مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۱۸۲/هفته چهارم اردیبهشت ماه ۱۳۹۱
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۵

ارزیابی تأثیر دکاپپتیل بر مورفولوژی و تعداد نورون‌های هرمی هیپوکامپ موش‌های شیمی درمانی شده با سیکلوفسفامید

افسانه نیاکانی[۱]، دکتر فرح فرخی[۲]، دکتر امیر توکمه‌چی[۳]

چکیده

مقدمه: هورمون گنادوتروپین (GnRH یا Gonadotropin release hormone) اولین هورمون کلیدی تولید مثل است. امروزه از آنالوگ‌های GnRH به طور گسترده‌ای در لقاح آزمایشگاهی و درمان سرطان‌های وابسته به هورمون‌های جنسی ناشی از مواد شیمی درمانی استفاده می‌شود. به همین منظور در تحقیق حاضر تأثیر دکاپپتیل که یک آنالوگ GnRH است، بر نورون‌های ناحیه‌ی هیپوکامپ موش سوری نر بررسی شد.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر از ۲۴ سر موش سوری نر با وزن متوسط ۵ ± ۳۰ گرم پس از سازش با شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. موش‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. تیمار اول سیکلوفسفامید با دوز ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و تیمار دوم دکاپپتیل با دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. در موش‌های تیمار سوم ابتدا دکاپپتیل و پس از ۱۰ روز سیکلوفسفامید با همان دوزها به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی استریل به روش مشابه تزریق گردید. یک ماه پس از تزریق، همه‌ی موش‌ها به روش آسان‌کشی، کشته شدند و سپس مغز و ناحیه‌ی هیپوکمپ آن‌ها جدا گردید و پس از تثبیت در فرمالین، از آن‌ها مقاطع بافتی تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلن و ائوزین و پاس با میکروسکوپ نوری ساختمان بافتی هیپوکامپ مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: نورون‌های ناحیه‌های DG (Dentate Gyrus)، CA1 و CA3 در ناحیه‌ی هیپوکمپ موش‌ها دچار تغییرات بافتی شد. در موش‌های شیمی درمانی شده بیش از ۶۰ درصد نورون‌های ناحیه‌های DG، CA3 و CA1 دچار نکروز شده بودند، در حالی که در موش‌های تیمار شده با دکاپپتیل نکروز نورون‌ها کمتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که دکاپپتیل ضد آسیب نورونی ناحیه‌ی هیپوکمپ در حیوانات شیمی درمانی شده اثر محافظتی دارد.

واژگان کلیدی: موش سوری، سیکلوفسفامید، دکاپپتیل، شیمی درمانی، نورون‌های هیپوکامپ

مقدمه

هورمون آزاد کننده‌ی گنادوتروپین (GnRH یا Gonadotropin release hormone)، که به عنوان هورمون محرک جسم زرد (LH stimulating hormone) شناخته شده است، دکاپپتیدی است که در هیپوتالاموس تولید می‌شود. این هورمون توسط سیستم پورتال هیپوتالاموس- هیپوفیز به هیپوفیز قدامی آزاد می شود و آزادسازی هر دو هورمون LH (Luteinizing hormone) و FSH (Follicular stimulating hormone) را تعدیل می‌کند. این هورمون تحت یک الگوی پالسی ترشح می‌گردد و در واقع یک ریتم پریودیک وجود دارد که با مقادیر بالا در ساعات صبح و مقادیر پایین در عصر و غروب همراه است. دکاپپتیل (Triptorelin) یک آگونیست GnRH است که از LHRH (Luteinizing hormone-releasing hormone) آندروژن، توسط جانشینی D-تریپتوفان در موقعیت ۶

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۲] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۳] استادیار، گروه پاتوبیولوژی، پژوهشکده‌ی آرتمیا و جانوران آب‌زی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: افسانه نیاکانی
Email: a_nikani@yahoo.com

www.mui.ac.ir

رشته ی پپتیدی تمایز می‌یابد و در نتیجه سبب افزایش فعالیت بیولوژیک آن می‌گردد. دکاپپتیل نسبت به LHRH تمایل بیشتری برای باند شدن به گیرنده دارد. همچنین مقاومت آن در مقابل متابولیسم آنزیمی بیشتر است و در نتیجه سبب طولانی شدن نیمه عمر پلاسمایی آن می‌شود. امروزه، آنالوگ‌های GnRH به طور فزاینده‌ای در اختلالات متعدد مانند بلوغ زودرس، اندومتریوز، لئومیومای رحمی، سرطان پروستات و سایر سرطان‌های وابسته به هورمون مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ چرا که اثر مهارکننده‌ی اساسی بر محور گنادال- هیپوهیز دارند (۱).

