The Effect of Lipopolysaccharide Pretreatment on Trauma-Induced Dark Neurons in the Hippocampus

Mansoureh Eslami[1*], Leila Alizade[2], Mohammad Sayyah[3*]

[1]Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran
[3]Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Article Info:

Received: **10 Oct 2016** ***Revised:*** **16 Apr 2017** ***Accepted*****: 11 Sep 2017**

ABSTRACT

Introduction: Traumatic brain injury (TBI) is a serious medical condition that affects annually year more than 2 million people worldwide. This study was aimed to evaluate the effect of lipopolysaccharide (LPS) on the number of dark neurons induced by TBI in the parieto-temporal cortex. ***Materials and Methods:*** LPS (0.1 and 0.5 mg/kg) was injected i.p. to rats 5 days before induction of TBI in the parieto-temporal cortex. Using toluidine blue staining, we evaluated the number of dark neurons in the hippocampus in sham and LPS preconditioned rats 4 and 12 hours after the trauma. ***Results:*** The increase in dark neurons was significantly higher after 4 h of trauma compared to 12 h after TBI. LPS preconditioning significantly decreased the mean number of dark neurons in the hippocampus. In LPS preconditioned rats the mean number of dark neurons was also significantly higher 4 hours after trauma compared to 12 h after TBI. ***Conclusion:*** These data indicate that hippocampal cellular damage produced during the first hours after induction of TBI. This cellular damage could be prevented by administration of LPS.

Key words:

1. Neurons
2. Hippocampus
3. Rats

***Corresponding Author:** Mansoureh Eslami, Mohammad Sayyah

E-mail: *eslami342@sbmu.ac.ir, sayyahm2@pasteur.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

اثر پیش درمانی با لیپو پلی‌ساکارید بر نورون‌های تیرهٔ ناشی از تروما در هیپوکامپ

منصوره اسلامی[۱*]، لیلا علیزاده[۲]، محمد سیاح[۳*]

[۱]دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲]مرکزتحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم‌الانبیاء، تهران، ایران
[۳]گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۹ مهر ۱۳۹۵ **اصلاحیه:** ۲۷ فروردین ۱۳۹۶ **تاریخ پذیرش:** ۲۰ شهریور ۱۳۹۶

چـــــکیده

مقدمه: آسیب مغزی پس از ضربه یک وضعیت جدی پزشکی است که سالانه بیش از ۲ میلیون نفر در جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هدف این مطالعه بررسی اثر لیپو پلی‌ساکارید بر تعداد نورون‌های تیرهٔ ناشی از آسیب مغزی پس از ضربه در قشر آهیانه‌ای -گیجگاهی بود. ***مواد و روش‌ها:*** لیپو پلی‌ساکارید (۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۵ روز قبل از اعمال به موش‌های صحرایی تزریق شد. با استفاده از رنگ‌آمیزی تولوئیدن بلو تعداد نورون‌های تیره در هیپوکامپ در موش‌های صحرایی گروه شاهد و پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید ۴ و ۱۲ ساعت بعد از تروما مورد بررسی قرار گرفت. ***یافته‌ها:*** نورون‌های تیره ۴ ساعت بعد از تروما در مقایسه با ۱۲ ساعت بعد از آسیب مغزی پس از ضربه به طور معنی‌داری بیشتر بود. تعداد نورون‌های تیره در هیپوکامپ در گروه پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری کاهش یافت. در موش‌های صحرایی پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید تعداد نورون‌های تیره ۴ ساعت پس از تروما در مقایسه با ۱۲ ساعت بعد از آسیب مغزی پس از ضربه به طور معنی‌داری بیشتر بود. ***نتیجه‌گیری:*** داده‌ها نشان داد که آسیب سلولی هیپوکامپ در ساعات اولیهٔ بعد از اعمال آسیب مغزی پس از ضربه ایجاد می‌شود. به کارگیری لیپو پلی‌ساکارید می‌تواند از آسیب سلولی جلوگیری کند.

کلید واژه‌ها:
۱. نورون‌ها
۲. هیپوکامپ
۳. موش‌های صحرایی

* **نویسنده مسئول:** منصوره اسلامی، محمد سیاح
آدرس الکترونیکی: *eslami342@sbmu.ac.ir, sayyahm2@pasteur.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

مقدمه

آسیب‌های ناشی از ضربات مغزی (TBI)[1] یکی از مشکلات جدی پزشکی است که علی‌رغم تمهیدات فراوان جهت افزایش ایمنی، هنوز سالیانه بیش از ۲ میلیون نفر در جهان درگیر عوارض فوری و تأخیری ناشی از تروما بوده و این امر هزینه‌های زیادی را به سیستم دارو درمانی تحمیل می‌کند (۱). کشور ما ایران نیز از دو جنبه در این مسئله درگیر می‌باشد. یکی بالا بودن آمار تصادفات جاده‌ای است که از این نظر جزء چند کشور اول در جهان بوده و تعداد زیاد مصدومین آسیب‌های مغزی را به دنبال داشته است و دیگری تعداد قابل توجه جانبازان آسیب مغزی ناشی از جنگ ایران و عراق می‌باشد. صدمات مغزی شامل تروماهای مغزی، سکتهٔ مغزی، عفونت‌های ویروسی و التهاب می‌باشد که یکی از تبعات آن بیماری صرع می‌باشد (۵-۲). لذا بررسی این موضوع حائز اهمیت است.

بررسی‌ها نشان داده است، متعاقب آسیب ناشی از ضربه، عفونت و ایسکمی حالتی التهابی در مغز ایجاد می‌شود که با فعال شدن سلول‌های ایمنی مستقر در مغز (میکروگلیاها) و آزاد شدن مدیاتورهای التهابی همچون اینترلوکین -۱ بتا، عامل نکروز دهندهٔ تومور آلفا، نیتریک اکسید، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و غیره همراه است و التهاب عصبی ایجاد شده و مدیاتورهای فوق زمینه‌ساز عوارض ناشی از تروما می‌باشند (۸-۶). از طرفی بررسی‌ها نشان داده که اگر سیستم ایمنی قبل از ایجاد ضایعه (ایسکمی، ضربه، عفونت) به طور خفیف تحریک شود پاسخ ایمنی ایجاد شده متعاقب ضایعه، از شدت کمتری برخوردار بوده و این امر ضایعات مغزی ایجاد شده را به‌شدت تقلیل می‌دهد (۱۱-۸). یکی از موادی که موجب تحریک سیستم ایمنی مغز می‌گردد لیپو پلی‌ساکارید است. مطالعات نشان داده است که لیپو پلی‌ساکارید با دوز بالا منجر به افزایش مرگ و میر سلولی می‌گردد. همچنین تحقیقات نشان داده است که تجویز مقادیر کم لیپو پلی‌ساکارید قبل از تروما و ایسکمی صدمات متعاقب آن را کاهش می‌دهد (۱۳، ۱۲، ۱۰). آسیب‌های ناشی از ضربهٔ مغزی منجر به آپوپتوز و نکروز در هیپوکامپ می‌شود. نتایج محققین نشان داده است که عوارض حاصل از تروما در ساعات مختلف بعد از اعمال تروما متفاوت می‌باشد (۱۴). لذا در این تحقیق بر آن شدیم که مقایسه‌ای انجام دهیم بین تعداد نورون‌های تیره در هیپوکامپ ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تروما در موش‌های ترومایی و موش‌های ترومایی پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید، تا به این ترتیب بتوانیم در ساعات مختلف بعد از تروما آسیب وارد شده به هیپوکامپ را در هر دو حالت مورد بررسی قرار دهیم.

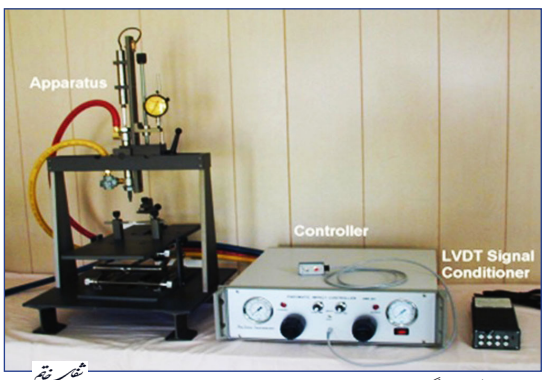
مواد و روش‌ها

حیوانات

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم که در محیطی با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی نگهداری شده بودند استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و مواد غذایی، رطوبت (۵۵-۵۰ درصد) و حرارت (۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شدند. همهٔ آزمایش‌ها بر طبق دستورالعمل برخورد با حیوانات آزمایشگاهی، تصویب شده توسط کمیتهٔ اخلاقی انستیتو پاستور ایران انجام شد. حیوانات به ۳ گروه تقسیم شدند. در هر گروه ۵ موش مورد بررسی قرار گرفت. گروه اول قبل از اعمال تروما نرمال سالین و گروه دوم و سوم قبل از اعمال تروما لیپو پلی‌ساکارید را با دوزهای ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند در هر یک از گروه‌های فوق، ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تروما مغز خارج شده و از نظر بافتی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

اعمال صدمهٔ مغزی

حیوانات تحت بیهوشی عمیق با کلرال هیدرات ۳ درصد (Sigma-Aldrich; 350 mg/kg) قرار گرفتند (۱۵). پس از تثبیت حیوان در دستگاه استریوتاکس در ناحیهٔ قشر آهیانه‌ای چپ[2]، با مختصات ۴ میلی‌متر در سمت طرفی و ۴ میلی‌متر خلف برگما استخوان جمجمه به شکل دایره‌ای به قطر ۵ میلی‌متر توسط متهٔ مخصوص برداشته شد. سپس حیوان در دستگاه تروما قرار داده شده و تروما به روش (CCI)[3] با فشار بالای ۱۳۰psi، فشار پایین ۲۰ psi، سرعت حرکت پیستون ۴/۵ m/s و زمان ۱۵۰msec ضربه اعمال شد (تصویر ۱). سپس استخوان بر روی محلش قرار داده شده و با سیمان دندانپزشکی ثابت گردید، پوست بخیه زده شده و تا زمان بهوش آمدن حیوان به اتاق recovery منتقل گردید. برای اطمینان از اینکه ضربه مناسب بوده و توانسته ضایعه‌ای به عمق ۲ میلی‌متر ایجاد کند از روش رنگ‌آمیزی با ۲ و ۳و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC)[4] استفاده شد.



تصویر ۱- دستگاه CCI.

[1] Traumatic brain injury
[2] Left parietal cortex
[3] Controlled cortical injury
[4] Triphenyl tetrazolium chloride 2,3,5

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

روش پیش درمانی با لیپو پلی‌ساکارید

پنج روز قبل از اعمال تروما، لیپو پلی‌ساکارید با دوزی که تحقیقات قبلی ما اثر حفاظتی آن را تأیید کرده بود (۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) داخل نرمال سالین حل شده و به طریق داخل صفاقی تزریق گردید (۱۳). برای گروه شاهد نیز قبل از اعمال تروما نرمال سالین به طریق داخل صفاقی تزریق گردید.

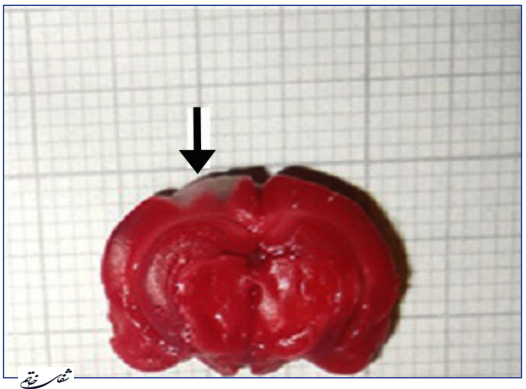
روش انجام مطالعات بافتی

رنگ‌آمیزی با ۲ و ۳و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید و کریزل ویوله

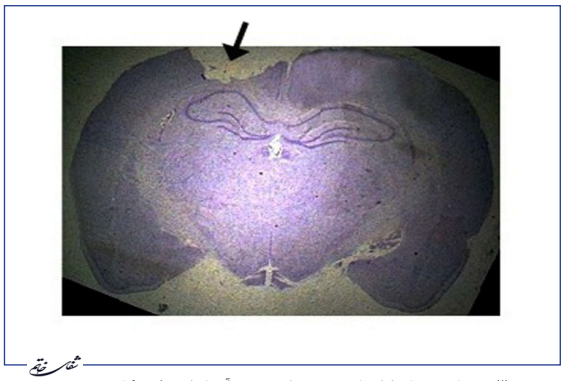
جهت کنترل اعمال آسیب مغزی در حد متوسط، ۶ موش، ضربهٔ مغزی را با مشخصات ذکر شده دریافت کرده و با اتر بیهوش شدند. سر با گیوتین جدا گردید، مغز خارج شد و در سالین ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس توسط برشگیر[5] از هر مغز دو برش ۳ میلی‌متری از محل ضایعه تهیه شد، برش‌ها داخل TTC با غلظت ۲ درصد قرار داده شد. بعد از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه برش‌ها رنگ گرفت به طوری که مناطق آسیب دیده به رنگ سفید و مناطق سالم قرمز رنگ شد. برش‌ها بر روی کاغذ میلی‌متری انتقال یافته و عمق ضایعه از سطح قشر اندازه‌گیری شد (تصویر ۲). برای اطمینان از القاء ضایعه‌ای در حد متوسط، نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی کریزل ویوله نیز کنترل شد. برای این منظور مغز موش‌های پرفیوژن شده خارج شد و پس از آماده‌سازی بافتی با پارافین قالب‌گیری گردید. سپس برش‌های ۷ میکرونی عرضی از هیپوکامپ تهیه شد و جهت ذوب پارافین، لام‌های حاوی نمونه بر روی هیتر قرار داده شد تا پارافین آن ذوب شود. بعد به ترتیب در محلول‌های الکل با درصدهای مختلف جهت آبگیری و رنگ کریزل ویوله قرار گرفت و در هر موش ۵ برش از نظر عمق ضایعه از سطح قشر جهت تأیید القاء ضایعه‌ای در حد متوسط مورد بررسی قرار گرفت (تصویر ۳).

رنگ‌آمیزی با تولوئیدن بلو

حیوانات با ۲۰۰ میلی‌لیتر نرمال سالین و به دنبال آن



تصویر ۲- اندازه‌گیری عمق ضایعه با رنگ آمیزی TTC.



تصویر ۳- مشاهدهٔ ضایعهٔ ایجاد شده در لوب قشر آهیانه‌ای -گیجگاهی.

۲۰۰ میلی‌لیتر پارافرمالدئید ۱ درصد پرفیوژ شدند. مغز حیوانات بعد از پرفیوژن خارج شده و پس از آماده‌سازی بافتی با پارافین قالب‌گیری شد. سپس برش‌های ۷ میکرونی عرضی از هیپوکامپ تهیه و از هر موش سه برش به صورت تصادفی انتخاب و پس از مراحل پارافین‌زدایی و آبدهی با رنگ تولوئیدن بلو رنگ‌آمیزی شدند. عکسبرداری از نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مدل Olympus, Japan BX51 با بزرگنمایی 40X صورت گرفت سپس به کمک برنامهٔ نرم‌افزاری ImageJ تعداد نورون‌های تیره نسبت به کل نورون‌ها در واحد حجم نواحی CA1، CA3 و Dentate gyrus هیپوکامپ شمارش شدند (۱۶-۳).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ انجام گردید. ابتدا آزمون Shapiro-wilk برای ارزیابی نرمالیته بودن جامعه استفاده شد. جهت مقایسهٔ میانگین در جامعهٔ نرمال، آزمون ANOVA یکطرفه و سپس آزمون توکی انجام گردید. در جامعهٔ غیرنرمال، آزمون کروسکال والیس و من ویتنی استفاده شد. در مقایسهٔ بین گروه‌ها، سطح معنی‌داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از رنگ آمیزی با ۲ و ۳و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید و کریزل ویوله

نتایج حاصل از رنگ آمیزی با TTC نشان داد، تروما با روش CCI در شرایط مشخص، ضایعه‌ای به عمق ۰/۵±۲ میلی‌متر از سطح قشر ایجاد کرده است (تصویر ۲). نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی با کریزل ویوله نیز تأیید کنندهٔ روش رنگ‌آمیزی با TTC بود و نشان داد که تروما با روش CCI توانسته ضایعهٔ متوسطی درسطح قشر ایجاد نماید (تصویر ۳).

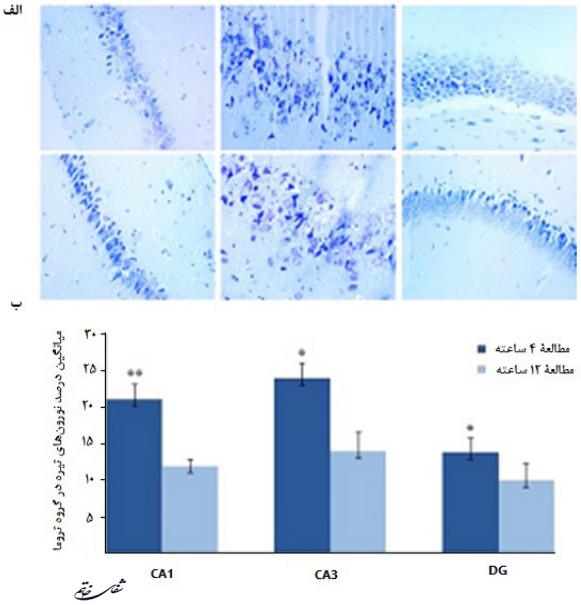
نتایج حاصل از مقایسهٔ درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ

[5] Brain slicer

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

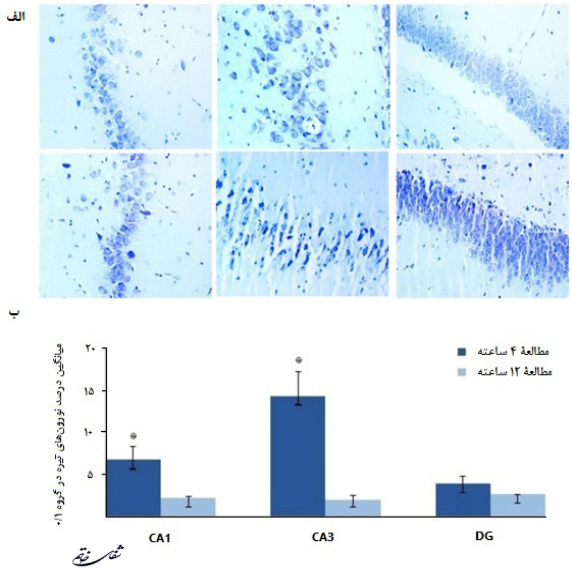
نتایج حاصل از مقایسهٔ درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تروما: همان‌گونه که در نمودار ۱ مشخص است درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ (۱۴/۰۶±۵/۲۱) Dentate gyrus و (۲۴/۰۴±۴/۲۲) CA3 و (۲۱/۱۳±۱/۹۳) CA14 ساعت بعد از اعمال ضربه به طور معنی‌داری بیشتر از Dentate gyrus (۹/۰۴±۴/۲۲) و (۱۳/۹۹±۵/۱۱) CA3 و (۱۲/۰۴±۴/۰۷)



نمودار ۱- مقایسهٔ درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ (CA1 ،CA3, Dentate gyrus) ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال ضربه نشان می‌دهد که ۴ ساعت بعد از تروما درصد نورون‌های تیره به طور معنی‌داری بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از ضربه است (*P<۰/۰۵) و (**P<۰/۰۱).

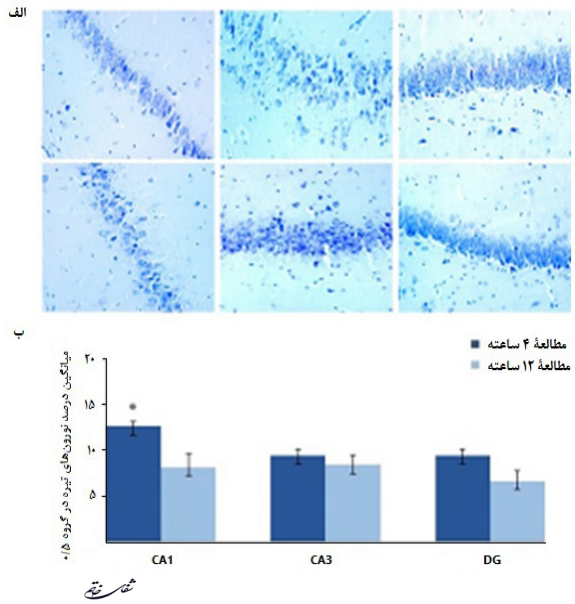
نتایج حاصل از مقایسهٔ درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ، ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تروما در گروه‌های پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم): نتایج حاصل از پیش درمانی با لیپو پلی‌ساکارید نشان می‌دهد که این ماده تعداد نورون‌های تیره را در تمام گروه‌های ترومایی پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید نسبت به گروه‌های ترومایی که نرمال سالین دریافت کرده بودند کاهش داده است. در این تحقیق مقایسهٔ اثر LPS، ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از تروما نشان داد که در گروهی که LPS را با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنج روز قبل از تروما به طریق داخل صفاقی دریافت کردند درصد نورون‌های تیره در نواحی (۱۴/۳۱±۶/۲۶) CA3 و (۶/۷۲±۲/۹) CA1، ۴ ساعت بعد از اعمال ضربه به طور معنی‌داری بیشتر از (۲/۸۸±۰/۸۷) CA3 و (۲/۱۳±۰/۳۲) CA112 ساعت بعد از تروما بود (P<۰/۰۵)-(نمودار ۲). درصد نورون‌های تیره ۴ ساعت بعد از تروما در ناحیهٔ (۳/۸۷±۱/۷۷) Dentate gyrus با ۱۲ ساعت بعد از تروما (۲/۵۹±۰/۶۸) Dentate gyrus اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتایج حاصل از مقایسهٔ درصد نورون‌های تیره در نواحی



نمودار ۲- اثر تزریق داخل صفاقی LPS با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر درصد نورون‌های تیره در مناطق مختلف هیپوکامپ نشان می‌دهد که ۴ ساعت بعد از تروما در نواحی CA1,CA3 درصد نورون‌های تیره به طور معنی‌داری بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما می‌باشد (*P<۰/۰۵).

هیپوکامپ، ۴ ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تروما در گروه‌های پیش درمانی شده با لیپوپلی ساکارید (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم): در گروهی که LPS را با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنج ساعت قبل از تروما به طریق داخل صفاقی دریافت کردند درصد نورون‌های تیره در ناحیهٔ (۱۲/۶۶±۱/۰۶) CA1 ۴ ساعت بعد از تروما به طور معنی‌داری بیشتر از۱۲ ساعت بعد از تروما (۸/۷۵±۲/۹۸) CA1 بود (P<۰/۰۵) و درصد نورون‌های تیره ۴ ساعت بعد از تروما در نواحی (۷/۶۶±۱/۲۶) CA3 و (۱۰/۵۰±۲/۲۲) Dentate gyrus با ۱۲ ساعت بعد از تروما در نواحی (۷/۲۵±۲/۲۱) CA3 و (۸/۳۳±۱/۲۹) Dentate



نمودار ۳- اثر تزریق داخل صفاقی LPS با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مناطق مختلف هیپوکامپ نشان می‌دهد که ۴ ساعت بعد از تروما درصد نورون‌های تیره در ناحیهٔ CA1 اختلاف معنی‌داری با ۱۲ ساعت بعد از تروما دارد (*P<۰/۰۵).

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

gyrus اختلاف معنی‌داری نداشت (نمودار ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج اخیر نشان داد در ساعات اولیهٔ اعمال تروما، آسیب سلولی در نواحی مختلف هیپوکامپ اتفاق افتاده است. این آسیب به صورت افزایش تعداد نورون‌های تیره در نواحی مختلف هیپوکامپ مشاهده شد. تعداد نورون‌های تیره در نواحی مختلف هیپوکامپ به طور معنی‌داری ۴ ساعت بعد از تروما بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما بود. از این نتایج دریافتیم که اثرات حاصل از تروما بلافاصله بعد از تروما شدیدتر می‌باشد. تحقیقات قبلی نیز نشان داده است که سمّیت سلولی و مرگ سلولی غالباً در زمان کوتاهی بعد از تروما به وجود می‌آید (۱۵). یافته‌های پاتولوژیک در TBI و تشنج لوب گیجگاهی نشان‌دهندهٔ از بین رفتن نورونی کورتیکال و هیپوکامپ (نواحی CA1, CA3, dentate hillus) می‌باشد که در اپی لپتوژنز نیز نقش دارد (۱۵). در این تحقیق نیز تحلیل عصبی[6] هیپوکامپی مشاهده شد. ما در این تحقیق برای اعمال تروما از روش CCI استفاده کردیم که یکی از بهترین مدل‌های شناخته شدهٔ حیوانی است، آسیب موضعی ایجاد می‌کند، صدمه در آن قابل کنترل بوده و پارامترهای مکانیکی قابل محاسبه‌اند. در این روش آسیب مغزی تکرارپذیر است و با تغییرات پاتولوژیک مشابه آسیب‌های کلینیکی وارد شده به سر همراه می‌باشد (۱۶، ۱۳).

تحقیقات قبلی نشان داده است که اگر سیستم ایمنی قبل از ایجاد ضایعه (ضربهٔ مغزی، عفونت و...) به طور خفیف تحریک شود پاسخ ایمنی ایجاد شده متعاقب ضایعه از شدت کمتری برخوردار بوده و این امر ضایعات مغزی ایجاد شده را به‌شدت تقلیل می‌دهد (۱۱، ۹). یکی از موادی که موجب تحریک سیستم ایمنی مغز می‌گردد لیپو پلی‌ساکارید است که از دیوارهٔ سلولی باکتری گرم منفی جدا می‌گردد. این ماده دارای گیرندهٔ اختصاصی از نوع TLR4 است (۱۲). بررسی‌ها نشان داده است که لیپو پلی‌ساکارید در غلظت بیش از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به آپوپتوز سلولی در سیستم عصبی مرکزی از جمله هیپوکامپ می‌شود (۱۷). تحقیقاتی که بر روی اثر LPS بر آسیب‌های مغزی از جمله ایسکمی انجام شده به نقش حفاظتی LPS و اثرات درمانی آن در دوز کم اشاره کرده است (۲۱-۱۸، ۹). بنابراین لیپو پلی‌ساکارید به‌عنوان یک مداخله‌گر در سیستم ایمنی شناخته شده است (۱۹). تحقیقات نشان داده است که تجویز LPS قبل از تروما[7] و همچنین بلافاصله بعد از تروما[8] در کاهش التهاب عصبی و به دنبال آن کاهش ضایعات بعدی نقش دارد (۲۰). مفهوم pre conditioning بدین معنا است که چنانچه LPS با دوز کم و به صورت پیشگیرانه قبل از وقوع ضایعهٔ عصبی و آغاز فرایندهای التهابی تجویز شود با تحریک خفیف سیستم ایمنی موجب می‌شود که نوعی شرطی شدن (pre conditioning) در سیستم ایمنی به وجود آید به طوری که در صورت تحریک بعدی و شدید سیستم ایمنی پاسخ‌های ایمنی به شکل شدید رخ ندهد و در نتیجه عوارض مربوطه نیز تخفیف یابد (۲۲، ۹). گزارشات اخیر نشان داده است که ۲۴ ساعت بعد از تزریق داخل مغز کاینیک اسید که با سمّیت نورونی منجر به آسیب مغزی می‌شود اگر پیش شرطی با LPS انجام شود فعالیت میکروگلیاها تنظیم شده و نورون‌های کورتیکال از سمّیت و مرگ نورونی محافظت می‌شوند (۲۳). گیرنده‌های TLR2 و TLR4 در واکنش میکروگلیا و مهار مرگ نورونی نقش دارند (۲۴). با توجه به نقش تحریک سمّیت در اپی لپتوژنز بعد از تروما، پیش شرطی با LPS از طریق کند کردن تحریک سمّیت، موجب مهار تسهیل اپی لپتوژنز متعاقب تروما نیز می‌شود (۲۷-۲۵). Longhi.L و همکارانش نشان دادند که در موش‌های مبتلا به TBI تزریق LPS با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی ۳، ۵ و ۷ روز قبل از ضربهٔ مغزی، نقایص حرکتی کمتری در مقایسه با گروه شاهد ایجاد می‌کند. موش‌هایی که LPS را ۵ روز قبل از ضربهٔ مغزی دریافت کردند حجم کوفتگی و مرگ سلولی کمتری داشتند. اثر حفاظتی LPS تا یک ماه بعد از آسیب هنوز وجود داشت (۹).

تحقیقات قبلی ما نیز نشان داده بود در گروهی که LPS را با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم قبل از تروما دریافت کرده بودند درصد نورون‌های تیره در نواحی هیپوکامپ نسبت به گروه ترومایی که LPS دریافت نکرده بودند کاهش معنی‌داری داشت (۱۳). نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که پیش درمانی با لیپو پلی‌ساکارید درصد نورون‌های تیره را در تمام گروه‌های ترومایی پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید نسبت به گروه‌های ترومایی که نرمال سالین دریافت کرده بودند کاهش داده است که این در راستای نتایج حاصل از تحقیقات قبلی ما نیز بود (۱۳).

در این تحقیق هدف ما مقایسهٔ تعداد نورون‌های تیرهٔ هیپوکامپ در گروه‌های ترومایی و گروه‌های ترومایی پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید در ساعات اولیهٔ بعد از تروما بود که نشان داد ۴ ساعت بعد از تروما تعداد نورون‌های تیره در نواحی مختلف هیپوکامپ بیش از ۱۲ ساعت بعد از تروما بود. همچنین در حیواناتی که با LPS پیش درمانی شده بودند و به دلیل نقش حفاظتی LPS در دوزهای مذکور تعداد نورون‌های تیره کاهش یافته بود نیز ۴ ساعت بعد از تروما درصد نورون‌های تیره بیش از ۱۲ ساعت بعد از تروما بود. این نتایج نشان می‌دهد که مقدار نورون‌های تیره در نواحی مختلف هیپوکامپ در حیوانات ترومایی و حیوانات پیش درمانی

[6] Neurodegeneration
[7] Pre conditioning
[8] Post conditioning

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

شده با LPS در ساعات اولیهٔ بعد از تروما بیشتر است. تحقیقات محققان قبلی نشان داده بود که تروما در مغز با آزادسازی گلوتامات موجب تحریکات سمّی شدیدی شده و منجر به آسیب سلولی می‌شود (۳۰-۲۸). در این تحقیق نیز با اعمال تروما تعداد نورون‌های تیره نسبت به گروهی که سالین دریافت کرده بودند افزایش داشت. ما در این تحقیق نورون‌های تیره را به‌عنوان نورون‌هایی که دچار مرگ سلولی شده‌اند در نظر گرفته‌ایم زیرا سرنوشت نورون‌های تیره بستگی به نواحی مختلفی از مغز دارد که در آن نواحی قرار گرفته‌اند برای مثال بعد از تروما تعدادی از نورون‌های تیره در نئوکورتکس زنده باقی می‌مانند در صورتی که در هیپوکامپ تعداد نورون‌های تیره تقریباً برابر با تعداد نورون‌های مرده است (۳۳-۳۱). در همین راستا Ooigawa و همکارانش نشان دادند که نورون‌های تیره در هیپوکامپ ۲۴ ساعت بعد از اعمال تروما دچار مرگ سلولی می‌شوند (۳۴).

به همین دلیل ما در این تحقیق می‌توانیم بیان کنیم که تروما در مناطق مختلف هیپوکامپ منجر به مرگ سلولی شده است که ۴ ساعت بعد از تروما مرگ سلولی بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما می‌باشد. در صورتی که حیوانات قبل از اعمال تروما با لیپو پلی‌ساکارید پیش درمانی شوند تعداد نورون‌های مرده کاهش می‌یابد که در این مورد نیز ۴ ساعت بعد از تروما تعداد نورون‌های مرده در بعضی از مناطق هیپوکامپ بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما می‌باشد که این هم به دلیل آسیب بیشتر هیپوکامپ در ساعات اولیهٔ بعد از تروما می‌باشد.

آسیب سلولی در هیپوکامپ ۴ ساعت بعد از تروما بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما است. در گروه‌های پیش درمانی شده با لیپو پلی‌ساکارید نیز آسیب سلولی در بیشتر مناطق هیپوکامپ ۴ ساعت بعد از تروما بیشتر از ۱۲ ساعت بعد از تروما است. این نتایج نشان دهندهٔ آسیب سلولی بیشتر هیپوکامپ در ساعات اولیهٔ بعد از تروما می‌باشد.

منابع

1. Leonardi M, Ustun TB. The global burden of epilepsy. Epilepsia. 2002; 43(6): 1-5.

2. Dudek FE, Staley KJ. The time course of acquired epilepsy: implications for therapeutic intervention to suppress epileptogenesis. Neurosci Lett. 2011; 497(3): 240-6.

3. Blumenfeld H. New strategies for preventing epileptogenesis: perspective and overview. Neurosci Lett. 2011; 497(3): 153-4.

4. Karimi M, Naseri M, Sayyah M, Kamalinejad M, Amiri S. Evaluation of anticonvulsive effect of methanol extract of ferula asafoetida gum in mice. Shefaye Khatam. 2014; 2(1): 46-50

5. Eftekhar B, Sahraian MA, Nouralishahi B, Khaji A, Vahabi Z, Ghodsi M, et al. Prognostic factors in the persistence of posttraumatic epilepsy after penetrating head injuries sustained in war: clinical article. J Neurosurg. 2009; 110(2): 319-26.

6. Ravizza T, Balosso S, Vezzani A. Inflammation and prevention of epileptogenesis. Neurosci Lett. 2011; 497(3): 223-30.

7. Granata T, Cross H, Theodore W, Avanzini G. Immune-mediated epilepsies. Epilepsia. 2011; 52(3): 5-11.

8. Aarli JA. Epilepsy and the immune system. Arch Neurol. 2000; 57(12): 1689-92.

9. Longhi L, Gesuete R, Perego C, Ortolano F, Sacchi N, Villa P, et al. Long-lasting protection in brain trauma by endotoxin preconditioning. J Cereb Blood Flow Metab. 2011; 31(9): 1919-29.

10. Lin HY, Huang CC, Chang KF. Lipopolysaccharide preconditioning reduces neuroinflammation against hypoxic ischemia and provides long-term outcome of neuroprotection in neonatal rat. Pediatr Res. 2009; 66(3): 254-9.

11. Mirrione MM, Konomos DK, Gravanis I, Dewey SL, Aguzzi A, Heppner FL, et al. Microglial ablation and lipopolysaccharide preconditioning affects pilocarpine-induced seizures in mice. Neurobiol Dis. 2010; 39(1): 85-97.

12. Marsh BJ, Williams-Karnesky RL, Stenzel-Poore MP. Toll-like receptor signaling in endogenous neuroprotection and stroke. Neuroscience. 2009; 158(3): 1007-20.

13. Eslami M, Sayyah M, Soleimani M, Alizadeh L, Hadjighassem M. Lipopolysaccharide preconditioning prevents acceleration of kindling epileptogenesis induced by traumatic brain injury. J Neuroimmunol. 2015; 289: 143-51.

14. Hu K, Li S-y, Xiao B, Bi F-f, Lu X-q, Wu X-m. Protective effects of quercetin against status epilepticus induced hippocampal neuronal injury in rats: involvement of X-linked inhibitor of apoptosis protein. Acta Neurol Belg. 2011; 111(3): 205-12.

15. Nourzad Z, Ghadiri T, Modarres Mousavi M, Karimzadeh F, Eshaghabadi A, Hosseini Ravandi H, et al. Neuroprotective effects of concomitant use of erythropoietin and progesterone in traumatic brain

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]

injury. Shefaye Khatam. 2014: 2(2): 1-12.

16. Alizadeh L, Gorizan A, Akbari Dana M, Ghaemi A. Immunotherapy of glioblastoma multiforme tumors: from basic to clinical trial studies. Shefaye Khatam. 2015; 3(2): 77-84.

17. Yu JT, Lee CH, Yoo K-Y, Choi JH, Li H, Park OK, et al. Maintenance of anti-inflammatory cytokines and reduction of glial activation in the ischemic hippocampal CA1 region preconditioned with lipopolysaccharide. J Neurol Sci. 2010; 296(1-2): 69-78.

18. Hassan H, Grecksch G, Rüthrich H, Krug M. Effects of nicardipine, an antagonist of L-type voltage-dependent calcium channels, on kindling development, kindling-induced learning deficits and hippocampal potentiation phenomena. Neuropharmacology. 1999; 38(12): 1841-50.

19. Rosenzweig HL, Minami M, Lessov NS, Coste SC, Stevens SL, Henshall DC, et al. Endotoxin preconditioning protects against the cytotoxic effects of TNFα after stroke: a novel role for TNFα in LPS-ischemic tolerance. J Cereb Blood Flow Metab. 2007; 27(10): 1663-74.

20. Bingham D, John CM, Panter SS, Jarvis GA. Post-injury treatment with lipopolysaccharide or lipooligosaccharide protects rat neuronal and glial cell cultures. Brain Res Bull. 2011; 85(6): 403-9.

21. Pitkänen A, Bolkvadze T, Immonen R. Anti-epileptogenesis in rodent post-traumatic epilepsy models. Neurosci Lett. 2011; 497(3): 163-71.

22. Löscher W, Brandt C. Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research. Pharmacol Rev. 2010; 62(4): 668-700.

23. Larochelle A, Bellavance MA, Rivest S. Role of adaptor protein MyD88 in TLR-mediated preconditioning and neuroprotection after acute excitotoxicity. Brain Behav Immun. 2015; 46: 221-31.

24. Ren Z, Iliff JJ, Yang L, Yang J, Chen X, Chen MJ, et al. 'Hit & Run'model of closed-skull traumatic brain injury (TBI) reveals complex patterns of post-traumatic AQP4 dysregulation. J Cereb Blood Flow Metab. 2013; 33(6): 834-45.

25. Hunt RF, Boychuk JA, Smith BN. Neural circuit mechanisms of post-traumatic epilepsy. Front Cell Neurosci. 2013; 7: 89. doi: 10.3389/fncel.2013.00089.

26. Goodrich GS, Kabakov AY, Hameed MQ, Dhamne SC, Rosenberg PA, Rotenberg A. Ceftriaxone treatment after traumatic brain injury restores expression of the glutamate transporter, GLT-1, reduces regional gliosis, and reduces post-traumatic seizures in the rat. J Neurotrauma. 2013; 30(16): 1434-41.

27. Vandresen-Filho S, Hoeller AA, Herculano BA, Duzzioni M, Duarte FS, Piermartiri TC, et al. NMDA preconditioning attenuates cortical and hippocampal seizures induced by intracerebroventricular quinolinic acid infusion. Neurotox Res. 2013; 24(1): 55-62.

28. Meldrum BS. Excitotoxicity and selective neuronal loss in epilepsy. Brain Pathology. 1993; 3(4): 405-12.

29. Parsons MP, Raymond LA. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. Neuron. 2014; 82(2): 279-93.

30. Jayaram B, Khan RS, Kastin AJ, Hsuchou H, Wu X, Pan W. Protective role of astrocytic leptin signaling against excitotoxicity. J Mol Neurosci. 2013; 49(3): 523-30.

31. Cortez SC, McIntosh T, Noble L. Experimental fluid percussion brain injury: vascular disruption and neuronal and glial alterations. Brain Res. 1989; 482(2): 271-82.

32. Lowenstein DH, Thomas MJ, Smith DH, McIntosh TK. Selective vulnerability of dentate hilar neurons following traumatic brain injury: a potential mechanistic link between head trauma and disorders of the hippocampus. J Neurosci. 1992; 12(12): 4846-53.

33. Nawashiro H, Shima K, Chigasaki H. Selective vulnerability of hippocampal CA3 neurons to hypoxia after mild concussion in the rat. Neurol Res. 1995; 17(6): 455-60.

34. Ooigawa H, Nawashiro H, Fukui S, Otani N, Osumi A, Toyooka T, et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. Acta Neuropathol. 2006; 112(4): 471-81.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/shefa.6.1.41]