

● مقاله تحقیقی

بررسی اثر تجویز اریتروپویتین بر تغییرات تراکم استخوان فمور رت در مدل بی‌وزنی

*امیر خوشوقتی^۱، عباس نورمحمدی^۲، شاهین جهانی ملکی^۳

چکیده

مقدمه: پوکی استخوان ناشی از عدم تحمل وزن در سفرهای فضایی (کوتاه یا طولانی مدت) به اثبات رسیده است. توان استخوان‌زایی اریتروپویتین فرضیه ممانعت از اوستئوپروز در شرایط بی‌وزنی را در ذهن ایجاد می‌کند. تحقیق حاضر برای ارزیابی اثر تجویز اریتروپویتین بر تغییرات تراکم استخوان فمور رت در مدل بی‌وزنی انجام شده است.

روش بررسی: ۱۲ رت در دو گروه شاهد و آزمون به مدت ۳ هفته قرار گرفتند. مدل بی‌وزنی در هر دو گروه به مرحله اجرا درآمد. گروه آزمون تحت تیمار با اریتروپویتین (۳۰۰ واحد/کیلوگرم، یکروز در میان) نیز قرار گرفتند. در پایان مطالعه، فمور راست هر رت جدا گردید و تراکم استخوانی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تراکم استخوانی کل فمور در گروه آزمون به میزان معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/002$ ، $0/144 \pm 0/006$ در مقابل $0/160 \pm 0/003$).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، تجویز اریتروپویتین می‌تواند مانع از پوکی استخوان ناشی از مایکروگراویتی در مدل بی‌وزنی شود.

کلمات کلیدی: بی‌وزنی، تراکم استخوان، پوکی استخوان، اریتروپویتین

(سال هفدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۴، مسلسل ۵۰)
تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲۴

فصلنامه علمی پژوهشی ابن سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهجا
تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۱۸

۱. استادیار، تهران، ایران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، مرکز تحقیقات طب هوافضا (مؤلف مسئول)
anatomygray2009@gmail.com
۲. دستیار طب هوافضا و زیر سطحی، تهران، ایران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، مرکز تحقیقات طب هوافضا
۳. دستیار، تهران، ایران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، مرکز تحقیقات طب هوافضا

مقدمه

کاهش توده استخوانی در پوکی استخوان می‌تواند منجر به افزایش خطر شکستگی شود. نوع اولیه پوکی استخوان معمولاً با کهولت سن و کاهش عملکرد غدد جنسی همراه است و ارتباطی با بیماریهای مزمن دیگر ندارد. نوع ثانویه ناشی از بیماریها و اختلالات دیگر است. فقدان حرکت از علل شایع پوکی استخوان در نوع ثانویه می‌باشد [۱]. تحمل وزن برای تداوم یکپارچگی اسکلت ضروریست. تعادل متابولیک استخوان (تشکیل و تجزیه) بواسطه عدم تحمل وزن در سفرهای فضایی، بیحرکتی، یا استراحت طولانی‌مدت در بستر مختل می‌شود که منجر به کاهش تراکم معدنی استخوان و اختلال در خصوصیات مکانیکی آن می‌گردد [۲-۵]. پوکی استخوان ناشی از عدم تحمل وزن در سفرهای فضایی در تمام قسمت‌های اسکلت بدن انسان به‌طور یکنواخت صورت نمی‌گیرد. استخوان‌هایی که وزن بدن را تحمل می‌کنند بیشتر تحت تأثیر مایکروگراویتی قرار می‌گیرند [۶، ۷]. میزان از دست رفتن تراکم استخوان ۴۵ فضاورد پس از مأموریت‌های دراز مدت، از ۲ تا ۹٪ متغیر بوده است [۸].

معلق ساختن اندام تحتانی یا آویزان نمودن جوندگان، از مدل‌های تثبیت شده بی‌وزنی در سطح زمین می‌باشد. فقدان حرکت، بسیاری از تغییرات فیزیولوژیک دستگاه اسکلتی-عضلانی سفرهای فضایی و استراحت طولانی‌مدت در بستر را شبیه‌سازی می‌کند [۹-۱۱]. پوکی استخوان و آتروفی عضلانی از جمله تغییرات شاخص در مدل بی‌وزنی هستند که در فضاوردان در طول سفرهای فضایی و در بیماران بستری به مدت طولانی نیز مشاهده می‌گردد [۹، ۱۲].

اریتروپویتین، هورمونی گلیکوپروتئینی و عاملی ضروری در کنترل تولید گلبول‌های قرمز در مغز استخوان به‌شمار می‌رود. این اثر از طریق اتصال به گیرنده بیان شده در سلول‌های پیش‌ساز اریتروئید اعمال می‌شود [۱۳-۱۵]. اریتروپویتین به‌صورت عمده توسط فیروبلست‌های بینابینی قشر و بخش

بیرونی مدولای کلیه حیوانات بالغ تولید می‌گردد. در دوران جنینی نیز به‌وسیله سلول‌های کوپفر کبد تولید می‌شود [۱۹-۱۶]. اثرات غیرهماتوپویتیک اریتروپویتین (مانند ازدیاد عروق، محافظت از قلب و حفاظت از اعصاب)، اشتیاق فراوانی را در پزشکان و دانشمندان برانگیخته است [۲۰، ۲۱]. مطالعات متعددی مشخص ساخته است اریتروپویتین در بافت‌های دیگر از جمله مغز [۲۲] تولید می‌شود و گیرنده آن در بسیاری از سلول‌های دیگر غیرهماتوپویتیک مانند سلول‌های آندوتلیال مویرگ‌های مغز [۲۳]، سلول‌های عضله صاف عروق [۲۴]، سلول‌های میوکارد [۲۵]، نورون‌ها [۲۶] و آستروسیت‌ها [۲۷] وجود دارد. مطالعات حیوانی و انسانی، اثرات فیزیولوژیک بالقوه اریتروپویتین را در بافت استخوانی مشخص ساخته‌اند [۳۰-۲۸]. تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر تجویز اریتروپویتین بر تغییرات تراکم استخوان فمور رت در مدل بی‌وزنی انجام شده است.

روش بررسی

۱۲ رت نر شش هفته‌ای در دو گروه شاهد و آزمون به مدت ۳ هفته در حیوانخانه با شرایط یکسان (درجه حرارت 22 ± 1 درجه سانتیگراد، چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته) قرار گرفتند. رت‌ها همگی امکان دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. دوره عادت‌دهی به مدت یک هفته برگزار شد. رت‌های هر دو گروه تحت مدل بی‌وزنی قرار گرفتند. اریتروپویتین صنعتی rhEpo به میزان ۳۰۰ واحد/کیلوگرم به صورت یک روز در میان به رت‌های گروه آزمون تزریق شد. در پایان مطالعه، فمور راست هر رت جدا گردید و تراکم استخوانی اندازه‌گیری شد.

مدل شبیه‌سازی مایکروگراویتی: این مدل با استفاده

از آویزان‌سازی دم به مرحله اجرا درآمد [۳۱]. رت‌های هر دو گروه به مدت ۲۱ روز از دم به حالت آویزان باقی ماندند به‌صورتی که بدن آنها، زاویه ۳۰ درجه با کف قفس داشت [۹]. پس اندام خلفی با کف قفس تماس نداشت. زاویه مذکور و فاصله اندام خلفی تا کف قفس هر روز اندازه‌گیری شد تا در

جدول ۱- مقایسه میانگین تراکم معدنی استخوان فمور در دو گروه شاهد و آزمون

تراکم معدنی برحسب gr/cm^{-2}	گروه شاهد (انحراف معیار± میانگین)	گروه درمان (انحراف معیار± میانگین)	* p
تراکم معدنی کل استخوان فمور	۰/۱۴۴±۰/۰۰۶	۰/۱۶۰±۰/۰۰۳	۰/۰۰۴
تراکم معدنی پروگزیمال فمور	۰/۱۳۸±۰/۰۰۶	۰/۱۵۵±۰/۰۰۴	۰/۰۰۲
تراکم معدنی قسمت میانی فمور	۰/۱۴۰±۰/۰۰۴	۰/۱۶۱±۰/۰۰۵	۰/۰۰۲
تراکم معدنی دیستال فمور	۰/۱۴۸±۰/۰۰۵	۰/۱۶۵±۰/۰۰۵	۰/۰۰۲

* محاسبه شده با آزمون من ویتنی

مدل‌ها به‌شمار می‌رود [۳۴]. در تحقیق حاضر، تراکم معدنی استخوان فمور در مدل آویزان‌سازی از دم، به میزان معنی‌داری کاهش یافت. تغییرات حاصله در تراکم معدنی استخوان فمور قابل قیاس با مطالعات پیشین است، پس از مدل آویزان‌سازی رت از دم می‌توان برای تحقیقات آتی استفاده نمود [۳۷-۳۵].

