تعدیل سیستم ایمنی توسط اپی‌گالوکتکین‌گلیت در بخش ضایعه دیده نخاع موش صحرایی

*دکتر علیرضا خلعتبری(Ph.D.)[1]- دکتر حسن احمدوند(Ph.D.)[2]

*نویسنده مسئول: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی

پست الکترونیک:khalat90@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله:۸۹/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۲

چکیده

مقدمه: تحریک پاسخ‌های ایمنی پس از بروز ضایعه نخاعی، موجب آسیب ثانویه در همان بخش ضایعه دیده نخاع می‌شود.

هدف: بررسی پتانسیل خواص تعدیل‌کنندگی پاسخ‌های ایمنی توسط اپی‌گالوکتکین‌گلیت در ضایعات نخاعی موش صحرایی

مواد و روش‌ها: در این مطالعه سه گروه ۷تایی موش صحرایی نر بکار رفتند: گروه کنترل منفی(فقط لامینکتومی)، گروه کنترل مثبت (پس از ضایعه نخاعی، تزریق سرم فیزیولوژی) و گروه تجربی(پس از ضایعه نخاعی، تزریق داخل صفاقی اپی‌گالوکتکین‌گلیت به میزان ۵۰mg/kg). ۲۴ ساعت پس از ایجاد ضایعه، در بخش ضایعه دیده نخاع بررسی ایمونوهیستوشیمیایی آنتی‌ژن‌های CD4، TNF-α، IL-1β، iNOS و COX-2 صورت گرفت.

نتایج: تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت، موجب کاهش معنی‌دار بیان ایمونوهیستوشیمیایی شاخص‌های پاسخ ایمنی در بخش ضایعه دیده نخاع شد($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: اپی‌گالوکتکین‌گلیت به علت خاصیت تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی قادر است آسیب‌های ثانویه در بخش ضایعه دیده نخاع را کاهش دهد.

کلید واژه‌ها: آسیب‌های طناب نخاعی/ اپی‌گالوکتکین‌گلیت/ ایمونوهیستوشیمی/ موش صحرایی

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیستم شماره ۷۹، صفحات: ۷-۱

مقدمه

دو مکانیسم در شدت ضایعات ترومایی نخاع نقش دارد:۱- ضایعه مکانیکی اولیه، ۲-فرایند دژنراسیون ثانویه که مورد اخیر(آسیب ثانویه) خود ناشی از مجموعه واکنش‌های سلولی، مولکولی و بیوشیمی است که از جمله آنها می‌توان به تبادل یون کلسیم، پراکسیداسیون چربی ناشی از رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های التهابی، واکنش‌های سیستم ایمنی و نیز تغییر در رگ‌های خونی نخاع آسیب دیده، اشاره کرد(۱). همچنین فرایند آپوپتوز نیز نقش کلیدی و مهمی در آسیب ثانویه نخاعی ایفا می‌کند که خود متاثر از افزایش گلوتامات، رادیکال‌های آزاد، سیتوکین‌ها و نیز افزایش واکنش‌های التهابی و سیستم ایمنی در بخش آسیب دیده نخاع است(۲).

در سال‌های اخیر، عمده تحقیقات متوجه آسیب‌های ثانویه نخاعی بوده‌است به‌طوری که ترکیب بکار برده‌شده برای کاهش علائم و عوارض آسیب نخاعی عمدتاً دارای آثار ضدآپاپتوزیس، ضدالتهاب، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و نیز مهار رادیکال‌های آزاد بوده‌اند.

چای سبز حاوی ترکیب پلی‌فنل شامل کتکین(Catechin) است. کتکین‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی(Antioxidant Action)، مهار پراکسیداسیون چربی ناشی از استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress)، تعدیل‌مسیرهای‌آپاپتوزیس(Apoptosis)، خاصیت پرواکسیدانی(Prooxidant Properties)، ضدالتهابی (Anti-inflammatory) و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی (Immunomodulatory) دارند(۳). اپی‌گالوکتکین‌گلیت (Epigallocatechin Gallat) فراوان‌ترین ترکیب پلی‌فنلی چای سبز است و در عین حال بخش عمده فعالیت‌های بیولوژی چای سبز را به این ترکیب نسبت می‌دهند. تحقیقات نشان داده‌اند که اپی‌گالوکتکین‌گلیت آثار محافظتی در مقابل آسیب ایسکمی مغز(۴)، آسیب اکسیداتیو ماده سفید اطراف بطن‌های مغز در هیدروسفالی(۵)، هیپوکسی حاد(۶)، بیماری‌های پارکینسون و آلزایمر(۷)، پیری (aging)(۸) و نیز انواع سرطان (۹) دارد. همچنین، مطالعه اخیر ما نشان داد که تزریق این ماده موجب کاهش آپاپتوزیس در سلول‌های عصبی بخش

