

اثر متیل پردنیزولون بر ضرب‌العجل درمانی هیپوترمی سیستمیک در درمان

ضایعه تروماتیک تجربی خفیف نخاع در رت

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات متعددی اثر نوروپروکتیو هیپوترمی را در درمان ضایعات نخاع نشان داده اند، ولی اثر هیپوترمی تاخیری هنوز مشخص نشده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر متیل پردنیزولون بر ضرب‌العجل درمانی (Therapeutic Window) هیپوترمی در ضایعه تجربی نخاع در رت (موش صحرایی) با استفاده از شمارش سلول‌های چند هسته ای (PMN) در محل ضایعه می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، بیست و چهار موش صحرایی (۲۰۰-۲۶۰ گرم) در ۶ گروه ۴ تایی قرار گرفتند: ۱) (گروه لامینکتومی)، ۲) (گروه ضایعه نخاعی)، ۳) (گروه ضایعه نخاعی + متیل پردنیزولون)، ۴) (گروه ضایعه نخاعی + هیپوترمی زودرس)، ۵) (گروه ضایعه نخاعی + هیپوترمی تاخیری) و ۶) (گروه ضایعه نخاعی + هیپوترمی تاخیری + متیل پردنیزولون). ضایعه نخاعی توسط روش پرتاب وزنه (Weight drop) در ناحیه T9 حیوانات که تحت بیهوشی بودند، انجام شد. نمونه نخاع ۷ ساعت بعد از لامینکتومی جدا و تعداد سلول‌های چند هسته‌ای توسط میکروسکوپ نوری شمارش شدند. نتایج به روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) بررسی شدند.

یافته‌ها: هیپوترمی زودرس و متیل پردنیزولون به صورت واضح تعداد سلول‌های چند هسته‌ای‌های انفیلتره شده به دنبال ضایعه نخاع را کم کردند، ولی هیپوترمی تاخیری نتوانست تاثیر واضح داشته باشد. در گروه هیپوترمی تاخیری + متیل پردنیزولون (گروه ۶) هر چند تعداد سلول‌های چند هسته‌ای کم شدند، ولی به نظر می‌رسید این نتیجه به واسطه متیل پردنیزولون بوده و هیپوترمی تاخیری تاثیر نداشته است.

نتیجه‌گیری: متیل پردنیزولون نمی‌تواند Therapeutic window هیپوترمی متوسط سیستمیک را برای درمان ضایعه نخاعی خفیف در موش صحرایی افزایش دهد.

کلیدواژه‌ها: ۱- هیپوترمی دیررس ۲- ضایعه نخاعی ۳- متیل پردنیزولون ۴- هیپوترمی زودرس

*دکتر سعید کارآموزیان I

دکتر حسین اسکندری II

دکتر حسین صافی‌زاده III

دکتر رضا ملک‌پور افشار IV

سارا ادبی V

دکتر احمد غلامحسینیان VI

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۵، تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۲۲

مقدمه

ظرف چند ساعت اول به دنبال تروما، فرآیند تخریب ثانویه (Secondary Degeneration) شروع می‌شود که با تخریب بافت عصبی باقی مانده احتمال بهبودی را کاهش می‌دهد.^(۱,۲) بنابراین اقدامات درمانی که فرآیند دژنراسیون ثانویه را متوقف و یا حداقل کند نمایند، می‌توانند به بهتر شدن پروگنوز بیماران کمک کنند.^(۳)

در اغلب موارد صدمه نخاعی تروماتیک به صورت قطع فیزیکی نخاع نیست، بلکه مکانیسم ضایعه صدمات ناشی از کشیدگی، فشردگی و یا له شدگی است.^(۱) بافت سفید باقی‌مانده می‌تواند حاوی ستون‌های هدایت‌کننده سیگنال باشد، که این امکان بازگشت نسبی علائم عصبی را به وجود می‌آورد.