کاهش نیروهای مکانیکی در طول برداشت وزن از اندام تحتانی باعث حذف سیگنال‌هایی می‌شود که زندگی اوستئوسیت را تداوم می‌بخشند. بنابراین روند فوق منجر به آپوپتوز می‌گردد. اوستئوسیت‌های مرده علامتی برای فعال شدن استئوکلاست‌های مجاور هستند. پس افزایش جذب استخوان و ازدست‌دادن استخوان را شاهد خواهیم بود [۳۸]. مشخص شده است اریتروپویتین اثرات حفاظتی از بافت شامل جلوگیری از آپوپتوز سلول‌ها [۳۹] و القای ترمیم بافتی [۴۰] دارد. این اثرات می‌تواند مانع از روند پاتولوژیک اوستئوپوروز ناشی از برداشت وزن باشد.

اعمال وزن برای تداوم حجم و قدرت استخوان، حیاتی است. عدم فعالیت فیزیکی، دیمینرالیزاسیون استخوان و تخریب ساختار آن را تشدید می‌کند [۴۱، ۴۲]. مکانیسم‌های بالقوه در از دست دادن استخوان به‌دنبال بی‌وزنی به‌طور کامل مشخص نشده‌اند. از جمله مکانیسم‌های پیشنهاد شده در این زمینه می‌توان به افزایش التهاب و تولید رادیکال‌های آزاد مشتق از

صورت لزوم، تصحیح شود. رت‌ها در این مدل، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. روزانه دو بار وضعیت عمومی و میزان فعالیت کلی، وضعیت تغذیه شامل غذا و آب آشامیدنی، امکان حرکت آزادانه در قفس، و وضعیت دم حیوان کنترل گردید.

ارزیابی تراکم معدنی استخوان^۱ و میزان محتویات معدنی استخوان^۲ بر روی فمور راست هر رت و با روش DEXA^۳ در دانشگاه علوم پزشکی تهران ارزیابی شد. روش ارزیابی طبق رفرنس مربوطه انجام گردید [۳۲].

تمامی داده‌های جمع‌آوری شده با نرم افزار SPSS نگارش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار در جداول ثبت گردید. روش‌های آزمون من ویتنی و همبستگی اسپیرمن برای تحلیل آماری به‌کار گرفته شد و میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تمام رت‌ها در مطالعه حاضر، تا پایان تحقیق در حالت آویزان از دم قرار داشتند. هیچ‌گونه نشانه‌ای از التهاب موضعی یا عمومی در طول مطالعه در رت‌ها مشاهده نگردید. تراکم معدنی استخوان در قسمت‌های پروگزیمال، میانی، دیستال و کل فمور در گروه آزمون به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (جدول ۱). میزان محتویات معدنی استخوان بخش‌های پروگزیمال، دیستال و کل فمور در گروه آزمون نیز به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ولی در قسمت میانی با آنکه بیشتر بود اما معنی‌دار نبود ($p=0/065$) (جدول ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به هزینه‌های بالا و تعداد کم مطالعات در طول سفرهای فضایی، مدل‌های شبیه‌سازی در سطح کره زمین به مرحله اجرا درمی‌آید [۳۳]. آویزان‌سازی رت/موش یکی از این

1. Bone mineral density: BMD
2. Bone mineral content
3. dual-energy X-ray absorptiometry

* محاسبه شده با آزمون من ویتنی

اولی مهم‌تر می‌باشد [۵۲]. VEGF توسط سلول‌هایی تولید می‌شود که آنژیوژنز را تحرک کرده‌اند و کاملاً شبیه اریتروپویتین است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند تحریک گیرنده اریتروپویتین فقط محدود به ایجاد هماتوپویز نیست و این گیرنده‌ها در سلول‌های غیر هماتوپویتیک مانند آندوتلیال عروق نیز بیان می‌شوند [۵۳]. بنابراین کاملاً امکان‌پذیر خواهد بود که VEGF اثر مثبت بر همئوستاز استخوان داشته باشد و به‌ویژه اوستئوژنز نیز بتواند با اریتروپویتین آغاز گردد.