داروی سیکلوفسفامید نیز یک داروی ضد سرطان است که موجب آلکیله شدن مولکول DNA می‌گردد. این دارو به خوبی از دستگاه گوارش جذب می شود و به طور گسترده‌ای در بافت‌ها و مایعات بدن توزیع می‌گردد و از سد خونی- مغزی نیز می‌گذرد. این دارو در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شود و سرانجام از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (۲).

داروی سیکلوفسفامید با ایجاد اتصال بین دو رشته‌ی ملکولی DNA و شکستن DNA، RNA و همچنین مهار سنتز پروتئین اثر سلول‌کشی خود را اعمال می‌کند. این دارو با خاصیت آلکیله کنندگی خود ملکول‌های واکنشی تشکیل می‌دهد و گروه نوکلئوفیلیک روی بازوی DNA به ویژه موقعیت نیتروژن شماره ی ۷ گوانیل را آلکیله می‌کند. این مسأله سبب ایجاد پیوندهای جانبی میان بازوها و جفت شدن غیر طبیعی بازوها و شکسته شدن DNA می‌شود (۳).

کاربرد اصلی سیکلوفسفامید همراه با سایر داروها در درمان لنفوم، برخی از اشکال سرطان خون (۴) و برخی از تومورهای جامد (۵) است که موجب کاهش و یا متوقف شدن رشد سلول می‌گردد، اما دارای عوارض جانبی بر بافت‌ها و اندام‌های بدن است. از مهم‌ترین عوارض جانبی دارو کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسید اوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آزواسپرمی، الیگواسپرمی، اثر بر هیپوکامپ و عملکرد آن می‌باشد. برای کاهش اثرات این دارو از داروهای دیگری مانند دکاپپتیل استفاده می‌شود. دکاپپتیل با تحریک پایدار هیپوفیز باعث کاهش ترشح LH و FSH از هیپوفیز می‌شود. همانند سایر آگونیست‌های GnRH دکاپپتیل هم ممکن است در درمان سرطان‌های هورمونی استفاده شود (۶). مدیریت موفقیت‌آمیز بسیاری از سرطان‌ها به طور عمده به وسیله‌ی درمان‌های تهاجمی به دست می‌آید.

شیمی درمانی نوعی درمان تهاجمی است که در آن بافت‌های طبیعی و ارگان‌ها در معرض خطر قرار می گیرند؛ اگر چه مغز توسط سد خونی- مغزی در مقابل برخی از درمان‌های سیستمیک محافظت می‌شود، اما مشخص شده است که بسیاری از عوامل شیمی درمانی قادر هستند توسط مکانیسم‌های مستقیم و یا غیر مستقیم بر عملکرد مغز تأثیر بگذارند (۷).

امروزه مطالعات بالینی زیادی پیرامون اثرات حاد داروهای شیمی درمانی بر عملکرد هیپوکامپ، حافظه و یادگیری در حال انجام است (۹-۸). همچنین گزارش شده است که شیمی درمانی در کوتاه مدت نه تنها باعث جراحت حاد به سلول‌های مولد می‌شود، بلکه می‌تواند سبب ایجاد آسیب در میلین نورون‌ها گردد (۷). با وجودی که اثرات تخریبی داروهای شیمی درمانی بر سایر ارگان‌های بدن مورد بررسی قرار گرفته است، ولی اطلاعاتی پیرامون اثرات دکاپپتیل بر تغییرات هیستوپاتولوژیک ناحیه‌ی

www.mui.ac.ir

هیپوکامپ پیدا نشد.

از آن جا که در شیمی درمانی از تعداد نورون‌های سالم هیپوکامپ به علت مرگ سلولی کم می‌شود؛ بنابراین در تحقیق حاضر، اثر دکاپپتیل (به عنوان آگونیست LHRH) بر مورفولوژی و تعداد نورون‌های هیپوکامپ موش‌های شیمی درمانی شده مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۲۴ سر موش سوری نر با وزن متوسط ۵ ± ۳۰ گرم از خانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی علوم دانشگاه ارومیه تهیه و در شرایط مناسب (درجه‌ی حرارت کنترل شده ۲ ± ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد، دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد) نگهداری شدند. پس از یک هفته سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، موش‌ها پس از توزین به طور تصادفی به سه گروه تجربی و یک گروه شاهد تقسیم شدند. موش‌های گروه اول ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن سیکلوفسفامید را به طریق داخل صفاقی (۹)، حیوانات گروه دوم دکاپپتیل را با دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۱۰) و موش‌های گروه سوم ده روز پس از تزریق دکاپپتیل، سیکلوفسفامید را به روش مشابه و تک دوز دریافت کردند. همچنین در گروه شاهد سرم فیزیولوژی استریل به روش مشابه و همان مقدار تزریق گردید.