۱. ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی ۲. خرم آباد لرستان، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

ضایعه دیده نخاع موش صحرایی، کاهش پراکسیداسیون چربی و نیز بهبود علائم حرکتی در اندام‌های فلج می‌شود(۱۰)؛ هرچند مکانیسم یا مکانیسم‌های اثر آن در این فرایند به درستی بررسی نشده‌است. هدف این تحقیق، بررسی پتانسیل خاصیت تعدیل کنندگی پاسخ‌های ایمنی این ماده در ضایعه نخاعی است؛ زیرا درک هرچه دقیق‌تر این مکانیسم‌های اثر، زمینه کاربرد بالینی آن را فراهم می‌سازد. بر این اساس در تحقیق ما، اثر تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت بر بیان ایمونوهیستوشیمی شاخص‌های فعالیت سیستم ایمنی در بخش ضایعه دیده نخاع بررسی شده‌است.

مواد و روش‌ها

گروه‌های مورد مطالعه: ۲۱ سر رت بالغ نر نژاد Spargue-Dawley (به وزن تقریبی ۳۰۰ـ۲۵۰گرم) در این تحقیق بکار رفت و رت‌ها در شرایط استاندارد نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه ۷ تایی تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل منفی که در این گروه فقط لامینای نهمین مهره قفسه سینه برداشته شد؛ ۲)گروه کنترل مثبت که در این گروه علاوه بر لامینکتومی و واردکردن ضایعه نخاعی، تزریق داخل‌صفاقی سرم فیزیولوژی نیز صورت گرفت؛ ۳) گروه تجربی که در این گروه علاوه بر لامینکتومی و ضایعه نخاعی، بلافاصله پس از ضایعه، تزریق داخل صفاقی اپی‌گالوکتکین‌گلیت (شرکت Sigma) به میزان ۵۰mg/kg نیز انجام شد(۱۰).

