● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ویکم، شمارهٔ۳، ص۲۳۹-۲۳۰، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

اثر محافظتی ایسکمی پس‌شرطی تأخیری بر عوارض سکته مغزی آمبولیک در موش صحرایی ماده

مسعود مبینی[۱]، حسین رضازاده[۱]، علی شمسی‌زاده[۲]، وحید احسانی[۱]، الهام حکیمی‌زاده[۱]، صدیقه امیراسماعیلی[۱]، محمد اله توکلی[۳*]

خلاصه

مقدمه: ایسکمی پس‌شرطی که از طریق بستن و باز کردن متناوب هر دو شریان کاروتید مشترک القا می‌شود بر مدل‌های 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 پس‌شرطی انجام شد. همه حیوانات هم‌سیکل‌سازی شدند و بعد از آن برای ایجاد سکته مغزی، لخته به داخل شریان مغزی میانی تزریق شد. پس شرطی‌سازی در پنج مرحله (۳۰ ثانیه بستن و ۳۰ ثانیه باز کردن شریان‌های 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 اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: پس شرطی‌سازی ۶/۵ ساعت بعد از القای سکته در گروه پس‌شرطی، حجم انفارکتوس ($P < ۰/۰۰۱$)، میزان ادم مغزی ($P < ۰/۰۵۰$) و اختلالات نورولوژیک ($P < ۰/۰۵۰$) را نسبت به گروه سکته به طور معنی‌داری کاهش داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به داده‌های این مطالعه، پس شرطی‌سازی تأخیری بعد از سکته مغزی مدل آمبولیک در موش صحرایی ماده، ضایعات ایسکمی، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک را بهبود بخشیده است.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی مغزی، پس‌شرطی، ریرفیوژن، 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

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۲ دریافت مقاله اصلاح شده : ۱۳۹۲/۶/۳۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۷/۱۰

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 (۳، ۲). 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 رپرفیوژن 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 (۹-۷).

پس شرطی‌سازی به عنوان یک اثر محافظتی قدرتمند در مقابل خسارات ناشی از رپرفیوژن 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 اشترک زیادی با بیماران سکته مغزی از نظر علایم 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 ۱ ± ۲۱ 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 = ۸)، سکته (n = ۸) و پس‌شرطی (n = ۸) قرار داده شدند. در گروه شم، موش‌ها ابتدا هم‌سیکل‌سازی شدند و بعد از آن تمام مراحل جراحی سکته 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 سکته مغزی از قبیل انفارکتوس، ادم مغزی و اختلالات رفتاری را نشان نمی‌دادند و به عبارت دیگر سالم بودند.

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

روش ایجاد و ارزیابی هم‌سیکل‌سازی

به دلیل این‌که 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 سکته 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- بتااسترادیول 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 این‌که 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 سکته 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

سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه لخته، شریان رانی از حیوان دهنده خون نمایان گردید و نوک یک لوله پلی‌اتیلنی ۵۰ با طول ۲۰ سانتی‌متر 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 میکرولیتر از لخته جدا و پس از شستشو دادن با سالین وارد کاتتر تزریق کننده شد. برای ایجاد سکته مغزی پس از بیهوش کردن حیوان با هالوتان، شکافی به طول ۱/۵ سانتی‌متر در جلوی گردن حیوان داده شد و شریان‌های کاروتید مشترک، کاروتید داخلی و کاروتید خارجی راست از بافت‌های اطراف جدا شدند. سپس شاخه‌های جانبی انتهای کاروتید خارجی پس از کوتریزه کردن (Cauterization) بسته و بریده شد. بعد از آن، لخته از قبل تشکیل شده (۵ میکرولیتر) 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 نیم‌کره راست مغز ایجاد شد (۱۶).

اندازه‌گیری جریان خون مغزی

القای سکته با لیزر داپلر تأیید شد. بدین منظور، جریان خون مغز به صورت خارج جمجمه‌ای و توسط دستگاه لیزر داپلر (Moor instrument LTD, UK) اندازه‌گیری 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 دندان‌پزشکی کاملاً نازک شد، سپس یک پروب بر روی ناحیه نازک شده چسبانده شد (یک میلی‌متر به سمت عقب و پنج میلی‌متر از خط وسط جمجمه 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 سکته مغزی اندازه‌گیری 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 شرطی‌سازی

پس شرطی‌سازی مغزی به طور هم‌زمان 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 سکته مغزی تکرار گردید و پس از آن شریان‌ها به طور کلی باز بودند. برای انسداد شریان‌ها به طور موقت از میکروکلیپ‌های مخصوص شریان‌های کوچک استفاده شد (۱۷).

تعیین حجم انفارکتوس

حجم انفارکتوس ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی تعیین شد. برای تعیین حجم انفارکتوس پس از خارج کردن مغز، برش داده شد (برش‌های ۲ میلی‌متری کرونال) و با تترازولیوم کلرید (Tetrazolium chloride یا TTC) رنگ‌آمیزی گردید. برای این منظور پس از تهیه محلول ۲ درصد تترازولیوم کلرید، برش‌های مغز هر حیوان در محلول فوق قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. TTC با آنزیم‌های دهیدروژناز داخل سلول‌های زنده واکنش نشان داده، به رنگ قرمز درآمد. بنابراین سلول‌های زنده به رنگ قرمز در

آمد، اما نورون‌های مرده تغییر رنگ ندادند (به دلیل نبودن دهیدروژنازها). پس از ثابت کردن برش‌ها با فرمالین ۱۰ درصد، از آن‌ها توسط اسکنر تصویربرداری شد و تصاویر با یک نرم‌افزار پردازشگر اندازه‌گیری شدند. حجم انفارکتوس با استفاده از فرمول [حجم نیم‌کره چپ- (حجم نیم‌کره راست- حجم انفارکتوس اندازه‌گیری شده با TTC)] × ۱۰۰/ حجم نیم‌کره چپ، محاسبه شد (۱۸).

تعیین میزان ادم مغزی

با توجه به مقالات مشابه، از فرمول زیر جهت اندازه‌گیری میزان ادم مغزی استفاده شد (۱۸).

[(حجم نیم‌کره راست– حجم نیم‌کره چپ)/ حجم نیم‌کره چپ] × ۱۰۰

بررسی اختلالات نورولوژیک

اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه‌بندی 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

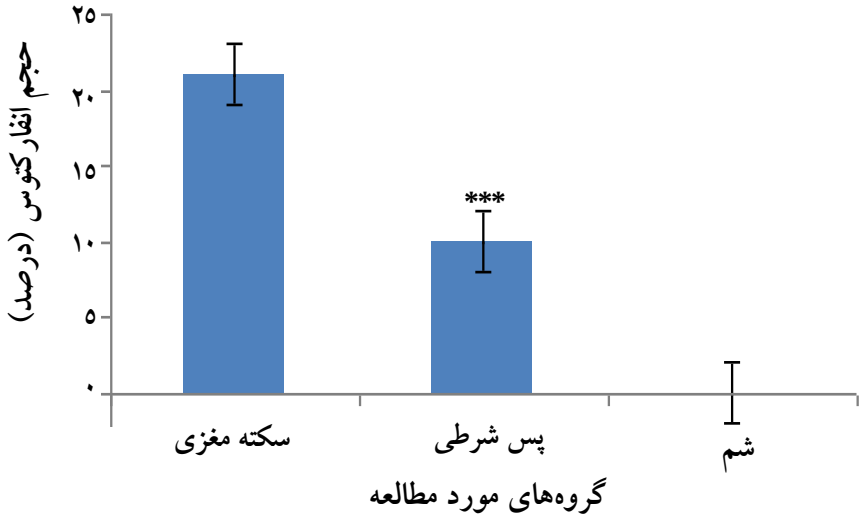
در مطالعه حاضر برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. تفاوت‌های حجم انفارکتوس با آزمون آماری One way ANOVA و پس‌آزمون Tukey و میزان ادم مغزی با آزمون آماری One way ANOVA و پس‌آزمون LSD (Least significant difference) تجزیه و تحلیل و به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. اختلالات نورولوژیک با آزمون غیر پارامتریک Kruskal–Wallis و مقایسه این اختلالات بین دو گروه نیز توسط آزمون Mann-Whitney U بررسی گردید و داده‌ها به صورت میانه و صدک‌های ۲۵ام و ۷۵ام گزارش شدند. سطح $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر پس شرطی‌سازی بر حجم انفارکتوس: میانگین حجم انفارکتوس در گروه شاهد و گروه پس‌شرطی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکته مغزی به ترتیب ۲/۱۳ ± ۲۰/۸ و ۱/۵۹ ± ۹/۷۶ میلی‌متر مکعب بود که به طور تقریبی کاهش ۵۳ درصدی در حجم انفارکتوس در گروه پس‌شرطی ایجاد کرد. به عبارت دیگر، پس شرطی‌سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکته مغزی، حجم انفارکتوس را به طور معنی‌داری نسبت به گروه سکته کاهش داد ($P < ۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).

اثر پس شرطی‌سازی بر روی میزان ادم مغزی: میانگین میزان ادم مغزی در گروه سکته نسبت به گروه پس شرطی‌سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکته مغزی به ترتیب ۱/۷۲ ± ۱۱/۱۵ و ۱/۱۳ ± ۷/۰۳ درصد بود؛ بدین معنی که کاهش معنی‌دار ۳۶ درصدی ($P < ۰/۰۵۰$) در میزان ادم مغزی در گروه پس‌شرطی نسبت به گروه سکته به وجود آمد (نمودار ۲).

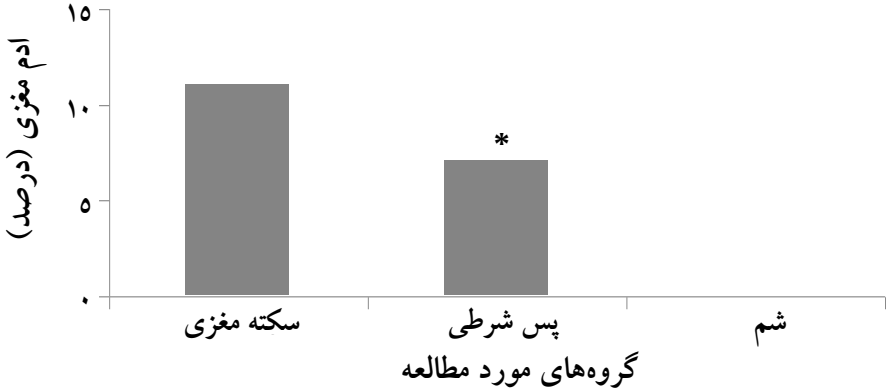
اثر پس شرطی‌سازی بر اختلالات نورولوژیک: پس شرطی‌سازی، اختلالات نورولوژیک را ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی به طور معنی‌داری نسبت به گروه سکته کاهش داد ($P < ۰/۰۵۰$)، اما ۲۴ ساعت بعد از سکته مغزی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).



نمودار ۱. *بررسی اثر پس شرطی‌سازی بر حجم انفارکتوس*

***کاهش معنی‌داری در میزان انفارکتوس مغزی در گروه پس‌شرطی 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 می‌باشد



نمودار ۲. *بررسی اثر پس شرطی‌سازی بر میزان ادم مغزی*

*($P < ۰/۰۵$) اختلاف معنی‌داری در گروه پس‌شرطی 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 می‌باشد

جدول ۱. *اختلالات نورولوژیک توسط سیستم نمره‌دهی Bederson ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از ایجاد سکته مغزی*

گروه	شم (n = ۸)	سکته مغزی (n = ۸)	پس‌شرطی (n = ۸)
ساعت ۲٤	۰ (۰–۰)	۲ (۱–۲)	۱/۵ (۱–۲)
ساعت ٤۸	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 معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) در اختلالات نورولوژیک ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی در گروه پس‌شرطی در مقایسه با گروه سکته

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه، بررسی اثر به کارگیری تأخیری پس‌شرطی بر درمان ایسکمی مغزی در سکته مغزی مدل آمبولیک در موش صحرایی ماده بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که پس شرطی‌سازی ۶/۵ ساعت پس از ایجاد سکته 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 سکته 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 سکته‌های 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 (۲۲، ۲۱) و ممکن است در نتیجه وجود یا فقدان استروژن، پاسخ به سکته در زن و مرد متفاوت باشد (۲۳).

در سال ۲۰۰۸ این موضوع مطرح شد که یکی از راهکارهای جدید در زمینه درمان سکته، پست کاندیشنینگ در مغز می‌باشد که از پست کاندیشنینگ در مطالعات متعددی به عنوان پس شرطی‌سازی یاد می‌شود (۲۳، ۵). محققی به نام Zhao و همکاران برای اولین بار گزارش کردند که پس شرطی‌سازی حجم انفارکتوس را در صورتی که طی یک ساعت اول بعد از سکته مغزی به کار گرفته شود، کاهش می‌دهد (۲۴). Ren و همکاران ثابت کردند که پس شرطی‌سازی 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 شرطی‌سازی، 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 شرطی‌سازی و جلوگیری از آسیب به مغز داشته باشد (۲۵). Xing و همکاران گزارش داده‌اند که پس شرطی‌سازی، آپوپتوز و استرس اکسیداتیو پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن را در موش صحرایی کاهش می‌دهد (۸). رضازاده و همکاران دریافتند که در موش صحرایی نر، چنان‌چه پس‌شرطی‌سازی بلافاصله بعد از سکته 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 شرطی‌سازی حجم انفارکتوس، میزان ادم مغزی و اختلالات نورولوژیک را کاهش می‌دهد و اثرات محافظت نورونی دارد و همچنین باعث طولانی‌تر شدن پنجره درمانی سکته مغزی از طریق پس شرطی‌سازی 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 شرطی‌سازی، مدت زمان آن و نیز تعیین دقیق مکانیسم محافظ نورونی پس شرطی‌سازی مورد نیاز است و شاید ترکیب پس شرطی‌سازی با سایر درمان‌های سکته مغزی بتواند عوارض سکته مغزی را کم کند که نیازمند مطالعه و تحقیق بیشتری است. در مجموع یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که پس شرطی‌سازی تأخیری، ضایعات ایسکمی را بعد از سکته 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 Postcondit-ioning. *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 mamalian 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.[1], Rezazadeh H., M.Sc.[1], Shamsizadeh A., Ph.D.[2], Ehsani V., M.Sc.[1], Hakimizadeh E., M.Sc.[1], Amir-Esmaili S., M.Sc.[1], Allahtavakoli M., Ph.D.[2*]

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