یک ماه پس از شروع مطالعه جهت مطالعات بافت‌شناسی، موش‌ها با اتر بی‌هوش و پس از آسان‌کشی مغز آن‌ها از جمجمه خارج گردید و در محلول ثبوت (فرمالین ۱۰ درصد) قرار داده شد. بعد از تثبیت نمونه‌ها، مراحل تهیه ی مقاطع بافتی یعنی آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین انجام شد. سپس مقاطع بافتی به ضخامت ۶ میکرون تهیه شدند و بعد از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین (H & E) و PAS (پریودیک اسید شیفت) با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که با رنگ‌آمیزی پاس، نکروز نورونی (پیکنوزه شدن هسته ی نورون‌ها) به وضوح قابل رؤیت خواهد بود، به همین دلیل در این تحقیق از رنگ‌آمیزی اختصاصی پاس استفاده گردید. نورون‌های هرمی سالم و آسیب دیده در مناطق DG (Dentate Gyrus)، CA1 و CA3 هیپوکامپ با لنزهای مشبک در واحد میلی‌متر مربع شمارش و میانگین هر ناحیه در هر گروه محاسبه گردید.

از روش One way ANOVA، نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۵ (version 15, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون Tukey post hoc جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و داده‌ها بر حسب انحراف معیار ± میانگین بیان گردید. همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel (نسخه ی ۲۰۰۷) انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از شمارش نورون‌های ناحیه ی DG در گروه‌های تیمار نشان داد که میانگین نورون‌های سالم در گروه شیمی درمانی شده با سیکلوفسفامید، به طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود (شکل ۱).

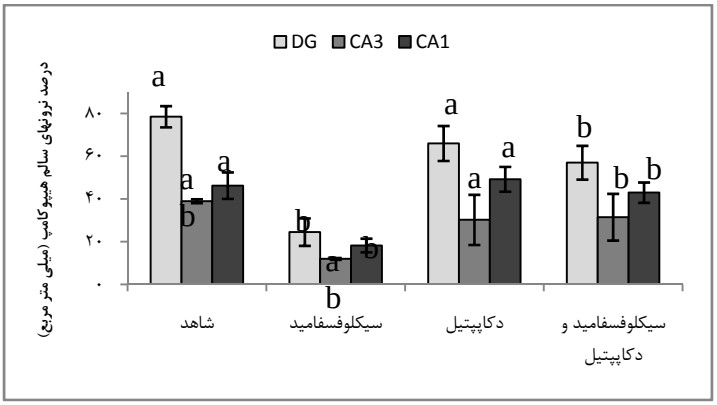
همچنین میزان نورون‌های نکروزه در گروه شیمی درمانی شده در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ی دکاپپتیل به طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۲). تعداد

نورون‌های سالم در گروه سوم که قبل از شیمی درمانی دکاپپتیل دریافت کرده بودند نسبت به گروه شیمی درمانی شده، به طور معنی‌داری بیشتر از بقیه بود.

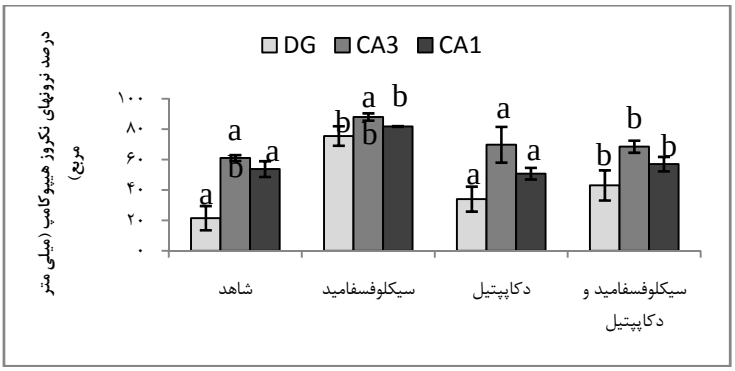
با مطالعه‌ی نورون‌های هرمی ناحیه‌ی CA1 مشاهده گردید که میانگین نورون‌های سالم در گروه شیمی درمانی شده تفاوت معنی‌دار با گروه و موش‌هایی که قبل از شیمی درمانی دکاپپتیل دریافت کرده بودند، داشت؛ در حالی که میانگین تعداد نورون‌های سالم این ناحیه در موش‌هایی که فقط دکاپپتیل دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند.

مطالعه و شمارش نورون‌های ناحیه ی CA3 نشان داد که میانگین نورون‌های سالم تنها در گروه دریافت کننده ی دکاپپتیل با گروه شیمی درمانی شده که ابتدا دکاپپتیل دریافت کرده بودند، اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۱).

نورون‌های نکروزه در ناحیه ی DG در گروه شاهد ۲۳ درصد، در گروه شیمی درمانی شده بیش از ۷۵ درصد، در گروه دکاپپتیل ۳۲ درصد و در گروهی که هر دو دارو را دریافت کرده بودند ۴۳ درصد بود که در مقایسه با گروه شیمی درمانی شده اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین تعداد نورون‌های سالم در هر میلی‌متر مربع در سه ناحیه‌ی DG، CA1و CA3 هیپوکامپ موش‌های سوری نر در گروه‌های شاهد، شیمی‌درمانی شده، دکاپپتیل و گروهی که هر دو را دریافت کرده است. گروه‌های هم رنگی که دارای حروف غیر مشابه هستند تفاوت معنی‌دار داشتند (داده‌ها بر حسب انحراف معیار ± میانگین بیان شده‌اند).



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین تعداد نورون‌های نکروزه در هر میلی‌متر مربع در سه ناحیه‌ی DG، CA1 و CA3 هیپوکامپ موش‌های سوری نر در گروه‌های شاهد، شیمی درمانی شده، دکاپپتیل و گروهی که هر دو را دریافت کرده بودند. گروه‌های هم‌رنگی که دارای حروف غیر مشابه هستند تفاوت معنی‌دار دارند (داده‌ها بر حسب انحراف معیار ± میانگین بیان شده‌اند).

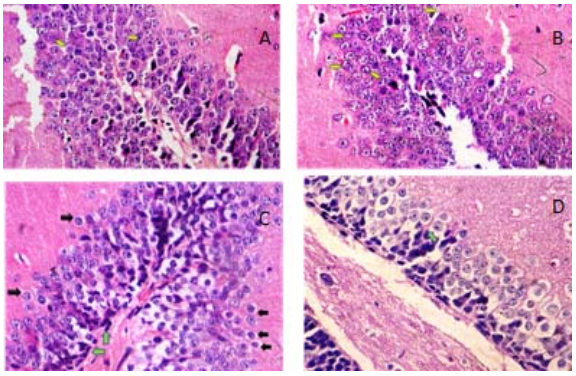
www.mui.ac.ir

با مطالعه‌ی نورون‌های نکروزه‌ی ناحیه‌ی CA1 مشخص گردید که در گروه شیمی درمانی شده بیش از ۸۱ درصد، در گروه دکاپپتیل بیش از ۵۰ درصد و موش‌هایی که هر دو دارو را دریافت کردند ۵۷ درصد بود که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شیمی درمانی شده نشان دادند. در ناحیه‌ی CA3 نیز، نتایج مشابهی به دست آمد (شکل ۲).

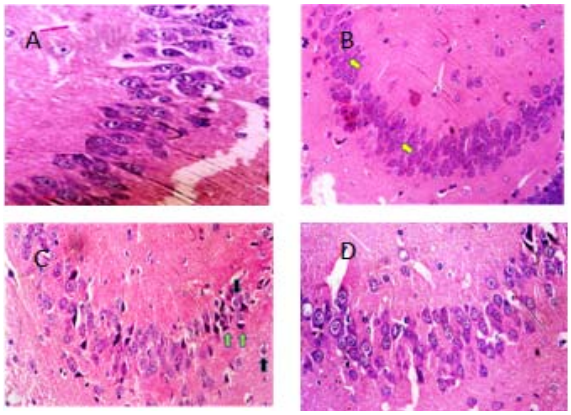
در بررسی هیستوپاتولوژیک هیپوکامپ گروه شاهد مشاهده گردید که در هر سه ناحیه‌ی CA1، CA3 و DG نورون‌های هرمی با هسته‌های گرد، هسته‌های برجسته و سیتوپلاسم واضح قابل مشاهده می‌باشند (تصاویر A در شکل‌های ۵-۳). در گروه شیمی درمانی (سیکلوفسفامید) هسته‌ها متراکم و کوچک‌تر (پیکنوزه) شده بودند (تصاویر B در شکل های ۵-۳). در گروه دکاپپتیل نورون‌ها مشابه گروه شاهد بودند و در بعضی نقاط تقسیم سلولی (نوروژنز) هم مشاهده شد (تصاویر C در شکل های ۵-۳). در گروهی که هر دو دارو را دریافت کرده بودند، مشخصات هسته‌ها دارای وضعیت بهتر بود و سیتوپلاسم تراکم کمتری داشت و تا حد مشابهی نورون‌های گروه شاهد سالم بودند (تصاویر D در شکل‌های ۵-۳).

بحث

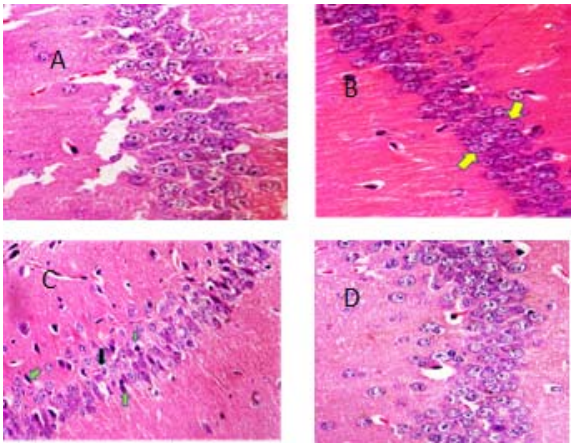
در مطالعه ی حاضر از دکاپپتیل به عنوان داروی آنالوگ GnRH استفاده شد. این دارو به طور عمده برای درمان سرطان پروستات، آندومتریوز و میوم رحم استفاده می‌شود. این فرم از دارو ابتدا در هفته‌ی اول و دوم باعث ترشح LH و FSH می‌شود، اما به تدریج در هفته‌های بعد به دلیل غیر حساس شدن گیرنده‌ی سلول‌های گنادوتروپ نسبت به آن‌ها، سبب مهار ترشح گنادوتروپین می‌شود. تحقیقات انجام گرفته نشان می‌دهد که تزریق آنالوگ GnRH نه تنها باعث کاهش گیرنده‌های GnRH هیپوفیز می‌شود، بلکه ساختار مولکولی گنادوتروپین ها را نیز تغییر می‌دهد (۱۱).



شکل ۳. مقاطع عرضی ناحیه‌ی DG بافت هیپوکامپ در گروه‌های شاهد، دکاپپتیل، سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل (به ترتیب تصاویر A، B، C و D). گروه‌های سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل نسبت به گروه شاهد تعدادی از نورون‌ها نکروزه شده‌اند، اما گروه دکاپپتیل مشابه گروه شاهد بود. تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل‌دار شده و نوروژنز می‌باشد (درشت‌نمایی ۴۰۰ × و رنگ‌آمیزی H & E).



شکل ۴. مقاطع عرضی ناحیه‌ی CA3 بافت هیپوکامپ در گروه‌های شاهد، دکاپپتیل، سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل (به ترتیب تصاویر A، B، C و D). گروه‌های سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل نسبت به گروه شاهد تعدادی از نورون‌ها نکروزه شده‌اند، اما گروه دکاپپتیل مشابه گروه شاهد بود. تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل‌دار شده و نوروژنز می‌باشد (درشت‌نمایی ۴۰۰ × و رنگ‌آمیزی H & E).



شکل ۵. مقاطع عرضی ناحیه‌ی CA1 بافت هیپوکامپ در گروه‌های شاهد، دکاپپتیل، سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل (به ترتیب تصاویر A، B، C و D). گروه‌های سیکلوفسفامید و سیکلوفسفامید با دکاپپتیل نسبت به گروه شاهد تعدادی از نورون‌ها نکروزه شده‌اند، اما گروه دکاپپتیل مشابه گروه شاهد بود. تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل‌دار شده و نوروژنز می‌باشد (درشت‌نمایی ۴۰۰ × و رنگ‌آمیزی H & E).

دکاپپتیل از آنالوگ‌های GnRH است که محل تأثیر آن غده‌ی هیپوفیز می‌باشد. غده‌ی هیپوفیز هورمون‌های مختلفی مانند هورمون‌های جنسی مانند LH و FSH تولید و ذخیره می‌کند. مقدار LH و FSH آزاد شده از غده‌ی هیپوفیز به وسیله‌ی هورمون دیگری به نام گنادورلین (LHRH) کنترل می‌شود که این هورمون در هیپوفیز دارای گیرنده است. دکاپپتیل هم فرم ترکیبی گنادورلین است که در غده‌ی هیپوفیز بر گیرنده‌های LHRH همانند گنادورلین طبیعی عمل می‌کند (۱۲). هورمون آزاد کننده‌ی گنادوتروپین (GnRH) که دکاپپتیل از آنالوگ‌های آن می‌باشد از هیپوتالاموس آزاد می‌شود و می‌تواند درون غده‌ی هیپوفیز و سایر محل‌های هیپوفیزی در مغز اثر کند (۱۳، ۳).

