مجلـه دانشگـاه علـوم پـــزشکـی اردبیـل

دوره یازدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۰، صفحات ۱٤ الی ۲۳

بررسی اثرات مهار سیستم رنین- آنژیوتانسین بر ادم مغزی و آسیب سد خونی مغزی به دنبال وقوع ایسکمی موضعی مغزی در موش صحرایی

دکتر حمدالله پناهپور[1] ، دکتر غلامعباس دهقان[2]

[1] نویسنده مسئول : استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران **E-mail**: Panahpour.h@gmail.com

[2] استاد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی و محقق مرکز تحقیقات شیمی داروئی و گیاهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: ادم ایسکمیک مغزی یکی از مهمترین عوارض سکته مغـزی مـی‌باشـد کـه بـروز آن سـبب تشـدید ضـایعه ایسکمیک ابتدائی مغز می‌شود. پیشگیری از بروز ادم می‌تواند در کاهش ضایعه مغزی ایسکمیک مـوثر باشـد. نقـش سیسـتم رنین- آنژیوتانسین و پپتید فعال آن (آنژیوتانسین دو) در تشدید ضایعه مغزی به دنبال ایسکمی نشان داده شـده اسـت امـا نقش آن در ایجاد ادم ایسکمیک مغزی روشن نیست. هدف از این مطالعه بررسـی اثـرات مهـار ایـن سیسـتم بـا اسـتفاده از انالاپریل بر بروز ادم مغزی و آسیب سد خونی مغزی می باشد.

روش کار: در این تحقیق تعداد ٤٠ عدد موش صحرایی نر از نژاد Sprague - Dawley در شش گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. حیوانات با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (٤٠٠ mg/kg) بیهوش شدند و با اسـتفاده از تکنیـک انسـداد شـریان میانی مغز توسط فیلامان مخصوص در نیمکره راست مغز آنها به مدت یک ساعت ایسکمی موضعی ایجاد شد. سه گـروه از حیوانات تحت عنوان گروه شاهد، ایسکمیک و دریافت کننده انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) جهت ارزیابی اختلالات حرکتـی پـس از ایسکمی و شدت ادم مغزی ایجاد شده مورد مطالعه قرار گرفتند. در این حیوانات ٢٤ ساعت پس از پایان ایسـکمی اخـتلالات حرکتی با استفاده از آزمون نورولوژیک ویژه‌ای ارزیابی شد و ادم مغزی ایجاد شده با استفاده از تکنیک تعیین محتـوی آب بافت مغز ارزیابی شده و تفاوت آب دو نیمکره مغز به عنوان شاخص شدت ادم ایجاد شده منظور شد. سه گـروه دیگـر از حیوانات با همان ترتیب بالا جهت ارزیابی عملکرد سد خونی مغزی با استفاده از تکنیک نشت خارج عروقی اوانس بلـو مـورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: در حیوانات گروه شاهد اختلال حرکتی مشاهده نشد اما وقوع ایسکمی سبب ایجـاد اخـتلالات حرکتـی شـدیدی در حیوانات گروه ایسکمیک شد (نمره آزمون نورولوژیک ۰/٤۲ ± ۲/۶۷). تجویز انالاپریل یک ساعت قبل از وقوع ایسکمی سبب بهبود اختلالات حرکتی شد (۰/۳٤ ± ۱/۵ ، $p<۰/۰۵$). وقوع ایسکمی ادم شدیدی را در نیمکره راست حیوانات گروه ایسکمیک ایجاد کرد (۰/٤ ± ٤/۱٪) و تجویز انالاپریل توانست ادم ایجاد شده را بطور معنی‌داری کـاهش دهـد (۰/۲ ± ۱/۵ درصـد). همچنین به دنبال وقوع ایسکمی آسیب سد خونی مغزی سبب نشت شدید خارج عروقی اوانس بلو در نیمکـره راسـت مغـز حیوانات گروه ایسکمیک شد (۱/۹٤ ± ۱۲/٤۸ µg/g) و تجویز انالاپریل باعث بهبود عملکرد سد خونی مغزی شده و غلظـت اوانس بلو در بافت نیمکره آسیب دیده مغز را به میزان ٤٤/۵٪ کاهش داد (۱/٤۶ ± ۶/۹۲ µg/g ، $p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین توسط انالاپریل می تواند با محافظت از عملکرد سـد خـونی مغـزی و کـاهش نفوذپذیری آن شدت ادم ایسکمیک مغزی را به دنبال وقوع ایسکمی موضعی مغز در موش صحرایی کاهش دهـد و ممکـن است بتواند از این طریق در کاهش ضایعه ایسکمیک مغزی نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: ادم مغزی؛ سد خونی مغزی؛ آنژیوتانسین دو؛ انالاپریل؛ موش صحرایی

دریافت: ۸۹/۳/۱۰ **پذیرش:** ۸۹/۱۲/۱

لطفا به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Panahpour H, Dehghan GA. Effects of renin –angiotensin system inhibition on ischemic brain edema formation and blood – brain barrier disruption following focal cerebral ischemia in rat. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(1): 14-23 (Full text in Persian)

این مقاله از طرح تحقیقاتی شماره۲۳۵۷-۸۳ مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز استخراج شده است.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

مقدمه

سکته مغزی[1] که از توقف دائمی یا موقت جریان خون قسمتی از مغز ناشی می‌شود، سومین عامل مرگ و معلولیت در بسیاری از جوامع انسانی است [۱]. ادم مغزی یا تجمع غیرطبیعی مایعات در پارانشیم بافت مغز یکی از عوارض مهم سکته مغزی می‌باشد و در تعیین میزان بقای بیمار در ساعات اولیه پس از سکته اهمیت دارد. بروز ادم مغزی سبب تشدید ضایعه ایسکمیک ابتدایی ایجاد شده در مغز می‌شود [۲]. بنابراین پیشگیری از توسعه ادم می‌تواند در کاهش ضایعه مغزی ایجاد شده و کاهش مرگ و میر ناشی از سکته مغزی نقش داشته باشد.

