اثر آتورواستاتین بر سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ رت نر به دنبال ایسکمی- ریپرفیوژن

دکتر معصومه فغانی (PhD)[1]- دکتر شبنم موثقی (PhD)[2]- دکتر حسن مولادوست (PhD)[3]- *فرهنگ اجلالی (MSc)[1]

*نویسنده مسئول: گروه آناتومی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پست الکترونیک: farhang.ejlali@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله:۹۳/۰۵/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۶/۳۱

چکیده

مقدمه: یکی از حساس‌ترین بخش‌های مغز در برابر ایسکمی و هیپوکسی، ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌باشد. آتورواستاتین با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی با حذف رادیکال‌های آزاد و ترکیب‌های ناشی از آسیب سلولی از وارد شدن آسیب به سلول‌های سالم و مرگ سلولی پیش‌گیری می‌کند.

هدف: بررسی اثر نوروپروتکتی و آتورواستاتین بر سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ رت نر

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۲۴ سر رت نر بالغ نژاد ویستار به وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم انجام شد. جانوران به چهار گروه شاهد، ایسکیمی، حامل(vehicle) و درمان تقسیم شدند. برای ایجاد الگوی ایسکمی- ریپرفیوژن، شریان کاروتید مشترک دو سمت به مدت ۲۰ دقیقه بسته شد. اولین دوز تزریق داروی آتورواستاتین (۱۰mg/kg) در گروه درمان، ۶ ساعت پس از ایسکمی- ریپرفیوژن و سپس ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد داخل صفاقی انجام شد. چهار روز بعد از ایسکمی، از مغز موش‌ها مقاطع بافتی تهیه شد و سپس این مقاطع به روش نیسل رنگ‌آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی تعداد سلول‌های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ شمرده و نتایج با آزمون One way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شد(سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد).

نتایج: در این مطالعه تعداد سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه درمان(دریافت کننده ۱۰mg/kg داروی آتورواستاتین) نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت در حالی که تعداد سلول‌های هرمی سالم در گروه‌های ایسکمی و حامل در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته بود. و تفاوت معنی‌دار آماری با گروه شاهد دیده شد $p<0/05$

نتیجه‌گیری: آتورواستاتین ۱۰mg/kg به دنبال ایسکمی- ریپرفیوژن فراگیر گذرا، شدت ضایعه و مرگ‌ومیر سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ رت‌های نر بالغ را کاهش می‌دهد.

کلید واژه‌ها: آپوپتوزیس/ آتورواستاتین/ ایسکمی/ ریپرفیوژن/ هیپوکامپ

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و چهارم شماره ۹۳، صفحات: ٤٦-۳۹

مقدمه

ایسکمی مغزی به‌عنوان معضل بزرگ عمومی در دنیا شناخته شده‌است. سکته مهم‌ترین علت ایسکمی مغزی است و پس از سکته قلبی و بدخیمی، سومین عامل مرگ‌ومیر در کشورهای غربی است. ایسکمی مغزی منجر به عوارض گوناگونی مانند: اختلال حرکتی، حسی و بینایی، اختلال تکلم(aphasia) و اختلال رفتاری بویژه اختلال یادگیری فضایی (Spatial learning) می‌شود(۳-۱). اختلال ریپرفیوژن به آسیب‌هایی گفته می‌شود که در اثر برقراری مجدد جریان خون در بافت، پس از یک دوره ایسکمی ایجاد می‌شود. در نبودن اکسیژن و مواد مغذی بازگشت جریان خون به جای بازگشت فعالیت طبیعی بافت، باعث التهاب و آسیب اکسیداتیو با القای استرس اکسیداتیو می‌شود(٤). محققان نشان داده‌اند که انسداد شریان کاروتید مشترک در هر دو سمت به مدت چند دقیقه باعث ایسکمی در هیپوکامپ مغز می‌شود و از بین قسمت‌های درگیر ایسکمی در هیپوکامپ، ناحیه هیلوس و نورون‌های ناحیه CA1 حساس‌ترین مناطق مستعد آسیب هستند(۵). با توجه به نقش حیاتی هیپوکامپ، کاهش آسیب و ترمیم آن در پی بیماری‌ها و آسیب‌های تروما اهمیت زیادی دارد(٦).

هیپوکامپ بخشی از مغز است که در کف بطن طرفی در لوب تمپورال مغز قرار دارد. این قسمت در تشکیل حافظه جدید و

۱. گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی، تهران، ایران

۳. گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پردازش اطلاعات فضایی نقش داشته و جزو اولین مناطق مغز است که تحت تاثیر بیماری‌های دژنراتیو و ضایعات تروما و همچنین ایسکمی قرار می‌گیرد(۷و۸). هیپوکامپ به ایسکمی و هیپوکسی بسیار حساس است و آن پس از ایسکمی- ریپرفیوژن باعث اختلال فراوان در کنش این عضو می‌شود(۹). در ایسکمی- ریپرفیوژن، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر اکسیداتیوها تشکیل می‌شود که به بافت هدف حمله کرده و نسبت به ایسکمی تنها باعث ویرانی سلول با شدت بیشتر می‌شود(۱۰). در طی ایسکمی فراگیر مغزی در رت، تخریب اختصاصی نورونی در ناحیه CA1 هیپوکامپ و بخش خلفی طرفی(Dorsolateral) استریاتوم رخ می‌دهد. بیشترین تخریب نورونی در استریاتوم، در ۲٤ ساعت اول و در هیپوکامپ ۷۲ ساعت پس از ایسکمی اتفاق می‌افتد. در نتیجه نورون‌های هیپوکامپ نسبت به دیگر قسمت‌های مغز مدت بیشتری، برای زنده ماندن فرصت دارند. Pulsienelli و همکاران این واقعه را مرگ سلولی تاخیری نامیده‌اند که فرصتی برای درمان و پیشگیری از این مرگ سلولی را فراهم می‌کند(۱۱).

یکی از روش‌های درمان برای از بین بردن ضایعات آترواسکلروزی بوجود آورنده ایسکمی، استفاده از ترومبولیتیک‌ها است (۱۲). از مهم‌ترین داروهایی که امروزه در درمان آسیب ایسکمی مغزی استفاده می‌شود، آتورواستاتین است که عضوی از خانواده استاتین‌هاست. این داروها مسیر تبدیل موالونات به HMG-CoA را مهار کرده و در نتیجه تولید کلسترول را کاهش می‌دهد(۱۳). آتورواستاتین توان افزایش پایداری نورون‌های قشری در برابر مرگ سلولی و همچنین آسیب اکسیداتیو با واسطه ایسکمی را دارد (۱٤). تجویز طولانی مدت و درمان پیشگیرانه با استاتین‌ها می‌تواند القاکننده کاهش حجم سکته و بهبود آسیب عصبی در موش‌های الگوی ایسکمی مغزی شود(۱۵). افزون بر آن، آتورواستاتین تاثیر محافظتی در دوره‌های پیش و پس از ایسکمی را نشان می‌دهد(۱٦) و در مقایسه با سایر استاتین‌ها، تاثیر لیپوفیل بیشتر و نیمه عمر طولانی‌تر در مهار آنزیم HMG-COA ردوکتاز دارد(۱۷). این دارو علاوه بر کاهش سطح کلسترول سرم، گستره‌ای از آثار ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و پیشگیری از ضایعات آترواسکلروزی دارد (۱۸) و باعث تنظیم افزایش سنتز اکسید نیتریک (NO) در سلول‌های اندوتلیال و در پی آن افزایش جریان خون مویرگی می‌شود(۱۹). علاوه بر این، آتورواستاتین مغز را در برابر آسیب‌های التهابی محافظت کرده و فعالیت عوامل التهابی را تنظیم می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که آتورواستاتین ممکن است نقش مهمی در مهار آسیب التهابی بازی کند که بوسیله ایسکمی ایجاد می‌شود (۲۰). چون تاکنون مطالعه‌ای در مورد تاثیر این دارو بعد از ایسکمی مغزی در ناحیه CA1 هیپوکامپ انجام نشده، این تحقیق برای شناخت تاثیر آتورواستاتین بر بهبود ایسکمی مغزی و مرگ نورونی، اثر آن بر هیپوکامپ موش صحرایی نر نژاد ویستار به دنبال ایسکمی- ریپرفیوژن انجام شده‌است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر ۲٤ سر رت نر بالغ نژاد ویستار به وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات از حیوانخانه دانشکده پزشکی رشت تهیه و در شرایط استاندارد با دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای۳ ±۲۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و دسترسی کامل هم به آب آشامیدنی و غذای کافی داشتند. پودر آتورواستاتین اهدایی شرکت داروسازی سبحان رشت به مقدار ۱۰mg/kg برای گروه درمان به کار رفت. پودر توزین شده براساس وزن هر رت، در ۰/۵ سی‌سی سالین نرمال حل شد. تزریق به هر حیوان یک‌بار ٦ساعت بعد از ایسکمی- ریپرفیوژن و سپس ۲٤ ساعت بعد به مدت ۳ روز داخل صفاقی انجام شد(۲۱).

گروه‌های آزمایش: رت‌ها به‌طور تصادفی به ٤ گروه ٦ تایی تقسیم شدند:

۱. گروه شاهد: فقط توسط محلول کتامین(۱۰۰mg/kg) و گزیلازین (۱۰mg/kg) بیهوش(۲۲) و استرس جراحی در ناحیه قدامی گردن قرار گرفتند ولی انسداد شریان کاروتید مشترک در آنها انجام نشد.

۲. گروه ایسکمی: در این گروه پس از بیهوشی، سرخرگ کاروتید مشترک دو طرف به مدت ۲۰ دقیقه کلامپ شد و سپس ریپرفیوژن در آنها صورت گرفت.

۳. گروه درمان: بعد از بیهوشی و ایسکمی- ریپرفیوژن، اولین دوز آتورواستاتین(۱۰mg/kg) را ٦ ساعت بعد از ایسکمی-

ریپرفیوژن و سپس ٢٤ ساعت بعد به مدت ٣ روز به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند(٢١).

٤. گروه حامل(vehicle): بعد از بیهوشی و ایسکمی-ریپرفیوژن ماده حامل سالین نرمال(٠%/٩Nacl به‌عنوان حلال آتورواستاتین) به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

روش جراحی: ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (١٠٠mg/kg) و گزیلازین (١٠mg/kg) بیهوش شدند و در شرایط استریل پس از برش در ناحیه قدامی گردن، هر دو شریان کاروتید مشترک به اندازه ٢cm در معرض دید قرار گرفت. با برش در نیام کاروتید، عصب واگ شناسایی و با دقت جدا شد تا هنگام کلامپ شریان برانگیخته و دچار آسیب نشود. سپس، هر دو شریان کاروتید مشترک توسط کلامپ میکروبولداگ به مدت ٢٠ دقیقه بسته شد و پس از آن برای ریپرفیوژن، کلامپ‌ها آزاد شد تا جریان خون به‌طور طبیعی در رگ‌های مغز برقرار شود. ٤ روز پس از شروع ایسکمی حیوانات با اتر بیهوش و مغز با کرانیوتومی از جمجمه خارج و برای ثابت شدن داخل محلول فرمالین ١٠٪ قرار داده شد. پس از گذشت سه روز و اطمینان از ثبوت بافتی، پاساژ بافت به روش معمول بافت‌شناسی صورت گرفت. در این پژوهش، برای بررسی میزان مرگ‌ومیر سلولی از رنگ‌آمیزی نیسل استفاده شد.

رنگ‌آمیزی نیسل: در این روش اجسام نسیل به رنگ بنفش-آبی دیده می‌شود. رنگ‌آمیزی نیسل برای رنگ‌آمیزی اجسام نیسل در سیتوپلاسم نورون‌ها بکار می‌رود و معمولا از آن برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروز در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود(٢٣). پس از ثبوت و آماده‌سازی نمونه‌ها، مقاطع کرونال با دستگاه میکروتوم دوار به ضخامت ١٠μ در فاصله ٥-٢/٣ میلی‌متری از خلف برگما(Bregma) تهیه، سپس بر لام‌های ژلاتینه منتقل و به روش نیسل رنگ‌آمیزی شد. نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ٤٠٠ بررسی شدند و فقط نورون‌های هرمی شکل که هسته و هستک واضح و مشخص داشتند، به عنوان سلول‌های زنده و سالم در نظر گرفته شدند. به دلیل اینکه هدف این مطالعه بررسی تمام قسمت‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ بود از هر نمونه، ٣ فتومیکروگراف تهیه(شامل تمام قسمت‌های CA1 بدون ناحیه تکراری در هر عکس) و سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ آنها با نرم‌افزار image tools شمارش و میانگین آنها تعیین شد.

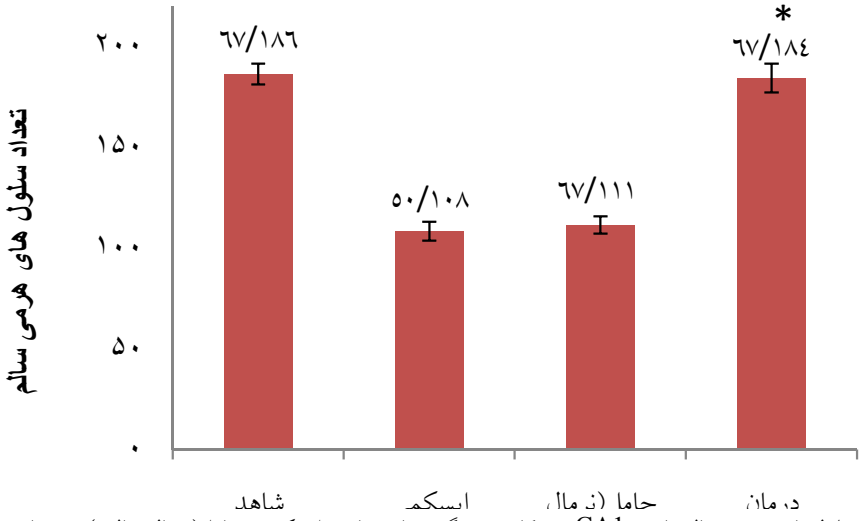
بررسی آماری: پس از وارد کردن داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ٢٠، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. نتایج توصیفی گروه‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار محاسبه و گزارش و با استفاده از آزمون آنالیز وایانس یک طرفه بررسی و در صورت معنی‌دار بودن تفاوت‌ها، سنجش دو به دوی گروه‌ها با آزمون توکی با سطح معنی‌داری کمتر از ٠/٠٥ انجام شد.

نتایج

رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله(نیسل) وضعیت سلول‌های سالم و دژنره را در ناحیه بررسی نشان داد. انسداد شریان‌های کاروتید مشترک راست و چپ به مدت ٢٠ دقیقه باعث کاهش معنی‌دار آماری در سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ بین گروه شاهد و ایسکمی شد (P<٠/٠٥). میانگین تعداد سلول‌های هرمی سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ به‌ترتیب در گروه شاهد(١٤/٢±١٨٦/٧)، گروه ایسکمی(١٠/٩±١٠٨/٥)، گروه حامل یا Vehicle(١٠/٣±١١١/٧) و گروه درمان(١٣/٠±١٨٤/٧) بود. (شکل و نمودار١)

