Physiology and Pharmacology, 14(3), 220-233
Autumn 2010 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of Estrogen and Progesterone on Cytokines Levels at Different Time Intervals after Traumatic Brain Injury

Mohammad Khaksari Hadad[1*], Zahra Soltani [2], Ali Reza Sarkaki [3], Gholamreza Sepehri [4], Sohrab Hajizadeh[5], Abdoreza Sabahi[4]

1. Neuroscience Research Center of Kerman University of Medical Sciences and Bam International Unit, Kerman, Iran
2. Neuroscience Research Center of Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Physiology Research Center of Ahwaz University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Dept. Physiology, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran
2. Dept. Physiology, Tarbiat Moddarres University, Kerman, Iran

Received: 11 March 2010 **Accepted: 21 August 2010**

Abstract

Introduction: Following a traumatic brain injury (TBI), the excessive release of proinflammatory cytokines is major cause of cerebral edema that can cause permanent neuronal loss. This study examined the changes in brain concentrations of proinflammatory cytokines IL-1β, IL-6, TNF-α and TGF-β after different doses of estrogen or progesterone treatment in brain-injured rats at 6 and 24 h post-injury.

Methods: Adult female rats were divided into 14 groups, and underwent either bilateral ovariectomy (12 groups) or sham surgery (2 groups). The hormones or vehicle were given intraperitoneally 0.5 h after TBI. Moderate TBI was induced by Marmarou method in TBI or treatment groups and brain levels of proinflammatory cytokines were measured 6 and 24 h post-injury.

Results: The results indicated that high dose of estrogen (E2) and low dose of progesterone (P1) increase brain levels of IL-1β 6 h post-injury by 52.8% and 79.2%, respectively compared to the vehicle. By the 24th h post-injury brain IL-1β level was reduced 27.5% and 27%, respectively compared to vehicle, when estrogen low dose (E1) and E2 were administered. Progesterone high dose treatment reduced brain level of IL-6 by 45.9% at 6 h post-injury and P1 treatment reduced IL-6 level by 20.5% at 24 h post-injury when compared to the vehicle. The brain TNF-α level was reduced by 72.5% by P2 at 6 h and 48.5% by E2 at 24 h post-injury, when compared to the vehicle. In addition, TGF-β level seem to be increased by E1 up to 3.37 times at 24 h post-injury compared to the vehicle. Both doses of hormones showed increased levels of TGF-β at 6 h post-injury, when compared to the vehicle.

Conclusion: We conclude that progesterone and estrogen may change the levels of proinflammatory cytokines in the acute or delayed phases after TBI and this may be one of the mechanisms by which hormones reduce cerebral edema.

Key words: TBI, IL-1β, IL-6, TNF-α, TGF-β, acute phase, delay phase

*Corresponding author e-mail: khaksar38@yahoo.co.uk
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۴ (۳)، ۲۲۰ - ۲۳۳
پاییز ۱۳۸۹

اثر مصرف استروژن و پروژسترون بر روی میزان سیتوکین ها در زمان های مختلف بعد از جراحت تروماتیک مغزی

محمد خاکساری[۱*]، زهرا سلطانی[۲]، علیرضا سرکاکی[۳]، غلامرضا سپهری[۴]، سهراب حاجی زاده[۵]، عبدالرضا صباحی[۴]

۱. مرکز تحقیقات علوم اعصاب و مرکز آموزش بین الملل بم دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۳. مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز
۴. گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۵. گروه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

دریافت: ۲۰ اسفند ۸۸ پذیرش: ۳۰ مرداد ۸۹

چکیده

مقدمه: رهایش سیتوکین های پیش التهابی به دنبال جراحت تروماتیک مغزی (TBI) علت عمده خیز مغزی می باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات غلظت مغزی سیتوکین های پیش التهابی IL- 1β، IL-6، TNF-α، TGF-β بعد از مصرف دوزهای مختلف استروژن و پروژسترون ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI می باشد.

روش‌ها: در این مطالعه موش های صحرایی ماده شامل ۱۴ گروه که ۴ گروه، کنترل و شم و ۱۰ گروه باقیمانده بعد از برداشتن دو طرفه تخمدان و ایجاد ضربه مغزی متوسط و منتشر به روش مارمارو به جزء گروه های TBI، نیم ساعت بعد از ضربه استروئیدهای جنسی یا حلال آن ها مصرف شد و غلظت سیتوکین ها ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ضربه اندازه گیری شد.

یافته‌ها: در ساعت۶، IL- 1β توسط دوز زیاد استروژن (E_2) و اندک پروژسترون (P_1) به ترتیب ۵۲/۸٪ و ۷۹/۲٪ افزایش و IL-6 و TNF-α توسط دوز زیاد پروژسترون (P_2) ۴۵/۹ کاهش یافتند. در ساعت ۲۴، IL- 1β توسط دوز اندک استروژن (E_1) و E_2 به ترتیب ۲۷/۵٪ و ۲۷٪، IL-6 توسط P_1 و E_1 به ترتیب ۲۰/۵٪ و ۴۷٪ کاهش و TNF-α توسط E_2 ۴۸/۵٪ افزایش نشان دادند. اگر چه در ساعت۶، فقط E_1 ۳/۳۷ برابر TGF-β را افزایش داد، اما در ساعت۲۴، دوزهای مختلف دو استروئید TGF-β را افزایش دادند.

نتیجه‌گیری: استروژن و پروژسترون ممکن است اثر ضد خیز مغزی خود را از این طریق تغییر سیتوکین های پیش التهابی در فاز حاد یا تأخیری بعد از TBI اعمال کنند.

واژه‌های کلیدی: TBI، IL-6، IL- 1β، TNF-∝، TGF-β، فاز حاد، فاز تأخیری

مقدمه

جراحت ضربه مغزی (TBI) منجر به مرگ و ناتوانی بسیاری از افراد می شود. هرسال حدود ۱/۵ میلیون نفر از مردم به خاطر جراحت می میرند و چند میلیون نفر نیز درمان اورژانسی دریافت می کنند. بیشتر این افراد در کشورهای با درآمد کم و متوسط قرار دارند [۳۳]. مشخص شده است که پاسخ التهابی داخل جمجمه ای بعد از TBI و ایسکمی مغزی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: khaksar38@yahoo.co.uk
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

بوجود می آید و این پاسخ یک نقش مهم هم در فرآیندهای بهبود زخم بازی می کند و هم علت جراحت های ثانویه مغزی بعد از جراحت مغزی است [۲۹].کوفتگی مغزی که یکی از شکل های TBI است و غالباً همراه با آسیب های نورولوژیک تأخیری و التهاب داخل مغزی می باشد و این التهاب در جراحت ثانویه مغزی سهیم است [۱۵]. اختلالات عملکردی در کوفتگی مغزی ناشی از تشکیل خیز است و خیز مغزی کنترل نشده علت بسیاری از ناتوانی ها و مرگ و میرهای همراه با TBI است [۴۲].

فرآیندهای بعد از تروما در سیستم عصبی مرکزی به دو فاز مهم تقسیم می شوند، فاز حاد اولیه و فاز بهبودی مزمن [۳۰]. فاز حاد اولیه جراحت به دو مرحله تقسیم می شود: مرحله اولیه جراحت که ناشی از خود تروما است و مرحله ثانویه جراحت که در اثر رهایش فاکتورهای شیمیایی و سیتوکین ها به وجود می آید. شروع فاز بهبودی مزمن بستگی به مکانیسم و گسترش جراحت داشته و هم چنین به افزایش تولید میانجی های مهم از قبیل بعضی از سیتوکین ها برای بازسازی بافت نیاز دارد [۲۶, ۳۰]. فشرده شدن سد خونی – مغزی، تشکیل خیز مغزی، رهایش سیتوکین های التهابی و فاکتورهای رشد، از پاسخ های تأخیری به جراحت تروماتیک هستند [۲۹]. بیان سیتوکین های قوی داخل مغزی در ناحیه اطراف آسیب هم در فاز ابتدایی و هم در فاز ثانویه (تأخیری) در انسان رخ می دهد. کاهش میزان سیتوکین های پیش برنده التهاب و یا بالعکس افزایش سیتوکین های ضد التهاب می تواند به عنوان روش های درمانی جدید برای کاهش التهاب مغزی مطرح باشند [۲۹].