ادم ایسکمیک مغزی بطور عمده از آسیب عروق مغزی ناشی می‌شود (ادم وازوژنیک[2]). بطور کلی ایسکمی مغزی نفوذپذیری سد خونی مغزی را افزایش داده و سبب نشت پروتئین‌های پلاسما چون آلبومین به فضای خارج سلولی می‌گردد [۴،۳]. ادم وازوژنیک بسیار خطرناک می‌باشد زیرا خطر خونریزی از رگهای آسیب دیده را افزایش داده [۵] و در موارد شدید سبب جابجایی نیمکره‌های مغز می‌گردد [۵]. بروز ادم مغزی به دنبال وقوع ایسکمی مغزی با تحت فشار قرار دادن عروق مغز و محدود کردن جریان خون منطقه در خطر بافت مغز می‌تواند در تشدید ضایعه مغزی ایجاد شده نقش داشته باشد [۴].

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که سیستم رنین-آنژیوتانسین و پپتید فعال آن (آنژیوتانسین دو) می‌تواند در پاتوفیزیولوژی سکته مغزی نقش داشته باشد [۶،۷]. مطالعات قبلی ما نشان داده است که مهار این سیستم با استفاده از انالاپریل می‌تواند حجم ضایعه مغزی را کاهش دهد [۹،۸]. اما بررسی مقالات حاکی از آنست که اطلاعات زیادی در رابطه با نقش سیستم رنین-آنژیوتانسین در بروز ادم مغزی و بویژه آسیب سد خونی مغزی پس از ایسکمی مغزی وجود ندارد. از این رو هدف عمده این مطالعه بررسی نقش این سیستم در ایجاد ادم ایسکمیک مغزی و آسیب سد خونی مغزی به دنبال وقوع ایسکمی مغزی در مدل آزمایشگاهی ایسکمی موضعی موقتی مغز در موش صحرایی می باشد.

روش کار

در این مطالعه از موش صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley با محدوده وزنی ۳۳۰-۲۵۰ گرم برای انجام آزمایشات استفاده شد. آزمایشات بر اساس آئین نامه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی شیراز برای مطالعات حیوانی انجام شد.

روش جراحی

برای ایجاد ایسکمی موضعی مغز از روش انسداد شریان میانی مغز با استفاده از فیلامان مخصوص[3] [۱۰] استفاده شد. حیوان با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ mg/kg) (شرکت سیگما، انگلستان) بیهوش شد. تراشه حیوان با استفاده از کاتتر پلی‌اتیلن برای جلوگیری از هیپوکسی لوله‌گذاری شد. با استفاده از یک سیستم کنترل فیدبکی دمای بدن در محدوه ۰/۵ ± ۳۷ درجه سانتیگراد حفظ شد. برشی به اندازه ۲ سانتیمتر در ناحیه قدامی گردن حیوان ایجاد شد. پس از آن شریان کاروتید مشترک راست تا محل انشعاب به شاخه‌های خارجی و داخلی به آرامی از بافت‌های اطراف بویژه عصب واگ جدا شد. شاخه‌های فرعی کاروتید خارجی کوتری شد و این شریان بطور دائمی مسدود شد. شریانهای کاروتید مشترک و کاروتید داخلی بطور موقت با استفاده از میکروکلمپ مسدود شدند. در شریان کاروتید خارجی برش کوچکی ایجاد شده و فیلامان نایلون ۰ - ۳ با پوشش پلی-ال- لیزین (شرکت سیگما، انگلستان) از محل برش ایجاد شده در کاروتید

[1] Stroke
[2] Vasogenic edema
[3] Intraluminal filament method

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

خارجی به کاروتید داخلی هدایت شد. اطراف محل برش با گره‌ای از نخ سیلک ۰- ۵ برای جلوگیری از خونریزی مسدود شد. میکروکلمپ از روی شریان کاروتید داخلی برداشته شده و فیلامان از مسیر شریان کاروتید داخلی به سمت حلقه ویلیس هدایت شد تا شریان میانی مغز را مسدود سازد. پس از یک ساعت انسداد شریان میانی مغز با خارج کردن فیلامان جریان خون مجدداً در مسیر مذکور برقرار شد.

