

بررسی اثر محافظتی پروژسترون بر عملکرد و ساختار عصب سیاتیک در موش صحرایی مبتلا به نوروپاتی دیابتی

حمیدرضا ثامنی^{۱*} (Ph.D)، مرضیه پناهی^۲ (Ph.D)، علی رضا سرکاکی^۳ (Ph.D)

۱ - دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

۲ - دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، گروه بافت شناسی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

۳ - دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: نوروپاتی دیابتی یکی از شایع ترین اختلالات بیماری دیابت و عامل اصلی قطع عضو غیر ترومایی و ضایعات اعصاب خودکار است. استروئیدهایی مثل پروژسترون قادرند به عنوان یک عامل محافظت نورونی امیدبخش در چندین مدل از ضایعات عصبی نقش ایفا نمایند. در این مطالعه ما اثرات محافظتی پروژسترون را در مدل آزمایشگاهی نوروپاتی دیابتی بررسی نمودیم.

مواد و روش ها: حیوانات به طور تصادفی به سه گروه شامل: حیوانات بدون دیابت، مبتلا به دیابت ملیتوس و دیابتی تحت درمان با پروژسترون تقسیم شدند. دیابت در موش های صحرایی نر بالغ با یک بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۵mg/kg) ایجاد شد. در گروه دیابتی تحت درمان با پروژسترون، ۴ هفته بعد از ایجاد دیابت، موش های صحرایی با تزریق داخل صفاقی پروژسترون (هر دو روز یکبار، ۸mg/kg) به مدت ۶ هفته تحت درمان قرار گرفتند.

یافته ها: در حیوانات دیابتی کاهش معنی داری در سرعت هدایت عصبی و هم چنین میانگین قطر رشته های عصبی میلین دار و ضخامت غلاف میلین عصب سیاتیک مشاهده شد. در عصب سیاتیک گروه دیابتی، ادمای اندونوریال مشاهده شد. هم چنین تعداد رشته های عصبی میلین دار حاوی چین خوردگی به داخل آکسوپلاسم، بی نظمی در رشته های عصبی، حدود نامشخص غلاف میلین و تغییراتی در تراکم میلین افزایش یافته بود. درمان طولانی مدت با پروژسترون به طور معنی داری سرعت هدایت عصبی را افزایش داده و از تمام این ناهنجاری ها در عصب سیاتیک حیوانات دیابتی تا حد زیادی جلوگیری نمود.

نتیجه گیری: یافته های ما نشان دادند که پروژسترون به عنوان یک عامل با پتانسیل درمانی می تواند تغییرات نورو فیزیولوژیک و هیستومورفومتریک ناشی از نوروپاتی محیطی دیابتی را جلوگیری نماید.

واژه های کلیدی: پروژسترون، عصب سیاتیک، نوروپاتی دیابتی، سرعت هدایت عصب، هیستومورفومتری

مقدمه

۲۰۲۵ میلادی بالغ بر ۳۶۶ میلیون نفر خواهد رسید [۱].

مهم ترین عامل مرگ و میر در بیماران دیابتی اختلالات عروق کوچک (میکروواسکولار) و متعاقب آن ضایعات عروق درشت (ماکروواسکولار) می باشد. نوروپاتی یکی از شایع ترین

دیابت در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه یک بیماری بسیار شایع و خطرناک است. بیش از ۱۷۷ میلیون نفر در جهان از بیماری دیابت رنج می برند و این تعداد تا سال

اختلالات عروق کوچک در بیماری دیابت است [۲،۳].
نوروپاتی یک عارضه چند عاملی، بسیار شایع و خطرناک دیابت است که به تغییرات متابولیک ناشی از افزایش قند خون، نارسائی انسولین و پپتید C نسبت داده می‌شود. نوروپاتی اعصاب خودکار، اعصاب حسی و حرکتی را در هر دو نوع دیابت وابسته به انسولین و غیر وابسته به انسولین تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲،۴،۵،۶،۷].

شیوع واقعی نوروپاتی دیابتی هنوز مشخص نیست اما محققین شیوع آن را از ۶۳-۱۴ درصد گزارش کرده‌اند که به نوع جمعیت مورد مطالعه و معیار مورد استفاده در تشخیص نوروپاتی بستگی دارد. تقریباً در ۶۰-۵۰ درصد از افراد دیابتی بعضی از علائم آسیب اعصاب محیطی مشاهده می‌شود. این بیماری باعث کاهش کیفیت زندگی، صرف هزینه مراقبتی زیاد و در نهایت مرگ و میر زودرس در بیماران می‌گردد [۲،۸].

شایع‌ترین نوع نوروپاتی، نوروپاتی محیطی دیابتی است که با کاهش پیش‌رونده رشته‌های عصبی مشخص می‌شود و بیماران را مستعد ایجاد درد، حساسیت اندام‌های تحتانی، زخم‌های نوروپاتی و در نهایت قطع عضو می‌کند. اثرات این بیماری بر روی عمل‌کرد عصب شامل: کاهش سرعت هدایت عصب، کاهش جریان خون عصب، کاهش حساسیت به دما، کاهش پاسخ رفلکس تاندون و کاهش توانایی در پی بردن به ارتعاش و لمس می‌باشد [۵،۸،۹].

مطالعات ریخت‌شناسی توسط Forrest و همکارانش در سال ۱۹۹۷ مؤید آن است که دیابت منجر به ایجاد آسیب‌های بافتی در عصب سیاتیک، ادم اندونوریال، تخریب آکسونی و گاهی توام با میلیون‌زدایی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که دیابت باعث ناکارآمد شدن غلاف میلین و کاهش فعالیت Na^+/K^+ -ATPase عصب سیاتیک در بیماران می‌شود [۴].

امروزه مدارک بسیاری وجود دارند که هورمون‌های استروئیدی (از جمله؛ پروژسترون و مشتقات آن) علاوه بر ایفای نقش به عنوان یک هورمون جنسی، یک استروئید فعال عصبی بوده که در اعصاب مرکزی و محیطی ساخته می‌شوند و قادرند چندین فاکتور اعصاب محیطی مثل؛ کنترل تکثیر

سلول‌های شوان و ساخت محصولات سلول‌های عصبی از جمله؛ غشای میلین، پروتئین‌های میلین، فاکتورهای نسخه‌برداری ضروری در فرآیند میلین‌زایی و غیره را تنظیم و تعدیل کنند. بنابراین، پروژسترون می‌تواند به عنوان یک عامل با پتانسیل درمانی در تقویت پاسخ‌های جبرانی نورون‌ها به آسیب‌های عصبی نقش داشته باشد [۱۰،۱۱،۱۲،۱۳،۱۴].

Magnaghi و همکاران در ۲۰۰۴ و Schumacher و همکاران در ۲۰۰۱ بیان داشتند که استروئیدهایی مانند پروژسترون نه تنها عمل‌کرد اعصاب را از طریق فعال کردن رونویسی ژن (اثرات ژنومیک) کنترل می‌کنند، بلکه تکثیر سلول‌های شوان، کنترل مورفولوژی میلین محیطی و فعالیت گیرنده‌های نوروترانسمیتری را نیز تحریک می‌کنند [۱۰،۱۵]. نقش تحریکی نورواستروئیدها بر روی پروتئین‌های تشکیل‌دهنده میلین محیطی ممکن است در مواردی که ساخت مجدد میلین نیاز است مانند؛ پیری، ضایعه اعصاب محیطی، بیماری‌های تخریب میلین و نوروپاتی دیابتی دارای اهمیت به‌سزایی باشد [۱۱،۱۳].

Leonelli و همکاران در ۲۰۰۷ با مطالعه بر روی مدل نوروپاتی دیابتی ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نشان دادند که درمان حیوانات به مدت یک ماه با پروژسترون و مشتقاتش (دی هیدروپروژسترون و تترا هیدروپروژسترون) باعث بی‌اثر شدن کاهش سرعت هدایت عصبی و آستانه گرمایی، بازگشت تراکم عصبی پوست به حالت اولیه، بهبود فعالیت پمپ Na^+/K^+ -ATPase و افزایش سطح mRNA پروتئین‌های میلین مثل گلیکوپروتئین صفر (P0) و پروتئین میلین محیطی ۲۲ (PMP22) می‌شود [۱۶].

این یافته‌ها، این فرضیه را مطرح می‌کنند که هورمون‌های استروئیدی (به‌ویژه پروژسترون) ممکن است در جلوگیری از آسیب‌ها و اختلالات عصبی عروقی و نیز در ترمیم و بازسازی اعصاب صدمه دیده بیماران نوروپاتی دیابتی نقش مفید و سازنده‌ای داشته باشند [۱۰،۱۱،۱۲،۱۳،۱۴]. در این مطالعه هدف ما این است، تا اثرات محافظتی پروژسترون را در

هیپرگلیسمی در پایان مطالعه نیز با اندازه‌گیری قند خون مورد تایید قرار گرفت.

درمان دارویی. چهار هفته بعد از ایجاد دیابت، حیوانات گروه DM+Prog با تزریق داخلی صفاقی پروژسترون (mg/kg Sigma، ۸)، محلول در ۲۰۰ میکرولیتر روغن کنجد به صورت یک روز در میان به مدت ۶ هفته تحت درمان قرار گرفتند. طبق گزارش‌های قبلی، موثرترین دوز مصرفی پروژسترون ۸-۱۶ mg/kg می‌باشد [۲۳]. حیوانات گروه‌های CO و DM نیز یک روز در میان فقط ۲۰۰ میکرولیتر روغن کنجد دریافت کردند. بررسی‌های الکتروفیزیولوژی و هیستومورفومتری ۲۴ ساعت بعد از آخرین درمان دارویی انجام شد.

ارزیابی الکتروفیزیولوژی. برای تایید وجود نوروپاتی دیابتی، سنجش سرعت هدایت عصبی در عصب سیاتیک در پایان هفته چهارم پس از اثبات دیابت در گروه‌های DM و DM+Prog انجام گرفت. در این مطالعه برای تعیین سرعت هدایت عصبی از یک روش جدید بهره گرفته شد که در آن از الکترودهای تحریکی و ثبات سوزنی دو قطبی سطحی استفاده گردید. به همین منظور حیوانات ابتدا با تزریق داخل صفاقی کتامین / زایلازین با دوز ۲۰/۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند. در تمام طول آزمون سعی شد دمای بدن حیوانات به منظور جلوگیری از استرس ناشی از بی‌هوشی در ۳۷°C ثابت نگه داشته شود. برای تعیین سرعت هدایت عصب حرکتی (Motor nerve conductive velocity, MNCV) ابتدا عصب سیاتیک سمت راست حیوان با قرار دادن الکترودهای تحریکی سوزنی در ناحیه سوراخ سیاتیک (Sciatic notch) با ولتاژ ۱۰ ولت تحریک شد، سپس شاخه ساقی (Tibial) عصب سیاتیک در ناحیه زانوی حیوان تحریک گردید [۲۵، ۲۴].

برای ثبت پاسخ حرکتی، الکترودهای ثبات سوزنی سطحی در ناحیه پنجه حیوان قرار گرفت و پاسخ حرکتی ایجاد شده به وسیله دستگاه (ADInstruments. Com, Australia) به وسیله Dual Bioamplifier, PowerLab/4SP ثبت گردید. سرعت هدایت عصب حرکتی سیاتیک- تیبیال با استفاده از دو نقطه تحریک در طول عصب و مدت دوره کمون منتج از آن

رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بر روی جنبه‌هایی از عمل‌کرد و ساختار اعصاب محیطی (عصب سیاتیک) مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات. در این مطالعه تجربی تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Sprague-Dawley مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات از مرکز تهیه و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز تهیه شدند. حیوانات در قفس‌های پلاستیکی (۳ سر موش در هر قفس) در داخل یک اتاق کنترل شده از نظر حرارت (۲۰±۲ °C) و رطوبت (۶۵-۶۰ درصد) و شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند. به تمام حیوانات اجازه داده شد تا از آب و غذای استاندارد آزادانه استفاده کنند. تمام حیوانات به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایشات جهت خوگیری به اتاق انجام کار منتقل و در آنجا نگه‌داری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه (۱۰ سر حیوان در هر گروه) شامل: گروه اول بدون دیابت (CO)، گروه دوم مبتلا به دیابت ملیتوس (DM) و گروه سوم حیوانات دیابتی تحت درمان با پروژسترون (DM+Prog) تقسیم شدند.

روش ایجاد دیابت در حیوانات. تمام حیوانات قبل از ایجاد دیابت به مدت یک شب گرسنه نگه داشته شدند. دیابت در دو گروه از موش‌های صحرایی با یک بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ، ۵۵ mg/kg، Sigma) در بافر سیترات ۰/۰۹ مولار با pH = 4.8 ایجاد گردید [۸، ۱۷، ۱۸]. هیپرگلیسمی ۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ با سنجش سطح گلوکز خون وریدی ناحیه دم حیوانات به وسیله دستگاه دیجیتالی اندازه‌گیری گلوکز خون (EasyGluco, Infopia Co., Ltd. Korea) تعیین گردید. فقط حیواناتی با سطح گلوکز خون ۳۰۰ mg/dl یا بالاتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۸، ۱۹، ۲۰]. بعد از اثبات دیابت، تمام حیوانات به مدت ۴ هفته قبل از شروع درمان به منظور تثبیت نوروپاتی دیابتی در محیط آزمایشگاه نگه‌داری شدند [۲۱، ۲۲].

