مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۶، خرداد ۱۳۹۳، صفحه ۵۶-۵۰

بررسی خودتنظیمی جریان خون مغز در آغاز مرحله خونرسانی مجدد در مدل ایسکمی موقتی- موضعی موش صحرایی

محمدتقی محمدی(PhD)[1*]، غلامعباس دهقان(PhD)[2]

۱- گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دریافت: ۹۲/۳/۱۹، اصلاح: ۹۲/۶/۱۳، پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: خونرسانی مجدد بدنبال ایسکمی مغزی با آزادسازی فاکتورهای مختلف موثر بر عروق همراه بوده که می تواند خودتنظیمی عروق مغز، بعنوان یک مکانیسم هموستازی جریان خون، را تغییر دهد. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر ایسکمی موقتی- موضعی بر خود تنظیمی جریان خون مغز در آغاز مرحله خونرسانی مجدد انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه بر روی ۱۲ سر موش صحرایی نر که به دو گروه ۶ تایی شاهد و ایسکمی تقسیم شدند، انجام گردید. در گروه ایسکمی، ایسکمی موقتی- موضعی مغز با روش انسداد شریان میانی مغز (MCAO) با۶۰ دقیقه انسداد و بدنبال آن ۱۲ ساعت خونرسانی مجدد انجام شد. جریان خون موضعی مغز (rCBF) به طور پیوسته در طول آزمایش ثبت شده و حجم ضایعه با روش رنگ آمیزی تری- فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) بعد از پایان ۱۲ ساعت MCAO انجام گردید. جهت اندازه گیری خودتنظیمی جریان خون مغز ۳۰ دقیقه پس از آغاز خونرسانی مجدد، از مدل القاء پرفشاری شریانی موقت (تزریق داخل وریدی فنیل افرین ۰/۰۱ گرم در ۱۰mL سالین و با افزایش ۰/۱μg/min) همزمان با ثبت جریان خون موضعی ناحیه ایسکمی استفاده شد.

یافته ها: میانگین جریان خون ناحیه خونرسانی شریان میانی مغز در گروه ایسکمی هنگام انسداد ۸۰٪ نسبت به گروه شاهد کاهش داشته و القاء ایسکمی/ خونرسانی مجدد مغز ضایعه وسیعی در نیمکره راست گروه ایسکمی ($326\pm5mm^3$) ایجاد نمود. افزایش فشار خون از ۹۰mmHg تا ۱۷۰mmHg تاثیر چندانی بر جریان خون موضعی مغز حیوانات شاهد نداشت. اما در گروه ایسکمی همزمان با افزایش فشار شریانی از ۹۰mmHg جریان خون ناحیه ایسکمی با سرعت و در تبعیت از افزایش فشار شریانی افزایش پیدا کرد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که خودتنظیمی جریان خون مغز در مرحله آغازین خونرسانی مجدد بشدت در ناحیه ایسکمی آسیب دیده و سبب تشدید ضایعه ناشی از ایسکمی مغزی می شود.

واژه های کلیدی: ضایعه ایسکمی/خونرسانی مجدد، خودتنظیمی، فنیل افرین، جریان خون منطقه ایسکمی.

مقدمه

خودتنظیمی جریان خون مغز، به عنوان یک مکانیسم هموستازی، از تغییرات جریان خون مغز در پاسخ به تغییرات فشار پرفیوژن مغزی جلوگیری می کند. پدیده خودتنظیمی عروق مغز در برخی حالات پاتولوژیک دستخوش تغییرات بزرگی می شود که از جمله این شرایط می توان به بروز سکته مغزی، ترومای مغز و پرفشاری شریانی اشاره کرد (۳-۱). سکته مغزی به معنای کاهش شدید و یا قطع جریان خون در یک ناحیه از مغز بوده که سبب تشکیل ضایعه در آن ناحیه می شود. در ناحیه ایسکمی شده بعد از زمان کوتاهی سلولهای ناحیه مرکزی (Core) از بین رفته ولی سلولهای اطراف آن در ناحیه محیطی (Penumbra) به دلیل دریافت خون از مناطق مجاور می توانند مدت زمان طولانی تری زنده بمانند (۴و۵). درصد زنده ماندن سلول های مغزی در نواحی محیطی بشدت به فشار پرفیوژن بافتی و عملکرد صحیح خودتنظیمی جریان خون عروق مغز وابسته است (۶). حفظ عملکرد صحیح خودتنظیمی و کنترل دقیق جریان خون مغز در ناحیه دچار سکته هم در مرحله انسداد و هم در مرحله خونرسانی مجدد در تعیین شدت ضایعه مغزی از اهمیت بسزایی برخوردار است (۷). براساس مطالعه Immink خودتنظیمی جریان خون مغز در طی ایسکمیهای موضعی در نواحی خونرسانی شریان میانی مغز به شدت آسیب دیده (۸) و در

* مسئول مقاله: دکتر محمدتقی محمدی
آدرس: تهران، اقدسیه، جنب شمال غربی میدان ارتش، مجتمع آموزشی ولایت، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، تلفن: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۵۷
E-mail: mohammai.mohammadt@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]

مطالعه دیگری که در مدل ترومای مغزی توسط Wintermark و همکاران انجام شد در نواحی آسیب دیده این خودتنظیمی از بین رفته است (۹). همچنین در یک مطالعه نقص در عملکرد خودتنظیمی حتی ۴ روز پس از سکته هم گزارش شده است (۱۰). بدنبال ایسکمی ایجاد شده بخصوص در مراحل اولیه یکسری تغییرات متابولیک و همودینامیک بوجود آمده که با تغییر در تونوسیته دیواره عروق مغز همراه است (۷). تون پایه عروق که تونوسیته میوژنیک نام دارد با ایجاد یک انقباض نسبی در حالت طبیعی بهمراه فاکتور های آزاد شده اندوتلیالی و متابولیکی از تغییرات جریان خون مغز در پاسخ به تغییرات فشار پرفیوژن بافتی جلوگیری می کند و این پاسخ محصول واکنش بین عضله صاف عروق و لایه اندوتلیال است (۱۲و۱۱). از آنجایی که در اوایل خونرسانی مجدد بسیاری از مواد تغییر دهنده قطر عروق منجمله اندوتلین، نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و آنژیوپوئیتین آزاد شده به نظر می رسد این مرحله با تغییرات مقاومت عروق و از بین رفتن خودتنظیمی جریان خون مغز در نواحی ایسکمی شده همراه باشد و چون اثرات این مواد بر روی قطر عروق متفاوت بوده به طوری که بعضی گشاد کننده و بعضی تنگ کننده هستند می بایست اثرات متناقض بر خودتنظیمی جریان خون نواحی ایسکمی مغز ایجاد نمایند (۱۳). طبق نتایج بدست آمده از مطالعه Cipolla و همکاران تونوسیته میوژنیک ۳۰ دقیقه بعد از ایسکمی مغزی کاهش پیدا کرده است (۱۲). همچنین نتایج تحقیقاتی که با استفاده از داروهای فعال کننده فاکتور پلاسمینوژن بافتی در زمان ایسکمی های مغزی بدست آمده کاهش پاسخ دهی و واکنش پذیری شریان های مغزی در ناحیه ایسکمی شده را گزارش کرده اند و رابطه مستقیمی بین کاهش تونوسیته عروق و تشدید ضایعه ناشی از ایسکمی مغزی در مرحله خونرسانی مجدد را نشان داده اند (۱۳). از آنجایی که عملکرد درست پدیده خودتنظیمی و کنترل دقیق جریان خون مغز در ناحیه دچار انسداد در ابتدای مرحله خونرسانی مجدد نقش تعیین کننده در شدت ضایعه ناشی از سکته مغزی دارد بر این اساس در این مطالعه تغییرات پدیده خودتنظیمی جریان خون مغزی بدنبال ایسکمی موضعی- موقتی، در آغاز مرحله خونرسانی مجدد (۳۰ دقیقه پس از آغاز خونرسانی) در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

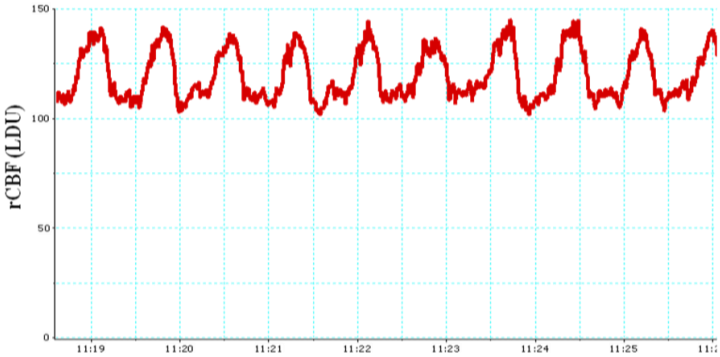
حیوانات و نگهداری آنها: در این مطالعه از موش های صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley تهیه شده از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با محدوده وزنی ۳۲۰-۲۸۰ گرم استفاده شد. تمامی آزمایشها طبق مقررات اخلاقی کار با حیوانات مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام گردید. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی، رطوبت مناسب، درجه حرارت $22\pm2^{o}C$ و با دسترسی آزاد به آب و غذا تا روز آزمایش نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات:

گروه شاهد (n= ۶): در این گروه عمل جراحی جهت گذاردن پروب لیزر داپلر در سطح جمجمه و آشکارسازی شریان کاروتید مشترک و شریانهای کاروتید خارجی و داخلی در ناحیه گردن انجام شده ولی عمل انسداد شریان میانی مغز صورت نپذیرفت. تمام موارد آزمایش از جمله ثبت پارامترهای مورد نظر انجام شد.

گروه ایسکمی (n= ۶): کلیه اعمال جراحی تا مرحله القاء ایسکمی مشابه گروه شاهد بوده و القاء ایسکمی به مدت ۶۰ دقیقه در این گروه انجام شد. مرحله خونرسانی مجدد با بیرون کشیدن آهسته نخ شروع شده و بعد از ۱۵ دقیقه محل جراحی بخیه زده شده و حیوان در محل مناسب نگهداری گردید. ۱۲ ساعت بعد از شروع مرحله خونرسانی مجدد در حیواناتی که زنده ماندند تحت بیهوشی عمیق و با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم حیوان را کشته، سر را جدا کرده، مغز را با احتیاط کامل از جمجمه خارج نموده و جهت بررسی حجم ضایعه مغزی آماده سازی شد.

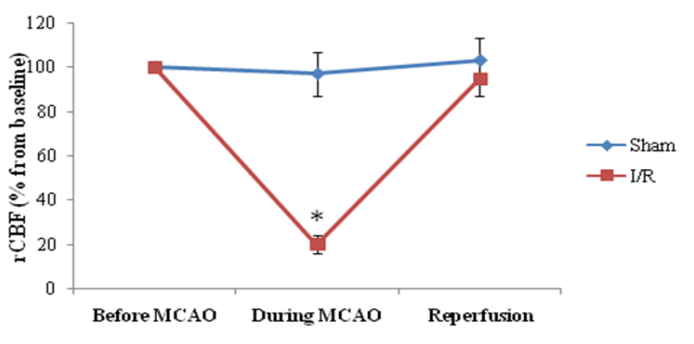
روش اندازه گیری جریان خون ناحیه ایسکمی: برای آماده سازی حیوان جهت ثبت جریان خون ناحیه ایسکمی مغز، فشار خون شریانی و ایجاد ایسکمی موقتی- موضعی، حیوان با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰mg/kg) بیهوش گردید. همزمان با القاء بیهوشی و با تزریق سولفات آتروپین (۰/۵ mg/kg) ترشحات مجاری تنفسی کاهش داده شد تا حیوان طی جراحی و دوره آزمایش با مشکل تنفسی موجه نشود. برای ثبت جریان خون ناحیه ای مغز (regional Cerebral Blood Flow, rCBF) از دستگاه لیزر داپلر فلومتری (AD instrument, model; ML191, Australia) استفاده گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱. نمونه ثبت شده جریان خون موضعی مغز (Regional Cerebral Blood Flow, rCBF) قبل از انسداد شریان میانی مغز از روی استخوان جمجمه موش صحرایی بر حسب واحد لیزر داپلر (Laser Doppler Unit, LDU)

برای انجام این کار ابتدا ناحیه بین گوش و چشم راست تراشیده و با برش دادن پوست و کنار زدن عضله تمپورالیس سطح استخوان تمیز گردیده و پروب لیزر داپلر مستقیما بر روی استخوان جمجمه قرار داده شد. بعد از تثبیت پروب در محل مناسب، عضله را بر روی آن برگردانده و پوست ناحیه برش داده شده را با دقت دوخته تا در طول آزمایش از حرکت و یا جابجائی پروب جلوگیری شود. بر اساس تجربه و منابع محل قرارگرفتن پروب طوری انتخاب شد که همزمان با انسداد شریان میانی مغز میزان جریان خون آن ناحیه تا حدود ۸۵-۷۵ درصد نسبت به قبل از انسداد کاهش یابد (۱۴). ثبت پیوسته جریان خون ناحیه ای مغز در گروه شاهد در تمام طول دوره آزمایش و گروههای ایسکمی شده از ۱۵ دقیقه قبل از انسداد شریان میانی مغز تا ۱۵ دقیقه بعد از بازگشائی آن ادامه پیدا کرد (نمودار ۲). همزمان با ثبت جریان خون در تعدادی از حیوانات با قرار دادن یک کانول پلی اتیلن در شریان دمی به کمک ترانسدیوسر فشار و اتصال آن به دستگاه Power Lab (AD instrument, model; ML786, Australia) فشار شریانی نیز اندازه گیری و ثبت گردید.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]



نمودار ۲. تغییرات جریان خون ناحیه ایسکمی بر پایه درصد جریان خون پایه قبل، حین، و بعد از انسداد شریان میانی مغز (MCAO) در گروه شاهد (Sham) و ایسکمی (I/R).

داده ها به صورت Means ± SEM نشان داده شده است.

* نشانگر تفاوت معنی دار با P < ۰/۰۵ با گروه شاهد

روش القاء ایسکمی موضعی-موقتی مغز: برای آماده سازی حیوان جهت ایجاد ایسکمی موقتی-موضعی مغز از روش ارائه شده توسط Longa و همکاران استفاده گردید (۱۵). بعد از تثبیت حیوان بر روی میز جراحی، ناحیه گردن از وسط باز شده و بافت همبند و عضلات را کنار زده تا امکان دسترسی آسان به شریان کاروتید مشترک و شاخه های آن (خارجی و داخلی) فراهم گردد. در گروه ایسکمی جهت القاء سکته، با بستن موقت شریان کاروتید مشترک طرف راست، شکاف ظریفی در شاخه کاروتید خارجی ایجاد نموده و همزمان با بستن قسمت پائین آن، نخ نایلون آماده شده (شماره۰-۳) که نوک آن توسط حرارت گرد شده و سطح آن با پلی ال- لیزین پوشانده شده بود را از راه شکاف وارد شریان داخلی و از آنجا به آرامی به داخل جمجمه و به طرف حلقه ویلیس هدایت کرده تا به ابتدای شریان میانی مغز برسد. با عبور نوک نخ از ابتدای شریان میانی مغز، جریان خون ناحیه مورد نظر که توسط لیزر داپلر ثبت می شد، شدیدا کاهش پیدا می کرد (نمودار ۱). بعد از اطمینان از قطع و یا کاهش شدید خونرسانی تا حدود ۷۵ تا ۸۵ درصد زمان قبل از انسداد، با بررسی منحنی ثبت جریان خون ناحیه ایسکمی، نخ نایلون را به مدت یک ساعت در محل تثبیت شد. برای خاتمه ایسکمی و خونرسانی مجدد، با مشاهده منحنی لیزر داپلر، نخ نایلون به آرامی از رگ درآورده و با بستن شریان خارجی زخمهای ایجاد شده در ناحیه گردن را بخیه زده و حیوان تا بهوش آمدن در محل گرم نگهداری شد.

اندازه گیری حجم ضایعه مغزی: جهت اندازه گیری حجم ضایعه مغزی در نیمکره ایسکمی، مغز خارج شده از جمجمه را برای سخت شدن به مدت ۵ دقیقه در نرمال سالین ۴ درجه قرار داده و سپس با استفاده از Brain Matrix شش برش عرضی (coronal) به قطر ۲ میلیمتر تهیه و جهت رنگ آمیزی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۲ درصد تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) گذاشته شدند (۱۶). در این روش رنگ آمیزی، ناحیه ایسکمی شده مغز به رنگ سفید و نواحی سالم به رنگ قرمز آجری در می آید (شکل ۱). برش های رنگ شده را جهت تثبیت شدن به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد بافر شده قرار داده و بعد از آماده سازی نهائی، از هر شش برش بطور جداگانه توسط دوربین دیجیتال (Cannon, Japan) عکس گرفته و با استفاده از کامپیوتر و نرم افزار مخصوص (NIH image Analyzer) سطح کل ناحیه ضایعه دیده با روش استاندارد محاسبه گردید.



شکل ۱. فوتوگراف تهیه شده از بافت مغز رنگ آمیزی شده به روش TTC ۱۲ ساعت بعد از خونرسانی مجدد.

منطقه سفید نشان دهنده ناحیه ایسکمی و منطقه قرمز نشان دهنده قسمت سالم مغز است. گروه شاهد (Sham)، گروه ایسکمی (I/R)

اندازه گیری خودتنظیمی جریان خون مغز: جهت اندازه گیری خود تنظیمی (Autoregulation) جریان خون مغز، از یک مدل القاء پرفشاری شریانی گذرا همزمان با ثبت فشار خون شریانی و جریان خون موضعی مغز استفاده شد (۳). ۳۰ دقیقه بعد از پایان جراحی مربوط به ایسکمی/خونرسانی مجدد در حیوانات گروه شاهد و همچنین ۳۰ دقیقه پس از آغاز خونرسانی مجدد در حیوانات گروه ایسکمی اندازه گیری خودتنظیمی جریان خون مغز انجام شد. جهت ثبت جریان خون مغز در ناحیه خونرسانی شریان میانی مغز از پروب لیزر داپلر طبق روش ارائه شده در بالا که قبل از القاء ایسکمی و شروع جراحی بر روی سطح استخوان جمجمه قرار داده شد استفاده گردید. این ناحیه محل ثبت جریان خون شریان میانی مغز بود که در حین ایسکمی کاهش پیدا می کرد. جهت ثبت فشار خون، کاتتر از قبل هپارینه شده را در شریان فمورال گذاشته و کاتتر دیگری جهت تزریق فنیل افزین (PE, 0.01 g/10 mL saline) در داخل ورید فمورال قرار داده می شد. تزریق فنیل افرین توسط پمپ پرفیوژن به صورت ادامه دار از ۰/۵ µg/min شروع شده و با افزایش مقدار تزریق (به میزان µg/min ۰/۱) در فاصله های منظم یک دقیقه ای انجام می شد تا بالا رفتن فشار خون در نهایت سبب شکسته شدن خودتنظیمی گردش خون مغز (Breakthrough autoregulation) شود (نمودار ۴).

برای مقایسه داده های بدست آمده از نرم افزار Spss و با روش آماری Student T-Test استفاده شد و P <۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

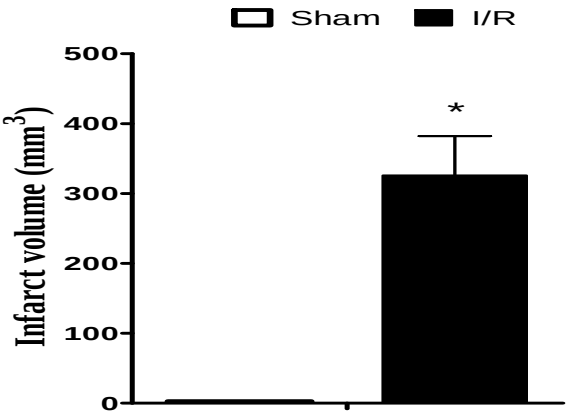
یافته ها

نمونه ثبت جریان خون در نیمکره راست حیوان سالم (محدوده خونرسانی شریان میانی مغز) در حالت طبیعی توسط جریان سنج لیزر داپلر ثبت شده است

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]

(نمودار ۱). همانطور که نمودار نشان می دهد میزان جریان خون طبیعی مغز با دوره های متناوب چرخه قلبی تغییر می یابد. همچنین تغییرات جریان خون ناحیه ایسکمی (نیمکره راست) قبل از انسداد شریان میانی مغز، ۶۰ دقیقه دوره ایسکمی و ۱۵ دقیقه اول خونرسانی مجدد در نمودار ۲ نمایش داده شده است. همانطور که نمودار نشان می دهد با انسداد شریان میانی مغز جریان خون ناحیه ایسکمی که به طور طبیعی از این شریان تغذیه می شود به میزان زیادی در مقایسه با زمان قبل ایجاد ایسکمی کاهش یافته و در طول ۶۰ دقیقه دوره انسداد تغییر قابل ملاحظه ای در آن مشاهده نگردید. میانگین این کاهش در گروه ایسکمی در طول دوره انسداد به میزان ۸۰٪ نسبت به حالت قبل از ایسکمی بوده که در نمودار ۲ به خوبی نشان داده شده است. بعد از باز کردن شریان میانی مغز جریان خون در ناحیه ایسکمی بسرعت و تا حدقبل از انسداد، بدون آنکه بین میانگین آنها در زمان خونرسانی مجدد از نظر آماری تفاوت قابل ملاحظه وجود داشته باشد، بالا رفت.

شکل ۱ مقاطع تهیه شده از بافت مغز با رنگ آمیزی TTC در گروه شاهد و ایسکمی را نشان می دهد. یکنواختی رنگ قرمز آجری تاییدی بر عدم وجود ضایعه بافتی در نیمکره راست و چپ گروه شاهد و نیمکره چپ گروه ایسکمی می باشد، در حالیکه القاء ایسکمی/خونرسانی مجدد توانسته ضایعه نسبتا وسیعی را با رنگ سفید در کورتکس و هم ساب کورتکس نیمکره راست گروه ایسکمی ایجاد نماید. حجم ضایعه مغزی ایجاد شده در نیمکره راست گروه ایسکمی $۳۲۶\pm۵mm^3$ بود (نمودار ۳)، در حالی که میزان ضایعه در نیمکره راست گروه شاهد عملا صفر است.



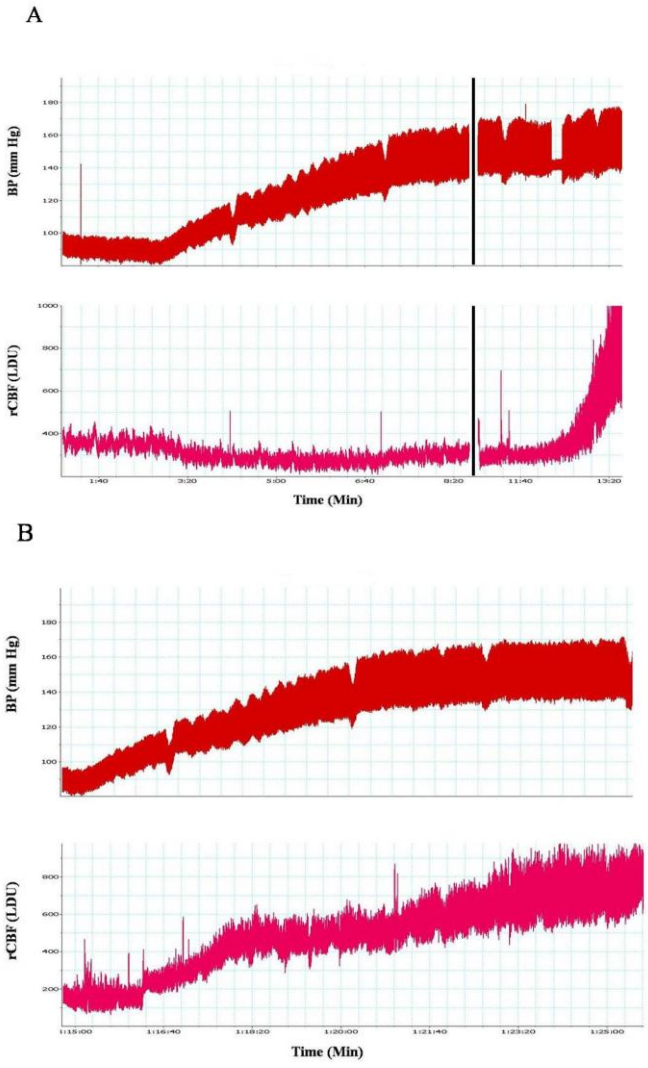
نمودار ۳. نمودار حجم ضایعه کل ۱۲ ساعت بعد از خونرسانی مجدد در گروه شاهد (Sham) و ایسکمی (I/R).

داده ها به صورت Means ±SEM نشان داده شده است.

* تفاوت معنی دار با $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد.

پدیده خود تنظیمی جریان خون مغز در یک حیوان سالم و بدون ایسکمی مغزی با فشار خون طبیعی که از طریق ثبت همزمان جریان خون موضعی ناحیه مشروب شده توسط شریان میانی مغز و فشار شریانی بدست آمده در نمودار ۴- A نشان داده شده است. همان طوری که در قسمت بالای این تصویر مشخص شده، بالا بردن فشار خون به صورت گذرا و حاد با تزریق آهسته و پیوسته فنیل افرین از محدوده فشار ۱۰۰-۹۰ mmHg تا مقادیر نسبتا بالای ۱۷۰-۱۶۰ mmHg تاثیر چندانی بر جریان خون موضعی مغز نداشت. اما با افزایش فشار خون به بیش از حدود ۱۷۰ mmHg، جریان خون مغز بصورت ناگهانی و سریع افزایش پیدا کرد، که نشانه شکسته شدن پدیده خود تنظیمی جریان خون مغز (Breakthrough autoregulation) در فشارهای شریانی بالا می باشد.

نمودار ۴- B فقدان پدیده خودتنظیمی جریان خون مغز را ۳۰ دقیقه پس از آغاز خونرسانی مجدد بعد از القاء ایسکمی در یک حیوان با فشار خون طبیعی را نشان می دهد. به طوری که همزمان با افزایش فشار خون شریانی از محدوده ۱۰۰-۹۰ mmHg جریان خون در ناحیه ایسکمی شده نیز با سرعت زیاد و در تبعیت از افزایش فشار شریانی افزایش پیدا کرد. مقایسه نمودار تغییرات جریان خون بافت مغز نسبت به تغییرات فشار شریانی در مغز حیوان ایسکمی شده در مقایسه با مغز حیوان بدون ایسکمی به خوبی نشان داد که ایسکمی/خونرسانی مجدد پدیده خود تنظیمی جریان خون مغز را حتی در محدوده طبیعی فشار شریانی از بین برده است.



نمودار ۴. A: منحنی عملکرد خود تنظیمی جریان خون مغز در نیمکره راست موش صحرایی سالم. B: منحنی عملکرد خود تنظیمی جریان خون مغز در نیمکره راست موش صحرایی ایسکمی شده ۳۰ دقیقه بعد از شروع خونرسانی مجدد. تغییرات فشار خون شریانی بر حسب میلی متر جیوه (BP, mmHg) و تغییرات جریان خون بافت مغز (rCBF) در محل خونرسانی شریان میانی نیمکره راست مغز بر حسب واحد لیزر داپلر (LDU) نشان داده شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که انسداد شریان میانی مغز با روش فیلامان داخل رگی به مدت ۶۰ دقیقه توانسته ضایعه زیادی در نیمکره راست مغز ایجاد کرده و پدیده خودتنظیمی جریان مغزی را در نواحی ضایعه دیده و در اوایل دوره خونرسانی مجدد (۳۰ دقیقه پس از آغاز خونرسانی مجدد) به طور کامل از بین برده است. بر این اساس شاید بتوان گفت که آسیب به خودتنظیمی جریان خون مغز در آغاز مرحله خونرسانی مجدد در ناحیه ایسکمی شده نقش کلیدی و تعیین کننده در میزان و شدت ضایعه بوجود آمده داشته باشد.

آسیب به عروق مغز در همان مراحل اولیه انسداد و ایسکمی مغز آغاز شده و به طور پیشرونده شدت آن افزایش می یابد (۱۳). از طرفی با آغاز خونرسانی مجدد گرچه رساندن اکسیژن و مواد غذایی به نواحی ایسکمی بهتر شده ولی تحقیقات صورت گرفته نشان داده که در زمان خونرسانی مجدد بسیاری از مواد تغییر دهنده قطر عروق منجمله اندوتلین، نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و آنژیوپوئیتین آزاد شده و باعث تغییر در مقاومت عروقی در ناحیه ایسکمی شده، می شود (۱۳). از آنجایی فاکتورهای موثر بر قطر و مقاومت عروقی نقش تعیین کننده در فشار پرفیوژن بافتی داشته بنابراین می بایست در خودتنظیمی جریان خون ناحیه ایسکمی شده در اوایل مرحله خونرسانی مجدد تغییرات بالقوه ای را مشاهده نمود. در مطالعه حاضر جهت بررسی خود تنظیمی جریان خون مغز از ثبت همزمان جریان خون در ناحیه خونرسانی شریان میانی مغزی بر روی استخوان جمجمه به همراه فشار شریانی که در طول ثبت با استفاده از تزریق داخل وریدی فنیل افرین به طور گذرا و تدریجی افزایش پیدا می کرد استفاده گردید. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان می دهد استفاده از مدل ارائه شده در این تحقیق می تواند روش بسیار خوبی برای بررسی تغییرات پدیده خودتنظمی جریان خون مغز در مدل ایسکمی موضعی-موقتی مغز با روش انسداد شریان میانی (MCAO) مغز باشد.

خودتنظیمی جریان خون مغز در حالات پاتولوژیک مانند ایسکمی های مغزی نقش اساسی در حفظ عملکرد طبیعی مغز داشته و تعیین کننده شدت آسیب های مغزی در این شرایط می باشد (۱۷و۷). مطالعات نشان می دهد در طی مدل های مختلف ایسکمی خودتنظیمی جریان خون مغز در مرحله حاد انسداد از بین رفته و به نظر می رسد این آسیب در مرحله خونرسانی مجدد نیز ادامه داشته باشد (۷, ۱۷). از آنجاییکه هدف از این مطالعه بررسی تغییرات خودتنظیمی جریان خون مغز در مرحله خونرسانی مجدد بدنبال ایسکمی بود. بر این اساس می بایست مدلی از ایسکمی مغزی استفاده می گردید که براحتی بعد از زمان مشخصی از ایسکمی بتوان خونرسانی مجدد را به طور کامل برقرار نمود که در مدل های دیگر ایسکمی مغزی همانند ایسکمی گلوبال و یا مدل لخته قابل دستیابی نبود. در تحقیق حاضر از مدل انسداد شریان میانی مغز با فیلامان داخل رگی و ارائه شده توسط Longa و همکاران استفاده گردید (۱۵). در مطالعه حاضر استفاده از مدل MCAO توانست یک ضایعه نسبتا وسیعی در نیمکره راست مغز موش صحرایی ایجاد نماید. این مقدار ضایعه ناحیه بسیار وسیعی بود که براحتی می توان تغییرات جریان خون ناحیه ایسکمی را در مرحله خونرسانی مجدد مورد بررسی قرار داد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که خودتنظیمی جریان خون مغز در اوایل خونرسانی مجدد بدنبال ایسکمی از بین رفته است. نتایج بدست آمده از این تحقیق با برخی نتایج بدست آمده از تحقیقات دیگر که از لحاظ نوع نمونه یا زمانهای مطالعه متفاوت بوده همخوانی دارد. در مطالعه ای که خودتنظیمی جریان خون با روش Perfusion-CT به دنبال ترومای مغزی، که از لحاظ مکانیسم ایجاد آسیب بسیار شبیه به ایسکمی مغزی است، هم در ناحیه مرکزی و هم ناحیه محیطی آسیب به شدت آسیب دیده است (۹).

همچنین نتایج مطالعه Reinhard و همکارانش نشان داد که میزان آسیب به خودتنظیمی دینامیک مغز رابطه مستقیمی با حجم ضایعه مغزی بلافاصله بعد از ایسکمی مغزی دارد (۷). بر پایه نتایج ما و نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه به خوبی می توان گفت که بعد از سکته و ایسکمی مغزی خودتنظیمی جریان خون مغز در ناحیه آسیب از بین می رود. مرحله خونرسانی مجدد با افزایش بسیاری از فاکتور هایی که بر قطر رگ و مقاومت عروقی موثرند، همراه است (۱۳). برخی از این مواد آزاد شده مانند نیتریک اکساید گشاد کننده بوده و برخی دیگر مثل اندوتلیین تنگ کننده عروق هستند. بنابراین اثر این مواد رها شده بر مقاومت عروقی متضاد بوده و می تواند تاثیری متفاوت بر خودتنظیمی جریان خون مغز داشته باشد. مطالعه Cipolla و همکارانش نشان می دهد تونوسیته عروق در محل ضایعه در اوایل مرحله خونرسانی کاهش یافته و با اتساع عروق همراه است (۱۷).

نتایج تحقیق حاضر نیز تایید کننده نتایج مطالعه Cipolla بوده چرا که با افزایش فشار پرفیوژن عروق جریان خون مغز نیز افزایش پیدا کرده که نشان دهنده کاهش غیرفعال مقاومت عروقی بدنبال افزایش فشار پرفیوژن عروق مغز می باشد. خودتنظیمی جریان خون مغز در حالت طبیعی از بالا رفتن فشار پرفیوژن بافتی جلوگیری کرده و از بالا رفتن فشار هیدرواستاتیک مویرگ که منجر به تجمع مایع در بافت مغزی می شود جلوگیری می کند (۱۸). در اوایل مرحله خونرسانی مجدد که نقطه کلیدی و تعیین کننده در شدت آسیب های ناشی از ایسکمی بوده عدم صحیح عملکرد خودتنظیمی جریان خون مغز که مطالعه حاضر هم این موضوع را به خوبی نشان داد از طریق افزایش فشار پرفیوژن و فشار هیدرواستاتیک مویرگی باعث آسیب بیشتر سد خونی-مغزی و همچنین تشکیل بیشتر ادم مغزی از نوع وازوژنیک می شود. و طبق مطالعات انجام شده در زمینه ادم مغزی تشکیل ادم بعد از ایسکمی مغزی سبب تشدید ضایعه ناشی ایسکمی مغزی می شود (۱۴).

از نتایج این تحقیق چنین استنباط می شود خودتنظیمی جریان خون مغز در مراحل اولیه خونرسانی مجدد به شدت در ناحیه ایسکمی شده آسیب دیده و چون این فاز از ایسکمی/خونرسانی مجدد مرحله کلیدی و تعیین کننده در تعیین شدت آسیب ناشی از ایسکمی بوده با از بین بردن خودتنظیمی عروق مغزی منجر به تشدید ضایعه ناشی از ایسکمی مغزی می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که مقدمات و وسائل مورد نیاز این تحقیق را فراهم نموده و همچنین گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]

Evaluation of Cerebral Blood Flow Autoregulation during Early Phase of Reperfusion in Rat Model of Transient Focal Ischemia

M.T. Mohammadi (PhD) [1*], G.A. Dehghani (PhD) [2]

1. Department of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(6); Jun 2014; pp: 50-56

Received: Jun 9th 2013, Revised: Sep 4th 2013, Accepted: Jan 5th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Reperfusion following brain ischemia is associated with releasing of different substances influencing the cerebrovascular diameter, which can alter cerebrovascular autoregulation as a homeostasis mechanism of brain blood flow. The present study was considered to evaluate the effect of transient focal cerebral ischemia on the brain blood flow autoregulation during early phase of reperfusion

METHODS: The experiment was performed on 12 rats that divided into two groups; sham and ischemic groups, n=6 for each group. In ischemic group, transient focal cerebral ischemia was induced with 60 min middle cerebral artery occlusion (MCAO) followed by 12 hr reperfusion. Regional cerebral blood flow (rCBF) was continuously recorded during experiment and lesion volume of right hemisphere was determined by tri-phenyl tetrazolium chloride (TTC) staining method 12 hr after termination of MCAO. Autoregulation of ischemic region was measured 30 min after beginning of reperfusion by transient increasing of blood pressure (intravenous injection of phenylephrine 0.01 g in10 mL saline with increasing 0.1µg/min) and simultaneous recording of rCBF in ischemic region.

FINDINGS: The means of cerebral blood flow in the ischemic regions was reduced by 80% in ischemic group compared with sham. Also ischemia/reperfusion induced infarction in a large area of right hemisphere in ischemic group (326±5 mm^3). Increasing of arterial pressure from 90 mmHg to 170 mmHg did not change the focal cerebral blood flow of sham. But in ischemic group enhancing of arterial pressure up to 90 mmHg increased the blood flow of the ischemic regions.

CONCLUSION: The findings of this study indicated that cerebrovascular autoregulation of ischemic region severely damage at the early phase of reperfusion following brain ischemia, which results in intensification of brain ischemia injury.

KEY WORDS: *Ischemia/reperfusion injury, Autoregulation, Phenylephrine, Blood flow of ischemic region.*

Please cite this article as follows:

Mohammadi MT, Dehghani GA. Evaluation of cerebral blood flow autoregulation during early phase of reperfusion in rat model of transient focal ischemia. J Babol Univ Med Sci 2014;16(6):50-56.

* **Corresponding Author; M.T. Mohammadi (PhD)**

Address: Department of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Agdasieh St, Artesh square, Tehran, Iran

Tel: + 98 21 26127257

E-mail: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]

References

1.Tontisirin N, Armstead W, Waitayawinyu P, et al. Change in cerebral autoregulation as a function of time in children after severe traumatic brain injury: a case series. Childs Nerv Syst 2007;23(10):1163-9.

2.Reinhard M, Schork J, Allignol A, Weiller C, Kaube H. Cerebellar and cerebral autoregulation in migraine. Stroke 2012;43(4): 987-993.

3.Euser AG, Cipolla MJ. Cerebral blood flow autoregulation and edema formation during pregnancy in anesthetized rats. Hypertension 2007;49(2):334-40.

4.Wintermark M, Flanders AE, Velthuis B, et al. Perfusion-CT assessment of infarct core and penumbra: receiver operating characteristic curve analysis in 130 patients suspected of acute hemispheric stroke. Stroke 2006;37(4): 979-85.

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

6.Dalkara T, Morikawa E, Panahian N, Moskowitz MA. Blood flow-dependent functional recovery in a rat model of focal cerebral ischemia. Am J Physiol 1994; 267(2 Pt 2): H678-83.

7.Reinhard M, Rutsch S, Lambeck J, et al. Dynamic cerebral autoregulation associates with infarct size and outcome after ischemic stroke. Acta Neurol Scand 2012;125(3):156-62.

8.Immink RV, Van Montfrans GA, Stam J, Karemaker JM, Diamant M, van Lieshout JJ. Dynamic cerebral autoregulation in acute lacunar and middle cerebral artery territory ischemic stroke. Stroke 2005;36(12):2595-600.

9.Wintermark M, Chiolero R, Van Melle G, et al. Cerebral vascular autoregulation assessed by perfusion-CT in severe head trauma patients. J Neuroradiol 2006;33(1):27-37.

10.Eames P, Blake M, Dawson S, Panerai R, Potter J. Dynamic cerebral autoregulation and beat to beat blood pressure control are impaired in acute ischaemic stroke. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2002;72(4):467-72.

11.Coulson RJ, Chesler NC, Vitullo L, Cipolla MJ. Effects of ischemia and myogenic activity on active and passive mechanical properties of rat cerebral arteries. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 283(6): H2268-75.

12.Cipolla M J, Gokina NI, Osol G. Pressure-induced actin polymerization in vascular smooth muscle as a mechanism underlying myogenic behavior. FASEB J 2002;16(1):72-6.

13.Fagan SC, Hess DC, Hohnadel EJ, Pollock DM, Ergul A. Targets for vascular protection after acute ischemic stroke. Stroke 2004;35(9):2220-5.

14.Mohammadi MT, Shid-Moosavi SM, Dehghani GA. Contribution of nitric oxide synthase (NOS) in blood-brain barrier disruption during acute focal cerebral ischemia in normal rat. Pathophysiology 2012;19(1):13-20.

15.Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989;20(1):84-91.

16.Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. J Cereb Blood Flow Metab 1990;10(2):290-3.

17.Cipolla M J, Curry AB. Middle cerebral artery function after stroke: the threshold duration of reperfusion for myogenic activity. Stroke 2002;33(8):2094-9.

18.Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema. Pediatr Nephrol 2007;22(6):778-84.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.6.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.50]