شواهد فزاینده‌ای ضد این مطلب وجود دارد که مولکول‌های درگیر در هماتوپویز و تشکیل استخوان، با هم مرتبط هستند. شاید هنوز تحقیق بیشتر لازم باشد تا از اریتروپویتین در درمان اوستئوپروز استفاده نمود. به‌علاوه مکانیسم‌های مولکولی رابط بین اریتروپویتین و تشکیل استخوان را باید بیشتر درک نمود. هنوز نمی‌دانیم اثرات اریتروپویتین بر اسکلت، مکمل با هماتوپویز است یا ثانویه به آن؟ دوز مناسب اریتروپویتین و زمان ایده‌آل برای تحریک تشکیل استخوان چیست؟ آیا مقادیر اریتروپویتین برای تجویز در مطالعات انسانی، مؤثر و ایمن هستند؟ در صورتی که چنین نباشد آیا می‌توان از دیگر مولکول‌های سیگنالی به همراه اریتروپویتین استفاده کرد تا نتایج درمانی بهتری به دست آورد؟ در مجموع، مطالعه حاضر توانست نشان دهد تجویز اریتروپویتین می‌تواند تراکم معدنی استخوان را در رت‌ها در شرایط مشابه مایکروگراویتی بهبود بخشد. به بیان دیگر، اریتروپویتین توانست مانع از اوستئوپروز ناشی از بی‌وزنی در رت در مدل مایکروگراویتی شبیه‌سازی شده شود.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانیم از محققین و پرسنل شریف و زحمتکش دانشکده طب هوافضا و زیرسطحی از مجموعه دانشگاه علوم پزشکی آجا و پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران نهایت تشکر را به عمل آوریم.

اکسیژن اشاره نمود [۴۳-۴۴]. مشخص گشته است اعمال وزن و سایتوکاین‌های التهابی، فاکتورهای رونویسی عامل NF-κB^۱ را فعال می‌سازند. تجزیه عامل NF-κB منجر به مهار کاهش تولید استخوان به‌دنبال برداشت وزن می‌شود. مکانیسم‌های پیشنهادی عبارتند از: ۱- تداوم نسبت سلول‌های پیش‌ساز استخوان یا اوستئوبلاست‌های نارس؛ ۲- ممانعت از جذب استخوان به طریق مهار سیگنال داخل سلولی به‌وسیله فعال کننده گیرنده عامل NF-κB به نام RANKL در پیش‌سازهای اوستئوکلاست. دو جنبه از دخالت NF-κB در کاهش سریع توده استخوانی قابل مشاهده است که به‌واسطه اوستئوپروز ناشی از عدم تحرک (در فضا و در بستر) القا می‌شود [۴۵]. مطالعات حاکی از آنست که میزان اریتروپویتین با کاهش التهاب مرتبط می‌باشد [۴۶-۴۸]. مهار سایتوکاین‌های التهابی (به‌ویژه NF-κB) می‌تواند باعث تشکیل استخوان جدید به‌دنبال القای بی‌وزنی گردد. در حقیقت، اریتروپویتین به میزان معنی‌داری بیان NF-κB را کاهش می‌دهد. پس می‌توان تشکیل استخوان را با اریتروپویتین و از طریق مکانیسم گفته شده، افزایش داد [۴۹]. به‌نظر می‌رسد ممانعت از کاهش تشکیل استخوان (ناشی از برداشت وزن) در رت‌های آویزان از دم، به علت سرکوب نمودن NF-κB توسط اریتروپویتین باشد. مطالعات متعددی حاکی از افزایش ترمیم استخوان توسط اریتروپویتین است اما مکانیسم‌های دخیل مشخص نیستند. پاره‌ای معتقدند اریتروپویتین نقش کلیدی در ترمیم استخوان تازه جذب شده دارد و مکانیسمی نیز برای آن پیشنهاد می‌کنند [۵۰].