عوامل مختلف در آبشار التهابی اثرات متفاوت داشته و این احتمال وجود دارد که مهار عمومی پاسخ التهابی ممکن است منجر به فرآیندهای ترمیم شود [۲۹]. سیتوکین های معینی از قبیل اینترلوکین نمره ی یک بتا (IL-1β)، اینترلوکین نمره ی ۶ (IL-6) و فاکتور نکروزیس توموری آلفا (TNF-α) التهاب را پیش می برند، در حالی که سیتوکین هایی از قبیل اینترلوکین نمره ی۴ (IL-4) و اینترلوکین نمره ی۱۰ (IL-10) پاسخ التهابی را در CNS مهار می کنند [۳۲]. افزایش سیتوکین های IL-1β و TNF-α در مایع مغزی نخاعی در بافت پارانشیم مغزی در ساعات بعد از ترومای مغزی مشاهده شده است [۳۶]. افزایش این سیتوکین های پیش برنده التهاب به طور بارزی جراحت مغزی ناشی از ایسکمی، تروما یا جراحت مغزی سیتوتوکسیک را تشدید می کند [۲۳]. تولید سیتوکین های پیش برنده التهاب بعد از TBI هم در مدل های حیوانی [۴۵] و هم در انسانی [۳۶] گزارش شده است.

تجویز داخل مغزی IL-1β موجب خیز مغزی و به دنبال آن مرگ سلول می شود [۱۵]. برای فهم بیشتر پاسخ التهابی بعد از TBI، اندازه گیری های سیتوکین داخل مغزی ضرورت دارد. چندین مطالعه، نشان داده اند که IL-1β، IL-6 و TNF-α، میانجی های اصلی برای التهاب عصبی هستند [۱۴, ۲۹]، علاوه بر این گزارش شده است که فاکتور رشد ترانسفورمینگ بتا (TGF-β) بعد از TBI افزایش پیدا کرده و نقش تنظیمی در فعال شدن اندوتلیوم عروق مغزی ناشی از سیتوکین ها داشته و اعمال چندگانه این یاخته ها را در التهاب و تروما تعدیل می کند [۷, ۲۶] و این که TGF-β باعث ممانعت مهاجرت لکوسیت ها از سد خونی– مغزی می شود [۱۳].

در مطالعات اخیر نشان داده شده است که استروژن و پروژسترون به طور معنی داری خیز مغزی را کاهش داده و برگشت پذیری عملکردی بعد از TBI را تشدید می نمایند. در حالت هیپرپروژستینمی در حیوان های ماده، خیز وجود ندارد [۳۵]، هم چنین رابطه معکوس بین غلظت سرمی پروژسترون و خیز مغزی به دنبال TBI وجود دارد [۴۷]؛ علاوه بر این در مطالعه قبلی گروه تحقیقاتی ما نیز نشان داده شد که پروژسترون و متابولیت آن یعنی آلوپرگننولون در کاهش خیز مغزی مؤثر است [۱]. استرادیول دارای اثر نوروپروتکتیو بعد از ایسکمی مغزی در موش های صحرایی ماده است [۴۶]، استروژن و پروژسترون باعث کاهش محتوای آب مغزی در خیزهای وازوژنیک بعد از TBI می شود [۱]. شاهرخی و همکاران نیز نشان دادندکه استروژن و پروژسترون باعث کاهش خیز مغزی، کاهش نفوذپذیری سدّ خونی– مغزی و کاهش فشار داخل جمجمه ای بعد از TBI می شوند [۳۹]، هم چنین سلطانی و همکاران گزارش نمودند که مصرف توأم استروژن و پروژسترون باعث کاهش ادم مغزی و بهبود پیامدهای نورولوژیک بعد از ضربه مغزی تجربی می شود [۴۱]. با توجه به مطالعات فوق مبنی بر مفید بودن هورمون های استروئیدی جنسی در کاهش التهاب عصبی، در مطالعه حاضر اولاً به منظور تعیین اثر مکانیسم ضد التهابی این هورمون ها،

غلظت سیتوکین های پیش برنده التهاب (IL-1β، IL-6، TNF-α و TGF-β) بعد از ضربه مغزی منتشر به روش مارمارو در موش های صحرایی ماده فاقد تخمدان اندازه گیری شده و ثانیاً با توجه به اینکه بیان سیتوکین ها در فازهای مختلف ترومای مغزی رخ می دهد [۲۹] و از سوی دیگر تأثیر پروژسترون در مهار سیتوکین های التهابی وابسته به زمان است [۱۲] و اثر استروژن در مهار بیان IL-1β دو مرحله ای می باشد [۶]. اثرات استروژن و پروژسترون بر روی مقادیر مغزی این سیتوکین ها در ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI اندازه گیری شد.

مواد و روشها

در این مطالعه مداخله ای-تجربی، از ۹۸ سر موش صحرائی(Rat) ماده از نژاد Albino NMARI با وزن ۲۵۰-۱۸۰ گرم استفاده شد که این حیوان ها ۳ ماهه بوده و قبل از باروری از موش های صحرایی نر جدا شدند. حیوان ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۵ درجه سانتی گراد در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی کرمان نگهداری شدند، در ضمن آب و غذا آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت. این پژوهش طی مجوز شماره کا/ع/۱۹-۸۷ کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است.

حیوان ها به طور تصادفی به ۷ گروه ۷ تایی تقسیم شدندکه هر گروه شامل دو زیر گروه بود، که در یک زیرگروه سیتوکین ها، ۱۷- بتا-استرادیول و پروژسترون مغزی در ۶ و در زیرگروه دیگر ۲۴ ساعت بعد از ضربه مغزی اندازه گیری شد.

گروه۱، گروه کنترل(control): موش های صحرایی ماده طبیعی و سالم (intact) هستند. گروه۲، گروه شم (sham): موش های صحرایی ماده ای که تخمدان های آن هابرداشته شده، بیهوش شدند و زیر دستگاه ایجاد کننده ضربه مغزی قرار گرفتند. گروه۳، گروه حلال(veh): موش های صحرایی مادهٔ ترومایی که تخمدان آن هابرداشته شده ، هم حجم استروژن یا پروژسترون (۰/۳۳ml/kg)، حلال آن ها (روغن کنجد+ بنزیل الکل) نیم ساعت بعد از ضربه مغزی به صورت داخل صفاقی به آن ها تزریق شد [۳۱]. گروه ۴، گروه دوز فیزیولوژیک استروژن (E1): موش های صحرایی ماده ای که تخمدان آن ها برداشته شده بود، ۳۳/۳ μg/kg استروژن [۳۱] به صورت داخل صفاقی (i.p.) نیم ساعت بعد از ضربه مغزی به آن ها تزریق شد. گروه ۵، گروه دوز فارماکولوژیک استروژن (E2) مشابه با گروه ۴ هستند فقط دوز استروژن ۱ mg/kg [۸] بود. گروه ۶، گروه دوز فیزیولوژیک پروژسترون (P1): مشابه با گروه ۴ بود، با این تفاوت که پروژسترون با دوز ۱/۷ mg/kg [۳۱] مصرف شد. گروه۷،گروه دوز فارماکولوژیک پروژسترون(P2): مشابه با گروه ۶، اما دوز مصرفی پروژسترون ۸ mg/kg [۸] بود. استروژن، پروژسترون وحلال آن ها از شرکت دارویی ابوریحان (ایران) خریداری شد.

روش برداشتن تخمدان ها (Ovariectomy): بعد از بی هوشی موش های صحرایی ماده، با مخلوط کتامین (۶۰ mg/kg) و رامپون (۱۰mg/kg) حیوان به پشت خوابانده شده وموهای قسمت تحتانی شکم تراشیده و یک برش افقی به طول ۲ سانتی متر ایجاد شد. سپس پوست، فاسیا و عضلات شکم باز شده، چربی ها و روده کنار زده شده تا رحم و لوله های رحمی مشاهده شوند. لوله رحم و پایه عروقی تخمدان با نخ کاتکوت ۴ در ناحیه پروگزیمال مسدود گردید و از ناحیه دیستال قطع شد و همین عمل در مورد تخمدان سمت دیگر بدن تکرار شد. در انتها۲-۱ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی داخل شکم ریخته، عضلات و پوست به ترتیب با نخ کاتکوت و سیلک ۲ صفر به روش پیوسته بخیه گردید. محل زخم با محلول بتادین ضد عفونی شد. حیوان ها تا ۲ ساعت تحت مراقبت ویژه قرار گرفتند [۳۸]، هیچ یک از آن ها حین عمل جراحی یا بعد از آن نمردند. به منظور جلوگیری از تداخل هورمونی برداشتن تخمدان ها حداقل دو هفته قبل از هر عملیات دیگری انجام شد.

روش القاء ضربه مغزی: روش ایجاد ضربه مغزی (TBI) متوسط (moderate) از نوع منتشر(diffuse) و به روش مارمارو (Marmarou) بود. عمل دستگاه القاء ضربه مغزی (ساخت گروه فیزیولوژی کرمان) بدین صورت بود که، وزنه ۲۵۰ گرمی از داخل ستون شیشه ای به ارتفاع ۲ متری به طور آزادانه بر روی سر حیوان بی هوش فرود می آمد، یک صفحه استیل به منظور پخش یکنواخت ضربه بر روی جمجمه قرار داشت، بعد از القاء ضربه مغزی حیوان سریعاً به پمپ تنفسی (TSE Animal respirator compact، آلمان) وصل شد،

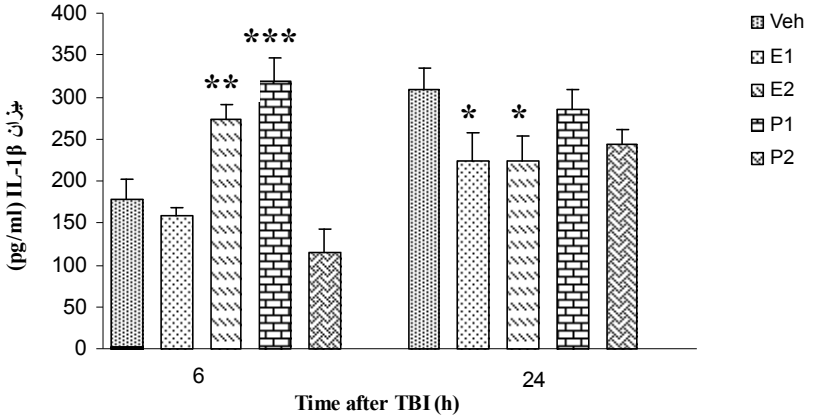
پس از برقراری تنفس خود بخودی، حیوان از دستگاه و نتیلاسیون جدا و به قفس باز گردانده شد [۳۱].

روش اندازه گیری سیتوکین ها، ۱۷-بتا-استرادیول وپروژسترون دربافت مغزی: موش های صحرایی ۶ ساعت یا ۲۴ ساعت بعد از ضربه مغزی (TBI) با تیوپنتال (۵۰ mg/kg) بی هوش شدند و سپس مغز از جمجمه خارج شد و توسط نیتروژن مایع منجمد گردید. هموژنیزاسیون مغز توسط دستگاه هموژنایزر انجام گرفت که به منظور هموژانیزاسیون ۵۰۰ میلی گرم از هر مغز با ۲ میلی لیتر بافر (PH=7.2) حاوی 50 Tris mmol، 0.5% Triton 100-x، Nacl 150 mmol، کوکتل مهارکننده پروتئاز (Roche آلمان) مخلوط شد محلول هموژنایز شده سپس با سانتریفوژ یخچال دار با دور ۴۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و روشناور آن برای اندازه گیری سیتوکین ها، β-استرادیول و پروژسترون مورد استفاده قرار گرفت. اندازه گیری با کیت های ELISA (BMS، آمریکا) مخصوص اندازه گیری Il-1β، Il-6، TNF-α و TGF-β حیوانی و هم چنین β-استرادیول و پروژسترون مخصوص موش صحرایی انجام شد.به طور خلاصه نمونه های موردنظر به چاهک هایی که حاوی آنتی بادی اولیه ضد Il-1β ، Il-6،TNF-α و TGF-β، β-استرادیول و پروژسترون بودند ریخته شد و پس از نیم ساعت محلول متوقف کننده به محیط اضافه گردید. تغییر رنگ کروموژن در طیف نوری ۴۵۰ nm خوانده شد. میزانIl-1β، TNF-α، Il-6 و بتا-استرادیول مغز به صورت پیکوگرم در ۱میلی لیتر از هموژنایز مغز در حالی که میزان TGF-β و پروژسترون مغز به صورت نانوگرم در ۱ میلی لیتر از هموژنایز مغز بیان گردید [۱۷].

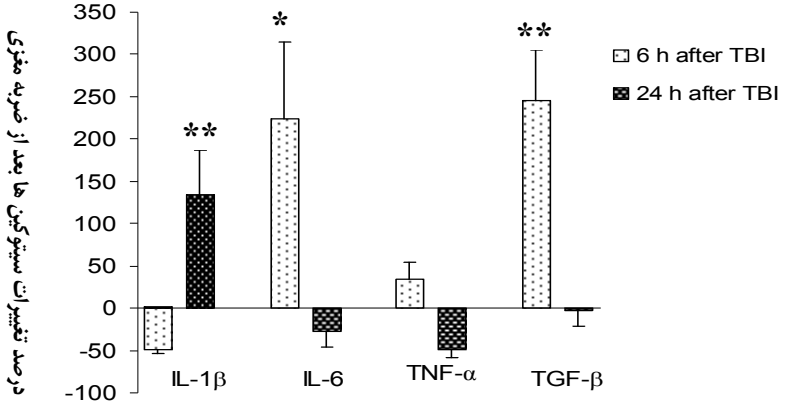
داده های کمی به دست آمده برای گروه های مختلف (به جز تغییرات سیتوکین ها) توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شده و در صورت معنی دار شدن آزمون اولیه، برای پی بردن اختلاف بین گروه ها آزمون LSD استفاده شد. تغییرات سیتوکین ها به وسیله T-test آنالیزشد. همه داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین (Mean±SEM) بیان شد و نتایج با P <۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند.

یافته ها

تغییرات متفاوت میزان IL-1β مغزی در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از TBI: در نمودار ۱، آنالیز اثر دوزهای مختلف استروژن و پروژسترون بر روی غلظت مغزی IL-1β در زمان های ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI نشان داده شده است. در ۶ ساعت بعد از جراحت هم در گروه های TBI تحت درمان دوز زیاد استروژن (P< ۰/۰۱ و pg/m1 ۱۷/۸ ± ۲۷۲/۷) و هم در گروه تحت درمان دوز اندک پروژسترون (P< ۰/۰۰۱ و pg/m1 ۲۷/۳ ± ۳۱۹/۸) مقدار IL-1β مغزی، بیشتر از گروه تحت درمان با حلال (pg/m1 ۲۲/۷ ±۱۷۸/۷) بود. بالعکس در ۲۴ ساعت بعد از جراحت گروه های تحت درمان با دوز های اندک (pg/m1 ۳۲/۸ ±۲۲۴/۶) و زیاد استروژن (pg/m1 ۳۰/۱



شکل۱- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان IL-1β (pg/ml) مغزی در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14).
*: اختلاف معنی دار گروه های E1 و E2 با گروه حلال در ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۵)، **: اختلاف معنی دار گروه E2 با گروه حلال در ساعت ۶ بعد از ضربه (p< ۰/۰۱)، ***: اختلاف معنی دار گروه P1 با گروه حلال در ساعت ۶ بعد از ضربه (p< ۰/۰۰۱).

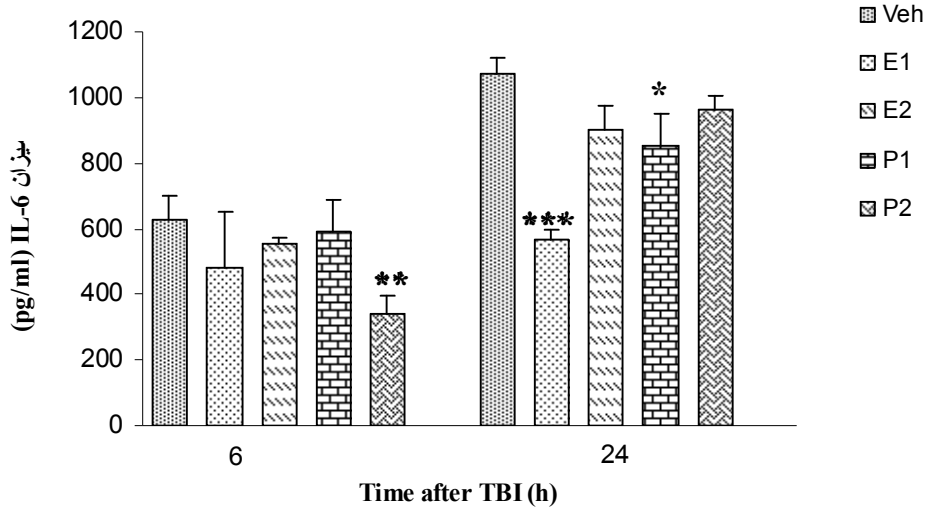


شکل۲- در صد تغییرات سیتوکین های IL-1β، IL-6، TNF-αو TGF-β بعد از TBI نسبت به شم در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی (n=14). *: اختلاف معنی دارIL-6 در گروه تروما در ساعت ۶ با ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۵)، **: اختلاف معنی دار IL-1β و TGF-β در گروه تروما در ساعت ۶ با ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۱).

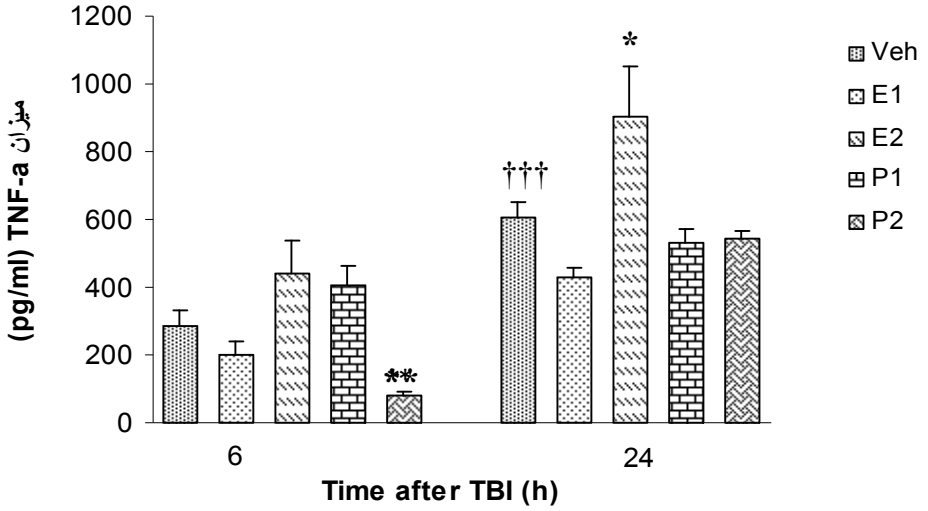
±۲۲۳/۶) مقادیر مغزی IL-1β در آن ها کمتر از گروه تحت درمان حلال (۲۴/۴pg/m1 ±۳۰۹/۶) بود.

مقدار IL-1β مغزی در حیوان های جراحت دیده در ۶ ساعت بعد از جراحت کمتر از گروه شم بود، در حالی که بالعکس میزان این سیتوکین در حیوان های جراحت دیده در ۲۴ ساعت بعد از جراحت بیشتر از گروه های شم بود که این بدین معنی است که ترومای منتشر مغزی در مراحل اولیه تروما باعث کاهش IL-1β و در مراحل بعدی باعث افزایش IL-1β می شود (P< ۰/۰۱) (نمودار۲). اختلاف معنی دار بین گروههای تحت درمان با حلال در زمان های ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI وجود ندارد.

کاهش میزان IL-6 مغزی توسط استروئیدهای جنسی: میزان IL-6 مغزی در هر یک از زمان های ۶ یا ۲۴ ساعت بعد از TBI. در ۶ ساعت بعد از TBI، در گروه TBI تحت درمان با دوز زیاد پروژسترون (۵۲/۷ pg/m1 ±۳۴۰/۳)، میزان IL-6 مغزی آن کمتر از گروه تحت درمان حلال (pg/m1 ۲۸/۴±۶۲۹/۱) بود (P<۰/۰۱). علاوه بر این دوزهای فیزیولوژیک و فارماکولوژیک پروژسترون با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند (p<۰/۰۵). در ساعت ۲۴ بعد از TBI نه تنها دوز اندک پروژسترون (P< ۰/۰۵، ۹۹/۱ pg/m1 ±۸۵۲/۴)، بلکه دوز اندک استروژن (P< ۰/۰۰۱ ، ۳۲/۷ pg/m1 ±۵۶۳) در مقایسه با گروه تحت درمان با حلال (۴۶/۱ pg/m1



شکل ۳- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان IL-6 (pg/ml) در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14). *: اختلاف معنی دار گروه P1 با گروه حلال در ساعت ۲۴ (p< ۰/۰۵)، **: اختلاف معنی دار گروه P2 با گروه حلال در ساعت ۶ بعد از ضربه (p< ۰/۰۱)، ***: اختلاف معنی دار گروه E1 با گروه حلال در ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۰۱).

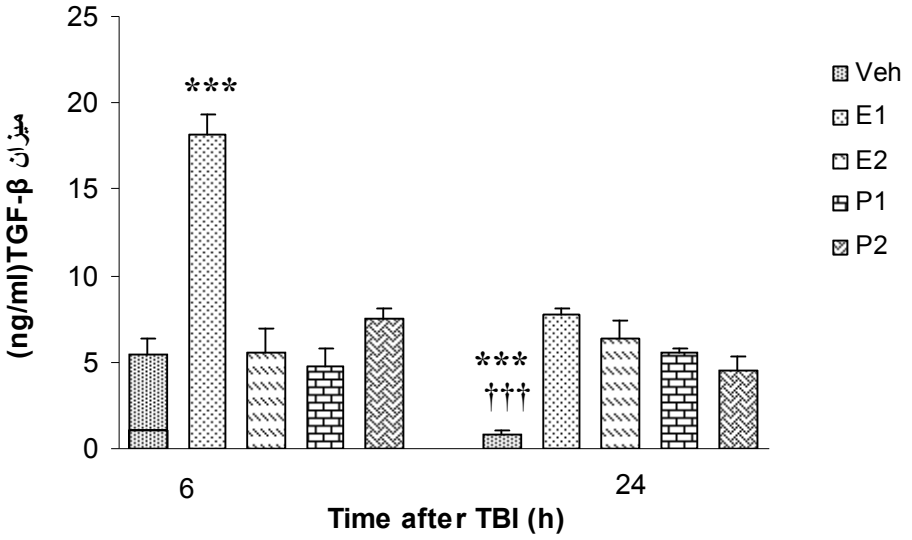


شکل ۴- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان TNF-α (pg/ml) در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14).
*: اختلاف معنی دار گروه E2 با گروه حلال در ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۵). **: اختلاف معنی دار گروه P2 با گروه حلال در ساعت ۶ بعد از ضربه (p< ۰/۰۱)، † † †: اختلاف معنی دار گروه های حلال در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه با یکدیگر (p< ۰/۰۰۱).

±۱۰۷۳) مقدار مغزی IL-6 را کاهش داده اند، بدین معنی که با گذشت زمان اثر مهاری استروژن روی میزان IL-6 آشکار شده است. مقادیر مغزی IL-6 در حیوان های جراحت دیده در ساعت ششم بیشتر از گروه شم ولی در ساعت ۲۴ کمتر از شم بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۲)؛ اگر چه میزان IL-6 در گروه تحت درمان با حلال در ساعت ۲۴ بعد از TBI بیشتر از همین گروه در ساعت ۶ بود، اما این اختلاف معنی دار نبود.

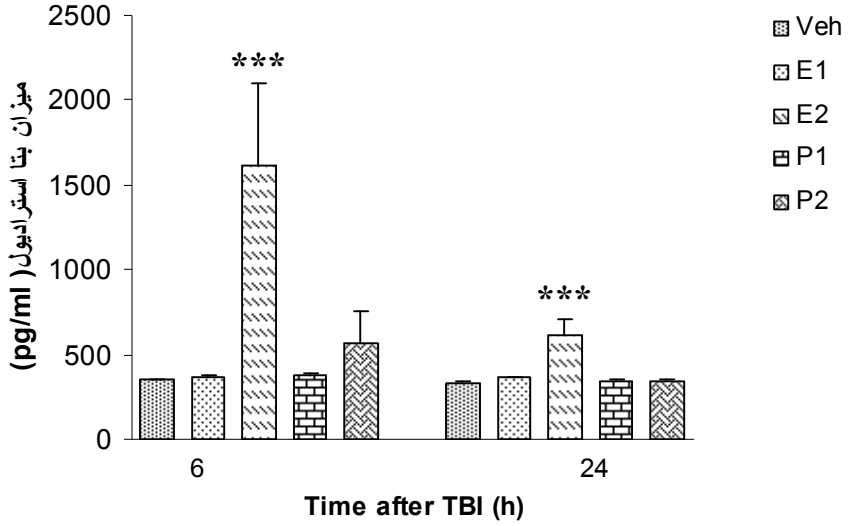
تغییرات متفاوت میزان TNF-α در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از TBI: در نمودار ۴، آنالیز اثر دوزهای مختلف استروژن و پروژسترون بر روی میزان مغزی TNF-α در زمانهای ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI نمایش داده شده است. میزان TNF-α در گروه تحت درمان با دوز فارماکولوژیک پروژسترون در ساعت ۶ بعد از TBI (۱/۰۹ pg/ml ±۸۰/۴) کمتر از گروه تحت درمان با حلال (۴۲/۶ pg/ml ±۲۸۷/۲) بود (p<۰/۰۱)؛ البته همین اختلاف معنی دار بین دوز زیاد پروژسترون با دوز اندک پروژسترون و دوزهای مختلف استروژن وجود دارد (p<۰/۰۱). اگرچه در طول زمان، میزان TNF-α در گروه ترومایی تحت درمان با حلال افزایش پیدا کرده است، اما اثرات استروئیدهای جنسی معکوس می شود، به طوری که میزان TNF-α در گروه تحت درمان دوز فارماکولوژیک استروژن (۲۴۸/۵ pg/ml ±۹۰۲/۱) بیشتر از گروه ترومایی تحت درمان با حلال (۴۶/۹ pg/ml ±۶۰۷/۲) بود (p<۰/۰۵). مقدار TNF-α مغزی در حیوان ترومایی در ساعت ۶ بعد از TBI بیشتر از گروه شم بود و در ساعت ۲۴، در گروه ترومایی کمتر از شم بود (نمودار ۲). هم چنین میزان TNF-α مغزی در گروه ترومایی تحت درمان با حلال در ساعت ۲۴ بیشتر از ساعت ۶ بعد از TBI است (p<۰/۰۰۱).

افزایش میزان TGF-β مغزی توسط استروئیدهای جنسی بعد از TBI: مقدار TGF-β مغزی در ساعات مختلف بعد از TBI در نمودار ۵ نشان داده شده است. اگرچه میزان TGF-β در گروه ترومایی تحت درمان با حلال (۰/۸ ng/m1 ±۷/۴) در ۶ ساعت بعد از TBI در مقایسه با گروه شم افزایش نشان نمی دهد، اما دوز فیزیولوژیک استروژن (۱/۱ ng/m1 ±۱۸/۲) در مقایسه با گروه ترومایی تحت درمان با حلال، میزان TGF-β را افزایش داده است (p<۰/۰۰۱). این افزایش در حدی بود که اختلاف معنی دار بین دوز فیزیولوژیک استروژن با بقیه گروه ها نیز وجود داشت (P<۰/۰۰۱). اگرچه با گذشت زمان میزان TGF-β مغزی در گروه ترومایی تحت درمان با حلال (۰/۲ ng/m1 ±۰/۸) کاهش پیدا کرد، اما همه دوزهای فیزیولوژیک یا فارماکولوژیک استروژن یا پروژسترون باعث افزایش میزان TGF-β در مقایسه با گروه ترومایی تحت درمان با حلال شدند (P<۰/۰۰۱). مقدارTGF-β در ساعت ۶ بعد از ضربه بیشتر از شم و در ساعت ۲۴ بعد از TBI کمتر از گروه شم بود (P<۰/۰۱) (نمودار۲). میزان TGF-β در گروه تحت درمان با حلال با گذشت زمان (۲۴ ساعت بعد از TBI) شدیداً کاهش پیدا کرده است (P<۰/۰۰۱).

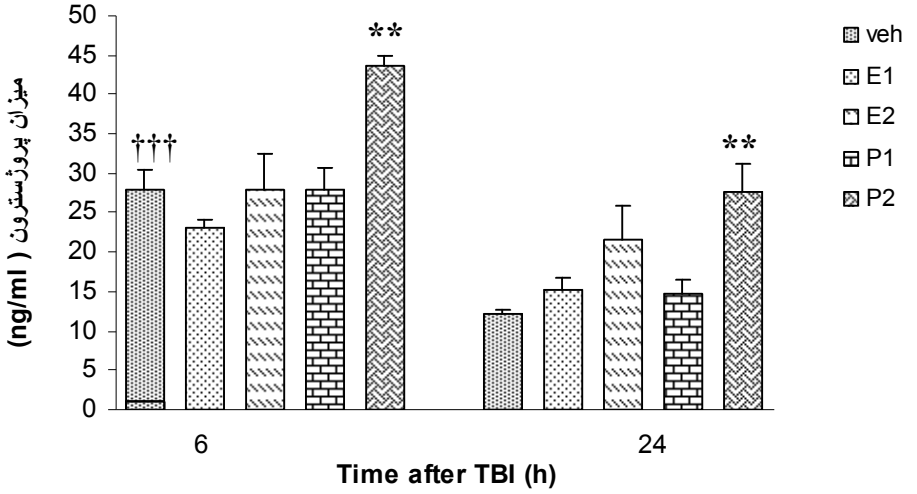


شکل ۵- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان TGF-β (ng/ml) در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14).
***: اختلاف معنی دار همه گروه های تحت درمان با استروئیدهای جنسی با گروه حلال در ساعت ۲۴ و گروه E1 با گروه حلال در ساعت ۶ بعد از ضربه (p< ۰/۰۰۱)،
† † †: اختلاف معنی دار گروه های حلال در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه با یکدیگر (p< ۰/۰۰۱).

تغییرات در غلظت استروژن و پروژسترون در بافت مغزی: تغییرات در غلظت های ۱۷-بتا- استرادیول و پروژسترون در گروه های مختلف مطالعه در زمان های ۶ و ۲۴ ساعت بعد از TBI در نمودارهای ۶ و ۷ نشان داده شده است. اگرچه در ساعت ۶ و ۲۴ بعد از TBI غلظت ۱۷- بتا استرادیول مغزی به ترتیب ۵/۶ pg/m1 ±۳۵۲/۲ و ۱۰/۵ pg/m1 ±۳۳۳ /۴ بود، اما اختلاف معنی دار بین آنها مشاهده نشد، فقط در گروه های تحت درمان با دوز زیاد استروژن در ۶ ساعت (۴۸۴/۹ pg/m1 ± ۱۶۱۹/۷) و در ۲۴ ساعت (۹۴/۳ ng/m1 ±۶۰۸/۷)، بعد از TBI غلظت ۱۷- بتااستراديول بیشترین بود (P<۰/۰۰۱). با گذشت زمان بعد از تزریق استروژن، غلظت آن در بافت مغزی در ساعت ۲۴ در مقایسه با ساعت ۶ بعد از TBI کاهش نشان داد (P<۰/۰۰۱). غلظت پروژسترون بافت مغزی با گذشت زمان کاهش پیدا می کند، به طوری که این غلظت در گروه ترومایی تحت درمان با حلال در ساعت ۶ بعد از TBI ۲/۵ pg/m1 ±۲۷/۹ است که دارای اختلاف معنی دار با همین گروه در



شکل ۶- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان بتا – استرادیول (pg/ml) در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14). ***: اختلاف معنی دار گروه E2 با گروه حلال در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۰۱).



شکل ۷- اثر مصرف استروژن و پروژسترون برروی میزان پروژسترون(ng/ml) در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه مغزی منتشر در موش های صحرایی فاقد تخمدان (n=14). **: اختلاف معنی دار گروه P2 با گروه حلال در ساعات ۶ و ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۱)، † † †: اختلاف معنی دار گروه حلال در ساعت ۶ با ساعت ۲۴ بعد از ضربه (p< ۰/۰۰۱).

ساعت ۲۴ بعد از TBI (۰/۵۱ ng/m1 ±۱۲/۳) است (p<۰/۰۰۱). در ساعات ۶ (۱/۴ ng/m1 ±۴۳/۶) و ۲۴ (۳/۶ ng/m1 ±۲۷/۷) بعد از TBI غلظت پروژسترون در گروه ترومایی تحت درمان با دوز فارماکولوژیک پروژسترون بیشتر از بقیه گروه های ترومایی بود (P<۰/۰۱).

بحث

نتایج نشان دادند علی رغم این که هر دو هورمون در نیم ساعت بعد از TBI مصرف شده اند، استروژن در دوز زیاد و پروژسترون در دوز کم باعث افزایش IL-1β مغزی بعد از TBI در فاز حاد جراحت یعنی ۶ ساعت بعد از TBI می شوند، در حالی که دوز های اندک استروژن یا زیاد پروژسترون تأثیر نداشتند. با گذشت زمان؛ یعنی در ۲۴ ساعت بعد از TBI اثرات این هورمون ها روی میزان IL-1β مغزی معکوس می شود، به طوری که دوزهای اندک و زیاد استروژن باعث کاهش میزان این سیتوکین در مغز می شوند و اثر پروژسترون ناپدید می شود. این داده ها پیشنهاد می کنند که تأثیر استروژن و پروژسترون در اثر گذاری بر میزان IL-1β وابسته به زمان و دوز است. TBI منجر به کاهش ۵۱ درصدی IL-1β در فاز حاد جراحت (یعنی ۶ ساعت بعد از جراحت) می شود، در حالی که باعث افزایش ۱۳۰ درصدی IL- 1β در فاز تأخیری (یعنی ۲۴ ساعت بعد از جراحت) می شود.

نتایج این مطالعه در ارتباط با تغییر موقتی در میزان IL-1β بعد از TBI، هماهنگ با مطالعات دیگران است، تغییر در میزان سیتوکین ها در مدل های مختلف جراحت از قبیل ایسکمی مغز قدامی [۴۵] ، جراحت ناشی از percussion – fluid [۴۵]، جراحت طناب نخاعی [۴۳] و جراحت تروماتیک تجربی در مغز [۲۶, ۳۰] گزارش شده است. تغییر در میزان سیتوکین ها معمولاً در ۳۰ دقیقه بعد از جراحت شروع شده و حداقل تا ۲۴ ساعت بعد از جراحت ادامه دارد. مشاهده افزایش IL- 1β در ساعت ۶ بعد از TBI در موش صحرایی در مطالعه حاضر، برای mice بعد از ایسکمی مغزی [۲۲] و برای موش صحرایی بعد از ایسکمی ترانزیت [۲۸]، بعد از آسیب های مغزی [۱۹] و بعد از TBI [۲] نیز گزارش شده است. علل احتمالی افزایش IL-1β توسط استروژن و پروژسترون عبارتند از: عدم تأثیر احتمالی این هورمون ها در غلظت های به کار برده شده در این مطالعه [۹, ۱۴, ۲۱]، افزایش واقعی این سیتوکین التهاب زا، توسط این هورمون ها به علت اثر التهاب زایی آن ها [۵] و یا این که چون حداکثر غلظت IL-1β، ۴۸ ساعت بعد از TBI به وجود می آید [۲۵] با توجه به زمان اندازه گیری در ۶ ساعت بعد از TBI اثرات این هورمون ها آشکار نشده است: تعدادی از مطالعات، اثرات کاهشی استروژن [۶, ۱۶] و پروژسترون [۲, ۱۲] را بر روی IL-1β بعد از جراحت نشان داده اندکه دلایل احتمالی اختلاف نتایج آن ها با مطالعه حاضر بستگی به نوع و شدت جراحت، دوز مصرفی و زمان

مصرف هورمون ها و هم چنین نوع حلال بـه کـار بـرده شـده دارد.

از سوی دیگر کاهش ساخت IL-1β توسط استروژن در ۲۴ ساعت بعد از تروما هـم زمـان بـا افـزایش بیـان ژن و سـاخت حداکثری این سیتوکین اسـت [۱۰] و از آن جـایی کـه غلظـت IL-1β در بیماران بـا ICP بـالاتر در مقایسـه بـا ICP کمتـر، بیشتر است [۴۰]؛ بنابراین تغییر در میزان مغزی IL-1β توسـط استروژن (هـر دو دوز آن) مـی توانـد یکـی از مکانیسـم هـای واسـطه بـرای عمـل ضـد التهـابی اسـتروژن و بقیـه اعمـال نوروپروتکتیوی آن باشد. کاهش میـزان ایـن سـیتوکین توسـط استروژن هماهنگ بـا مطالعـات دیگـران اسـت [۶, ۱۶] و هـم چنین عدم تـأثیر پروژسـترون بـر روی میـزان IL-1β توسـط پژوهش هـای دیگـران نیـز تأییـد شـده اسـت [۱۸]. احتمـالاً پروژسترون از طریق مکانیسم های دیگر اثر ضد خیزی خود را اعمال نموده اسـت [۹, ۱۳, ۲۴]. البتـه بعضـی از مطالعـات بـر خلاف نتایج مطالعه حاضر، اثـر کاهشـی بـرای پروژسـترون در ارتباط با IL-1β بعـد از TBI مطـرح نمـوده انـد [۲, ۹, ۱۲]؛ علاوه بر این گزارش شده است که استروژن در فاز اول جراحت (۶ ساعت بعد از تزریق) باعث افزایش و در فازهای بعدی باعث کاهش می شود، در حالی که پروژسترون فقـط دارای یـک اثـر است [۶]؛ بنابراین بر اساس نتایج مطالعه حاضر در شرایطی که (۶ ساعت بعد از TBI) که غلظت IL-1β پائین است اسـتروژن و پروژسترون نقش افزایشـی بـرای ایـن سـیتوکین دارنـد و در شرایطی که (۲۴ ساعت بعد از TBI) که غلظـت IL-1β بـالا است، فقط استروژن نقـش مهـاری بـرای ایـن سـیتوکین دارد، بدین معنی کـه احتمـالاً ایـن سـیتوکین واسـطه بـرای اثـرات نوروپروتکتیو استروژن هم در فاز حاد و هم در فاز تأ خیری بعـد از جراحت است در حالی که فقط در فاز حاد، واسطه برای اثرات پروژسترون در مغز بعد از TBI است.

از آن جایی که غلظت بتا- استرادیول مغزی در گـروه دوز زیاد بیشتر از دوز اندک است و احتمـالا"ایـن افـزایش غلظـت، علت موثر بودن دوز زیاد در ۶ ساعت بعد از تروما اسـت، در ۲۴ ساعت بعد از تروما هر دو دوز موثر بودند و می توان احتمال داد که غلظت فیزیولوژیک مغزی برای پیدایش این اثر کافی است. این احتمال برای دوز های پروژسترون هم مطرح است.

بخش دیگر نتایج این مطالعه نشان دادند کـه، پروژسـترون هم در فاز حاد (دوز زیاد آن) و هم در فـاز تـأخیری (دوز انـدک آن) باعث کاهش IL-6 می شود، اگر چه ایـن اثـر توسـط دوز های مختلف پروژسترون ایجاد می شود، اما دوز اندک استروژن فقط با گذشت زمان (۲۴ ساعت بعد از TBI) اثـر کاهشـی آن روی این سیتوکین آشکار می شود. TBI منجر به یک افـزایش ۲۲۰ درصدی در IL-6 در فاز حـاد جراحـت (۶ سـاعت بعـد از TBI) می شود، در حالی که غلظت این سیتوکین در ۲۴ ساعت بعد از TBI حدود ۲۵ درصد کاهش پیدا می کنـد، یعنـی یـک پیک افزایش برای این سیتوکین در فاز حاد داریـم کـه بتـدریج تبدیل به کاهش در فـاز تـأخیری مـی شـود. از آن جـایی کـه پروژسترون هم در فاز حاد و هم در فاز مزمن کـاهش IL-6 را موجب شده است به نظر می رسد که این سـیتوکین در واسـطه گری عمل ضد التهابی پروژسترون در مقایسه با استروژن نقش بیشتری داشته باشد. زیرا گزارش شده است کـه افـزایش IL-6 منجر به از دست رفـتن نـورونی، اخـتلال در عملکـرد BBB و نارسایی عروقی همراه با بیماری شدید نورولوژی می شود [۲۴]. اگر چه مکانیسم های ضد التهابی دیگر این هورمون ها را کـه در فوق بیان شد و هم چنین تغییر در تعداد و پاسخ دهی گیرنده این هورمون ها بعد از TBI را نیز نباید از نظر دور داشـت [۲۷] و این که اثر پروژسـترون در فازهـای مختلـف بعـد از جراحـت بستگی به دوز مصـرفی دارد. ایـن نتیجـه هماهنـگ بـا نتـایج مطالعه دیگری است [۲]؛ علاوه بر این اثـر کاهشـی اسـتروژن روی این سیتوکین نیز گزارش شده است [۱۷].

اندازه گیری غلظت پروژسترون مغزی در ۶ سـاعت بعـد از تروما، نشان دهنده افزایش آن در گروه دوز زیاد در مقایسـه بـا دوز اندک است و شاید این افزایش پروژسترون مغزی در گـروه دوز زیاد علت موثر بودن دوز زیاد پروژسترون برای کاهش IL-6 در ۶ ساعت بعد از TBI باشد؛ اگر چـه در ۲۴ سـاعت بعـد از ضربه، اندازه گیری غلظت بتا-استرادیول در مغـز در گـروه دوز اندک استروژن و هم چنـین پروژسـترون مغـزی در گـروه دوز اندک پروژسترون دارای اختلاف معنی دار با گروه حلال نیست، اما احتمالا"غلظت پایه در این گروه هـا بـرای پیـدایش اثـرات ناشی از این هورمون ها کافی است، اگر چه احتمالات دیگـری از قبیل تغییر در تعداد و پاسخ دهی گیرنده این هورمون ها بعـد از TBI را نیز باید دخیـل دانسـت. تعـدادی از مطالعـات نتـایج مخالف با نتایج پژوهش حاضر برای اثر استروژن و پروژسترون

بر روی IL-6 گزارش نموده انـد [۴, ۲۱] کـه دلایـل احتمـالی اختلاف نتایج این مطالعات با پژوهش حاضر مربوط بـه نـوع و شدت جراحت، زمان مصرف هورمون ها و هم چنین نوع حلال به کار برده شده است.

نتایج بخش دیگر پژوهش نشان دادند که پروژسـترون (دوز زیاد) در فاز حاد باعث کاهش TNF-α می شود در حالی که بـا گذشت زمان این توانایی را از دست می دهد و اثرات اسـتروژن (دوز زیاد) به صورت افزایش TNF-α آشکار مـی شـود. یعنـی این که اثرات این استروئیدهای جنسی بر روی TNF-α نه تنها وابسته به زمان است، بلکـه فقـط دوزهـای زیـاد آن هـا مـؤثر هستند که این اثرات توسط دوز هـای زیـاد ایـن هورمـون هـا هماهنگ با بالا بودن غلظت مغزی این هورمـون هـا در گـروه های با دوز زیاد استروژن و پروژسترون است. از آن جـایی کـه گزارش شده است افزایش TNF-α در مرحله حاد بعـد از TBI مضر است [۴۴]، بنابراین اثر کاهشی پروژسترون بـر روی ایـن سیتوکین در فاز حاد جراحت، باعث جلوگیری از اثرات مضر این سیتوکین روی BBB، خیز مغـز، خـروج گلبـول هـای سـفید و نکروزیس [۳۶] شده است و بدین وسیله اثر نوروپروتکتیو خـود را اعمال نموده است. از سوی دیگـر گـزارش شـده اسـت کـه افزایش TNF-α در دراز مدت (فـاز مـزمن) بعـد از جراحـت از طریـق افـزایش NGF مفیـد اسـت [۲۴]، بنـابراین احتمـالاً اسـتروژن از طریـق افـزایش TNF-α در فـاز تـأخیری نقـش پروتکتیو خود را اعمال نموده است.

TBI منجر به افزایش ۳۰ درصـدی TNF-α در فـاز حـاد جراحت (۶ ساعت بعد از TBI) و کـاهش ۵۰ درصـدی در ایـن سیتوکین در فاز تأخیری جراحت (۲۴ ساعت بعد از TBI) مـی شود، اگر چه اختلاف معنی دار برای این سیتوکین در دو زمـان مختلف بعد از جراحت وجود ندارد. افزایش TNF-α بـه دنبـال TBI به عنوان نتیجه ای از پاسخ پارانشـیم مغـز بـه جراحـت گزارش شده است [۳۷]. از آن جایی که اثر مهـاری IL-6 روی تولید TNF-α نشان داده شده است، این احتمـال مطـرح مـی شود که شاید دوز زیاد پروژسترون در فاز حاد جراحت از طریـق کاهش IL-6، کاهش TNF-α را موجب شده اسـت [۲۴]. اثـر کاهشی پروژسترون روی TNF-α در فـاز حـاد جراحـت [۶] و افزایش آن به وسیله استروژن و عدم تأثیر پروژسـترون در فـاز تأخیری جراحت توسط مطالعات دیگران نیز تأیید شده است [۹, ۱۶]. با این وجود در کنار اثر استروژن در کـاهش IL-1β، IL-6، اثر افزایشی آن برای TNF-α را نیز به عنوان یک مکانیسم احتمالی دخیل در اثر ضد التهابی اسـتروژن مـی تـوان در نظـر گرفت. البته تعدادی پژوهش که دارای نتایج مخـالف بـا نتـایج مطالعه حاضر می باشند، نیز وجود دارنـد [۱۶, ۱۷] کـه دلایـل احتمالی تفاوت در نتایج، در پاراگراف قبلی مطرح شد.

مطالعه حاضر هم چنین نشان داد که دوز اندک استروژن در فاز حاد جراحت، افزایش TGF-β را موجـب مـی شـود کـه بـا گذشت زمان نه تنها هورمون استروژن باعث افـزایش TGF-β می شود، بلکه هم چنین هر دو دوز (اندک و زیاد) این هورمون ها نیز در فاز تـأخیری افـزایش ایـن سـیتوکین را موجـب مـی شوند.البته در مجموع اثـرات اسـتروژن خیلـی قـویتر از اثـرات پروژسترون است، به طوری کـه علـی رغـم افـزایش TGF-β توسط TBI در فـاز حـاد، اسـتروژن مجـدد افـزایش اضـافی را موجب شده است. با توجه به این که اثرات ضد التهابی TGF-β بر اثرات التهاب زایی آن غالب است؛ بنابراین احتمـالاً یکـی از مکانیسم های ضـد التهـابی اسـتروئیدهای جنسـی، عـلاوه بـر مکانیسم های دیگر افزایش TGF-β است، تعدادی از مطالعات اثر استروژن و پروژسترون را بر روی TGF-β گـزارش نمـوده اند [۹, ۱۱]. این هورمون ها احتمالاً از طریـق تغییـر در میـزان IL- 1β [۱۳]، تغییر در رهـایش سـیتوکین هـا از یاختـه هـای مغزی و سلول های خونی، جلـوگیری از تخریـب BBB [۲۴]، افزایش TGF-β را موجب شده است. TBI بـا سـرعت باعـث افـزایش حـدود ۲۵۰ درصـدی TGF-β در سـاعت ۶ بعـد از جراحت می شود که این اثر TBI در ساعت ۲۴ بعد از جراحـت از بین می رود. افزایش ساخت TGF-β بعد از TBI در روز اول جراحت رخ می دهد [۲۰]. TGF-β باعث مهار تولیـد IL-1β، TNF-α و رادیکال های آزاد اکسـیژن مـی شـود و احتمـالاً از همین طریق اثرات ضد التهـابی خـود را اعمـال مـی کنـد [۳]. افزایش در TGF-β به دنبال تروما در دو زمان مختلـف توسـط Rimaniol و همکاران گزارش شده است [۳۴]. البتـه گـزارش مخالف با مشاهده حاضر مبنی بر افزایش TGF-β در فاز مزمن ترومای مغزی وجود دارد [۲۶].

در مجمـوع مطالعـه حاضـر نشـان داد کـه اسـتروژن و پروژسترون دارای اثـرات زودرس (۶ سـاعت بعـد از TBI) در افزایش IL-1β و TGF-β و پروژسترون اثـر کاهشـی زودرس

در IL-6 و TNF-α می باشد و این حداقل یک توضیح برای این است که چرا باید درمان با این هورمون ها را ترجیحاً فوراً بعد از جراحت مغزی انجام دهیم. هم چنین نشان داده شد که نه تنها استروئیدهای جنسی در فاز حاد جراحت مغزی مؤثر هستند بلکه استروژن در فاز تأخیری نیز باعث کاهش IL-1β و IL-6 و افزایش TNF-α و TGF-β می شود. پروژسترون نیز در فاز تأخیری کاهش IL-6 و افزایش TGF-β را موجب می شود. به نظر می رسد که اولاً استروژن بیشتر در فاز حاد و پروژسترون بیشتر در فاز تأخیری روی غلظت سیتوکین های مغزی اثر می گذارند و ثانیاً این اثرات به دوز مصرفی استروئیدها بستگی دارد. علاوه بر این نتایج ما پیشنهاد می کنند که تغییر در سیتوکین های پیش برنده التهاب یکی از مکانیسم های احتمالی عمل ضد التهابی (ضد خیز مغزی) این استروئیدها می باشد و مکانیسم های دیگر نیز ممکن است در اثرات نوروپروتکتیو این مواد دخیل باشند و در پژوهش های آینده باید مشخص شود که چه مکانیسمی اینتراکشن بین استروئیدهای جنسی و سیتوکین های التهابی را واسطه می کند.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل تلاش طرح تحقیقاتی می باشد که در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و مرکز تحقیقات فیزیولوژی اهواز تصویب شده و بنابراین بدین وسیله از زحمات رؤسای این مراکز و بقیه همکاران تشکر به عمل می آید، هم چنین از جناب آقای دکتر مشتاقی کاشانیان، سرکارخانم یزدان پناه، آقای قطبی، آقای بخشی و آقای مهدیزاده نیز تقدیر و تشکر به عمل می آید.

References

[1] Ahmad molaie L, Khaksari M, Sepehri G, Dabiri S, Asadikaram G, Mahmodi M, Shahrokhi N, Comparison of the effects of progesterone, allopregnanolone and gender on supressing edema formation after traumatic brain injury. ***J Kerman Univ Med Sci*** 15 (2007) 47-59.

[2] Chen G, Shi J, Jin W, Wang L, Xie W, Sun J, Hang C, Progesterone dministration modulates TLRs/NF-kappaB signaling pathway in rat brain after cortical contusion. ***Ann Clin Lab Sci*** 38 (2008) 65-74.

[3] Chiaretti A, Antonelli A, Riccardi R, Genovese O, Pezzotti P, Di Rocco C, Tortorolo L, Piedimonte G, Nerve growth factor expression correlates with severity and outcome of traumatic brain injury in children. ***Eur J Paediatr Neurol*** 12 (2008)195-204.

[4] Crandall C, Palla S, Reboussin B, Hu P, Barrett-Connor E, Reuben D, Greendale G, Cross-sectional association between markers of inflammation and serum sex steroid levels in the postmenopausal estrogen/progestin interventions trial. ***J Womens Health*** 15 (2006) 14-23.

[5] Cutolo M, Capellino S, Sulli A, Serioli B, Secchi ME, Villaggio B, Straub RH, Estrogens and autoimmune diseases. ***Ann N Y Acad Sci*** 1089 (2006) 538-547.

[6] Das C, Kumar VS, Gupta S, Kumar S, Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells. ***J Reprod Immunol*** 53 (2002) 257-268.

[7] Dore-Duffy P, Balabanov R, Washington R, Swanborg RH, Transforming growth factor beta 1 inhibits cytokine-induced CNS endothelial cell activation. ***Mol Chem Neuropathol*** 22 (1994) 161-175.

[8] Galani R, Hoffman SW, Stein DG, Effects of the duration of progesterone treatment on the resolution of cerebral edema induced by cortical contusions in rats. ***Restor Neurol Neurosci*** 18 (2001) 161-166.

[9] Gibson CL, Constantin D, Prior MJ, Bath PM, Murphy SP. Progesterone suppresses the inflammatory response and nitric oxide synthase-2 expression following cerebral ischemia. ***Exp Neurol*** 193 (2005) 522-530.

[10] Hans VH, Kossmann T, Joller H, Otto V, Morganti-Kossmann MC, Interleukin-6 and its soluble receptor in serum and cerebrospinal fluid after cerebral trauma. ***Neuroreport*** 10 (1999) 409-412.

[11] Hatthachote P, Gillespie JI, Complex interactions between sex steroids and cytokines in the human pregnant myometrium: evidence for an autocrine signaling system at term. ***Endocrinology*** 140 (1999) 2533-2540.

[12] He J, Evans CO, Hoffman SW, Oyesiku NM, Stein DG, Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury. Exp Neurol 189 (2004) 404-412.

[13] Hoffman GE, Merchenthaler I, Zup SL, Neuroprotection by ovarian hormones in animal models of neurological disease. ***Endocrine*** 29 (2006) 217- 231.

[14] Holmin S, Hojeberg B, In situ detection of intracerebral cytokine expression after human brain contusion. ***Neurosci Lett*** 369 (2004) 108-114.

[15] Holmin S, Mathiesen T, Intracerebral administration of interleukin-1beta and induction of inflammation, apoptosis, and vasogenic edema. ***J Neurosurg*** 92 (2000) 108-120.

[16] Houdeau E, Moriez R, Leveque M, Salvador-Cartier C, Waget A, Leng L, Bueno L, Bucala R, Fioramonti J, Sex steroid regulation of macrophage migration inhibitory factor in normal and inflamed colon in the female rat. ***Gastroenterology*** 132 (2007) 982-993.

[17] Jain SK, Kannan K, Prouty L, Jain SK, Progesterone, but not 17beta-estradiol, increases TNF-alpha secretion in U937 monocytes. ***Cytokine*** 26 (2004)102-105.

[18] Jones NC, Constantin D, Prior MJ, Morris PG, Marsden CA, Murphy S, The neuroprotective effect of progesterone after traumatic brain injury in male mice is independent of both the inflammatory response and growth factor expression***. Eur J Neurosci*** 21 (2005) 1547-1554.

[19] Jones NC, Prior MJ, Burden-Teh E, Marsden CA, Morris PG, Murphy S, Antagonism of the interleukin-1 receptor following traumatic brain injury in the mouse reduces the number of nitric oxide synthase-2-positive cells and improves anatomical and functional outcomes. ***Eur J Neurosci*** 22 (2005) 72-78.

[20] Jonsson D, The biological role of the female sex hormone estrogen in the periodontium--studies on human periodontal ligament cells. ***Swed Dent J Suppl*** (2007) 11-54.

[21] Lacut K, Oger E , Le Gal G, Blouch MT, Abgrall JF, Kerlan V, Scarabin PY, Mottier D, Differential effects of oral and transdermal postmenopausal estrogen replacement therapies on C-reactive protein. ***Thromb Haemost*** 90 (2003) 124-131.

[22] LaMarca BD, Chandler DL, Grubbs L, Bain J, McLemore GR, Granger JP, Ryan MJ, Role of sex steroids in modulating tumor necrosis factor alpha-induced changes in vascular function and blood pressure. ***Am J Hypertens*** 20 (2007) 1216-1221.

[23] Lawrence CB, Allan SM, Rothwell NJ, Interleukin-1beta and the interleukin-1 receptor antagonist act in the striatum to modify excitotoxic brain damage in the rat. ***Eur J Neurosci*** 10 (1998) 1188-1195.

[24] Lenzlinger PM, Morganti-Kossmann MC, Laurer HL, McIntosh TK, The duality of the inflammatory response to traumatic brain injury. ***Mol Neurobiol*** 24 (2001) 169-181.

[25] Maegele M, Sauerland S, Bouillon B, Schafer U, Trubel H, Riess P, Neugebauer EA, Differential immunoresponses following experimental traumatic brain injury, bone fracture and "two-hit"-combined neurotrauma. ***Inflamm Res*** 56 (2007) 318-323.

[26] McIntosh TK, Juhler M, Wieloch T, Novel pharmacologic strategies in the treatment of experimental traumatic brain injury. ***J Neurotrauma*** 15 (1998) 731-769.

[27] Merchenthaler I, Dellovade TL, Shughrue PJ, Neuroprotection by estrogen in animal models of global and focal ischemia. ***Ann N Y Acad Sci*** 1007 (2003) 89-100.

[28] Minami M, Kuraishi Y, Yabuuchi K, Yamazaki A, Satoh M, Induction of interleukin-1 beta mRNA in rat brain after transient forebrain ischemia. ***J Neurochem*** 58 (1992) 390-392.

[29] Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Stahel PF, Kossmann T, Inflammatory response in acute traumatic brain injury: a double-edged sword. ***Curr Opin Crit Care*** 8 (2002) 101-105.

[30] Morrison B, Saatman KE, Meaney DF, McIntosh TK, In vitro central nervous system models of mechanically induced trauma: a review. ***J Neurotrauma*** 15 (1998) 911-928.

[31] O'Connor CA, Cernak I, Vink R, Both estrogen and progesterone attenuate edema formation following diffuse traumatic brain injury in rats. ***Brain Res*** 1062 (2005) 171-174.

[32] Olsson T, Critical influences of the cytokine orchestration on the outcome of myelin antigen-specific T-cell autoimmunity in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. ***Immunol Rev*** 144 (1995) 245-268.

[33] Perel P, Arango M, Clayton T, Edwards P, Komolafe E, Poccock S, Roberts I, Shakur H, Steyerberg E, Yutthakasemsunt S, Predicting outcome after traumatic brain injury: practical prognostic models based on large cohort of international patients. ***Bmj*** 336 (2008) 425-429.

[34] Rimaniol AC, Lekieffre D, Serrano A, Masson A, Benavides J, Zavala F, Biphasic transforming growth factor-beta production flanking the pro-inflammatory cytokine response in cerebral trauma. ***Neuroreport*** 7 (1995) 133-136.

[35] Roof RL, Duvdevani R, Stein DG, Gender influences outcome of brain injury: progesterone plays a protective role. Brain Res 607(1993) 333-336.

[36] Ross SA, Halliday MI, Campbell GC, Byrnes DP, Rowlands BJ, The presence of tumour necrosis factor in CSF and plasma after severe head injury. Br ***J Neurosurg*** 8 (1994) 419-425.

[37] Rostworowski M, Balasingam V, Chabot S, Owens T, Yong VW, Astrogliosis in the neonatal and adult murine brain post-trauma: elevation of inflammatory cytokines and the lack of requirement for endogenous interferon-gamma. ***J Neurosci*** 17 (1997) 3664-3674.

[38] Shahabinejad M, Khaksari M, Inspection of 17-beta estradiol effect on wound recovery in ovarectomized rats. ***J Semnan UnivMed Sci*** 3 (2001) 1-10.

[39] Shahrokhi N, Khaksari M, Soltani Z, Mahmoodi M, Nakhai N, effect of sex steroid hormones on brain edema, intracranial pressure and neurologic outcome after traumatic brain injury.***Can J Physiol Pharmacol*** 88 (2010) 414-421.

[40] Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fuijita K, Mouri T, Tajima G, Kajino K, Nakae H, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H, Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early-phase severe traumatic brain injury. ***Shock*** 23 (2005) 406-410.

[41] Soltani Z, Khaksari M, Shahrokhi N, Nakhaei N, Shaibani V, Effect of Combined Administration of Estrogen and Progesterone on Brain Edema and Neurological Outcome after Traumatic Brain Injury in Female Rats. ***Iranian J Endocrin Metabolis*** 10 (2009) 629-638.

[42] Stein DG WD, Kellermann AL, Does progesterone have neuroprotective roperties**?** ***Ann Emerg Med*** 51 (2008) 164-172.

[43] Streit WJ, Semple-Rowland SL, Hurley SD, Miller RC, Popovich PG, Stokes BT, Cytokine mRNA profiles in contused spinal cord and axotomized facial nucleus suggest a beneficial role for inflammation and gliosis. ***Exp Neurol*** 152 (1998) 74-87.

[44] Sullivan PG, Bruce-Keller AJ, Rabchevsky AG, Christakos S, Clair DK, Mattson MP, Scheff SW, Exacerbation of damage and altered NF-kappaB activation in mice lacking tumor necrosis factor receptors after traumatic brain injury. ***J Neurosci*** 19 (1999) 6248-6256.

[45] Taupin V, Toulmond S, Serrano A, Benavides J, Zavala F, Increase in IL-6, IL-1 and TNF levels in rat brain following traumatic lesion. Influence of pre- and post-traumatic treatment with Ro5 4864, a peripheral-type (psite) benzodiazepine ligand. ***J Neuroimmun***ol 42 (1993) 177-185.

[46] Won CK, Kim MO, Koh PO, Estrogen modulates Bcl-2 family proteins in ischemic brain injury. ***J Vet Med Sci*** 68 (2006) 277-280.

[47] Wright DW, Bauer ME, Hoffman SW, Stein DG, Serum progesterone levels correlate with decreased cerebral edema after traumatic brain injury in male rats. ***J Neurotrauma*** 18 (2001) 901-909.