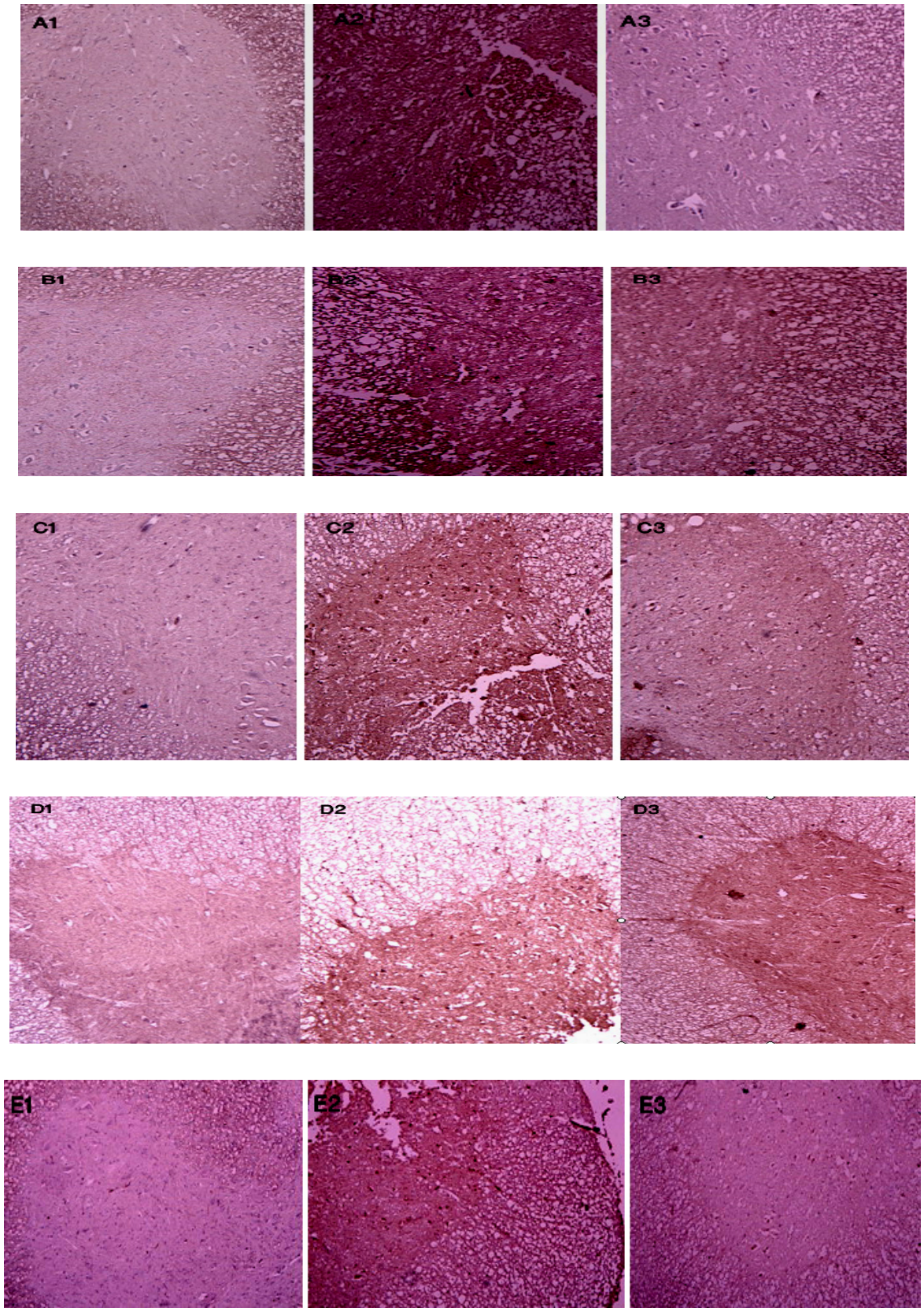
ضایعه نخاعی: پس از کسب مجوز از کمیته اخلاق، ضایعه نخاعی به روش دانشگاه نیویورک ایجاد شد(۱۱). به این ترتیب که پس از بیهوش کردن حیوان (با ۷۵mg/kg کتامین و۱۰ mg/kg زایلایزین)، برشی در امتداد ستون فقرات در پوست داده شد، سپس، ضمن جدا کردن عضلات متصل به نهمین مهره قفسه سینه، لامینای آن تراشیده شد. آنگاه ضربه‌ای بطور مستقیم با استفاده از استوانه‌ای فلزی(به وزن۱۰گرم، قطر ۲/۵ میلی‌متر از ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متری) وارد شد و ماهیچه‌ها، فاسیاها و پوست بخیه زده شدند. مراقبت لازم شامل تزریق زیر پوستی سرم لاکتات، تزریق داروی ضد درد، تزریق آنتی‌بیوتیک و نیز تخلیه دستی مثانه تا زمان بدست‌آوردن کنترل ادرار صورت گرفت.

بررسی ایمونوهیستوشیمی: ۲۴ساعت پس از ضایعه، پس از پرفوزیون بافر فرمالین نخاع بخش آسیب دیده خارج و با تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌های ۸ میکرونی از آنها تهیه شد. برش‌ها با سرم نرمال (خنثی‌سازی نقطه‌های غیراختصاصی) تیمار شده، سپس در معرض پادتن‌های اولیه ضد iNOS (پلی‌کلونال،۱/۱۰۰،شرکت Abcam)، ضد COX-2 (پلی‌کلونال،۱/۱۰۰،شرکت Abcam)، ضد IL-1β (پلی‌کلونال،۱/۲۰۰،شرکت Biolegend)، ضد TNF-α (پلی‌کلونال،۱/۴۰۰،شرکت R&D) و یا ضد CD4 (پلی‌کلونال،۱/۱۰۰،شرکت Millipore) به مدت یک شب (در دمای ۴ درجه) قرار داده‌شدند. پس از شستشو در بافر، برش‌ها به مدت ۲ ساعت (در دمای اتاق) در معرض آنتی‌بادی‌های ثانویه (کونژوگه با پراکسیداز،۱/۱۰۰، شرکت Abcam) قرار گرفته و نهایتا به مدت ۱۰ دقیقه با DAB رنگ‌آمیزی شدند. تصاویر ایمونوهیستوشیمی (۵ تصویر از هر نمونه) برای آنالیز کمی واکنش‌های ایمونوهیستوشیمیایی، با نرم‌افزار MacBiophotonics ImageJ ارزیابی شد.

آنالیز داده‌ها: کلیه آنالیزها با نرم‌افزار SPSS10 انجام شد و داده‌ها به‌صورت mean ± SEM محاسبه و $P<0.05$ ملاک معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر اپی‌گالوکتکین‌گلیت بر بیان TNFα، IL-1β، iNOS، COX-2 و CD4: شکل۱، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی (A) TNF-α (B)، IL-1β (C)، iNOS (D)، COX-2 و (E) CD4 را به ترتیب نشان می‌دهد. تقریباً هیچ واکنش مثبتی در برابر تمام آنتی‌ژن‌ها و در گروه کنترل منفی دیده نشد (A1،B1 ، C1،D1، E1)، در حالی که در مقاطع بافتی نخاع گروه کنترل مثبت (A2،B2، C2، D2، E2) افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) در بیان تمام آنتی‌ژن‌ها بروز کرد. تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت سبب کاهش معنی‌دار($p<0.05$) بیان ایمونوهیستوشیمیایی تمام آنتی‌ژن‌ها (A3،B3، C3، D3، E3) نسبت به گروه کنترل مثبت شد. آنالیز کمی بیان آنتی‌ژن‌ها در تمامی گروه‌ها، در جدول ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: بیان ایمونوهیستوشیمیایی TNF-α، IL-1β، iNOS، COX2 و CD4. تصاویر میکروسکوپی واکنش مثبت TNF-α (کنترل منفی=A1، کنترل مثبت=A2، تجربی=A3)؛ IL-1β (کنترل منفی=B1 ، کنترل مثبت=B2، تجربی=B3)؛ iNOS (کنترل منفی=C1، کنترل مثبت=C2، تجربی=C3)؛ COX-2 (کنترل منفی=D1، کنترل مثبت=D2، تجربی=D3) و CD4 (کنترل منفی=E1، کنترل مثبت =E2، تجربی=E3) را ۲۴ ساعت پس از ایجاد ضایعه نشان می‌دهد(بزرگنمایی ×۱۰۰). رنگ قهوه‌ای نشان‌دهنده واکنش مثبت است. تصاویر، بیانگر کاهش بیان پروتئین‌های مذکور در گروه زیر درمان با اپی‌گالوکتکین‌گلیت نسبت به گروه کنترل مثبت می‌باشد.

جدول ۱: دانسیتومتری تصاویر ایمونوهیستوشیمیایی TNF-α، IL-1β، iNOS، COX-2 و CD4. داده‌ها براساس درصد کل مقطع (سطحی از مقطع که در آن واکنش مثبت به آنتی‌بادی‌ها دیده می‌شود) بیان شده‌است(±SEM) (*p< 0.05 در مقابل گروه کنترل منفی، # p< 0.05 در مقابل گروه کنترل مثبت).

گروه‌ها	CD4	COX-2	iNOS	IL-1β	TNF-α
کنترل منفی	0.00±0.00	0.00±0.00	0.01±0.00	0.07±0.03	0.05±0.01
کنترل مثبت	0.47±0.04*	0.41±0.07*	1.83±0.18*	1.74±0.26*	1.64±0.01*
تجربی	0.03±0.02#	0.02±0.00#	0.79±0.13#	0.15±0.05#	0.14±0.01#