تعداد ۲۰۰ رشته عصبی میلین‌دار در هر حیوان مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش تجزیه و تحلیل آماری. داده‌های کمی به‌دست آمده از گروه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توک-کرامر تجزیه و تحلیل شدند. در مواردی که مقدار F به‌دست آمده معنی‌دار بود از آزمون تکمیلی توکی-کرامر برای مقایسه بین هر دو گروه تجربی استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده و $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

نتایج

در تمام حیوانات دیابتی کاهش مشخصی در رشد مشاهده شد. همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است ۴۸ ساعت پس از تزریق استرپتوزوتوسین، میزان گلوکز خون در موش‌های صحرایی دیابتی بسیار بالا بود و در پایان مطالعه (هفته دهم) وزن آن‌ها چندان تغییری نکرده بود. به‌طوری‌که وزن حیوانات دیابتی در پایان هفته دهم به‌طور معنی‌داری کم‌تر از حیوانات گروه کنترل بود ($P < 0.05$). هم‌چنین درمان با پروژسترون به مدت ۶ هفته تاثیر معنی‌داری بر سطح گلوکز خون و وزن حیوانات نداشت.

جدول ۱. وزن بدن و سطح گلوکز خون در گروه‌های کنترل، دیابتی و دیابتی تحت درمان با پروژسترون

گلوکز خون (mg/dl) هنگام نمونه گیری	وزن بدن (گرم)		متغیر گروه حیوانات
	هنگام نمونه گیری	قبل از تزریق STZ	
$121 \pm 24/185$	$384/9 \pm 5/9$	$255/1 \pm 3/8$	کنترل
$544 \pm 53/508$ ***	$270/7 \pm 3/8$ *	$245/7 \pm 2/8$	دیابت ملیتوس
$502 \pm 71/632$ ***	$282/1 \pm 5/3$ *	$241/9 \pm 3/9$	دیابتی + پروژسترون

داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده است.

$P < 0.05$ * و $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل

محاسبه شد. دوره کمون از زمان شروع پاسخ تا زمان حداکثر قله منفی پاسخ ایجاد شده در نظر گرفته شد. در نهایت سرعت هدایت عصب حرکتی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

سرعت هدایت عصب حرکتی = فاصله بین نقاط تحریک

در اعصاب سیاتیک و تیپپال / (مدت دوره کمون موج M عصب سیاتیک - مدت دوره کمون موج M عصب تیپپال). این اندازه‌گیری سه بار برای هر حیوان انجام شده و میانگین آن‌ها به عنوان سرعت هدایت عصب حرکتی آن حیوان منظور شد [۲۶، ۱۸].

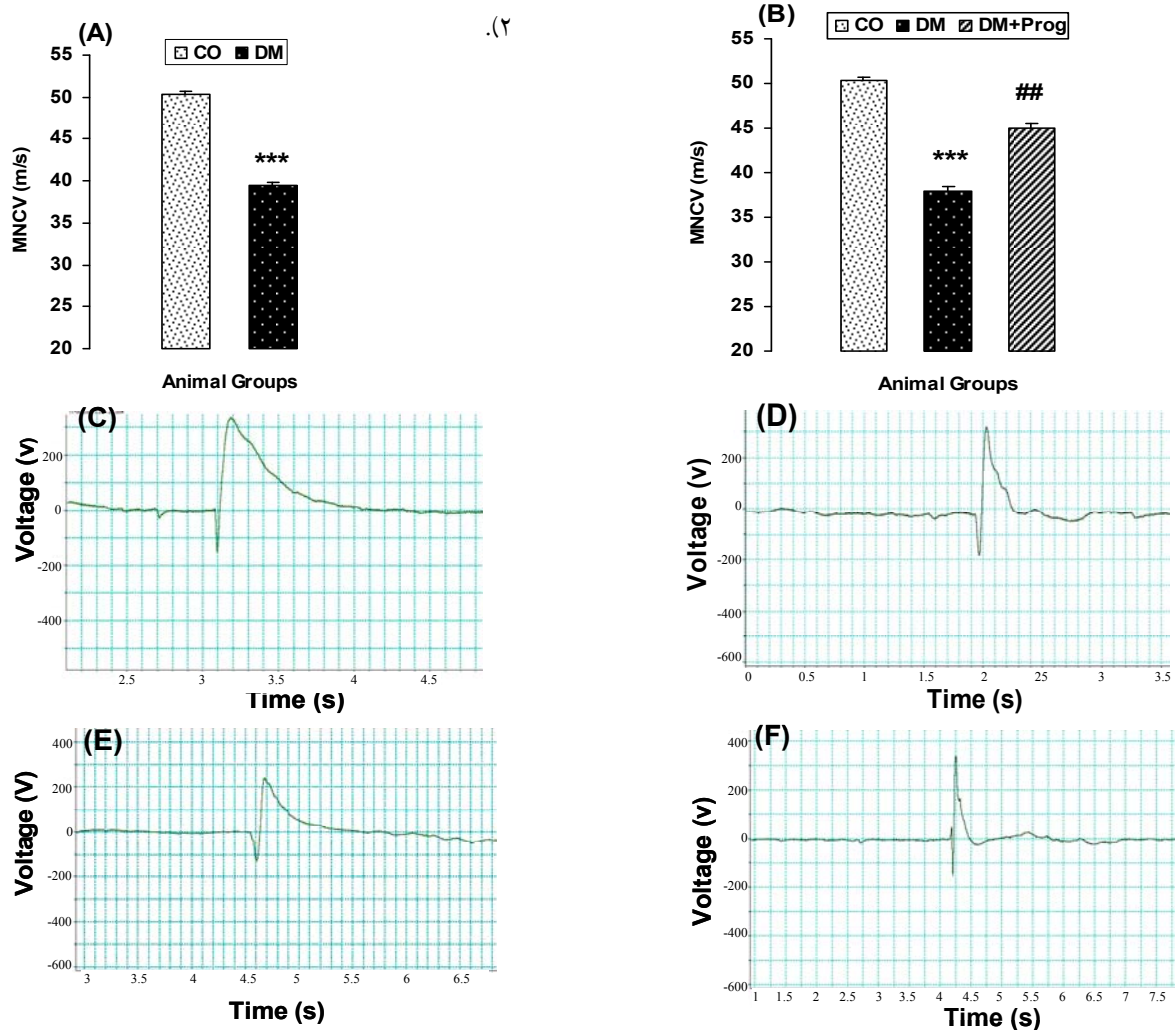
آماده‌سازی بافت و ارزیابی هیستومورفومتری. ۲۴

ساعت بعد از آخرین درمان دارویی تحت شرایط بی‌هوشی کامل، نمونه‌های عصب سیاتیک در حد فاصل سوراخ سیاتیک و زانوی حیوان به‌وسیله گلو تار آلدئید ۴ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار با $pH = 7.4$ به‌صورت در جا به مدت ۲۰ دقیقه ثابت گردید. بلافاصله بعد از ثابت کردن اولیه، نمونه‌های عصب از بدن حیوان خارج و به قطعات ۱-۲ میلی‌متری بریده شدند و برای ۲۴ ساعت دیگر در محلول گلو تار آلدئید ۲/۵ درصد ثابت گردیدند. سپس نمونه‌های عصب در بافر فسفات شست شو شدند و ثابت‌سازی ثانویه برای ۲ ساعت با استفاده از تتراکسید اسمیوم ۱ درصد انجام گرفت. پس از آب‌گیری با استن، نمونه‌های عصب در رزین ۸۱۲ قالب‌گیری شدند. با استفاده از دستگاه اولترامیکروتوم برش‌های نیمه نازک (سمی‌تین) به ضخامت ۰/۵ میکرومتر تهیه و با محلول تولوئیدین بلو ۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند. سپس برش‌های سمی تین برای مطالعات و تغییرات ریخت‌شناسی با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده گردیدند.

جهت انجام بررسی‌های هیستومورفومتری تصاویر تهیه شده از برش‌های سمی تین در بزرگنمایی $400 \times$ و $1000 \times$ به کامپیوتر مجهز به سیستم نرم افزار آنالیز مورفومتریک تصاویر بافتی (Motic Images China Group Co., LTD) منتقل شدند. در هر برش قطر رشته‌های عصبی میلین‌دار و ضخامت غلاف میلین بر حسب میکرون اندازه‌گیری شدند. در نهایت

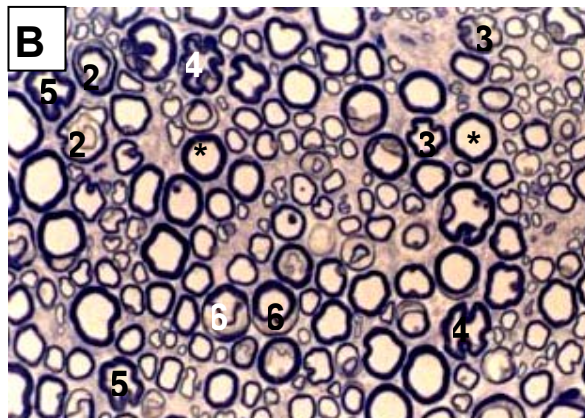
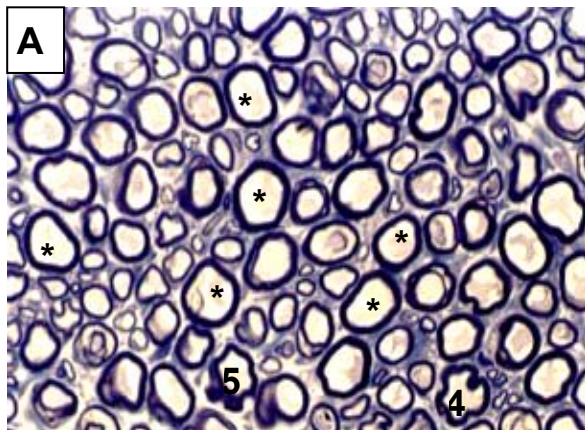
هیستومورفومتری. مشاهدات میکروسکوپ نوری برش‌های سمی‌تین عصب سیاتیک در موش‌های گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با گروه کنترل تعداد زیادی از ناهنجاری‌ها شامل؛ ادمای اندونوریال همراه با گسستگی رشته‌های عصبی، تخریب و دژنراسانس عصب، بی‌نظمی در شکل و غلاف میلین با حدود نامشخص را نشان داد. همچنین در این گروه تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار با چین‌خوردگی غلاف میلین به داخل آکسوپلاسم (infolding)، چین‌خوردگی غلاف میلین به سمت سیتوپلاسم سلول‌های شوآن (outfolding) و شکل غیرطبیعی افزایش یافته بود (شکل A, B).

الکتروفیزیولوژی. در پایان هفته چهارم و نیز در پایان مطالعه (هفته دهم) میزان سرعت هدایت عصب حرکتی در حیوانات گروه دیابتی (مقدار MNCV در پایان هفته چهارم $37/9 \pm 0/45$ و در پایان هفته دهم $39/4 \pm 0/52$ به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته بود ($P < 0/001$). (شکل ۱). در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با پروژسترون پس از ۶ هفته، بهبود و افزایشی در میزان سرعت هدایت عصبی مشاهده شد که در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$) (شکل B).



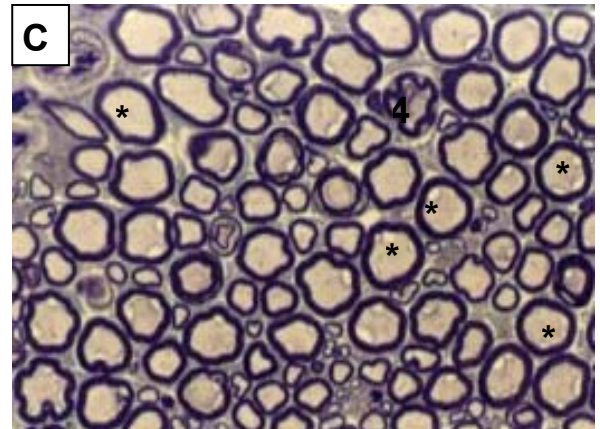
شکل ۱. A و B: میانگین \pm انحراف معیار سرعت هدایت عصب حرکتی (MNCV) در عصب سیاتیک رت‌های کنترل، دیابتی و دیابتی + پروژسترون. MNCV در حیوانات دیابتی در پایان هفته چهارم (A) و نیز در پایان هفته دهم (B) بعد از تزریق STZ بطور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و دیابتی + پروژسترون کاهش نشان داد. یک نمونه ثبت پاسخ حرکتی عصب سیاتیک در پایان هفته چهارم در گروه‌های کنترل (C) و دیابتی (D) و در پایان هفته دهم در گروه‌های دیابتی (E) و دیابتی + پروژسترون (F). $P < 0/001$ در مقایسه با گروه‌های کنترل و دیابتی + پروژسترون، $###P < 0/001$ در مقایسه با گروه دیابتی. (کنترل = CO، دیابت ملیتوس = DM و دیابتی تحت درمان با پروژسترون = DM+Prog).

میانگین قطر رشته‌های میلین‌دار و ضخامت غلاف میلین در گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با دو گروه کنترل و دیابتی + پروژسترون به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد (شکل ۳A,B). درمان با پروژسترون به مدت ۶ هفته باعث برگشت معنی‌دار کاهش قطر رشته‌های میلین‌دار و ضخامت میلین نزدیک به گروه کنترل شد. هر چند که رشته‌های میلین‌دار عمدتاً توسط رشته‌هایی با قطر بزرگ نسبت به گروه دیابتی بدون درمان جایگزین شدند (شکل ۳A,B).

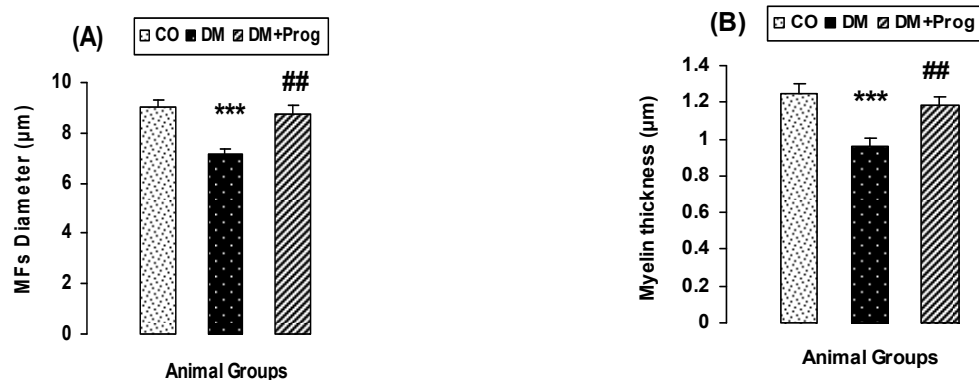


درمان طولانی مدت با پروژسترون (۶ هفته) باعث کاهش و تعدیل تمام ناهنجاری‌های فوق‌الذکر در رت‌های دیابتی شده و تا حدود زیادی از پیش‌رفت آن‌ها جلوگیری کرده بود و رشته‌های عصبی میلین‌دار تقریباً مشابه گروه کنترل بودند. به‌طوری‌که تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار با ناهنجاری‌های غلاف میلین بعد از درمان با پروژسترون به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود (شکل ۲C).

در حیوانات گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با دو گروه دیگر کاهش مشخصی در تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار قطور (قطر 10 میکرومتر) مشاهده شد که توأم با افزایش رشته‌های عصبی میلین‌دار نازک (قطر >math>5</math> میکرومتر) بود. درمان با پروژسترون شیفت رشته‌های عصبی میلین‌دار را به سمت رشته‌های عصبی با قطر کم‌تر به میزان قابل توجهی کاهش داد (شکل ۲A,B,C).



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ نوری برش‌های عرضی سمی‌تین عصب سیاتیک. (A) در گروه کنترل، رشته‌های عصبی میلین‌دار از نظر ساختار و ریخت طبیعی بودند (*). (B) در گروه دیابتی بدون درمان رشته‌های عصبی ناهنجاری‌های مشخصی را نشان دادند شامل: تخریب و دژنره شدن (۱)، اختلال و تغییر در تراکم غلاف میلین (۲)، بی‌نظمی در شکل (۳)، چین خوردگی میلین به داخل آکسوپلاسم، (۴) چین خوردگی میلین به سمت سلول شوآن (۵) و حدود نامشخص غلاف میلین (۶). (C) در گروه دیابتی + پروژسترون تعداد رشته‌های عصبی با ناهنجاری میلین، چین خوردگی میلین و بی‌نظمی در شکل بطور معنی‌داری کاهش یافته بود. رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، بزرگنمایی $\times 400$



شکل ۳. (A) قطر رشته های عصبی میلین دار (MFs) و (B) ضخامت غلاف میلین (میکرومتر) در اعصاب سیاتیک موش های صحرایی کنترل، دیابتی بدون درمان و دیابتی + پروژسترون. داده ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده است. $n = 10$, $P < 0.001$ در مقایسه با گروه های کنترل و دیابتی + پروژسترون، $P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی. (کنترل = CO، دیابت ملیتوس = DM و دیابتی تحت درمان با پروژسترون = DM+Prog).

بحث و نتیجه گیری

پاتوفیزیولوژی نوروپاتی دیابتی مستلزم یک آبشار پیچیده متشکل از چندین مکانیسم مرتبط به هم می باشد که هنوز تمام اجزاء آن به طور دقیق شناخته نشده است. به طور خلاصه، هیپرگلیسمی از طریق انواع فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی باعث القاء اکسیداسیون خودبه خودی گلوکز، افزایش محصولات نهایی قنددار نوین (AGEs)، فعالیت مسیر پروتئین کیناز C، فعالیت مسیر پلی آل (آلدوزردوکتاز)، فعالیت مسیر پلی ADP - ریبوز پلی مرز (PARP)، افزایش جریان هگزوز آمین و کاهش فاکتورهای رشد می شود که همگی از اجزاء کلیدی این آبشار بسیار بغرنج می باشند. فعال شدن این مکانیسم ها نهایتاً با تحریک تولید قطعات اکسیژنی و نیتروژنی فعال (ROS, RNS) منجر به استرس اکسیداتیو سلول های عصبی می گردند [۲۷-۳۱].

استرس اکسیداتیو با به راه انداختن بسیاری از مسیرهای دژنراتیو مثل: کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان داخل سلولی، آسیب های عروقی، افزایش ساخت رادیکال های آزاد در میتوکندری، کاهش نیتریک اکساید، القاء هیپوکسی اندونوریال، تحریک فرآیند مرگ برنامه ریزی شده، تخریب پروتئین ها، لیپیدها و اسید نوکلئیک سلولی، افزایش بیان پروتئین های التهابی و آسیب میتوکندریایی در نوروها نهایتاً باعث القاء بسیاری از آسیب ها و ضایعات در بافت عصبی از

جمله: تخریب آکسونی، مرگ نورونی، کاهش جریان خون عصب، کاهش سرعت هدایت عصب و تغییرات ساختاری و غیره می گردد [۲۱، ۲۸، ۳۰، ۳۱، ۳۲].

در مطالعه حاضر، ما اثرات محافظتی پروژسترون را بر روی نوروپاتی وابسته به دیابت ناشی از تزریق STZ مورد ارزیابی قرار دادیم. مطالعات ما نشان داد که تجویز پروژسترون (۸ میلی گرم / کیلوگرم) باعث بهبود علائم الکتروفیزیولوژی (سرعت هدایت عصبی) و هیستوپاتولوژی در نوروپاتی ایجاد شده توسط STZ می شود.

تکامل نوروپاتی دیابتی در رت های دیابتی شده توسط STZ، با کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی آشکار می شود. در مطالعه ما حدود ۱۸/۵ درصد کاهش در میزان MNCV در ۴ هفته پس از دیابت و ۲۳ درصد کاهش در ۱۰ هفته پس از دیابت در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که این نتایج در راستای گزارش های دیگر محققین بود [۲۶، ۳۶-۳۳]. گزارش های مختلفی نشان داده اند که نوروپاتی دیابتی محیطی یک نوروپاتی هیپوکسی است. از طرفی همان طور که اشاره شد یافته های مطالعات قبلی حاکی از آنند که رادیکال های آزاد، تحت شرایط دیابتی و هیپرگلیسمی منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می شوند [۱۸، ۲۶، ۳۷، ۳۸]. استرس اکسیداتیو با ایجاد ضایعات عروقی و از طریق کاهش جریان خون عصب منجر به هیپوکسی اندونوریال و عمل کرد غیر طبیعی عصب شده که ممکن است عامل کاهش سرعت هدایت

حاضر نیز پروسترون باعث کاهش قابل توجه آسیب‌های بافت عصبی و ادمای اندونوریال گردید که احتمالاً به دلیل تحریک و به راه انداختن مکانیسم‌های اشاره شده در فوق می‌باشد [۴۳،۴۲،۲۳].

یافته‌های ما مطابق با مطالعات قبلی است که نشان می‌دهند درمان با STZ تغییرات ریختی در رشته‌های میلین دار عصب سیاتیک را افزایش می‌دهد. شایع‌ترین ناهنجاری غلاف میلین که در مطالعه حاضر مشاهده شد چین‌خوردگی میلین به داخل آکسوپلاسم و بی‌نظمی شکل رشته‌های عصبی بود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که چین‌خوردگی غلاف میلین احتمالاً با تغییر در پروتئین‌های میلین مانند گلیکوپروتئین صفر (P0)، پروتئین میلین محیطی ۲۲ (PMP22) و گلیکوپروتئین وابسته به میلین (MAG) مرتبط می‌باشد. فراوانی این ناهنجاری‌ها در هنگام پیری و انواع مختلف نوروپاتی‌های محیطی مثل نوروپاتی محیطی دیابتی افزایش می‌یابند [۴۴].

یافته‌های حاصل از تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که پروسترون نه فقط یک محافظ نوروپاتی قوی است بلکه با نقش نوروتروفیک خود در سیستم اعصاب محیطی قادر است چندین فاکتور مهم مثل: تکثیر سلول‌های شوآن، حفظ ساختار و یکنواختی رشته‌های عصبی، رشد و بلوغ آکسون‌ها و ساخت بسیاری از تولیدات سلول‌های عصبی از جمله؛ غشاء میلین، پروتئین‌های میلین و فاکتورهای نسخه‌برداری ضروری در فرآیند تشکیل میلین در اعصاب محیطی را تنظیم کند [۴۴،۴۳،۳۲،۳۱،۲۶]. از طرف دیگر پروسترون با افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوز موجود در غشاء خارجی میتوکندری مثل؛ Bcl-2 و مهار بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک و آنزیم caspase-3، نوروپاتی‌ها را علیه فرآیند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوزیس) محافظت می‌کند [۴۳].

از آنجائی‌که پروتئین‌های غلاف میلین به ویژه P0 و PMP22 نقش ساختاری و فیزیولوژیک بسیار حیاتی در حفظ تراکم و یکنواختی ساختار چند لایه میلین اعصاب محیطی ایفا می‌کنند. بنابراین همان‌طور که در این مطالعه نیز مشاهده شد،

عصبی گردد [۳۹،۱۸]. از طرف دیگر همان‌طور که مطالعات گذشته نشان داده‌اند، رشته‌های عصبی میلین‌دار قطور غالباً در تشکیل MNCV نقش ایفا می‌کنند [۴۰]. در مطالعه ما کاهش در تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار قطور، همراه با افزایش تعداد رشته‌های عصبی کوچک در رت‌های دیابتی بدون درمان مشاهده شد. بنابراین کاهش MNCV احتمالاً می‌تواند به علت کاهش در تعداد رشته‌های عصبی قطور یا کند شدن فرآیند تکاملی رشته‌های عصبی میلین-دار باشد. از طرفی کاهش در میزان MNCV می‌تواند نتیجه تغییراتی در فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase، آسیب‌های بافتی و تغییر محیط غشاء نوروپاتی باشد که به طور اختصاصی تعداد رشته‌های عصبی قطور را کاهش می‌دهد [۴۱،۱۶]. در مطالعات قبلی مشخص شده است پروسترون و مشتقاتش به طور معنی‌داری آسیب فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase را خنثی می‌کنند [۳۳،۱۶]، در مطالعه ما نیز مشاهده شد که پروسترون باعث جلوگیری از کاهش تعداد رشته‌های عصبی قطور می‌گردد. بنابراین بهبودی معنی‌دار MNCV در حیوانات دیابتی تحت درمان با پروسترون در مطالعه حاضر، ممکن است به علت حفظ و نگهداری قطر رشته‌های عصبی یا بهبود عمل‌کرد عصبی ناشی از فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase باشد.

مشاهدات اخیر نشان داده‌اند، افزایش ادمای اندونوریال در حیوانات دیابتی در واقع نتیجه تغییر در شیب غلظتی سدیم سلولی بوده که خود به دنبال آسیب فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase ایجاد می‌شود. در حیوانات مبتلا به دیابت، کاهش فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase می‌تواند به علت ناهنجاری‌های متابولیکی و آسیب‌های بافتی باشد [۴۱]. مطالعات نشان داده‌اند که پروسترون قادر است ادمای ناشی از آسیب‌های مختلف در بافت عصبی را از طریق چندین مکانیسم شامل: تثبیت و توازن سد خونی- مغزی، تنظیم و تعدیل عمل‌کرد پروتئین‌های Aquaporin 4,6 (پروتئین‌های کانال‌های غشایی مسئول هموستازی آب سلولی)، تسهیل انباشت مایع در داخل نوروپاتی‌ها و آستروسیت‌ها و بهبود فعالیت پمپ Na^+ , K^+ -ATPase کاهش دهد [۱۶]. در تحقیق

دیابت ایجاد می‌شود، خنثی نماید. هر چند که مطالعات آینده باید نقش عملی و مکانیسم این اثر محافظتی استروئیدهای فعال عصبی مثل پروژسترون را تعیین کنند ولی یافته‌های ما پیشنهاد می‌کنند که پروژسترون می‌تواند به‌عنوان یک شیوه درمانی با پتانسیل بالا در حفظ یکنواختی میلین اعصاب محیطی هنگام وقایع تخریب عصبی و در معالجه بیماران نوروپاتی دیابتی محیطی مطرح باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز که با تامین اعتبار لازم، امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و هم‌چنین از پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز به خاطر همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله از پایان‌نامه دکتری تخصصی (Ph.D) استخراج شده است.

