● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شمارهٔ ۷، بهمن – اسفند ۱۳۸۵، صفحه ۷-۱۱

دریافت: ۸۵/۳/۲۸، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/٤/۲۱، پذیرش: ۸۵/۱۰/٦

اثر تغذیه با عصاره ماهی صبور بر ایسکمی کانونی مغزی در موش صحرایی نر

مجید اسدی شکاری[*1]، رضا ملک پور افشار[2]، تاج پری کلانتری پور[3]، ناصر زنگی آبادی[4]

۱- عضو هیات مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان ۲- استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- عضو هیات علمی دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان ۴- مرکز تحقیقات افضلی

سابقه و هدف: ماهی صبور Hilsa fish یکی از ماهیان بومی ایران است عصاره آن باعث کاهش چربی خون و مانع از تجمع پلاکت خواهد شد. هدف از این مطالعه بررسی اثر تغذیه با عصاره ماهی صبور، برایسکمی مغزی ایجاد شده در موش صحرائی نر می‌باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد در گروه آزمون عصاره ماهی به مدت ۲ ماه به جیره غذایی حیوانات افزوده شد. در گروه کنترل مثبت از داروی Clopidogrel استفاده شد و گروه سوم به عنوان گروه کنترل نه عصاره ماهی و نه دارو دریافت کرد. پس از ایجاد بیهوشی با تیوپنتال با ایجاد یک برش طولی در ناحیه جلوی گردن و جدا سازی بدون آسیب اعصاب واگ، شریانهای کاروتید مشترک ۲ طرف به مدت یک ساعت بسته شد. بعد از کشتن حیوان حین بیهوشی، مغزآنها جهت بررسی هیستوپاتولوژیک آماده گردید.

یافته ها: تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از انجام بررسی هیستوپاتولوژیک تفاوت معنی‌داری را در ناحیه هیپوکامپ بین گروه آزمون (عصاره ماهی صبور) و گروه کنترل (رژیم غذائی معمولی) نشان داد($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این بررسی حکایت از اثرات مفید احتمالی استفاده از عصاره ماهی صبور، در درمانهای پیشگیری کننده ضایعات ایسکمیک مغزی دارد.

واژه های کلیدی: *ایسکمی، عصاره، ماهی صبور، موش صحرائی نر.*

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شمارهٔ ۷، بهمن – اسفند ۱۳۸۵، صفحه ۷-۱۱

مقدمه

مغز انسان دارای 10^{11} سلول عصبی موسوم به نورون است این عضو فقط ۲ درصد وزن کل بدن انسان را تشکیل می‌دهد اما ۱۵ درصد از برون‌ده قلبی و تقریباً ۲۰ درصد از کل اکسیژن بدن را مصرف می‌کند این مقادیر نشان‌دهنده میزان بالای فعالیت متابولیک و نیاز فراوان این عضو به اکسیژن است (۱ و۲). برای تامین این نیاز ۴ شریان بزرگ، دوشریان کاروتید و دو شریان بازیلار خون‌رسانی به مغز را انجام می دهند. کل جریان خون مغز انسان در حدود ۱۰۰۰-۷۵۰ میلی‌لیتر در دقیقه است که در حدود ۳۵۰ میلی‌لیتر از این مقدار، از طریق هر یک از دو شریان کاروتید جریان یافته و در حدود ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌لیتر آن توسط سیستم ورتبرو بازیلار منتقل می‌گردد (۳). بدیهی است که این متابولیسم بالا و نیاز بالای مغز به خون، آن را مستعد به اختلالات عروقی می نماید به طوریکه بیماریهای عروقی مغز از جمله شایع‌ترین ضایعات مغزی و سومین علت مرگ بالغین در آمریکا می‌باشند. سکته‌های مغزی Strokes به دو دسته انسدادی Occlusive (ناشی از انسداد یک رگ توسط ترومبوز یا آمبولی) و Thromboembolic Disease یا هموراژیک

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۱/٤ از

Archive of SID

www.SID.ir

اعتبارات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تامین شده است.

Hemorrhagic (ناشی از خونریزی از یک رگ) تقسیم می‌شوند (۴). در بیماریهای انسدادی با قطع یا کاهش جریان خون و کاهش مواد مورد نیاز مغز (اکسیژن ـ گلوکز) و تجمع مواد سمی زائد (گاز کربنیک) نورونها و سلولهای نگاهدارنده در ابتدا دچار اختلال عمل شده و در صورت تداوم ایسکمی می‌میرند(۵). تجمع پلاکتها Platelet Aggregation نقش مهمی در پاتوژنز بیماریهای ترومبوآمبولیک نظیر سکته‌های مغزی بازی می‌کند به طوریکه فعال‌سازی پلاکتها و رسوب آنها در عروق مغزی وقایع اصلی در پاتوژنز دژنراسیون نورونی ناشی از ایسکمی و اختلالات رفتاری می‌باشد (۶–۸). لذا یکی از تدابیر درمانی در خصوص پیشگیری از ایجاد انفارکتوس و درمان آن، جلوگیری از تجمع پلاکتها می‌باشد (۹). تا چندی پیش آسپیرین تنها داروی ضدپلاکتی در دسترس بود اما اخیراً با پیشرفت در درمانهای ضدپلاکتی با Clopidogrel, Ticlopidin موفقیت‌های درمانی بیشتری بدست آمده است (۸و۱۰). همچنین با بلوک انتخابی تجمع پلاکتی، از مرگ سلولهایی که دچار ایسکمی شده‌اند, جلوگیری می‌شود (۱۱). بعضی مواد خوراکی نظیر سیر (که خاصیت ضدتجمع پلاکتی دارد) نیز به عنوان مواد محافظت‌کننده سلولهای عصبی (نوروپروتکتیو) در برابر ایسکمی معرفی شده‌اند از جمله مواد دیگر که دارای این خاصیت می‌باشند می‌تواند به نیمودیپین اشاره نمود (۱۲). از طرفی ثابت شده است که ماهی صبور (Hilsa fish) یکی از ماهیان بومی ایران بوده که عصاره آن خواص مفیدی همچون کاهش چربی خون و اثر ضد تجمع پلاکتی دارد (۱۵–۱۳). لذا با توجه به وجود مواد آنتی اکسیدانی مانند Docosahexaenoic Acid (DHA) و icosapentaenoic Acid (EPA) در عصاره آن و اثر ضد تجمع پلاکتی اش، بر آن شدیم تا اثرات استفاده از عصاره ماهی صبور (به صورت بخشی از رژیم غذائی) را در مدل حیوانی، بر سکته مغزی مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی از۳۰ سر موش صحرایی با وزن تقریبی ۲۵۰–۳۰۰ گرم از نژاد ویستار استفاده شد. موشها به ۳ گروه تقسیم شدند گروه اول از عصاره ماهی صبور Hilsa بمدت ۲ ماه، به میزان ۱۰ درصد استفاده کردند (۱۶). گروه دوم به میزان ۷/۵mg/kg از داروی Clopidogrel به صورت گاواژ ۲ ساعت قبل از ایجاد ایسکمی استفاده نمودند و گروه سوم به عنوان گروه کنترل هیچ ماده اضافه دریافت نکردند. حیوانات گروههای مختلف با تزریق ۶۰mg/kg تیوپنتال به صورت Ip بیهوش شدند (۱۷). بعد از باز کردن ناحیه جلوی گردن، شریانهای کاروتید مشترک ۲ طرف (پس از جداسازی از بافت های اطراف و اعصاب واگ) به مدت ۱ ساعت با استفاده از نخ بخیه مسدود شدند. در حین بیهوشی با تزریق فرمالین در قلب، حیوانات کشته شدند. بعد از انجام کرانیوتومی، مغز حیوانات با دقت از جمجمه خارج و جهت بررسی هیستوپاتولوژی ناحیه کورتکس فرونتال، پاریتال و هیپوکامپ به آزمایشگاه فرستاده و در آزمایشگاه از مغز حیوانات قطعات مورد نظر به ترتیب ذیل تهیه شد: فواصل ۳/۷mm–۳/۲ جلوتر از برگما برای کورتکس فرونتال و ۳/۲mm عقب تر از برگما برای کورتکس پاریتال و هیپو کامپ های جدا شده از بافت مغز. در مرحله بعدی پس از پاساژ بافتها با دستگاه اتوماتیک به مدت ۱۸ ساعت، قطعات بافتی در پارافین قالبگیری شده و پس از صاف نمودن سطح نمونه، از آنها برش های ۵ میکرونی تهیه و بعد از رنگ آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، لامها توسط پاتولوژیست بدون اطلاع از گروه بندی، مورد شمارش سلولی قرار گرفت. ماهی صبور تازه از نمایندگی شیلات کرمان خریداری، پس از شستشو و جدا سازی پوست و استخوان به قطعات ریز خرد گردید. سپس عصاره گیری با استفاده از اتیل دوپترل توسط متخصصین انجام شد.

برای مقایسه میانگین تعداد سلول های سالم Intact از آزمون Anova و برای post-hoc از آزمون Bonferroni استفاده شد اطلاعات به کمک نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

شمارش نورون های سالم Intact در گروه های مختلف و مقایسه میانگین آنها با یکدیگر از نظر آماری تفاوت معنی داری را در

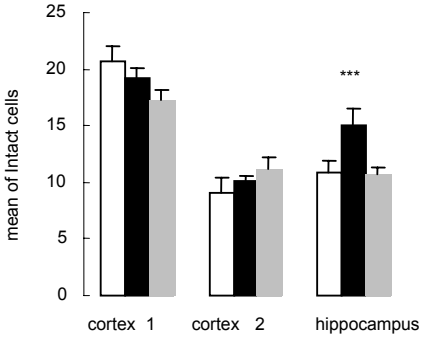
Archive of SID

www.SID.ir

ناحیه هیپوکامپ بین گروه آزمون و گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۰۱) (شکل و جدول۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین نورونهای سالم در نواحی مختلف مغز، کورتکس ۱(فرونتال)، کورتکس ۲(پاریتال) و هیپوکامپ.

گروه		Mean±SD	SE
ماهی صبور (Hilsa fish)	کورتکس فرونتال	۱۹/۱۶±۳/۳	۱/۳۵
	کورتکس پاریکال	۱۰/۱۰±۱/۲۵	۰/۵۱
	هیپوکامپ	۱۵±۲/۶۵	۱/۰۸
گروه دریافت کننده (Clopido grel)	کورتکس فرونتال	۱۷/۲۶±۲/۵۱	۱/۰۲
	کورتکس پاریکال	۱۱/۱۳±۳/۵۸	۱/۴۶
	هیپوکامپ	۱۰/۷۰±۱/۵۶	۰/۶۴
کنترل	کورتکس فرونتال	۲۰/۶۳±۳/۴۶	۱/۴۱
	کورتکس پاریتال	۹/۱۳±۲/۴۱	۰/۹۸
	هیپوکامپ	۱۰/۸۶±۲/۲۰	۰/۹۰



شکل ۱. مقایسه میانگین تعداد نورونهای سالم در نواحی مختلف مغز، کورتکس ۱(فرونتال)، کورتکس ۲(پاریتال) و هیپوکامپ $p<0.05$ *

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی بافت شناسی مغز حیوانات گروه آزمون (عصاره ماهی صبور) و گروه کنترل (رژیم غذائی معمولی) تفاوت معنی داری را بین آنها در ناحیه هیپوکامپ نشان داد هرچند که اثرات نوروپروتکتیو عصاره ماهی در تمامی نواحی مورد بررسی بطور یکنواخت مشاهده نشد. شاید این مسئله به تفاوت حساسیت نورون های بخش های مختلف مغز نسبت به ایسکمی و تفاوت شدید ایسکمی ایجاد شد، برای سه ناحیه مورد بررسی مربوط باشد(۱۷).

مطالعات مختلف مؤید اثرات نوروپروتکتیو عصاره ماهی می باشند بطوریکه بررسی Choi-kwon و همکاران، نشان داد که روغن ماهی به صورت مکمل غذایی، موجب کاهش حجم ناحیه انفارکتوس شده و این اثر رابه وجود مواد آنتی اکسیدانی مانند EPA و DHA نسبت می دهند(۱۸)،

همچنین مطالعه Umemura و همکاران نیز نشان داد که افزودن DHA به رژیم غذایی موش صحرایی نر موجب کاهش ضایعات مغزی ناشی از انسداد شریان مغزی میانی می شود(۱۹). در همین رابطه، مطالعه BLACK و همکاران نشان داد که استفاده از عصاره ماهی در رژیم غذایی گربه موجب کاهش ضایعات مغزی ناشی از انسداد شریان مغزی میانی می شود(۲۰).

مطالعه ما نیز بطور واضح اثرات نوروپروتکتیو عصاره ماهی صبور را در ناحیه هیپوکامپ که حساسترین نورونهای مغز نسبت به ایسکمی مغزی می باشد را نشان داد. احتمالاً این اثر مربوط به وجود مواد آنتی اکسیدان EPA و DHA موجود در عصاره ماهی بوده و با توجه به سایر اثرات مفید آن (کاهش کلسترول خون و جلوگیری از تجمع پلاکتها) استفاده از این ماهی در رژیم غذائی می تواند در سلامت جامعه نقش داشته باشد(۱۵).

تقدیر و تشکر

Archive of SID

www.SID.ir

بدینوسیله از همکاری آقای دکتر علیرضا فرومدی، خانم حسن زاده و آقای دکتر علی میرزازاده قدردانی می گردد.

References

1. Fleck JD, Biller J. Choices in medical management for prevention of acute ischemic stroke. Curr Neurol Neurosci Rep 2001; 1(1): 33-8.

2. Kandle ER. Nerve cell and behaviour, in: Kandle ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principles of neural science, 4th ed, USA, McGraw Hill Co 2000; pp: 19.

3. Burst J. Circulation of the brain, in: Kandle ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principles of neural science, 4th ed, USA, McGraw Hill Co 2000; pp: 305.

4. Burst J. Circulation of the brain, in: Kandle ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principles of Neural Science, 4th ed, USA, McGraw Hill Co 2000; pp: 306-7.

5. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part1: pathophysiology, Review article. J Neurosurgery 1992; 77(2): 169-84.

6. Dietrich WD, Danton G, Hopkins AC, Prado R. Thromboembolic events predispose the brain to widespread cerebral infarction after delayed transient global ischemia in rats. Stroke 1999; 30(4): 855-61.

7. Del Zoppo GJ. The role of platelets in ischemic stroke. Neurology 1998; 51(3 suppl 3): S9-14.

8. Dogne JM, Leval Xd, Benoit P, Delarge J, Masereel B, David JL. Recent advances in antiplatelet agents. Curr Med Chem 2002; 9(5): 577-89.

9. Antithrombotic Trialists collaboration. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction and stroke in high risk patients. BMJ 2002; 324 (7329): 71-86. Erratum in: BMJ 2002; 324(7330): 141.

10. Weinberger J. Prevention of ischemic stroke. Curr Cardiol Rep 2002; 4(2): 164-71.

11. Junghans U, Seitz RJ, Ritzl A, Wittsack HJ, Fink GR, Freund HJ, Siebler M. Ischemic brain tissue salvaged from infarction by the GP IIb/IIIa platelet antagonist tirofiban. Neurology 2002; 58(3): 474-6.

12. Eskandary H, Shahabi M, Dabiri Sh. The effects of garlic and nimodipine on cerebral blood flow and their neuroprotective effects after brain ischemia in rabbit. Arch Irn Med 2001; 4 (3): 133-7.

۱۳. عبدلی الف. ماهیان آبهای داخلی ایران، چاپ دوم، انتشارات موزه و طبیعت حیات‌وحش ایران ۱۳٦۰؛ ص: ٤٥.

14. Banerjee I, Saha S, Dutta J. Comparison of effects of dietary fish oils with different n-3 polyunsaturated fatty acid compositions on plasma and liver lipids in rats. Lipids 1992, 27(6): 425-8.

15. Bandyopadhyay I, Saha S, Dutta J. Effect of dietary fish oil on platelet aggregibility: comparison between two oils with different eicosapentaenoic to arachidonic acid ratio. Biochem Int 1991; 25(5): 919-28.

16. Ceylan H, Yuncu M, Armutcu F, Gurel A, Bagci C, Demiryurek AT. Effects of early phase of preconditioning on rat testicular ischemia. Uro Int 2005; 74(2):166-72.

Archive of SID

www.SID.ir

17. Schmidt Kastner R, Ferund TF. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. Neuroscience 1991; 40(3): 599-636.

18. Choi Kwon S, Park KA, Lee HJ et al. Temporal changes in cerebral antioxidant enzyme activities after ischemia and reperfusion in a rat focal brain ischemia model: effect of dietary fish oil. Dev Brain Res 2004; 152(1): 11-18.

19. Umemura K, Toshima Y, Asai F, Nakashima M. Effect of dietary docosahexanoic acid in the rat middle cerebral artery thrombosis model. Thrombo Res 1995; 78(5): 379-87.

20. Black KL, Culp B, Madison D, Randall OS, Lands WEM. The effects of dietary fish oil on focal cerebral infarction 1979; 3(5): 257-68.

Archive of SID

www.SID.ir

* آدرس نویسنده مسئول: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، تلفن: ۷-۲۱۲۰۵٤٦-۰۳٤۱.

M_Asady@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir