Archive of SID

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ پانزدهم، شمارهٔ ۳، ص ۲۰۵-۱۹۵، ۱۳۸۷

مقالهٔ پژوهشی

اثر انالاپریل بر ادم مغزی و تولید سایتوکین‌ها پس از ایسکمی گذرای مغزی در موش سوری

فرناز نیک‌بخت[۱]، عباس شاهدی[۲]، دکتر وحید شیبانی*[۳]، دکتر حمید نجفی‌پور[۴]، دکتر غلامرضا مشتاقی[۵]

خلاصه

مقدمه: تولید سایتوکین‌های التهاب‌زا به عنوان یکی از مسیرهای التهابی در سیستم اعصاب مرکزی مسئول قسمت اعظم تخریب مغز پس از ایسکمی می‌باشند. از طرف دیگر، در هنگام التهاب و ایسکمی مغزی اجزای سیستم رنین- آنژیوتانسین در مغز افزایش می‌یابد. اگر چه مشخص شده است که مهار سیستم رنین- آنژیوتانسین و یا استفاده از گیرنده AT1 آن می‌تواند نقش حفاظتی در ایسکمی مغزی داشته باشد ولی ارتباط بین تولید سایتوکین‌ها و آنژیوتانسین II در پاتولوژی ایسکمی مغزی هنوز مشخص نشده است. هدف این تحقیق بررسی اثر مهار آنژیوتانسین II بر تولید سایتوکین‌ها و ارتباط بین این دو بر ادم مغزی می‌باشد.

روش: در این تحقیق ۵۴ سر موش سوری نر به صورت تصادفی به ۵ گروه نرمال، شم، ایسکمی، پیش‌درمان با انالاپریل (دوز حداکثر) و پیش‌درمان با انالاپریل (دوز حداقل) تقسیم شدند و میزان اینترلوکین-۱ بتا(IL-1β) و فاکتور نکروزدهنده توموری (TNF-α) در مغز و سرم خون با روش ELISA سنجیده شدند.

یافته‌ها: همان‌گونه که انتظار می‌رفت ایسکمی سبب افزایش نقصان در عملکرد نورولوژیک حیوان، افزایش آب مغز و میزان سایتوکین‌ها گردید. در گروه پیش درمان با دوز بالای انالاپریل، ۸۵٪ از حیوانات بلافاصله علایم تشنج از خود نشان دادند. در این گروه همراه با تشدید علایم کلینیکی میزان IL-1β در سرم نیز افزایش یافت. برعکس گروه فوق در گروه پیش درمان با دوز پایین انالاپریل نه تنها بهبود معنی‌داری در عمل کرد حیوان و کاهش میزان آب مغز دیده شد ($P<0/05$) بلکه میزان هر دو سایتوکین نیز در مغز به صورت معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که داروی مهارکننده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (انالاپریل) اثر دوگانه‌ای بر سکته مغزی ایفاء می‌کند. این دارو در دوز پایین دارای نقش حفاظتی بوده و این نقش را تا حدودی با مهار تولید موضعی سایتوکین‌های پیش التهابی خصوصاً IL-1β انجام می‌دهد. در صورتی که در دوز بالا سبب افزایش شدت التهاب با مکانیسم نامعلوم می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی، سایتوکین، مهارگرهای ACE، موش سوری

۱- دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- فوق‌لیسانس آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- استادیار بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ● **آدرس پست الکترونیک:** vsheibani2@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۱۰/۱ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۷/۱/۳۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۷/۳/۱

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سیستم اعصاب مرکزی مانند هر اندام دیگری در بدن جنبه‌هایی از التهاب را از خود نشان می‌دهد. سلول‌های موجود در سیستم عصبی قادرند واسطه‌های التهابی از جمله سایتوکین‌های التهابی، کموکین‌ها، رادیکال‌های آزاد و پروستاگلاندین‌ها را تولید کنند (۱). تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی و به‌خصوص IL-1β و TNF-α منجر به التهاب و مرگ نورونی به دنبال ایسکمی می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که بیان mRNA سایتوکین IL-1β پس از ایسکمی مغزی گذرا در موش افزایش می‌یابد (۲). هم چنین تشدید آسیب وارده به مغز پس از تزریق داخل بطنی IL-1β پس از ایسکمی مشاهده شده است (۳). از طرف دیگر، استفاده از IL-1ra که آنتاگونیست داخلی گیرنده IL-1 است موجب کاهش ادم مغزی، بهبود عملکرد نورولوژیک حیوان و در کل کاهش شدت آسیب می‌شود (۴). برخی مطالعات استفاده از TNF-α در ایسکمی‌های مغزی را موجب بهبود و برخی دیگر موجب وخیم‌تر شدن وضعیت آسیب نورونی دانسته‌اند. ظاهراً این دو عملکرد متفاوت توسط دو گیرنده و دو مسیر داخل سلولی متفاوت صورت می‌گیرد (۵).