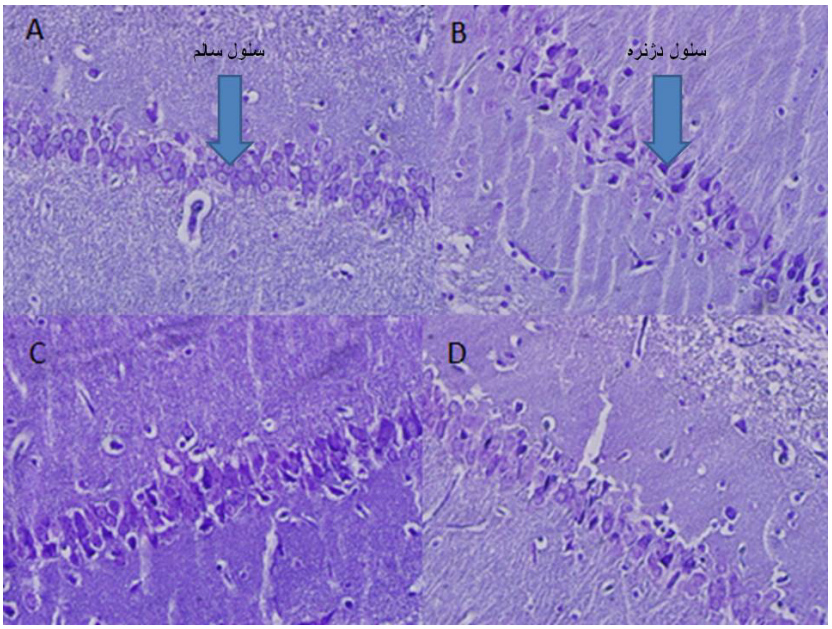
تجزیه و تحلیل اطلاعات، اختلاف آماری معناداری بین گروه ایسکمی و گروه شاهد نشان داد (P<٠/٠٥). حیوانات درمان شده با آتورواستاتین مرگ سلولی کمتر و تراکم سلولی بیشتر در مقایسه با گروه ایسکمی داشتند. کمترین تعداد سلول‌های دژنره بعد از گروه شاهد در گروه درمان(دریافت‌کننده ١٠mg/kg داروی آتورواستاتین) وجود داشت. بررسی داده‌ها نشان داد که تعداد سلول‌های هرمی سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه درمان(دریافت‌کننده ١٠mg/kg داروی آتورواستاتین) با گروه شاهد تفاوت یا کاهش معنی‌داری ندارد(P>٠/٠٥)، در حالی که تعداد سلول‌های هرمی سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ایسکمی نسبت به گروه شاهد، تفاوت معنی‌دار داشت(P<٠/٠٥). همچنین، بررسی داده‌ها نشان داد که اختلاف بین گروه حامل و شاهد نیز معنی‌دار است که این جستار نشان می‌دهد که ماده حامل

سالین نرمال ۰/۹٪ که به‌عنوان حلال آتورواستاتین استفاده شد، اثر محافظتی بر سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ ندارد. اختلاف آماری بین گروه درمان (دریافت‌کننده ۱۰mg/kg داروی آتورواستاتین) و گروه‌های ایسکمی و حامل نیز معنی‌دار بود(P<۰/۰۵). میانگین تعداد سلول‌های هرمی سالم در ناحیه CA1 گروه درمان، بعد از گروه شاهد از سایر گروه‌ها بیشتر بود(شکل و نمودار۱). از طرف دیگر مقایسه مقاطع بافتی تهیه شده در گروه‌های ایسکمی و حامل افزایش تعداد سلول‌های آسیب دیده در ناحیه CA1 را نشان داد در حالی که این تعداد در گروه‌های شاهد و درمان بسیار کم بود. همچنین، نتایج نشان داد که از نظر تعداد سلول‌های هرمی سالم بین گروه‌های ایسکمی و حامل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت(P>۰/۰۵).



نمودار۱. مقایسه تعداد سلول‌های هرمی سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های شاهد، ایسکمی، حامل(نرمال سالین) و درمان.