بحث و نتیجه‌گیری

آسیب نخاع، زمینه بروز واکنش‌های موضعی التهابی و ایمنی تشدیدکننده آسیب ثانویه را در بخش ضایعه دیده فراهم می‌سازد(۱۲). در بروز واکنش‌های مذکور، اجزای سلولی (بخصوص نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها) و غیرسلولی(بخصوص سیتوکین‌ها) متعددی نقش دارند. سیتوکین‌ها گروه بزرگی از عوامل موثر در بروز واکنش‌های التهابی و ایمنی هستند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) و Interleukin-1beta (IL-1β) اشاره کرد. این عوامل توسط سلول‌هایی نظیر ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها و گلیال‌ها (بی‌درنگ پس از بروز ضایعه) تولید و ترشح شده و نقشی تعیین‌کننده در وسعت ضایعه ثانویه نخاعی بر عهده دارند(۱۳و۱۴). بررسی‌ها نشان داده‌است که TNF-α و IL-1β، در فرایندهای متعددی مانند مرگ سلولی ثانویه در سلول‌های عصبی(۱۵و۱۶)، نفوذپذیری رگ‌های خونی(۱۷)، مهاجرت و تجمع سلول‌های التهابی و ایمنی(۱۸) در محل ضایعه دیده بافت نخاعی نقش دارند مثلاً در پژوهش‌ها نشان داده شده‌است که مهارTNF-α و IL-1β موجب کاهش وسعت منطقه ضایعه دیده بافت عصبی و نیز افزایش توانایی حرکت پس از ضایعه می‌شود(۱۹). از طرف دیگر TNF-α و IL-1β، نقش مهمی در القای Inducible Nitric Oxide (iNOS) دارند(۲۰). iNOS آنزیمی است که توسط سلول‌های ایمنی بیان شده و موجب تولید Nitric Oxide (NO) می‌شود که مولکول رادیکال آزادی بوده و نقش مهمی در پیشرفت واکنش التهابی ثانویه و آپوپتوز در بخش آسیب دیده نخاع دارد(۲۱). بررسی‌ها نشان داده که کاهش TNF-α و IL-1β توسط عوامل مهارکننده، موجب کاهش بیان iNOS در بخش ضایعه دیده می‌شود(۱۸). همچنین، بیان Cyclooxigenase-2 (COX-2) (آنزیمی که در تولید برخی از واسطه‌های التهابی نقش دارد) نیز توسط TNF-α و IL-1β انجام می‌شود(۲۲) به‌طوری که استفاده از مهارکننده‌هایCOX-2، می‌تواند موجب بهبود علائم رفتاری در ضایعه نخاعی شود(۲۳). نتایج تحقیق ما نشان داد که تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب کاهش معنی‌دار در بیان TNF-α و IL-1β و در نتیجه کاهش بیان iNOS و COX-2 می‌شود. این نتایج در راستای مطالعه قبلی ماست که در آن تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب کاهش میزان آپوپتوز در سلول‌های عصبی بخش ضایعه دیده و نیز بهبود علائم حرکتی اندام‌های فلج شده پس از ضایعه نخاعی شده‌بود(۱۰). بررسی‌های in vitro، بیانگر خواص ضد التهابی اپی‌گالوکتکین‌گلیت(۲۴) و نیز افزایش بیان IL-2(۲۵) بوده‌است. اگرچه خواص آنتی‌اکسیدانی کتکین‌ها (از جمله اپی‌گالوکتکین‌گلیت) از مطرح‌ترین و مهم‌ترین خاصیت‌های آنهاست، لیکن شواهدی نیز در خصوص خواص محافظت‌کنندگی عصبی آنها در بیماری‌های neurodegenerative و neuroinflammatory نظیر آلزایمر (۲۶)، پارکینسون(۲۷) و اسکلروز مولتیپل(۲۸) وجود دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که خواص اپی‌گالوکتکین‌گلیت (مهم‌ترین کتکین موجود در چای سبز) در مهار این بیماری‌ها ممکن است تا حدودی ناشی از خاصیت مهار iNOS توسط آن باشد(۳) به‌طوری‌که in vitro نشان‌داده‌شده‌است که اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب مهار القای iNOS mRNA در سلول‌های تیمار شده با TNF-α و IL-1β می‌شود (۲۹). همچنین، in vivo نشان داده شده که اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب مهار فعالیت و بیان iNOS در ضایعات مغزی می‌شود(۳۰). از طرف دیگر کتکین‌ها تولید eicosanoid

توسط COX-2 (مسیر مولکولی مهمی که منجر به التهاب می‌شود) را پس از ایسکمی کاهش می‌دهد(۳۱).