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک

بیست و چهار ساعت پس از پایان ایسکمی حیوانات از نظر بروز اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی با استفاده از یک آزمون ۵ نمره‌ای ویژه مورد ارزیابی قرار گرفتند [۱۱]. در این آزمون به حیوانی که از نظر حرکتی طبیعی بوده و اختلال حرکتی نداشت نمره ۱ داده می‌شد. اگر به هنگام آویزان شدن حیوان از دم خم شدن پای جلو سمت مقابل ضایعه مشاهده می‌شد حیوان نمره ۲ دریافت می‌کرد. اگر حیوان به هنگام قرار گرفتن در سطح صاف حرکت چرخشی به سمت مقابل ضایعه داشت نمره ۳ می‌گرفت و اگر قادر به ایستادن روی پاهایش نبود و فاقد رفلکس به پا خواستن[1] بود نمره ٤ دریافت می‌کرد. زمانیکه حیوان فاقد حرکت خودبخودی بود نمره ۵ به حیوان اختصاص داده می‌شد.

تعیین میزان ادم مغزی ایجاد شده

جهت ارزیابی ادم مغزی ٢٤ ساعت پس از پایان ایسکمی مغزی حیوان تحت بیهوشی عمیق کشته شده و مغز حیوان به سرعت خارج شد. بخشهای پل مغزی، مخچه و پیاز بویایی جدا شده و نیمکره‌های سالم و ایسکمیک از هم جدا شدند. نمونه‌های بافت مغزی دو نیمکره در ظرف‌های وزن شده مشخصی قرار داده شده و مجدداً وزن شدند تا وزن مرطوب آنها بدست آید. نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه در اوون نگهداری شدند و دوباره وزن شده و وزن خشک نمونه‌های بافتی تعیین شد. محتوی آب نیمکره‌های مغز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شده و تفاوت آب دو نیمکره (ΔH_2O) بعنوان شاخص شدت ادم ایجاد شده تعیین شد [۱۲].

۱۰۰ وزن مرطوب/(وزن خشک-وزن مرطوب)= محتوی آب مغز

محتوی آب نیمکره - محتوی آب نیمکره ایسکمیک (راست) =ΔH_2O سالم (چپ)

ارزیابی میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی

نفوذپذیری سد خونی مغزی با استفاده از تکنیک نشت ماده رنگی اوانس بلو (شرکت سیگما، انگلستان) بصورت کمی ارزیابی شد [۱۵-۱۳]. در گروه‌هایی از حیوانات که جهت ارزیابی سد خونی مغزی مورد مطالعه قرار گرفتند ۳۰ دقیقه پس از پایان جراحی و ایسکمی محلول اوانس بلو (1 mL/kg از محلول ۲ درصد) طی ۵ دقیقه تزریق شد. بیست و چهار ساعت پس از پایان ایسکمی حیوانات مجدداً بیهوش شده و قفسه سینه حیوان باز شد. فضای داخل عروق حیوان با ۲۵۰ میلی‌لیتر نرمال سالین ۳۷ درجه سانتیگراد شستشو داده شد. برای اینکار محلول از بطن چپ طی ۱۵ دقیقه تزریق شده و از برش ایجاد شده در دهلیز راست خارج شد.

سپس مغز حیوان خارج شده و نیمکره ایسکمیک و سالم از هم جدا شده و وزن شد. نمونه بافتی هر نیمکره در ۲/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین بافری در فسفات هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه با ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۶۰٪ مخلوط شد. محلول به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد (۳۵۰۰ دور در دقیقه) و محلول جدا شده از نظر میزان جذب نوری اوانس بلو در طول موج ۶۱۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر (UV7500، شرکت اسپکترولب، انگلستان) مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت اوانس‌بلو در نمونه‌های بافتی بوسیله یک منحنی استاندارد محاسبه شده و بصورت میکروگرم در گرم بافت بیان شد.

[1] Righting Reflex

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

پروتکل تحقیق

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک و ادم مغزی در سه گروه به شرح زیر مورد مطالعه قرار گرفت. گروه شاهد (n=۶): در این گروه حیوان بیهوش شده و جراحی ناحیه گردن انجام شد. شریان کاروتید راست و شاخه‌های آن از بافت‌های اطراف جدا شدند اما انسداد شریان میانی مغز صورت نگرفت.

گروه ایسکمیک (n=۶): در این گروه ایسکمی مغزی با انسداد شریان میانی مغز در نیمکره راست به مدت ۱ ساعت ایجاد شد. یک ساعت قبل از آغاز ایسکمی به حیوان آب مقطر (۱ mL/kg) بصورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه انالاپریل (n=۶): در این گروه ایسکمی مغزی همانند گروه قبل ایجاد شد و حیوان داروی انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) را یک ساعت قبل از آغاز دوره ایسکمی بصورت داخل صفاقی دریافت کرد. لازم به ذکر است که دوز مورد نظر انالاپریل (۰/۰۳ mg) در حجم مشابه گروه ایسکمیک از آب مقطر (۱ mL/kg) به عنوان حلال تهیه شد.

همچنین ارزیابی میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی در سه گروه دیگر از حیوانات شامل گروه شاهد (n=۸)، گروه ایسکمیک (n=۸) و گروه انالاپریل (n=۶): مشابه شرایط بالا صورت گرفت. در این گروه‌ها محلول اوانس بلو (۱mL/kg از محلول ۲٪) ۳۰ دقیقه پس از پایان جراحی و ایسکمی بصورت داخل وریدی از طریق کانول کار گذاشته شده در ورید دمی و طی ۵ دقیقه تزریق شد.

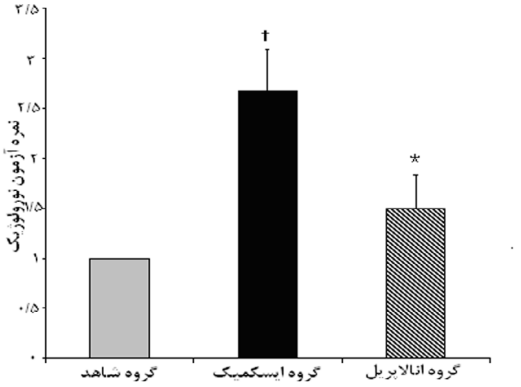
تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری از نرم افزار آماری سیگما استت[1] استفاده شد. برای مقایسه نتایج بین گروهی از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه و پست تست‌های توکی[2] و دانکن[3] استفاده شد. همچنین مقایسه نتایج بصورت دو به دو با استفاده از آزمون آماری T-test صورت گرفت و مقادیر $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد. داده‌ها بصورت میانگین ± خطای معیار استاندارد بیان شده است.

یافته ها

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک

در حالیکه حیوانات گروه شاهد از نظر حرکتی طبیعی بوده و هیچگونه اختلال حرکتی نداشتند، ۲٤ ساعت پس از وقوع ایسکمی اختلالات حرکتی شدیدی در حیوانات گروه ایسکمیک مشاهده شد و میزان نمره آزمون نورولوژیک در این گروه بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (۰/٤۲ ± ۲/۶۷، $p<۰/۰۰۱$). تجویز انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) بطور معنی‌داری نمره آزمون نورولوژیک نسبت به گروه ایسکمیک کاهش داده و اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی را بهبود بخشید (۰/۳٤ ± ۱/۵، $p<۰/۰۵$) (شکل ۱).



شکل ۱. نمره آزمون نورولوژیک در حیوانات گروه شاهد (n=۶) و گروه ایسکمیک (n=۶) و حیوانات دریافت کننده انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) (n=۶) ۲۴ ساعت پس از وقوع ایسکمی مغزی († نسبت به گروه شاهد $p<۰/۰۰۱$، * نسبت به گروه ایسکمیک $p<۰/۰۵$ *).

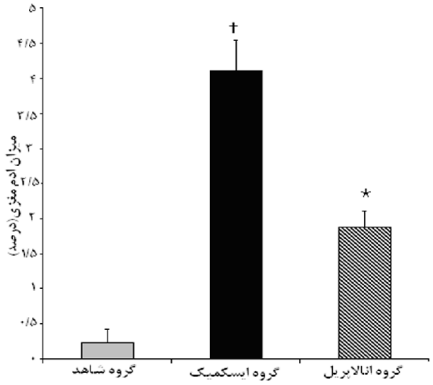
ارزیابی ادم مغزی

میزان محتوی آب نیمکره‌های چپ و راست مغز در گروه شاهد با هم تفاوت معنی‌داری نداشت (به ترتیب ۰/۲۳ ± ۷۹/۲٪ و ۰/۲۸ ± ۷۹/٤٪). همچنین میزان محتوی آب نیمکره چپ (سالم) مغز بین

[1] Sigma stat
[2] Tukey
[3] Duncan

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

گروه‌های مورد مطالعه با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان محتوی آب نیمکره راست در گروه ایسکمیک بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (۰/۴۶ ± ۸۳/۱٪، $p< ۰/۰۰۱$). تجویز انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) بطور معنی‌داری میزان محتوی آب نیمکره راست را در مقایسه با گروه ایسکمیک کاهش داد (۰/۲۲ ± ۸۰/۵٪، $p<۰/۰۵$). شکل۲ میزان تفاوت آب نیمکره ایسکمیک مغز را نسبت به نیمکره سالم به عنوان شاخص ادم ایجاد شده نشان می‌دهد. میزان ادم ایجاد شده در گروه ایسکمیک بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (۰/٤ ± ٤/۱٪، $p<۰/۰۵$) و تجویز انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) قبل از وقوع ایسکمی توانست میزان ادم ایجاد شده را بطور معنی‌داری کاهش دهد (۰/۲۳ ± ۱/۸۹٪، $p< ۰/۰۵$) (شکل ۲).

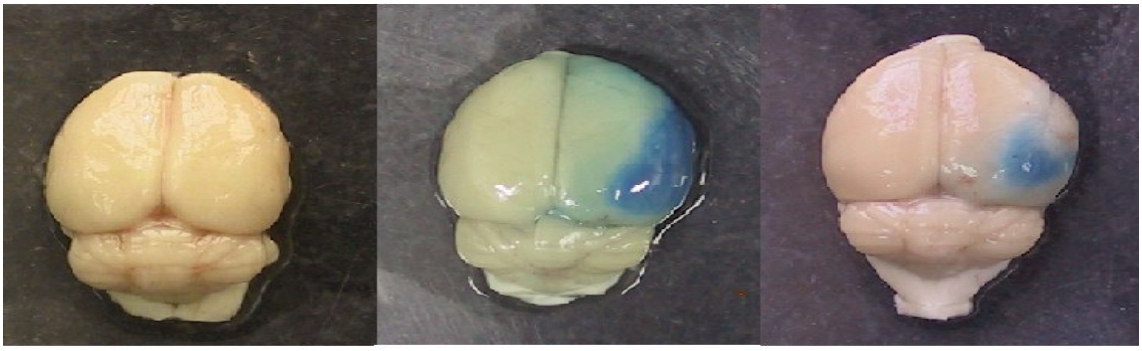


شکل ۲. میزان ادم ایجاد شده در حیوانات گروه شاهد (n=۶) و گروه ایسکمیک(n=۶) و حیوانات دریافت کننده انالاپریل(۰/۰۳ mg/kg) (n=۶) ۲۴ ساعت پس از وقوع ایسکمی مغزی († نسبت به گروه شاهد P< ۰/۰۰۱، *نسبت به گروه ایسکمیک P< ۰/۰۵*).

ارزیابی میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی

شکل ۳ تصویر مربوط به نمونه‌هایی از مغز حیوانات مورد مطالعه در گروه‌های شاهد، ایسکمیک و دریافت‌کننده انالاپریل را پس از جراحی یا وقوع ایسکمی و دریافت اوانس بلو نشان می‌دهد. نشت ماده رنگی اوانس بلو به داخل بافت مغز در نیمکره ایسکمیک که بصورت لکه آبی رنگی قابل مشاهده است حاکی از آسیب سد خونی مغزی و افزایش نفوذپذیری آن در ناحیه وقوع انفارکتوس مغزی است.

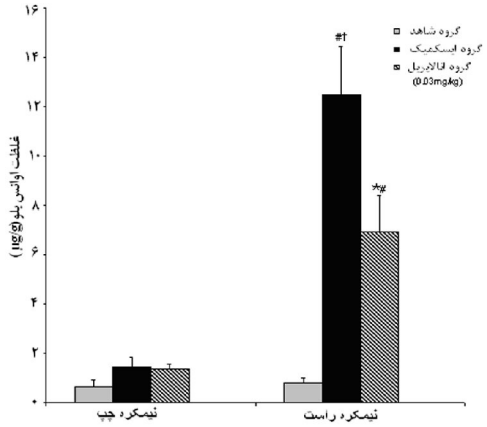
شکل ٤ غلظت اوانس بلو در نمونه‌های بافتی نیمکره راست (ایسکمیک) و چپ مغز حیوانات مورد مطالعه در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. غلظت اوانس بلو در نمونه‌های بافتی نیمکره‌های چپ و راست مغز حیوانات گروه شاهد با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین غلظت اوانس بلو در نیمکره چپ (سالم) گروه‌های مورد مطالعه با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه ایسکمیک غلظت اوانس بلو در نیمکره راست (ایسکمیک) بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و وقوع ایسکمی نفوذپذیری سد خونی مغزی را افزایش داده بود (۱/۹٤ µg/g ± ۱۲/٤۸، $p<۰/۰۵$) و تجویز انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) قبل از وقوع ایسکمی بطور معنی‌داری غلظت اوانس بلو در نیمکره ایسکمیک کاهش داده و عملکرد سد خونی مغزی را بهبود بخشید (۱/٤۶ µg/g ± ۶/۹۲، $p<۰/۰۵$).



A **B** **C**

شکل ۳. تصاویر مغز حیوانات مورد مطالعه در گروه شاهد، ایسکمیک و دریافت کننده انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg). حیوانات ۳۰ دقیقه پس از جراحی یا ایسکمی محلول اوانس بلو (1 mL/kg از محلول ۲ درصد) دریافت کردند. وجود لکه آبی رنگ در نیمکره راست مغز در شکلهای B و C نشان دهنده نشت خارج عروقی اوانس بلو به دنبال وقوع ضایعه ایسکمیک می‌باشد و شدت آن متناسب با آسیب سد خونی مغزی می‌باشد.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]



شکل ۴. غلظت اوانس بلو در نیمکره‌های چپ و راست (ایسکمیک) مغز حیوانات گروه شاهد (n=۸) و گروه ایسکمیک(n=۸) و حیوانات دریافت کننده انالاپریل (۰/۰۳ mg/kg) (n=۶) ۲۴ ساعت پس از وقوع ایسکمی مغزی. (# نسبت به نیمکره سالم در همان گروه، † نسبت به گروه شاهد $p < ۰/۰۵$ ، * نسبت به گروه ایسکمیک $p < ۰/۰۵$).

بحث

بروز ادم مغزی پس از سکته مغزی با افزایش فشار داخل جمجمه‌ای و تحت فشار قرار دادن عروق مغزی سبب تشدید ضایعه مغزی می‌شود [۱]. پیشنهاد شده است که جلوگیری از ایجاد ادم می‌تواند آسیب مغزی به دنبال ایسکمی را تقلیل دهد [۱۶]. ادم ایسکمیک مغزی بطور عمده از آسیب سد خونی مغزی به دنبال وقوع ایسکمی و افزایش نفوذپذیری آن ناشی می شود [۱۷،۱۰]. محافظت از ساختار و عملکرد سد خونی مغزی در برابر آسیب ایسکمیک می‌تواند در کاهش ادم ایجاد شده و تقلیل آسیب نورونی نقش داشته باشد [۱۶].

مطالعات قبلی صورت گرفته نشان داده است که سیستم رنین-آنژیوتانسین و پپتید فعال آن (آنژیوتانسین دو) می‌تواند در تشدید ضایعه ایسکمیک مغزی نقش داشته باشد به نحوی که مهار این سیستم توسط انالاپریل توانست حجم ضایعه مغزی ایجاد شده به دنبال ایسکمی را کاهش دهد [۹،۸]. اما نقش سیستم رنین-آنژیوتانسین در ایجاد ادم ایسکمیک مغزی به درستی مشخص نیست. از این رو در طی این مطالعه اثرات مهار این سیستم و کاهش تولید آنژیوتانسین دو بر ایجاد ادم مغزی و نفوذپذیری سد خون مغزی مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین در این مطالعه از داروی انالاپریل برای مهار سیستم رنین- آنژیوتانسین استفاده شد زیرا این دارو قادر به عبور از سد خونی مغزی می باشد [۱۸] و علاوه بر مهار سیستم مذکور بطور سیستمیک و کاهش آنژیوتانسین دو در گردش خون عمومی آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین را در مغز نیز مهار کرده و می تواند اثرات موضعی نیز داشته باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وقوع ایسکمی سبب افزایش محتوی آب بافت مغز در نیمکره درگیر شده و ادم مغزی ایجاد کرد. مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین توسط انالاپریل میزان ادم ایجاد شده را به میزان ۵۳/۷٪ نسبت به گروه ایسکمیک کاهش داد. بررسی مقالات حاکی از آنست که نقش این سیستم در بروز ادم ایسکمیک مغزی روشن نیست اما برخی از مطالعات در مدلهای آزمایشگاهی متفاوت نشان داده است که مهار درازمدت آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین می تواند از ایجاد ادم مغزی جلوگیری کرده و میزان مرگ و میر را در موش صحرایی هیپرتانسیو کاهش دهد [۲۲-۱۹].

مکانیسم اثرات محافظتی مهار آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین توسط انالاپریل در کاهش ادم ایسکمیک مغزی روشن نیست. پیشنهاد شده است که این اثرات ممکن است به دلیل کاهش فشار خون توسط این داروها مربوط باشد. اما به نظر می رسداین مکانیسم نقش عمده ای نداشته باشد زیرا اثرات مشاهده شده در این مطالعه با دوزی از انالاپریل به دست آمد که فشار خون را بطور معنی داری کاهش نمی‌دهد. پیشنهاد دیگر اینست که این اثرات مفید به کاهش تولید (آنژیوتانسین دو) و محدود شدن اثرات آن مربوط می‌باشد که به نظر می‌رسد قابل قبول تر باشد چرا که مهار گیرنده‌های نوع یک آنژیوتاسین دو توسط کندسارتان نیز توانسته است

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

ادم مغزی را کاهش دهد [۲۵-۲۳]. در همین رابطه تجربیات محققین این مطالعه نیز نشان داده است که مهار گیرنده‌های نوع یک آنژیوتانسین دو با کندسارتان علاوه بر کاهش ضایعه ایسکمیک مغزی می‌تواند میزان ادم ایسکمیک ایجاد شده را نیز کاهش دهد [۲۶] که نظریه اعمال اثرات محافظتی انالاپریل از طریق کاهش تولید آنژیوتانسین دو را تایید می کند.

در بخش دوم این مطالعه اثرات مهار آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین توسط انالاپریل بر عملکرد سد خونی مغزی با استفاده از تکنیک نشت خارج عروقی اوانس بلو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وقوع ایسکمی مغزی با تخریب سد خونی مغزی نشت خارج عروقی اوانس بلو را در نیمکره ایسکمیک مغز افزایش می دهد. همچنین تجویز انالاپریل یک ساعت قبل از ایسکمی نشت خارج عروقی اوانس بلو را به میزان ٤٤/٥٪ کاهش داده و عملکرد سد خونی مغزی را بهبود بخشید. هر چند مطالعه مشابهی وجود ندارد اما مطالعات انجام شده بر روی موش صحرایی هیپرتانسیو نشان داده است که مهار آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین می تواند آسیب سد خونی مغزی را کاهش داده و عملکرد آن را بهبود بخشد [۲۷،۱۹].

بطور کلی یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین توسط انالاپریل قبل از وقوع ایسکمی بر عملکرد سد خونی مغزی اثرات محافظتی داشته و نفوذپذیری آن را کاهش می‌دهد. مکانیسم این اثرات به درستی روشن نیست اما از آنجائیکه تحریک گیرنده‌های نوع یک آنژیوتانسین دو توسط این پپتید می‌تواند در تشدید ضایعه مغزی نقش داشته باشد [۲۸،۲٤]. بنظر می‌رسد بخشی از این اثرات به نقش آنژیوتانسین دو در تخریب سد خونی مغزی و تشدید ادم مغزی ایجاد شده به دنبال ایسکمی مربوط باشد. در همین رابطه مطالعه دیگری در موش صحرایی هیپرتانسیو دیابتیک نشان داده است که مهار گیرنده‌های نوع یک آنژیوتانسین دو توسط کندسارتان می‌تواند نفوذپذیری سد خونی مغزی را کاهش دهد [۲۹]. احتمال دارد آنژیوتانسین دو از طریق گیرنده‌های نوع یک خود با تشدید تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن [۳۰] نیتریک اکساید [۳۱] و پروتئازها در افزایش نفوذپذیری سد خونی مغزی به دنبال وقوع ایسکمی نقش داشته باشد.

نتیجه گیری

بطور کلی یافته‌های این مطاله نشان می‌دهد که مهار سیستم رنین- آنزیوتانسن توسط انالاپریل قبل از وقوع ایسکمی موضعی مغز می‌تواند با ایجاد اثرات محافظتی بر عملکرد سد خونی مغزی، نفوذپذیری آنرا کاهش داده و از این طریق شدت بروز ادم ایسکمیک مغزی را تقلیل دهد. با توجه به نقش ادم در تشدید ضایعه مغزی، این اثرات می تواند در کاهش حجم ضایعه مغزی توسط انالاپریل سهیم باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از اساتید گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به جهت همکاری در انجام این مطالعه و آقای دکتر عابدین وکیلی دانشیار دانشگاه علوم پزشکی سمنان و پروفسور مهمت کایا استاد دانشگاه استانبول ترکیه برای راهنمایی‌های ارزشمندشان نهایت تشکر و قدردانی بعمل می آید.

References

1- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. Trends Neurosci. 1999 Sep; 22(9): 391-7.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

2- Schuier FJ, Hossmann KA. Experimental brain infarcts in cats. II. Ischemic brain edema. Stroke. 1980 Nov-Dec; 11(6): 593-601.
3- Marmarou A. The pathophysiology of brain edema and elevated intracranial pressure. Cleve Clin J Med. 2004 Jan; 71 suppl1: S6-8.
4- Fishman RA. Cerebrospinal fluid in diseases of the nervous system. 2nd ed, W. B. Sunders Co. Philadelphia. 1992; 103-155.
5- Rosenberg GA. Ischemic brain edema. Prog Cardiovasc Dis. 1999 Nov- Dec; 42(3): 209-16.
6- Culman J, Blume A, Gohlke P, Unger T. The renin-angiotensin system in the brain: possible therapeutic implications for AT_1-receptor blockers. J Hum Hypertens. 2002 Agu; 16(3): S64-S70.
7- Thone-Reineke C, Zimmermann M, Neumann C, Krikov M, Li J, Gerova N, Unger T. Are angiotensin receptor blockers neuroprotective? Curr Hypertens Rep. 2004 Agu; 6(4): 257-66.
8- Panahpour H, Nekooeian AA, Dehghani GA. Inhibition of angiotensin-converting enzyme reduces cerebral infarction size in experimental induced focal cerebral ischemia in the rat. IJMS. 2007 Mar; 32(1): 12-17.
9- Panahpour H, Dehghani GA. Inhibition of central angiotensin-converting enzyme with enalapril protects the brain from ischemia/reperfusion injury in normotensive rat. DARU. 2010 Mar; 18(1): 35-40.
10- Belayev L, Alonso OF, Busto R, Zhao W, Ginsberg MD. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model. Stroke. 1996 Sep; 27(9): 1616-22.
11- Plesnila N, Zinkel S, Le DA, Amin-Hanjani S, Wu Y, Qiu J, et al. BID mediates neuronal cell death after oxygen/ glucose deprivation and focal cerebral ischemia. Proc Natl Acad Sci USA. 2001 Dec; 98(26): 15318-23.
12- Gerriets T, Stolz E, Walberer M, Muller C, Kluge A, Kaps M, et al. Middle cerebral artery occlusion during MR-imaging: investigation of the hyperacute phase of stroke using a new in-bore occlusion model in rats. Brain Res Protoc. 2004 Feb; 12(3): 137-143.
13- Kaya M, Kucuk M, Kalayci R, Cimen V, Gurses C, Elmas I, et al. Magnesium sullfate attenuates increased blood–brain barrier permeability during insulin-induced hypoglycemia in rats. Can J Physiol Pharmacol. 2001 Sep; 79(9): 793-8.
14- Kaya M, Kucuk M, Kalayci R, Palanduz S. Acute hyperglycemia augments blood–brain barrier damage in experimental status epilepticus. Neurosci Res Commun. 1999 Nov; 25(2): 111-19.
15- Kucuk M, Kaya M, Kalayci R, Cimen V, Kudat H, Arican N, et al. Effects of losartan on the blood-brain barrier permeability in long-term nitric oxide blockade-induced hypertensive rats. Life Sci. 2002 Jul; 71(8): 937-46.
16- Zhou F, Xiang Z, Feng WX, Zhen LX. Neuronal free Ca^{2+} and BBB permeability and ultrastructure in head injury with secondary insult. J Clin Neurosci. 2001 Nov; 8(6): 561-3.
17- Menzies SA, Betz AL, Hoff JT. Contributions of ions and albumin to the formation and resolution of ischemic brain edema. J Neurosurg. 1993 Feb; 78(2): 257-66.
18- Ravati A, Junker V, Kouklei M, Ahlemeyer B, Culmsee C, Krieglstein J. Enalapril and moexipril protect from free radical-induced neuronal damage in vitro and reduce ischemic brain injury in mice and rats. Eur J Pharmacol. 1999 May; 373(1): 21-33.
19- Blezer EL, Nicolay K, Bar D, Goldschmeding R, Jansen GH, Koomans HA, et al. Enalapril prevents imminent and reduces manifest cerebral edema in stroke-prone hypertensive rats. Stroke. 1998 Agu; 29(8): 1671-8.
20- Stier CT Jr, Benter IF, Ahmad S, Zuo HL, Selig N, Roethel S, et al. Enalapril prevents stroke and kidney dysfunction in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1989 Feb; 13(2): 115-21.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

21- Stier CT Jr, Chander P, Gutstein WH, Levine S, Itskovitz HD. Therapeutic benefit of captopril in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats is independent of hypotensive effect.Am J Hypertens. 1991 Agu; 4(8): 680-7.
22- Vacher E, Fornes P, Domergue V, Richer C, Bruneval P, Giudicelli JF. Quinapril prevents stroke both during and after the treatment period in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Am J Hypertens. 1993 Nov; 6(11 pt 1): 951-9.
23- Brdon J, Kaiser S, Hagemann F, Zhao Y, Culman J, Gohlke P. Comparison between early and delayed systemic treatment with candesartan of rats after ischaemic stroke. J Hypertens. 2007 Jan; 25(1): 187-96.
24- Ito T, Yamakawa H, Bregonzio C, Terron JA, Falcon-Neri A, Saavedra JM. Protection against ischemia and improvement of cerebral blood flow in genetically hypertensive rats by chronic pretreatment with an angiotensin II AT1 antagonist. Stroke. 2002 Sep; 33(9): 2297-303.
25- Nishimura Y, Ito T, Saavedra JM. Angiotensin II AT (1) blockade normalizes cerebrovascular autoregulation and reduces cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats. Stroke. 2000 Oct; 31(10): 2478-86.
26- Panahpour H. Role of Angiotensin Converting Enzyme and AT (1) Receptor in Brain Injury, Edema and Blood Brain Barrier Disruption Following Transient Focal Cerebral Ischemia in Rat. Ph. D thesis, Shiraz university of Medical Sciences. 2008 Mar; 25-62.
27- Takahashi M, Fritz-Zieroth B, Ohta Y, Chikugo T. Therapeutic effects of imidapril on cerebral lesions observed by magnetic resonance imaging in malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J Hypertens. 1994 Jul; 12(7): 761-8.
28- Engelhorn T, Goerike S, Doerfler A, Okorn C, Forsting M, Heusch G, et al. The angiotensin II type 1-receptor blocker candesartan increases cerebral blood flow, reduces infarct size, and improves neurologic outcome after transient cerebral ischemia in rats. J Cereb Blood Flow Metab. 2004 Apr; 24(4): 467-74.
29- Awad AS. Role of AT1 receptors in permeability of the blood-brain barrier in diabetic hypertensive rats. Vascul Pharmacol. 2006 Sep; 45(3): 141-7.
30- Chan PH, Schmidley JW, Fishman RA, Longar SM. Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxygen-derived free radicals. Neurology. 1984 Mar; 34(3): 315-320.
31- Mayhan WG, Didion SP. Glutamate-induced disruption of the blood-brain barrier in rats. Role of nitric oxide. Stroke. 1996 May; 27(5): 965-970.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

Effects of Renin-Angiotensin System Inhibition on Ischemic Brain Edema Formation and Blood-Brain Barrier Disruption Following Focal Cerebral Ischemia in Rat

Panahpour H, PhD[1]; Dehghan GA, PhD[2]

1- Corresponding Author: Assistant Prof. of Physiology Dept., School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. E-mail: Panahpour.h@gmail.com
2- Prof. of Physiology Dept. School of Medicine and Researcher of Medicinal & Natural Products Chemistry Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

ABSTRACT

Background & objectives: Ischemic brain edema is one of the most important complications of cerebral infarction. Edema aggravates the primary ischemic injury to the brain. It was demonstrated that the renin-angiotensin system (RAS) and its active peptide angiotensin II involved in ischemic brain injury. But role of RAS in the formation of ischemic edema is not clear. The present study was conducted to investigate the effects of the RAS inhibition by enalapril on edema formation and blood-brain barrier (BBB) disruption.

Methods: In this research frothy Sprague Dawley male rat in six groups were studied. Animals were anesthetized with chloral hydrate (400mg/kg, IP). Transient focal cerebral ischemia was induced by occlusion of right middle cerebral artery using intraluminal filament method. Three groups of animals as sham, ischemic and enalapril receiving (0.03mg/kg) groups were studied for assessment of neurological outcome and brain edema formation. 24 hours following ischemia (60minutes), animals were assessed for neurological deficits. Ischemic brain edema was investigated by brain water content detection. Another three groups of animals at the same conditions were studied to evaluate the possible disruption of BBB by Evans blue extravasation technique.

Results: When sham operated rats had no motor deficit, induction of ischemia in ischemic group, seriously caused impairment of motor functions and neurological deficit score(NDS) of ischemic group was 2.67±0.42. Pretreatment with enalapril (0.03mg/kg) significantly reduced NDS and improved motor dysfunctions (1.5±0.34, $P<0.05$). Induction of ischemia seriously caused edema formation in right (ischemic) hemisphere of the brain in ischemic group (4.1±0.4 percent). Pretreatment with enalapril (0.03mg/kg) significantly decreased edema compared to ischemic group (1.89±0.23 percent). Extravasation of Evans blue in right side of the brain in ischemic group (12.48±1.94 μg/g) was significantly more than sham group. Pretreatment with enalapril (0.03mg/kg) had protective effects on BBB function and decreased Evans blue extravasation by 44.5 percent (6.92±1.46 μg/g).

Conclusion: RAS inhibition by enalapril reduces ischemic brain edema formation by protecting the integrity of BBB and reducing its permeability following focal cerebral ischemia in rat. Pre-ischemic inhibition of RAS activity may reduce ischemic brain injury by ameliorating edema formation.

Key words: Focal Cerebra Ischemia, Brain Edema, BBB, Angiotensin II, Enalapril, Rat

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]