*میانگین تعداد سلول‌های هرمی سالم گروه درمان (دریافت‌کننده ۱۰mg/kg داروی آتورواستاتین) که به‌طور معنی‌دار از سایر گروه‌ها (به جز گروه شاهد) بیشتر است(سطح معنی‌داری<۰/۰۵).



شکل ۱- فتومیکروگراف از مقاطع کرونال(کرزیل ویوله) از ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی A : گروه شاهد B: گروه ایسکمی C: گروه حامل D: گروه درمان(دریافت‌کننده 10mg/kg داروی آتورواستاتین). رنگ‌آمیزی نیسل، بزرگنمایی ۴۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که ۱۰mg/kg آتورواستاتین موجب افزایش تعداد نورون‌های هرمی سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ بعد از ایسکمی فراگیر گذرا می‌شود. ایمن بودن دوزهای مختلف آتورواستاتین در مطالعات مختلف تایید شده‌است(۲٤و۲۵). در تایید یافته‌های تحقیق ما، مطالعات دیگر نشان داده‌اند که درمان با آتورواستاتین به مدت یک هفته، به‌طور معنی‌دار آسیب عصبی را کاهش داده و میزان بقا و بازسازی سیناپسی در هیپوکامپ بعد از آسیب ترومایی به مغز را افزایش می‌دهد(۲٦). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که در نتیجه ایسکمی فراگیر گذرا، رادیکال‌های آزاد اکسیژن واکنش‌دهنده مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل(OH^-) تولید می‌شود که به بافت هدف حمله کرده و به شدت آسیب می‌رساند و آسیب ناشی از آن نسبت به ایسکمی تنها، به مراتب بیشتر است(۱۰). ترکیب اکسیژن واکنش دهنده(ROS) در حین مرگ سلولی نورون ها در شرایط گوناگون شیمیایی تولید می‌شوند. این ترکیب نقش بسیار مهمی پس از ایسکمی و بازگشت جریان خون‌بازی می‌کنند و موجب آغاز برخی واکنش‌های پیش‌ساز ROS می‌شوند (۲۷). محققین ثابت کرده‌اند که از بین بردن ROS آسیب ایسکمی مغز را کاهش می‌دهد(۲۸).

محققان نشان دادند که آتورواستاتین علاوه بر دارا بودن خاصیت کاهش سطح کلسترول آثار دیگری مانند اثر ضدالتهابی، عروقی و آنتی‌اکسیدانی دارد(۱۸). یکی از دلایل آثار مثبت این دارو ممکن است این باشد که آتورواستاتین می‌تواند نقش بسیار مهمی در آسیب ایسکمی با واسطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود ایفا کند. آتورواستاتین با دارا بودن اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با از بین بردن رادیکال‌های اکسیژن واکنش‌دهنده، آسیب‌های ایسکمی و مرگ سلولی که در پی آن اتفاق می‌افتد را کاهش دهد که این یافته‌ها با نتایج تحقیق ما هم‌خوانی دارد. از طرفی دیگر یافته‌های اولیه نشان می‌دهد که آسیب ایسکمی مغزی در اثر تغییر ارتباط ساده بیوشیمی و فیزیولوژی به دنبال اختلال جریان خون ایجاد می‌شود. این تغییر شامل: کاهش عوامل پرانرژی، اسیدوز ناشی از تولید بی‌هوازی لاکتات و برقرار نشدن جریان دوباره خون در اثر تورم آستروسیت‌ها و فشار به عروق مغزی است(۲۹). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که آتورواستاتین تاثیر گسترده‌ای بر فرآیند التهاب و رگ‌زایی دارد(۳۰). به‌طور متقابل قطع تجویز این داروها در فاز حاد می‌تواند فعالیت عروقی را مختل کرده و باعث گستره بزرگ‌تری از سکته شود(۳۱). در تایید یافته‌های این تحقیق Eleva و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که آتورواستاتین ماده محافظ عروقی بعد از ایسکمی مغزی آزمایشی بوده و خونروی بعد از سکته مغزی حاد را کاهش می‌دهد(۳۲). این یافته‌ها نیز با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد و آتورواستاتین می‌تواند با تاثیر بر عروق و فرآیند رگ‌زایی، موجب افزایش خونرسانی به ناحیه ایسکمی شده و به این ترتیب از شدت ضایعات و مرگ سلولی متعاقب ایسکمی بکاهد. نتایج نشانگر آن است که آتورواستاتین ممکن است به‌دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی از التهاب و آسیب اکسیداتیو ناشی از القای استرس اکسیداتیو جلوگیری کند و مرگ‌ومیر سلولی بعد از ایسکمی مغزی را کاهش دهد. مکانیسم دیگری که ممکن است نشان‌دهنده آثار مثبت آتورواستاتین در جلوگیری از مرگ‌ومیر سلولی باشد، می‌تواند ناشی از اثرات وازودیلاتوری و محافظت‌کننده رگی و تنظیم افزایش سنتز نیتریک اکساید(NO) در سلول‌های رگ‌ها عروق باشد که باعث افزایش جریان خون‌مویرگی در ناحیه ایسکمی شود(۲۰) و به این ترتیب از مرگ سلولی بیشتر در این ناحیه کاسته شود.