آنژیوژنز نقشی حیاتی در فازهای رشد، بلوغ و ترمیم دستگاه اسکلتی-عضلانی دارد. بنابراین تشکیل استخوان بدون واکنش‌های عروقی، غیرممکن است [۵۱]. دو مسیر هورمونی مهم برای تحریک آنژیوژنز وجود دارد که عبارتند از مسیر فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (VEGF)^۲ و آنژیوپویتین که

1. nuclear factor κB

2. Vascular endothelial growth factor

References

1. Howard A. Coding for bone diseases. *For The Record*. 2011;23(9):27.
2. Blaber E, Marcal H, Burns BP. Bioastronautics: the influence of microgravity on astronaut health. *Astrobiology*. 2010;10(5):463-473.
3. LeBlanc AD, Spector ER, Evans HJ, Sibonga JD. Skeletal responses to space flight and the bed rest analog: a review. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2007;7(1):33-47.
4. Zhang P, Hamamura K, Yokota H. A brief review of bone adaptation to unloading. *Genomics, proteomics & bioinformatics*. 2008;6(1):4-7.
5. Watanabe Y, Ohshima H, Mizuno K, Sekiguchi C, Fukunaga M, Kohri K, et al. Intravenous pamidronate prevents femoral bone loss and renal stone formation during 90-day bed rest. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19(11):1771-1778.
6. Lang T, LeBlanc A, Evans H, Lu Y, Genant H, Yu A. Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19(6):1006-1012.
7. Sibonga JD, Cavanagh PR, Lang TF, LeBlanc AD, Schneider VS, Shackelford LC, et al. Adaptation of the skeletal system during long-duration spaceflight. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*. 2007;5(4):249-261.
8. Sibonga JD, Evans HJ, Sung HG, Spector ER, Lang TF, Oganov VS, et al. Recovery of spaceflight-induced bone loss: bone mineral density after long-duration missions as fitted with an exponential function. *Bone*. 2007;41(6):973-978.
9. Morey-Holton ER, Globus RK. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *Journal of applied physiology*. 2002;92(4):1367-1377.
10. Morey-Holton E, Globus RK, Kaplansky A, Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data. *Advances in space biology and medicine*. 2005;10:7-40.
11. Carpenter RD, Lang TF, Bloomfield SA, Bloomberg JJ, Judex S, Keyak JH, et al. Effects of long-duration spaceflight, microgravity, and radiation on the neuromuscular, sensorimotor, and skeletal systems. *J. Cosmol*. 2010;12:3778-3780.
12. Graebe A, Schuck EL, Lensing P, Putcha L, Derendorf H. Physiological, pharmacokinetic, and pharmacodynamic changes in space. *Journal of clinical pharmacology*. 2004;44(8):837-853.
13. Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell*. 1995;83(1):59-67.
14. Wu H, Klingmuller U, Besmer P, Lodish HF. Interaction of the erythropoietin and stem-cell-factor receptors. *Nature*. 1995;377(6546):242-246.
15. Kertesz N, Wu J, Chen TH, Sucov HM, Wu H. The role of erythropoietin in regulating angiogenesis. *Developmental biology*. 2004;276(1):101-110.
16. Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, Sfacteria A, Ghezzi P, Fratelli M, et al. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(41):14907-14912.
17. Brines M, Cerami A. Discovering erythropoietin's extra-hematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney international*. 2006;70(2):246-250.
18. Tan CC, Eckardt KU, Ratcliffe PJ. Organ distribution of erythropoietin messenger RNA in normal and uremic rats. *Kidney international*. 1991;40(1):69-76.
19. Fisher JW. Erythropoietin: physiologic and pharmacologic aspects. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*. 1997;216(3):358-369.
20. Kumral A, Tuzun F, Oner MG, Genc S, Duman N, Ozkan H. Erythropoietin in neonatal brain protection: the past, the present and the future. *Brain & development*. 2011;33(8):632-643.
21. Tsai PT, Ohab JJ, Kertesz N, Groszer M, Matter C, Gao J, et al. A critical role of erythropoietin receptor in neurogenesis and post-stroke recovery. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006;26(4):1269-1274.
22. Hak DJ, Makino T, Niikura T, Hazelwood SJ, Curtiss S, Reddi AH. Recombinant human BMP-7 effectively prevents non-union in both young and old rats. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2006;24(1):11-20.
23. Acheson A, Richards JB, de Wit H. Effects of sleep deprivation on impulsive behaviors in men and women. *Physiology & behavior*. 2007;91(5):579-587.
24. Cianferotti L, Brandi ML. Muscle-bone interactions: basic and clinical aspects. *Endocrine*. 2014;45(2):165-177.
25. Wright GL, Hanlon P, Amin K, Steenbergen C, Murphy E, Arcasoy MO. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemia-reperfusion injury. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2004;18(9):1031-1033.
26. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, Divoux D, Nouvelot A, MacKenzie ET, et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1999;19(6):643-651.
27. Sugawa M, Sakurai Y, Ishikawa-Ieda Y, Suzuki H, Asou H. Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation. *Neuroscience research*. 2002;44(4):391-403.

28. Lee MY, Fukunaga R, Lee TJ, Lottsfeldt JL, Nagata S. Bone modulation in sustained hematopoietic stimulation in mice. *Blood*. 1991;77(10):2135-2141.
29. Takenaka T, Itaya Y, Ishikawa I, Kobayashi K, Tsuchiya Y. Skeletal effects of erythropoietin in hemodialysis patients. *International urology and nephrology*. 2003;35(3):407-413.
30. Singbrant S, Russell MR, Jovic T, Liddicoat B, Izon DJ, Purton LE, et al. Erythropoietin couples erythropoiesis, B-lymphopoiesis, and bone homeostasis within the bone marrow microenvironment. *Blood*. 2011;117(21):5631-5642.
31. Knox M, Fluckey JD, Bennett P, Peterson CA, Dupont-Versteegden EE. Hindlimb unloading in adult rats using an alternative tail harness design. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2004;75(8):692-696.
32. Katikaneni R, Ponnappakkam A, Miller E, Ponnappakkam T, Gensure RC. A new technique for precisely and accurately measuring lumbar spine bone mineral density in mice using clinical dual energy X-ray absorptiometry (DXA). *Toxicology mechanisms and methods*. 2009;19(3):225-231.
33. Surve VV, Andersson N, Lehto-Axtelius D, Hakanson R. Comparison of osteopenia after gastrectomy, ovariectomy and prednisolone treatment in the young female rat. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 2001;72(5):525-532.
34. Wimalawansa SM, Wimalawansa SJ. Simulated weightlessness-induced attenuation of testosterone production may be responsible for bone loss. *Endocrine*. 1999;10(3):253-260.
35. Hahndold C, Momken I, Ouadi A, Bekaert V, Brasse D. Effect of prior treatment with resveratrol on density and structure of rat long bones under tail-suspension. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2011;29(1):15-22.
36. Siu WS, Wong HL, Lau CP, Shum WT, Wong CW, Gao S, et al. The effects of an antiosteoporosis herbal formula containing epimedii herba, ligustri lucidi fructus and psoraleae fructus on density and structure of rat long bones under tail-suspension, and its mechanisms of action. *Phytotherapy research : PTR*. 2013;27(4):484-492.
37. Bloomfield SA, Allen MR, Hogan HA, Delp MD. Site- and compartment-specific changes in bone with hindlimb unloading in mature adult rats. *Bone*. 2002;31(1):149-157.
38. Aguirre JI, Plotkin LI, Stewart SA, Weinstein RS, Parfitt AM, Manolagas SC, et al. Osteocyte apoptosis is induced by weightlessness in mice and precedes osteoclast recruitment and bone loss. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2006;21(4):605-615.
39. Yatsiv I, Grigoriadis N, Simeonidou C, Stahel PF, Schmidt OI, Alexandrovitch AG, et al. Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2005;19(12):1701-1703.
40. Ribatti D, Presta M, Vacca A, Ria R, Giuliani R, Dell'Era P, et al. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood*. 1999;93(8):2627-2636.
41. Giangregorio L, Blimkie CJ. Skeletal adaptations to alterations in weight-bearing activity: a comparison of models of disuse osteoporosis. *Sports medicine*. 2002;32(7):459-476.
42. Smith BJ, Lucas EA, Turner RT, Evans GL, Lerner MR, Brackett DJ, et al. Vitamin E provides protection for bone in mature hindlimb unloaded male rats. *Calcified tissue international*. 2005;76(4):272-279.
43. Norrdin RW, Jee WS, High WB. The role of prostaglandins in bone in vivo. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*. 1990;41(3):139-149.
44. Marie PJ, Jones D, Vico L, Zallone A, Hinsenkamp M, Cancedda R. Osteobiology, strain, and microgravity: part I. Studies at the cellular level. *Calcified tissue international*. 2000;67(1):2-9.
45. Nakamura H, Aoki K, Masuda W, Alles N, Nagano K, Fukushima H, et al. Disruption of NF-kappaB1 prevents bone loss caused by mechanical unloading. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013;28(6):1457-1467.
46. Cuzzocrea S, Mazzon E, Di Paola R, Patel NS, Genovese T, Muia C, et al. Erythropoietin reduces the development of experimental inflammatory bowel disease. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2004;311(3):1272-1280.
47. Einhorn TA. The science of fracture healing. *Journal of orthopaedic trauma*. 2005;19(10 Suppl):S4-6.
48. Zhu L, Jin W, Pan H, Hu Z, Zhou J, Hang C, et al. Erythropoietin inhibits the increase of intestinal labile zinc and the expression of inflammatory mediators after traumatic brain injury in rats. *The Journal of trauma*. 2009;66(3):730-736.
49. Garcia P, Speidel V, Scheuer C, Laschke MW, Holstein JH, Histing T, et al. Low dose erythropoietin stimulates bone healing in mice. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2011;29(2):165-172.
50. Shiozawa Y, Jung Y, Ziegler AM, Pedersen EA, Wang J, Wang Z, et al. Erythropoietin couples hematopoiesis with bone formation. *PLoS one*. 2010;5(5):e10853.
51. Beamer B, Hettrich C, Lane J. Vascular endothelial growth factor: an essential component of angiogenesis and fracture healing. *HSS journal : the musculoskeletal journal of Hospital for Special Surgery*. 2010;6(1):85-94.
52. Towler DA. The osteogenic-angiogenic interface: novel insights into the biology of bone formation and fracture repair. *Current osteoporosis reports*. 2008;6(2):67-71.
53. Govender S, Csimma C, Genant HK, Valentin-Opran A, Amit Y, Arbel R, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 2002;84-A(12):2123-2134.

