● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره دهم، شمارهٔ ۳، مرداد – شهریور ۱۳۸۷، صفحه ۱۴-۷

اثر آلفاتوکوترینول و لیگاند رسپتور فعال شونده بوسیله پروکسیزوم پرولیفراتور بر ایسکمی مغزی در موش صحرائی نر

محمد الله توکلی*[۱]، علی شمسی زاده[۱]، مهدی محمودی[۲]، روح اله مولودی[۳]، محمدابراهیم رضوانی[۱]

۱- استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ۲- دانشیار گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

سابقه و هدف: سکته مغزی یکی از مهمترین علل مرگ ومیر و ناتوانی در جهان است. مطالعات قبلی نشان داده اند که تجویز آلفاتوکوترینول (α -TCT) و روزیگلیتازون (RGZ) ضایعات سکته مغزی ناشی از انسداد شریان مغزی میانی(MCA) در موش سوری و صحرایی را در صورتی که قبل از القاء ایسکمی تزریق شوند، کاهش می دهند. هدف از مطالعه حاضر اثر محافظت نورونی α -TCT و RGZ، ۳ ساعت بعد از ایسکمی مغزی می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، سکته مغزی بوسیله فرستادن لخته بداخل MCA در موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم انجام شد. گروه ها شامل، آلفاتوکوترینول با دو دوز کم و زیاد (mg/kg ۱۰و ۱)، روزیگلیتازون (mg/kg ۳) و شاهد بودند. داروها داخل صفاقی تزریق شدند و وسعت انفارکتوس، با تهیه تصویر از برش های مغزی و با یک نرم افزار پردازشگر تصویر تعیین گردید.

یافته ها: حجم انفارکتوس ۴۸ ساعت بعد از آسیب امبولیک برای گروه های کنترل، روزیگلیتازون و دوزهای کم و زیاد آلفاتوکوترینول به ترتیب برابر با ۲/۶±۲۹/۴٪، ۳/۱±۱۵/۹٪، ۲/۱±۲۴/۹٪ و ۴/۸±۲۹٪ بود که بین گروه کنترل و RGZ اختلاف معنی داری مشاهده شد (p<۰/۰۵)، اما دوزهای کم و زیاد α–TCT تفاوت معنی داری نشان ندادند. همچنین در مقایسه با گروه کنترل، تنها RGZ، اختلالات نورولوژیک (p<۰/۰۵) و اختلال حسی (p<۰/۰۱) ایجاد شده متعاقب سکته مغزی را کاهش داد.

نتیجه گیری: تجویزآلفاتوکوترینول ۳ ساعت پس از ایسکمی مغزی فاقد اثرات محافظت نورونی است، اما RGZ ممکن است در مراقبت از سکته مغزی مؤثر باشد. لذا مطالعات بیشتری برای بررسی اثرات محافظت نورونی آلفاتوکوترینول بعد از سکته مغزی لازم است.

واژه های کلیدی: *ایسکمی مغزی، مدل امبولیک، آلفاتوکوترینول، ویتامین E، محافظت نورونی.*

دریافت: ۸۶/۱۲/۱۹، ارسال جهت اصلاح: ۸۷/۲/۱۸، پذیرش: ۸۷/۴/۱۹

مقدمه

سکته مغزی یکی از عوامل اصلی مرگ و میر و ناتوانی در سراسر جهان بوده و ۸۰-۷۰٪ موارد آن از نوع ترومبوامبولیک است. فقط درصد اندکی از بیماران با سکته ایسکمیک حاد (۳٪) درمان اختصاصی ترومبولیتیک را دریافت می کنند (۱). تلاش های گسترده ای برای افزایش درصد فوق در حال انجام است از جمله می توان به طولانی ترکردن زمان تجویز فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (rt-PA) به بیش از ۳ ساعت اشاره کرد (۲). علاوه بر تدابیر و درمانهای حل لخته و باز کردن مجدد عروق مسدود شده، تحقیقات بر درمان های فارماکولوژیک محافظت کننده نورون ها در شرایط ایسکمی متمرکز شده است. مدتهاست که داروهای بالقوه محافظ نورونی در ایسکمی مغزی که در مدل های حیوانی مؤثر بوده اند در کارآزمایی های بالینی تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفته اما متأسفانه در درمان سکته مغزی در انسان بی تاثیر بوده اند (۳). عوامل مختلفی در این عدم موفقیت نقش داشته اند از جمله ارزیابی های

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

ناقص فارماکودینامیک داروها در مطالعات تجربی، بویژه آنکه این داروها پنجره زمانی محدود داشته و در بیمارانی که به طور عمده با تاخیر مراجعه می کنند، مؤثر نبوده اند. بررسی ارزیابی درازمدت میزان تأثیر داروها در مدل های مختلف سکته مغزی و همچنین تجویز داروها با تأخیر و تا ساعت ها پس از القاء ایسکمی مغزی، امکان طراحی کار آزمایی های بالینی را دقیق تر کرده و امید یافتن داروهای مؤثر را زیاد می کند (۴). همچنان که میزگرد آکادمی درمان سکته مغزی (STAIR) پیشنهاد کرده، تأثیر یک داروی جدید محافظ نورونی در ایسکمی باید در مدل های مختلف حیوانی سکته مغزی، گونه های مختلف حیوانات و در آزمایشگاه های مختلفی به تأیید برسد و سپس مطالعات کار آزمایی بالینی انجام شود. همچنین معیارهای بهبودی باید شامل اندازه انفارکتوس و ارزیابی رفتار بوده و مدت زمانی که دارو پس از القاء سکته مغزی مؤثر است، نیز باید بررسی شود (۵).

مطالعات پایه و بالینی نشان داده اند که تولید رادیکال های آزاد یکی از مهمترین عوامل پاتوژنز آسیب ایسکمیک مغز است. چندین آنتی اکسیدان طبیعی مانند مشتقات ویتامین E به مقدار کم در بافت مغز وجود دارد که رادیکالهای آزاد را جمع آوری و حذف می کنند. اما در طی ایسکمی مغزی و بدنبال بر قراری مجدد جریان خون به علت تولید بسیار زیاد رادیکال های آسیب رسان، مقدار آنتی اکسیدان های طبیعی به حدی نیست که آنها را حذف نمایند (۶).

مطالعات نشان داده اند که تجویز آلفا توکوترینول(α -TCT) قبل از سکته مغزی در موش سوری و موش صحرایی حجم آسیب مغزی را کاهش می دهد (۷و۸). همچنین گزارش شده که α -TCT با غلظت های نانومول اثرات توکسیک گلوتامات را مهار کرده و با غلظتهای میکرومول خاصیت آنتی اکسیدانی دارد (۹). در مطالعاتی که اثر نوروپروتکتیو α -TCT را گزارش کرده اند، اثر این آنتی اکسیدان بر اختلالات نورولوژیک بررسی نشده و اثر آن فقط قبل یا بلافاصله بعد از ایسکمی مغزی مطالعه شده است (۹و۸). از طرفی، تجویز این دارو قبل از سکته مغزی فقط در زمانی که وقوع سکته مغزی قابل پیش بینی باشد ارزش دارد و بدلیل تأخیر در رساندن بیماران به بیمارستان و تأخیر در انجام اقدامات درمانی در بیمارستان، کمتر از ۳ درصد بیماران در طی سه ساعت اول تحت درمان قرار می گیرند. لذا در مطالعات پایه حتماً باید اثر تجویز یک داروی بالقوه تا ساعت ها پس از سکته مغزی بررسی شود (۱۰). روزیگلیتازون از دسته تیازولیدیند یونها بوده که اگونیستهای رسپتور هسته ای و فاکتور نسخه بردار فعال شونده بوسیله پروکسیزوم پرولیفراتور می باشند که حساسیت به انسولین را در بیماران دیابتی افزایش و قند خون را کاهش می دهد و هیچ تأثیری بر سطح گلوکز انسان و حیوان غیر دیابتی ندارند. این داروها اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدانی داشته و مطالعات متعددی اثرات محافظت نورونی آنها را در مدلهای مختلف سکته مغزی نشان داده اند (۱۳-۱۱). مدل امبولیک سکته مغزی روشی قابل اعتماد بوده و گزارش شده که پاتولوژی آن شبیه سکته مغزی در انسان می باشد (۱۴).

بنابراین، با توجه به اینکه تاکنون مطالعه ای در خصوص بررسی اثر آلفاتوکوترینول پس از سکته مغزی صورت نگرفته و این که اکثر بیماران با حملات عروقی مغز با تأخیر به بیمارستان مراجعه می کنند، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر محافظت نورونی آلفاتوکوترینول و روزیگلیتازون در سه ساعت بعد از القاء سکته مغزی مدل آمبولیک در موش صحرایی می باشد.

مواد و روشها

مطالعه به صورت تجربی بر روی موش های صحرائی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم که در سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته که آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند، استفاده گردید. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر بود. موش هایی که به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند از حلال ۱۰٪ دی متیل سولفوکساید (DMSO) و سایر گروهها بترتیب - α TCT (۱۰mg/kg و ۱؛ سلانگور، مالزی)، روزیگلیتازون (۱۰mg/kg؛ تاکریس، سوئیس) دریافت کردند. آلفاتوکوترینول و روزیگلیتازون در ۱۰٪DMSO حل شده بودند و بصورت داخل صفاقی ۳ ساعت پس از القاء سکته مغزی تزریق شدند. بمنظور تشکیل لخته، حیوان دهنده خون با فنوباربیتال سدیم (۵۰mg/kg) بیهوش شده و پس از جدا کردن شریان فمور از بافتهای اطراف نوک یک لوله پلی اتیلن-۵۰ به طول ۲۰ سانتیمتر وارد شریان گردید. سپس اجازه داده شد تا خون با فشار زیاد وارد لوله شود. پس از پر شدن لوله با خون، به مدت ۲ ساعت در دمای محیط (۲۴-۲۲°C) و سپس ۲۲ ساعت در دمای ۴°C نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت لخته از لوله پلی اتیلن خارج شده، با سالین شستشو داده شده و آماده تزریق به MCA گردید. به منظور آماده سازی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

حیوانات برای جراحی، ابتدا هر حیوان بوسیله ایزوفلوران بیهوش شده (۵٪ به منظور القاء و ۲٪ به منظور نگهداری) و دمای بدن آنها بوسیله پد گرم کننده که در زیر بدن حیوان قرار می گرفت در محدوده دمای طبیعی ۳۷ درجه نگهداری شد. از شریان دمی برای مانیتور کردن فشار خون که توسط کاتتری به دستگاه Powerlab متصل بود، استفاده شد. گازهای خون ($Pa\ Co^2$ و $Pa\ O^2$)، گلوکز و pH خون شریانی ۵ دقیقه قبل و بعد از القاء سکته مغزی اندازه گیری می شدند. جریان خون مغزی بوسیله لیزر داپلر ثبت گردید که برای این منظور یک برش طولی بر روی جمجمه ایجاد و عضله تمپورالیس کنار زده شد و یک حفره حدود ۱ میلیمتر عقب و ۵ میلی متر جانبی از برگما ایجاد گردید. ثبات دستگاه لیزر داپلر در داخل حفره بصورت خارج جمجمه ای قرار گرفته و در آنجا ثابت شده و ثبت جریان خون مغزی با فرکانس۲ هرتز صورت گرفت (۱۵).

نحوه ایجاد سکته مغزی مدل آمبولیک: سکته مغزی با امبولیزه کردن شریان مغزی میانی انجام گرفت (۱۵و۱۴). به طور خلاصه، ابتدا یک برش طولی بر روی پوست ناحیه جلویی گردن حیوان داده شد و شریان های کاروتید مشترک، داخلی و خارجی راست از بافتهای اطراف جدا گردیدند. بخش انتهایی شریان کاروتید خارجی راست توسط نخ۰-۴ ابریشمی گره زده و جدا شد. گره شلی در اطراف منشاء کاروتید خارجی راست بسته شد و شریانهای کاروتید مشترک و کاروتید داخلی موقتاً با استفاده از کلمپهای مخصوص شریانهای کوچک بسته شدند. ۵ میکرولیتر لخته از قبل تشکیل شده به توسط کاتتری پلی اتیلنی که نوک آن اصلاح گردیده بود پس از عبور دادن کاتتر از شریان های کاروتید خارجی و داخلی به داخل MCA تزریق شد. یک کاهش اولیه ۷۰ درصدی در جریان خون شریان مغزی میانی که بر روی مانیتور لیزر داپلر مشاهده شد، نشان دهنده انسداد موفقیت آمیز این شریان بود (۱۵). حیواناتی که کاهش ۷۰ درصدی را نشان ندادند از مطالعه خارج شدند. مدت زمان جراحی در هر حیوان بیشتر از ۳۰ دقیقه طول کشید.

اندازه گیری حجم انفارکتوس مغزی: حیوانات ۴۸ ساعت بعد از انسداد MCA کشته شدند و مغز آنها در دمای منهای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه نگهداری و سپس به برش هایی با ضخامت ۲ میلیمتر (۶ برش کرونال) برش داده شد. برش ها توسط محلول ۲ درصد ۲، ۳ و ۵- تری فنیل تترازولیم کلرید (TTC) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رنگ آمیزی و در نهایت با فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. نواحی آسیب دیده (انفارکتوس) فاقد رنگ و نواحی سالم به رنگ قرمز در آمد. در پایان برش ها اسکن شده و با یک نرم افزار پردازشگر تصویر پردازش شدند. حجم کل هر نیمکره و انفارکتوس هر نیمکره بوسیله مجموع ۶ برش پس از ضرب کردن در ضخامت مقاطع بدست آمد. حجم انفارکتوس مغز با فرمول زیر محاسبه گشت.

$$\text{حجم انفارکتوس} = \frac{\text{حجم نیمکره راست} - \text{حجم نیمکره چپ}}{\text{حجم نیمکره چپ}}$$

ارزیابی رفتار: اختلالات نورولوژیک در ساعات ۲، ۲۴ و ۴۸ پس از امبولیزه کردن MCA، با سیستم نمره دهی اصلاح شده بدرسون و همکاران اندازه گیری شد (۱۶). برای ارزیابی اختلال حس از تست برداشتن چسب از کف دست استفاده گردید (۱۷). حیوانات همه گروهها به مدت ۳ روز قبل از امبولیزه کردن MCA تحت آموزش برداشتن چسب از کف دست قرار گرفتند و اندکی قبل از جراحی عدد پایه (Baseline) عملکرد حسی آنها ثبت گشت. سپس ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی مورد ارزیابی مجدد قرار گرفتند. برای انجام تست برداشت چسب از کف دست، یک تکه از چسب کاغذی به اندازه $۱۰\times۱۰mm^2$ به کف دست طرف مقابل آسیب دیده چسبانده و مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان چسب را لمس کرده و سپس آنرا جدا کند در سه بار متوالی محاسبه و میانگین آن ثبت شد (۱۷). برای تأیید عبور آلفا توکوترینول از سد خونی- مغزی و رسیدن به ناحیه ایسکمی با تزریق داخل صفاقی (۱۰mg/kg)، غلظت مخچه ای دارو در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از سکته با کمک دستگاه HPLC اندازه گیری شد (۱۸). تعداد موشها برای اندازه گیری غلظت دارو در مخچه در ساعات ۲۴، ۴۸ و گروه کنترل به ترتیب ۳، ۳ و۲ بود.

حجم انفارکتوس، غلظت آلفا توکوترینول، اختلال حس و پارامترهای فیزیولوژیک به صورتMean±SEM نمایش داده شده و با آزمون آماری ANOVA یکطرفه و آزمون تکمیلی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلال نورولوژیک بصورت میانه و صدکهای ۲۵ و ۷۵ نشان داده شده و با آزمون غیرپارامتری کروسکال- والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

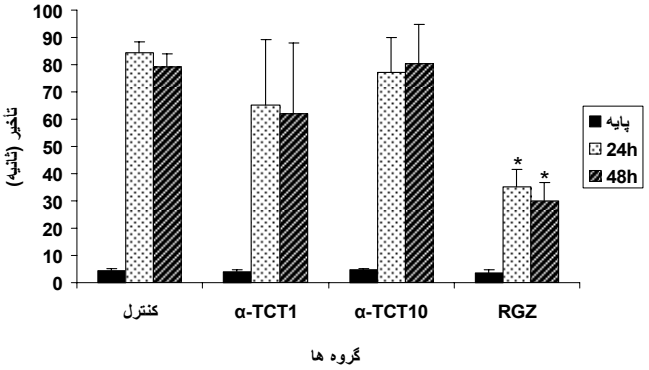
[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

یافته ها

در این مطالعه هیچ گونه انفارکتوس مغزی، اختلال نورولوژیک یا اختلال حس در گروه sham- جراحی مشاهده نگردید. تفاوت معنی داری در فشار گازهای خون، pH، ضربان قلب، قند خون و فشار خون شریانی مشاهده نشد. حجم انفارکتوس ۴۸ ساعت بعد از آسیب امبولیک برای گروه های کنترل، روزیگلیتازون و دوزهای کم و زیاد آلفا توکوترینول به ترتیب برابر با ۲/۶±۲۹/۴٪، ۳/۱±۱۵/۹٪، ۲/۱±۲۴/۹٪ و ۴/۸±۲۹٪ بود. در مقایسه با گروه کنترل، فقط روزیگلیتازون به میزان ۴۶٪ حجم انفارکتوس مغزی را کاهش داد ($p<۰/۰۵$)، اما دوزهای کم و زیاد آلفا توکوترینول هیچ گونه اثر محافظت نورونی معنی داری از خود نشان نداند.

اختلالات نورولوژیک گروههای مختلف در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. میانه اختلالات نورولوژیک در ۴۸ ساعت پس از القاء ایسکمی مغزی در گروه کنترل ۳، گروه RGZ ۱/۵ و هر دو گروه با دوز های کم و زیاد α-TCT ۴ بود. در مقایسه با گروه کنترل، RGZ ۴۸ ساعت پس از سکته مغزی اختلالات نورولوژیک را بطور معنی داری کاهش داد ($p<۰/۰۵$). در مقایسه با گروه کنترل، آلفا توکوترینول نتوانست اختلالات نورولوژیک را ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی بهبود بخشد. اثرات آلفا توکوترینول و روزیگلیتازون بر اختلال حس در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. درحالی که حیوانات درمان شده با روزیگلیتازون در ساعت ۲۴ و ۴۸ پس از سکته مغزی به طور معنی داری سریعتر از حیوانات گروه کنترل چسب کاغذی چسبیده به کف دستشان را بر می داشتند ($p<۰/۰۱$)، هیچکدام از دوزهای آلفا توکوترینول تفاوت معنی داری با گروه کنترل نشان ندادند (نمودار ۱).

غلظت آلفا توکوترینول مخچه حیوانات در گروه آلفا توکوترینول (۱۰ mg/kg) در ساعت ۲۴ برابر با ۰/۹۱±۰/۰۶ و در ساعت ۴۸ برابر با ۰/۴۷±۰/۱۴ mg/L و در گروه کنترل ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی برابر با ۰/۰۹±۰/۰۰۱ تعیین شد. غلظت آلفا توکوترینول مغز در حیوانات درمان شده با این دارو در ۲۴ ساعت بعد از سکته مغزی تفاوت معنی داری با گروه کنترل نشان داد ($p<۰/۰۱$).



نمودار ۲. اثر آلفاتوکوترینول و روزیگلیتازون ۳ ساعت بعد از سکته مغزی بر روی اختلال حس (مدت زمان تاخیر در برداشتن چسب کاغذی بر حسب ثانیه). گروهها شامل کنترل، آلفاتوکوترینول (α-TCT1 ،۱mg/kg)، آلفاتوکوترینول (α-TCT10 ،۱۰mg/kg) و روزیگلیتازون (RGZ ،۳mg/kg) بودند ($p<۰/۰۱$).

جدول ۱. نمره اختلالات نورولوژیک در گروههای مختلف

گروه ها / زمان	کنترل	آلفاتوکوترینول (۱mg/kg)	آلفاتوکوترینول (۱۰mg/kg)	روزیگلیتازون
۲ساعت	۳ (۴-۲)	۳ (۳-۲)	۳ (۴-۳)	۳ (۳/۷۵-۲)
۲۴ ساعت	۳ (۴-۲)	۳ (۴-۲)	۳ (۵-۳)	۳ (۲-۲)
۴۸ ساعت	۳ (۴-۳)	۴ (۴-۲)	۴ (۵-۲)	۱/۵ (۲-۱)*

اختلالات نورولوژیک در ساعات ۲، ۲۴ و ۴۸ پس از سکته مغزی اندازه گیری شد. داده ها به صورت میانه (صدکهای ۲۵ و ۷۵ درصد) نمایش داده شده اند ($p<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه اثر محافظت نورونی آلفاتوکوترینول و روزیگلیتازون بر ایسکمی مغزی ناشی از القاء سکته مغزی مدل آمبولیک در موشهای صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه هیچ گونه کاهش معنی داری در حجم انفارکتوس، اختلال نورولوژیک و یا اختلال حس را پس از تجویز آلفاتوکوترینول ۳ ساعت بعد از ایسکمی مغزی نشان نداد، اما روزیگلیتازون وقتی که همان زمان تزریق گردید بطور معنی داری باعث کاهش حجم

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

انفارکتوس، اختلال نورولوژیک و اختلال حس شد که مطالعات قبلی نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده اند (۱۲و۱۱). خانواده ویتامینE طبیعی شامل هشت مولکول شیمیایی مشخص α، β، γ و δ توکوفرول؛ و α، β، γ و δ توکوترینول هستند. توکوکرومانولها حاوی یک گروه سر کرومانول قطبی و یک زنجیره طرفی ایزوپرونوئید هستند که بوسیله داشتن وابستگی به زنجیره ایزوپرونوئید، توکوفرولها (حاوی یک زنجیره فیتیل) یا توکوترینولها از هم تشخیص داده می شوند (۱۹). از مهمترین علل از بین رفتن نورونهای مغزی پس از ایسکمی سمیت ناشی از گلوتامات بعد از سکته است که خود شامل دو جزء تحریک توکسیک و استرس اکسیداتیواست (۱۳). پیشنهاد شد که آلفاتوکوترینول مؤثرترین شکل ویتامین E در پیشگیری از آسیب ناشی از گلوتامات در نورونهای HT4 هیپوکامپ است. در غلظت نانومولار، آلفاتوکوترینول در مقایسه با آلفاتوکوفرول، باعث محافظت نورونها در مقابل مرگ نورونی ناشی از گلوتامات می شود که این اثر مستقل از خاصیت آنتی اکسیدانی آن است (۲۰). تزریق آلفا توکوترینول بلافاصله بعد از سکته مغزی، حجم انفارکتوس را دریک روز بعد از سکته کاهش می دهد در حالی که انواع گاما و دلتای آن چنین اثری ندارند (۷). در مطالعه حاضر طبق نظر STAIR اثر آلفا توکوترینول ۳ ساعت بعد از سکته مغزی مدل آمبولیک بررسی گردید، زیرا در هیچ یک از مطالعات گذشته اثر محافظت نورونی دراز مدت آلفا توکوترینول و همچنین تأثیر آن بر اختلال نورولوژیک و حس مورد بررسی قرار نگرفته بود. مهمترین راهبرد در مطالعات مربوط به سکته مغزی، یافتن داروهای بالقوه است که تا ساعتها پس از ایسکمی مؤثر باشند، چرا که درمان سکته معمولاً چند ساعت بعد از وقوع آن شروع می شود. یکی از دلایل همسو نبودن نتایج این مطالعه با دیگر بررسیهای گذشته ممکن است ناشی از زمان تجویز دارو بعد از سکته باشد. در واقع عدم موفقیت در بسیاری از کارآزمایی های بالینی ناشی از تأثیر کوتاه مدت ترکیبات و داروهایی است که تجویز می شوند (۲۱). بنابراین، داروی پیشنهادی برای کارآزمایی بالینی باید حداقل بیش از سه ساعت بعد از حمله مغزی هم مؤثر باشد (۲). سمیت ناشی از گلوتامات خیلی سریع و در طول فاز حاد سکته مغزی اتفاق می افتد و به همین دلیل است که آنتاگونیست های گلوتامات فقط مدت زمان کوتاهی یعنی یک یا دو ساعت بعد از سکته مغزی مؤثر واقع می شوند (۲۲). لذا از آنجا که آلفاتوکوترینول به طور عمده از طریق مهار آبشارهای توکسیک گلوتامات اثر می کند، در زمانی که این ترکیب تجویز گردید (۳ ساعت بعد از سکته) احتمالاً آبشارهای سمیت گلوتامات اتفاق افتاده و این دارو دیگر اثر محافظتی نشان نداده است. البته انتظار می رفت که آلفاتوکوترینول از طریق اثر آنتی اکسیدانی خود حتی در سه ساعت پس از ایسکمی نیز مؤثر واقع شود که عملاً چنین نبود (۹). این یکی از محدودیتهای این مطالعه است. گمان می شد که شاید آلفاتوکوترینول با تزریق داخل صفاقی به مغز نرسیده که اثر محافظت نورونی دارو مشاهده نشده است. لذا غلظت مخچه ای آنرا در ۲۴ ساعت بعد از تزریق اندازه گیری و مشاهده گردید که غلظت آن تا ۱۰ برابر غلظت پایه افزایش یافته است. بنابراین، عدم مشاهده اثر نوروپروتکتیو، ناشی از روش تجویز دارو نبوده است. اخیراً پیشنهاد شده که دوز بی خطر آلفاتوکوترینول در انسان mg/d ۱۰۰۰–۲۰۰ است (۲۳). بنابراین دوزهایی که در این آزمایشات استفاده گردید مناسب و کافی بوده است. لذا، با توجه به یافته های پیش از مطالعه حاضر، تجویز آلفاتوکوترینول ممکن است قبل از ایسکمی مغزی ممکن است قابل پیش بینی به عنوان یک محافظت کننده نورونی پیشگیری کننده مؤثر باشد، اما بر اساس این یافته ها در سه ساعت پس از سکته مغزی مؤثر نیست، بنابراین هنوز نمی توان آنرا برای استفاده در کارآزمایی های بالینی توصیه کرد.

یافته های این مطالعه نشان داد که تجویزآلفاتوکوترینول ۳ ساعت پس از القاء ایسکمی مغزی فاقد اثرات محافظت نورونی است، اما RGZ ممکن است در درمان و مراقبت از سکته مغزی مؤثر باشد. مطالعات بیشتری برای بررسی اثرات محافظت نورونی آلفاتوکوترینول بعد از سکته مغزی لازم است.

****

References

1. Heuschmann PU, Kolominsky Rabas PL, Roether J, et al. Predictors of in-hospital mortality in patients with acute ischemic stroke treated with thrombolytic therapy. J Am Med Assoc 2004; 292(15): 1831-8.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

2. Hacke W, Albers G, Al Rawi Y, et al. The Desmoteplase in Acute Ischemic Stroke Trial (DIAS): a phase II MRI-based 9-hour window acute stroke thrombolysis trial with intravenous desmoteplase. Stroke 2005; 36(1): 66-73.

3. Schäbitz WR, Fisher M. Perspectives on neuroprotective stroke therapy. Biochem Soc Trans 2006; 34(6): 1271-6.

4. Williams AJ, Berti R, Dave JR, Elliot PJ, Adams J, Tortella FC: Delayed treatment of ischemia/reperfusion brain injury: extended therapeutic window with the proteosome inhibitor MLN519. Stroke 2004; 35(5): 1186-91.

5. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR). Stroke 1999; 30: 2752-8.

6. Nanetti L, Taffi R, Vignini A, et al. Reactive oxygen species plasmatic levels in ischemic stroke. Mol Cell Biochem 2007; 303(1-2): 19-25.

7. Mishima K, Tanaka T, Pu F, et al. Vitamin E isoforms alpha tocotrienol and gamma tocopherol prevent cerebral infarction in mice. Neurosci Lett 2003; 337(1): 56-60.

8. Khanna S, Roy S, Slivka A, et al. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol. Stroke 2005; 36(10): 2258-64.

9. Khanna S, Roy S, Parinandi NL, Maurer M, Sen CK. Characterization of the potent neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol. J Neurochem 2006; 98(5): 1474-86.

10. Ferguson KN, Kidwell CS, Starkman S, Saver JL. Hyperacute treatment initiation in neuroprotective agent stroke trials. J Stroke Cerebrovasc Dis 2004; 13(3): 109-12.

11. Allahtavakoli M, Shabanzadeh AP, Sadr SS, Parviz M, Djahanguiri B. Rosiglitazone a peroxisome proliferator-activated receptor-γ ligand reduces infarction volume and neurological deficits in an embolic model of stroke. Clin Exp Pharmacol Physiol 2006; 33(11): 1052-8.

12. Pereira MP, Hurtado O, Cárdenas A, et al. Rosiglitazone and 15-deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 cause potent neuroprotection after experimental stroke through noncompletely overlapping mechanisms. J Cereb Blood Flow Metab 2006; 26(2): 218-29.

13. Schubert D, Piasecki D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade. J Neurosci 2001; 21(19): 7455-62.

14. 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.

15. 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.

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): 472-6.

17. Schallert T, Woodlee MT. Orienting and placing. In: Whishaw IQ, Kolb B (ed). The behaviour of the laboratory rat. A handbook with tests, 2nd ed, New York, Oxford University Press 2005; pp: 129-40.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

18. Lee BL, New AL, Ong CN. Simultaneous determination of tocotrienols, tocopherols, retinol, and major carotenoids in human plasma. Clin Chem 2003; 49(12): 2056-66.

19. Dormann P. Functional diversity of tocochromanols in plants. Planta 2007; 225(2): 269-76.

20. Sen CK, Khanna S, Roy S, Packer L. Molecular basis of vitamin E action. Tocotrienol potently inhibits glutamate-induced pp60(c-Src) kinase activation and death of HT4 neuronal cells. Biol Chem 2000; 275(17): 13049-55.

21. Maher P, Salgado KF, Zivin JA, Lapchak PA. A novel approach to screening for new neuroprotective compounds for the treatment of stroke. Brain Res 2007; 1173: 117-25.

22. Hsu CY, Ahmed SH, Lees KR. The therapeutic time window-theoretical and practical considerations. J Stroke Cerebrovasc Dis 2000; 9(6 Pt 2): 24-31.

23. Yu SG, Thomas AM, Gapor A, Tan B, Qureshi N, Qureshi AA. Dose-response impact of various tocotrienols on serum lipid parameters in 5-week-old female chickens. Lipids 2006; 41(5): 453-61.

*آدرس نویسنده مسئول: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۴۰۰۳۵۲۳-۰۳۹۱.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]

EFFECT OF α-TOCOTRIENOL AND PROXISOME PROLIFRATIVE-ACTIVATED RECEPTOR LIGAND ON THE BRAIN ISCHEMIA IN MALE RAT

M. Allahtavakoli (PhD) [1*], A. Shamsizadeh (PhD) [2], M. Mahmoodi (PhD) [3], R Moloudi (MSc) [4], M.E. Rezvani (PhD) [2]

1. [*] *Assistant Professor of Physiology Department, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, Mohammadatir@yahoo.com,* ***2.*** *Assistant Professor of Physiology Department, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, 3. Associate Professor of Biochemistry Department, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran,* ***4.*** *MSc in Physiology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Stroke is one of the leading causes of death and disability in the world. Previous studies have demonstrated that α-tocotrienol (α-TCT) and rosiglitazone (RGZ) reduce ischemic damage by middle cerebral artery (MCA) occlusion when administered before ischemic stroke in mice and rats. The aim of this study was to investigate the neuroprotective effects of α-TCT and RGZ at 3 hours after cerebral ischemia.

METHODS: In this experimental study, stroke was induced by embolizing a preformed clot into the MCA. Male Wistar rats (300-350 gr) were assigned to α-TCT (1 or 10 mg/kg), rosiglitazone (RGZ) and sham-operation. The drugs were injected i.p. Stained brain sections were scanned and infarct area were determined using a picture analyzer software.

FINDINGS: Forty eight hours after embolic ischemia, infarct volume in the control, RGZ, low and high doses of α-TCT were 29.4±2.6%, 15.9±3.1%, 24.9±2.1% and 29±4.8%, respectively. There was a significant difference between control and RGZ groups ($p<0.05$). Compared to the control group, the low and high doses of α-TCT didn't show any significant difference. Furthermore, only RGZ decreased neurological deficits ($p<0.05$) and sensory impairments ($p<0.01$).

CONCLUSION: Administration of α-TCT at 3 hr after induction of cerebral ischemia is not neuroprotective but RGZ may have beneficial effects on treatment and management of stroke. So further studies are needed to survey the neuroprotective effects of α-TCT after stroke.

KEY WORDS: *Cerebral ischemia, Embolic model, α-tocotrienol, Vitamin E, Neuroprotection.*

Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(3): 7-14.

Received: March 9th 2008, Revised: May 7th 2008, Accepted: July 9th 2008

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.3.1.3]