از دیگر ویژگی‌های مرحله ثانویه ضایعه نخاعی، مهاجرت و تجمع سلول‌هایی نظیر نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در بخش ضایعه دیده نخاع است. شواهد، نشانگر نقش مهم این سلول‌ها در پاتوژنز فرایندهای تخریبی ثانویه نخاعی نظیر پراکسیداسیون چربی و وزیکولاسیون میلین از طریق ترشح ترکیباتی نظیر سیتوکین‌ها است(۳۲). در بررسی ایمونوهیستوشیمی مطالعه ما، تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب کاهش تعداد لنفوسیت‌های $CD4^+$ در بخش آسیب‌دیده نخاع نسبت به گروه کنترل مثبت شد. این نتایج در راستای مطالعه پیشین ما نشان داد که میزان پراکسیداسیون چربی در گروه درمان‌شده با اپی‌گالوکتکین‌گلیت، کاهش می‌یابد(۱۰). همچنین نشان داده شده‌است که درمان با اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب مهـار تجمع نوتروفیـــل‌ها، لنفـوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک می‌شود(۳۳).

اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب مهار القای Vascular adhesion molecule-1 توسط TNF-α و IL-1β شده و در نتیجه کاهش چسبندگی مونوسیت‌ها می‌شد(۳۴). In vitro نشان داده شده که اپی‌گالوکتکین‌گلیت موجب مهار تکثیر لنفوسیت‌ها بخصوص $CD4^+$ می‌شود(۲۵).

در مجموع نتایج تحقیق ما نشان داد که تزریق اپی‌گالوکتکین‌گلیت پس از ضایعه نخاعی به‌طور معنی‌دار موجب تعدیل شاخص‌های واکنش ایمنی در بخش ضایعه دیده نخاع می‌شود. این یافته نه تنها به فهم هر چه بهتر مکانیسم‌های نوروپروتکتیو اپی‌گالوکتکین‌گلیت کمک می‌کند، بلکه زمینه کاربرد بالینی این ترکیب را در ضایعات نخاعی فراهم می‌آورد.

تشکر و قدردانی: این تحقیق با حمایت مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی (شماره۱۰۰/۱۸۵۳۸۴) انجام شده‌است.

منابع

1. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and Pharmacological Strategies for Mitigating Secondary Damage in Acute Spinal Cord Injury. Neurosurgery 1999; 44: 1027-1039.

2. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, Mcdonald JW, et al. Neuronal and Glial Apoptosis after Traumatic Spinal Cord Injury. J Neurosci 1997; 17: 5395-5406.

3. Sutherland BA, Rahman RM, Appleton I. Mechanisms of Action of Green Tea Catechins, with a Focus on Ischemia-Induced Neurodegeneration. J Nutr Biochem 2006; 17: 291-306.

4. Choi YB, Kim YI, Lee KS, Kim BS, Kim DJ. Protective Effect of Epigallocatechin Gallate on Brain Damage after Transient Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats. Brain Res 2004; 1019: 47-54.

5. Etus V, Etus T, Belce A, Ceylan S. Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin Gallate Prevents Oxidative Damage on Periventricular White Matter of Infantile Rats with Hydrocephalus. Tohoku J Exp Med 2003; 200: 203-209.

6. Wei IH, Wu YC, Wen CY, Shieh HY. Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin Gallate Attenuates the Neuronal NADPH-D/Nnos Expression in the Nodose Ganglion of Acute Hypoxic Rats. Brain Res 2004; 999: 73-80.

7. Weinreb O, Mandel S, Amit T, Youdim MB. Neurological Mechanisms of Green Tea Polyphenols in Alzheimer's And Parkinson's Diseases. J Nutr Biochem 2004; 15: 506-16.

8. He M, Zhao L, Wet MJ, Yao WF, Zhao HS, Chen FJ. Neuroprotective Effects of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate on Aging Mie Induced By D- Galactose. Biol Pharm Bull 2009; 32: 55-60.