این مطالعه با حمایت مالی و معنوی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان وابسته دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است.
I) استادیار و متخصص جراحی اعصاب، بیمارستان شهید باهنر، خیابان قرنی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان، کرمان، ایران (*مؤلف مسؤول)
II) استاد و متخصص جراحی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان، کرمان، ایران
III) استادیار و متخصص پزشکی اجتماعی، دانشکده افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان، کرمان، ایران
IV) دانشیار و متخصص پاتولوژی، بیمارستان شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان، کرمان، ایران
V) لیسانس شیمی، دانشگاه اروین کالیفرنیا، آمریکا
VI) دانشیار و متخصص بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان، کرمان، ایران

دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد (°C) حفظ شد. سپس عضله و فاشیا بانخ سیلک 0-3 دوخته شد. هفت ساعت بعد از انجام لامینکتومی، حیوانات با تیونپتال (۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم- mg/kg، IP) کشته شدند. پوست و عضلات مجدداً باز شده و نمونه نخاع به طول حدود ۸ میلی‌متر (mm) جدا شد و در فرمالین ۱۰٪ فیکس شده و برای مطالعه میکروسکوپی آماده شد.

۲- گروه ضایعه نخاعی

در این گروه بعد از لامینکتومی، ضایعه نخاعی به روش Weight Drop ایجاد شد. در این روش وزنه‌ای به وزن ۳ گرم (g) از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری (cm) عمود بر روی نخاع پرتاب شده،^(۱۱) تا ضایعه نخاعی خفیف (Mild spinal cord injury)^(۱۲) ایجاد شود. هدایت وزنه به عهده لوله شیشه‌ای است که به صورت عمود بر روی نخاع قرار گرفته است. سپس ۷ ساعت بعد از لامینکتومی، نمونه‌گیری مانند گروه قبل انجام شد.

۳- گروه متیل پردنیزولون

در این گروه مراحل لامینکتومی و ایجاد ضایعه نخاعی انجام شده و متیل پردنیزولون با دوز (۳۰ mg/kg) ظرف ۵ دقیقه اول بعد از تروما به صورت داخل صفاقی تزریق شد.^(۳) نمونه بافتی ۷ ساعت بعد از لامینکتومی مانند سایر گروه‌ها گرفته و برای مطالعه میکروسکوپی آماده شد.

۴- هیپوترمی زودرس

در این گروه سی دقیقه بعد از ایجاد ضایعه نخاعی، هر موش صحرایی در دستگاه هیپوترمی قرار گرفت. دستگاه هیپوترمی یک محفظه Plexiform است که فضای داخل آن توسط جریان آب سرد داخل لوله‌ها سرد می‌شود و کنترل جریان آب سرد به عهده ترموستاتی است که اطلاعات مربوط به دمای موش صحرایی را از طریق ترمومتر رکتال دریافت می‌کند. با این روش دمای رکتال حیوان را

چند اقدامات نوروپروکتیو متعددی تاکنون معرفی شده، ولی تنها اثر محافظتی متیل پردنیزولون با دوز بالا در مطالعات گسترده تایید شده است.^(۵،۳)

هیپوترمی نیز از مدت‌ها پیش به عنوان اقدام نوروپروکتیو در صدمات عروقی و تروماتیک مغز مطرح بوده است.^(۶) مطالعات گسترده‌ای نیز جهت بررسی اثر این اقدام نوروپروکتیو بر ضایعه نخاعی صورت گرفته است،^(۷) که در اغلب این مطالعات اثر نوروپروکتیو هیپوترمی تایید شده است.^(۸،۶) در تمام این مطالعات هیپوترمی ظرف ۳۰ دقیقه اول بعد از آسیب شروع شده است (هیپوترمی زودرس) و اثر هیپوترمی تاخیری بررسی نشده است. در صدمات عروقی مغزی نشان داده شده است که تاخیر در شروع هیپوترمی تا ۳ ساعت بعد از تروما، به میزان معنی‌داری از اثر نوروپروکتیو هیپوترمی کاسته است.^(۹) در این مطالعه سعی شده است تا اثر هیپوترمی تاخیری (۳ ساعت بعد از تروما) بر صدمات تروماتیک نخاع بررسی شود و در عین حال تاثیر متیل پردنیزولون بر ضرب‌العجل درمانی (Therapeutic Window) هیپوترمی مطالعه گشت.

روش بررسی

در یک مطالعه تجربی، بیست و چهار موش صحرایی (Rat) نر بالغ با وزن ۲۶۰ تا ۳۰۰ گرم در ۶ گروه چهارتایی قرار گرفتند.

۱- گروه کنترل

بیهوشی با یورتان داخل صفاقی (۱/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم - g/kg، داخل صفاقی - IP) انجام شد.^(۱۰) سپس پوست در ناحیه پشت تراشیده و با بتادین تمیز شد. بعد از انسزبون پوستی، فاشیا و عضلات باز شدند. سپس لامینکتومی T8-T9 و T10 توسط کریزون پانچ ظریف زیر میکروسکوپ جراحی انجام شد، به نحوی که هیچ ترومایی به نخاع وارد نشود. طی این مرحله دمای بدن با ترمومتر رکتال سنجیده شده و با کمک Heat Pads در

در حد $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ (هیپوترمی خفیف) حفظ می‌کند.^(۱۳) دمای رکتال موش صحرایی برای مدت ۱۸۰ دقیقه در حد $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ حفظ شد. سپس طی یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای، درجه دمای بدن حیوان به $37/5^\circ\text{C}$ درجه رسانده شده (Rewarming Period). ۲۱۵ دقیقه بعد از Rewarming (و یا ۷ ساعت بعد از لامینکتومی)، نمونه‌گیری انجام شد.

۵- هیپوترمی تاخیری

در این گروه ۲۱۰ دقیقه بعد از تروما، هیپوترمی ایجاد شده و دمای رکتال برای ۳ ساعت در دمای $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ حفظ شد و بعد از یک دوره ۳۰ دقیقه گرم‌سازی، نمونه‌گیری ۷ ساعت بعد از لامینکتومی انجام شد.

۶- هیپوترمی تاخیری به علاوه متیل پردنیزولون

در این گروه ۵ دقیقه بعد از ایجاد ضایعه نخاعی، متیل پردنیزولون تزریق شد و هیپوترمی تاخیری ۲۱۰ دقیقه بعد از تروما شروع و برای ۱۸۰ دقیقه طول کشید. سپس Rewarming انجام و نمونه‌گیری ۷ ساعت بعد از لامینکتومی انجام شد.

بعد از فیکس کردن نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪، نمونه‌های بافتی در پارافین قرار داده شدند. سپس برش‌های سریال به ضخامت ۵ میکرون از قسمت میانی نمونه تهیه شده و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) انجام شد و لام‌ها توسط پاتولوژیستی که از گروه‌ها بی‌خبر بود با بزرگ نمایی ۴۰ توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند. میانگین سلول‌های چند هسته‌ای در ۱۰ فیلد مختلف در محل ضایعه با بزرگ نمایی ۴۰ تعیین شد.^(۱۶-۱۴)

از تست One-way ANOVA جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد و سپس به منظور مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تکمیلی LSD استفاده شد. سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

به دنبال ضایعه نخاعی (Spinal Cord Injury-SCI)،

سلول‌های چند هسته‌ای به داخل نخاع ضایعه دیده انفیلتره شدند. متوسط تعداد این سلول‌ها در گروه ضایعه نخاعی (گروه دوم) $16/hpf$ بود، در حالی که در گروه یک (گروه کنترل) تنها ۲ سلول چند هسته‌ای (PMN) دیده شد. تروما به طرز معنی داری تعداد PMN را افزایش داده بود ($CI\ 8/45-16/5$ و $p < 0.001$).

اثر متیل پردنیزولون بر تعداد سلول‌های چند هسته‌ای واضح بود ($CI\ 6/2-13/8$ و $p < 0.001$). هیپوترمی زودرس نیز تعداد PMN را به طور واضح کم کرده بود ($CI\ 6/45-14/05$ و $p < 0.001$)، ولی به نظر می‌رسید اثر متیل پردنیزولون قوی‌تر بود: هر چند که بین گروه متیل پردنیزولون و هیپوترمی زودرس تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($CI\ 0/95-4/05$ و $p = 0/89$).

هیپوترمی دیررس میزان سلول‌های چند هسته‌ای را کم کرده بود، ولی تفاوت معنی‌داری بین تعداد سلول‌های چند هسته‌ای در این گروه با گروه ۲ (تروما به تنهایی) وجود نداشت ($CI\ -0/95-8/05$ و $p = 0/17$).