آنژیوتانسین II امروزه نه تنها به عنوان یک هورمون افزایش‌دهنده فشار خون مطرح است بلکه ثابت شده است که دارای خواص التهاب‌زا نیز می‌باشد (۶). کلیه اجزای سیستم رنین- آنژیوتانسین در مغز موجود بوده و این هورمون به صورت موضعی در مغز تولید می‌شود (۷). تولید موضعی آنژیوتانسین II پس از ایسکمی در مغز افزایش می‌یابد (۸). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از مهارکننده گیرنده AT1 حتی در دوزهای غیرمؤثر بر فشارخون، با کاهش آسیب مغزی همراه می‌باشد (۹). به نظر می‌رسد که مهارگرهای آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین و یا آنتاگونیست گیرنده AT1 دارای اثرات مستقیم حفاظتی در مغز باشند که احتمالاً به خواص ضدالتهابی آنها مربوط می‌شود (۱۰).

با وجود آن که اثر آنژیوتانسین II و سایتوکین ها در ایسکمی‌های مغزی نشان داده شده است، ارتباط بین این دو فاکتور التهابی در پاتولوژی ایسکمی‌های مغزی هنوز بررسی نشده است. در این مطالعه سعی شده است تا اثر مهاگر آنزیم ACE بر تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی پس از ایسکمی گذرا در موش سوری بررسی شود.

روش بررسی

در این مطالعه از ۵۴ سر موش سوری نر در محدوده وزنی ۳۵-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی در قفس‌های ۶-۴ تایی نگهداری می‌شدند و به آب و غذای معمولی دسترسی کامل داشتند و درجه حرارت محیط ۲۲±۲ºC بود. کلیه مراحل آزمایش به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان رسید.

حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه نرمال، شم، ایسکمی، پیش‌درمان با دوز حداقل انالاپریل و پیش‌درمان با دوز حداکثر انالاپریل تقسیم شدند و آب مغزی در ۴ گروه کنترل، ایسکمی، پیش‌درمان با انالاپریل دوز پایین (۰/۵mg/kg) و گروه جراحی شم (n=۷ در هر گروه) اندازه‌گیری شد.

سایتوکین‌های پیش‌التهابی در سرم و روشناور هموژنایز شده بافت مغز در ۴ گروه کنترل، ایسکمی، پیش‌درمان با دوز پایین انالاپریل (n=۷ در هر گروه) و گروه پیش‌درمان با دوز بالای انالاپریل (n=۵) اندازه‌گیری شد.

در گروه‌هایی که ایسکمی در آنها ایجاد شده بود، میزان آب مغزی و یا سایتوکین‌ها ۲۴ ساعت پس از ایجاد ایسکمی اندازه‌گیری شدند. کلیه حیوانات به صورت تصادفی به گروه‌های فوق تقسیم شده و محققینی که عمل جراحی ایسکمی را در حیوان انجام داده و یا میزان سایتوکین‌ها را اندازه‌گیری کردند از نوع درمان حیوانات بی‌اطلاع بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری فشارخون سیستمیک

پس از یک هفته پیش‌درمان با انالاپریل، فشارخون سیستولیک در حیوان توسط روش غیرتهاجمی و با استفاده از کاف مخصوص دم اندازه‌گیری شد (دستگاه power lab). برای هر حیوان ۳ فشار متوالی با فاصله‌های زمانی ۲-۱ دقیقه اندازه‌گیری شده و میانگین آنها به عنوان فشار سیستولیک در نظر گرفته شد.

ایجاد ایسکمی موضعی در مغز

شریان میانی مغز در حیوانات توسط عبور فیلامنت مسدود شد (۱۱). به‌طور خلاصه ابتدا حیوانات با هالوتان ۱٪ در مخلوط گازی ۳۰٪ O_2 و ۷۰٪ N_2O تحت بی‌هوشی قرار گرفتند. با برشی در ناحیه میانی گردن، شریان کاروتید مشترک چپ (CCA) جدا شده و سپس نخ پرولین صفر شش که انتهای آن به صورت مناسب گرد شده بود به داخل کاروتید داخلی (ICA) هدایت شده و تا محل شریان میانی مغز (MCA) به میزان ۱۰mm پیش برده شد. به این ترتیب انسداد شریان میانی مغز ایجاد گردید. پس از گذشت ۹۰ دقیقه از انسداد مرحله ریپرفیوژن با بیرون کشیدن فیلامنت آغاز شد.

اندازه‌گیری سایتوکین‌ها

۲۴ ساعت پس از انسداد شریان میانی مغز، حیوانات مجدداً توسط هالوتان ۴٪ عمیقاً بی‌هوش شده سپس با باز کردن قفسه سینه، خون‌گیری مستقیماً از قلب حیوان انجام گرفت. نمونه‌های خونی به مدت ۱۵ دقیقه با دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ شده و سرم آنها تا زمان اندازه‌گیری سایتوکین‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس مغز بلافاصله از جمجمه خارج شده و توسط نیتروژن مایع منجمد گردید. هموژنیزاسیون مغز توسط دستگاه هموژنایزر انجام گرفت.

