

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی، درمانی اردبیل
دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان:

**بررسی اثرات درمانی تجویز کلسی تریول پس از وقوع سکته مغزی به
مدت پنج روز در مدل آزمایشگاهی ایسکمی موضعی مغز در موش
صحرائی**

نگارش:

امید اداک

اساتید راهنما:

دکتر حمداله پناهپور - دکتر حکیمه سعادت

استاد مشاور:

دکتر محمدرضا اصلانی

بهمن ماه ۱۳۹۹

شماره پایان نامه: ۰۶۶

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصییم ساخته تا در سایه درخت پرپار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، چرا که این دو وجود، پس از پروردگار، مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. با کمال احترام این پایان نامه را به پدر و مادر گرامیم تقدیم میکنم...

تقدیم به برادرم که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و وجودش مایه دلگرمی بود.

تقدیم به اساتید ارجمندم و همکلاسیان گرامیم و به تمام آزاد مردانی که نیک می اندیشند و عقل و منطق را پیشه خود نموده و جز رضای الهی و پیشرفت و سعادت جامعه، هدفی ندارند. دانشمندان، بزرگان، و جوانمردانی که جان و مال خود را در حفظ و اعتلای این مرز و بوم فدا نموده و مینمایند.

می گویند اگر می خواهی به کسی لطف کنی به او ماهی نده، ماهیگیری رابه او پیاموز. استاد گرامی سپاسگزار شما در زندگی خود هستم که اندیشیدن رابه من آموختید نه اندیشه‌ها را.

تشکر و تقدیرم برای شماست استاد فاضل، فرهیخته و داشمند م جناب آقای دکتر حمداله پناهپور که همواره لطفتان رابه من ارزانی داشتید. از زحماتتان بی‌نهایت تشکر میکنم و افتخار میکنم که شاگرد شما بوده‌ام...

از سایر اساتید ارجمند گروه فیزیولوژی آقایان
دکتر امانی، دکتر عابدی، دکتر میلان، دکتر اصلانی
و خانم دکتر سعادت کمال تشکر را دارم.

از همکلاسی های گرامی آقای نادری پور، خانم
محمدیان و خانم گلی طبری که در کنار هم ایام
خوشی را سپری کردیم و کمک حال همدیگر در طول
تحصیل بودیم، نهایت سپاس و قدردانی را دارم و
امیدوارم در تمام مراحل زندگی، علی الخصوص در
تحصیل موفقیت های روز افزون دوستان را شاهد
باشم.

و همچنین تشکر می کنم از دوست عزیز و گرامیم
دکتر جواد شادمان نه بخاطر کمک بی مضایقه
او، بلکه بخاطر معرفتی که در حقم روا داشتند و
این راه سخت را به من آسان نمودند.

و در آخر تشکر می کنم از تمامی معلمان و اساتید
نیک سرشت که در این مسیر زندگی حتی اگر ذره
ای به من حکمت آموختند.

فهرست مطالب

فصل اول	۲
مقدمه	۳
۱-۱ مقدمه، اهمیت موضوع و انگیزه تحقیق	۴
۲-۱ اهداف	۷
۱-۲-۱ هدف کلی	۷
۲-۲-۱ اهداف اختصاصی	۷
۳-۲-۱ هدف کاربردی	۸
۴-۲-۱ فرضیات یا سؤالات پژوهش	۸
۳-۱ تعریف واژه های کلیدی	۸
فصل دوم	۱۱
بررسی متون	۱۱
۱-۲ سکنه مغزی	۱۲
۲-۲ انواع سکنه مغزی	۱۵
۱-۲-۲ سکنه مغزی ایسکمیک	۱۶
۱-۱-۲-۲ سکنه مغزی ترومبوتیک	۱۶
۲-۱-۲-۲ سکنه مغزی آمبولیک	۱۶
۲-۲-۲ سکنه مغزی هموراژیک	۱۷
۱-۲-۲-۲ خونریزی داخل مغزی	۱۷
۲-۲-۲-۲ خونریزی زیر عنکبوتیه	۱۷

- ۳-۲-۲ حمله ایسکمیک گذرا (TIA) ۱۸
- ۳-۲-۳ سکنه مغزی ایسکمیک ۱۸
- ۴-۲-۴ پاتوفیزیولوژی آسیب ایسکمیک مغزی ۲۰
- ۱-۴-۲ تغییرات یونی متعاقب سکنه ایسکمیک ۲۲
- ۲-۴-۲ اختلال عملکرد پمپ Na^+ - K^+ و افزایش Na^+ داخل سلولی ۲۳
- ۳-۴-۲ افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی ۲۳
- ۴-۴-۲ دیپولاریزاسیون منتشر شونده ۲۵
- ۵-۴-۲ انتشار انتقال دهنده های عصبی تحریکی ۲۷
- ۶-۴-۲ سمیت تحریکی ۲۸
- ۷-۴-۲ رادیکال آزاد (ROS) ۳۰
- iNOS ۳۱
- ۹-۴-۲ آپوپتوز ۳۳
- ۱۰-۴-۲ مرگ سلولی (نکروز) ۳۷
- ۱۱-۴-۲ سیتوکین ها ۳۹
- ۱۲-۴-۲ التهاب ۴۰
- ۵-۲ پاتوفیزیولوژی سد خونی-مغزی BBB ۴۳
- ۶-۲ آسیب ناشی از ایسکیمی_ریپرفیوژن ۴۷
- ۱-۶-۲ استرس اکسیداتیو در آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن ۴۸
- ۲-۶-۲ مکانیسم های میتوکندریایی در آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن ۴۹
- ۳-۶-۲ نفوذ لکوسیت در آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن ۴۹
- ۴-۶-۲ آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن با واسطه پلاکت ۵۰
- ۵-۶-۲ آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن با واسطه کمپلمان ۵۲
- ۶-۶-۲ اختلال عملکرد BBB در آسیب ایسکمی_ریپرفیوژن ۵۲
- ۷-۲ ادم ایسکمیک مغزی ۵۴

۵۶	۱-۷-۲ ادم سیتوتوکسیک
۵۷	۲-۷-۲ ادم وازوژنیک
۶۰	۸-۲ جریان خون مغزی و آناتومی سیستم شریانی مغز
۶۴	۹-۲ ویتامین D
۶۷	۱۰-۲ مروری بر مطالعات گذشته
۷۲	فصل سوم
۷۲	مواد و روش کار
۷۴	۱-۳ نوع مطالعه در این پژوهش
۷۴	۲-۳ جامعه آماری و نمونه مورد مطالعه
۷۴	۳-۳ معیار ورود
۷۴	۴-۳ معیار خروج
۷۵	۵-۳ روش گردآوری اطلاعات
۷۵	۱-۵-۳ گروه بندی و روش انجام آزمایش:
۷۶	۲-۵-۳ روش ایجاد ایسکمی موضعی مغز
۷۷	۳-۵-۳ ثبت جریان خون موضعی مغز و ایجاد ایسکمی
۷۹	۴-۵-۳ تعیین شدت اختلالات حرکتی نورولوژیک با استفاده از آزمون لونگا
۸۰	۵-۵-۳ آزمون ارزیابی قدرت چنگ زدن
۸۰	۶-۵-۳ آزمون صفحه داغ
۸۱	۷-۵-۳ تعیین میزان حجم ضایعه و ادم مغزی
۸۲	۶-۳ مواد مورد استفاده در این تحقیق
۸۳	۷-۳ تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق
۸۳	۸-۳ روش تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی آماری
۸۴	۹-۳ ملاحظات اخلاقی
۸۷	فصل چهارم

۸۸.....	۱-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول بر جریان خون مغزی
۸۸.....	۲-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول بر روی میزان مرگ و میر و کنترل روزانه وزن حیوانات
۹۱.....	۳-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات نورولوژیک
۹۲.....	۴-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات حسی
۹۳.....	۵-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات حرکتی
۹۴.....	۶-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر حجم ضایعه مغزی
۹۵.....	۷-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول بر ادم ایسکمیک مغزی پس از وقوع سکته مغزی
۱۰۰.....	فصل پنجم.....
۱۰۱.....	۱-۵ بحث.....
۱۰۵.....	۱-۱-۵ بررسی روش های مراقبت و نگهداری حیوانات دچار سکته مغزی در پنج روز اول پس از وقوع ایسکمی
۱۰۵.....	موضعی مغز.....
۱۰۸.....	۲-۱-۵ بررسی اثرات درمان با ویتامین D بر جریان خون مغز در طی پنج روز اول سکته مغزی
۱۱۰.....	۳-۱-۵ بررسی اثرات درمان با ویتامین D بر اختلالات حسی حرکتی در طی پنج روز اول سکته مغزی
۱۱۲.....	۴-۱-۵ بررسی اثرات درمان کلسی تریول یا فرم فعال ویتامین D بر حجم ضایعه مغزی
۱۱۳.....	۵-۱-۵ بررسی اثرات درمان کلسی تریول یا فرم فعال ویتامین D بر ادم مغزی
۱۱۵.....	۲-۵ نتایج.....
۱۱۶.....	۳-۵ محدودیتها.....
۱۱۷.....	۴-۵ پیشنهادات.....
۱۱۸.....	منابع.....

فهرست اشکال، جداول و نمودارها

- شکل ۱-۲ شیوع سکته مغزی بر اساس سن و جنس ۱۳
- شکل ۲-۲ شماتیک انواع مختلف سکته مغزی و آبشار حوادث ایسکمی ۱۵
- شکل ۳-۲ نواحی مرکزی (هسته) و نواحی محیطی (پنامبرا) ۲۰
- شکل ۴-۲ مراحل آسیب سکته ایسکمیک مغزی در طول زمان / ناحیه مرکزی، ناحیه پنامبرا ۲۲
- شکل ۵-۲ نقش مبادله گر Na^+ / Ca^{2+} و گلو تامات ۲۵
- شکل ۶-۲ انتشار (SD) Spreading Depression در شبکه عروق مغزی و واحد عصبی-عروقی ۲۷
- شکل ۷-۲ گیرنده (NMDA (NMDAR الف) در شرایط عادی ب) در طی ایسکمی مغزی ۲۹
- شکل ۸-۲ منابع و مسیرهای اصلی برای تولید رادیکال های آزاد ۳۱
- شکل ۹-۲ واکنش های التهابی مرتبط با NOS ۳۳
- شکل ۱۰-۲ آبشار سیگنالینگ داخلی و خارجی آپوپتوز پس از ایسکمی ۳۶
- شکل ۱۱-۲ آپوپتوز و نکروز در مراحل آبشار ایسکمیک ۳۹
- شکل ۱۲-۲ شکل شماتیک مربوط به اثرات ایسکمی مغزی بر سیتوکین های التهابی ۴۲
- شکل ۱۳-۲ نمایش شماتیک اجزای BBB ۴۵
- شکل ۱۴-۲ شماتیک کلی پاتوفیزیولوژی آسیب ایسکمیک مغزی ۴۶
- شکل ۱۵-۲ نمایش شماتیک تغییرات سد خونی-مغزی (BBB) در سکته مغزی ایسکمیک حاد ۵۴
- شکل ۱۶-۲ ادم سیتوتوکسیک _ ادم یونی _ ادم وازوژنیک ۵۹
- شکل ۱۷-۲ شریان اصلی مغزی: قدامی (ACA)، میانی (MCA) و خلفی (PCA) ۶۲
- شکل ۱۸-۲ شریان اصلی مغزی: قدامی (ACA)، میانی (MCA) و خلفی (PCA) ۶۳
- شکل ۱۹-۲ منابع و اشکال مختلف ویتامین D ۶۶
- شکل ۱-۳ تصویری از مراحل جراحی حیوان پس از انجام بیهوشی ۷۸
- شکل ۲-۳ نمایش شماتیک هدایت فیلامان در مسیر عروقی ۷۹
- شکل ۳-۳ انجام آزمون قدرت چنگ زدن برای ارزیابی شدت فلج عضلانی ناشی از سکته مغزی. ۸۵

- شکل ۳-۴ دستگاه Hot plate مورد استفاده جهت آزمون صفحه داغ..... ۸۶
- شکل ۴-۱ ثبت جریان خون موضعی مغز در گروه های کنترل و درمان با کلسی تریول..... ۹۰
- شکل ۴-۲ تغییرات وزن حیوانات مورد مطالعه در گروه های مورد مطالعه در طی پنج روز اول..... ۹۰
- شکل ۴-۳ میزان مرگ و میر در حیوانات مورد مطالعه در مورد مطالعه در طی پنج روز اول..... ۹۱
- ۳-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات نورولوژیک
۹۱.....
- شکل ۴-۴ نمره آزمون نورولوژیک در حیوانات مورد مطالعه در گروه های آزمایشی در طی پنج روز اول پس از
وقوع سکته مغزی..... ۹۲
- ۴-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات حسی..... ۹۲
- ۵-۴ بررسی اثرات درمان با کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی بر اختلالات حرکتی..... ۹۳
- شکل ۴-۵ ارزیابی عملکرد حسی پاسخ به درد با دستگاه Hot plate در حیوانات مورد مطالعه در طی پنج روز
اول پس از وقوع سکته مغزی..... ۹۴
- شکل ۴-۶ نتایج ارزیابی ضعف عضلانی اندام سمت مقابل ضایعه ایسکمیک مغزی در گروه های مورد مطالعه در
طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی..... ۹۴
- شکل ۴-۷ حجم کل ضایعه مغزی ناشی از سکته ایسکمیک در نیمکره چپ مغز در حیوانات مورد مطالعه پس از
پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی..... ۹۶
- شکل ۴-۸ حجم ضایعه مغزی ناشی از سکته ایسکمیک در مناطق قشری و زیر قشری نیمکره چپ مغز در
حیوانات مورد مطالعه پس از پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی..... ۹۶
- شکل ۴-۹ تصاویر برشهای مغزی رنگ آمیزی شده با محلول TTC در گروه های مورد مطالعه..... ۹۷
- شکل ۴-۱۰ میزان ادم ایجاد شده در نیمکره چپ (آسیب دیده) مغز در گروه های مورد مطالعه..... ۹۸

فهرست اختصارات:

AMPA: a-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazole Propionic Acid

AQP-4: Aquaporin-4

BBB: Blood Brain Barrier

CNS: Central Nervous System

CVA: Cerebrovascular Accident

eNOS: Endothelial Nitric Oxide Synthase

ICP: Intracranial Pressure

IL-1B: Interleukin-1

IL-6: Interleukin-6

GABA: Gamma aminobutyric acid

MCAO: Middle Cerebral Artery Occlusion

MMPs: Matrix Metalloproteinase

MMP-2: Matrix Metalloproteinases-2

MMP-9: Matrix Metalloproteinases-9

mPTP: Mitochondrial Permeability Transition Pore

NMDA: N-Methyl D-Aspartate

NMDAR: N-Methyl D-Aspartate Receptor

NO: Nitric Oxide

NOX: NADPH Oxidase

NOS: Nitric Oxide Synthase

nNOS: Neuronal Nitric Oxide Synthase

iNOS: Inducible nitric oxide synthase

OXPfos: Oxidative Phosphorylation

PAF: Platelet-Activating Factor

PDGF: Platelet-Driven Growth Factor

ROS: Reactive Oxygen specie

rt-PA: Recombinant Tissue- Plasminogen Activator

TBI: Traumatic Brain Injury

TIA: transient ischemic attack

TNF: Tumor Necrosis Factor

TNF-a: Tumor Necrosis Factor- a

WHO: World health organization

بررسی اثرات درمانی تجویز کلسی تریول پس از وقوع سکته مغزی بمدت پنج روز در مدل آزمایشگاهی ایسکمی موضعی مغز در موش صحرائی

سابقه: سکته مغزی بعنوان سومین عامل مرگ و میر و عدم توانایی در بسیاری از جوامع انسانی مطرح بوده و به جهت پاتوفیزیولوژی پیچیده، تاکنون درمان موثری برای آن پیدا نشده است. مطالعات قبلی وجود اثرات محافظتی ویتامین D بر عوارض سکته مغزی در کوتاه مدت را گزارش نموده است. اما اطلاعات بیشتری در این خصوص لازم است تا درمان با کلسی تریول بتواند در درمان بیماران مورد بررسی قرار گیرد.

هدف: از این رو هدف عمده این مطالعه بررسی اثرات درمان با دوز متوالی کلسی تریول در طی پنج روز اول پس از وقوع سکته مغزی در مدل آزمایشگاهی ایسکمی موضعی موقتی مغز در موش صحرائی می باشد.

روش کار و مواد: در این تحقیق ۳۰ سر موش صحرائی نر از نژاد Sprague-Dawley در سه گروه اصلی (n=10) شاهد، کنترل ایسکمیک و درمان با کلسی تریول (2 µg/Kg) در پایان دوره ایسکمی و تا روز پنجم پس از وقوع سکته مغزی مورد مطالعه قرار گرفتند. ایسکمی موضعی مغز به مدت ۶۰ دقیقه با استفاده از تکنیک انسداد شریان میانی مغز ایجاد شد و دوره ریپرفیوژن پنج روز در نظر گرفته شد. اختلالات حسی حرکتی ناشی از سکته مغزی با استفاده از آزمون نورولوژیک لونگا، آزمونهای قدرت چنگ زدن و صفحه داغ مورد بررسی قرار گرفتند. از تکنیک رنگ آمیزی برشهای بافت مغزی با تری فنیل تترازولیوم کلراید جهت تعیین حجم ضایعه مغزی استفاده شد. همچنین از تکنیک Wet/Dry برای تعیین ادم مغزی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که بروز سکته ایسکمیک مغزی و مرحله ریپرفیوژن متعاقب آن در گروه کنترل ضمن ایجاد اختلالات شدید نورولوژیک حسی-

حرکتی، حجم ضایعه قابل توجه و ادم شدیدی را در نیمکره چپ مغز ایجاد کرد. درمان با کلسی تریول در طی ۵ روز اول بعد از سکتة مغزی ضمن بهبود اختلالات حسی - حرکتی ناشی از وقوع سکتة مغزی، حجم ضایعه مغزی را کاهش داده و شدت ادم مغزی ایجاد شده را در مقایسه با گروه کنترل تقلیل داد. همچنین میزان مرگ و میر حیوانات مورد مطالعه در گروه درمان با کلسی تریول از گروه کنترل کمتر بود.

نتیجه گیری: درمان با کلسی تریول در طی ۵ روز اول پس از وقوع سکتة مغزی حجم ضایعه مغزی را کم کرده و شدت ادم مغزی ایجاد شده را کاهش داد. این اثرات محافظتی با بهبود اختلالات حسی - حرکتی ناشی از سکتة مغزی همراه بود.

واژگان کلیدی: سکتة مغزی، اختلالات حسی - حرکتی، کلسی تریول، موش صحرائی