مطالعات نشان داده است که تراکم گیرنده‌های GnRH در نواحی از مغز شامل نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ بالا است (۱۵-۱۴، ۵، ۲). گذشته از این گیرنده‌های GnRH هیپوکامپ در کنترل رفتارهای جنسی از زمان ترشح GnRH به طور مرکزی یا محیطی پیوستگی عمل دارند، به خصوص تأثیر آن‌ها بر رفتارهای جنسی در موش‌های رت و پستانداران تحت شرایط مناسب گزارش شده است (۱۷-۱۶، ۱۴، ۳-۲). نتایج حاصل از این تحقیق هم نشان داد که دکاپپتیل تا حدی می‌تواند از آسیب نورون‌های هیپوکامپ در برابر داروهای شیمی درمانی جلوگیری کند. از آنالوگ‌های GnRH به عنوان داروهای شیمی درمانی استفاده می‌شود. اثرات تخریبی و محافظتی این داروها بر بافت‌ها و به خصوص نورون‌ها هنوز به طور کامل شناخته نشده است.

در مطالعات اخیر اثرات کاهش دهنده‌ی آپوپتوزی (مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی) نورون‌های هیپوکامپ به خصوص در ناحیه ی CA1 در رت بعد از آسیب‌های ناشی از ایسکمی به وسیله ی آنالوگ‌های GnRH گزارش شده است (۱۸). به تازگی محققین پی برده‌اند که رشد سلول‌های سرطانی تخمدان انسان، که LHRH ترشح می کنند، می تواند توسط آگونیست‌های LHRH مانند دکاپپتیل، بسته به غلظت و زمان تزریق، تحریک یا مهار شوند. در مقایسه با آگونیست‌های LHRH، آنتاگونیست‌های آن مانند سیکلوفسفامید (Cetrorelix) اثرات تحریکی ندارند، اما باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی تخمدان انسان می‌شوند (۱۹).

در این تحقیق نیز که در موش‌های سوری نر صورت گرفت، مشخص شد که سیکلوفسفامید با تخریب و نکروز نورون‌های ناحیه ی هیپوکامپ از تکثیر این سلول‌ها جلوگیری می‌کند. در مقابل دکاپپتیل نیز اثرات تخریبی و محافظتی در برابر تخریب‌های حاصل از سیکلوفسفامید نشان داد.

www.mui.ac.ir

همچنین از این داروها برای تولید تحریک نورونی در نورون‌های ناحیه‌های CA1 و CA3 هیپوکامپ موش‌های رت استفاده شده است (۲۰). در این مطالعه از آنتاگونیست و آگونیست LHRH استفاده شد تا اثرات این داروها بر نورون‌های ناحیه های CA1 و CA3 هیپوکامپ موش‌های نر مشخص شود. بر اساس یافته‌های موجود سیکلوفسفامید باعث تخریب نورون‌ها در این دو ناحیه گردید، اما دکاپپتیل هم تخریب نورونی داشت و هم توانست تا حدودی باعث کاهش اثرات تخریبی سیکلوفسفامید به خصوص در ناحیه‌ی CA1 شود.

Lagace و همکاران دریافتند که مصرف متیل فنیدیت در دوران نوجوانی سبب کاهش بقای نورون‌های جدید در هیپوکامپ بزرگسالان می‌شود، بدون این که تأثیری بر میزان تکثیر سلول‌ها داشته باشد. این پژوهشگران معتقد بودند که متیل فنیدیت از طریق آپوپتوز نورون‌های بالغ سبب کاهش بقا می‌گردد و نه نورون‌های در حال تکثیر (۲۱). در تأیید این تئوری باید خاطر نشان کرد که کاهش بقا بدون ایجاد تغییر در تکثیر، با افزایش آپوپتوز ارتباط دارد.

در مطالعه‌ی ما نیز با بررسی‌های هیستوپاتولوژیک با رنگ‌آمیزی اختصاصی پاس، در گروه دکاپپتیل با وجود این که در بعضی نقاط نکروز وجود داشت، اما نورونزایی مشاهده شد.