استفاده از آتورواستاتین به مقدار ۱۰mg/kg ممکن است بتواند از مرگ سلولی در نورون‌های پیرامیدال CA1 هیپوکامپ بعد ازایسکمی- ریپرفیوژن پیشگیری و باعث کاهش آسیب ناشی از ایسکمی مغزی شود. لذا پیشنهاد می‌شود برای تایید نتایج این تحقیق تاثیر این دارو در نواحی دیگر حساس به ایسکمی مطالعه و با نتایج این مطالعه سنجیده شود.

تشکر و قدردانی: بدینوسیله از شرکت داروسازی سبحان رشت، آزمایشگاه تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، آزمایشگاه بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده پزشکی رشت، و مسئول محترم حیوان

خانه دانشکده پزشکی جناب آقای مروتی قدردانی می‌شود.
این مقاله برگرفته از یک پایان‌نامه در دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان می‌باشد.
نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

1. Bokura H, Robinson RG. Long term cognitive impairment associated with caudate stroke. Stroke 1997; 28:970-975.
2. Braduik B, Sonesson B, Holtas S. Spatial impairment hallowing right hemisphere transient ischemic attackts in patients without carotid artery stenosis. Acta Neural Scand 1989; 80:411-418.
3. Godefroy O, Rousseaux M, Pruro JP, Cabara M, Leys D. Neuropsychological changes related to unilateral lenticostriate infarcts. J Neurol Neurosurg Psychiatr 1994; 57:480-485.
4. Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. Neurology 1987; 37: 1281-1286.
5. Kesner RP, Adelstein T, Crutcher KA. Equivalent spatial location memory deficits in rats with medial septum or hippocampal formation lesions and patients with dementia of the Alzheimer's type. Brain Cogn 1989; 9: 289-300.
6.Alipanahzade H, Soleimani M, Soleimani Asl S, Mehdizadeh M, Katebi M. Effect of transforming growth factor alpha of dentyte jyrus neurons and pyramidal cells of CA1 subfiled of hippocampus following ischemia- reperfusion in Rats. J Gorgan Uni Med Sci 2012; 14(3): 26-32.[Text in persian]
7. Deckert J, Jorgensen MB. Evidence for pre- and postsynaptic localization of adenosine A1 receptors in the CA1 region of rat hippocampus: a quantitative autoradiographic study. Brain Res 1988;446(1):161-164.
8. Zhang J, Piantadosi CA. Prolonged production of hydroxyl radical in rat hippocampus after brain ischemia-reperfusion is decreased by 21-aminosteroids. Neurosci Lett 1994; 177(1-2):127-130.
9. Simonová Z, Sterbová K, Brozek G, Komárek V, Syková E. Postnatal hypobaric hypoxiain rats impairs water maze learning and morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. Behav Brain Res 2003; 141: 195-205.
10. Zini I, Tomasi A, Grimaldi R, Vannini V, Agnati LF. Detection of free radicals during brain ischemia and reperfusion by spin trapping and microdialysis. Neurosci Lett 1992; 138(2): 279-282.
11. Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. Ann Neurol 1982; 11: 491-498.
12. The National Institute of Neurological Disorders and Strokert-PA Stroke Study Group.Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. N Engl J Med 1995; 333:1581-1587.
