

## تأثیر کاشت داربست پلی کاپرولاکتون/نانو لوله کربنی همراه با الازیک اسید لیپوزومال در سیناپتوزنر هیپوکامپ پس از آسیب نخاعی

آرمان آبرومند غلامی (کارشناسی ارشد)<sup>۱،۲\*</sup>، فاطمه غیبی (دکتری)<sup>۳،۴</sup>، امیرمهدی مولوی (دکتری)<sup>۵</sup>، فاطمه طهماسبی (دکتری)<sup>۱</sup>، آرش پاپی (کارشناسی ارشد)<sup>۴</sup>، حمیده بابالو (دکتری)<sup>۶</sup>

۱- گروه آناتومی و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- گروه بیوتکنولوژی پزشکی و نانوتکنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴- مرکز تحقیقات فناوری نانو، پژوهشکده فناوری دارویی، دانشکده علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۵- گروه تحقیقات مواد، مرکز آموزشی، فرهنگی و تحقیقاتی ایران، واحد خراسان رضوی، مشهد، ایران

۶- دانشکده پزشکی، بیمارستان رازی، مرکز چند رشته‌ای تهیه و پیوند اعضا، پزشکی بازساختی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

آرمان آبرومند غلامی: aroma3162@gmail.com

### چکیده

**هدف:** اختلالات حافظه و شناخت از مهم‌ترین اثرات ثانویه آسیب نخاعی (SCI) در هیپوکامپ به‌شمار می‌روند. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر کاشت داربست پلی کاپرولاکتون/نانولوله کربنی چند جداره عامل‌دار (PCL/f-MWCNT) همراه با الازیک اسید لیپوزومی (EA@lip) در بهبود عملکرد عصبی و نقص هیپوکامپ پس از SCI انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ موش بزرگ آزمایشگاهی ماده و بیستار به‌طور تصادفی در ۴ گروه (۶ سر در هر گروه) قرار گرفتند: گروه Ctrl- (لامینکتومی بدون SCI)، گروه Ctrl مثبت (SCI)، گروه PCL/CNT (کاشت داربست PCL/f-MWCNT) و گروه PCL/CNT/EA (کاشت داربست PCL/f-MWCNT/EA@lip). مدل آسیب یک نیم‌برش پشتی در سطح T9 بود. شناسایی EA@lip ساخته‌شده به روش بارگذاری از راه دور با میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراکندگی نور دینامیک انجام گرفت. همچنین، مورفولوژی الیاف PCL/f-MWCNT با میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FE-SEM) مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون‌های رفتاری برای ارزیابی عملکرد عصبی-رفتاری حیوانات استفاده شد. پس از ۴ هفته، پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی از ناحیه CA1 هیپوکامپ ثبت شد. سطوح mRNA پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا (APP)، نوکلئوتید حلقوی فسفودی استراز (CNP)، گیرنده یونوتروپیک گلوتامات زیرواحد کاینات نوع ۲ (GRIK2) و پروتئین متصل‌شونده به سینتاکسین ۱ (Munc 18-1) در هیپوکامپ با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز کمی رونویسی معکوس (RT-qPCR) بررسی شد.

**یافته‌ها:** ما نشان دادیم که پس از کاشت داربست PCL/CNT یا بدون EA@lip، پتانسیل عمل هیپوکامپ با افزایش شیب و دامنه fEPSP در مقایسه با گروه Ctrl<sup>+</sup> بهبود یافته است. داده‌های RT-qPCR نشان داد که بیان CNP و Munc 18-1 افزایش یافته و بیان APP و GRIK2 در گروه‌هایی که PCL/CNT یا بدون EA@lip دریافت کرده‌اند در مقایسه با گروه آسیب کاهش یافته است. ما همچنین ثابت کردیم که درمان با PCL/CNT/EA@lip عملکرد رفتاری را در مقایسه با گروه‌های Ctrl<sup>+</sup> و PCL/CNT بهبود می‌بخشد.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که کاشت داربست PCL/f-MWCNT/EA@lip باعث بهبود پتانسیل عملکردی و تغییر بیان ژن‌های مرتبط با حافظه در هیپوکامپ پس از آسیب نخاعی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل عمل، سیستم دارورسانی، مهندسی بافت، حافظه، نورونز



# Effect of Polycaprolactone/Carbon nanotube scaffold implantation along with liposomal ellagic acid in hippocampal synaptogenesis after spinal cord injury

Arman Abroumand Gholami (M.Sc)<sup>1,2\*</sup>, Fatemeh Gheybi (Ph.D)<sup>3,4</sup>, Amir Mahdi Molavi (Ph.D)<sup>5</sup>, Fatemeh Tahmasebi (Ph.D)<sup>1</sup>, Arash Papi (M.Sc)<sup>4</sup>, Hamideh Babaloo (Ph.D)<sup>6</sup>

1- Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

2- Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

3- Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

4- Nanotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

5- Department of Materials Research, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research, Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran

6- Regenerative Medicine, Organ Procurement and transplantation Multi-Disciplinary Center, Razi Hospital, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Arman Abroumand Gholami: aroma3162@gmail.com

**Introduction:** Memory and cognition impairments are the most important secondary effects of spinal cord injury (SCI) in the hippocampus. Therefore, the present study aimed to examine the effect of implantation of polycaprolactone/ functionalized multiwall carbon nanotube (PCL/f-MWCNT) scaffold along with ellagic acid loaded liposome (EA@lip) in neurological function recovery and hippocampus deficit after SCI.

**Methods and Materials:** Twenty-four female Wistar rats were randomly assigned into 4 groups (n=6): Ctrl- group (laminectomy without SCI), Ctrl<sup>+</sup> group (SCI), PCL/CNT group (implantation of PCL/f-MWCNT scaffold) and PCL/CNT/EA group (implantation of PCL/f-MWCNT/EA@lip scaffold). The injury model was the dorsal hemisection at the T9 level. Characterization of EA@lip made by remote loading method was done by transmission electron microscopy and dynamic light scattering. Also, the morphology of PCL/f-MWCNT fibers was investigated by field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM). Behavioral tests were used to evaluate the neurobehavioral performance of the animals. After 4-weeks, excitatory postsynaptic potential was recorded from the CA1 area of the hippocampus. Hippocampal mRNA levels of amyloid beta precursor protein (APP), cyclic nucleotide phosphodiesterase (CNP), glutamate ionotropic receptor kainate type subunit 2 (GRIK2) and syntaxin-binding protein 1 (Munc 18-1) were assayed using reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR).

**Results:** We demonstrated that, after implanting the PCL/CNT scaffold with or without EA@lip, the hippocampal action potential improved by increasing the slope and amplitude of fEPSP compared to the Ctrl<sup>+</sup> group. RT-qPCR data showed that the expression of CNP and Munc 18-1 increased, and the expression of APP and GRIK2 decreased, in the groups that received PCL/CNT with or without EA@lip compared to the injury group. We also proved that the treatment with PCL/CNT/EA@lip improved behavioral performance compared to the Ctrl<sup>+</sup> and PCL/CNT groups.

**Conclusion:** This study demonstrated that PCL/f-MWCNT/EA@lip scaffold implantation improves functional potential and alters the expression of memory-related genes in the hippocampus post-injury.

**Keywords:** Action potentials, Drug delivery systems, Tissue engineering, Memory, Neurogenesis