در حال حاضر مشخص شده است که تزریق آنالوگ GnRH نه تنها باعث کاهش گیرنده‌های GnRH هیپوفیز می‌شود، بلکه ساختار مولکولی گنادوتروپین‌ها را نیز تغییر می‌دهد (۱۰).

درمان هورمونی بیماری‌های بسیار پیشرفته در استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های GnRH دارای نتایج مهمی است (۲۲).

آگونیست‌های GnRH در ساختار و عملکرد مشابه GnRH طبیعی هستند، اما به اندازه ی ۶۰ برابر قوی‌تر از هورمون طبیعی عمل می‌کنند. داروهای آنتاگونیست تمایل به خنثی کردن عمل واسطه‌های آندروژنی از طریق اتصال به گیرنده‌های سلولی بدون دریافت پاسخ دارند. آنتاگونیست‌های خالص هیچ نوع فعالیتی در مکان آگونیست‌ها ندارند. سنتز گیرنده ی آنتاگونیست‌های هورمون‌های آزاد کننده‌ی گنادوتروپین، مشکلات بیشتری نسبت به سنتز گیرنده‌های آگونیست GnRH دارند (۱۱).

در مطالعه‌ی حاضر هم از آنالوگ‌های GnRH استفاده شد و سالم بودن نورون‌های ناحیه های DG، CA1 و CA3 در گروه تیمار شده با دکاپپتیل نشان دهنده‌ی آن است که دکاپپتیل نه تنها بر حافظه و نورون‌های ناحیه‌ی هیپوکامپ اثر منفی نداشت، بلکه اثر محافظی نیز داشت. البته هر یک از مکانیسم‌های ذکر شده در بالا جهت توجیه اثرات مشاهده شده در این مطالعه می‌باشد و اثبات تک تک آن‌ها نیازمند بررسی‌های بیشتر می‌باشد.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز دکاپپتیل سبب کاهش آسیب نورونی ایجاد شده توسط داروی شیمی درمانی سیکلو فسفامید می شود. به دلیل شروع بسیار سریع اثرات مهاری آنتاگونیست‌های LHRH، که شاید مزیت خاص آن‌ها بر آگونیست های LHRH باشد، از این داروها در درمان اختلالات جنسی وابسته به استرویید و برخی از تومورهای وابسته به هورمون و همچنین در روش لقاح خارج رحمی استفاده می‌شود. همچنین از آگونیست‌هایی مانند دکاپپتیل نیز همراه با آنتاگونیست‌ها (سیکلوفسفامید) استفاده

www.mui.ac.ir

می شود تا از اثرات تخریبی احتمالی بر روی بافت‌های دیگر کاسته شود.

در این تحقیق نیز اثرات حفاظتی دکاپپتیل در تخریب ناشی از استفاده از سیکلوفسفامید بر نورون‌های ناحیه‌ی هیپوکامپ موش‌های نر نشان داده شد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد با شماره‌ی ۱۰۳۸-۲ انجام شد و نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت‌های مالی دانشگاه ارومیه ابراز می‌دارند.