در گروه هیپوترمی تاخیری + متیل پردنیزولون به صورت واضح سلول‌های چند هسته‌ای کمتری دیده شد ($CI\ 7/7-15/30$ و $p < 0.001$)، ولی تاثیر آن مشابه گروه متیل پردنیزولون به تنهایی بود و به نظر می‌رسد اثر نوروپروتکتیو در این گروه به واسطه متیل پردنیزولون بوده نه هیپوترمی تاخیری ($CI\ -0/30-2/30$ و $p = 0/42$).

بحث

صدمات تروماتیک با مکانیسم‌های اولیه و ثانویه منجر به آسیب دستگاه عصبی مرکزی می‌شوند. مکانیسم‌های اولیه شامل نیروهای مکانیکی می‌باشند و صدمات ثانویه مشتمل بر روند خود تخریبی می‌باشد که به دنبال تروما از طریق فعال شدن چرخه‌های خاص فعال می‌شوند. مهم‌ترین این چرخه‌ها که شناخته شده‌اند شامل هیدرولیز، کاهش فعالیت پمپ $Na-K$ ،^(۳) پراکسیداسیون لیپید ناشی از رادیکال‌های آزاد، التهاب و

این مطالعه شروع هیپوترمی در چند ساعت اول بعد از تروما در هیچیک از بیماران ممکن نبوده. نکته جالب در این مطالعه این بود که بیمارانی که به هر علت هنگام ورود به بیمارستان هیپوترم بوده اند، در صورتی که تحت Rewarming قرار می‌گرفتند، Neurological outcome بدتری پیدا می‌کردند که نشان‌دهنده اهمیت هیپوترمی زودرس (Early hypothermia) می‌باشد.^(۲۹)

بنابراین به نظر می‌رسد اقداماتی که ضرب‌العجل درمانی (Therapeutic Window) هیپوترمی را افزایش دهند، می‌توانند راه را برای مطالعات بعدی به منظور کلینیکال کردن هیپوترمی باز کنند. از طرف دیگر اثر متیل پردنیزولون به عنوان یک داروی نوروپروتکتیو به اثبات رسیده است. متیل پردنیزولون لیپید پراکسیداز را مهار می‌کند، در عین حال وازودیلاتاسیون موضعی می‌دهد و ورود (Influx) کلسیم به داخل سلول را کمک می‌کند.^(۳۰)

در این مطالعه هم متیل پردنیزولون و هم هیپوترمی با کم کردن تعداد سلول‌های چند هسته‌ای در ساعت ۷ بعد از تروما اثر نوروپروتکتیو نشان دادند، ولی هیپوترمی دیررس اثری نداشته که با توجه به مطالعات قبلی منطقی به نظر می‌رسد. هر چند که در این مورد باید دقت داشت که مطالعه اخیر برای ترومای خفیف نخاع انجام شده و ممکن است در ترومای شدید نخاع، هیپوترمی تاخیری نیز اثرات نوروپروتکتیو از خود نشان دهد.

بر اساس این مطالعه به نظر نمی‌رسد که هیپوترمی تاخیری موثر باشد و همچنین به نظر نمی‌رسد متیل پردنیزولون ضرب‌العجل درمانی (Therapeutic Window) هیپوترمی خفیف را در درمان صدمات خفیف نخاع طولانی‌تر کند. در عین حال باید توجه داشت که در این مطالعه هیپوترمی برای ۳ ساعت اعمال شد و شاید با افزایش این زمان بتوان اثر نوروپروتکتیو هیپوترمی را دید. هر چند که زمان شروع و مدت هیپوترمی قطعاً در میزان Neuroprotection نقش دارد، ولی یک فاکتور مهم دیگر سرعت Rewarming است.

در یک مطالعه نشان داده شد که Rewarming سریع،

نورونفاژیا توسط سلول‌های چند هسته‌ای می‌شود.^(۱۸و۱۷) تجمع سلول‌های چند هسته‌ای، هم در صدمات ناشی از تروما و هم ایسکمی گزارش شده است.^(۱۹) بنابراین اقداماتی که بتوانند از تجمع این سلول‌ها بکاهند، با کند کردن روند تخریب ثانویه، می‌توانند نتیجه (Outcome) به دنبال ضایعات نخاع را بهبود بخشند.

هیپوترمی به عنوان یک اقدام محافظتی شناخته شد،^(۹-۱۷و۲۰-۲۰) و حتی بعضی از مولفین معتقد هستند که قوی‌ترین نوروپروتکتیو است.^(۲۰) در سال‌ها قبل هیپوترمی به خاطر عوارضش مانند آریتمی و اختلال انعقادی متروود شد، ولی نشان داده شد که هیپوترمی خفیف (34°C - 33°C) با عارضه بسیار کمتر نسبت به هیپوترمی شدید می‌تواند نقش نوروپروتکتیو داشته باشد.^(۱۳)

در حال حاضر هیپوترمی در اعمال جراحی عروق شکمی جهت جلوگیری از صدمات ایسکمیک نخاع به دنبال کلامپ آنورت کاربرد کلینیکی دارد.^(۳۶و۳۷) نشان داده شده است که اثر نوروپروتکتیو هیپوترمی به واسطه اثر ضد التهاب آن است،^(۲۸) ولی مکانیسم‌های دیگری نظیر مهار آزادسازی گلوتامات نیز گزارش شده است.^(۲۰و۲۱)

در ضایعات ایسکمیک مغزی دیده شده که اگر هیپوترمی ۲ ساعت با تاخیر شروع شود اثر نوروپروتکتیو مغزی نشان می‌دهد،^(۱۷و۹) ولی اگر تاخیر در شروع هیپوترمی به ۵ ساعت برسد اثر نوروپروتکتیو ندارد.^(۲۱و۲۰) بر اساس نتایج این مطالعه نیز به نظر نمی‌رسد که هیپوترمی تاخیری، کمکی به بیماران ضایعه نخاعی کند.

از طرف دیگر انجام هیپوترمی زودرس در بیماران ضایعه نخاعی، امری بسیار بعید به نظر می‌رسد، چون انتقال بیمار به مراکز مجهز به این سیستم بسیار طولانی‌تر است و شاید یکی از علل عدم استفاده از هیپوترمی در بیماران ضایعه نخاعی تروماتیک، مربوط به این محدودیت‌ها باشد.

در یک بررسی نشان داده شد که شروع هیپوترمی ۸ ساعت بعد از تروما، تأثیری در نتیجه نداشته است. در

می‌باشد و ممکن است با تغییر هر یک از فاکتورهای فوق، نتایج دیگری حاصل شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله منتج از طرح پژوهشی مصوب مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان با عنوان «بررسی اثر هیپوترمی زودرس و دیر هنگام همراه با متیل پردنیزولون با دوز بالا بر ضرب‌العجل درمانی هیپوترمی متعاقب آسیب نخاعی تجربی در موش صحرایی نر» به شماره ع/۸۵-۱۵ می‌باشد و مؤلفان به این وسیله از حمایت‌های مادی و معنوی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان صمیمانه قدردانی می‌کنند.

می‌تواند صدمات عصبی را تشدید کند. پس خود زمان Rewarming نیز می‌تواند یک متغیر مهم باشد.^(۳۱) در نهایت توصیه می‌شود که این مطالعه با مدت زمان (Duration) طولانی‌تر هیپوترمی و یا با شدت بیشتری از ترومای نخاع تکرار شود. در عین حال از مارکرهای دقیق‌تر برای بررسی نتایج استفاده شود.

نتیجه گیری

به نظر نمی‌رسد متیل پردنیزولون بتواند اثر محافظتی هیپوترمی تاخیری را بهبود بخشد. باید در نظر داشت که این نتیجه مربوط به هیپوترمی متوسط (Moderate) با مدت زمان ۳۰ دقیقه و با دوره Rewarming ۳۰ دقیقه

فهرست منابع

1- Kaptanoglu E, Tuncel M, Palaoglu S, Konan A, Demirpence E, Kilinc K. Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 2000; 93(Suppl 1): 77-84.

2- Kanter M, Coskun O, Kalayci M, Buyukbas S, Cagavi F. Neuroprotective effects of Nigella sativa on experimental spinal cord injury in rats. *Human Exp Toxicol* 2006; 25(3): 127.

3- Kalayci M, Coskun O, Cagavi F, Kanter M, Armutcu F, Gul S. Neuroprotective effects of ebselen on experimental spinal cord injury in rats. *Neurochem Res* 2005; 30(3): 403-10.

4- Kakulas, B., *Neuropathology: the foundation for new treatments in spinal cord injury*. *Spinal Cord* 2004; 42: 549-563.

