مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۵٤/هفته دوم آذر ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱

بررسی اثر لیپوپلی‌ساکارید در ایجاد التهاب و بروز آلزایمر در مغز موش‌های نر صحرایی نژاد ویستار

مرتضی نظری سرنجه[۱]، دکتر شهربانو عریان[۲]، دکتر کیانا شاهزمانی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در این مطالعه، اثر یک بار تزریق درون صفاقی لیپوپلی‌ساکارید (LPS یا Lipopolysaccharide) در ایجاد التهاب با افزایش سطح عوامل التهابی IL-1β (Interleukin-1 beta) و TNF-α (Tumor necrosis factor alpha) در هیپوکمپ موش صحرایی (Rat) و نیز اثر آن بر مرگ سلولی با استفاده از رنگ‌آمیزی بافتی در ساعت‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید بررسی شد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عفونت باکتریایی (از طریق لیپوپلی‌ساکارید) در ایجاد التهاب هیپوکمپ منجر به اختلال شناختی و نیز جایگزینی آن به جای Aβ (Amyloid-beta) و STZ (Streptozotocin) برای ایجاد رت‌های مدل آلزایمر بود که مرگ و میر فراوانی را در زمان اجرای آزمایش موجب می‌شود.

روش‌ها: در این مطالعه، به بررسی اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی‌ساکارید در بروز التهاب در سلول‌های عصبی ناحیه‌ی هیپوکمپ با اندازه‌گیری سطح عوامل التهابی IL-1β و TNF-α با استفاده از روش Western blot و نیز بررسی مرگ سلولی با انجام رنگ‌آمیزی بافتی H&E (Hematoxylin and eosin) به صورت وابسته به زمان در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار ۲۵۰–۲۳۰ گرمی پرداخته شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار ImageJ و آزمون ANOVA مورد تحلیل قرار گرفت. سایر فاکتورهای التهابی احتمالی درگیر در آزمایش به دلیل عدم وجود امکانات لازم، بررسی نشد.

یافته‌ها: مقدار پروتئین‌های التهابی IL-1β و TNF-α به صورت وابسته به زمان نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. همچنین، نتیجه‌ی رنگ‌آمیزی بافتی مرگ سلولی را تأیید نمود؛ نتایج به دست آمده، معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: لیپوپلی‌ساکارید، به دلیل داشتن توانایی عبور از سد خونی– مغزی (BBB یا Blood-brain barrier) موجب بروز التهاب و مرگ سلول‌های نورونی در ناحیه‌ی هیپوکمپ مغز موش‌های نر صحرایی نژاد ویستار به صورت وابسته به زمان می‌شود که این فرایند شروع آپوپتوز در این سلول‌ها و بروز آلزایمر را به دنبال دارد.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، التهاب، لیپوپلی‌ساکارید

ارجاع: نظری سرنجه مرتضی، عریان شهربانو، شاهزمانی کیانا. **بررسی اثر لیپوپلی‌ساکارید در ایجاد التهاب و بروز آلزایمر در مغز موش‌های نر صحرایی نژاد ویستار.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۴): ۱۷۰۹–۱۷۰۱

مقدمه

بیماری آلزایمر با تحلیل مغز به ویژه در ناحیه‌ی هیپوکمپ و قسمت قاعده‌ای پیشانی، همراه است. بارزترین مشخصه‌ی این بیماری، تخریب نورون‌های کولینرژیک در هیپوکمپ و کورتکس پیشانی می‌باشد و به نظر می‌رسد که این تخریب، عامل اصلی کاهش

۱- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی زیست‌شناسی،دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲- استاد، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: : مرتضی نظری سرنجه
Email: mortezanazariserenjeh@gmail.com

شناختی و از دست دادن حافظه‌ی کوتاه مدت در بیماری آلزایمر باشد (۱). مغز بیماران مبتلا به آلزایمر، دارای مشخصاتی است که عبارت از ناهنجاری‌هایی در اسکلت سلولی نورون‌ها و ایجاد دسته‌های نوروفیبریلاری (NFT یا Neurofibrillary tangles) و همچنین رسوب‌های آمیلوئیدی و تشکیل پلاک‌های پیری (Senile) می‌باشند (۲).

سلول‌های نورونی متأثر از بیماری آلزایمر، در نهایت می‌میرند. مرگ این سلول‌ها، منجر به از بین رفتن ورودی‌های سیناپسی در مناطقی از مغز می‌شود که برای عملکرد طبیعی شناخت و حافظه ضروری می‌باشند (۳).

یکی از مشکلات موجود در زمینه‌ی مطالعه بر روی بیماری آلزایمر، تهیه‌ی حیوانات مدل مبتلا به آلزایمر می‌باشد. امروزه، به منظور فراهم کردن مدل آلزایمر، از موش‌های صحرایی (Rat) استفاده می‌شود که آمیلوئید بتا و یا استرپتوزوتوسین به طور مستقیم به داخل ناحیه‌ی هیپوکمپ آن‌ها تزریق می‌گردد. متأسفانه در این حالت، انجام جراحی رت مشکل بوده و نیز مرگ حیوان به وفور رخ می‌دهد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر لیپوپلی‌ساکارید (LPS یا Lipopolysaccharide) در فراهم آوردن مرگ سلولی از طریق ایجاد التهاب و نیز ایجاد حیوان مدل آلزایمر با استفاده از تزریق لیپوپلی‌ساکارید به جای Aβ (Amyloid-beta) و STZ (Streptozotocin) بود.

التهاب در مغز، یک پاسخ دفاعی در مقابل آلودگی میکروبی است و در بروز رفتارهای بیمارگونه (۴) و آسیب بافتی نیز نقش دارد (۵). این تغییرات پاتولوژیک با بسیاری از اختلالات عصبی مثل تحلیل عصبی مرتبط هستند (۶). چندین محصول ژنی درگیر در پاسخ ایمنی اولیه، در گسترش پاسخ‌های التهابی همچون التهاب مغز مهم هستند (۷). برای مثال، کمپلکس CD14/TLR4 به عنوان یک گیرنده‌ی تشخیصی برای پاسخ به لیپوپلی‌ساکارید، شناخته شده است (۹-۸) که بروز پاسخ التهابی را به دنبال دارد.

Tanaka و همکاران نشان دادند که تزریق لیپوپلی‌ساکارید به داخل ناحیه‌ی CA1 هیپوکمپ، سبب افزایش میزان پروتئین Interleukin-1 beta (IL-1β) در ۲ ساعت بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید می‌شود. در این زمان، میزان پروتئین TNF-α (Tumor necrosis factor alpha) نیز به مقدار زیادی افزایش می‌یابد (۱۰).

مولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید مولکول‌های بزرگی هستند. این مولکول‌ها، در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شوند و پاسخ‌های ایمنی شدیدی را در حیوانات ایجاد می‌کنند. لیپوپلی‌ساکارید از سه جزء آنتی‌ژن O، اولیگوساکارید مرکزی و لیپید A تشکیل می‌شود. زمانی که باکتری توسط سیستم ایمنی لیز می‌شود، قطعاتی از غشای باکتری که حاوی لیپید A هستند، به گردش خون وارد شده و منجر به بروز التهاب می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد که التهاب در سیستم عصبی مرکزی، می‌تواند نقش اساسی در شکل‌گیری آلزایمر داشته باشد (۱۱).

زمانی که عوامل ایجاد کننده‌ی آلزایمر همچون تجمع آمیلوئید بتا و تجمع پروتئین‌های Tau به صورت هایپر فسفریله شکل می‌گیرد، سبب تحریک سلول‌های گلیال و آستروسیت‌ها می‌شود که این تحریک، خود باعث تولید سیتوکین‌های پیش التهابی شامل TNF، اینترلوکین ۱ بتا، اینترلوکین ۶ و پروتئین‌های التهابی مانند CRP

(C-reactive protein) می‌شود و از سویی دیگر، عوامل پیش التهابی و سیتوکین‌ها سبب ایجاد پروتئین‌های آمیلوئید بتا و همچنین تجمع پروتئین‌های Tau به صورت هایپرفسفریله و همچنین تخریب نورون‌ها می‌شود (۱۳-۱۲)؛ که نتیجه‌ی آن بروز اختلال شناختی است.

روش‌ها

در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم و تحت مقررات نگهداری و کار تحقیقاتی با حیوانات آزمایشگاهی (با حرارت کنترل شده ۲ ± ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی) قرار داشتند و آب و غذای مخصوص حیوان (Pellet) همواره به میزان کافی فراهم بود.

مواد و لوازم جهت انجام مراحل مختلف تحقیق

الف- لیپوپلی‌ساکارید (Sigma Aldrich, USA)

ب- لوازم مورد نیاز جهت جداسازی هیپوکمپ و انجام Western blot که شرح جزییات آن در مطالعات پیشین آمده است (۱۹).

ج- مواد و لوازم مورد نیاز جهت رنگ‌آمیزی بافتی: برای رنگ‌آمیزی، لازم است که ابتدا بافت مغز توسط محلول فرمالین ۴ درصد تثبیت شود و سپس در پارافین قالب‌گیری گردد و به مدت چند ساعت در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شود. بعد از برش‌گیری، با استفاده از رنگ‌های H&E (Hematoxylin and eosin) رنگ‌آمیزی انجام می‌شود.

د- استخراج پروتئین از بافت هیپوکمپ: در این مرحله، بعد از گردن زدن حیوان، مغز استخراج گردید و با دقت کامل، بافت هیپوکمپ بر اساس اطلس Paxinos Watson خارج شد. بافت هیپوکمپ با استفاده از محلول مربوط، لیز و در دستگاه هموژنایزر (همگون کننده) هموژن گردید تا پروتیین بافت به طور کامل در دسترس قرار گیرد. غلظت محلول پروتئینی حاصل، به روش بردفورد (Bradford) یکدست و برای انجام Western blot آماده شد (۱۹).

کلیه‌ی جمعیت مورد بررسی، به دو گروه اصلی بررسی‌های مولکولی و رنگ‌آمیزی بافتی تقسیم شد. گروه‌هایی که برای آزمایش‌های مولکولی شامل ۶ گروه شاهد و ۵ گروه دیگر شامل گروه‌هایی بودند که ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت بعد از یک بار تزریق درون صفاقی لیپوپلی‌ساکارید بررسی شدند. گروه شاهد مقدار ۲۰۰ میکرولیتر بر کیلوگرم سالین و گروه‌های دیگر مقدار ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از لیپوپلی‌ساکارید را در ۲۰۰ میکرولیتر از سالین دریافت کردند.

به منظور آنالیز و Densitometry اسکن عکس‌های Western blot، از نرم‌افزار ImageJ استفاده شد. تمام داده‌ها میانگین ۳ مرتبه تکرار مستقل از هم، هر مرتبه ۳ بار آزمایش بودند. تمام یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ثبت شدند. از آزمون ANOVA جهت تحلیل داده‌ها استفاده شد. $P < ۰/۰۰۱$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

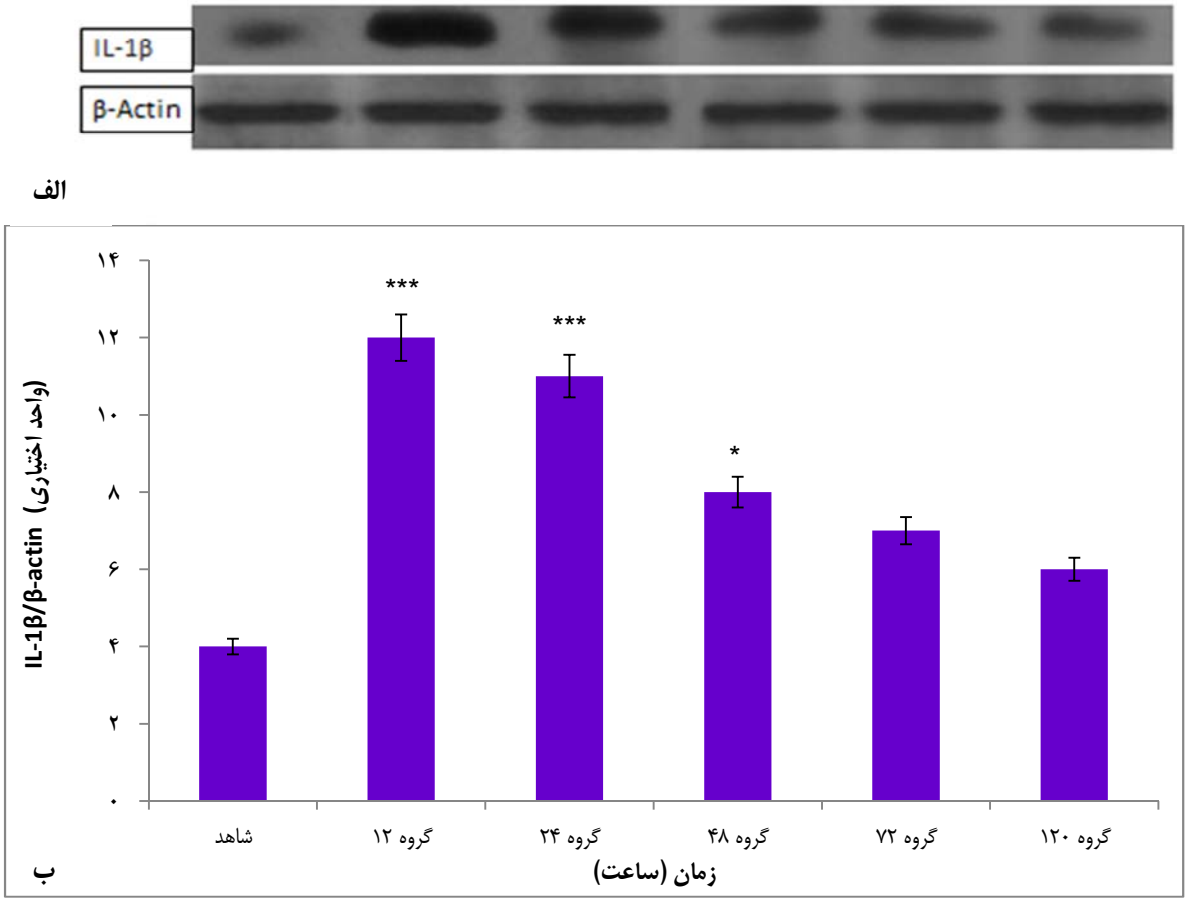
سه یافته‌ی اصلی از مجموع مشاهدات این مطالعه حاصل شد:

۱- لیپوپلی‌ساکارید موجب بروز التهاب در سلول‌های عصبی ناحیه‌ی هیپوکمپ می‌شود.

بعد از گذشت ۱۲ ساعت از تزریق لیپوپلی‌ساکارید به حیوان، سطح عوامل التهابی IL-1β و TNF-α در هیپوکمپ به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. در ساعت ۲۴ نیز سطح این عوامل بالا بود و بعد از آن، با شیبی ملایم سطح آن‌ها کاهش یافت، اما با وجود این کاهش باز هم سطح آن‌ها نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (شکل ۱). کیفیت تصاویر مورد بازبینی قرار گرفت.

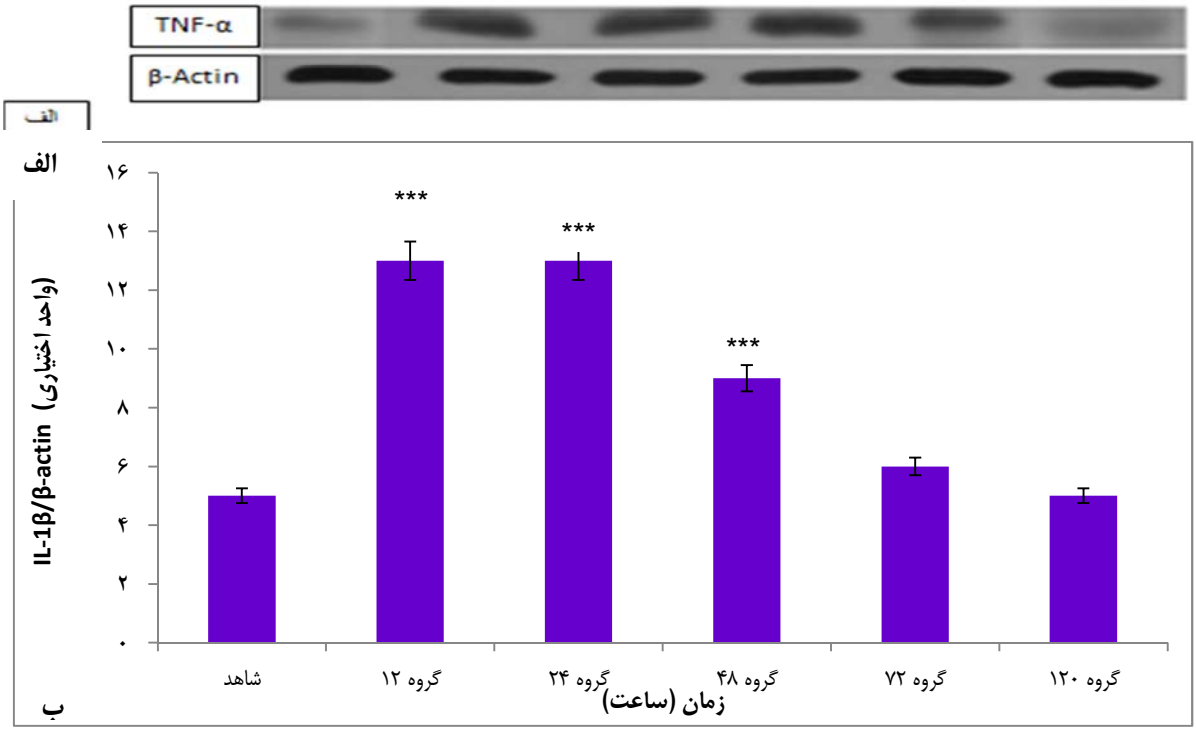
۲- اندازه‌گیری متوالی وزن بدن حیوان، روند کاهشی را نشان می‌دهد.

به منظور نشان دادن اثر لیپوپلی‌ساکارید بر روی وزن حیوان، در چند روز متوالی بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید با استفاده از ترازوی مخصوص وزن کردن حیوان در حیوانخانه، وزن حیوانات اندازه‌گیری و ثبت شد. نتایج نشان داد که وزن حیوانات در این مدت روند کاهشی را نشان می‌دهد که شاید به دلیل التهاب در سیستم عصبی مرکزی و کاهش رفتار کسب غذا در حیوان باشد (شکل ۳).



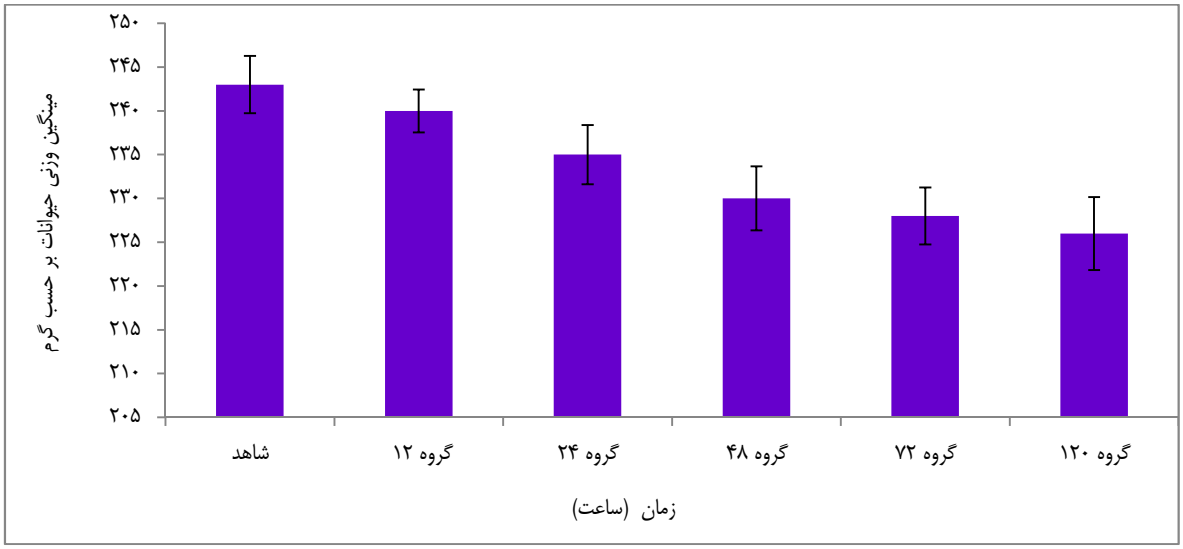
شکل ۱. اثر لیپوپلی‌ساکارید بر تغییرات سطح Interleukin-1 beta (IL-1β) در یک روند وابسته به زمان

الف) نتایج Western blot، ب) آنالیز کمی داده‌ها. موش‌های تیمار شده با لیپوپلی‌ساکارید در زمان‌های مورد نظر کشته شدند و هیپوکمپ آن‌ها جهت Western blot استخراج شد و مقدار ۶۰ میکروگرم از پروتئین‌ها در این روش، بر روی SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) جدا شد و در معرض آنتی‌بادی‌های ضد IL-1β و β-actin قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است (۳ مرتبه تکرار مستقل از هم، هر مرتبه ۳ بار آزمایش). $P^{***} < ۰/۰۰۱$ و $P^{*} < ۰/۰۵۰$ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد.



شکل ۲. اثر لیپوپلی‌ساکارید بر روند تغییرات سطح Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)

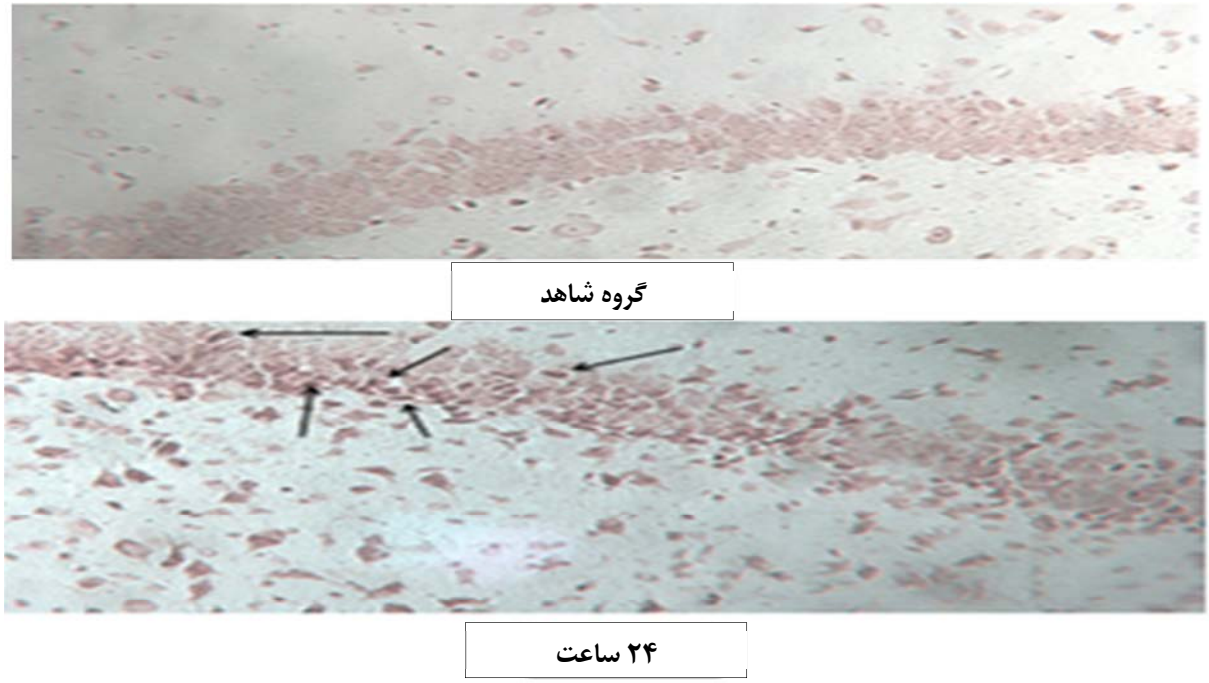
الف) نتایج Western blot، ب)آنالیز کمی داده‌ها. این شکل نشان دهنده‌ی اثر لیپوپلی‌ساکارید بر تغییرات عامل نکروز دهنده‌ی تومور است.۶۰ میکروگرم از پروتئین جدا شد و در Western blot مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است (۳ مرتبه تکرار مستقل از هم، هر مرتبه ۳ بار آزمایش). ۰/۰۰۱ > P*** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد.



شکل ۳. تغییرات میانگین وزنی حیوانات در زمان‌های مورد نظ.

نمودار به دست آمده در این بررسی، نشان دهنده‌ی کاهش وزن حیوانات در مدت زمان بررسی شده است. نتایج به صورت میانگین وزنی حیوانات نشان داده شده‌اند.

۳- رنگ‌آمیزی بافتی H&E مرگ سلولی را تأیید می‌کند. نتایج به دست آمده، که در شکل ۴ قابل مشاهده است، بروز مرگ سلولی را در ساعت ۲۴ بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید تأیید می‌کند.



شکل ۴. رنگ‌آمیزی Hematoxylin and eosin (H&E)

این نتایج تخریب گسترده‌ی سلولی را بعد از گذشت ۲۴ ساعت از یک بار تزریق درون صفاقی لیپوپلی‌ساکارید در ناحیه‌ی CA1 هیپوکمپ، نشان می‌دهد (۴۰۰*).

بحث

لیپوپلی‌ساکارید یک اندوتوکسین باکتریایی است که سبب فعال شدن میکروگلیاها می‌شود که نتیجه‌ی آن، آزاد شدن سیتوکین‌های التهابی از قبیل IL-1β و عامل نکروز دهنده‌ی تومور TNF-α می‌باشد (۱۴). فعال شدن میکروگلیاها در طول پیشرفت بیماری‌های تحلیل عصبی، همچون بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون مشاهده شده است (۱۶-۱۵).

لیپوپلی‌ساکارید به پروتئین گیرنده‌ی در حال گردش لیپوپلی‌ساکارید (LPS binding protein) متصل می‌شود که این گیرنده، در نهایت لیپوپلی‌ساکارید را به نشانگر سطح سلولی میکروگلیاها یعنی CD14 منتقل می‌کند (۱۷). اتصال لیپوپلی‌ساکارید به کمپلکس گیرنده‌اش، سبب فعال شدن عامل هسته‌ای kappa B (NF-kB) یا Nuclear factor kappaB)، که یک عامل رونویسی است، می‌شود که این عامل رونویسی، می‌تواند سبب افزایش شدید در تولید و آزادسازی سیتوکین‌های التهابی مثل IL-1β و TNF-α شود (۱۸).

یکی از چندین فعالیت لیپوپلی‌ساکارید روی مغز، فعال شدن JNK (c-Jun N-terminal kinases) از طریق فسفریلاسیون آن به دنبال اتصال اینترلوکین ۱ بتا به گیرنده‌اش می‌باشد (۱۹).

مطالعات نشان داده است که فعال شدن JNK با تغییرات تحلیلی در سلول‌های هیپوکمپ همراه است (۲۱).

JNK موجب فعال شدن عامل رونویسی C-jun می‌شود که در نهایت می‌تواند Caspase-۳ را که با استرس و مرگ سلولی مرتبط است، فعال کند (۲۳). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون

صفاقی لیپوپلی‌ساکارید موجب افزایش معنی‌دار سطح عوامل التهابی شامل IL-1β و TNF-α در یک روند وابسته به زمان در سلول‌های عصبی ناحیه‌ی هیپوکمپ می‌شود. افزایش سطح این عوامل، از ۱۲ ساعت بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید قابل شناسایی می‌باشد. احتمال می‌رود در زمان‌های قبل از این زمان، این اتفاق قابل شناسایی نباشد؛ چرا که لیپوپلی‌ساکارید برای عبور از سد خونی- مغزی نیازمند مدتی زمان است. اما آن چه را که با قاطعیت می‌توان گفت، این است که تزریق درون صفاقی لیپوپلی‌ساکارید موجب بروز التهاب در هیپوکمپ می‌شود و این التهاب، حداقل تا زمانی که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفته است، در یک سطح بالا قرار دارد.

از نتایج دیگر، بروز التهاب و کاهش وزن حیوان به دنبال تزریق لیپوپلی‌ساکارید می‌باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان دهنده‌ی این است که کاهش وزن در حیوانات در روزهای اولیه‌ی بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید، شدت بیشتری نسبت به روزهای پایانی دارد و از شیب بیشتری برخوردار است؛ چرا که مقدار وزنی که حیوان در مدت ۲۴ ساعت اولیه بعد از تزریق لیپوپلی‌ساکارید از دست داده است، به طور تقریبی معادل با مقدار وزنی است که در ۴ روز بعد از دست داده است. البته با قاطعیت نمی‌توان گفت که این کاهش، به دلیل از دست دادن وزن می باشد؛ چون موش‌ها بعد از دریافت لیپوپلی‌ساکارید یک رفتار گوشه‌گیرانه و انزواطلبانه را نشان می‌دهند و این احتمال وجود دارد که کاهش وزن به دلیل کاهش تمایل حیوانات برای صرف غذا رخ داده باشد و این احتمال از قوت بیشتری برخوردار است.

همچنین، از دیگر نتایجی که حاصل شد، نشان دادن مرگ سلولی بود که از ساعت ۲۴ به بعد، با رنگ‌آمیزی بافتی H&E قابل شناسایی بود. مرگ سلولی دیده شده به خاطر فعال شدن عوامل آپوپتوزی در این سلول‌ها می‌باشد که در مطالعات قبل نیز در بررسی‌های آزمایشگاهی مشاهده و گزارش شده بود (۲۳).

رنگ‌آمیزی بافتی انجام شده، تنها برای تأیید نتایج مشاهده شده در آزمایش‌ها بود؛ بنا بر این در رنگ‌آمیزی، روند وابسته به زمان در نظر نبود و به دلیل مثبت بودن نتیجه، رنگ‌آمیزی بافتی در ساعات بعدی صورت نگرفت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در دانشگاه خوارزمی تهران و با حمایت مالی این دانشگاه انجام گرفت. بدین وسیله از تمامی افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

References

1. Mufson EJ, Counts SE, Perez SE, Ginsberg SD. Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications. Expert Rev Neurother 2008; 8(11): 1703-18.
2. Selkoe DJ. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. Nature 1999; 399(Suppl): A23-A31.
3. Kandel E, Schwartz J, Jessell T. Principles of neural science. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical; 2000.
4. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. Eur J Pharmacol 2004; 500(1-3): 399-411.
5. Allan SM, Tyrrell PJ, Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. Nat Rev Immunol 2005;

5(8): 629-40.
6. McGeer EG, McGeer PL. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2003; 27(5): 741-9.
7. Rivest S. Molecular insights on the cerebral innate immune system. Brain Behav Immun 2003; 17(1): 13-9.
8. Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. Immunity 1999; 11(4): 443-51.
9. Hoebe K, Janssen E, Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity. Nat Immunol 2004; 5(10): 971-4.
10. Tanaka S, Ide M, Shibutani T, Ohtaki H, Numazawa S, Shioda S, et al. Lipopolysaccharide-induced microglial activation induces learning and memory deficits without neuronal cell death in rats. J Neurosci Res 2006; 83(4): 557-66.
11. Breitner JC, Gau BA, Welsh KA, Plassman BL, McDonald WM, Helms MJ, et al. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. Neurology 1994; 44(2): 227-32.
12. Breitner JC, Welsh KA, Helms MJ, Gaskell PC, Gau BA, Roses AD, et al. Delayed onset of Alzheimer's disease with nonsteroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. Neurobiol Aging 1995; 16(4): 523-30.
13. Sun WH, Chen GS, Ou XL, Yang Y, Luo C, Zhang Y, et al. Inhibition of COX-2 and activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma synergistically inhibits proliferation and induces apoptosis of human pancreatic carcinoma cells. Cancer Lett 2009; 275(2): 247-55.
14. Quan N, Sundar SK, Weiss JM. Induction of interleukin-1 in various brain regions after peripheral and central injections of lipopolysaccharide. J Neuroimmunol 1994; 49(1-2): 125-34.
15. McGeer EG, McGeer PL. The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease. Exp Gerontol 1998; 33(5): 371-8.
16. Dickson DW, Lee SC, Mattiace LA, Yen SH, Brosnan C. Microglia and cytokines in neurological disease, with special reference to AIDS and Alzheimer's disease. Glia 1993; 7(1): 75-83.
17. Heumann D, Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria. Clin Chim Acta 2002; 323(1-2): 59-72.
18. Quan N1, He L, Lai W, Shen T, Herkenham M. Induction of IkappaBalpha mRNA expression in the brain by glucocorticoids: a negative feedback mechanism for immune-to-brain signaling. J Neurosci. 2000; 20(17): 6473-7.
19. Cakala M, Malik AR, Strosznajder JB. Inhibitor of cyclooxygenase-2 protects against amyloid beta peptide-evoked memory impairment in mice. Pharmacol Rep 2007; 59(2): 164-72.
20. Oryan Sh, Nazari-Serenjeh M, Bagherpoor-Zarchi M, Khodagholi F, Nabiuni M, Shahzamani K. Effect of intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) on apoptosis, memory and Alzheimer's disease processes in the hippocampus of male wistar rats in a time-dependent manner. J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 650-9. [In Persian].
21. Loscher CE, Donnelly S, Mills KH, Lynch MA. Interleukin-1beta-dependent changes in the hippocampus following parenteral immunization with a whole cell pertussis vaccine. J Neuroimmunol 2000; 111(1-2): 68-76.
22. Lonergan PE, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Neuroprotective actions of eicosapentaenoic acid on lipopolysaccharide-induced dysfunction in rat hippocampus. J Neurochem 2004; 91(1): 20-9.
23. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. Pharmacol Ther 2001; 92(1): 57-70.

Journal of Isfahan Medical School Received: 11.12.2015

Vol. 33, No. 354, 2nd Week, December 2015 Accepted: 23.10.2015

Effect of Lipopolysaccharide in Inflammation of the Brain and Induction of Alzheimer's Disease in Male Wistar Rat

Morteza Nazari-Serenjeh MSc[1], Sharbanoo Oryan PhD[2], Kiana Shahzamani PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Alzheimer's disease is a disease of the nerve cells that is associated with neurodegeneration; including the weakening of nerve cells, as the cells show inflammatory activities. In this research, the effects of lipopolysaccharide (LPS) in inflammation in the rat hippocampus, as well as its effect on cell death were studied.

Methods: The effects of intraperitoneal injection of lipopolysaccharide in the development of inflammation in the nerve cells in the hippocampus of Wistar rats with the weight of 230-250 g was assessed via measuring the levels of inflammatory factors [interleukin-1 beta (IL-1β) and tumor necrosis factor alpha (TNF-α)] using Western blot analysis. The study of cell death was done using Hematoxylin and Eosin staining (H&E) in a time-dependent manner at 12, 24, 48, 72 and 120 hours after the injection.

Findings: The amounts of inflammatory proteins, IL-1β and TNF-α, increased time-dependently as compared to the control group. The stained tissue confirmed the cell death. All the results were significant at the level of $P < 0.001$.

Conclusion: Lipopolysaccharide causes inflammation and neuronal cell death in the hippocampus in the brain of male Wistar rats; which is a time-dependent apoptosis in these cells and induces development of Alzheimer's process, then.

Keywords: Alzheimer's disease, Inflammation, Lipopolysaccharide

Citation: Nazari-Serenjeh M, Oryan Sh, Shahzamani K. **Effect of Lipopolysaccharide in Inflammation of the Brain and Induction of Alzheimer's Disease in Male Wistar Rat.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(354): 1701-9

1- Department of Animal Physiology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Animal Physiology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran
Corresponding Author: Morteza Nazari-Serenjeh MSc, Email: mortezanazariserenjeh@gmail.com