

## اثر محافظتی ایسکمی پس شرطی تأخیری بر عوارض سکته مغزی آمبولیک در موش صحرایی ماده

مسعود مبینی<sup>۱</sup>، حسین رضازاده<sup>۱</sup>، علی شمسی زاده<sup>۱</sup>، وحید احسانی<sup>۱</sup>، الهام حکیمی زاده<sup>۱</sup>، صدیقه امیر اسماعیلی<sup>۱</sup>، محمد اله توکلی<sup>۲\*</sup>

### خلاصه

مقدمه: ایسکمی پس شرطی که از طریق بستن و باز کردن متناوب هر دو شریان کاروتید مشترک القا می شود بر مدل های انسداد دایم یا موقت شریان مغزی میانی اثر محافظت نورونی دارد، اما اثر محافظت نورونی تأخیری آن در مدل آمبولیک سکته مغزی به ویژه در موش ماده تاکنون گزارش نشده است که مطالعه حاضر به بررسی این موضوع پرداخت. روش: این مطالعه تجربی بر روی ۲۴ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در ۳ گروه شم، سکته و پس شرطی انجام شد. همه حیوانات هم سیکل سازی شدند و بعد از آن برای ایجاد سکته مغزی، لخته به داخل شریان مغزی میانی تزریق شد. پس شرطی سازی در پنج مرحله (۳۰ ثانیه بستن و ۳۰ ثانیه باز کردن شریان های کاروتید مشترک) و ۶/۵ ساعت بعد از القای سکته انجام گردید. حجم انفارکتوس، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک دو روز بعد از القای سکته اندازه گیری شدند.

یافته ها: پس شرطی سازی ۶/۵ ساعت بعد از القای سکته در گروه پس شرطی، حجم انفارکتوس ( $P < 0/001$ )، میزان ادم مغزی ( $P < 0/050$ ) و اختلالات نورولوژیک ( $P < 0/050$ ) را نسبت به گروه سکته به طور معنی داری کاهش داد. نتیجه گیری: با توجه به داده های این مطالعه، پس شرطی سازی تأخیری بعد از سکته مغزی مدل آمبولیک در موش صحرایی ماده، ضایعات ایسکمی، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک را بهبود بخشیده است. واژه های کلیدی: ایسکمی مغزی، پس شرطی، رپرفیوژن، انفارکتوس، اختلالات نورولوژیک

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۲- دانشیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

\* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: [allahtavakoli@gmail.com](mailto:allahtavakoli@gmail.com)

پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۷/۱۰

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۶/۳۰

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۲

## مقدمه

امروزه سکته مغزی سومین علت مرگ و میر بعد از بیماری‌های قلبی و سرطان محسوب می‌شود و سالانه میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا به این بیماری مبتلا می‌گردند (۱). سکته مغزی در انسان‌ها در نتیجه عواملی از قبیل دیابت، فشار خون، سن بالا، بیماری‌های قلبی و استفاده مداوم از برخی داروها به وجود می‌آید. علاوه بر عوامل ذکر شده، اختلاف جنسیت یا به عبارت ساده‌تر مؤنث و مذکر بودن افراد هم ممکن است بر مکانیسم سکته و پاسخ به درمان آن تأثیر بسزایی داشته باشد (۲، ۳). یعنی سکته مغزی می‌تواند یک بیماری متأثر از جنس باشد و از طرفی جنس ماده می‌تواند روند مولکولی آسیب مغزی را تغییر دهد (۳)، ولی با وجود تأثیر بسزای جنس ماده بر سکته مغزی، تحقیقات انجام شده مسأله جنسیت را زیاد لحاظ نکرده‌اند و اکثر مطالعاتی که در زمینه سکته انجام گرفته است به صورت یک طرفه بر روی حیوانات نر بود (۴). پس بهتر است مطالعات جدید حالت متنوع‌تری به خود گرفته و در کنار حیوانات نر، حیوانات ماده هم مورد بررسی قرار گیرند تا تحقیقات آزمایشگاهی به واقعیات بالینی نزدیک‌تر شوند (۴).

از طرف دیگر، درمان‌های بالینی رایج جوابگوی سکته مغزی حاد نبوده، نیاز به پیدایش راهکارهای جدید در زمینه درمان سکته را مطرح می‌سازد (۵). یکی از این راهکارها، پس شرطی‌سازی می‌باشد که شامل یک سری بستن و باز کردن‌های شریان‌های کاروتید مشترک می‌باشد (۶). در گذشته ثابت شده است، پس شرطی‌سازی که به صورت فوری و بلافاصله بعد از رپرپیوژن انجام شود میزان انفارکتوس را در سکته مغزی کانونی کاهش می‌دهد (۶). محققان به تازگی دریافته‌اند که چنان‌چه پس شرطی‌سازی

در موش صحرایی نر بلافاصله بعد از سکته مغزی مدل آمبولیک باشد می‌تواند اختلالات نورولوژیک را کاهش دهد (۵) و پس شرطی‌سازی، مغز را از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد از صدمات موقت و دایمی محافظت می‌کند (۷-۹).

پس شرطی‌سازی به عنوان یک اثر محافظتی قدرتمند در مقابل خسارات ناشی از رپرپیوژن در سیستم عصبی شناخته شده است و نه تنها حجم انفارکتوس مغز را کاهش می‌دهد، بلکه از التهاب و آپوپتوز (Apoptosis) در موش‌های صحرایی جلوگیری می‌کند (۱۰، ۷، ۵).

سکته مغزی مدل آمبولیک که به وسیله تزریق لخته کهنه به داخل عروق مغزی ایجاد می‌شود در مقایسه با سایر مدل‌های سکته، وجه اشتراک زیادی با بیماران سکته مغزی از نظر علائم پاتوفیزیولوژیک دارد؛ چرا که اکثریت آسیب‌های مغزی در انسان به علت ترمبوآمبولی‌های کهنه‌ای است که از قلب و کاروتید منشأ می‌گیرند (۱۱). تاکنون تحقیقات و به همان اندازه بررسی درمان‌ها و یا عوامل تأثیرگذار بر سکته مثل فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (Tissue plasminogen activator یا tPA)، هیپوترمی (Hypothermia) و پس شرطی‌سازی بر روی حیوانات ماده نسبت به نر کمتر بوده، از طرفی عمده مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است اثرات فوری پس شرطی‌سازی را بررسی کرده‌اند، اما اثرات تأخیری آن را مورد بررسی قرار نداده‌اند.

بنابراین در این تحقیق اثرات تأخیری پس شرطی‌سازی بر روی حجم انفارکتوس، میزان ادم مغزی، اختلالات نورولوژیک و رفتاری در سکته مغزی مدل آمبولیک در جنس ماده مورد بررسی قرار گرفت.

## روش بررسی

حیوانات: در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی ماده در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در گروه‌های هشت‌تایی در قفس‌های جدا و در اتاقی تحت شرایط آرام و با حداقل استرس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت  $21 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام مطالعه مذکور را تأیید نمود. حیوانات به طور تصادفی در ۳ گروه شم ( $n = 8$ )، سکت (8 = n) و پس شرطی ( $n = 8$ ) قرار داده شدند. در گروه شم، موش‌ها ابتدا هم‌سیکل‌سازی شدند و بعد از آن تمام مراحل جراحی سکت مغزی انجام شد، ولی به جای تزریق لخته، ۵ میکرولیتر نرمال سالین به داخل شریان کاروتید داخلی تزریق گردید. لازم به یادآوری است که در گروه شم، موش‌ها هیچ یک از عوارض سکت مغزی از قبیل انفارکتوس، ادم مغزی و اختلالات رفتاری را نشان نمی‌دادند و به عبارت دیگر سالم بودند.

در گروه سکت بعد از هم‌سیکل‌سازی حیوانات، سکت مغزی القا شد. موش‌ها در گروه پس شرطی مانند دو گروه قبل، هم‌سیکل‌سازی شدند و القای سکت مغزی انجام شد و بر طبق مطالعات قبلی و همچنین برای اطمینان از این که پس شرطی‌سازی با تأخیر اعمال شده باشد، پس شرطی‌سازی ۶/۵ ساعت بعد از انجام سکت انجام گرفت (۱۲).

## روش ایجاد و ارزیابی هم‌سیکل‌سازی

به دلیل این که موش‌های صحرایی استفاده شده در این پژوهش در فازهای مختلف از سیکل استروس قرار داشتند باید روشی اتخاذ می‌شد تا همه این‌ها در یک فاز مشابه

تحت جراحی ایسکمی قرار بگیرند. از آن‌جا که سعی بر این بود که جنسیت ماده و به دنبال آن اثرات محافظتی استروژن بر سکت مغزی بررسی گردد، در این مطالعه همه موش‌ها در فاز پرواستروس (سومین مرحله سیکل جنسی موش صحرایی ماده که این مرحله با افزایش سطح ۱۷-بتاسترادیول سرم خون همراه است) هم‌سیکل‌سازی شدند.

جهت هم‌سیکل‌سازی موش‌ها، از مانیتورینگ سیکل استروس به وسیله اسمیر واژن استفاده گردید؛ بدین منظور اسمیر واژن حیوان را گرفتیم (برای اطمینان از این که موش‌های صحرایی دارای سیکل باشند، اسمیر واژینال در اوایل صبح تهیه می‌شود) و به وسیله بالب مقدار ۱۰ میکرولیتر نرمال سالین ۰/۹ درصد به واژن موش اضافه کردیم و واژن حیوان را لاواژ دادیم و بعد از آن نمونه بر روی لام قرار گرفت و به حالت اسمیر پخش شد و به موکوس اجازه داده شد که روی اسلاید خشک گردد و بعد از آن به وسیله میکروسکوپ نوری مشاهده شد. در صورت مشاهده شدن طرح سرخسی واضح که فقط در مرحله پرواستروس دیده می‌شود، هم‌سیکل شدن صحیح انجام گرفته است و در غیر این صورت هم‌سیکل نشده‌اند. بعد از هم‌سیکل‌سازی موش‌ها تا پایان دوره آزمایش، حیوانات هم‌سیکل باقی می‌مانند. در صورتی که حیوانات مورد آزمایش هم‌سیکل نشدند این عمل برای ۲ تا ۳ مرتبه تکرار می‌شد (۱۵-۱۳).

## طرز تهیه لخته و روش ایجاد سکت مغزی

بعد از هم‌سیکل‌سازی، حیوانات با هالوتان (۵ درصد برای القای بیهوشی و ۲-۱/۵ درصد برای نگهداری بیهوشی) بیهوش شدند و دمای بدن آن‌ها در دمای ۳۷ درجه

به سمت راست نسبت به برگما). جریان خون مغز ۵ دقیقه قبل از تزریق لخته به عنوان میزان پایه جریان خون در زمان ایسکمی و در دقایق ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و ۶۰ بعد از سکتة مغزی اندازه گیری گردید. کنترل حداقل ۷۰ درصدی در میزان ثبت لیزر داپلر، بیانگر انسداد شریان مغزی میانی بود. میزان جریان خون مغز به صورت درصدی نسبت به میزان پایه بیان شد (۱۶).

#### نحوه پس شرطی سازی

پس شرطی سازی مغزی به طور هم زمان در هر دو شریان کاروتید مشترک انجام شد، روش کار به این ترتیب بود که هر دو شریان به مدت ۳۰ ثانیه بسته و ۳۰ ثانیه باز شد و این کار برای ۵ بار در ۶/۵ ساعت بعد از القای سکتة مغزی تکرار گردید و پس از آن شریان ها به طور کلی باز بودند. برای انسداد شریان ها به طور موقت از میکرو کلیپ های مخصوص شریان های کوچک استفاده شد (۱۷).

#### تعیین حجم انفارکتوس

حجم انفارکتوس ۴۸ ساعت بعد از سکتة مغزی تعیین شد. برای تعیین حجم انفارکتوس پس از خارج کردن مغز، برش داده شد (برش های ۲ میلی متری کرونال) و با تترازولیوم کلرید (Tetrazolium chloride یا TTC) رنگ آمیزی گردید. برای این منظور پس از تهیه محلول ۲ درصد تترازولیوم کلرید، برش های مغز هر حیوان در محلول فوق قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. TTC با آنزیم های دهیدروژناز داخل سلول های زنده واکنش نشان داده، به رنگ قرمز درآمد. بنابراین سلول های زنده به رنگ قرمز در

سانتی گراد نگهداری شد. برای تهیه لخته، شریان رانی از حیوان دهنده خون نمایان گردید و نوک یک لوله پلی اتیلنی ۵۰ با طول ۲۰ سانتی متر وارد آن شد. سپس شریان باز و اجازه داده شد که خون با فشار وارد آن شده، پر از خون گردد. لوله محتوی خون به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و ۲۲ ساعت در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس ۵ میکرو لیتر از لخته جدا و پس از شستشو دادن با سالین وارد کاتتر تزریق کننده شد. برای ایجاد سکتة مغزی پس از بیهوش کردن حیوان با هالوتان، شکافی به طول ۱/۵ سانتی متر در جلوی گردن حیوان داده شد و شریان های کاروتید مشترک، کاروتید داخلی و کاروتید خارجی راست از بافت های اطراف جدا شدند. سپس شاخه های جانبی انتهایی کاروتید خارجی پس از کوتریزه کردن (Cauterization) بسته و بریده شد. بعد از آن، لخته از قبل تشکیل شده (۵ میکرو لیتر) توسط کاتتری از قبل طراحی شده از طریق کاروتید خارجی وارد شریان کاروتید داخلی و سپس به داخل شریان مغزی میانی تزریق گردید و ایسکمی یک طرفه نیم کره راست مغز ایجاد شد (۱۶).

#### اندازه گیری جریان خون مغزی

القای سکتة با لیزر داپلر تأیید شد. بدین منظور، جریان خون مغز به صورت خارج جمجمه ای و توسط دستگاه لیزر داپلر (Moor instrument LTD, UK) اندازه گیری گردید. بعد از باز کردن پوست ناحیه سر، عضله تمپورالیس راست با ملایمت از استخوان جدا و استخوان ناحیه راست جمجمه (کاسه سر) توسط مته دندان پزشکی کاملاً نازک شد، سپس یک پروب بر روی ناحیه نازک شده چسبانده شد (یک میلی متر به سمت عقب و پنج میلی متر از خط وسط جمجمه

آمد، اما نوروتهای مرده تغییر رنگ ندادند (به دلیل نبودن دهیدروژنازاها). پس از ثابت کردن برشها با فرمالین ۱۰ درصد، از آنها توسط اسکندر تصویربرداری شد و تصاویر با یک نرم افزار پردازشگر اندازه گیری شدند. حجم انفارکتوس با استفاده از فرمول [حجم نیم کره چپ - (حجم نیم کره راست - حجم انفارکتوس اندازه گیری شده با TTC)]  $\times 100$  / حجم نیم کره چپ، محاسبه شد (۱۸).

تعیین میزان ادم مغزی با توجه به مقالات مشابه، از فرمول زیر جهت اندازه گیری میزان ادم مغزی استفاده شد (۱۸).  
[حجم نیم کره راست - حجم نیم کره چپ] / حجم نیم کره چپ  $\times 100$

### نتایج

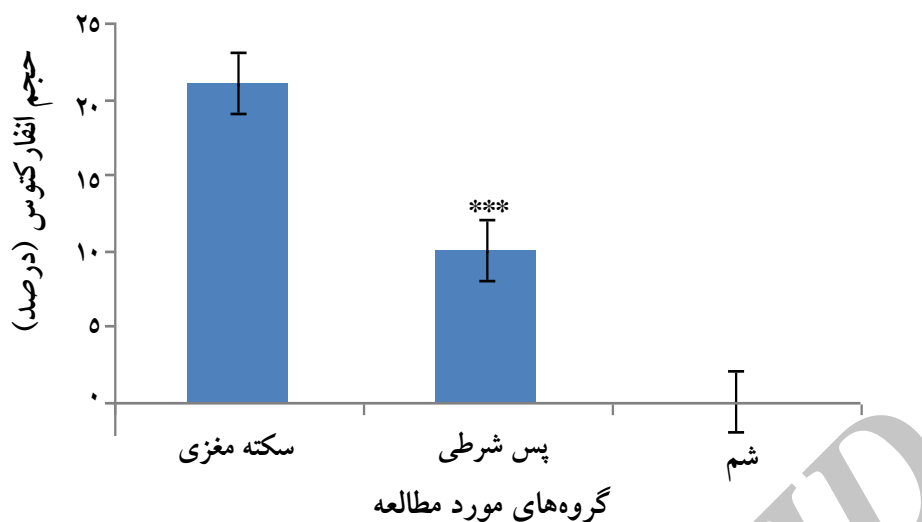
اثر پس شرطی سازی بر حجم انفارکتوس: میانگین حجم انفارکتوس در گروه شاهد و گروه پس شرطی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکتة مغزی به ترتیب  $2/13 \pm 20/8$  و  $1/59 \pm 9/76$  میلی متر مکعب بود که به طور تقریبی کاهش ۵۳ درصدی در حجم انفارکتوس در گروه پس شرطی ایجاد کرد. به عبارت دیگر، پس شرطی سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکتة مغزی، حجم انفارکتوس را به طور معنی داری نسبت به گروه سکتة کاهش داد ( $P < 0/001$ ) (نمودار ۱).  
اثر پس شرطی سازی بر روی میزان ادم مغزی: میانگین میزان ادم مغزی در گروه سکتة نسبت به گروه پس شرطی سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکتة مغزی به ترتیب  $11/15 \pm 1/72$  و  $7/03 \pm 1/13$  درصد بود؛ بدین معنی که کاهش معنی دار ۳۶ درصدی ( $P < 0/050$ ) در میزان ادم مغزی در گروه پس شرطی نسبت به گروه سکتة به وجود آمد (نمودار ۲).

اثر پس شرطی سازی بر اختلالات نورولوژیک: پس شرطی سازی، اختلالات نورولوژیک را ۴۸ ساعت بعد از سکتة مغزی به طور معنی داری نسبت به گروه سکتة کاهش داد ( $P < 0/050$ )، اما ۲۴ ساعت بعد از سکتة مغزی اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱).

بررسی اختلالات نورولوژیک اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه بندی Bederson در ساعات ۲۴ و ۴۸ نمره داده شدند که شامل: عدم هر گونه اختلال (نمره ۰)، خم شدن اندام جلویی (نمره ۱)، خم شدن اندام جلویی به اضافه کنترل مقاومت در هل دادن جانبی (نمره ۲)، چرخیدن به یک طرف (نمره ۳)، چرخیدن به یک طرف به اضافه کاهش سطح هوشیاری (نمره ۴)، مردن و یا عدم هوشیاری و تحرک (نمره ۵) بودند (۱۹).

### آنالیز آماری

در مطالعه حاضر برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. تفاوت های حجم انفارکتوس با آزمون آماری One way ANOVA و پس آزمون Tukey و میزان ادم مغزی با آزمون آماری One way ANOVA و پس آزمون LSD



**نمودار ۱.** بررسی اثر پس شرطی سازی بر حجم انفارکتوس

\*\*\*کاهش معنی داری در میزان انفارکتوس مغزی در گروه پس شرطی در مقایسه با گروه سکته وجود داشت  
حجم نمونه (n) در هر گروه برابر ۸ و میانگین حجم انفارکتوس در گروه شم (حیوانات سالم) برابر با صفر می باشد



**نمودار ۲.** بررسی اثر پس شرطی سازی بر میزان ادم مغزی

\* $(P < 0.05)$  اختلاف معنی داری در گروه پس شرطی در مقایسه با گروه سکته وجود داشت  
حجم نمونه (n) در هر گروه برابر ۸ و میانگین ادم مغزی در گروه شم (حیوانات سالم) برابر با صفر می باشد

**جدول ۱.** اختلافات نورولوژیک توسط سیستم نمره دهی Bederson ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از ایجاد سکته مغزی

گروه	شم (n = ۸)	سکته مغزی (n = ۸)	پس شرطی (n = ۸)
ساعت ۲۴	۰ (۰-۰)	۲ (۱-۲)	۱/۵ (۱-۲)
ساعت ۴۸	۰ (۰-۰)	۳ (۲-۳/۷۵)	*۱/۵ (۱-۲/۷۵)

داده‌ها به صورت میانه که در خارج هر پرانتز و صدک‌های ۲۵م و ۷۵م (صدک‌های داخل پرانتز) بیان شده‌اند  
\*وجود کاهش معنی دار  $(P < 0.05)$  در اختلافات نورولوژیک ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی در گروه پس شرطی در مقایسه با گروه سکته

## بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه، بررسی اثر به کارگیری تأخیری پس شرطی بر درمان ایسکمی مغزی در سگته مغزی مدل آمبولیک در موش صحرائی ماده بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که پس شرطی سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سگته مغزی، حجم انفارکتوس، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک را از طریق کاهش رپرفیوژن مغزی بهبود بخشیده است.

Fisher و همکاران گزارش کردند که اکثر مطالعات انجام شده در زمینه سگته به صورت یک طرفه بر روی حیوانات نر انجام شده است؛ در صورتی که این بیماری مربوط به هر دو جنس می‌باشد (۴). Alkayed و همکاران نشان دادند که زنان در سگته‌های مغزی آمبولیک، آسیب‌های نورونی کمتری را نسبت به مردان هم سن خود متحمل می‌شوند (۲۰). مطالعات دیگری که در این زمینه انجام شده‌اند نشان می‌دهند که منبع این محافظت نورونی در زنان مربوط به استروئیدهای تخمدانی می‌باشد؛ چرا که مهار استروژن از طریق برداشتن تخمدان‌ها و یا افزایش سن، آسیب‌های نورونی را در زنان افزایش می‌دهد (۲۱، ۲۲) و ممکن است در نتیجه وجود یا فقدان استروژن، پاسخ به سگته در زن و مرد متفاوت باشد (۲۳).

در سال ۲۰۰۸ این موضوع مطرح شد که یکی از راهکارهای جدید در زمینه درمان سگته، پست کاندیشنینگ در مغز می‌باشد که از پست کاندیشنینگ در مطالعات متعددی به عنوان پس شرطی سازی یاد می‌شود (۲۳، ۵). محقق به نام Zhao و همکاران برای اولین بار گزارش کردند که پس شرطی سازی حجم انفارکتوس را در صورتی که طی یک ساعت اول بعد از سگته مغزی به کار گرفته شود، کاهش می‌دهد (۲۴). Ren و همکاران ثابت کردند که پس شرطی سازی تأخیری حتی تا ۴ ساعت بعد از القای ایسکمی، آسیب مغزی ناشی از ایسکمی موضعی را کاهش می‌دهد (۱۷).

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که پس شرطی سازی، پس از ایسکمی که اثرات محافظت نورونی آن شناخته شده است می‌تواند بیان ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ را کاهش داده و این کاهش می‌تواند نقشی حیاتی در مکانیسم مولکولی پس شرطی سازی و جلوگیری از آسیب به مغز داشته باشد (۲۵). Xing و همکاران گزارش داده‌اند که پس شرطی سازی، آپوپتوز و استرس اکسیداتیو پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن را در موش صحرائی کاهش می‌دهد (۸). رضازاده و همکاران دریافتند که در موش صحرائی نر، چنانچه پس شرطی سازی بلافاصله بعد از سگته مغزی مدل آمبولیک باشد می‌تواند حجم انفارکتوس و اختلالات نورولوژیک را کاهش دهد و باعث بهبود فعالیت اندام‌ها شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۵).

هر چند در این مطالعه نشان داده شد که پس شرطی سازی حجم انفارکتوس، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک را کاهش می‌دهد و اثرات محافظت نورونی دارد و همچنین باعث طولانی‌تر شدن پنجره درمانی سگته مغزی از طریق پس شرطی سازی می‌گردد، اما این مطالعه دارای محدودیت‌هایی بود. نقطه پایان در مطالعه ۴۸ ساعت بود؛ چرا که حیوانات طی این مدت دچار بیماری و کاهش وزن می‌شدند. این زمان پایانی برای ارزیابی بیشتر عوارض تأخیری کافی نبود. مطالعات بیشتری برای بررسی بهترین زمان شروع پس شرطی سازی، مدت زمان آن و نیز تعیین دقیق مکانیسم محافظت نورونی پس شرطی سازی مورد نیاز است و شاید ترکیب پس شرطی سازی با سایر درمان‌های سگته مغزی بتواند عوارض سگته مغزی را کم کند که نیازمند مطالعه و تحقیق بیشتری است. در مجموع یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که پس شرطی سازی تأخیری، ضایعات ایسکمی را بعد از سگته مغزی مدل آمبولیک کاهش داده است.

## References

1. Towfighi A, Saver JL. Stroke declines from third to fourth leading cause of death in the United States: historical perspective and challenges ahead. *Stroke* 2011; 42(8): 2351-5.
2. Shi S, Morike K, Klotz U. The clinical implications of ageing for rational drug therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64(2): 183-99.
3. Hurn PD, Vannucci SJ, Hagberg H. Adult or perinatal brain injury: does sex matter? *Stroke* 2005; 36(2): 193-5.
4. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI, et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke* 2009; 40(6): 2244-50.
5. Rezazadeh H, Hoseini Kahnuee M, Roohbakhsh A, hamsizadeh A, Rahmani MR, Bidaki R, et al. Neuroprotective Consequences of Postconditioning on Embolic Model of Cerebral Ischemia in Rat. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16: 144-9.
6. Zhao H. The Protective Effects of Ischemic Postconditioning against Stroke: From Rapid to Delayed and Remote Postconditioning. *Open Drug Discov J* 2011; 5: 138-47.
7. Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26(9): 1114-21.
8. Xing B, Chen H, Zhang M, Zhao D, Jiang R, Liu X, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. *Stroke* 2008; 39(8): 2362-9.
9. Yuan Y, Guo Q, Ye Z, Pingping X, Wang N, Song Z. Ischemic postconditioning protects brain from ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through PI3K-Akt pathway. *Brain Res* 2011; 1367: 85-93.
10. Geng X, Ren C, Wang T, Fu P, Luo Y, Liu X, et al. Effect of remote ischemic postconditioning on an intracerebral hemorrhage stroke model in rats. *Neurol Res* 2012; 34(2): 143-8.
11. Wang CX, Yang T, Shuaib A. An improved version of embolic model of brain ischemic injury in the rat. *J Neurosci Methods* 2001; 109(2): 147-51.
12. Leconte C, Tixier E, Freret T, Toutain J, Saulnier R, Boulouard M, et al. Delayed hypoxic postconditioning protects against cerebral ischemia in the mouse. *Stroke* 2009; 40(10): 3349-55.
13. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* 2002; 62(4A): 609-14.
14. Loret De Mola JR, Garside WT, Bucci J, Tureck RW, Heyner S. Analysis of the human zona pellucida during culture: correlation with diagnosis and the preovulatory hormonal environment. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14(6): 332-6.
15. Harder mammalian reproduction || estrous cycles. Gestation & lactation. *zoology* 2004
16. Dinapoli VA, Rosen CL, Nagamine T, Crocco T. Selective MCA occlusion: a precise embolic stroke model. *J Neurosci Methods* 2006; 154(1-2): 233-8.
17. Ren C, Gao X, Niu G, Yan Z, Chen X, Zhao H. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. *PLoS One* 2008; 3(12): e3851.



18. Wang CX, Todd KG, Yang Y, Gordon T, Shuaib A. Patency of cerebral microvessels after focal embolic stroke in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21(4): 413-21.
19. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986; 17(3): 472-6.
20. Alkayed NJ, Harukuni I, Kimes AS, London ED, Traystman RJ, Hurn PD. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke* 1998; 29(1): 159-65.
21. Alkayed NJ, Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD, Miller VM. Neuroprotective effects of female gonadal steroids in reproductively senescent female rats. *Stroke* 2000; 31(1): 161-8.
22. Murphy SJ, McCullough LD, Smith JM. Stroke in the female: role of biological sex and estrogen. *ILAR J* 2004; 45(2): 147-59.
23. Garcia-Segura LM, Azcoitia I, DonCarlos LL. Neuroprotection by estradiol. *Prog Neurobiol* 2001; 63(1): 29-60.
24. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285(2): H579-H588.
25. Liu XR, Luo M, Yan F, Zhang CC, Li SJ, Zhao HP, et al. Ischemic postconditioning diminishes matrix metalloproteinase 9 expression and attenuates loss of the extracellular matrix proteins in rats following middle cerebral artery occlusion and reperfusion. *CNS Neurosci Ther* 2012; 18(10): 855-63.

## Protective Effect of Delayed Ischemic Postconditioning on Embolic Stroke Complications in Female Rat

Mobini M., M.Sc.<sup>1</sup>, Rezazadeh H., M.Sc.<sup>1</sup>, Shamsizadeh A., Ph.D.<sup>2</sup>, Ehsani V., M.Sc.<sup>1</sup>, Hakimizadeh E., M.Sc.<sup>1</sup>, Amir-Esmaili S., M.Sc.<sup>1</sup>, Allahtavakoli M., Ph.D.<sup>2\*</sup>

1. Master of Physiology, Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

2. Associate Professor of Physiology, Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

\* Corresponding author; e-mail: allahtavakoli@gmail.com

(Received: 12 Mey 2013

Accepted: 2 Oct. 2013)

### Abstract

**Background & Aims:** Ischemic postconditioning, conducted by a series of brief occlusion and release of the bilateral common carotid arteries, has neuroprotective properties in permanent or transient models of middle cerebral artery (MCA) occlusion but its delayed neuroprotective effects in the embolic model of stroke, especially in female rat, have not yet been reported and were investigated in the current study.

**Methods:** In this experimental study, 24 female Wistar rats (200 to 250 g) were divided into three groups of sham, stroke and postconditioning. All animals were similar in reproductive cycle, and after that, stroke was induced by clot injection into the right middle cerebral artery. For postconditioning, common carotid arteries (CCA) were occluded for 30 seconds and reopened for 30 seconds, for 5 cycles. The postconditioning was induced at 6.5 hours after the stroke. Infarction volume, brain edema and neurological deficits were measured two days later.

**Results:** Postconditioning at 6.5 hours after stroke decreased infarction volume ( $P < 0.001$ ), brain edema ( $P < 0.050$ ) and norologic deficit ( $P < 0.050$ ) significantly compared to the stroke group.

**Conclusion:** Late postconditioning improved ischemic injury, brain edema and neurological functions after the embolic model of stroke in female rat.

**Keywords:** Brain ischemia, Ischemic postconditioning, Reperfusion, Infarction, Neurological disorders

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(3): 230-239