Evaluation the effect of erythropoietin on osteoporosis in a microgravity simulation model

*Khoshvaghti A¹, Nurmohammadi A², Jahani Maleki SH³

Abstract

Background: Bone loss is a well-documented phenomenon occurring in humans both in short- and long-term spaceflights. Revealing data on the role of erythropoietin (EPO) in bone formation has led some to suggest that EPO treatment could also play a role in protecting bone against microgravity-induced bone loss. The aim of the present study was to investigate the effects of EPO administration on densitometric changes of femur of rat in a Microgravity Simulation Model (MSM).

Materials and methods: Twelve rats were divided into two groups: the tail-suspended control (TSC), and the tail-suspended group treated with rhEpo (TSE) (300 U/kg every 48 hours). The experiment lasted for 3 weeks. The animals were sacrificed, the right femur of each rat was removed, and bone mineral density was measured for each animal.

Results: Bone mineral density of whole femur in TSE group was significantly higher than TSC group (0.160 ± 0.003 vs. 0.144 ± 0.006 , $p=0.002$).

Conclusion: According to the results of this study, Erythropoietin administration might have protective effects against microgravity-induced mineral loss in a rat MSM.

Keywords: Osteoporosis, Weightlessness, Bone Mineral Density, Erythropoietin

1. Assistant professor, Aerospace and Subaquatic Medicine Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
(*Corresponding author)

2. Resident in aerospace and subaquatic medicine, Aerospace and Subaquatic Medicine Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Resident, Aerospace and Subaquatic Medicine Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran