مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و ششم/شماره ۸۹/تابستان ۱۳۸۷

القای ایسکمی موضعی مغزی در موش صحرایی با مدل امبولیک سکته‌ی مغزی

دکتر محمدالله توکلی*، روح‌الله مولودی**، دکتر بهنام حشمتیان***، دکتر محمدرضا رحمانی**، دکتر محمدابراهیم رضوانی*

* استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.
** کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.
*** استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۱۹
تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۲۶

چکیده

مقدمه: ۸۰ تا ۹۰ درصد موارد سکته‌های مغزی در انسان از نوع ترومبوامبولیک است و بیشتر حملات ایسکمی در نتیجه‌ی انسداد شریان مغزی میانی رخ می‌دهد.

روش‌ها: مقداری خون از شریان فمور حیوان به داخل کاتتری از جنس پلی‌اتیلن- ۵۰ کشیده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه و ۲۲ ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از جراحی، کاتتری وارد شریان مغزی میانی شد و ۳ یا ۵ میکرولیتر لخته و یا ۵ میکرولیتر سالین (جراحی- sham) به داخل شریان فوق تزریق گردید. در ساعات ۲، ۲۴ و ۴۸ پس از تزریق لخته، اختلالات نورولوژیک و تشنج بررسی شد. ۴۸ ساعت پس از جراحی، مغز حیوانات کشته شده برش داده شد، سپس برش‌ها با تترازولیوم کلراید ۲٪ رنگ‌آمیزی و در مرحله‌ی آخر پس از اسکن آنها، حجم انفارکتوس و ادم مغزی تعیین گردید.

یافته‌ها: حجم انفارکتوس و ادم مغزی در گروهی که ۵ میکرولیتر لخته تزریق شده بود نسبت به گروه با ۳ میکرولیتر لخته‌ی تزریقی، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود (P = ۰/۰۵). اختلالات نورولوژیک در ۴۸ ساعت پس از سکته مغزی بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نشان داد (P = ۰/۰۵). همچنین بین حجم انفارکتوس و ادم مغزی همبستگی معنی‌داری وجود داشت (P = ۰/۰۵ ، r = ۰/۵۶). هیچ گونه انفارکتوس، ادم مغزی و اختلال نورولوژیک در گروه sham مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: این مدل شباهت فراوان با سکته ترومبوامبولیک در انسان داشته، ابزار باارزشی برای پژوهش درباره‌ی مکانیسم و شناخت عوامل ترومبولیتیک در سکته مغزی را فراهم می‌کند.

واژگان کلیدی: ایسکمی مغزی، مدل امبولیک، ادم مغزی، اختلالات نورولوژیک.

تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول‌ها: ۲
تعداد نمودارها: ۳
تعداد منابع: ۱۶

آدرس نویسندهٔ مسئول: محمدالله توکلی، استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.
E-mail: alahtavakoli@razi.tums.ac.ir

www.mui.ac.ir

مقدمه

سکته‌ی مغزی دومین علت مرگ و میر در جهان بوده، ناتوانی شدیدی در بین نجات‌یافتگان پدید می‌آورد و پیامد گسترده‌ی اقتصادی و اجتماعی بر جامعه و سیستم خدمات بهداشتی درمانی تحمیل می‌کند (۲-۱). در ۸۰ تا ۹۰ درصد بیماران دچار سکته‌ی مغزی، علت بروز آن ترومبوامبولی است و بیشتر حملات ایسکمی در نتیجه‌ی انسداد شریان مغزی میانی و یا شاخه‌های جانبی آن اتفاق می‌افتد (٤-۳).

باز کردن شریان‌های مسدود به وسیله‌ی عوامل ترومبولیتیک اگر به طور سریع پس از آسیب ایسکمی شروع شود، میزان آسیب به مغز را کاهش می‌دهد. بنابراین، روش ترومبولیز درمانی امید زیادی برای بهبودی بیماران مبتلا به سکته‌ی مغزی پدید آورده و موجب توسعه و فراهم نمودن مدل‌های تجربی حیوانی متعددی شده است. در پژوهش‌های به عمل آمده، فراوانترین مدل‌های استفاده شده برای ایجاد ایسکمی موضعی، انسداد با جراحی یا قرار دادن فیلامانی نازک در داخل یک شریان بوده است. اما این روش‌ها، برای پژوهش پاتوفیزیولوژی انفارکتوس و ایسکمی درمان شده با عوامل ترومبولیتیک مناسب نمی‌باشند. ایسکمی مغزی ایجاد شده با تزریق لخته‌ی خون به داخل شریان مغزی میانی، یک ابزار عالی برای این گونه پژوهش‌ها است (٤).

در سال ۱۹۵۵ میلادی، مدل تجربی امبولیک انفارکتوس مغزی در سگ ابداع شد (۵). Kudo و همکاران در سال ۱۹۸۲ میلادی، برای اولین بار مدل آسیب امبولیک در موش صحرایی را ارائه کردند (٦). از میان مدل‌های استفاده شده بر روی حیوانات آزمایشگاهی نظیر گربه، سگ و خوکچه هندی، مدل موش صحرایی فواید بارزی دارد، از جمله این که نگهداری این حیوانات آسان‌تر بوده، مهم‌تر از آن، گردش خون مغزی در موش صحرایی است که با گردش خون مغزی انسان شباهت فراوانی دارد (٤). در پژوهش حاضر، مدل انسداد امبولیک شریان مغزی میانی در موش صحرایی با تزریق لخته‌ی خون از پیش تهیه شده تشریح شد. این پژوهش برای ایجاد آسیب ایسکمیک موضعی حاد مغزی طراحی شده و به وسیله‌ی آن یک انفارکتوس قابل اعتماد و ضایعات با درجات متفاوت فراهم شده است.

با توجه به این که بیشتر حملات ایسکمی مغزی از نوع ترومبوامبولیک است که به علت ورود لخته‌های خونی از قلب یا عضوی دیگر پدید می‌آید، در این پژوهش چگونگی القای مدل امبولیک سکته‌ی مغزی که ابزار با ارزشی برای پژوهش در مورد مکانیسم و اثر عوامل ترومبوامبولیک در سکته‌ی مغزی است، ارائه شد.

روش‌ها

۱- حیوانات:

در این پژوهش از ۲٤ راس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گردش زمانی ۱۲ ساعته تاریکی/ روشنایی، با حرارت ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در حیوانخانه نگهداری می‌شدند و به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند. در گروه اول ۵ میکرولیتر لخته خون به داخل شریان مغزی میانی آنها تزریق شد، در گروه دوم ۳ میکرولیتر و در گروه سوم (sham جراحی) به جای لخته‌ی خون ۵ میکرولیتر سالین تزریق شد. حجم نمونه در هر گروه بر اساس پژوهش‌های مشابه (۱۳-۷) انتخاب گردید.

۲- طرز تهیه‌ی لخته:

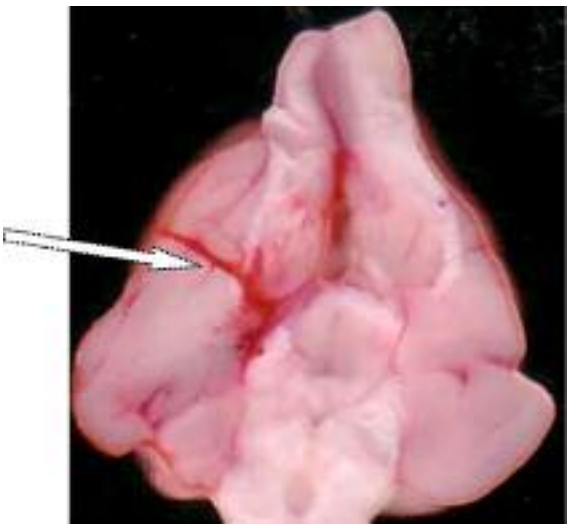
حیوان دهنده‌ی خون با فنوباربیتال سدیم (۵۰ mg/kg)

www.mui.ac.ir

بیهوش شد و پس از جدا کردن شریان فمور از بافت‌های اطراف، نوک یک لوله پلی‌اتیلن- ۵۰ به طول ۲۰ سانتی‌متر وارد شریان شده، سپس اجازه داده شد تا خون با فشار زیاد وارد لوله شود. پس از پر شدن لوله از خون، نمونه به مدت ۲ ساعت در دمای محیط (^{o}C ۲۴-۲۲) و سپس به مدت ۲۲ ساعت در دمای ^{o}C ٤ نگهداری شد تا لخته‌ی غنی شده از فیبرین و مستحکمی شکل گیرد. پس از ۲٤ ساعت لخته از لوله پلی‌اتیلن خارج و با محلول سالین شستشو داده شد و برای تزریق به شریان مغزی میانی آماده گردید (۷).

۳- القای سکته مغزی مدل امبولیک:

پس از آن که هر حیوان با تزریق کتامین ml/kg ۵۰ و زایلوسین کلراید ml/kg ۰/۱ بیهوش می‌شد، یک برش به طول ۱/۵ سانتی‌متر در خط وسط پوست گردن آنها ایجاد می‌گردید. شریان‌های کاروتید مشترک راست، کاروتید خارجی راست و کاروتید داخلی راست از بافتهای اطراف جدا می‌شد. سپس بخش انتهایی شریان کاروتید خارجی راست بسته و جدا می‌گردید و گره شلی در اطراف منشأ کاروتید خارجی راست زده می‌شد و شریان‌های کاروتید مشترک و کاروتید داخلی به طور موقت با استفاده از گیره‌های مخصوص شریان‌های کوچک بسته می‌شدند. کاتتر پلی‌اتیلن ۵۰ (PE-50) حاوی ۵ یا ۳ میکرولیتر لخته که از پیش فراهم و نوک آن اصلاح و باریک شده بود (کم‌تر از ۰/۳ میلی‌متر) از راه سوراخ کوچکی که بر روی شریان کاروتید خارجی ایجاد شده بود، وارد آن می‌گردید. سپس گره‌ی زده شده را در اطراف منشأ کاروتید خارجی سفت کرده، گیره از روی شریان کاروتید داخلی برداشته می‌شد. آن گاه لوله را به میزان ۱۷ میلی‌متر به درون شریان کاروتید داخلی جلو بردیم تا این که نوک آن ۱ تا ۲ میلی‌متر از منشأ شریان مغزی میانی جلوتر قرار گیرد. سپس لخته به داخل شریان مغزی میانی تزریق می‌شد. ۵ دقیقه پس از تزریق لخته، لوله از شریان کاروتید داخلی خارج شده، شریان کاروتید خارجی بسته و گیره از روی شریان کاروتید مشترک برداشته شد. پس از بستن زخم و به هوش آمدن، حیوان به قفس منتقل می‌گردید (٤). دمای رکتوم حیوان در طول جراحی با استفاده از دماسنج در دامنه‌ی ۳۷/۵-۳٦/۵ درجه سانتی‌گراد نگه داشته می‌شد. عمل جراحی به طور معمول در مدت ۳۰ دقیقه انجام می‌شد و به پایان می‌رسید (۷). در گروه sham جراحی به جای لخته، ۵ میکرولیتر سالین تزریق شد. وجود لخته ۵ میکرولیتری در داخل شریان مغزی میانی در شکل ۱ نشان داده شده است. متغیرهای فیزیولوژیک اصلی شامل فشار خون متوسط شریانی، گلوکز خون، pH و گازهای خون (Po2 and Pco2) در ۵ دقیقه پیش و ۵ دقیقه پس از امبولیزه کردن ثبت می‌شد (N=۵).



شکل ۱. وجود لخته ۵ میکرولیتری در شریان مغزی میانی. حیوان ۱۰ دقیقه پس از تزریق لخته کشته شده است. پیکان شریان مغزی میانی مسدود شده با لخته را نشان می‌دهد.

www.mui.ac.ir

۴- نحوه‌ی محاسبه حجم انفارکتوس و ادم مغزی:

حجم انفارکتوس و ادم مغزی در ٤٨ ساعت پس از القای ایسکمی مغزی اندازه گیری شد. برای این منظور حیوانات با اتر بیهوش شده، مغز آنان از جمجمه خارج و به مدت ۵ دقیقه در سالین یخ قرار داده می‌شد تا قوام پیدا کند. سپس مغز به ۸ برش به ضخامت ۲ میلی‌متر تقسیم شده، برشها با استفاده از ۲، ۳ و ۵ تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) در دمای ۳۷ درجه به مدت ۳۰ دقیقه رنگ‌آمیزی می‌شدند. پس از رنگ آمیزی، ناحیه‌ی انفارکتوس به صورت سفید و ناحیه‌ی سالم به صورت قرمز ظاهر می‌شد. برش‌های رنگ‌آمیزی شده در بافر فرمالین ۱۰٪ فیکس و پس از ٢٤ ساعت توسط اسکنر رنگی از آنها تصویر برداری می‌گردید و با استفاده از یک برنامه‌ی نرم‌افزاری پردازش تصویر تحلیل می‌شد. حجم کل هر نیمکره و حجم انفارکتوس با استفاده از مجموع سطح ۸ برش تعیین شد (۷-٤).

حجم انفارکتوس و ادم مغز با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

حجم نیمکره چپ/ [(حجم انفارکتوس- حجم نیمکره راست)- حجم نیمکره چپ] = حجم انفارکتوس مغز

حجم نیمکره چپ/ (حجم نیمکره چپ- حجم نیمکره راست) = ادم مغزی

حجم انفارکتوس و ادم مغزی به صورت درصد بیان شدند (۷).

۵- آزمون‌های رفتاری:

اختلالات نرولوژیک حیوان و بروز تشنج در فاصله‌ی زمانی ۲، ٢٤ و ٤٨ ساعت پس از امبولیزه کردن ثبت شد. اختلالات نرولوژیک با سیستم نمره‌دهی اصلاح شده بدرسون و همکاران (۸) تعیین گردید که در آن به عدم وجود هرگونه اختلالی نمره صفر، خم شدن اندام جلویی نمره ۱، خم شدن اندام جلویی به اضافه کاهش مقاومت به هل دادن جانبی نمره ۲، چرخش به یک طرف نمره ۳ و چرخش به یک طرف به اضافه کاهش سطح هوشیاری نمره ٤ داده شد. تشنج با سیستم نمره‌دهی راسین (۹) تعیین شد که به عدم مشاهده تشنج نمره صفر، حرکت ریتمیک دهان و صورت نمره ۱، تکان دادن ریتمیک سر نمره ۲، کلونوس اندام جلویی نمره ۳، به عقب بردن سر و کلونوس دوطرفه اندام جلویی نمره ٤ و به عقب بردن سر و افتادن حیوان نمره ۵ داده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

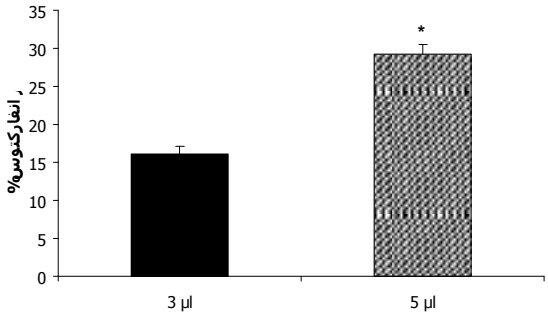
حجم انفارکتوس و ادم مغزی با آزمون آماری t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اختلالات نورولوژیک و تشنج با استفاده از آزمون آماری مان- ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته، به صورت میانه و دامنه گزارش شد (صدک‌های ۷۵- ۲۵). میزان مرگ و میر و بروز خونریزی مغزی با آزمون آماری کای- اسکور مقایسه شدند و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هیچ گونه انفارکتوس، ادم مغزی، اختلال نورولوژیک و یا تشنجی در گروه sham جراحی مشاهده نگردید. متغیرهای فیزیولوژیک در گروه‌های مختلف در جدول ۱ ذکر شده است. هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر متغیرهای فیزیولوژیک مشاهده نشد. امبولیزه کردن (به حرکت در آوردن) یک لخته از پیش تشکیل شده به داخل شریان مغزی میانی، منجر به بروز انفارکتوس در نواحی می‌شود که این شریان خون‌رسانی آنها را بر عهده دارد که به طور عمده

www.mui.ac.ir

شامل بخشهایی از قشر مغز و استریاتوم می باشد. ۴۸ ساعت پس از امبولیزه کردن، حجم انفارکتوس در گروه ۵ میکرولیتر لخته تزریق شده، ۱/۲۶±۲۹/۲۴٪ و در گروهی که ۳ میکرولیتر لخته تزریق شده ۰/۹۴±۱۶/۱۵٪ بود (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه‌ی درصد حجم انفارکتوس مغزی در دو گروه با لخته‌ی ۳ و ۵ میکرولیتری پس از القای سکته مغزی مدل امبولیک. حجم انفارکتوس در ۴۸ ساعت پس از ایسکمی تعیین شده است. * تفاوت معنی‌دار با $P < ۰/۰۵$ را نشان می‌دهد. N برابر با ۸ در هر گروه می‌باشد.

بین دو گروه از نظر حجم انفارکتوس تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۰۵$). ۴۸ ساعت پس از تزریق لخته به داخل شریان مغزی میانی، ادم مغزی در گروهی که ۵ میکرولیتر لخته به آنها تزریق شده بود ۱/۶۵±۸/۶٪ و در گروهی که ۳ میکرولیتر لخته تزریق شده بود ۱/۷۴±۳٪ بود و در بین دو گروه از نظر ادم مغزی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$) (نمودار۲).

با توجه به اختلالات مشاهده شده در فاصله‌ی زمانی ۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از امبولیزاسیون به دو گروه نمره داده شد (جدول ۲) که در ۲ ساعت پس از امبولیزاسیون، میانه‌ی نمرات نورولوژیک در گروه لخته‌ی ۵ میکرولیتری، ۳ با دامنه (۴–۲) و در گروه لخته‌ی ۳ میکرولیتری، ۱/۵ با دامنه (۳–۱) به دست آمد که بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

همچنین در ساعات ۲۴ میانه نمرات نورولوژیک در گروه لخته‌ی ۵ میکرولیتری، ۲ با دامنه (۴–۲) و در گروه لخته‌ی ۳ میکرولیتری، ۲ با دامنه (۲/۵–۱) تعیین گردید که بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ۴۸ ساعت پس از امبولیزاسیون، نمرات اختلالات نورولوژیک در ۶ حیوان از گروه لخته ۵ میکرولیتری و ۵ حیوان از گروه لخته ۳ میکرولیتری با هم مورد مقایسه قرار گرفتند؛ زیرا برخی از حیوانات پیش از رسیدن به انتهای دوره زمانی آزمایشها می‌مردند. میانه نمرات نورولوژیک در گروه لخته‌ی ۵ میکرولیتری، ۲ با دامنه‌ی (۳–۱/۵) و در گروه لخته‌ی ۳ میکرولیتری، ۱ با دامنه‌ی (۱/۵–۰) بود که تفاوت در نمرات نورولوژیک بین دو گروه در این نقطه زمانی (۴۸ ساعت) معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). نمرات رفتار تشنج نیز در فاصله‌ی زمانی۲، ۲۴ و ۴۸ پس از امبولیزاسیون ثبت شد که بین دو گروه در هیچ یک از این ساعات، از نظر نمرات تشنج تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بین درصد انفارکتوس و درصد ادم مغزی در کل نمونه‌های ۲ گروه همبستگی معنی‌داری وجود داشت ($P = ۰/۰۵$ ، $r = ۰/۵۶$).

جدول ۱. مقایسه‌ی متغیرهای فیزیولوژیک در دو گروه حیوانات پیش و پس از سکته مغزی در پی تزریق ۳ یا ۵ میکرولیتر لخته داده‌ها به صورت mean ± SEM ذکر شده‌اند. N = ۵ در هر گروه بوده و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

	۳ میکرولیتر	۵ میکرولیتر
گلوکز (mg/dl)	۲۲۰ ± ۱۴	۲۱۶ ± ۱۹
pH خون	۷/۳۳۷ ± ۰/۰۱۷	۷/۴۰۱ ± ۰/۰۲
Po2 (mmHg) شریانی	۹۵ ± ۹	۹۴ ± ۹
Pco2 (mmHg) شریانی	۳۵/۵ ± ۱/۴	۳۴/۲ ± ۱/۲
فشار متوسط شریانی MAP (mmHg)	۹۱ ± ۴	۹۵ ± ۶
ضربان قلب (تعداد/ دقیقه)	۳۶۲ ± ۳۴	۳۵۸ ± ۴۶

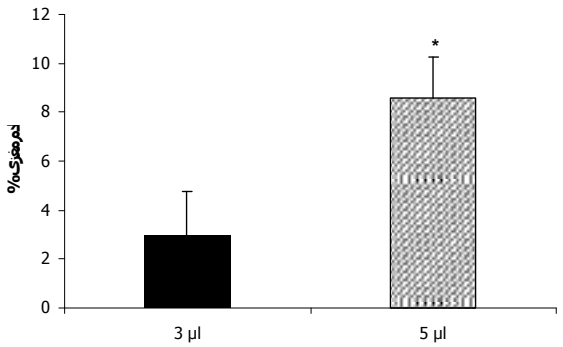
* MAP: فشار متوسط شریانی

www.mui.ac.ir

جدول شماره ۲. مقایسه اختلالات نورولوژیک در دو گروه و در ساعات مختلف پس از القاء ایسکمی موضعی مغزی. اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه‌بندی بدرسون فاصله‌ی زمانی ۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت ارزیابی شده و به صورت میانه و صدک‌های ۲۵و ۷۵ (داخل پرانتز) ذکر شده‌اند.

ساعت	گروه‌ها	
	لخته ۵ میکرولیتری	لخته ۳ میکرولیتری
۲	۳ (۲–٤)	۱/۵ (۱–۳)
۲٤	۲ (۲–٤)	۲ (۱–۲/۵)
٤۸	۲ (۱/۵–۳)	۱ (۰–۱/۵) *

*تفاوت معنی‌دار با P < ۰/۰۵ می‌باشد.



نمودار ۲. مقایسه درصد ادم مغزی در دو گروه با لخته‌ی ۳ و ۵ میکرولیتری پس از القاء سکته‌ی مغزی مدل امبولیک. ادم مغزی در ۴۸ ساعت پس از ایسکمی تعیین شده است.

* تفاوت معنی‌دار با P < ۰/۰۵ را نشان می‌دهد. تعداد نمونه‌ها برابر با ۸ رأس حیوان در هر گروه می‌باشد.

خونریزی مغزی با مشاهده‌ی مستقیم برش‌های مغزی که به صورت نقاط سیاه رنگی در برش‌ها دیده شد، ارزیابی گردید. خونریزی مغزی در گروه لخته‌ی ۵ میکرولیتری۲۸/٦٪ و در گروه لخته‌ی ۳ میکرولیتری ۱٦/۷٪ موارد را تشکیل می‌داد و بین دو گروه اختلافی معنی‌داری مشاهده نشد. میزان مرگ و میر پیش از ٤۸ ساعت در گروه لخته ۵ میکرولیتری ۱٤/۳٪ و در گروه لخته ۳ میکرولیتری ۱٦/۷٪ بود و بین دو گروه تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. همچنین بین درصد انفارکتوس و اختلال نورولوژیک در ساعات ۲ و ٤۸ و نیز بین درصد انفارکتوس و رفتار تشنج در ساعات ۲ همبستگی معنی‌داری وجود داشت (P < ۰/۰۵).

بحث

در این پژوهش، تزریق حجم‌های متفاوت ۳ و ۵ میکرولیتری لخته به داخل شریان مغزی میانی منجر به انفارکتوس موضعی گردید که این واکنش بسته به حجم لخته، حجم انفارکتوس نیز تغییر کرد (P < ۰/۰۰۵). همچنین با افزایش حجم لخته، ادم مغزی (P < ۰/۰۵) و اختلالات نورولوژیک در ٤۸ ساعت پس از امبولیزه کردن افزایش یافت (P < ۰/۰۵). مدل امبولیک ایسکمی مغز ابتدا به وسیله‌ی Hill و همکاران در سال ۱۹۵۵ میلادی گزارش شد (۵). سکته‌ی مغزی امبولیک برای اولین بار با تزریق لخته‌ی خون به درون شریان کاروتید در سگ‌ها پدید آمد. در سال ۱۹۸۲ میلادی Kudo و همکاران، مدل آسیب امبولیک را در موشهای صحرایی نر به وجود آوردند. در این مدل یک لخته‌ی از پیش تشکیل شده قطعه قطعه می‌شد و به درون شریان کاروتید مشترک تزریق می‌گردید. تزریق امبولی به درون شریان کاروتید مشترک، موجب امبولی داخل و خارج جمجمه‌ای می‌شد. امبولی خارج جمجمه‌ای به علت انتشار و گسترش لخته تزریق شده به درون شریان پتریگو پالاتین به وجود می‌آید (٦). برای پیش‌گیری از امبولیزاسیون خارج جمجمه‌ای، انفارکتوس مغزی به وسیله‌ی تزریق لخته‌ی قطعه قطعه شده به درون شریان کاروتید داخلی پس از بستن شریان پتریگو پالاتین پدید می‌آمد (۱۰). در سال ۱۹۹۲ میلادی Ovagaard و همکاران یک مدل ارائه دادند که در آن لخته به درون شریان کاروتید مشترک، پس از بستن شریانهای پتریگو پالاتین، تیروئید و پس

www.mui.ac.ir

سری تزریق می‌شد. این اصلاحات به طور مؤثری از ایجاد انفارکتوس خارج جمجمه‌ای جلوگیری می‌کرد اما قادر نبود گسترش امبولی را به نیمکره‌ی مقابل محدود کند، زیرا لخته از راه حلقه‌ی ویلیس می‌توانست به نیمکره دیگر هم منتقل شود (۱۱). در سال ۱۹۹۷ میلادی Zhang و همکاران یک مدل ایسکمی مغزی موضعی ترومبوتیک را گزارش کردند که در آن تشکیل لخته با تزریق ترومبین به داخل شریان مغزی میانی پدید می‌آمد. برای جلوگیری از انتشار ترومبین یک جسم توپی شکل به درون شریان‌های مغزی میانی و کاروتید داخلی پیش از تزریق ترومبین تزریق می‌شد (۱۲). بعدها Wang و همکاران در سال ۲۰۰۱ میلادی یک مدل را با تزریق لخته‌ی تازه تشکیل شده به درون شریان مغزی میانی ابداع کردند. در این مدل یک کاتتر وارد شریان کاروتید مشترک می‌شد و خون به درون کاتتر کشیده می‌شد. سپس بلافاصله لخته‌ی تشکیل شده در کاتتر به درون شریان مغزی میانی تزریق می‌شد. لخته‌ی تازه تشکیل شده به طور سریع حل می‌شد و در یک ساعت پس از امبولیزاسیون عروق کوچک در همه‌ی قشر مغز و بیشتر استریاتوم دوباره باز می‌شدند (۱۳).

در پژوهش حاضر آسیب مغزی امبولیک به وسیله‌ی تزریق لخته‌ی کهنه‌ی از پیش تشکیل شده به درون شریان مغزی میانی ایجاد شد که در مقایسه با روش‌های دیگر (مانند سوچور و لخته تازه) دارای مزایایی است؛ اول این که، دوره جراحی کاهش یافته، امکان جراحی تعداد زیادی حیوان در طی یک روز ممکن می‌شود. از این رو عوارض جراحی کاهش یافته، داده‌ها پراکندگی کمتری خواهند داشت. دوم این که، کنترل کیفیت لخته‌ی کهنه آسان‌تر از لخته‌ی تازه است. در روش سکته‌ی مغزی با استفاده از سوچور (PMCAO) به علت این که منشأ شریان هیپوتالاموس از بخش انتهایی کاروتید داخلی جدا شده است و این قسمت از کاروتید داخلی توسط سوچور مسدود می‌گردد، به ضایعه‌ی ایسکمیک هیپوتالاموس و در نتیجه هیپرترمی منجر می‌شود. هیپرترمی پدید آمده اثرات محافظت نورونی داروها را تحت تأثیر قرار داده منجر به نتایج غیر دقیقی می‌گردد. به عنوان مثال در پژوهشی که Gerriets و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی انجام دادند، مشاهده کردند که هیپرترمی پدید آمده با روش استفاده از سوچور، اثرات محافظت نورونی MK-801 را محو می‌کند (۱٤) در حالی که روش امبولیک این ایراد را ندارد.

در این پژوهش لخته‌ی درون لوله‌ی پلی‌اتیلن پیش از این که تزریق شود مشاهده می‌گردید و فقط بخشی از لوله که پر از لخته بود بریده می‌شد و مورد استفاده قرار می‌گرفت. این مدل نسبت به سایر مدل‌ها و از جمله مدل لخته‌ی تازه برتری دارد، زیرا با وضعیت پاتوفیزیولوژیک بیماران دچار سکته مغزی شباهت بیشتری دارد، چرا که بسیاری از آسیب‌های ایسکمیک مغزی در انسان به وسیله ترومبوزهای کهنه‌ای ایجاد می‌شود که از قلب و شریانهای کاروتید به حرکت درآمده‌اند (٤). افزون بر این، با این مدل می‌توان با تزریق حجم‌های متفاوتی از لخته به درون شریان مغزی میانی، ضایعاتی با اندازه‌های متفاوت به وجود آورد. ضمن آن که بهبودی عملکردی در موش‌های صحرایی که ترومبوز کمتری دریافت کرده بودند در ساعت ٤٨ مشاهده شد. همچنین بین حجم ضایعه با درصد ادم مغزی و اختلال حرکت در ساعت‌های ۲ و ٤٨ همبستگی معنی‌داری وجود داشت. در پژوهش

www.mui.ac.ir

دیگری که ونگ و همکاران در سال ۲۰۰۱ میلادی انجام داده‌اند، مشاهده شد که با تزریق مقادیر متفاوت لخته می‌توان حجم‌های انفارکتوس متفاوتی پدید آورد که با یافته‌های ما همخوانی دارد (۱۳).

در مدل امبولیک حجم انفارکتوس ایجاد شده کم‌تر از روش انسداد دائم شریان مغزی میانی با پلی‌وینیل سیلوکسان است (۱۵). از آن جا که حجم انفارکتوس پدید آمده در بیشتر انواع سکته‌ی مغزی در انسان نیز کم می‌باشد (۱۶)، مدل امبولیک از این جهت هم به کلینیک شباهت بیشتری داشته، نسبت به مدل‌هایی که از لوله یا اجسام مسدود کننده MCA استفاده می‌کنند، برتری دارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به این که بیشتر سکته‌های مغزی در انسان از نوع ترومبوامبولیک بوده، به وسیله‌ی لخته‌ی از پیش تشکیل شده رخ می‌دهند، مدل ارائه شده در این پژوهش شباهت فراوانی با سکته‌ی ترومبوامبولیک در انسان داشته، ابزار با ارزشی برای پژوهش در مورد مکانیسم و بررسی اثر عوامل ترومبولیتیک در سکته مغزی را فراهم می‌کند.

منابع

1. Dombovy ML. Understanding stroke recovery and rehabilitation: current and emerging approaches. Curr Neurol Neurosci Rep 2004; 4(1):31-5.

2. Yamamoto L, Magalong E. Outcome measures in stroke. Crit Care Nurs Q 2003; 26(4):283-93.

3. Ringel F, Schmid-Elsaesser R. Antioxidants for CNS ischaemia and trauma. Expert Opin Ther Patents 2001; 11(6):987-97.

4. 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.

5. Hill NC, Millikan CH, Wakim KG, Sayre GP. Studies in cerebrovascular disease. VII. Experimental production of cerebral infarction by intracarotid injection of homologous blood clot; preliminary report. Proc Staff Meet Mayo Clin 1955; 30(26):625-33.

6. Kudo M, Aoyama A, Ichimori S, Fukunaga N. An animal model of cerebral infarction. Homologous blood clot emboli in rats. Stroke 1982; 13(4):505-8.

7. Allahtavakoli M, Shabanzadeh A, Roohbakhsh A, Pourshanazari A. Combination therapy of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand, and NMDA receptor antagonist (MK-801) on experimental embolic stroke in rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007; 101(5):309-14.

8. 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.

9. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1972; 32(3):281-94.

10. Kaneko D, Nakamura N, Ogawa T. Cerebral infarction in rats using homologous blood emboli: development of a new experimental model. Stroke 1985; 16(1):76-84.

11. Overgaard K, Sereghy T, Boysen G, Pedersen H, Hoyer S, Diemer NH. A rat model of reproducible cerebral infarction using thrombotic blood clot emboli. J Cereb Blood Flow Metab 1992; 12(3):484-90.

12. Zhang Z, Zhang RL, Jiang Q, Raman SB, Cantwell L, Chopp M. A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab 1997; 17(2):123-35.

13. Wang CX, Yang Y, Yang T, Shuaib A. A focal embolic model of cerebral ischemia in rats: introduction and evaluation. Brain Res Brain Res Protoc 2001; 7(2):115-20.

14. Gerriets T, Stolz E, Walberer M, Kaps M, Bachmann G, Fisher M. Neuroprotective effects of MK-801 in different rat stroke models for permanent middle cerebral artery occlusion: adverse effects of hypothalamic damage and strategies for its avoidance. Stroke 2003; 34(9):2234-9.

15. Yang Y, Yang T, Li Q, Wang CX, Shuaib A. A new reproducible focal cerebral ischemia model by introduction of polyvinylsiloxane into the middle cerebral artery: a comparison study. J Neurosci Methods 2002; 118(2):199-206.

16. Carmichael ST. Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose. NeuroRx 2005; 2(3):396-409.

www.mui.ac.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 26, No 89, Summer 2008

Received: 10.1.2008
Accepted: 16.3.2008

Local Brain Ischemia Inducing in Rat by Embolic Model of Stroke

Mohammad Allahtavakoli PhD*, Rooholah Moloudi Msc**, Behnam Heshmatian PhD***, Mohammad Reza Rahmani Msc**, Mohammad Ebrahim Rezvani PhD*.

*Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.
**MSc, Department of Physiology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.
***Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

Abstract

Background: In patients affected with stroke, most ischemic episodes (80-90%) occur due to occlusion of middle cerebral artery (MCA).

Methods: Some of blood through femoral artery was withdrawn into a PE- 50 catheter and kept for 2 h in room temperature and 22 h at 4°C to allow old clot formation. Then the catheter was advanced 17 mm in the internal carotid artery until its tip was 1 to 2 mm away from MCA origin. 3-5 µl the preformed clot or 5 µl saline (for sham- operated animals) were injected. Behavioral deficits and seizure activities were recorded at 2, 24, and 48 hours after clot injection. Then the rats were decapitated to remove the brains and prepare them for Tetrazoliume chloride (TTC) staining and analyzing.

Findings: When 3 or 5 µl clots were injected, infarct volume was 29.35±1.26% and 16.15±94% respectively ($p<0.05$). Brain edema also was 8.6±1.65% and 3±1.74%, respectively ($p<0.05$). There was a significant correlation between infarct volume and brain edema ($r=0.56$, $p<0.05$). Behavioral deficit score at 48 hours after clot injection between two groups were significantly different ($p<0.05$).

Conclusion: This model is very similar to thromboembolic stroke in human and prepares a reliable method for investigating the stroke mechanism. It would also be useful for studying thromboembolic agents' effect on stroke and brain ischemic injury.

Key words: **Brain ischemia, embolic model, brain edema, neurological deficits.**

Page count: 9
Tables: 2
Figures: 3
References: 16

Address of Correspondence: Mohammad Allahtavakoli, Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.
E-mail: alahtavakoli@razi.tums.ac.ir

www.mui.ac.ir