منابع

- [1] Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R and King H. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.
- [2] Rajbhandari SM and Piya MK. A brief review on the pathogenesis of human diabetic neuropathy: Observation and postulations. *Int J Diabetes & Metabolism* 2005; 13: 135-140.
- [3] Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Ward JD, Manes C, Lonescu-Tirgoviste C, and et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 2005; 352: 341-350.
- [4] Forrest KY, Maser RE, Pambianco G, Becker DJ, and Orchard TJ. Hypertension as a risk factor for diabetic neuropathy: a prospective study. *Diabetes* 1997; 46: 665-670.
- [5] Halat KM, and Dennehy CE. Denneby. Botanicals and dietary supplements in diabetic peripheral neuropathy. *J Am Board Fam Prac* 2003; 16: 47-57.
- [6] Coppey LJ, Gellett JS, Davidson EP, Dunlap JA, Lund DD, and Yorek MA. Effect of antioxidant treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity, and vascular reactivity of epineurial arterioles of the sciatic nerve. *Diabetes* 2001; 50: 1927-1937.
- [7] Nakamura J, Kato K, Hamada Y, Nakayama M, Chaya S, Nakashima E, and et al. A protein kinase C- β -selective inhibitor ameliorates neural dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1999; 48: 2090-2095.
- [8] Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Methods Mol Med* 2004; 99: 55-65.
- [9] King RH. The role of glycation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy. *Mol Pathol* 2001; 54: 400-408.
- [10] Koenig HL, Gong WH, and Pelissier P. Role of progesterone in peripheral nerve repair. *Rev of Reprod* 2000; 5: 189-199.
- [11] Magnaghi V, Ballabio M, Gonzalez LC, Leonelli E, Motta M, and Melcangi RC. The synthesis of glycoprotein P0 and peripheral myelin protein 22 in sciatic nerve of male rats is

به نظر می‌رسد درمان با پروژسترون از طریق تحریک فرآیندهای فوق، بیان پروتئین‌های میلین محیطی را در حیوانات مبتلا به نوروپاتی دیابتی تحریک و تقویت نموده و نهایتاً از گسترش ناهنجاری‌های ساختاری غلاف میلین و رشته‌های عصبی جلوگیری نموده یا باعث تعدیل و کاهش آن‌ها می‌گردد.

در مطالعه حاضر بعضی از اثرات مهم درمان با پروژسترون، کاهش فراوانی آکسون‌هایی با ناهنجاری غلاف میلین و تقلیل جمعیت رشته‌های عصبی با اشکال نامنظم می‌باشد که به دنبال مصرف STZ ایجاد می‌شوند. مطابق با یافته‌های قبلی، نتایج مطالعه ما نشان داد که کاهش معنی‌داری در میانگین قطر رشته‌های عصبی میلین‌دار و ضخامت میلین در حیوانات دیابتی شده با استریتوزوتوسین اتفاق می‌افتد [۴۴]. این تغییر ممکن است نتیجه افزایش وسیع در تعداد رشته‌های عصبی با قطر کوچک باشد که در اعصاب سیاتیک دیابتی دیده می‌شود. درمان موش‌های دیابتی با پروژسترون قادر است این کاهش در میانگین قطر رشته‌های عصبی میلین‌دار و ضخامت میلین را خنثی کند. مطالعه ما هم‌چنین نشان داد که پروژسترون باعث برگشت کاهش تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار بزرگ در رت‌های دیابتی می‌شود.

مطالعات قبلی پیشنهاد می‌کنند که تراکم رشته‌های عصبی در عصب سیاتیک تا حدود زیادی معرف مهمی در ترمیم و بازسازی عصب به شمار می‌رود. از طرفی استروئیدهای فعال عصبی از جمله پروژسترون قادرند که فرآیند ترمیم عصب را تقویت و تسهیل نمایند [۴۳، ۴۲، ۲۶]. احتمالاً پروژسترون از طریق تحریک بیان پروتئین‌های غلاف میلین محیطی، افزایش فعالیت سلول‌های شوآن و افزایش بیان پروتئین ماتریکس خارج سلولی بنام Reelin باعث افزایش قطر آکسون‌های میلین‌دار و تعداد کل رشته‌های عصبی در واحد سطح شده و امکان ترمیم و بازسازی تغییرات ساختاری رشته‌های عصبی را در حیوانات دیابتی فراهم می‌کند.

در نتیجه، یافته‌های ما نشان داد که پروژسترون قادر است تغییرات عملکردی و ساختاری عصب سیاتیک را که توسط

- [29] Ahmed N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complication. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2005; 67: 3-21.
- [30] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications, A unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54: 1615-1625.
- [31] Sayyed SG, Kumar A and Sharma SS. Effects of U83836E on nerve functions, hyperalgesia and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci* 2006; 79: 777-783.
- [32] Yagihashi S, Yamagishi S and Wada R. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy: Correlation with clinical signs and symptoms. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 77: 184-189.
- [33] Yorek MA, Coppey LJ, Gallett JS, Davidson EP, Bing X, Lund DD, and Dillon JS. Effect of treatment of diabetic rats with dehydroepiandrosterone on vascular and neural function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: E1067-E1075.
- [34] Coppey LJ, Gallett JS, Davidson EP, Dunlap JA, and Yorek MA. Effect of treating streptozotocin-induced diabetic rats with sorbinil, myoinositol or aminoguanidine on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity and vascular function of epineurial arterioles of the sciatic nerve. *Int J Exp, Diabetes Res* 2002; 3: 21-36.
- [35] Cotter MA, and Cameron NE. Effect of the NAD(P)H oxidase inhibitor, apocynin, on peripheral nerve perfusion and function in diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73: 1813-1824.
- [36] Callaghan MJ, Ceradini DJ, and Gurtner GC. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species and impaired endothelial progenitor cell function. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 1476-1482.
- [37] Niedowicz DM, and Dalek DL. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys* 2005; 43: 289-330.
- [38] Pop-Busui R, Sima A, and Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 257-273.
- [39] Yorek MA, Coppey LJ, Gallett JS, and Davidson EP. Sensory nerve innervation of epineurial arterioles of the sciatic nerve containing calcitonin gene-related peptide: effect of streptozotocin-induced diabetes. *Exp Diabetes Res* 2004; 5: 187-193.
- [40] Gonzalez Deniselle MC, Garay L, Gonzalez S, Guennoun R, Schumacher M, and De Nicola AF. Progesterone restores retrograde labeling of cervical motoneurons in Wobbler mouse motoneuron disease. *Exp Neurol* 2005; 195: 518-523.
- [41] Gebri A, Maixent JM, Ansaldo JL, Pierlovisi M, Coste T, Pelissier JF, and et al. Fish oil supplementation prevents diabetes-induced nerve conduction velocity and neuroanatomical changes in rats. *J Nutr* 1999; 129: 207-213.
- [42] Roglio I, Bianchi R, Gotti S, Scurati S, Giatti S, Pesaresi M and et al. Neuroprotective effects of dihydroprogesterone and progesterone in an experimental model of nerve crush injury. *Neuroscience* 2008; 155: 673-685 .
- [43] Schumacher M, Guennoun R, Stein DG and De Nicola AF. Progesterone: Therapeutic opportunities for neuroprotection and myelin repair. *Pharmacol Ther* 2007; 116: 77-106.
- [44] Azcoitia I, Leonelli E, Magnaghi V, Veiga S, Garcia-Segura LM, and Melcangi RC. Progesterone and its derivatives dihydroprogesterone and tetrahydroprogesterone reduce myelin fiber morphological abnormalities and myelin fiber loss in the sciatic nerve of aged rats. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 853-860.
- modulated by testosterone metabolites. *Brain Res Mol Brain Res* 2004; 126: 67-73.
- [12] Yorek MA, Coppey LJ, Gallett JS, Davidson EP, Bing X, Lund DD, and Dillon JS. Effect of treatment of diabetic rats with dehydroepiandrosterone on vascular and neural function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: 1067-1075.
- [13] Martini L, Magnaghi V, and Melcangi RC. Action of progesterone and 5 α -reduced metabolites on the major proteins of the myelin of the peripheral nervous system. *Steroids* 2003; 68: 825-829.
- [14] Melcangi RC, Magnaghi V, Galbiati M, and Martini L. Steroid effects on the gene expression of peripheral myelin proteins. *Horm Behav* 2001; 40: 210-214.
- [15] Schumacher M, Guennoun R, Mercier G, Desarnaud F, Lacor P, Benavides J, and et al. Progesterone synthesis and myelin formation in peripheral nerves. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 37: 343-359.
- [16] Leonelli E, Bianchi R, Cavaletti G, Caruso D, Crippa D, Garcia-Segura LM and et al. Progesterone and its derivatives are neuroprotective agents in experimental diabetic neuropathy: a multimodal analysis. *Neuroscience* 2007; 144: 1293-1304.
- [17] Aragno M, Parola S, Tamagno E, Brignardello E, Manti R, Danni O, and Boccuzzi G. Oxidative derangement in rat synaptosomes induced by hyperglycaemia: restorative effect of dehydroepiandrosterone treatment. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 389-395.
- [18] Aragno M, Tamagno E, Gatto V, Brignardello E, Parola S, Danni O, and Boccuzzi G. dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 1467-1474.
- [19] Calcutt NA, Freshwater JD, Hauptmann N, Taylor EM, and Mizisin AP. Protection of sensory function in diabetic rats by Neotrofin. *Eur J Pharmacol* 2006; 534: 187-193.
- [20] Schmeichel AM, Schmelzer JD, and Low PA. Oxidative injury and apoptosis of dorsal root ganglion neurons in chronic experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 2003; 52: 165-171 .
- [21] Saini AK, Kumar H S A, and Sharma SS. Preventive and curative effect of edaravone on nerve functions and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Eur J Pharmacol* 2007; 568: 164-172.
- [22] Kumar S, Arun KH, Kaul CL, and Sharma SS. Effects of adenosine and adenosine A2a receptor agonist on motor nerve conduction velocity and nerve blood flow in experimental diabetic neuropathy. *Neurol Res* 2005; 17: 60-66 .
- [23] Stein DG, Wright DW and Kellermann AL. Does progesterone have neuroprotective properties? *Ann Emerg Med* 2008; 51: 164-172.
- [24] Andriambelosen E, Baillet C, Vitte PA, Garotta G, Dreano M, and Callizot N. Interleukin-6 attenuates the development of experimental diabetes-related neuropathy. *Neuropathology* 2006; 26: 32-42.
- [25] Saini AK, Arun KH, Kaul CL, and Sharma SS. Acute hyperglycemia attenuates nerve conduction velocity and nerve blood flow in male Sprague-Dawley rats: reversal by adenosine. *Pharmacol Res* 2004; 50: 593-599.
- [26] Kumar A, Kaundal RK, Iyer S, and Sharma SS. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci* 2007; 80: 1236-1244.
- [27] Leininger GM, Vincent AM and Felman EL. The role of growth factors in diabetic peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2004; 9: 26-53.
- [28] Vincent AM, Russeli JW, Low P and Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev* 2004; 25(4): 612-628.

Protective effects of progesterone on sciatic nerve function and structure in experimental diabetic neuropathy

Hamid Reza Sameni (Ph.D)^{1*}, Marziye Panahi (Ph.D)², Ali Reza Sarkaki (Ph.D)³

1- Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

2- Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ahwaz University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran.

3- Dept. of Physiology and Physiological Research Center, School of Medicine, Ahwaz University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran

(Received: 12 Mar 2008 Accepted: 3 Feb 2009)

Introduction: Diabetic neuropathy is one of the most common complications affecting more than 50-60% of diabetic patients and it is a common cause of non-traumatic amputation and autonomic failure. Neuroactive steroids, such as progesterone (PROG), have been recently identified as promising neuroprotective agents in several models of neurodegeneration. In this study, we investigated the potential neuroprotective effects of PROG in an experimental model of diabetic neuropathy.

Material and Methods: Thirty male rats were randomly divided into 3 groups (with 10 rats in each), control (non-diabetic), untreated diabetic and diabetic PROG-treated. Diabetes was induced in the animals by a single dose injection of streptozotocin (STZ, 55 mg kg⁻¹, i.p.). In the PROG-treated group, 4 weeks after inducing of diabetes; the animals were treated with PROG (8 mg kg⁻¹, i.p., every two days) for 6 weeks

Results: Diabetic rats showed a significant reduction in motor nerve conduction velocity (MNCV), mean myelinated fibers (MFs) diameter, axon diameter and myelin sheath thickness in the sciatic nerve after 6 weeks. In the untreated diabetic group, endoneurial edema was observed in sciatic nerve and the numbers of MFs with enfolding into the axoplasm, irregularity of fibers, myelin sheath with unclear boundaries and alteration in myelin compaction were also increased. Long-term treatment with PROG increased MNCV significantly and prevented all these abnormalities in treated diabetic rats.

Conclusion: Our findings indicated that PROG as a therapeutic approach can protect neurophysiologic and histomorphologic alterations induced by peripheral diabetic neuropathy.

Key words: Progesterone, Sciatic nerve, Diabetic neuropathy, Nerve conduction velocity, Histomorphometry

* Corresponding author. Tel: +98 231 3354170-3 Fax: +98 231 3354161
samnihmsm@yahoo.com