5- Sayer F, Kronvall E, Nilsson O. Methylprednisolone treatment in acute spinal cord injury: the myth challenged through a structured analysis of published literature. *Spine J* 2006; 6(3): 335-343.

6- Yu C, Imenez O, Marcillo AE, Weider B, Bangerter K, Dietrich WD, et al. Beneficial effects of

modest systemic hypothermia on locomotor function and histopathological damage following contusion-induced spinal cord injury in rats. *J Neurosurg Spine* 2000; 93(1 Suppl):85-93

7- Chatzipanteli K, Yanagawa Y, Marcillo AE, Kraydieh S, Yeziarski RP, Dietrich WD. Posttraumatic hypothermia reduces polymorphonuclear leukocyte accumulation following spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 2000; 17(4): 321-32.

8- Martinez-Arizala A, Green B. Hypothermia in spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992; 9(2): S497-505.

9- Markgraf C, Clifton G, Moody M. Treatment window for hypothermia in brain injury. *J Neurosurg* 2001; 95(6): 979-983.

10- Kasparov S, Butcher J, Paton J. Angiotensin II receptors within the nucleus of the solitary tract mediate the developmental attenuation of the baroreceptor vagal reflex in pre-weaned rats. *J Auto Nerv Sys* 1998; 74(2-3): 160-168.

11- Metz G, Curt A, van de Meent H, Klusman I, Schwab ME, Dietz V. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human

spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2000; 17(1): 1-17.

12- Yang L, Jones NR, Blumbergs PC, Van Den Heuvel C, Moore EJ, Manavis J, et al. Severity-dependent expression of pro-inflammatory cytokines in traumatic spinal cord injury in the rat. *J Clin Neuroscience* 2005; 12(3): 276-284.

13- Sessler D. Complications and Treatment of Mild Hypothermia. *Anesthesiology* 2001; 95(2): 531-543.

14- Merih I, Ulu MO, Tanriverdi T, Yildiz H, Akyz F, Akso A, et al. The use of methylprednisolone, Vitamin E and their combination in acute spinal cord injury: An experimental study. *Turkish Neurosurgery* 2006; 16(1): 002-008.

15- Barut S, Nlü YA, Karaoglan A, Tunçdemir M, Dagistanli FK. The neuroprotective effects of z-DEVD. fmk, a caspase-3 inhibitor, on traumatic spinal cord injury in rats. *Surg Neurol* 2005; 64(3): 213-220.

16- Scott G, Cuzzocrea S, Genovese T, Koprowski H, Hooper DC. Uric acid protects against secondary damage after spinal cord injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2005; 102(9): 3483.

17- Chatzipanteli K, Alonso OF, Kraydieh S, Dietrich WD. Importance of posttraumatic hypothermia and hyperthermia on the inflammatory response after fluid percussion brain injury: biochemical and immunocytochemical studies. *J Cerebral Blood Flow Metab* 2000; 20: 531-542.

18- Means E, Anderson D. Neuronophagia by leukocytes in experimental spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983; 42(6): 707-19.

19- Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Kushimoto S, John M, et al. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *Neuroscience* 1997; 79(4): 1177-1182.

20- Coimbra C, Drake M, Boris-Moller F, Wieloch T, Corbett D. Long-lasting neuroprotective effect of postischemic hypothermia and treatment with an anti-inflammatory/antipyretic drug: Evidence for chronic encephalopathic processes following ischemia. *Stroke* 1996; 27(9): 1578.

21- Coimbra C, Wieloch T. Moderate hypothermia mitigates neuronal damage in the rat brain when

initiated several hours following transient cerebral ischemia. *Acta Neuropathologica* 1994; 87(4): 325-331.

22- Hall E, Springer J. Neuroprotection and acute spinal cord injury: A Reappraisal. *Neuro RX* 2004; 1(1): 80-100.

23- Yu C, Jagid J, Ruenes G, Dietrich WD, Marcillo AE, Yeziarski RP. Detrimental effects of systemic hyperthermia on locomotor function and histopathological outcome after traumatic spinal cord injury in the rat. *Neurosurgery* 2001; 49(1): 152.

24- Suzuki T, Bramlett H, Dietrich W. The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp Neurol* 2003; 184(2): 1017-1026.

