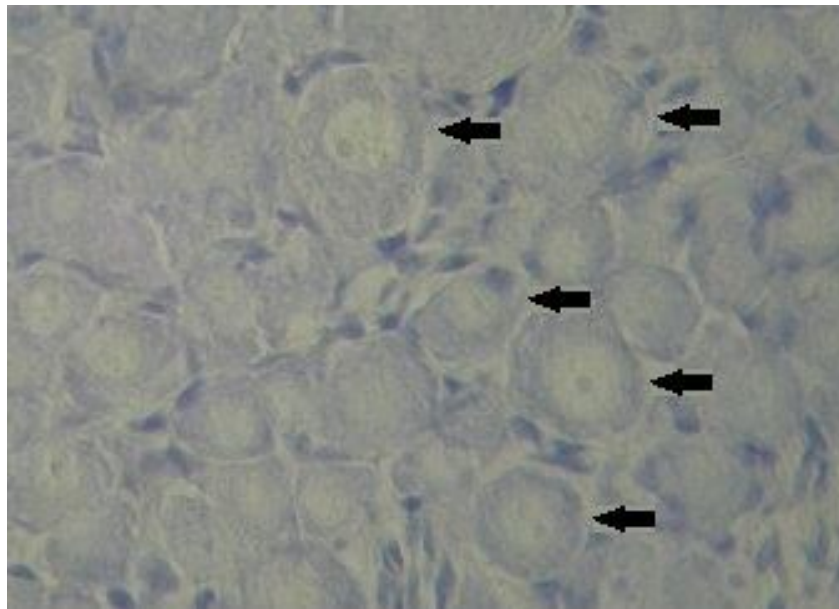
شکل ۱: گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی L5 در هر دو نیمه‌ی نخاع. رنگ آمیزی کرزیل فست ویوله، بزرگنمایی: ۴۰x.

در نهایت نمونه‌های بافتی برای شمارش نوروهای حسی با رنگ کرزیل فست ویوله و برای تشخیص سلول‌های دچار

مرگ برنامه‌ریزی شده با تکنیک TUNEL رنگ‌آمیزی شدند. بررسی مورفومتری و شمارش سلولی: از هر ۱۰ مقطع

رنگ آمیزی شده با کرزیل فست ویوله یک مقطع برای بررسی مورفومتری و شمارش نورون‌های حسی Dorsal Root Ganglion (DRG) دو طرف نخاع انتخاب گردید (مقاطع ۱، ۱۱، ۲۱ و ...). سلول‌های دارای

هسته روشن و با قطر بیش از ۱۰ میکرومتر و هستک برجسته و متمایز به عنوان نورون‌های حسی ریشه پشتی عصب نخاعی شمارش شدند (شکل ۲).



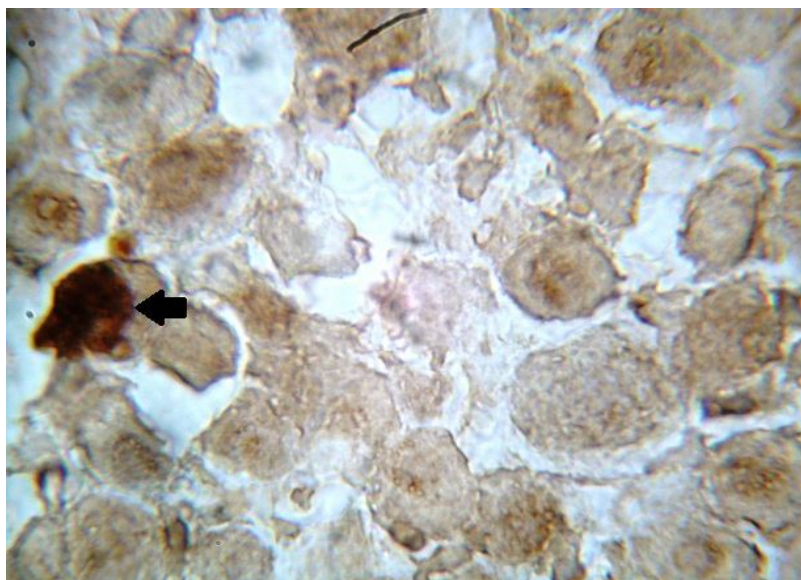
شکل ۲: نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی. سلول‌های دارای هسته روشن و با قطر بیش از ۱۰ میکرومتر و هستک برجسته و متمایز (پیکان‌های سیاه) مورد شمارش قرار گرفتند. رنگ آمیزی کرزیل فست ویوله، بزرگنمایی: ۴۰۰x.

سپس حاصل جمع نورون‌های شمارش شده در عدد ۱۰ ضرب شد و مجموع نورون‌های حسی DRG به دست آمد. با روش‌های آماری در هر گروه میانگین نورون‌های DRG هر دو نیمه و درصد کاهش میانگین نورون‌ها در نیمه‌ی آکسوتومی شده در مقایسه با نیمه‌ی سالم محاسبه گردید. بررسی آپوپتوز با تکنیک TUNEL: در تمامی گروه‌ها سه مقطع از مقاطع مجاور برش‌های شمارش سلولی به شکل تصادفی انتخاب و برای مطالعه TUNEL assay به کار گرفته شد. مقاطع انتخاب شده پس از پارافین‌زدایی و آبدهی، به مدت ۸ دقیقه در معرض Triton X-100 یک دهم درصد در بافر سدیم سترات یک دهم درصد (سیگما/آلمان)، و

سپس بر اساس دستورالعمل شرکت Roche آلمان تحت رنگ آمیزی TUNEL قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵۰ میکرولیتر از مخلوط واکنش TUNEL انکوبه گردیدند. در نمونه‌های کنترل منفی TdT حذف شد، و نمونه‌های کنترل مثبت برای القای شکست DNA، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در معرض Dnase 1 قرار گرفتند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با محلول Converter-POD حاوی آنتی‌بادی آنتی‌فلوئورسین کنژوگه با horse-radish peroxidase و در پایان به مدت ۱۰ دقیقه با محلول DAB (سیگما/آلمان) انکوبه شدند. بین همه مراحل فوق شستشو با PBS انجام شد. در این تکنیک

به‌عنوان شاخص آپپتوز (Apoptotic Index (AI) در نظر گرفته شد. شاخص فوق در DRG هر دو نیمه‌ی سالم و آکسوتومی شده محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید.

سلول‌های آپپتوتیک به شکل دانه‌های کاملاً متراکم قهوه‌ای تیره دیده می‌شوند (شکل ۳). در هریک از سه برش تهیه شده از هر گروه میانگین و درصد سلول‌های آپپتوتیک به تعداد کل نورون‌های DRG محاسبه و



شکل ۳. نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی. سلول‌های سالم متعددی با رنگ قهوه‌ای روشن قابل مشاهده هستند، و در سمت چپ تصویر یک سلول آپپتوتیک به شکل یک لکه‌ی قهوه‌ای تیره با پیکان سیاه مشخص شده است. رنگ آمیزی TUNEL، بزرگنمایی: $\times 400$.

نیمه‌ی سالم، $37/41$ درصد از نورون‌ها کاهش پیدا کردند. در گروه آزمایش نیز در نیمه‌ی آکسوتومی شده در مقایسه با نیمه‌ی سالم $35/73$ درصد از نورون‌ها کاهش پیدا کرد (نمودار ۱).

در هر دو گروه آزمایش و کنترل، تفاوت میانگین نورون‌های گانگلیون L5 نیمه‌ی آکسوتومی شده و نیمه‌ی سالم نخاع معنادار بود ($P < 0/001$). مقایسه‌ی میانگین نورون‌های نیمه‌ی آکسوتومی شده گروه کنترل و گروه تحت درمان با اسید اوریک نشانگر آن بود که تفاوت معناداری بین این دو گروه وجود ندارد. نتایج شمارش سلولی در جدول ۱ خلاصه شده است.

یافته‌های حاصل از شمارش سلولی و بررسی آپپتوز به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در آمده و با آزمون t-test بررسی گردید. در تمام آنالیزهای آماری $P \leq 0/05$ به‌عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

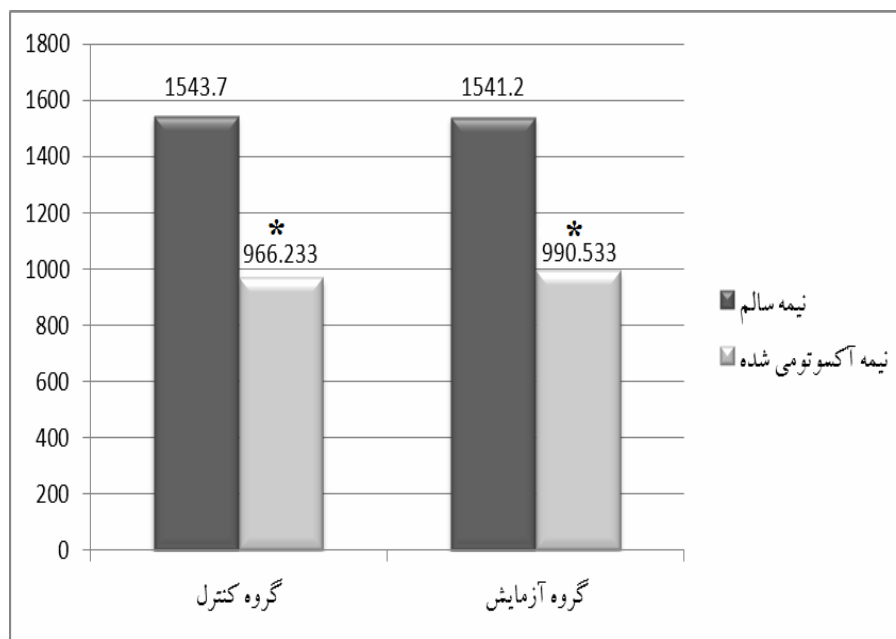
شمارش سلولی مقاطع رنگ‌آمیزی شده با رنگ کرزیل فست ویوله (شکل ۲) نشان داد که قطع عصب سیاتیک موجب کاهش معنادار میانگین سلول‌های عصبی مربوطه در گانگلیون ریشه پشتی L5 می‌گردد. در این ارزیابی در گروه کنترل، در گانگلیون ریشه پشتی آکسوتومی شده در مقایسه با

جدول ۱: نتایج حاصل از شمارش سلولی میانگین و انحراف معیار نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی L5 در دو نیمه، در هر دو گروه کنترل و آزمایشی

گروه‌ها	گروه کنترل	گروه آزمایش
نیمه سالم	۱۵۴۳/۷۰ ± ۱۸۱/۰۹*	۱۵۴۱/۲۰ ± ۱۷۳/۳۷*
نیمه آکسوتومی شده	۹۶۶/۲۳ ± ۱۵۸/۵۳	۹۹۰/۵۳ ± ۱۶۱/۰۵ [†]
درصد سلول‌های از دست رفته	۳۷/۴۱%	۳۵/۷۳%

*: نشان دهنده تفاوت معنادار بین نیمه‌ی آکسوتومی شده و نیمه‌ی سالم ($P < ۰/۰۰۱$) و [†] بیانگر عدم تفاوت معنادار نیمه‌ی آکسوتومی شده‌ی گروه تحت درمان با اسید اوریک در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

برای تعیین اینکه آیا مرگ سلولی ناشی از آکسوتومی در نورون‌های مربوطه از نوع آپوپتوز بوده یا نه، از روش TUNEL استفاده شد که در این روش نورون‌های آپوپتوتیک به شکل یک توده متراکم قهوه‌ای تیره مشاهده می‌شوند (شکل ۳). درصد سلول‌های آپوپتوتیک شمارش شده به تعداد کل سلول‌ها به‌عنوان شاخص آپوپتوز یا Apoptotic Index (AI) در نظر گرفته شد. AI در گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی نیمه‌ی آکسوتومی شده گروه کنترل، ۵/۷۶ درصد و در گروه آزمایش ۵/۳۷ درصد محاسبه شد. این شاخص در گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی نیمه‌ی سالم این دو گروه به‌ترتیب ۲/۲۸ درصد و ۲/۱۱ درصد به‌دست آمد.



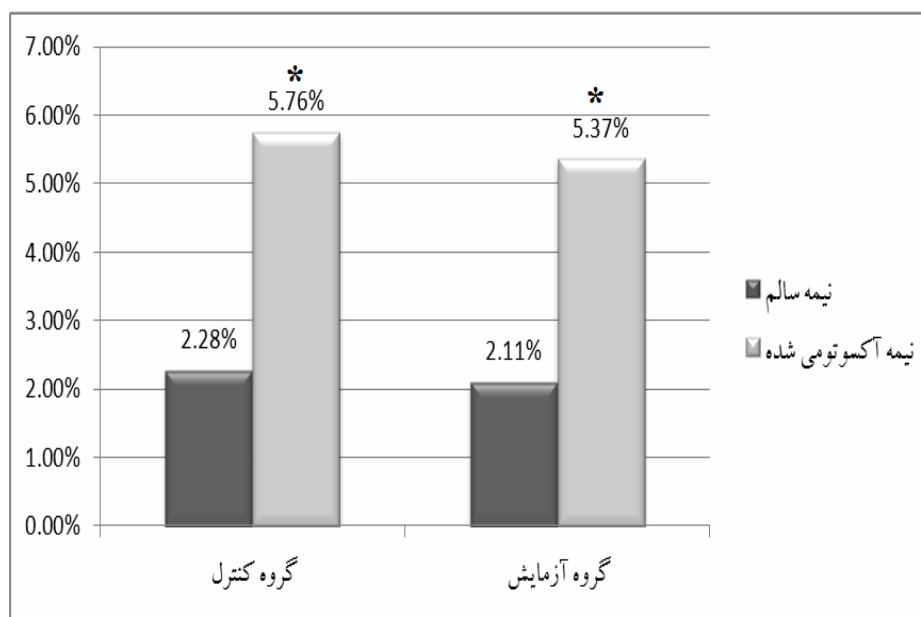
نمودار ۱: میانگین نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی L5. در هر دو گروه کنترل و آزمایش تحت درمان با ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اوریک، بین دو نیمه‌ی آکسوتومی شده و سالم اختلاف معناداری مشاهده گردید (*، اختلاف معنادار با نیمه‌ی سالم در همان گروه، $P < ۰/۰۰۱$) ولی بین نیمه‌ی آکسوتومی شده دو گروه اختلاف معناداری دیده نشد.

دو گروه کنترل و آزمایش معنادار می‌باشد ($P < ۰/۰۵$)، درحالی‌که تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در نیمه‌ی آکسوتومی

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از t-test، نشان داد تفاوت میان AI دو نیمه‌ی آکسوتومی و سالم در هر

آزمایش اختلاف معناداری نداشت (نمودار ۲).

شده گروه کنترل در مقایسه با نیمه‌ی آکسوتومی شده گروه



نمودار ۲: شاخص آپوتوز (AI) حاصل از تکنیک TUNEL. ستون‌ها بیانگر درصد سلول‌های آپپتوتیک به تعداد کل سلول‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی در گروه کنترل و گروه تحت درمان با ۱۰ میلی‌گرم اسید اوریک می‌باشد. اختلاف AI دو نیمه‌ی آکسوتومی و سالم در هر یک از گروه‌های کنترل و آزمایش معنادار است، ولی اختلاف معناداری بین نیمه‌ی آکسوتومی شده گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد. (*، اختلاف معنادار با نیمه‌ی سالم در همان گروه، $P < 0.001$).

بحث

تفاوت معنادار بین نیمه‌ی آکسوتومی شده و نیمه‌ی سالم در گروه کنترل نشان دهنده‌ی کارایی مدل آکسوتومی جهت القای مرگ سلولی در نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی نخاع در این مطالعه می‌باشد؛ و تکنیک TUNEL مورد استفاده در مطالعه حاضر نیز نشان دهنده‌ی آن است که مکانیسم این مرگ سلولی از نوع آپپتوز می‌باشد. این مدل در مطالعات فراوانی به عنوان شیوه‌ی استاندارد جهت القای آپپتوز در سلول‌های عصبی مورد استفاده قرار گرفته است (۹ و ۱۴). براساس یافته‌های قابل مشاهده در جدول ۱، تفاوت معناداری بین میانگین نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی نیمه‌ی آکسوتومی شده، در گروه کنترل و آزمایش وجود نداشت. به عبارت دیگر نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که

اسید اوریک دارای اثر حفاظت عصبی معناداری در مهار آپپتوز و حفظ نورون‌های حسی گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی نبود. از آنجا که مکانیسم مرگ نورون‌ها به دنبال آکسوتومی در دوره نوزادی عمدتاً از نوع آپپتوز می‌باشد (۱۵)، لذا می‌توان انتظار داشت که در همه گروه‌های مورد بررسی اختلاف بین میانگین نورون‌های حسی سالم در دو نیمه‌ی نخاع تقریباً برابر با اندکس مرگ برنامه ریزی شده (درصد نورون‌های آپپتوتیک) باشد، اما مقایسه‌ی یافته‌های مورفومتری و تکنیک TUNEL موید این امر نبود، به طوری که در هر یک از گروه‌های آزمایشی و کنترل اختلاف بین اندکس آپپتوز در دو نیمه‌ی سالم و آکسوتومی شده به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از اختلاف میانگین نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی در دو نیمه‌ی نخاع بود. علت این

تفاوت می‌تواند این باشد که به دنبال آپتوز بسیاری از نورون‌های آپوتوتیک سریع‌ا از طریق فاگوسیتوز از محیط حذف می‌شوند، بنابراین در هر مرحله‌ی زمانی تنها تعداد کمی از سلول‌های آپوتوتیک را می‌توان مشاهده کرد. در سال ۲۰۱۱ انانماکی و همکاران طی بررسی بیماران مبتلا به پارکینسون، به این نتیجه رسیدند که سطح مناسب اسیداوریک در ادرار و خون بیماران منجر به تاخیر در بروز علائم شناختی می‌شود. این موضوع بیانگر آن است که اسیداوریک دارای نقش حفاظت عصبی در بیماری‌های نورودژنراتیو سیستم عصبی مرکزی، از جمله پارکینسون می‌باشد (۱۶). همچنین در سال ۲۰۰۵ اسکات و همکاران نشان دادند که افزایش سطح اسید اوریک در مبتلایان به آسیب نخاعی، مانند سایر اختلالات نورولوژیک منجر به بهبود عملکرد پس از آسیب نخاعی می‌شود. در این مطالعه آسیب نخاعی در موش‌های بالغ به روش کمپرسیون ایجاد و در فواصل نیم ساعت قبل از آسیب و ۶ ساعت بعد از آن اسید اوریک تزریق شد. بعد از ۴ روز بهبود حرکتی قابل ملاحظه‌ای در موش‌های تحت درمان با اسید اوریک در مقایسه‌ی با گروه کنترل تحت درمان با سالین مشاهده گردید (۱۷). مقبولی و همکاران با بررسی سطح سرمی اسید اوریک و ویتامین C در بیماران فاز حاد سکته مغزی ایسکمیک، مشاهده نمودند که ویتامین C کاهش یافت ولی اسید اوریک تغییر معناداری نکرد (۱۸). در سال ۲۰۱۳ حب نقی و همکاران در طی مطالعه‌ای اثر حفاظت عصبی ویتامین B12 بر گانگلیون ریشه پستی عصب نخاعی در موش صحرایی را گزارش نمودند، که این اثر با افزایش دوز و تعداد روزهای تزریق B12 رابطه مستقیم داشت. در این مطالعه با روش له کردن عصب سیاتیک، آسیب عصبی ایجاد و سپس دو دوز متفاوت از B12 در بازه زمانی ۲۱ و ۴۲ روز تزریق گردید (۱۹). در سال ۲۰۱۴ دلشاد و پرویزی با مطالعه گیاه دارویی نپتامنتوئیدس به اثر ضد آپتوزی آن روی نورون‌های حسی گانگلیون ریشه پستی عصب نخاعی

در نوزاد موش صحرایی پی بردند (۲۰)؛ مطالعات قبلی این محققین نیز اثر حافظتی این داروی گیاهی را بر نورون‌های حرکتی نشان داده بود (۲۱). در بررسی‌های انجام شده مطالعه‌ای که اختصاصاً اثر نوروپروتکتیو اسید اوریک را بر نورون‌های حسی بررسی کرده باشد، یافت نشد. اسید اوریک در فرم محلول خود دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، ۶۰ درصد از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون را فراهم می‌کند. اسیداوریک فعالیت آنزیم پراکسیداز را حفظ کرده و از این طریق منجر به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد. همچنین اسیداوریک می‌تواند با آهن باند شده و از استرس اکسیداتیو ناشی از آن جلوگیری کند (۲۲). از آنجا که در بیماری‌های نورودژنراتیو استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آسیب سلولی ایفا می‌کند، بنابراین کاهش سطح اسیداوریک از طریق افزایش استرس اکسیداتیو می‌تواند منجر به آسیب سلول‌های عصبی شود. البته مطالعات نشان می‌دهند که اثر حفاظت عصبی اسیداوریک در سیستم عصبی مرکزی صرفاً وابسته به نقش آنتی‌اکسیدانی آن نمی‌باشد (۲۳). به‌عنوان مثال در یک مطالعه نشان داده شد که اسید اوریک از طریق تحریک بیان رسپتورهای گلوتامات در سلول‌های آستروگلیا از مسمومیت القا شده توسط گلوتامات پیشگیری می‌کند (۲۲). بنابراین احتمالاً اسید اوریک هم از طریق نقش آنتی‌اکسیدانی خود به‌صورت مستقیم و هم از طریق فعال کردن سلول‌های آستروگلیا به شکل غیر مستقیم نقش حفاظت عصبی خود را اعمال می‌کند. استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌هایی است که در بیماری نورودژنراتیو می‌تواند به‌طور مستقیم سبب مرگ سلولی شود (۲۴). بنابراین اسیداوریک می‌تواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود با مهار استرس اکسیداتیو از مرگ سلول جلوگیری کند. در مطالعه‌ی حاضر، بر خلاف مطالعات ذکر شده در فوق و نیز تعدادی دیگر از مطالعات انجام شده بر دستگاه عصبی حرکتی، اثر حفاظت عصبی اسیداوریک بر نورون‌های گانگلیون ریشه پستی عصب نخاعی ثابت نشد.

پیشنهاد می‌گردد در مطالعات تکمیلی اثر اسید اوریک بر دیگر انواع سلولی، و دیگر مدل‌های آزمایشی *In Vivo* و *In Vitro* و با تکنیک‌های مولکولی دقیق‌تری مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تزریق داخل صفاقی اسیداوریک نمی‌تواند از آپوپتوز القا شده توسط آکسوتومی در نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی در نوزاد موش صحرایی جلوگیری نماید.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه پایان نامه دانشجویی پزشکی عمومی مصوب دانشگاه شاهد می‌باشد.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اثر تزریق داخل صفاقی اسید اوریک به‌عنوان یک ماده حفاظت عصبی، بر نورون‌های حسی و حرکتی و احتمالاً دیگر انواع سلول‌های عصبی می‌تواند متفاوت باشد. دلشاد و پرویزی با مطالعه‌ی اثر حفاظت عصبی داروی گیاهی نپتا منتوئیدس در جلوگیری از مرگ آپوپتوتیک نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی عصب نخاعی، مشاهده نمودند که غلظت لازم برای حفظ این سلول‌ها در مقایسه با نورون‌های حرکتی متفاوت می‌باشد (۲۰)، بنابراین شاید تزریق دوزهای دیگری از اسید اوریک بتواند همچون نورون‌های حرکتی موجب حفاظت سلول‌های عصبی حسی نیز گردد. در بررسی این نتایج متفاوت نباید عوامل جانبی و زمینه‌ای متعددی همچون سن موش‌های مورد مطالعه، روش ایجاد آسیب سلولی، دوز ماده محافظ عصبی مورد استفاده، فواصل و تعداد دوزهای تزریق و غیره را نادیده گرفت. لذا

References

- 1- Er E, Oliver L, Carton PF, Juin PH, Manon S, Vallette FM. Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1757: 1301-11.
- 2- Chan DD, VanDyke WS, Bahls M, et al. Mechanostasis in apoptosis and medicine. *Prog Biophys Mol Biol*. 2011; 106: 517-24.
- 3- Lossi L, Merighi A. In vivo cellular and molecular mechanisms of neuronal apoptosis in the mammalian CNS. *Prog Neurobiol*. 2003; 69: 287-312.
- 4- Lossi L, Cantile C, Tamagno I, Merighi A. Apoptosis in the mammalian CNS: Lessons from animal models. *Vet J*. 2005; 170: 52-66.
- 5- Rich T, Watson CJ, Wyllie A. Apoptosis: the germs of death. *Nat Cell Biol*. 1999; 1: 69-71.
- 6- Casson RJ, Chidlow G, Ebnetter A, Wood JP, Crowston J, Goldberg I. Translational neuroprotection research in glaucoma: a review of definitions and principles. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2012; 40: 350-7.
- 7- Muresanu DF. Neuroprotection and neuroplasticity- a holistic approach and future perspectives. *Neurol Sci*. 2007; 257: 38-43.
- 8- 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: 439-46.
- 9- Bahadori MH, Al-Tiraihi T, Valojerdi MR. sciatic nerve transection in neonatal rats induces apoptotic neuronal death in l5 dorsal root ganglion. *J Neuro Cytol*. 2001; 30: 125-30.

- 10- 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: 317-24.
- 11- Squadrito GL, Cueto R, Splenser AE, et al. Reaction of Uric Acid with Peroxynitrite and Implications for the Mechanism of Neuroprotection by Uric Acid. *Arch Biochem Biophys*. 2000; 376: 333-7.
- 12- Tehranipour M, Baharara J, Mostafaei M. The neuroprotective effect of CSF intraperitoneal injection on alpha motor degeneration after sciatic nerve compression in rat. *Arak Uni Med Sci J*. 2008; 12: 101-108.
- 13- 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.
- 14- Delshad A, Al-Tiraihi T. Ultrastructure of apoptotic oligodendrocytes in the spinal cord of adult rat with long-standing axotomized sciatic nerve. *Folia neuropathol*. 2001; 39: 125-8.
- 15- Koliatsos VE, Price DL. Axotomy as an experimental model of neuronal injury and cell death. *Brain Pathol*. 1996; 6: 447-65.
- 16- Annamaki T, Pohja M, Parviainen T, Hakkinen P, Murros K. Uric acid and cognition in parkinson disease: A follow-up study. *Parkinsonism Related Disorders*. 2011; 17: 333-7.
- 17- Scott GS, Cuzzocrea S, Genovese T, Koprowski H, Hooper DC. Uric acid protects against secondary damage after spinal cord injury. *PNAS*. 2005; 102: 3483-8.
- 18- Maghbooli M, Farhadi S, Esmaeilzadeh A, Mazlounzadeh S. Assessment of serum uric acid and vitamin c levels in acute atherothrombotic stroke. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2012; 20: 64-74.
- 19- Hobbenaghi R, Javanbakht J, Hosseini E, et al. Neuropathological and neuroprotection features of vitamin B₁₂ on the dorsal spinal ganglion of rats after the experimental crush of sciatic nerve. *Diagnostic Pathol*. 2013; 8: 123-30.
- 20- 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.
- 21- 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.
- 22- 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: 6858-62.
- 23- Drulovic J, Dujmovic I, Stojasavljev N, Mesaros S, Andjelkovic S. Uric acid levels in sera from patients with multiple sclerosis. *Neurol*. 2001; 248: 121-6.
- 24- Patel VP, Chu CT. Nuclear transport, oxidative stress, and neurodegeneration. *Int J Clin Exp Pathol*. 2011; 4: 215-29.

The Neuroprotective Effect of Uric Acid on Apoptosis Prevention of Dorsal Root Ganglion Neurons

Aziz zadeh Delshad A¹, Heshmati M¹, Hajizadeh Z¹

¹Dept. of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Aziz zadeh Delshad A, Dept. of Anatomical Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

E-mail: delshada@yahoo.Com

Received: 28 Oct 2014 **Accepted:** 10 May 2015

Background and Objective: The neuroprotective effect of uric acid as a natural antioxidant on neurodegenerative diseases has been proposed repeatedly, but its antiapoptotic effect on spinal neurons has not been examined yet. Due to the critical role of sensory neurons in the improvement of functional outcome in neuroprotective strategies, the antiapoptotic effect of uric acid on dorsal root ganglions was investigated.

Materials and Methods: In this study, 10 two-day-old neonate rats were subdivided into experimental and control groups. In both groups right sciatic nerve was transected. In the experimental group immediately following surgery 10mg/kg uric acid and in control group the same volume of normal saline was injected intraperitoneally. Five days following axotomy, bilateral L5 dorsal root ganglia in both groups were prepared for morphometric cell counting and TUNEL assay.

Results: In the control group, in axotomized side compared to intact side, 37.41% of the sensory neurons were lost, indicating the efficiency of axotomy model in the induction of cell death in sensory neurons. The results of TUNEL assay approved the apoptotic type of neural cell death. Comparison of the control and experimental groups indicated that intraperitoneal injection of uric acid could not inhibit apoptosis of dorsal root ganglion sensory neurons.

Conclusion: This study illustrated that uric acid has not any significant neuroprotective effect on axotomized sensory neurons of dorsal root ganglia.

Key words: Uric acid, Dorsal root ganglion, Axotomy, Apoptosis, Neuroprotection