به منظور هموژنیزاسیون، ۱۰۰ میلی‌گرم از هر مغز (۱۲) با چهار میلی‌لیتر بافر سرد (pH=۷/۲) حاوی 1% Trition 100-x-150 mmol/L Nacl, Tris 50 mmol و کوکتل مهارکننده پروتئاز (Roch آلمان) مخلوط شد (۱۳). محلول هموژنایز شده سپس با سانتریفوژ یخچال‌دار با دور g ۳۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شده و روشناور آن برای اندازه‌گیری سایتوکین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری با کیت‌های ELISA (Biosource، بلژیک) مخصوص اندازه‌گیری TNF-α و IL-1β در موش سوری انجام شد. به‌طور خلاصه نمونه‌های مورد نظر به چاهک‌هایی که حاوی آنتی‌بادی اولیه ضد IL-1β و mice TNFα بودند ریخته شد. سپس آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با بیوتین به محیط اضافه گردید. پس از افزودن strepavidin-HRP، کروموژن به محیط اضافه شده و پس از نیم ساعت محلول متوقف کننده به محیط اضافه گردید. تغییر رنگ کروموژن در طیف نوری ۴۵۰nm خوانده شد.

میزان سایتوکین‌های مغز به صورت پیکوگرم در ۱ میلی‌لیتر از هموژنایز مغز بیان گردید.

اندازه‌گیری آب مغز

۲۴ ساعت پس از ایسکمی، حیوانات کشته شده و مغز آنها به سرعت در آورده شد. پس از جدا کردن پیاز بویایی و پل مغزی وزن مغز به دقت اندازه‌گیری شد (وزن مغز آبدار: ww). سپس مغزها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه نگهداری شده و مجددا وزن شدند (وزن مغز خشک: dw) و میزان آب مغزی از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۱):

$$\text{میزان آب مغزی} = \frac{ww - dw}{ww} \times ۱۰۰$$

بررسی ضایعات نورولوژیک

میزان ضایعات رفتاری حیوان ۲۴ ساعت پس از ایسکمی به روشی که Huang و همکاران قبلا شرح داده بودند در ۴ شماره به شرح زیر اندازه‌گیری شد (۱۴):

www.SID.ir

Archive of SID

شماره صفر: حرکات طبیعی

شماره ۱: خم شدن دست مقابل در زمانی که حیوان از دم آویزان می‌شود.

شماره ۲: چرخش به سمت مخالف ضایعه هنگامی که حیوان از دم آویزان می‌شود.

شماره ۳: چرخش به سمت مخالف ضایعه هنگامی که حیوان بر روی میز قرار داده می‌شود.

شماره ۴: عدم هر گونه حرکت خود به خود حیوان

استفاده از داروی انالاپریل

انالاپریل به مدت یک هفته به صورت خوراکی (حل شده در آب) در دو دوز حد اکثر (۲۵mg/kg) و حد اقل (۰/۵mg/kg) به حیوانات داده شد. این دو دوز بر اساس مطالعات قبلی (۱۵،۱۶) و نیز نتایج اندازه‌گیری مستقیم فشارخون در این مطالعه که نشان دادند هر دو دوز بر فشارخون بی‌تأثیر هستند، استفاده شد. برای به دست آوردن دوز حداکثر ابتدا ۱۵ حیوان با فشار خون نرمال به صورت تصادفی به سه گروه ۵ تایی تقسیم شدند. انالاپریل به صورت خوراکی به مدت یک هفته در دوزهای ۲۵-۵۰mg/kg و ۷۵mg/kg به سه گروه داده شد. نتایج ثبت فشار خون پس از یک هفته نشان دادند که انالاپریل تنها در دوز ۲۵mg/kg بر میزان فشارخون بی‌تأثیر است بنابراین این دوز به عنوان حداکثر دوزی که بر فشارخون تأثیر ندارد در نظر گرفته شد. تأکید بر عدم تأثیر دارو بر فشارخون به منظور رد هرگونه احتما ل تأثیر مثبت ناشی از کاهش فشارخون بر سکته مغزی بوده است.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه نتایج به صورت میانگین ± انحراف‌معیار نشان داده شدند. تفاوت بین گروه‌ها از طریق آزمون ANOVA و پس آزمون Tukey سنجیده شدند. تفاوت با P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر انالاپریل بر میزان مایع مغزی

حجم مایع مغزی ۲۴ ساعت پس از ایجاد ایسکمی اندازه‌گیری شد. میزان آن در گروه شم نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. پس از القاء ایسکمی این میزان به‌طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۱). استفاده از انالاپریل در دوز کمتر میزان آب مغز را در حد گروه شم کاهش داد (شکل ۱).

اثر انالاپریل بر عملکرد نورولوژیک حیوان

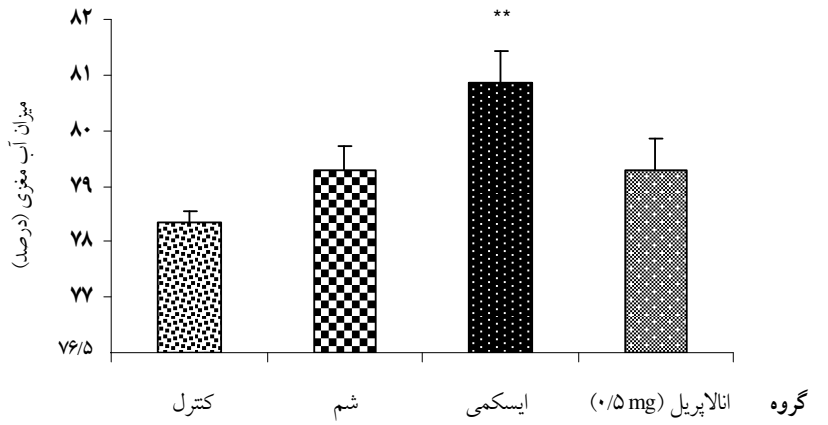
گروه پیش درمان با دوز پایین دارو توانست ضایعات نورولوژیک را به میزان معنی‌داری کاهش دهد (P<۰/۰۵). در صورتی که دوز حداکثر تأثیری بر بهبود عملکرد نورولوژیک حیوان نداشت (شکل ۲).

اثر انالاپریل بر غلظت سایتوکین‌های سرم

همان‌طور که در شکل ۳ دیده می‌شود پس از ایجاد ایسکمی میزان هر دو سایتوکین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۱ برای IL-1β و P<۰/۰۵ برای TNF-α). هر دو دوز انالاپریل موجب کاهش TNF-α در سرم شد اگر چه این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۳-الف). دو دوز انالاپریل تأثیری دوگانه بر میزان IL-1β در سرم داشتند. در حالی که دوز حداقل موجب کاهش IL-1β اگرچه به‌طور غیرمعنی‌دار شد، دوز حداکثر آن نه تنها میزان IL-1β را در سرم کاهش نداد بلکه میزان آن را نسبت به گروه کنترل ایسکمی به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش داد (شکل ۳-ب).

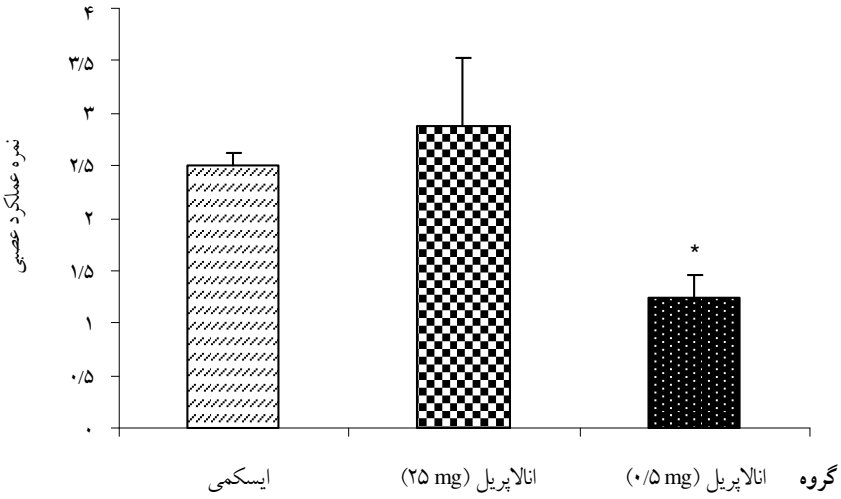
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: *میزان آب مغز ۲۴ ساعت پس از ایجاد ایسکمی در گروه‌های کنترل، ایسکمی، شم، و پیش‌درمان با دوز حداقل انالاپریل (n=۷ در هر گروه)*

در گروه ایسکمی آب مغز افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۱).

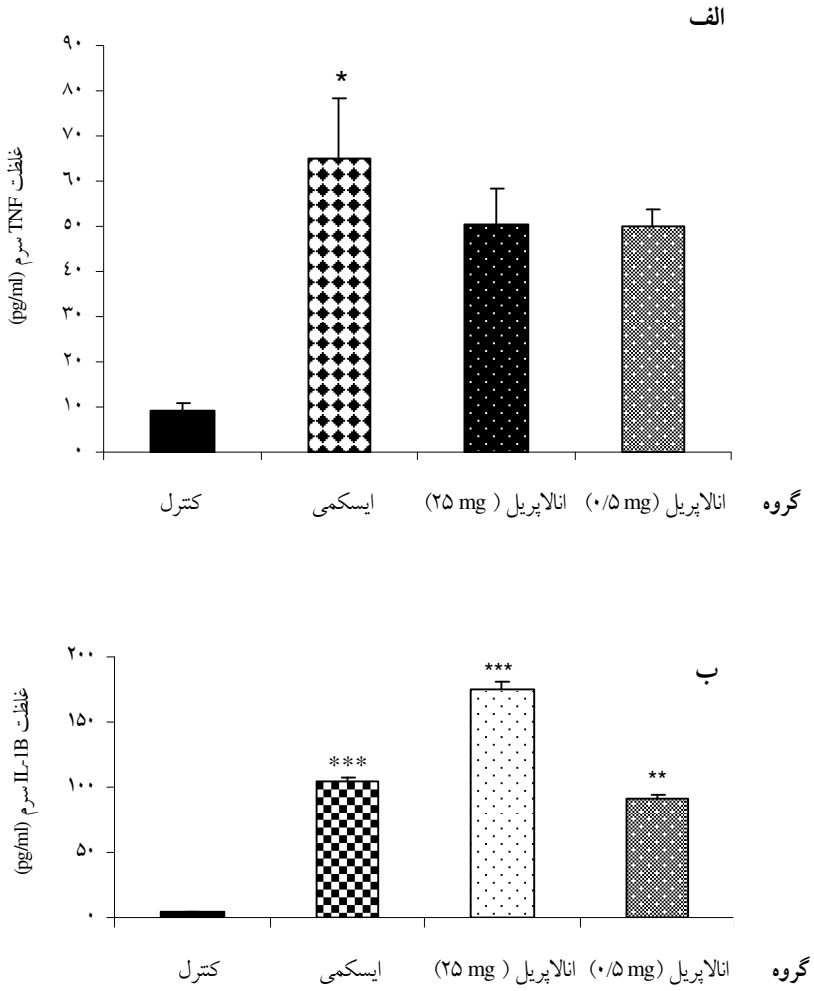


شکل ۲: *عملکرد عصبی در گروه‌های ایسکمی و پیش درمان با دو دوز انالاپریل*

دوز پایین انالاپریل موجب بهبود معنی‌دار عملکرد حیوان شده است (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: *اثر پیش درمان با دو دوز انالاپریل بر میزان سایتوکین‌های سرم*

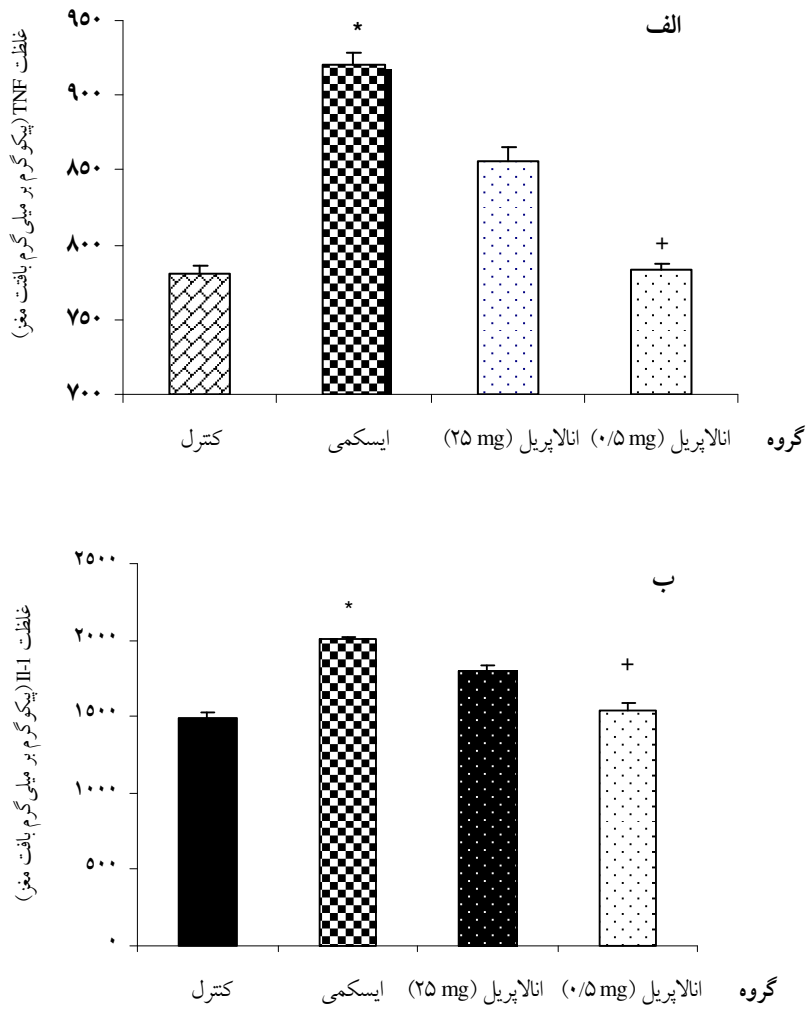
انالاپریل بر میزان TNF-a بی‌تأثیر بوده (الف) ولی اثر دوگانه‌ای بر میزان IL-1B سرم داشت (ب).

اثر انالاپریل بر سایتوکین‌های مغز

پس از ایجاد ایسکمی میزان هر دو سایتوکین به طور معنی‌داری در مغز افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). پیش درمان با دوز کمتر انالاپریل توانست به‌طور معنی‌داری از این افزایش جلوگیری کند (شکل ۴، P<۰/۰۵). در صورتی که دوز بالای انالاپریل تأثیری بر میزان هیچ‌یک از دو سایتوکین در مغز نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴: *اثر پیش درمان با دو دوز انالاپریل بر میزان سایتوکین‌های مغز*

دوز بالای انالاپریل بی‌تأثیر بوده ولی دوز پایین آن موجب کاهش معنی‌دار هر دو سایتوکین شد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان دادند که پس از ایجاد ایسکمی میزان هر دو سایتوکین در مغز افزایش می‌یابد. این نتایج با بررسی‌های دیگر به‌دست آمده در مورد IL-1β مطابقت دارد (۲،۱۷). اگرچه در مورد TNFα برخی محققین اثر دوگانه‌ای را در ایسکمی نشان داده‌اند (۵) ولی نتایج این تحقیق بر نقش سمیت عصبی آن دلالت دارد.

نتایج هم‌چنین نشان دادند که میزان هر دو سایتوکین پس از ایسکمی مغزی در سرم خون افزایش می‌یابد گرچه مقدار آن در مقایسه با افزایش آن در مغز، کمترمی باشد. این امر احتمالاً بیانگر عبور سایتوکین‌ها از سد خونی- مغزی می‌باشد. مکانیسم احتمالی این امر را برخی از طریق انتقال فعال دانسته و گروهی دیگر از طریق مناطق نشتی که به دنبال ضایعات پاتولوژیک در سلول‌های آندوتلیال به

www.SID.ir

Archive of SID

وجود می‌آیند توجیه کرده‌اند (۱). در سال‌های اخیر مطالعات متعددی دخالت سیستم رنین- آنژیوتانسین را در ایجاد التهاب نشان داده‌اند (۶). با توجه به نقش التهاب‌زای آنژیوتانسین II به نظر می‌رسد که مهارگرهای آنزیم آنژیوتانسین (ACE) در بیماری‌هایی که به‌نحوی با التهاب در ارتباط هستند از جمله سکته مغزی مؤثر می‌باشند. استفاده از انالاپریل در برخی مطالعات تجربی مدل ایسکمی در موش‌های سوری نتایج متفاوتی را در بر داشته است. در یک مطالعه انالاپریل به صورت داخل صفاقی و با تک دوز ۰/۰۳mg/kg موجب بهبود ضایعات مغزی ناشی از ایسکمی گردیده (۱۸) ولی در مطالعه دیگر انالاپریل نه در دوز کاهنده فشار خون (۵mg/kg, ip) و نه در دوز غیرمؤثر بر فشارخون (۱mg/kg, ip) نتوانسته اثرات مفیدی را پس از ایسکمی مغزی در موش‌های سوری نشان دهد (۱۹). در این تحقیق انالاپریل به صورت خوراکی و به مدت یک هفته در دو دوز حداکثر (۲۵mg/kg) و حداقل (۰/۵mg/kg) استفاده گردید. برطبق نتایج قبلی (۱۵،۱۶) و نیز اندازه‌گیری غیرتهاجمی فشارخون، که در این تحقیق انجام گرفت هر دو دوز بر فشارخون بی‌تأثیر بودند. بلافاصله پس از مرحله ریپرفیوژن، تقریباً ۹۰٪ از حیواناتی که با دوز بالای انالاپریل پیش درمان شده بودند، علایم متوسط تا شدید تشنج را از خود نشان دادند.

اگر چه کنترل طولانی مدت فشارخون با کاهش بروز سکته‌های مغزی همراه است ولی از طرف دیگر افت حاد فشارخون پس از ایسکمی منجر به هایپوکسی شدید و وخیم شدن شرایط ایسکمی می‌گردد (۲۰،۲۱). در مطالعه فوق ایجاد تشنج در گروه دوز بالای انالاپریل نمی‌تواند به دلیل افت فشارخون و هایپوکسی ناشی از آن باشد زیرا اگر هایپوکسی دلیل اصلی ایجاد تشنج می‌بود علایم تشنج می‌بایست زودتر و نه بلافاصله پس از ریپرفیوژن ظاهر می‌شدند.

اندازه‌گیری فشارخون توسط دستگاه Power Lab نشان داد که این دوز از دارو بر فشار خون حیوانات با فشارخون نرمال تأثیری نداشته است.

در این گروه همراه با تشنج میزان IL-1β در سرم خون حیوانات نیز افزایش نشان داد. به دلیل میزان بالای مرگ‌ومیر در این حیوانات، میزان آب مغزی در این حیوانات اندازه‌گیری نشد. مطالعات قبلی نشان داده است که IL-1β می‌تواند موجب تسهیل در بروز علایم تشنج گردد (۲۱). چندین مطالعه در مورد مکانیسم این اثر انجام شده است. از جمله Wang و همکاران نشان دادند که IL-1β موجب تسهیل اثر گلوتامات بر گیرنده NMDA شده و با افزایش کلسیم داخل سلولی اثرات نوروتوکسیک ایجاد می‌کند (۲۳). به دنبال تزریق داخل بطنی IL-1β میزان گلوتامات در کرتکس مغز و هیپوکمپ افزایش یافته و بر عکس میزان گابا کاهش می‌یابد (۲۲). مطالعه‌ای دیگر افزایش بیان آدنیل سیکلاز را در تشنج ایجاد شده ناشی از IL-1β مؤثر دانسته است(۲۴).

به دلیل آن که بین میزان IL-1β مغز در گروه دوز حداکثر انالاپریل و گروه ایسکمی تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود، این سؤال مطرح می‌شود که اگر IL-1β عامل ایجاد تشنج باشد چرا در گروه ایسکمی بدون پیش درمان که میزان IL-1β آن افزایش معنی‌دار از خود نشان می‌دهد این حالت دیده نمی‌شود؟ به نظر می‌رسد که دوز بالای انالاپریل به طریقی نامعلوم موجب تسهیل ارتباط بین گلوتامات و IL-1β شده است.

بر خلاف دوز بالای انالاپریل، دوز پایین آن نه تنها موجب کاهش میزان هر دو سایتوکین در مغز شد (شکل۴) بلکه در بهبود علایم نورولوژیک (شکل ۲) و کاهش میزان ادم مغزی نیز مؤثر بود (شکل ۱). ظاهراً برای عملکرد مهارگرهای آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین یک پنجره درمانی وجود دارد. در مطالعه‌ای که قبلا انجام شده است نیزاین مطلب تأییدگردیده به طوری که انالاپریل تنها در

www.SID.ir

Archive of SID

یک دوز خاص توانسته حجم سکته مغزی را کاهش دهد و دوزهای بالاتر و پایین‌تر آن بـر سـکته مغـزی غیرمـؤثر بوده‌اند (۱۸). مطالعات بیشتری برای مشخص شدن مکانیسم دقیق این اثر دوگانه انالاپریل لازم است.

در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که داروهـای مهـارگر آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین دریک دوز مشخص دارای اثرات حفاظتی بر روی نورون‌ها بوده و این اثر را از طریـق کاهش فاکتورهای التهابی به ویژه IL-1β اعمال می‌کنند.

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر عابدین وکیلی بـه دلیـل راهنمـایی‌هـای سودمندشان تشکر می‌کنند.

Abstract

The Effect of Enalapril on Brain Edema and Cytokine Production Following Transient Focal Cerebral Ischemia in Mice

Nikbakht F., M.Sc.[1], Shahedi A., M.Sc.[2], Sheibani V., Ph.D.[3*], Najafipour H., Ph.D.[4], Moshtaghie Gh., Ph.D.[5]

1. Ph.D. Candidate of Physiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Master of Science in Anatomy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3. Assistant Professor of Physiology, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4. Professor of Physiology, Physiology Research Center and Physiology Department, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

5. Assistant Professor of Biochemistry, School of Medicine, Kerman, University of Medical Sciences

Introduction: Cytokines production as one of the inflammatory pathways in CNS is responsible for most brain damages following ischemia. On the other hand, during inflammation and brain ischemia, most of the renin- angiotensin components (RAS) increase locally. While it is established that blockade of RAS especially AT1 receptors has a protective effect on ischemia, the interaction of cytokines and angiotensin II is not well understood. This study was designed to investigate the effect of angiotensin II inhibitor on cytokine production as well as brain edema.

Method: Fifty-four male mice were randomly divided into 5 groups of normal, Sham operated, ischemia, Pretreatment with enalapril (high dose), and Pretreatment with enalapril (low dose) for the measurement of IL-IB and TNF-α in the brain and blood serum by ELIZA method.

Results: Ischemia caused a significant increase in water content and neurological deficit scores as well as cytokine levels. Treatment with enalapril had paradoxical effect on ischemia. In high dose, 85% of the animals showed convulsion after reperfusion. The IL-1β in serum and neurological deficit scores of this group were high, in accordance with clinical signs. In contrast, the low dose of enalapril, had protective effect on ischemia. It caused a significant reduction in brain concentration of both IL-1β and TNF-α ($P<0.05$) and improved significantly the neurological deficit scores and brain water content as well. ($P<0.05$).

Conclusion: Enalapril as an ACE inhibitor, has a dual effect on stroke. At low dose, it has a protective role at least in part by suppressing the local production of pro-inflammatory cytokines while, at high dose, it increases the inflammation by an unknown mechanism.

Keywords: Ischemia, Cytokines, ACE inhibitors, Mice

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2008; 15(3): 195-205

* Corresponding author, e-mail: vsheibaniz@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol* 2006; 147(suppl 1): S232-40.
2. Minami M, Kuraishi Y, Yabuuchi K, Yamazaki A, Satoh M. Induction of interleukin-1 beta in rat brain after transient forebrain ischemia. *J Neurochem* 1992; 58(1): 390-2.
3. Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H, Onodera H, Itoyama Y, Kogure K. Interleukin-1 as a pathogenetic mediator of ischemic brain damage in the rats. *Stroke* 1995; 26(4): 676-80.
4. Rothwell NJ, Luheshi GN. Interleukin-1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neurosci* 2000: 618-25.
5. Hallenbeck JM. The many faces of tumor necrosis factor in stroke. *Nat Med* 2002; 8(12): 1363-8.
6. Ruiz-Ortega M, Loenzo O, Suzuki Y, Ruperez M, Egido J. Proinflammatory actions of angiotensin. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10(3): 321-9.
7. Dzau VJ, Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis. *Hypertension* 2001; 37: 1047-52.
8. Iwai M, Liu HW, Chen R, Ide A, Okamato S, Hata R, *et al.* Possible inhibition of focal cerebral ischemia by angiotensin II type 2 receptor stimulation. *Circulation* 2004; 110(7): 843-8.
9. Saavedra Jm, Benicky J, Zhou J. Mechanisms of the anti-ischemic effect of angiotensin II AT(1) receptor antagonists in the brain. *Cell Mol Neurobiol* 2006; 26(7-8); 1099-111.
10. Thone- Reineke C, Steckelings UM, Unger T. Angiotensin receptor blockers and cerebral protection in stroke. *J Hypertens Suppl* 2006; 24(1): s115-21.
11. Vakili A, Kataoka H, Plesnila N. Role of arginine- vasopressin V1 and V2 receptors for brain damage after transient focal cerebral ischemia. *J cereb blood flow metab* 2005; 25(8): 1012-92.
12. Chapman S, Kadar T, Gilat E. Seizure duration following sarin exposure affects neuro-inflammatory markers in the rat brain. *Neurotoxicology* 2006; 27(2): 277-83.
13. Yatsiv I, Morganti-Kossmann MC, Perez D, Dinarello CA, Novick D, Rubinstein M, *et al*. Elevated intracranial IL-18 in humans and mice after traumatic brain injury and evidence of neuroprotective effects of IL-18 binding protein after experimental closed head injury. *J cereb blood flow metab* 2002; 22(8): 971-8.
14. Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz M.A. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric-oxide synthase. *Science* 1994; 265(5180): 1883-5.
15. da Cunha V, Tham DM, Martin-McNulty B, Deng G, Ho JJ, Wilson DW, *et al.* Enalapril attenuates angiotensin II-induced atherosclorosis and vascular inflammation. *Atherosclorosis* 2005; 178(1): 9-17.
16. Sakamoto K, Sugimoto K, Sudoh T, Fujimuro A. Different effects of Imidapril and enalapril on aminopeptidase P activity in the mouse trachea. *Hypertens Res* 2005; 28(3): 243-7.
17. Liu T, Clark RK, McDonnell PC, Young PR, White RF, Barone FC. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke* 1994; 25(7): 1481-8.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Ravati AJ, Juker V, Kouklei M, Ahlemeyer B, Culmsee C, Krieglstein J. Enalapril and moexipril protect from free radical- induced neuronal damage *in vitro* and reduce ischemic brain injury in mice and rats. *Eur j pharmacol* 1999; 373(1):21-33.

19. Hamai M, Iwai M, Ide E, Tomochika H, Tomono Y, Mogi M. Comparison of inhibitory action of candesartan and enalapril on brain ischemia through inhibition of oxidative stress. *Neuropharmacology* 2006; 51(4): 822-8.

20. Kelley RE. Blood pressure management in acute stroke. *J La State Med Soc* 1996; 148(11): 485-9.

21. Lees KR, Dyker AG. Blood preesure control after acute stroke. *J Hypertens Suppl* 1996; 14(6): 35-8.

22. Xiaoqin Z, Zhengli L, Changgeng Z, Xiaojing W, Li L. Changes in behavior and amino acid neurotransmitters in the brain of rats with seizure induced by IL-1β or IL-6. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005; 25(3): 236-9.

23. Wang Y, Ruan X, Zhang S, Sun X. Effect of interleukin-1 beta on the elevation of cytoplasmic free calcium of the cultured hippocampal neurons induced by L-glutamate. *J Tongji Med Univ* 1999; 19(2): 120-3

24. Wang Z, Liu Q, Zhu C. Effect of interleukin -1 beta on the variation of adenylyl cyclase expression in rats with seizures induced by L-glutamate. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004; 24(6): 540-2.

www.SID.ir