9. Khan N, Adhami VM, Mukhtar H. Review: Green Tea Polyphenols In Chemoprevention of Prostate Cancer: Preclinical and Clinical Studies. Nutr Cancer 2009; 61: 836-41.

10. Khalatbary AR, Tiraihi T, Beigi Boroujeni M, Ahmadvand H, Tavafi M, Tamjidipoor A. Effects of Epigallocatechin Gallate on Tissue Protection and Functional Recovery After Contusive Spinal Cord Injury In Rats. Brain Res 2010; 1306: 168-75.

11. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan J C. Graded Histological And Locomotor Outcomes After Spinal Cord Contusion Using The NYU Weight-Drop Device Versus Transection. Exp Neurol 1996; 139: 244-256.

12. Fleming JC, Norenberg MD, Ramsy DA, Dekaban GA, Marcillo AE, Seanz AD, Et Al. The Cellular Inflammatory Response in Human Spinal Cords after Injury. Brain 2006; 129: 3246-69.

13. Hayashi M, Ueyama T, Nemoto K, Tamaki T, Senba E. Sequential Mrna Expression For Immediate Early Genes, Cytokines And Neurotrophins In Spinal Cord Injury. J Neurotrauma 2000; 17 203-218.

14. Yang L, Blumbergs PC, Jones NR, Manavis J, Sarvestani GT, Ghabriel MN. Early Expression and Cellular Localization of Proinflammatory Cytokines Interleukin-1beta, Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor-Alpha in Human Traumatic Spinal Cord Injury. Spine 2004; 29: 966-71.

15. Lee YB, Yune TY, Baik SY, Shin YH, Du S, Rhim H, Et Al. Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha In Neuronal And Glial Apoptosis After Spinal Cord Injury. Exp Neurol 2000; 166: 190-195.

16. Lu KT, Wang YW, Yang IT, Yang YL, Chen HI. Effect of Interleukin-1 on Traumatic Brain Injury-Induced Damage To Hippocampal Neurons. J Neurotrauma 2005; 22 885-895.

17. Schnell L, Fearn S, Schwab ME, Perry, VH, Anthony DC. Cytokine-Induced Acute Inflammation In The Brain And Spinal Cord. J Neuropathol Exp Neurol 1999; 58: 245-254.

18. Pineau I, Lacroix S. Proinflammatory Cytokine Synthesis In The Injured Mouse Spinal Cord: Multiphasic Expression Pattern And Identification of The Cell Types Involved. J CompNe urol 2007; 500: 267-285.

19. Genovese T, Mazzon E, Crisafulli C, Di Paola R, Muia C, Bramanti P, et al. Immunomodulatory Effects of Etanercept in an Experimental Model of Spinal Cord Injury. J Pharmacol Exp Ther 2006; 316: 1006-1016.

20. Matsuyama Y, Sato K, Kamiya M, Yano J, Ivata H, Et Al. Nitric Oxide: A Possible Etiologic Factor in Spinal Cord Cavitation. J Spinal Disord 1998; 11: 248-252.

21. Genovese T, Mazzon E, Mariotto S, Menegazzi M, Cardali S, Conti A, et al. Modulation of Nitric Oxide Homeostasis In A Mouse Model of Spinal Cord Injury. J Neurosurg Spine 2006;4: 145-153.

22. Tonai T, Taketani Y, Ueda N, Nishisho T, Ohmoto Y, Sakata Y, Et Al. Possible Involvement of Interleukin-1 in Cyclooxygenase-2 Induction after Spinal Cord Injury in Rats. J Neurochem 1999; 72: 302-309.

23. Resnick DK, Graham SH, Dixon CE, Marion DW. Role of Cyclooxygenase 2 in Acute Spinal Cord Injury. J Neurotrauma 1998; 15: 1005 13.

24. Melgarejo E, Medina MA, Sanchez-Jimenez F, Urdiales JL. Tg Of Histamine Producing Cells By EGCG : A Green Dart Against Inflammation?. J Physiol Biochem 2010; 66: 265-70.

25. Pae M, Ren Z, Meydani M, Shang F, Meydani SN, Wu D. Epigallocatechin-3-Gallate Directly Suppresses T Cell Proliferation Through Impaired IL-2 Utilization And Cell Cycle Progression. J Nutr 2010; 140: 1509-15.

26. Mandel S, Youdim, MB. Catechin Polyphenols: Neurodegeneration and Neuroprotection In Neurodegenerative Diseases. Free Radic Biol Med 2004; 37: 304-317.

27. Pan T, Jankovic J, Le W. Potential Therapeutic Properties of Green Tea Polyphenols In Parkinson′S Disease. Drugs Aging 2003; 20 711-721.

28. Aktas O, Prozorovski T, Smorodchenko A, Savaskan NE, Lauster R, Kloetzel PM, Et Al. Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate Mediates T Cellular NF-Kappa B Inhibition and Exerts Neuroprotection In Autoimmune Encephalomyelitis. J Immunol 2004; 173: 5794-800.

29. Tedeschi E, Menegazzi M, Yao Y, Suzuki H, Forstermann U, Kleinert H. Green Tea Inhibits Human Inducible Nitric-Oxide Synthase Expression By Down-Regulating Signal Transducer And Activator Of Transcription-1alpha Activation. Mol Pharmacol 2004; 65: 111-120.

30. Sutherland BA, Shaw OM, Clarkson AN, Jackson DN, Sammut IA, Appleton I. Neuroprotective Effects Of (-)-Epigallocatechin Gallate Following Hypoxia-Ischemia-Induced Brain Damage: Novel Mechanisms of Action. FASEB J 2005; 19 258-260.

31. Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, Lee JK, Lee SH, Kim DB, Et Al. Neuroprotective Effect of Green Tea Extract In Experimental Ischemia-Reperfusion Brain Injury. Brain Res Bull 2000; 53: 743-749.

32. Popovich PG, Stokes BT, Whitacre CC. Concept of Autoimmunity Following Spinal Cord Injury: Possible Roles For T Lymphocytes In The Traumatized Central Nervous System. J Neurosci Res 1996; 45: 349-363.

33. Katiyar SK, Mukhtar H. Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Treatment To Mouse Skin Prevents UVB-Induced Infiltration Of Leukocytes, Depletion Of Antigen-Presenting Cells, And Oxidative Stress. J Leukoc Biol 2001; 69: 719-726.

34. Ludwig A, Lorenz M, Grimbo N, Steinle F, Meiners S, Bartsch C, Et Al. The Tea Flavonoid Epigallocatechin-3-Gallate Reduces Cytokine-Induced VCAM-1 Expression And Monocyte Adhesion To Endothelial Cells. Biochem Biophys Res Commun 2004; 316: 659-665.Rfd

Immunomodulation with Epigallocatechin Gallate in Injured Spinal Cord of Rats

*Khalatbary A.R.(Ph.D.)[1]- Ahmadvand H. (Ph.D.)[2]

***Corresponding Address:** Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Mazanderan University of Medical Sciences, Sari, IRAN

E-mail: khalat90@yahoo.com

Received: 6/Dec/2010 Accepted : 12 Mar/2011

Abstract

Introduction: Spinal cord injury (SCI) stimulates an immune response that causes substantial secondary damage inside the injured spinal tissue.

Objective: To determine the immunomodulatory effects of epigallocatechin gallate (EGCG) on traumatized spinal cord of rats.

Materials and Methods: Rats were randomly divided into three groups of 7 rats each as follows: negative control group, positive control group, and experimental group (50mg/kg EGCG, i.p., immediately after SCI). Spinal cord samples were collected 24 hours after injury and studied for immunohistochemistry of CD4, TNF-α, IL-1β, iNOS and COX-2.

Results: Epigallocatechin gallate attenuated immunohistochemical expression of immune-related response criteria.

Conclusion: On the basis of these findings, we propose that EGCG may be effective in protecting the rat spinal cord from secondary damage by modulating of immune responses.

Key words: Epigallocatechin Gallate/ Immunohistochemistry/ Rats/ Spinal Cord Injuries

_____Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 79, Pages: 1-7

1. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Mazanderan University of Medical Sciences, Sari , IRAN

2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorram abad, IRAN