DOI: 10.48305/jims.v41.i726.0550

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۲۶/هفته‌ی دوم شهریور ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۴ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۳ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۶/۱۴

اثرات لیتیوم کلرید در پیشگیری از تخریب میلین القاء شده با کاپریزون در جسم پینه‌ای مغز موش

سحر قصوری[۱]، میترا سلیمانی[۲]، ناظم قاسمی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اختلال در فرایند میلین‌سازی و تخریب بافت میلین، منجر به اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی می‌شود. نقش محافظت‌کنندگی نورونی لیتیوم کلرید در درمان بیماری‌های عصبی به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ی حاضر، اثرات لیتیوم کلرید در پیشگیری از تخریب بافت میلین القاء شده با کاپریزون در جسم پینه‌ای مغز موش مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، ۴۰ عدد موش سوری ماده‌ی نژاد C57BL/6 با وزن ۲۵-۲۰ گرم به صورت تصادفی به چهار گروه شامل گروه‌های شاهد، شم، کاپریزون و لیتیوم کلراید/کاپریزون تقسیم شدند. ترکیب لیتیوم کلراید روزانه با دوز ۵۰ mg/kg بصورت داخل صفاقی استفاده شد. در پایان مطالعه، به منظور بررسی میانگین تراکم میلین و بیان ژن میلین، از رنگ‌آمیزی تلوئیدین بلو، ایمونوهیستوشیمی و Real Time-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج رنگ‌آمیزی‌های ایمونوهیستوشیمی و تلوئیدین بلو نشان داد که تراکم میلین و درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر MBP (Myelin basic protein) در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم، نسبت به گروه کاپریزون به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. علاوه بر این، نتایج Real Time-PCR نشان داد که استفاده از لیتیوم می‌تواند بیان ژن میلین را افزایش دهند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که فاکتورهای محافظت‌کننده‌ی عصبی، نظیر کلرید لیتیوم توانایی پیشگیری از تخریب بافت میلین را دارند و لذا استفاده از این ترکیب می‌تواند راهکار مناسبی برای پیشگیری از ابتلا و کاهش پیشرفت بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی بافت عصبی باشد.

واژگان کلیدی: کلرید لیتیوم؛ میلین؛ پروتئین پایه میلین؛ بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی بافت عصبی؛ عوامل محافظت‌کننده‌ی عصبی

ارجاع: قصوری سحر، سلیمانی میترا، قاسمی ناظم. **اثرات لیتیوم کلرید در پیشگیری از تخریب میلین القاء شده با کاپریزون در جسم پینه‌ای مغز موش.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۲۶): ۵۵۵-۵۵۰

مقدمه

نقش مهم و حیاتی غلاف میلین در انتقال سریع پیام‌های عصبی، غیرقابل انکار است (۱). در طی بیماری‌های نورودژنراتیو، به دلیل نفوذ سلول های ایمنی و مرگ الیگودندروسیت ها، غلاف میلین تخریب می‌شود که این مورد، علت اصلی ایجاد آسیب عصبی می‌باشد. بنابراین، این وضعیت غیرطبیعی منجر به تشکیل پلاک هایی در CNS می‌شود که می‌تواند انتقال پیام‌های عصبی را مختل کند و ناتوانی شدید جسمی یا شناختی را ایجاد نماید (۲). در حال حاضر، هیچ روش قطعی برای پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی بافت عصبی و جلوگیری از تخریب بافت میلین وجود ندارد. درمان‌های رایج در این بیماری‌ها بر پایه‌ی سرکوب التهاب و تعدیل سیستم ایمنی می‌باشد. با این حال، این داروها دارای عوارض جانبی بسیار جدی هستند و نمی‌توانند از تخریب بافت عصبی به شکل کامل پیشگیری کنند. بر اساس نتایج منتشر شده، استفاده از عوامل نوروتروفیک، یک الگوی جدید بالقوه برای پیشگیری و درمان بیماری‌های نورودژنراتیو ایجاد کرده است. نقش محافظت‌کنندگی نورونی و ضد آپاپتوزی مهار کننده‌های GSK3β که به عنوان تثبیت‌کننده‌های خلق و خوی در درمان بیماری‌های عصبی استفاده می‌شوند به اثبات رسیده است (۳، ٤). GSK3 (گلیکوژن سنتاز کیناز-۳)، نوعی کیناز تنظیم کننده‌ی متابولیسم گلیکوژن است و

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: ناظم قاسمی: دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir

در فرایندهای سلولی مختلف از جمله تقسیم سلولی، خودنوسازی سلول‌های بنیادی، آپوپتوز و تمایز سلولی نقش دارد و لذا به عنوان یک هدف مهم دارویی مورد توجه خاص قرار گرفته است. GSK-3β بطور گسترده‌ای در کلیه‌ی بافت‌های بدن و به ویژه در مغز بیان می‌شود. نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که مهار GSK-3β اثرات محافظت‌کننده‌ی نورونی را به همراه دارد (۵، ٦). از جمله‌ی این مهارکننده‌ها می‌توان به لیتیوم کلرید اشاره کرد.

Ahn و همکاران در مطالعه‌ی خود به بررسی نقش بالقوه‌ی GSK-3β در خود ایمنی سیستم عصبی مرکزی از طریق مهار آن توسط لیتیوم پرداختند. درمان با استفاده از لیتیوم به طور قابل توجهی شروع فلج EAE را به تأخیر انداخت و شدت آن را بهبود بخشید. همچنین تیمار با لیتیوم، سطح فاکتور نکروز تومور التهابی a و اینترلوکین ۱۰ را کاهش داد (۷).

لیتیوم، توانایی تثبیت خلق و خو را در حدود نیمی از بیماران مبتلا به اختلال دو قطبی دارد. در واقع، لیتیوم «استاندارد طلایی» درمان اختلالات دوقطبی محسوب می‌شود. اثرات محافظت‌کننده‌ی عصبی لیتیوم در برابر سمیت تحریکی ناشی از گلوتامات به طور گسترده در مدل های مختلف سلولی و حیوانی مورد مطالعه قرار گرفته است (۸). همچنین نشان داده شده است که لیتیوم، نقش حفاظتی مهمی در برابر آسیب به نورون‌های سیستم عصبی مرکزی و رده‌های سلولی مرتبط با عصب دارد (۹). اخیراً مشخص شده است که لیتیوم، موجب محافظت از بافت مغز در صدمات ایسکمی و آسیب‌های ترومایی می‌شود. پیش‌درمانی با لیتیوم یا BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)، نورون‌های قشر مغز را از تأثیرات منفی ناشی از عدم حذف گلوتامات محافظت می‌کند و پیشنهاد شده است که BDNF یک کلید تنظیم‌کننده‌ی حفاظت نورونی با واسطه‌ی لیتیوم می‌باشد. لذا با توجه به طیف وسیع عملکرد لیتیوم و به لحاظ اینکه این ترکیب عملکرد سد خونی مغزی را تثبیت می‌کند و می‌تواند به شکل مستقیم نقش حفاظت‌کنندگی نورونی داشته باشد، بررسی اثرات این ترکیب در پیشگیری از تخریب بافت میلین مغز ضرورت انجام این مطالعه بود.

روش‌ها

پژوهش حاضر نوعی مطالعه‌ی تجربی است که بر روی ٤٠ عدد موش سوری ماده‌ی نژاد C57BL/6 با وزن ۲۵ -۲۰ گرم در دانشکده‌ی پزشکی اصفهان در سال ۱٤۰۱ انجام گرفت. تمام روش‌های آزمایشگاهی و مراقبت‌های حیوانی طبق قوانین کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. موش‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه شامل گروه‌های شاهد، شم، کاپریزون و لیتیوم کلرید/کاپریزون تقسیم شدند. به منظور تخریب میلین از کاپریزون محلول در ۰/۵ سی‌سی روغن ذرت استفاده شد. بعلاوه، ترکیب لیتیوم کلرید روزانه با دوز ۵۰ mg/kg بصورت داخل صفاقی و در گروه لیتیوم کلرید/کاپریزون و به مدت پنج هفته استفاده شد. در پایان مطالعه، بعد از بیهوشی عمیق، کرانیوتومی انجام شد و مغز موش‌ها خارج گردید و بعد از ثبوت بافتی مقاطع پارافینه با ضخامت ۵ میکرومتر آماده گردید و جهت بررسی‌های بافت‌شناسی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین تعدادی از نمونه‌ها جهت بررسی بیان ژن میلین استفاده شد.

رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو: طبق روش انجام شده در مطالعه‌ی پیشین (۱۰) و به منظور بررسی تخریب بافت میلین، بعد از دپارافینه کردن و پردازش بافتی از محلول تولوئیدن بلو ۱ درصد (حل شده در آب مقطر) به مدت ۳۰ ثانیه استفاده شد. در نهایت لام‌ها در گزیلل به مدت ۵ دقیقه مانت شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت، میانگین تراکم میلین در هر گروه گزارش گردید.

رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی جهت بررسی مارکر MBP (Myelin basic protein): طبق روش انجام شده در مطالعه‌ی پیشین (۱۱)، مقاطع پارافینی به ضخامت ۵ میکرومتر به روی لام‌های چسب‌دار منتقل شد و به مدت نیم ساعت در دمای ٦۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در دستگاه فور برای ذوب پارافین قرار گرفت. پس از آبدهی نمونه‌ها، بازیابی آنتی‌ژن به روش حرارت‌یابی و با بافر سیترات انجام شد. به منظور بلاک کردن آنتی‌ژن از سرم آلبومین بزی ۱۰ درصد رقیق شده در PBS (Phosphate buffered saline) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در محفظه‌ی مرطوب استفاده شد. انکوبه کردن لام‌ها با استفاده از آنتی‌بادی اولیه Anti MBP (abcam) و به مدت یک شبانه روز و در محیط مرطوب و در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. سپس لام‌ها در PBS شستشو داده و انکوبه کردن با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه شده با FITC به مدت یک ساعت در تاریکی انجام گرفت. بعد از شستشو، رنگ‌آمیزی هسته با استفاده از DAPI رقیق شده (DAPI به نسبت 1:1000 با PBS) به مدت ۲ دقیقه انجام شد. در نهایت نمونه‌ها با PBS شستشو داده و با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت (Olympus BX51, Japan) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تعیین درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر MBP، تعداد ۲۰۰ سلول حداقل در ۵ فیلد به شکل تصادفی شمارش شد و درصد سلول‌های بیان کننده‌ی این مارکر گزارش گردید. لازم به ذکر است که کلیه‌ی بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی سه بار تکرار شد.

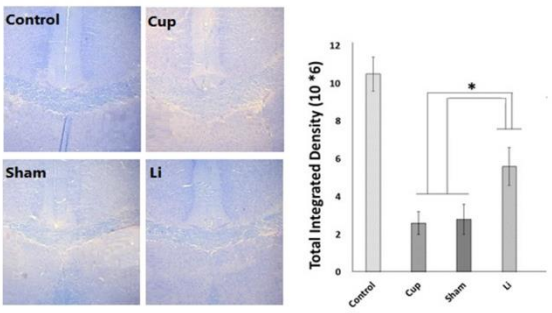
تکنیک Real time RT-PCR: این تکنیک جهت بررسی میزان

بیان ژن‌های MBP در گروه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، مغز نیمی از حیوانات هر گروه بعد از انجام کرانیوتومی خارج شده و در دمای ۷۰- درجه نگهداری شد. در ادامه و پس از جداسازی جسم پینه‌ای مغز، RNA با استفاده از RNeasy mini Kit و بر اساس دستورالعمل ارائه شده و طبق روش مطالعه‌ی قبلی (۱) استخراج گردید. همچنین با استفاده از کیت DNase set از شرکت Qiagen و بر اساس دستورالعمل آن شرکت، RNA استخراج شده عاری از DNA گردید. در ادامه به منظور سنتز CDNA، RevertAid™ First StrandcDNA Synthesis Kit استفاده شد. اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های مورد نظر با استفاده از پرایمرهای طراحی شده از سایت‌های معتبر بیوانفورماتیک نظیر NCBI و برنامه‌ی مخصوص دستگاه PCR انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) و با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

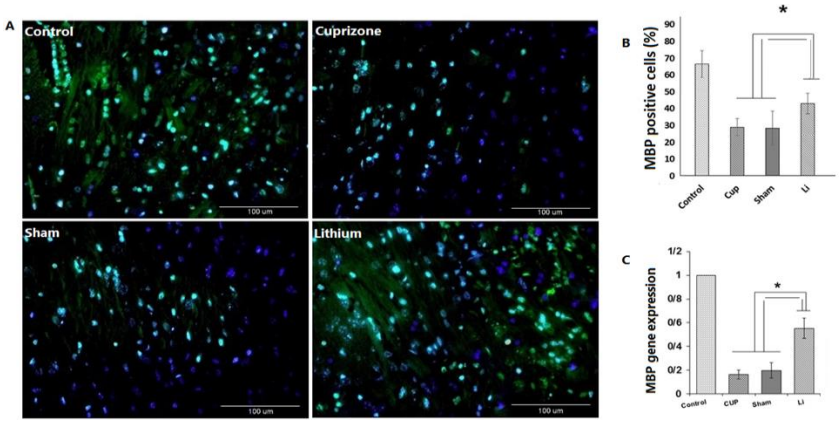
بررسی بافت میلین در رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو: بعد از رنگ‌آمیزی، بافت میلین ناحیه‌ی جسم پینه‌ای به رنگ آبی و با شدت نوری متفاوت در گروه‌ها گزارش گردید. همان طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، مرز بین ناحیه‌ی جسم پینه‌ای و بافت‌های مجاور در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون به طور واضح مشخص نمی‌باشد که خود می‌تواند دلیلی بر تخریب میلین و کاهش تراکم آن باشد. بررسی تراکم میلین، با استفاده از نرم‌افزار Image J نشان داد که میانگین تراکم میلین در ناحیه‌ی جسم پینه‌ای در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم نسبت به گروه کاپریزون به شکل معنی‌داری بیشتر می‌باشد (P ≤ ۰/۰۵).



شکل ۱. رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو. در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون مرز بین جسم پینه‌ای و بافت مجاور مشخص نمی‌باشد و رنگ کمتری دارد. میانگین تراکم میلین در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی کاپریزون به صورت معنی‌داری افزایش دارد.

بررسی مارکر MBP در تکنیک ایمونوهیستوشیمی: نتایج بررسی ایمونوهیستوشیمی نشان داد که میانگین سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر MBP در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها به شکل معنی‌داری کاهش یافته است. بعلاوه درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر MBP در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم نسبت به گروه کاپریزون به شکل معنی‌داری بیشتر می‌باشد (P ≤ ۰/۰۵) (شکل ۲، A, B).

تکنیک Real time RT-PCR و بررسی بیان ژن MBP: نتایج بررسی ژن MBP در چهار گروه مورد مطالعه نشان داد که میزان بیان mRNA، ژن MBP در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون کاهش داشته است. بعلاوه میزان بیان آن در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم نسبت به گروه کاپریزون به شکل معنی‌داری بیشتر گزارش گردید و در راستای نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی MBP بود (P ≤ ۰/۰۵) (شکل 2C).



شکل ۲. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی. A, B: در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی کاپریزون میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر MBP نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است (P ≤ ۰/۰۵).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات لیتیوم کلرید در پیشگیری از تخریب بافت میلین القاء شده با کاپریزون در جسم پینه‌ای مغز موش مورد بررسی قرار گرفت. به منظور القاء تخریب میلین در جسم پینه‌ای مغز، از کاپریزون استفاده شد. ارزیابی تراکم میلین با استفاده از رنگ‌آمیزی تلوئیدین بلو نشان داد که استفاده از لیتیوم، قادر به کاهش دمیلیناسیون و تحریک مجدد میلین‌زایی است. در توجیه این نتایج، می‌توان گفت که کاپریزون از طریق مهار عملکرد سیتوکروم اکسیداز و مونوآمین اکسیدازهای موجود در میتوکندریاهای الیگودندروسیتی منجر به پیدایش اختلالات مرتبط با چرخه‌ی تولید انرژی شده و می‌تواند آپوپتوز الیگودندروسیت و تخریب بافت میلین را رقم بزند. لذا استفاده از لیتیوم، می‌تواند از طریق اثرات محافظت‌کننده‌ی عصبی، از سلول‌های الیگودندروسیت در برابر کاپریزون محافظت کرده و اثرات مخرب کاپریزون را کاهش دهد و در نتیجه باعث تقویت میلیناسیون مجدد و افزایش تراکم میلین شود (۱۰). لیتیوم می‌تواند سرنوشت سلول‌های عصبی را با تأثیر بر مسیر سیگنال‌دهی Wnt/GSK3-β و با تغییر بیان برخی از ژن‌ها مانند ژن‌های دخیل در فرایند رونویسی GSK-3β و پروتئین β کاتنین تعیین کند (۱۲). β-کاتنین جزء اصلی کمپلکس پروتئین کادهرین است و برای فعال کردن سیگنال‌دهی Wnt/GSK3-β به منظور تنظیم فرایندهای سلولی مختلف، نظیر تکثیر سلولی، تمایز و بلوغ ضروری است. علاوه بر این، β-کاتنین نقش کلیدی در محافظت عصبی دارد (۱۳). در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که میزان بیان ژن MBP و همچنین تراکم بافت میلین در گروه دریافت‌کننده‌ی لیتیوم به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. از آن‌جایی که لیتیوم قادر به مهار فسفوریلاسیون β-کاتنین از طریق مهار GSK-3 است (۱٤)، می‌توان استدلال کرد که لیتیوم احتمالاً با افزایش غلظت سیتوپلاسمی β-کاتنین و تسهیل انتقال β-کاتنین به درون هسته، قادر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با میلین‌سازی می‌باشد. بعلاوه این ترکیب با افزایش بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی و همچنین تحریک رونویسی از فاکتورهای رشد، می‌تواند از سلول‌های الیگودندروسیتی محافظت کرده و ضمن پیشگیری از آپاپتوز آن‌ها به صورت غیر مستقیم در افزایش تراکم بافت میلین مؤثر باشد. در راستای نتایج مطالعه‌ی حاضر، مطالعه‌ی Makoukji و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داد که لیتیوم کلرید، با افزایش بیان ژن‌های مربوط به میلین، فرایند میلین‌سازی مجدد را پیش برده و باعث ترمیم اعصاب محیطی آسیب دیده شده است (۱۵).

همچنین در مطالعه‌ای دیگر، اثرات لیتیوم کلرید در پیشبرد تمایز سلول‌های دوپامینرژیکی به اثبات رسیده است (۱٦). نتایج سایر مطالعات نشان داده است که لیتیوم می‌تواند از طریق تأثیر بر مسیر سیگنال‌دهی Wnt/GSK3-β و با تغییر بیان برخی از ژن‌ها مانند ژن‌های دخیل در فرایند رونویسی، نقشی مؤثر در سرنوشت سلول‌های بنیادی داشته باشد (۱۷، ۱۸). لذا از این ترکیب می‌توان در درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی به منظور درمان بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی بافت عصبی نیز بهره برد.

نتیجه‌گیری

با استناد به نتایج حاصله از این مطالعه می‌توان گفت که مهار کننده های GSK3-β نظیر کلرید لیتیوم، با داشتن اثرات محافظت‌کنندگی نورونی و از طریق افزایش بیان ژن‌های مرتبط با میلین، پیشگیری از تخریب میلین و افزایش تراکم میلین می‌توانند موجب بهبود عملکرد حرکتی- تعادلی و قدرت عضلانی در بیماری‌های نورودجنریتو شوند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترای تخصصی علوم تشریحی به شماره ۳۹۹۸۳۱ مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. بدین‌وسیله از معاونت مذکور تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Lotfi A, Soleimani M, Ghasemi N. Astaxanthin reduces demyelination and oligodendrocytes death in a rat model of multiple sclerosis. Cell J 2021; 22(4): 565-71.
2. Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell-based therapy. Cell J 2017; 19(1): 1-10.
3. Zhong J, Yang X, Yao W, Lee W. Lithium protects ethanol-induced neuronal apoptosis. Biochem Biophys Res Commun 2006; 350(4): 905-10.
4. Chuang DM. The antiapoptotic actions of mood stabilizers: molecular mechanisms and therapeutic potentials. Ann N Y Acad Sci 2005; 1053(1): 195-204.
5. Maqbool M, Hoda N. GSK3 inhibitors in the therapeutic development of diabetes, cancer and neurodegeneration: past, present and future. Curr Pharm Des 2017; 23(29): 4332-50.
6. Zhao Y, Wei ZZ, Zhang JY, Zhang Y, Won S, Sun J, et al. GSK-3β inhibition induced neuroprotection, regeneration, and functional recovery after intracerebral hemorrhagic stroke. Cell Transplant 2017; 26(3): 395-407.
7. Ahn M, Kim J, Park C, Cho J, Jee Y, Jung K, et al. Potential involvement of glycogen synthase kinase

(GSK)-3β in a rat model of multiple sclerosis: evidenced by lithium treatment. Anat Cell Biol 2017; 50(1): 48-59.
8. Zhang LQ, Zhang WM, Deng L, Xu ZX, Lan WB, Lin JH. Transplantation of a peripheral nerve with neural stem cells plus lithium chloride injection promote the recovery of rat spinal cord injury. Cell Transplant 2018; 27(3): 471-84.
9. Young W. Review of lithium effects on brain and blood. Cell Transplant 2009; 18(9): 951-75.
10. Ghosouri S, Soleimani M, Bakhtiari M, Ghasemi N. Evaluation of in vivo lithium chloride effects as a GSK3-β inhibitor on human adipose derived stem cells differentiation into oligodendrocytes and re-myelination in an animal model of multiple sclerosis. Mol Biol Rep 2023; 50(2): 1617-25.
11. Bakhtiari M, Ghasemi N, Salehi H, Amirpour N, Kazemi M, Mardani M. Evaluation of Edaravone effects on the differentiation of human adipose derived stem cells into oligodendrocyte cells in multiple sclerosis disease in rats. Life Sci 2021; 282: 119812.
12. Mathuram TL, Venkatesan T, Das J, Natarajan U, Rathinavelu A. The apoptotic effect of GSK-3 inhibitors: BIO and CHIR 98014 on H1975 lung cancer cells through ROS generation and mitochondrial dysfunction. Biotechnol Lett 2020; 42(8): 1351-68.
13. Benoit YD, Guezguez B, Boyd AL, Bhatia M. Molecular pathways: Epigenetic modulation of Wnt-glycogen synthase kinase-3 signaling to target human cancer stem cells. Clin Cancer Res 2014; 20(21): 5372-8.
14. Vecera CM, Jones G, Chong AC, Ruiz AC, Rong C, Soares JC, et al. Intracellular signaling cascades in bipolar disorder. In: Machado-Vieira R, Soares JC, editors. Biomarkers in bipolar disorders. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2022. p. 331-47.
15. Makoukji J, Belle M, Meffre D, Stassart R, Grenier J, Shackleford GG, et al. Lithium enhances remyelination of peripheral nerves. Proc Natl Acad Sci U S A 2012; 109(10): 3973-8.
16. Soleimani M, Ghasemi N. Lithium chloride can induce differentiation of human immortalized RenVm cells into dopaminergic neurons. Avicenna J Med Biotechnol 2017; 9(4): 176-80.
17. Qi L, Tang Y, He W, Pan H, Jiang W, Wang L, et al. Lithium chloride promotes neuronal differentiation of rat neural stem cells and enhances neural regeneration in Parkinson's disease model. Cytotechnology 2017; 69(2): 277-87.
18. Xia MY, Zhao XY, Huang QL, Sun HY, Sun C, Yuan J, et al. Activation of Wnt/β-catenin signaling by lithium chloride attenuates d-galactose-induced neurodegeneration in the auditory cortex of a rat model of aging. FEBS Open Bio 2017; 7(6): 759-76.

DOI: *10.48305/jims.v41.i726.0550*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 726, 2nd Week, September 2023**

Received: 14.06.2023 Accepted: 25.07.2023 Published: 05.09.2023

Effects of Lithium Chloride in the Prevention of Myelin Destruction Induced by Cuprizone in the Corpus Callosum of the Mouse Brain

Sahar Ghosouri[1], Mitra Soleimani[2], Nazem Ghasemi[3]

Original Article

Abstract

Background: Disturbance of the myelination process and destruction of myelin tissue leads to central nervous system dysfunction. The neuroprotective effect of lithium chloride in the treatment of neurological diseases has been proven. In the present study, the effects of lithium chloride in preventing cuprizone-induced myelin tissue destruction in the corpus callosum of the mouse brain were investigated.

Methods: In this study, 40 female C57BL/6 mice weighing 20-25 grams were randomly divided into four groups including control, sham, cuprizone and lithium chloride/cuprizone groups. The compound of lithium chloride was used intra peritoneally at a dose of 50 mg/kg daily. At the end of the study, toluidine blue staining, immunohistochemistry, and Real-Time PCR were utilized to assess average myelin density and myelin gene expression.

Findings: The results of immunohistochemistry and toluidine blue staining demonstrated a significant increase in myelin density and the percentage of cells expressing the Myelin Basic Protein (MBP) marker in the lithium group compared to the cuprizone group. In addition, Real Time-PCR results showed that the use of lithium can increase myelin gene expression.

Conclusion: The results of the present study showed that neuroprotective factors, such as lithium chloride, have the potential to prevent the destruction of myelin tissue, and therefore, the use of this combination may serve as an effective approach to prevent and mitigate the progression of neurodegenerative diseases.

Keywords: Lithium chloride; Myelin; Myelin basic protein; Neurodegenerative diseases; Neuroprotective agents

Citation: Ghosouri S, Soleimani M, Ghasemi N. **Effects of Lithium Chloride in the Prevention of Myelin Destruction Induced by Cuprizone in the Corpus Callosum of the Mouse Brain.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(726): 550-5.

1- PhD Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Nazem Ghasemi, Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir