

بررسی اثر سیمواستاتین بر آسیب ایسکمی مغزی در مدل ترومبوآمبولیک سکتة مغزی

دکتر علیرضا شعبانزاده^۱، دکتر چنسو وانگ^۲، دکتر اشفق شوئیب^۲

۱- استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات بیماریهای اعصاب و بانک فرآوردههای پیوندی ایران (مؤلف مسئول) shaebanz@sina.tums.ac.ir

۲- استاد گروه نورولوژیست، پروفیسور دانشگاه آلبرتا، کانادا

چکیده

زمینه و هدف: استاتینها به عنوان عوامل محافظتی نرونی پس از ایسکمی مغزی به کار می‌روند. به هر حال مکانیسم‌های عملکرد آنها همچنان ناشناخته باقی مانده است. در این مطالعه اثرات سیمواستاتین به تنهایی یا با شرایط هیپرترمی بر آسیب ایسکمی مغز بررسی شده است.

روش بررسی: این مطالعه یک مطالعه تجربی بود. حجم نمونه شامل ۱۳ گروه رت نر بالغ بود که در ۴ سری آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. گروهها از نظر دمای مغز و رکتوم، اثر سیمواستاتین به تنهایی یا در شرایط هیپرترمی در مدل ترومبوآمبولیک سکتة مغزی مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری 3.1 sigmastat و تستهای آماری ANOVA، Tukey و کراسکال والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که دما در مغز تقریباً ۰/۵ درجه سانتیگراد کمتر از دمای رکتوم می‌باشد. نتایج همچنان تاکید بر آن دارد که سیمواستاتین به تنهایی می‌تواند میزان حجم انفارکتوس را نسبت به گروه کنترل به میزان ۴۶ درصد کاهش دهد ($p < 0/01$). ادم مغزی در گروههای کنترل و هیپرترمی به ترتیب برابر با $6/32 \pm 1/2$ و $8/22 \pm 1/86$ درصد بود بکارگیری سیمواستاتین به تنهایی یا در شرایط هیپرترمی میزان ادم مغزی را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ($p < 0/01$) یا هیپرترمی ($p < 0/05$) کاهش داده است. سیمواستاتین اختلالات نورولوژیک را بهبود داده و ادم مغزی را نیز به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. نتایج نشان داده‌اند که سیمواستاتین به طور معنی‌داری اختلال خون رسانی و نشت سد مغزی خونی را کاهش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه پیشنهاد می‌دهد که سیمواستاتین در مدل آمبولیک سکتة مغزی در رت یک اثر محافظتی داشته و می‌تواند باعث کاهش نفوذپذیری سد خونی مغزی و اختلال خون رسانی در مغز دچار آسیب ایسکمی گردد.

کلید واژه‌ها: استروک، سیمواستاتین، هیپرترمی، فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی

وصول مقاله: ۸۵/۳/۳۱ اصلاح نهایی: ۸۵/۸/۸ پذیرش مقاله: ۸۵/۹/۵

مقدمه

حل شدن مواد انسدادی همچون لخته خون باشد و در این فرایند قطعات جدا شده از قطعه اصلی می‌تواند با حرکت در جریان خون به مناطق دورتری دسترسی پیدا کند. تزریق داخل وریدی tPA تنها راه ثابت شده در درمان استروک حاد می‌باشد (۱). مطالعات نشان داده‌اند که سیمواستاتین ممکن است دارای اثر مشابه tPA در درمان آسیب ایسکمی مغزی باشد. استاتینها دارای اثرات

سکتة مغزی یکی از علل اصلی ناتوانی طولانی مدت و همچنین سومین علت مرگ در آمریکای شمالی می‌باشد. ترومبوآمبولیسم ۸۰ الی ۹۰ درصد از موارد سکتة مغزی را شامل می‌شود (۱) و اکثر این نوع ایسکمی‌ها نتیجه انسداد شریان مغز میانی (MCA) و شاخه‌های آن می‌باشد (۲). شریان مسدود شده گاهی با گذشت زمان باز می‌گردد. این باز شدن می‌تواند به دنبال

ترومبومبولیک تایید کرده‌اند (۱۲). به هر حال اطلاعات کافی در خصوص اثر بخشی سیمواستاتین قبل از ایسکمی مغزی و توأم با هیپوترمی در مدل ایسکمی مغزی در رت وجود ندارد. هدف این مقاله ارزیابی اثر توأم سیمواستاتین و هیپوترمی در مدل آمبولیک سکنه مغزی می‌باشد.

روش بررسی

نوع مطالعه تجربی است که در آن ۱۳ گروه حیوان رت طی ۴ سری آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. تمامی حیواناتی که در این آزمایش بکار رفته است شامل موشهای رت نر با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم بوده است. از پروتوکل‌های مربوط به نگهداری حیوان و بکارگیری آن در کارهای پژوهشی دانشگاه آلبرتا در این پژوهش استفاده شده است. این پژوهش شامل چهار مرحله به شرح زیر می‌باشد:

مرحله ۱

دو سری آزمایش در این مرحله انجام شده است. در سری اول ما دمای رکتوم و مغز رت را با یکدیگر مقایسه کردیم. در سری دوم، ما زمان لازم برای رسیدن حیوان از هیپوترمی (39°C) به نورموترمی (37°C) و افزایش دما از نورموترمی به هیپوترمی را گزارش کردیم. هیپوترمی توسط یک سیستم گرمای مجزبه فیدبک کنترل به صورت Flat bed القاء گردید و دمای رکتوم و مغز توسط ترمومتر YSI مورد اندازه‌گیری قرار می‌گرفت. زمان متوسط نیز برحسب دقیقه ثبت گردید. ۹ عدد رت نر بطور تصادفی انتخاب شدند و در یک مدت سه ساعته تحت هیپوترمی کنترل شده قرار گرفتند. دمای مغز توسط بکارگیری یک پروب، اندازه‌گیری شد.

مفیدی از طریق تنظیم افزایشی tPA بوده و با تجزیه لخته خون در ایسکمی آمبولیک عمل خود را انجام می‌دهند (۳). استاتین‌ها بطور وسیعی به عنوان داروهای کاهش دهنده کلسترول خون استفاده می‌شوند (۴). و دارای یک اثر اختصاصی در تنظیم کاهشی فعالیت سلولهای اندوتلیالی در شرایط پاتولوژیک می‌باشند (۵,۶). به هر حال پیچیدگی‌های گسترده‌ای در مراحل اولیه استروک ایسکمی اتفاق می‌افتد که باعث نمایش اثرات معکوس داروها می‌گردد. هیپوترمی یکی از موارد اختلالی است که در بیماران مبتلا به استروک و همچنین در مدل‌های حیوانی آسیب ایسکمی مغزی مشاهده می‌گردد (۷). مشاهدات فزاینده‌ای وجود دارد که بیان می‌کند با وجود هیپوترمی در طی یا پس از زمان ایسکمی مغزی، میزان آسیب افزایش می‌یابد (۱).

در اطلاعات قبلی مشخص شده است که سیمواستاتین بطور معنی‌داری میزان آسیب نورونی را در حیوان رت بدنال سکنه آمبولیک کاهش می‌دهد. سیمواستاتین طی دو هفته مصرف قبل از انسداد آمبولیک MCA بطور معنی‌داری میزان اختلال خون رسانی و حجم سکنه مغزی را کاهش می‌دهد (۸). مطالعات متعددی اثرات محافظتی سیمواستاتین را در ایسکمی مغزی فوکال (۹) و استروک ایسکمیک (۴) نشان داده‌اند. اثر هیپوترمی در افزایش میزان آسیب نورونی پس از آسیب ایسکمیک مشخص شده و همچنین بیان گردیده است که می‌تواند اثرات درمانی tPA را در آسیب ایسکمی بپوشاند (۷). هیپوترمی طی سه ساعت پس از انسداد MCA حجم سکنه مغزی و اختلالات نورولوژیک را افزایش داده است (۱۰). تعدادی زیادی از مطالعات اثرات مخرب هیپوترمی کنترل شده را بطور گسترده (۱۱) و در مدل ایسکمی غیر

مرحله ۲

در این مرحله اثرات سیمواستاتین در ضایعه ایسکمی مغزی با یا بدون هیپرترمی در حیوان رت ارزیابی شد. حیوانها بطور تصادفی به چهار گروه تقسیم گردیدند. ۱- کنترل (n=9) ۲- سیمواستاتین (n=9) ۳- سیموا + هیپر (n=9) و ۴- هیپر (n=8). در گروه کنترل، نرمال سالین (% ۰/۹)، و در گروه سیموا استاتین، سیمواستاتین به میزان 100 mg.kg^{-1} ، در دمای نرمال مغز (37°C) تجویز گردید. در گروه سیموا + هیپر، سیمواستاتین 100 mg.kg^{-1} و در گروه هیپر، نرمال سالین در شرایط هیپرترمی مغز به حیوانات تجویز گردید. تمامی حیوانات به مدت ۱۴ روز و قبل از انسداد MCA به صورت دهانی (intragastric intubation) سیمواستاتین یا نرمال سالین را دریافت می کردند. تمامی داروها بصورت یکبار در روز تجویز گردید و حیوانات ۴۸ ساعت پس از انسداد MCA گردن زده شدند.

مرحله ۳

در این مرحله، ما اثرات سیمواستاتین را بر تغییرات اختلال خون رسانی (perfusion deficits) با یا بدون هیپرترمی در مغز دچار ایسکمی بررسی نمودیم. حیوانات بطور تصادفی به چهار گروه (n=8 در هر گروه) همانند مرحله ۲ تقسیم گردیدند، اختلال خون رسانی ۸ ساعت پس از انسداد MCA اندازه گیری گردید.

مرحله ۴

در این مرحله اثرات سیمواستاتین و هیپرترمی بر میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی پس از ایسکمی مغز مورد بررسی قرار گرفت، حیوانات در این بخش نیز به ۴ گروه (n=8 در هر گروه) همانند مرحله ۲ تقسیم گردیدند. نفوذپذیری سد خونی مغزی توسط میزان نشت

اوانس بلو (EB) از عروق مذکور ۸ ساعت پس از انسداد MCA اندازه گیری گردید.

مراحل انجام کار

مدل ایسکمی موضعی مغزی (MCA occlusion) ایسکمی موضعی مغزی یک طرفه در مغز توسط تزریق لخته خون از پیش آماده شده به داخل MCA که در مقالات قبلی چاپ گردیده است ایجاد گردید (۱۳). بطور خلاصه، در ابتدا، حیوانات توسط فوران ۳ درصد بیهوش گردیده و این بیهوشی توسط فوران ۱/۵ درصد با ترکیبی از گازهای O_2 و NO_2 در حین جراحی ادامه یافت. دمای مغز حیوان در حین جراحی توسط یک پد گرمایی مجهز به سیستم فیدبک در مقدار $3 \pm 39^{\circ}\text{C}$ ثابت نگه داشته می شد. یک شکاف طولی به اندازه ۲ سانتیمتر در راستای خط میانی مهره گردنی بر روی پوست ایجاد گردید. بخش انتهایی شریان کاروتید خارجی راست (ECA) مسدود شده و نهایتاً قطع می گردید. یک کاتتر پلی اتیلن از نوع PE-10، که توسط ترومبین گاوی پر شده بود به داخل لومن ECA راست از طریق یک منفذ کوچک فرستاده شد. ۱۰ میکرولیتر خون کشیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در کاتتر باقی ماند تا فرایند تشکیل لخته خون کامل گردد. هنگامی که لخته تشکیل گردید کاتتر دیگری به اندازه ۱۷ میلیمتر به داخل شریان کاروتید داخلی (ICA) فرستاده شد بطوری که تقریباً نوک کاتتر در فاصله یک میلیمتری منشأ MCA قرار گیرد. لخته موجود در کاتتر سپس تزریق گردید و خود کاتتر از شریان خارج شد و منافذ نیز بوسیله نخ جراحی مسدود شد و حیوان پس از طی ۳ ساعت شرایط هیپرترمی به داخل قفس فرستاده شد.

سیستم درجه‌بندی جهت ارزیابی اختلالات نورولوژیک از ۰ تا ۴ به شرح ذیل می‌باشد:

(۰) اختلالی مشاهده نشد

(۱) خم شدن اندام جلویی

(۲) خم شدن اندام جلویی + کاهش مقاومت در برابر فشار جانبی

(۳) چرخش یک جهت

(۴) چرخش یک جهت + کاهش سطح هوشیاری

اندازه‌گیری اختلال خون‌رسانی مغز

روش اندازه‌گیری اختلال خون‌رسانی قبلاً توضیح داده شده است. ۸ ساعت پس از آمبولاسیون، حیوانات بیهوش شده و محلول ۲ درصد اوانس بلو، 100g^{-1} ml. ۰/۲ وزن بدن، بداخل ورید جوگولار راست تزریق شده و مدت ۱۰ ثانیه در خون گردش یافت. متعاقباً مغز حیوانها جدا گردید و توسط کرایواستات برش‌هایی به فاصله ۱ میلی‌متر و بطور ۹ برش متوالی با نقطه آغاز ۳/۷ میلی‌متر قدام برگما تهیه گردید. نواحی قشری و زیر قشری جهت ارزیابی اختلالات خون‌رسانی توسط میکروسکوپ فلورسنت ارزیابی شد. نواحی دچار اختلال خون‌رسانی بصورت تیره رنگ و نواحی دارای خون‌رسانی، چون اوانس بلو را در خود به گردش در می‌آورند به صورت نواحی قرمز رنگ مشاهده می‌شوند. این نواحی تیره توسط میکروسکوپ شناسایی و پس از گرفتن تصویر با استفاده از نرم افزار فتوشاپ مساحت محاسبه و بر حسب میلی‌متر مربع گزارش می‌شوند (۷).

اندازه‌گیری میزان نشت سد خونی مغزی

میزان نشت سد خونی مغزی توسط روشی که میزان نشت اوانس بلو را اندازه‌گیری می‌کند ارزیابی می‌گردد

اندازه‌گیری حجم سکنه و ادم مغزی

مراحل اندازه‌گیری حجم سکنه مغزی قبلاً بطور جزئی توضیح داده شده است. بطور خلاصه ۴۸ ساعت پس از انسداد MCA، مغز از جمجمه خارج گردید. ۸ برش مغزی با ضخامت ۲ میلی‌متر تهیه و توسط محلول ۲ درصد 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride رنگ‌آمیزی گردید. ناحیه دچار ایسکمی بصورت سفید رنگ در مقابل نواحی طبیعی قرمز رنگ مشخص می‌گردد. حجم سکنه و ادم مغزی مطابق فرمول زیر محاسبه می‌گردد (۱۳، ۱۵).

حجم سکنه = (حجم نیمکره چپ - حجم نیمکره راست + حجم سکنه اندازه‌گیری شده) \ حجم نیمکره چپ
ادم = (حجم نیمکره راست - حجم نیمکره چپ) \ حجم نیمکره چپ

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک و فعالیت

تشنجی

این اختلالات و فعالیت‌های تشنجی در زمانهای ۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت در مرحله دوم و ۴ و ۸ ساعت در مرحله سوم پس از تزریق لخته بداخل MCA ارزیابی گردید. جهت ارزیابی از سیستم امتیازدهی بدرسون و همکاران (۱۶) راسین و همکاران (۱۷) استفاده گردید.

سیستم درجه‌بندی جهت ارزیابی تشنج از ۱ تا ۵ به شرح ذیل می‌باشد:

(۱) حرکت ریتمیک دهان و صورت

(۲) تکان دادن ریتمیک سر

(۳) کلونوس اندام جلویی

(۴) بلند شدن روی پا و کلونوس دو طرفه اندام جلویی

(۵) بلند شدن روی پا و افتادن

دمای مغز و رکتوم توسط رگرسیون خطی ساده دو متغیره با مقدار مطلوب $R=0.8$ بررسی گردید. $p<0.05$ در این مطالعه از نظر آماری معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

مرحله ۱

در این بخش از مطالعه دو سری آزمایش انجام گردید و نتایج آن در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. متوسط دمای رکتوم در یک دوره زمانی ۳ ساعته در ۹ حیوان غیره جراحی شده و در شرایط هیپوترمی برابر (mean±SD) 39.5 ± 0.83 و برای مغز برابر 39 ± 0.88 می‌باشد. یافته‌ها نشان می‌دهد که دمای مغزی حدوداً 0.5 درجه سانتیگراد کمتر از دمای رکتوم است. دمای متوسط رکتوم در ۹ حیوان غیره جراحی شده با دمای متوسط مغزی دارای همبستگی می‌باشد ($r=0.81$, $p<0.05$).

مرحله ۲

حجم انفارکتوس

در گروه‌های کنترل و هیپوترمی، حجم انفارکتوس به ترتیب در نیمکره‌های راست مغزی ۴۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون برابر با $29.93 \pm 6.96\%$ و $40.65 \pm 9.68\%$ می‌باشد (نمودار ۱). در گروه دوم، که سیمواستاتین به تنهایی بکار گرفته شده بود میزان حجم انفارکتوس معادل 19.13 ± 9.89 و بطور معنی‌داری کوچکتر از گروه کنترل بود ($p<0.01$). حجم انفارکتوس بین دو گروهی که سیمواستاتین را به تنهایی یا سیمواستاتین را در شرایط هیپوترمی دریافت می‌کردند تفاوت معنی‌داری نداشت. در مقایسه با گروه کنترل، حجم انفارکتوس به میزان ۲۷ درصد در حیواناتی که در شرایط هیپوترمی بودند افزایش یافت ($p<0.03$).

(۱۸). بطور خلاصه، اوانس بلو ۲ درصد در محلول سالین به میزان 0.2 میلی‌لیتر به ازاء هر 100 گرم از وزن حیوان بطور داخل وریدی و ۸ ساعت پس از تزریق لخته به MCA انجام گردید. در این فرایند ۱۵ دقیقه زمان برای به گردش در آمدن اوانس بلو در جریان خون مورد نیاز می‌باشد. حیوانات پس از این مرحله بطور داخل قلبی در معرض تزریق دائم سالین از بطن چپ قرار گرفته و با ایجاد یک منفذ در دهلیز راست میزان شفافیت خون خارج شده را بررسی کردیم این تزریق تا زمانی ادامه داشت که مایع خارج شده از دهلیز راست فاقد رنگ و شفاف بود. سپس با کشتن حیوان مغز را در نواحی استریاتوم و قشر اطراف آن جدا کرده و توسط امواج فرا صوت هوموژنیز می‌نمودیم. میزان غلظت اوانس بلو توسط یک اسپکتروفتومتر در طول موج 620 نانومتر در مقایسه با منحنی استاندارد تعیین گردید. میزان اوانس بلو که از عروق مغزی نشت کرده بود تحت عنوان اندکس نشتی اوانس بلو مورد بررسی قرار گرفت. این اندکس میزان نشت اوانس بلو را در هر گروه بطور مقایسه نسبی با گروه‌های کنترل و هیپوترمی نشان می‌دهد و به صورت کسری از شدت جذب در هر گروه نسبت به گروه کنترل بیان می‌شود.

آنالیز آماری

داده‌ها در این مطالعه توسط نرم افزار Sigma Stat3.1 آنالیز گردید. حجم انفارکتوس، ادم، اختلال خون رسانی و نشت سد خونی مغزی به وسیله آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون متعاقب توکی (Tukey) بررسی گردید. اختلال رفتار توسط آزمونهای Kruskal-Wallis و Wilcoxon Signed Ranks Test آنالیز و بر حسب interquartale range بیان گردید. ارتباط بین

در گروهی که سیمواستاتین به تنهایی دریافت کرده بودند مشاهده نگردید. میزان وقوع تشنج در زمانهای ۴، ۲۴ یا ۴۸ ساعت پس از انسداد MCA بین گروههای کنترل و ۳ گروه دیگر تفاوت معنی داری نشان نداد.

مرحله ۳

اختلالات خون رسانی در ۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون در شکل ۳ نشان داده شده است. در گروههای کنترل و هیپرترمی، اختلال خون رسانی به ترتیب برابر با $9.98 \pm 3.18 \text{ mm}^2$ و $14.27 \pm 4.13 \text{ mm}^2$ می باشند. در گروه ۲ که با سیمواستاتین به تنهایی درمان شده بود این میزان برابر با $5.18 \pm 2.54 \text{ mm}^2$ که بطور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($p < 0.01$) در مقایسه با گروه کنترل، اختلال خونرسانی به طور نسبی به میزان ۳۰ درصد در حیوانات دچار ایسکمی گروه هیپرترمی افزایش داشت ($p < 0.05$).

آزمونهای رفتاری

تغییرات اختلالات نورولوژیک طی ۴ و ۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون در گروههای مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. تمامی حیوانات این مطالعه اختلالات حرکت معنی داری را با میانه ۳ برای گروههای کنترل و هیپرترمی و میانه ۲ برای گروههای سیمواستاتین - هیپرترمی و سیمواستاتین نشان داده اند. در ساعت ۸ پس از انسداد MCA میزان اختلالات نورولوژیک در گروههای سیمواستاتین و سیمواستاتین - هیپرترمی نسبت به گروه هیپرترمی بهبود یافته است ($p < 0.01$). در مقایسه گروههای کنترل و هیپرترمی اختلاف معنی داری در خصوص اختلالات نورولوژیک مشاهده نگردید. ۴ و ۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون میزان فعالیت تشنجی در ۲ رت از گروه کنترل و ۲ رت در

ادم مغز مبتلا به ایسکمی

ادم مغزی در گروههای کنترل و هیپرترمی به ترتیب برابر با 6.32 ± 1.2 و 8.22 ± 1.86 درصد بود (نمودار ۲). بکارگیری سیمواستاتین به تنهایی یا در شرایط هیپرترمی میزان ادم مغزی را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل ($p < 0.01$) یا هیپرترمی ($p < 0.05$) کاهش داده است. ادم مغزی در گروه هیپرترمی نسبت به حیوانات گروه کنترل به طور معنی داری تغییر نکرده است.

آزمونهای رفتاری

تغییرات اختلالات حرکتی نورولوژیک طی ۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت در گروههای متفاوت مطابق جدول (۱) نمایش داده شده است. ۴ ساعت پس از آمبولیزاسیون، تمامی حیوانات اختلال حرکتی معنی داری را نشان داده اند این اختلال با میانه $3/5$ برای گروه کنترل، $2/5$ برای گروه سیمواستاتین و ۳ برای هر دو گروه سیمواستاتین - هیپرترمی یا هیپرترمی به تنهایی می باشد ($p < 0.05$). میانه اختلالات مشاهده شده در گروه سیمواستاتین - هیپرترمی نسبت به گروه هیپرترمی یافته است ($p < 0.05$). ۴۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون، تفاوتهای معنی داری در اختلالات نورولوژیک بین دو گروه کنترل و هیپرترمی مشاهده نگردید ولی در گروه سیمواستاتین - هیپرترمی نسبت به گروه هیپرترمی به تنهایی کاهش معنی دار مشاهده شد ($p < 0.01$). ۴ و ۲۴ ساعت پس از انسداد MCA، فعالیت تشنجی در ۳ رت از گروه کنترل و ۳ رت از گروه هیپرترمی و ۲ رت از گروه سیمواستاتین و ۲ رت از گروه سیمواستاتین - هیپرترمی مشاهده گردید. ۴۸ ساعت پس از آمبولیزاسیون، فعالیت تشنجی در ۲ رت از هر گروه، کنترل، هیپرترمی یا سیمواستاتین - هیپرترمی مشاهده شد. ولی فعالیت تشنجی

ترومبومبولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان نشت اوانس بلو در هر گروه با گروه کنترل یا هیپرترمی مقایسه و بر حسب اندکس نشت عروقی اوانس بلو بیان گردید (نمودار ۴). سیمواستاتین در هر دو بخش قشر مغز و استریاتوم مغز مبتلا به آسیب ایسکمی با شرایط نورموترمی یا هیپرترمی میزان نشت اوانس بلو را کاهش داده است ($p < 0.01$) در این مطالعه تفاوت معنی داری از نظر نشت اوانس بلو در گروههای دریافت کننده سیمواستاتین مشاهده نگردید.

گروه سیمواستاتین و ۲ رت در گروه سیمواستاتین- هیپرترمی و ۳ رت در گروه هیپرترمی مشاهده شد ولی اختلاف معنی داری بین گروههای مطالعه مشاهده نگردید.

مرحله ۴

در این مرحله میزان نشت اوانس بلو پس از آسیب مغزی در شرایط نورموترمی و هیپرترمی جهت بررسی میزان بهم پیوستگی سد خونی مغزی در مدل

جدول ۱: اختلالات نورولوژیک بعد از ایسکمی مغزی در مرحله ۲

گروه	۴ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
کنترل (n=9)	۳/۵ (۳-۴)	۳ (۳-۴)	۳ (۳-۳/۷۵-۲)
سیمواستاتین (n=8)	۲/۵ (۲-۳)	۲ (۱/۷۵-۳)	۲ (۲-۲) ^a
سیمواستاتین - هیپرترمی (n=8)	۳ (۲-۳)	۲ (۲-۲/۲۵) ^a	۲ (۲-۲/۲۵) ^a
هیپرترمی (n=8)	۳ (۲/۵-۳/۵)	۳ (۳-۴)	۳ (۳-۴)

مشخص شده است. ^a نشانگر تفاوت معنی دار با گروه کنترل می باشد ($p < 0.05$).

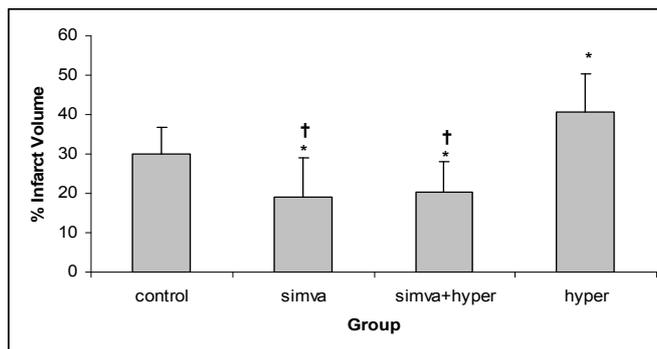
اختلالات نورولوژیک بر حسب میانه و محدوده interquartile، ۲۵-۷۵ درصد بیان شده در پرانتز

جدول ۲: اختلالات نورولوژیک بعد از ایسکمی مغزی در مرحله ۳

گروه	۴ ساعت	۸ ساعت
کنترل (n=9)	۳/۵ (۲/۵-۴)	۳ (۲/۵-۳/۵)
سیمواستاتین (n=8)	۲/۵ (۲-۳)	۲ (۲-۲) ^a
سیمواستاتین - هیپرترمی (n=8)	۳ (۲-۳)	۲ (۱/۵-۲) ^a
هیپرترمی (n=8)	۳ (۲-۴)	۳ (۲/۵-۴)

مشخص شده است. ^a نشانگر تفاوت معنی دار با گروه کنترل می باشد ($p < 0.05$).

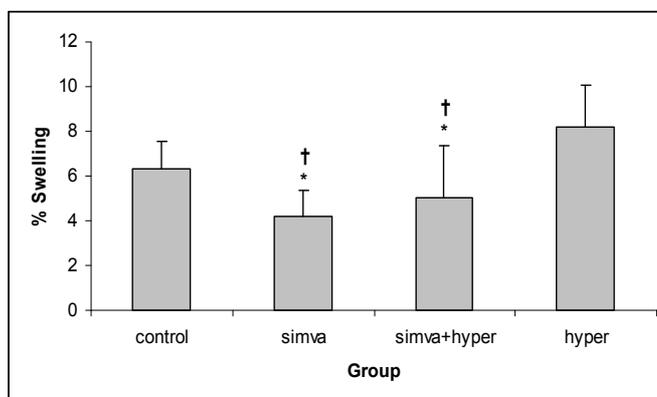
اختلالات نورولوژیک بر حسب میانه و محدوده interquartile، ۲۵-۷۵ درصد بیان شده در پرانتز



نمودار ۱: اثرات سیمواستاتین در حجم انفارکتوس

می‌باشد، ($p < 0.05$). در گروه کنترل یا سیمواستاتین $n=9$ و در گروه‌های سیمواستاتین-هیپرترمی یا سیموا: $n=8$ در هر گروه. $simvastatin, hyper: hyperthermia$

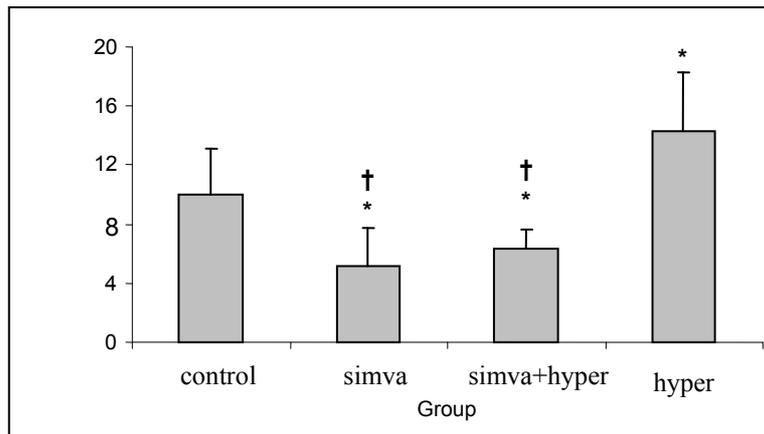
حجم انفارکتوس ۴۸ ساعت پس از انسداد MCA اندازه‌گیری شد. نمودار نشانگر $mean \pm SD$ می‌باشد. \times نشانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد. \dagger نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه هیپرترمی



نمودار ۲: اثرات سیمواستاتین در ادم مغزی در رت

می‌باشد، ($p < 0.05$). در گروه کنترل یا سیمواستاتین $n=9$ و در گروه‌های سیمواستاتین-هیپرترمی یا سیموا: $n=8$ در هر گروه. $simvastatin, hyper: hyperthermia$

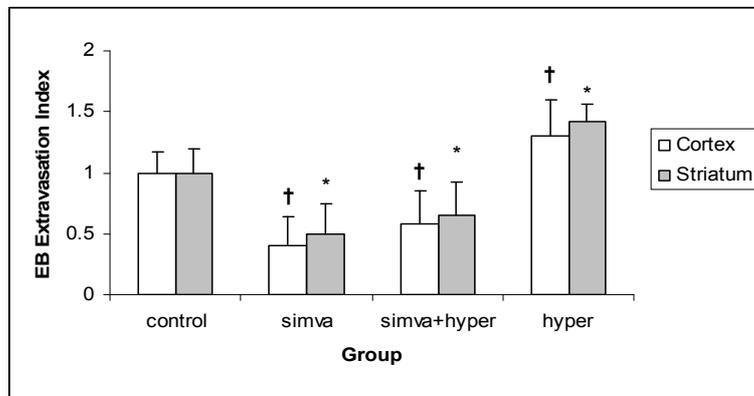
ادم مغزی ۴۸ ساعت پس از انسداد MCA اندازه‌گیری شد. نمودار نشانگر $mean \pm SD$ می‌باشد. \times نشانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد. \dagger نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه هیپرترمی



نمودار ۳: اثرات سیمواستاتین در اختلال خون رسانی در مغز

simva: n=8 در هر گروه می‌باشد، (p<0/05).
simvastatin, hyper: hyperthermia

اختلال خون‌رسانی ۸ ساعت پس از انسداد MCA اندازه‌گیری شد. نمودار نشانگر mean+SD می‌باشد. × نشانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد. † نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه هیپرترمی



نمودار ۴: نشت سد خونی مغزی برآورد شده توسط میزان نشت اوانس بلو

بحث
قبلاً گزارش گردیده بود که هیپرترمی می‌تواند اختلالات متعاقب مدل آمبولیک سخته مغزی را افزایش دهد (۱۰). همچنین گزارش شده بود که اثر درمانی tPA بر بهبود عوارض مدل ایسکمی مغزی در شرایط هیپرترمی مؤثر است، نتایج نشان داده‌اند که هیپرترمی

نسبت نشت اوانس بلو به گروه کنترل بصورت اندکس نشان داده شده است. × نشانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد. † نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه هیپرترمی می‌باشد، (p<0/05).
در هر گروه n=8 hyper: hyperthermia, simva: simvastatin

سیمواستاتین و سیمواستاتین-هیپرترمی مشاهده گردید. این نتیجه نشان می‌دهد که سیمواستاتین اثرات مفید خود را مستقل از دما (هم در هیپرترمی و هم در نورمو ترمی) انجام می‌دهد. درمان با سیمواستاتین همچنین زمان بهبود اختلال حرکتی را به طور معنی‌داری کاهش داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سیمواستاتین از بدتر شدن اختلالات متعاقب سکته مغزی جلوگیری می‌نماید. این نتایج با نتایج مطالعه قبلی (۸) که در حالت نورمو ترمی انجام شده بود همخوانی دارد.

به این علت که استاتین‌ها میزان ادم مغزی را در مغز مبتلا به ایسکمی کاهش می‌دهند (۳,۸)، به نظر می‌رسد که عروق بسیار ریز از فشار خارجی کلاپس‌کننده رها شده و بدین وسیله احیای جریان خون مغزی را در منطقه مبتلا به ایسکمی تسهیل نماید. و این بر خلاف اثر تخریبی و آنتی فیبرینولیتیک هیپرترمی می‌باشد (۷, ۱۰). برای آزمون این فرضیه تغییرات دینامیک در اختلال خون‌رسانی بین گروه‌های درمان شده با سیمواستاتین در شرایط هیپرترمی یا نورمو ترمی مقایسه انجام شد. نتایج نشان داد که سیمواستاتین بطور معنی‌داری اختلال خون‌رسانی را کاهش می‌دهد. این نتایج که اثرات محافظتی سیمواستاتین را در خصوص تجدید جریان خون مغزی و احیای پیوستگی سد خونی مغزی نشان می‌دهد نمای جدیدی از اثرات سیمواستاتین در شرایط هیپرترمی می‌باشد.

مکانیسم‌های متعددی جهت بیان نحوه عملکرد سیمواستاتین در مورد مدل ترمبومبولیک سکته مغزی در شرایط هیپرترمی وجود دارد. الف- اثرات ضد التهابی بدنبال کاهش پروتئینهای فاز حاد، شامل پروتئین C-reactive، سیتوکین‌های التهابی و مولکولهای چسباننده سلولی (۲۱, ۲۲). شواهدی از این دست وجود دارد که

می‌تواند اثرات درمانی tPA را کاهش دهد. زیرا در هیپرترمی خفیف ۳۸ درجه، tPA بطور مؤثری عمل می‌کند ولی در هیپرترمی ۳۹ درجه اثر آن پوشیده شده و مشاهده نمی‌گردد (۷).

مکانیسم‌های متعددی در مورد اثرات آسیب‌زایی هیپرترمی در آسیب ایسکمی مغزی بیان شده است. نشت پروتئینهای شاهد از سد خونی مغزی بطور معنی‌داری در شرایط ایسکمی هیپرترمی افزایش می‌یابد (۱۹). مشاهدات قبلی نشت اوانس بلو پس از انسداد MCA در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد و همچنین کاهش پیوستگی سد خونی مغزی را نشان داده‌اند. tPA مقدار N-methyl-d-aspartate-evoked Ca^{2+} که عامل مهمی در ایجاد توکسیسته سلول عصبی است و به دنبال آن مرگ سلولی را افزایش می‌دهد (۷, ۱۴, ۲۰). بنابراین یک افزایش در میزان نشت tPA از سد خونی مغزی در شرایط هیپرترمی می‌تواند توصیف نماید که چرا هیپرترمی‌ها اثرات محافظتی نورونی و اثرات مفید ترومبولیز القائی توسط tPA را جلوگیری می‌نمایند.

در مطالعات قبلی همچنان اثرات محافظتی سیمواستاتین در مدل ترومبومبولیک سکته مغزی بدنبال مصرف ۱۴ روز سیواستاتین در شرایط نورمو ترمی گزارش شده است (۸). در مطالعه حاضر ما اثرات درمانی سیمواستاتین را در مدل حیوانی و تحت شرایط هیپرترمی انجام دادیم. نتایج نشان داد که درمان با سیمواستاتین در رت‌ها چه در شرایط هیپرترمی یا نورمو ترمی دارای اثرات محافظتی است. سیمواستاتین در این مطالعه اثرات تخریبی هیپرترمی را در استروک، که توسط NOOR و همکاران (۱۰) گزارش گردیده است را می‌پوشاند. این اثرات با مشاهده کاهش حجم انفارکتوس و اختلال خون‌رسانی مغزی در هر دو گروه

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که سیمواستاتین به عنوان یک عامل محافظتی در مغز آسیب دیده ایسکمیک در مدل ترومبوامبولیک در رت می باشد و ممکن است مکانیسم آن از طریق کاهش اختلال خون‌رسانی و نشت سد مغزی خونی باشد. این مطالعه برای اولین بار اثرات محافظتی نورنی سیمواستاتین را که یک مهارکننده HMG-CoA ردوکتاز می باشد را در مدل امبولیک آسیب ایسکمی مغزی در حیوان رت را بصورت کاهش حجم انفارکتوس و بهبود عملکرد نورولوژیک در طی ۲ هفته قبل از آمبولیزاسیون نشان می دهد. این یافته‌ها ممکن است تاییدکننده اثر سودمند استاتینها در کنترل استروک ایسکمیک باشد.

سیمواستاتین کاهش hs-CRP و کاهش پلاکهای خونی را القاء می نماید (۲۱). ب- با تنظیم افزایشی ستر نیتریک اکسید اندوتلیومی (۹) و اثرات آنتی‌اکسیدانی بصورت محافظتی عمل می نماید (۲۴، ۲۳) ج- تنظیم افزایشی tPA داخل بدن و بدنبال آن افزایش لیز لخته‌های خونی و کاهش تجمع پلاکتی (۲۶، ۲۵، ۹). سیمواستاتین بصورت بالینی برای درمان بیماریهای عروقی و افرادی که دارای ریسک ابتدا به بیماریهای کرونر قلبی هستند بکار می رود (۲۱، ۵). که این دارو دارای اثرات جانبی حداقل بوده و قابلیت تحمل آن در بیماران بالا می باشد (۲۷). بنابراین سیمواستاتین بطور بالقوه می تواند یک داروی درمانی مفید برای بیماران مبتلا به استروک باشد.

References

1. Albers GW, Easton JD, Sacco RL, Teal P. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke. *Chest* 1998; 114(5 Suppl): 683S-698S.
2. Aoki T, Sumii T, Mori T, Wang X, Lo EH. Blood-brain barrier disruption and matrix metalloproteinase-9 expression during reperfusion injury: mechanical versus embolic focal ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 2002; 33(11): 2711-2717.
3. Asahi M, Huang Z, Thomas S, Yoshimura S, Sumii T, Mori T, and et al. Protective effects of statins involving both eNOS and tPA in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25(6): 722-729.
4. Zieden B, Olsson AG. The role of statins in the prevention of ischemic stroke. *Curr Atheroscler Rep* 2005; 7(5): 364-368.
5. Meroni P, Luzzana C, Ventura D. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of statins: an additional tool for therapeutic approach of systemic autoimmune disease? *Clin Re Allergy Immunol* 2002; 23 (3): 263-278.
6. Mora S, Ridker PM. Justification for the use of statins in primary prevention: An intervention trial evaluating rosuvastatin (JUPITER), Can C-Reactive protein be used to target statin therapy in primary prevention? *Am J Cardiol* 2006; 7(2S1): 33-41.
7. Noor R, Wang CX, Shuaib A. hyperthermia masks the neuroprotective effects of tissue plasminogen activator. *Stroke* 2005; 36(3): 665-669.
8. Shabanzadeh AP, Shuaib A, Wang CX. Simvastatin reduced ischemic brain injury and perfusion deficits in an embolic model of stroke. *Brain Res* 2005; 1042(1): 1-5.
9. Sahi M, Huang Z, Thomas S, Yoshimura S, Sumii T, Mori T, and et al. Protective effects of statins involving both eNOS and tPA in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25(6): 722-729.

10. Noor R, Wang CX, Shuaib A. Effects of hyperthermia on infarct volume in focal embolic model of cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2003; 349(2): 130-132.
11. Coimbra C, Boris-Moller F, Drake M, Wieloch T. Diminished neuronal damage in the rat brain by late treatment with the antipyretic drug dipyrene or cooling following cerebral ischemia. *Acta Neuropath* 1996; 92(5): 447-453.
12. Chen H, Chopp M, Welch KM. Effect of mild hyperthermia on the ischemic infarct volume after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neurology* 1991; 41(7): 1133-1135.
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): 115-120.
14. Yang Y, Li Q, Wang CX, Jeerakathil T, Shuaib A. Dose-dependent neuroprotection with tiagabine in a focal cerebral ischemia model in rat. *Neuroreport* 2000; 11(10): 2307-2311.
15. Shuaib A, Wang CX, Yang T, Noor R. Effects of Nonopeptide V1 vasopressin receptor antagonist SR-49059 on infarction volume and recovery of function in a focal embolic stroke model. *Stroke* 2002; 33: 3033-3037.
16. 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): 472-476.
17. Racine R, Okujava V, Chipashvili S. Modification of seizure activity by electrical stimulation. *Mechanisms Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32(3): 295-299.
18. Chen CH, Toung TJ, Sapirstein A, Bhardwaj A. Effect of duration of osmotherapy on blood-brain barrier disruption and regional cerebral edema after experimental stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26(7): 951-8.
19. Ginsberg MD, Busto R. Combating hyperthermia in acute stroke: a significant clinical concern. *Stroke* 1998; 29: 529-534.
20. Nicole O, Docagne F, Ali C, Margaille I, Carmeliet P, MacKenzie ET and et al. The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling. *Nat Med* 2001; 7: 59-64.
21. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J and et al. Reversal of atherosclerosis with aggressive lipid lowering. *N Engl J Med* 2005; 352(1): 29-38.
22. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH and et al. Pravastatin or atorvastatin evaluation and infection therapy-thrombolysis in myocardial infarction. *N Engl J Med* 2005; 352(1): 20-28.
23. Day AP, Belavia S, Jones OTG, Stansbie D. Effect of simvastatin therapy on cell membrane cholesterol content and membrane function as assessed by polymorphonuclear cell NADPH oxidase activity. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 269-275.
24. Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ. Vascular effects of HMGA-reductase inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concept of cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 281-287.
25. Bourcier T, Libby P. HMG-CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activator inhibitor-1 expression by human vascular smooth muscle and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 556-562.
26. Liu XS, Zhang ZG, Zhang L, Morris DC, Kapke A, Lu M and et al. Atorvastatin downregulates tissue plasminogen activator-aggravated genes mediating coagulation and vascular permeability in single cerebral endothelial cells captured by laser microdissection. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26(6): 787-96.
27. Gotto AM Jr, LaRosa JC. The benefits of statin therapy-what questions remain? *Clin Cardiol* 2005; 28(11): 499-503.