25- Nakashima K, Todd M. Effects of hypothermia on the rate of excitatory amino acid release after ischemic depolarization. *Stroke* 1996; 27(5): 913-918.

26- Griep R, Griep E. Spinal cord perfusion and protection during descending thoracic and thoracoabdominal aortic surgery: The collateral network concept. *Annals Thoracic Surg* 2007; 83(2): 865-869.

27- Jacobs M, Mess W, Mochtar B, Nijenhuis RJ, Statius van Eps RG, Schurink GWH. The value of motor evoked potentials in reducing paraplegia during thoracoabdominal aneurysm repair. *J Vasc Surg* 2006; 43(2): 239-246.

28- Kawai N, Okauchi M, Morisaki K, Nagao S, Dietrich WD. Effects of delayed intras ischemic and postischemic hypothermia on a focal model of transient cerebral ischemia in rats editorial comment. *Stroke* 2000; 31(8): 1982.

29- McIntyre L, Fergusson DA, Hebert PC, Moher D, Hutchison JS. Prolonged therapeutic hypothermia after traumatic brain injury in adults a systematic review. *JAMA* 2003; 289(22): 2992-2999.

30- Tetik O, I slamog F, Yagdi T, Atay Y, Alkavur CC, Ozbek C, et al. An intraaortic solution trial to prevent spinal cord injury in a rabbit model. *Euro J Vasc Endovasc Surg* 2001; 22(2): 175-179.

31- Fu E, Tummala R. Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. *Current Opinion in Anesthesiology* 2005; 18(2): 181

The Effect of Methylprednisolone on the Therapeutic Window of Systemic Hypothermia for the Treatment of Experimental Mild Traumatic Spinal Cord Injury in Rat

* S. Karamouzian, MD^I H. Eskandary, MD^{II} H. Safizadeh, MD^{III}
R. Malekpour Afshar, MD^{IV} S. Adabi, BSc^V
A. Gholamhosseinian, PhD^{VI}

Abstract

Background and Aim: Many studies have shown the neuroprotective effect of systemic hypothermia in the treatment of spinal cord injury. But the effect of delay hypothermia is not known. The goal of this study was to evaluate the effects of Methylprednisolone on the therapeutic window of hypothermia treatment following experimental Spinal Cord Injury (SCI) by measuring the accumulation of Polymorphonuclear leukocytes (PMN) at the traumatic site.

Materials and Methods : In an experimental study, twenty-four Wistar albino rats (260–300 g) were divided into six groups of four each: A (only laminectomy), B (Trauma; laminectomy + cord injury), C (methylprednisolone; laminectomy + cord injury + methylprednisolone), D (early hypothermia; laminectomy + cord injury + early hypothermia), E (late hypothermia; laminectomy + cord injury + late hypothermia), and F (late hypothermia + Methylprednisolone; laminectomy + cord injury + late hypothermia + MP). Traumatic spinal cord injury (SCI) was induced by using Weight drop method (30 g.cm) on the anesthetized animals at T9 level. Tissue samples from the spinal cord were harvested 7 hours after laminectomy. PMNs counting was performed by light microscope and the data were analyzed using One-way ANOVA.

Results: Early hypothermia and methylprednisolone inhibited PMN accumulation, but late hypothermia (induced 3 hours after trauma) did not show significant effect on PMN count. Delay hypothermia and Methylprednisolone decreased the number of PMN, but it seems that this effect was related to methylprednisolone. Adding methylprednisolone to delay hypothermia, did have significant beneficial effect, but it was not more than "methylprednisolone alone" group.

Conclusion: Methylprednisolone can not extend the Therapeutic window of systemic moderate hypothermia for the treatment of experimental mild traumatic spinal cord injury in rat.

Key Words: 1) Delay hypothermia 2) Spinal cord injury 3) Methylprednisolone
4) Early hypothermia

This study has been conducted under the financial support of Kerman University of Medical Sciences and Health Services.

I) Assistant Professor of Neurosurgery, Gharani Str, Shaheed Bahonar Hospital, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran (* Corresponding Author)

II) Professor of Neurosurgery, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

III) Assistant Professor of Community Medicine, Afzali Pour College, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

IV) Associate Professor of Pathology, Shaheed Bahonar Hospital, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

V) BSc in Chemistry, Erwine College, California, USA

VI) Associate Professor of Biochemistry, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran