

## بررسی اثر انسداد گذرای شریان مرکزی در کاهش آسیب‌های مغزی در مدل سکته‌ی مغزی رت

دکتر محمدرضا بیگدلی<sup>۱</sup>، دکتر مهدی رهنما<sup>۲</sup>

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، دانشکده‌ی علوم، گروه زیست‌شناسی bigdelimohammadreza@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۳/۱۷ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ایسکمی تحت کشنده مغز را در برابر عوامل آسیب رسان محافظت می‌کند. در این مطالعه، اثر ایسکمی گذرا شریان میانی مغز (tMCAO) بر حجم آسیب بافتی، استحکام سد خونی-مغزی، و ادم مغزی مورد بررسی قرار گرفت. **روش بررسی:** رت‌ها به چهار گروه اصلی هر یک به تعداد ۲۱ عدد تقسیم شدند. گروه اول به عنوان مدل پیش شرطی سازی ایسکمی روز اول در معرض ایسکمی‌های گذرای ۱۰ دقیقه‌ای در شریان مرکزی (tMCAO) قرار گرفت و بعد از ۲۴ ساعت ایسکمی ۶۰ دقیقه‌ای دریافت می‌کرد. گروه دوم به عنوان گروه کنترل در روز دوم تنها ایسکمی ۶۰ دقیقه شریان مرکزی را دریافت کرد. گروه سوم به عنوان گروه ششم جراحی تنها ایسکمی ۱۰ دقیقه‌ای گذرا را در روز اول دریافت نمود. گروه چهارم بدون هیچ‌گونه جراحی به عنوان گروه فاقد رپرفیوژن انتخاب شد که هیچ کدام از جراحی‌های فوق را دریافت نکرد. در روز سوم، هر گروه اصلی به منظور ارزیابی حجم آسیب مغزی، استحکام سد خونی مغزی، و ادم مغزی به سه زیر گروه هر کدام ۷ حیوان تقسیم شدند (۲۱ حیوان) تا نقص‌های نورولوژیک، حجم آسیب بافتی، استحکام سد خونی مغزی و ادم مغزی ارزیابی شود.

**یافته‌ها:** یافته‌های ما نشان داد که ایسکمی گذرا نقص‌های نورولوژیک، حجم آسیب بافتی، استحکام سد خونی مغزی، و ادم مغزی را بهبود می‌بخشد.

**نتیجه‌گیری:** ایسکمی گذرا با کاهش نقص‌های نورولوژیک، حجم آسیب بافتی، استحکام سد خونی مغزی، و ادم مغزی مرتبط است، که بدین‌وسیله نقش فعالی در پیدایش پدیده‌ی حفاظت مغزی ایفا می‌کند.

**واژگان کلیدی:** پیش شرطی سازی، ایسکمی، سکته‌ی مغزی، حفاظت عصبی

### مقدمه

آسیب رسان (تحمل) یا دیگر تحریکات آسیب رسان (تحمل متقابل) حفاظت می‌کند (۱). تحمل به ایسکمی (IT) یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های درون زاد مسوول افزایش تحمل

تحریکات آسیب رسان در دوزهای پایین و کم، البته زیر آستانه‌ی آسیب رسان به سلول، پاسخ سازشی القا می‌کند که مغز را در برابر استرس‌های دیگر حاصل از همین تحریکات

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

گلوتامات بعد از ایسکمی مغزی القا می‌شود. گلوتامات غلظت کلسیم آزاد (۱۴) را افزایش می‌دهد که آن نیز آنزیم‌های وابسته به کلسیم را افزایش می‌دهد و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (۱۳). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که سمیت حاصل از تحریک، باعث مرگ سلولی در برخی از نورون‌ها می‌شود (۹). اخیراً نشان داده شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث مهار مرگ سلولی می‌شوند. بنابراین، مرگ سلولی نورون ممکن است نقش مهمی در آسیب عصبی حاصل از مدل ایسکمی کانونی مغزی داشته باشد (۲). در مطالعات فوق از جنبه‌های مختلف اثر ایسکمی گذرا مورد مطالعه قرار گرفته است اما اثر ایسکمی بر ادم مغزی و سد خونی مغزی هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین در این مطالعه سعی شده است تا این اثر مورد مطالعه قرار گیرد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ایسکمی‌های گذرا در تولید پدیده‌ی تحمل به ایسکمی، استحکام سد خونی مغزی و ادم مغزی در مدل حیوانی سکته‌ی مغزی است.

### روش بررسی

۱- گروه بندی حیوان آزمایشگاهی: رت‌های اسپیراگودالی (۲۵۰ تا ۳۸۰ گرم) به طور تصادفی به چهار گروه اصلی حاوی ۲۱ حیوان تقسیم شدند. گروه اول به عنوان مدل پیش شرطی سازی ایسکمی روز اول در معرض ایسکمی‌های گذرای ۱۰ دقیقه‌ای در شریان مرکزی قرار گرفت (tMCAO) و بعد از ۲۴ ساعت، ایسکمی ۶۰ دقیقه‌ای دریافت کرد. گروه دوم به عنوان گروه کنترل در روز دوم تنها ایسکمی ۶۰ دقیقه شریان مرکزی را دریافت کرد. گروه سوم به عنوان گروه شم جراحی تنها ایسکمی ۱۰ دقیقه‌ای گذرا را در روز اول دریافت کرد. گروه چهارم بدون هیچ‌گونه جراحی به عنوان گروه فاقد رپرفیوژن انتخاب شد که هیچ کدام از جراحی‌های فوق را دریافت نکرد. در روز سوم، هر گروه اصلی به منظور ارزیابی حجم آسیب مغزی،

بافت مغز در برابر آسیب‌های مغزی بعد از سکته‌ی مغزی است (۲). در بین استرس‌های مختلف، هیپوکسی (۳)، ایسکمی (۴)، تشنج (۱)، آنوکسی (۵)، افسردگی منتشر (۱)، گرما (۶)، استرس اکسیداتیو (۷)، تیمار با اسیدهای چرب اشباع نشده (۱)، و مهار کننده‌های فسفوریلاسیون اکسیداتیو (۷) فرایند تحمل مغز در برابر ایسکمی (کامل یا کانونی) را القا می‌کنند. مطالعات انجام شده در زمینه‌ی پیش شرطی سازی ایسکمی عصبی بسیار گسترده است. پیش شرطی سازی ایسکمی عصبی به مقدار زیادی از طریق گیرنده‌های NMDA وساطت می‌شود، بدین ترتیب کلسیم داخل سلولی افزایش می‌یابد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که تحمل به ایسکمی در مغز به واسطه‌ی افزایش سنتز پروتئین‌های خاص توان بقای نورون را افزایش می‌دهد از میان آن‌ها می‌توان به پروتئین شوک گرمایی ۷۰ (۷)، Bcl2 (۸)، ناقلین گلوتامات (۹)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) (۱۰)، فاکتورهای آنتی‌آپوپتوز (۹)، گونه‌های واکنشی اکسیژن (۱۱)، NF-kB، و سایتوکین‌های پیش التهابی (۱۲) اشاره کرد. روش‌های مولد تحمل به ایسکمی سبب ایجاد تحمل بافت مغز به ایسکمی و سایر عوامل آسیب رسان شده که به آن پیش شرطی سازی به ایسکمی (IPC) یا عوامل آسیب رسان می‌گویند (۱). IPC یک پدیده‌ی دو مرحله‌ای است، که دارای مرحله‌ی اولیه و ثانویه است. مرحله‌ی اول کوتاه مدت و مستقل از سنتز پروتئین است، در حالی که مرحله‌ی ثانویه بلند مدت و با تغییر بیان ژن بروز می‌کند (۱۳). یکی از تظاهرات بالینی آسیب دستگاه عصبی مرکزی (CNS) بعد از ایسکمی مغزی تشکیل ادم مغزی ناشی از شکستن سد خونی مغزی (BBB) است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ادم مغزی وازوژنیک بعد از انواع آسیب‌ها را کاهش می‌دهد (۱۵)، این امر بیان‌گر ایفای نقش مهم اکسیژن رادیکالی در شکستن سد خونی مغزی است. تظاهرات دیگر آسیب CNS آسیب مستقیم به سلول عصبی است که به واسطه‌ی وقایع تحریکی آزاد سازی

با کلرال هیدرات (۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن)، سر آن‌ها جدا شد و به سرعت مغزها خارج شد و در سالین ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری گردید. هشت برش به ضخامت ۲ میلی‌متر به صورت کرونال به واسطه‌ی دستگاه ماتریکس مغز تهیه شد که شروع آن‌ها از پیاز بویایی بود. برش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در محلول ۲ درصد ۲،۳ و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید نگهداری شدند. سپس با دوربین دیجیتال (نوکیا ۶۶۳۰) که قابل اتصال به کامپیوتر بود، تصویر برداری شدند. بعد از انتقال تصاویر به کامپیوتر به واسطه‌ی نرم‌افزار Image Tools مساحت نواحی سفید و قرمز به ترتیب به عنوان نواحی آسیب دیده و سالم اندازه‌گیری شدند. حجم نواحی آسیب دیده و سالم برش‌ها از طریق محاسبه‌ی حاصلضرب مساحت نواحی مذکور برش‌ها در ضخامت ۲ میلی‌متر برش به دست می‌آمد و سپس به واسطه‌ی معادله زیر حجم اصلاح شده‌ی ناحیه‌ی آسیب دیده محاسبه گردید (۲۳).

(حجم ناحیه آسیب دیده - حجم نیمکره راست) - حجم نیمکره چپ = حجم اصلاح شده ناحیه آسیب دیده

۵- **روش سنجش ادم مغزی:** بعد از جداسازی سر حیوان، مغز خارج شد. مخچه، پل مغزی و پیازهای بویایی جدا گردید و وزن خالص مغز (WW) اندازه‌گیری شد (۱۹). سپس وزن خشک (DW) بعد از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در اتوکلاو خشک با دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. در نهایت، محتوی آب مغز بر اساس فرمول  $100 \times [(WW - DW) / WW]$  اندازه‌گیری شد.

۶- **اندازه‌گیری نفوذ پذیری سد خونی مغزی:** استحکام سد خونی مغزی توسط اندازه‌گیری میزان خروج اوانس آبی (EB) ارزیابی شد. نخست، رت از طریق ورید دم، محلول اوانس آبی ۲ درصد را به اندازه‌ی ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم وزن بدن بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی، دریافت کرد. ۲۳ ساعت بعد از جریان مجدد خون، رت‌ها تحت بی‌هوشی از ناحیه‌ی قفسه‌ی سینه باز شدند و با ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از طریق بطن چپ از

استحکام سد خونی مغزی، و ادم مغزی به سه زیر گروه با ۷ حیوان در هر زیر گروه تقسیم شدند (در مجموع ۲۱ حیوان) تا نقص‌های نورولوژیک، حجم آسیب بافتی، استحکام سد خونی مغزی، و ادم مغزی ارزیابی شوند.

۲- **ایجاد مدل سکته‌ی مغزی (انسداد شریان مرکزی مغزی):** رت‌ها بعد از توزین با داروی کلرات هیدرات (مرک، آلمان) (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) هوشبری شدند. جراحی مدل سازی tMCAO مطابق دستورالعمل لونگا و همکارانش انجام شد (۲۱). به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه‌ی نایلون از طریق تنه‌ی ECA وارد رگ شد و تا رسیدن به ACA از میان ICA با پتریگوپالاتین بسته ادامه داده شد. در اثر تماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف به MCA بسته شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت و در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلی‌متر طول نخ از تنه‌ی ECA مشخص شد. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم اندازه‌گیری شد و میزان دمای در حوالی ۳۷ درجه حفظ گردید.

۳- **ارزیابی رفتاری حاصل از سکته:** معاینه‌های نورولوژیک بعد از ۲۴ ساعت انجام شد. در طول ۲۴ ساعت بعد از شروع انسداد تا قربانی شدن حیوان مراقبت‌های ویژه انجام گردید. یافته‌های نورولوژیکی در ۵ مقیاس دسته‌بندی شدند: شماره‌ی صفر (۰) هیچ‌گونه عارضه‌ی نورولوژیک نشان نداد، شماره‌ی یک (نارسایی کامل در انتهای پنجه‌های جلویی)، که یک نقص نورولوژیک کانونی خفیف در نظر گرفته می‌شود، را بروز داد. شماره‌ی دو (به چپ چرخیدن) نقص نورولوژیک کانونی متوسط، شماره‌ی ۳ (افتادن به سمت چپ) نقص کانونی شدید را نشان داد. رت‌های شماره‌ی ۴ به طور خود بخودی نتوانستند راه بروند و سطح هوشیاری پایین داشتند (۲۲).

۴- **ارزیابی حجم سکته‌ی مغزی:** بعد از قربانی کردن رت‌ها

و  $P < 0.05$  از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

۱- آثار انسداد گذرای شریان مرکزی بر امتیازهای نقص نورولوژیک: میانگین امتیازهای نقص نورولوژیک (NDS) به واسطه‌ی انسداد گذرای شریان مرکزی به طور قابل ملاحظه کاهش یافت. میان‌ه‌ی امتیازهای نقص نورولوژیک در گروه‌های انسداد گذرای شریان مرکزی در جدول ۱ نشان داده شده است. در رت‌هایی که به واسطه‌ی قرار گرفتن در معرض انسداد گذرای شریان مرکزی هیچ گونه نقص نورولوژیک مشاهده نشده بود، با تزریق اوانس آبی، این رنگ در ناحیه مرکزی سکتی مشاهده شد. این مدرک نشان داد که در کلیه‌ی رت‌های مذکور انسداد شریان مرکزی مغز صورت گرفته بود ولی به دلیل بروز پدیده‌ی تحمل به ایسکمی القایی انسداد گذرای شریان مرکزی به ویژه در ناحیه‌ی پنومیرا (قشر مغز) استحکام سد خونی- مغزی افزایش یافته بود.

وجود اوانس آبی داخل رگی پاک شدند تا زمانی که مایع پرفیوز بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود. سپس، مغز خارج شد و نیمکره‌ها جداگانه وزن شدند. برای اندازه‌گیری میزان خروج EB، بافت مغز در  $2/5$  میلی‌لیتر بافر فسفات هموزن شده و برای رسوب پروتئین به آن  $2/5$  میلی‌لیتر اسیدتری کلرواستیک ۶۰ درصد اضافه گردید. سپس ۳ دقیقه با ورتکس هم‌زده شد و ۳۰ دقیقه در  $4^{\circ}$  درجه‌ی سانتی‌گراد خنک گردید. آنگاه به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ سانترفیوژ شد. در نهایت، جذب نوری اوانس آبی در بخش رویی در جذب  $610$  نانو متر اندازه گرفته شد و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه گردید (۱۹).

۷- آنالیز آماری: استحکام سد خونی- مغزی، ادم مغزی، و حجم سکتی مغزی با استفاده از One-Way ANOVA مورد آنالیز قرار گرفت. امتیازهای نقص نورولوژیک با استفاده از آزمون Mann-Whitney U مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  استاندارد معیار نمایش داده شد

جدول ۱: توزیع امتیازهای نورولوژیک در هر گروه و مقایسه‌ی آماری آن‌ها

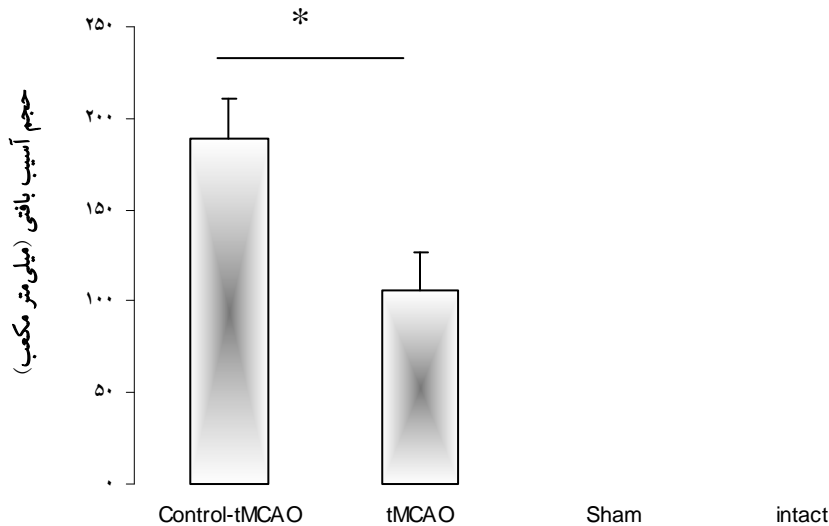
| تفسیر آماری | میان | تعداد کل | تعداد نقص‌های نورولوژیک در هر گروه |   |    |   |    | گروه‌های آزمایشی                 |
|-------------|------|----------|------------------------------------|---|----|---|----|----------------------------------|
|             |      |          | ۰                                  | ۱ | ۲  | ۳ | ۴  |                                  |
| $P < 0.01$  | ۲    | ۲۱       | ۱                                  | ۴ | ۱۰ | ۶ | ۰  | کنترل                            |
|             | ۱    | ۲۱       | ۰                                  | ۰ | ۴  | ۸ | ۹  | انسداد گذرای شریان مرکزی (tMCAO) |
|             | ۰    | ۲۱       | ۰                                  | ۰ | ۰  | ۰ | ۲۱ | شم                               |
|             | ۰    | ۲۱       | ۰                                  | ۰ | ۰  | ۰ | ۲۱ | بدون رپر فیون (دست‌نخورده)       |

بود. تفاوت آماری گروه انسداد گذرای شریان مرکزی معنی‌دار بود. تفاوت آماری گروه کنترل نسبت به گروه شم معنی‌دار نبود. کاهش حجم آسیب بافتی و نقص‌های نورولوژیک اثر

۲- آثار انسداد گذرای شریان مرکزی بر حجم آسیب بافتی: نمودار ۱ نشان می‌دهد که گروه انسداد گذرای شریان مرکزی در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش حجم آسیب بافتی شده

دریافت کرده‌اند و گروه فاقد رپرفیوژن هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در آسیب بافتی ملاحظه نشد.

پدیده‌ی تحمل به ایسکمی حاصل از ایسکمی گذرا را اثبات می‌کند (نمودار ۱). در گروه‌های شم که ایسکمی گذرا

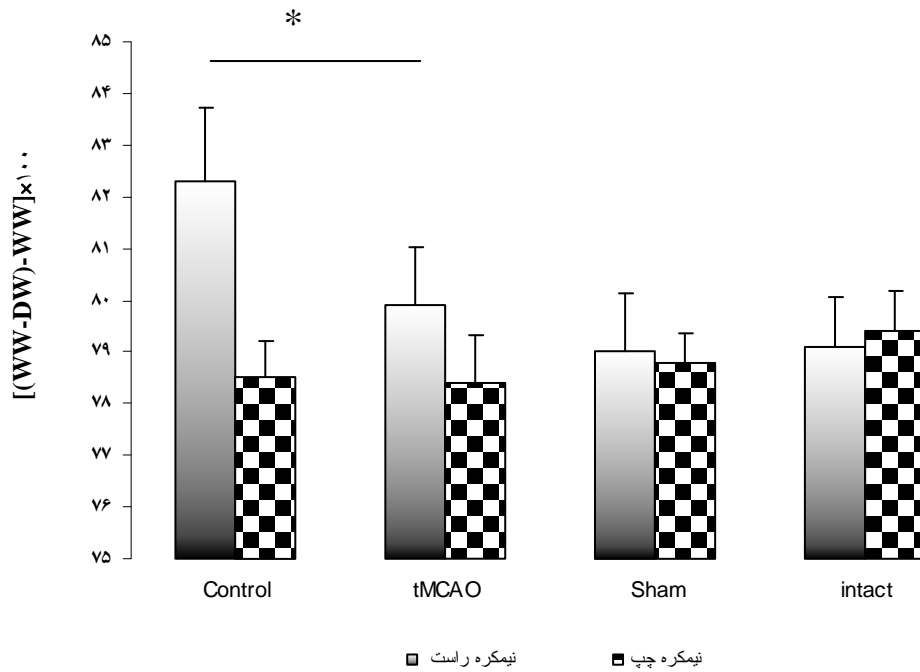


نمودار ۱: اثر انسداد گذرای شریان مرکزی (MCAO) بر روی حجم آسیب بافتی ۴۸ ساعت بعد از انسداد گذرا (\*= $P < 0.05$ ) باشد.

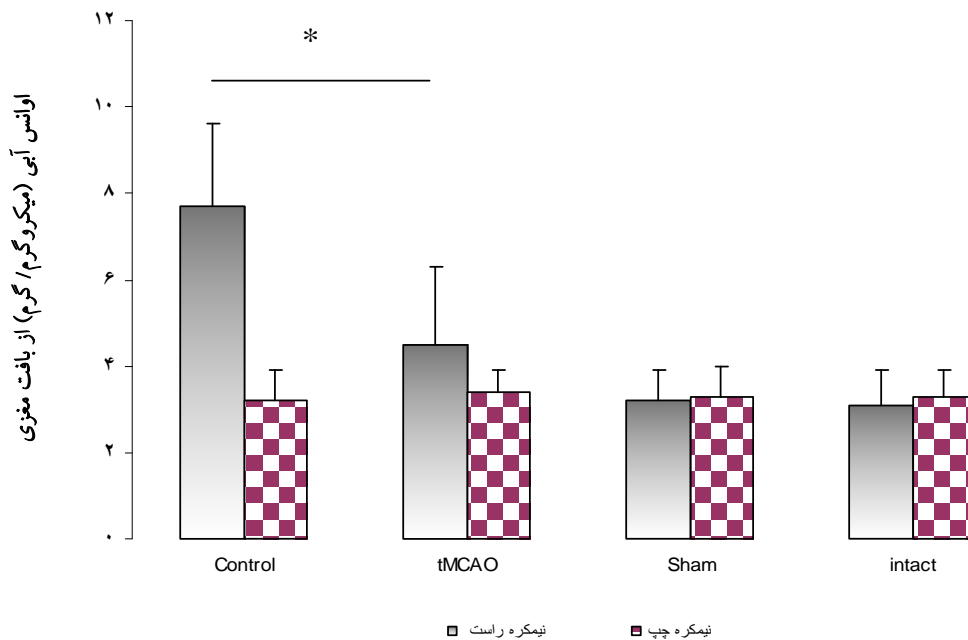
گرم بافت بود، در حالی که غلظت اوانس آبی در بافت مغزی نیمکره‌ی چپ  $3/2 \pm 0/8$  میکروگرم در گرم بافت بود. در نیمکره‌ی راست گروه انسداد شریان مرکزی  $4/5 \pm 1/9$  میکروگرم در گرم بافت بود، در حالی که در نیمکره‌ی چپ گروه انسداد شریان مرکزی  $3/4 \pm 0/4$  میکروگرم در گرم بافت بود. در نیمکره‌ی راست گروه شم  $3/2 \pm 0/7$  میکروگرم در گرم بافت بود، در حالی که در نیمکره‌ی چپ گروه شم  $3/30 \pm 0/7$  میکروگرم در گرم بافت بود. در نیمکره‌ی راست گروه بدون رپرفیوژن (دست‌نخورده)  $3/16 \pm 0/8$  میکروگرم در گرم بافت بود، در حالی که در نیمکره‌ی چپ گروه فاقد رپرفیوژن  $3/34 \pm 0/6$  میکروگرم در گرم بافت بود. انسداد گذرای شریان مرکزی مغز میزان خروج اوانس آبی را در بافت مغزی ایسکمی کاهش داد (نمودار ۳).

۳- آثار انسداد گذرای شریان مرکزی بر محتوی آب مغزی: ایسکمی کانونی مغزی به‌طور قابل ملاحظه‌ای محتوی آب مغزی را در اثر ایجاد ادم مغزی در نیمکره‌ی مبتلا به سکنه افزایش داده بود، در حالی که محتوی آب مغزی در نیمکره‌ی راست و چپ در گروه شم در مقایسه با همدیگر تفاوت نداشت. انسداد گذرای شریان مرکزی افزایش محتوی آب مغزی در نیمکره مبتلا به سکنه را به مقدار قابل توجهی کاهش داد (نمودار ۲). در گروه‌های شم که ایسکمی گذرا دریافت کرده بودند و گروه فاقد رپرفیوژن هیچ‌گونه افزایش معنی‌داری در محتوی آب مغز ملاحظه نشد.

۴- آثار انسداد گذرای شریان مرکزی بر نفوذپذیری سد خونی- مغزی: تشکیل ادم مغزی با افزایش نفوذپذیری سد خونی- مغزی در ۲۴ ساعت مرتبط بود. غلظت اوانس آبی در نیمکره راست گروه کنترل  $7/7 \pm 1/80$  میکروگرم



نمودار ۲: محتوی آب مغز در گروه های آزمایشی انسداد شریان مرکزی مغز (MCAO) و کنترل همراه با گروه شم .  
 (\*=P<۰.۰۵) باشد.



نمودار ۳: نفوذپذیری سد خونی- مغزی در گروه های آزمایشی انسداد شریان مرکزی مغز (MCAO) و کنترل همراه با گروه شم .  
 (\*=P<0.05) مقایسه ی گروه های کنترل و انسداد گذرای شریان مرکزی مغز معنی دار است.

هیپوکسی [**Hypoxia Induce Factor-1 $\alpha$  (HIF- $\alpha$ )**] ارتباط دارد که گفته می‌شود عملکرد سد خونی مغزی را از طریق کاهش عامل رشد عروقی بهبود می‌بخشد (۲۹). علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند با افزایش **TNF- $\alpha$**  از طریق گیرنده‌ی **TNF- $\alpha$**  باعث بروز پدیده‌ی تحمل به ایسکمی شوند (۳۰). از طرف دیگر، افزایش رادیکال‌های آزاد و سوپراکسید دیسموتاز به واسطه‌ی کاهش میزان بیان عامل القایی هیپوکسی مرتبط است، این روند به بهبود عملکرد سد خونی مغزی منجر می‌شود که احتمالاً این عمل را از طریق کاهش عامل رشد عروقی انجام می‌دهد.

اگرچه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هیپوکسی در مغز رت به واسطه‌ی کاهش حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص نورولوژیک حفاظت عصبی القا می‌کند، اما ایسکمی گذرا در قالب هیپوکسی آثار دیگری نیز دارد که می‌تواند به واسطه‌ی آن‌ها تحمل به ایسکمی را در مغز رت تقویت نماید. هیپوکسی می‌تواند باعث رگ‌زایی و افزایش تراکم عروق در واحد حجم شود (۲۳). و نیز هیپوکسی می‌تواند باعث بلوک شدن مولکول چسبان بین سلولی و مهار تجمع نوتروفیل‌ها گردد (۲۵ و ۲۴). بنابراین، هیپوکسی می‌تواند تجمع نوتروفیل‌ها را کاهش دهد و از آسیب مغزی بکاهد. از طرف دیگر، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسید دیسموتاز با کاهش بیان فاکتور القایی هیپوکسی ارتباط دارد که گفته می‌شود عملکرد سد خونی مغزی را از طریق کاهش فاکتور رشد عروقی بهبود می‌بخشد (۸). علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند با افزایش **TNF- $\alpha$**  از طریق گیرنده **TNF- $\alpha$**  باعث بروز پدیده‌ی تحمل به ایسکمی شوند (۲۶). پژوهش دیگری نشان داده شده است که ضریب انتشار ظاهری بعد از ۲/۵ ساعت خون‌رسانی مجدد کاهش می‌یابد و این کاهش با آسیب نرونی مرتبط است که آن نیز با داده‌های نورولوژیکی مطابقت دارد (۳۵). این مطالعه تا حد

مقایسه‌ی غلظت اوانس آبی در نیمکره‌ی مبتلا و فاقد ایسکمی در گروه قابل ملاحظه نبود (نمودار ۳). در گروه انسداد گذرای شریان مرکزی مغز اوانس آبی عموماً در ناحیه‌ی مرکزی دیده شد و در ناحیه‌ی پنومبرا میزان آن قابل ملاحظه نبود، در حالی که در گروه کنترل اوانس آبی به صورت یکنواخت در بخش مرکزی و پنومبرا دیده شد. در گروه‌های شم که ایسکمی گذرا دریافت کردند و گروه فاقد رپرفیوژن تغییر معنی‌داری در استحکام سد خونی مغزی ملاحظه نشد.

### بحث

بر اساس نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که انسداد گذرای شریان مرکزی مغز می‌تواند امتیاز نقص نورولوژیکی و حجم آسیب مغزی، ادم مغزی و استحکام سد خونی - مغزی حاصل از سکته‌ی مغزی را به طور موثر در مدل tMCAO (انسداد شریان مرکزی مغز) کاهش دهد. مدل tMCAO به واسطه‌ی نخ بخیه ایجاد می‌شود که یک مدل مطمئن و قابل تکرار در مدل‌های حیوانی سکته‌ی مغزی است (۲۲). نتایج این پژوهش با سایر مطالعه‌ها در زمینه‌ی تحمل به ایسکمی که در مقدمه اشاره شد، مطابقت دارد (۱۴ و ۱۸). مدارک دیگر نشان می‌دهد که پدیده‌ی حفاظت قلبی در حیوان‌هایی که در معرض هیپوکسی منقطع (اکسیژن رسانی مجدد و مکرر) قرار می‌گیرند در مقایسه با حیوان‌هایی که هیپوکسی پیوسته را تجربه می‌کنند، قوی‌تر بروز می‌کند (۱۲). هیپوکسی می‌تواند موجب تجمع نوتروفیل‌ها گردد و بر آسیب مغزی بیفزاید. وادا و همکاران نشان دادند که رادیکال‌های آزاد اکسیژن و **Bcl-2** که به عنوان مهار کننده آپوپتوز عمل می‌کنند، بعد از قرار گرفتن مکرر در معرض هیپوکسی افزایش می‌یابند و باعث افزایش توان زیستی نرونی می‌شوند (۹). از طرف دیگر، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسید دیسموتاز با کاهش بیان عامل القایی

می‌شود و نیز انسداد گذرای شریان مرکزی ادم مغزی و استحکام سد خونی مغزی را کاهش می‌دهد. این آثار تا حدی می‌تواند تحمل به ایسکمی را وساطت کند. لذا، استفاده از طراحی موادی که قادر به تقلید آثار انسداد گذرای شریان مرکزی باشند، روش و استراتژی جدیدی در پیدایش داروها به وجود خواهند آورد که در به حداقل رساندن آسیب‌های نورونی طی ایسکمی مغزی یا حین پیشروی بیماری‌های مزمن تحلیل عصبی درگیر با اثر سمی ناشی از تحریک کمک خواهد کرد.

زیادی داده‌های این پژوهش را پشتیبانی می‌کند. در مطالعه‌ای با روش MRI، نشان داده‌اند که تغییرات سد خونی مغزی با همودینامیک و عواقب همودینامیک و بیوفیزیکی برقراری جریان خون مجدد ارتباط دارد. این مطالعه نیز نتایج این پژوهش را تایید می‌نماید (۳۶).

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که انسداد گذرای شریان مرکزی پدیده‌ی تحمل به ایسکمی را به وجود می‌آورد و باعث کاهش میزان نقص نورولوژیک و حجم آسیب بافتی

### References

- 1- Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Rasulian B, Heidarianpour A, Khoshbaten A. Prolonged and intermittent normobaric hyperoxia induce different degrees of ischemic tolerance in rat brain tissue. *Brain Res*. 2007; 1152: 228-33.
- 2- Pradillo J, Hurtado O, Romera C, et al. TNF-R1 mediates increased neuronal membrane EAAT3 expression after in vivo cerebral ischemic preconditioning. *Neuroscience*. 2006; 138: 1171-8.
- 3- Gidday JM, Fitzgibbons JC, Shah AR, Park TS. Neuroprotection from ischemic brain injury by hypoxic preconditioning in the neonatal rat. *Neurosci Lett*. 1994; 168: 221-4.
- 4- Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, et al. Ischemic tolerance phenomenon found in the brain. *Brain Res*. 1990; 528: 21-4.
- 5- Perez-Pinzon MA, Mumford PL, Rosenthal M, Sick TJ. Anoxic preconditioning in hippocampal slices: role of adenosine. *Neuroscience*. 1996; 75: 687-94.
- 6- Currie RW, Tanguay RM. Analysis of RNA for transcripts for catalase and HSP71 in rat hearts after in vivo hyperthermia. *Biochem Cell Biol*. 1991; 69: 375-82.
- 7- Ohtsuki T, Matsumoto M, Kuwabara K, et al. Influence of oxidative stress on induced tolerance to ischemia in gerbil hippocampal neurons. *Brain Res*. 1992; 599: 246-52.
- 8- Shimazaki K, Ishida A, Kawai N. Increase in bcl-2 oncoprotein and the tolerance to ischemia-induced neuronal death in the gerbil hippocampus. *Neurosci Res*. 1994; 20: 95-9.
- 9- Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- $\alpha$  Level. *Exp Neurol*. 2008; 212: 298-306.
- 10- Wada K, Kiyazawa T, Nomura N, et al. Mn-



SOD and Bcl-2 expression after repeated hyperbaric oxygenation. *Acta Neurochir Suppl.* 2000; 76: 285-90.

11- Ravati A, Ahlemeyer B, Becker A, Klumpp S, Krieglstein J. Preconditioning-induced neuroprotection is mediated by reactive oxygen species and activation of the transcription factor nuclear factor- $\kappa$ B. *J Neurochem.* 2001; 78: 909-19.

12- Bigdeli MR, Khoshbaten A. In vivo preconditioning with normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance partly by triggering tumor necrosis factor-alpha converting enzyme/tumor necrosis factor-alpha/nuclear factor-kappaB. *Neuroscience.* 2008; 153: 671-8.

13- Al-Motabagani MA. Histological changes in the alveolar structure of the rat lung after exposure to hyperoxia. *Ital J Anat Embryol.* 2005; 110: 209-23.

14- Orrenius S, McCabe MJ J, Nicotera P. Ca(2+)-dependent mechanisms of cytotoxicity and programmed cell death. *Toxicol Lett.* 1992; 64: 357-64.

15- Warner D, Sheng H, and Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol.* 2004; 207: 3221-31.

16- Ohtsuki T, Matsumoto M, Kuwabara K, et al. Influence of oxidative stress on induced tolerance to ischemia in gerbil hippocampal neurons. *Brain Res.* 1992; 599: 246-52.

17- Oh DJ, Kim YH, Kim CH, Park JW, Kim MS. Pretreatment of hyperbaric oxygenation increases the activation of myocardial antioxidant enzymes and protect the ischemiareperfusion injury of the

heart. *Korean J Physiol Pharmacol.* 1997; 1: 749-58.

18- Kim Y, Chun Y, Park J, Kim C, Kim M. Involvement of adrenergic pathways in activation of catalase by myocardial ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol.* 2002; 282: 1450-8.

19- Namba, K, Takeda Y, Sunami K, Hirakawa M. Temporal profiles of the levels of endogenous antioxidants after four-vessel occlusion in rats. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2001; 13: 131-7.

20- Sugawara T, Noshita N, Lewén A, et al. Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage by blocking the mitochondrial pathway of caspase activation. *J Neurosci.* 2002; 22: 209-17.

21- Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke;* 1989; 20: 84-91.

22- Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990; 10: 290-3.

23- Xia E, Rao G, Van Remmen H, Heydari AR, Richardson A. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr.* 1995; 125: 195-201.

24- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of

protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-54.

25- Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Mol Cell Biochem.* 2002; 236: 7-12.

26- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227: 680-5.

27- Lin CL, Chen HJ, Hou WC. Activity staining of glutathione peroxidase after electrophoresis on native and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels. *Electrophoresis.* 2002; 23: 513-6.

28- Helms A, Whelan H, Torbey M. Hyperbaric oxygen therapy of cerebral ischemia. *Cerebrovascular Dis.* 2005; 20: 417-26.

29- Ostrowski R, Colohan A, Zhang J. Mechanisms of hyperbaric oxygen-induced neuroprotection in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005; 25: 554-71.

30- Leong KG, Karsan A. Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Histol Histopathol.* 2000. 15: 1303-25.

31- Okado-Matsumoto A, Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver. *J Biol Chem.* 2001; 276: 38388-93.

32- Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Narasimhan P, Copin JC, Kawase M, Chan PH. Copper-zinc superoxide dismutase prevents the early decrease of apurinic/aprimidinic endonuclease and subsequent DNA fragmentation after transient focal cerebral ischemia in mice. *Stroke.* 1999; 30: 2408-15.

33- Noshita N, Sugawara T, Hayashi T, Lewen A, Omar G, Chan PH. Copper/zinc superoxide dismutase attenuates neuronal cell death by preventing extracellular signal-regulated kinase activation after transient focal cerebral ischemia in mice. *J Neurosci.* 2002; 22: 7923-30.

34- Leong KG, Karsan A. Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Histol Histopathol.* 2000; 15: 1303-25.

35- Li F, Silva MD, Liu KF, et al. Secondary decline in apparent diffusion coefficient and neurological outcomes after a short period of focal brain ischemia in rats. *Ann Neurol.* 2000; 48: 236-44.

36- Kastrup A, Engelhorn T, Beaulieu C, de Crespigny A, Moseley ME. Dynamics of cerebral injury, perfusion, and blood-brain barrier changes after temporary and permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurol Sci.* 1999; 166: 91-9.

## ***The Effect of Temporary Middle Cerebral Artery Occlusion on Reduction of Brain Injuries in Rat Stroke Model***

Bigdeli MR<sup>1</sup>, Rahnema M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biology, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran.

**Corresponding Author:** Bigdeli MR, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

***E-mail:*** bigdelimohammadreza@yahoo.com

**Received:** 7 Jun 2010      **Accepted:** 14 Feb 2011

---

***Background and Objective:*** Recent studies suggest that sub-lethal ischemia protect the brain from subsequent ischemic injuries. This study was an effort to identify and shed light on the nature of changes in the blood brain barrier permeability and brain edema.

***Materials and Methods:*** Rats were divided into four main experimental groups, each of 21 animals. The first group acted as a model of ischemic preconditioning which was subjected to 10 minutes of temporary middle cerebral artery occlusion in the first day (tMCAO) and in the second day, was subjected to 60 min middle cerebral artery occlusion (MCAO). The second group acted as a control group and did not receive any surgery except 60 min middle cerebral artery occlusion in the second day. The third group served as a sham group, and was subjected to surgery with 10 min of temporary middle cerebral artery occlusion (tMCAO) in the first day. The fourth group remained intact and was not subjected to any surgery. Each main group subdivided into three subgroups (n=7) for infarct volume (n=21), blood brain barrier permeability, and brain edema. After 24 hours, each main group was subjected to 60min of right MCAO occlusion. Then, neurologic deficit score (NDS), infarct volume, blood brain barrier permeability, and brain edema were assessed in the subgroups.

***Results:*** Preconditioning with tMCAO decreased NDS and infarct volume, brain barrier permeability, and brain edema.

***Conclusion:*** Temporary middle cerebral artery occlusion (tMCAO) is associated with neurologic deficit scores, infarct, blood brain barrier permeability, and brain edema consistent with an active role in the genesis of ischemic protection.

***Keywords:*** *Preconditioning, Ischemia, Stroke, Neuroprotection*