References

1. Jacobson JD. Gonadotropin-releasing hormone: potential role in autoimmunity. Int Immunopharmacol 2001; 1(6): 1077-83.
2. Sakuma Y, Pfaff DW. LH-RH in the mesencephalic central grey can potentiate lordosis reflex of female rats. Nature 1980; 283(5747): 566-7.
3. Jennes L, Eyigor O, Janovick JA, Conn PM. Brain gonadotropin releasing hormone receptors: localization and regulation. Recent Prog Horm Res 1997; 52: 475-90.
4. Shanafelt TD, Lin T, Geyer SM, Zent CS, Leung N, Kabat B, et al. Pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab regimen in older patients with chronic lymphocytic leukemia. Cancer 2007; 109(11): 2291-8.
5. Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ. Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. Endocr Rev 1994; 15(4): 462-99.
6. Lahlou N, Carel JC, Chaussain JL, Roger M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of GnRH agonists: clinical implications in pediatrics. J Pediatr Endocrinol Metab 2000; 13(Suppl 1): 723-37.
7. Meyers CA. How chemotherapy damages the central nervous system. J Biol 2008; 7(4): 11.
8. Winocur G, Vardy J, Binns MA, Kerr L, Tannock I. The effects of the anti-cancer drugs, methotrexate and 5-fluorouracil, on cognitive function in mice. Pharmacol Biochem Behav 2006; 85(1): 66-75.
9. Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. Hum Reprod 2004; 19(6): 1294-9.
10. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York, NY: McGraw hill; 2001.
11. Merchenthaler I, Gorcs T, Setalo G, Petrusz P, Flerko B. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons and pathways in the rat brain. Cell Tissue Res 1984; 237(1): 15-29.
12. British Medical Association, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. British National Formulary. Vol 59. Philadelphia, PA: Pharmaceutical Press; 2010.
13. Naor Z, Shacham S, Harris D, Seger R, Reiss N. Signal transduction of the gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor: cross-talk of calcium, protein kinase C (PKC), and arachidonic acid. Cell Mol Neurobiol 1995; 15(5): 527-44.
14. Leblanc P, Crumeyrolle M, Latouche J, Jordan D, Fillion G, L'Heritier A, et al. Characterization and distribution of receptors for gonadotropin-releasing hormone in the rat hippocampus. Neuroendocrinology 1988; 48(5): 482-8.
15. Jennes L, Brame B, Centers A, Janovick JA, Conn PM. Regulation of hippocampal gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor mRNA and GnRH-stimulated inositol phosphate production by gonadal steroid hormones. Brain Res Mol Brain Res 1995; 33(1): 104-10.
16. Reubi JC, Palacios JM, Maurer R. Specific luteinizing-hormone-releasing hormone receptor binding sites in hippocampus and pituitary: an autoradiographical study. Neuroscience 1987; 21(3): 847-56.
17. Moss RL, Foreman MM. Potentiation of lordosis behavior by intrahypothalamic infusion of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone. Neuroendocrinology 1976; 20(2): 176-81.
18. Chu C, Xu B, Huang W. GnRH analogue attenuated apoptosis of rat hippocampal neuron after ischemia-reperfusion injury. J Mol Histol 2010; 41(6): 387-93.
19. Arencibia JM, Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone as an autocrine growth factor in ES-2 ovarian cancer cell line. Int J Oncol 2000; 16(5): 1009-13.
20. Lu F, Yang JM, Wu JN, Chen YC, Kao YH, Tung CS, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone receptors produces neuronal

excitation in the rat hippocampus. Chin J Physiol 1999; 42(2): 67-71.
21. Lagace DC, Yee JK, Bolanos CA, Eisch AJ. Juvenile administration of methylphenidate attenuates adult hippocampal neurogenesis. Biol Psychiatry 2006; 60(10): 1121-30.
22. Molineaux CJ, Sluss PM, Bree MP, Gefter ML, Sullivan LM, Garnick MB. Suppression of plasma gonadotropins by Abarelix: A potent new LHRH antagonist. Mol Urol 1998; 2: 265-8.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 30, No 182, 4th week, May 2012 Received: 3.8.2011 Accepted: 25.1.2012

The Effects of Decapeptyl on Morphology and Quantity of Neurons in Hippocampus of Mice Treated with Cyclophosphamide

Afsaneh Niakani[1], Farah Farokhi PhD[2], Amir Tukmechi PhD[3]

Abstract

Background: Gonadotropin hormone (GnRH) is the first reproductive key hormone. Today, GnRH analogues are widely used in in-vitro fertilization and treatment of sex hormone-dependent cancers induced by the materials used in chemotherapy. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of Decapeptyl (an analogue of GnRH) on neurons of hippocampus area in male mice.

Methods: In this study, 24 male mice with a mean weight of 30 g were used. After the mice were adapted to the experimental conditions, they were divided into four groups. The first group was injected with intraperitoneal (ip) cyclophosphamide (65 mg/kg of body weight). The second group was injected with Decapeptyl (0.05 mg/kg of body weight). The third group was first treated with Decapeptyl for 10 days and then injected with ip cyclophosphamide with the same dose. In the control group, only sterile saline was injected using the same method. After a month, the mice were killed. The hippocampus area was separated from the brain and after being fixed in formalin 10%, tissue sections were prepared and stained with eosin, hematoxylin, and periodic acid-Schiff (PAS) for microscopic studies.

Findings: The results showed that DG, CA1, and CA3 areas of hippocampal neurons had some tissue changes. In mice that had received chemotherapy, more than 60% of the neurons in DG, CA1, and CA3 areas were necrotic, but there were a few neuronal necrotic in mice treated with Decapeptyl.

Conclusion: The results of this study suggested that Decapeptyl has a supporting effect on hippocampal neuronal (hippocampus area neurons) damage in animals that received chemotherapeutic agents.

Keywords: Mice, Cyclophosphamide, Decapeptyl, Chemotherapy, Hippocampal neurons

[1] MSc Student of Embryology and Histology, Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Pathobiology, Artemia and Aquatic Animals Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran
Corresponding Author: Afsaneh Niakani, Email: a_nikani@yahoo.com.