13. Graaf MR. The risk of cancer in users of statins. J Clin Oncol 2004; 22(12): 2388-2394.
14. Zacco A, Togo J, Spence K, Ellis A, Lloyd D, Furlong S, Piser T. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors protect cortical neurons from excitotoxicity. J Neurosci 2003; 23: 11104–11111.
15. Tanaka N, Katayama Y, Katsumata T, Otori T, Nishiyama Y. Effects of long-term administration of HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, on stroke events and local cerebral blood flow in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Brain Res 2007; 1169: 125–132.
16. Endres M, Laufs U, Huang Z, Nakamura T, Huang P, Moskowitz MA, et al. Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 8880–8885.
17. Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update.Fundam clin Pharmacol 2005; 19(1): 117-125.
18.Kawai H, Deguchi SH, Deguchi K, Yamashita T, Ohta Y, Omote Y, Kurata T, Ikeda Y, Matsuura T, Abe K. Protection against ischemic stroke damage by synergistic treatment with amlodipine plus atorvastatin in Zucker metabolic rat. Brain Research 2011; 1382: 308-314.
19. Laufs U, Gertz K, Huang P, Nickenig G, Bohm M, Dirnagl U, et al. Atorvastatin upregulates type iii nitric oxide synthase in thrombocytes, decreases platelet activation, and protects from cerebral ischemia in normocholesterolemic mice. Stroke 2000; 31: 2442–2449.
20. Clarke RM, Lyons A, O'Connell F, Deighan BF, Barry CE, Anyakoha NG, Nicolaou A, Lynch MA. A pivotal role for interleukin-4 in atorvastatin-associated neuroprotection in rat brain. J Biol Chem 2008; 283: 1808–1817.
21. Céspedes-Rubio A, Jurado FW, Cardona-Gómez GP. p120 catenin/αN-catenin are molecular targets in the neuroprotection and neuronal plasticity mediated by atorvastatin after focal cerebral ischemia. Journal of neuroscience Research 2010; 88: 3621-3634.
22. Zamani M, Rasooli H, Mehdizadeh M, Nobakht M, Zamani F, Soleimani M. Protective effect of Adenosine A1 receptor and ascorbic acid on hippocampal neuronal density and memory disorder in ischemia reperfusion induced Rats. J Gorgan Uni Med Sci 2013; 14(4):52-59.[Text in persian]
23. Kiernan JA. Histological, Histochemical Methods. 3rd Edition. Oxford; Butterworth Heinemann, 1999.
24.Waters DD. Safety of high-dose atorvastatin therapy.Am J Cardiol 2005; 96(5A): 69F-75F.
25. Kalantari S, Naghipour M. Statin therapy and hepatotoxicity: Appraisal of the safety profile of atorvastatin in hyperlipidemic patients. Adv Biomed Res 2014; 3:168.

26.Lu D, Goussev A, Chen J, Pannu P, Li Y,Mahmood A, Chopp M. Atorvastatin reduces neurological deficit and increases synaptogenesis, angiogenesis, and neuronal survival in rats subjected to traumatic brain injury. J Neurotrauma 2004; 21(11): 1-32.
27.Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 1996; 27: 1124-1129.
28.Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. J Neurotrauma 2000 17: 871–890
29. Wityk RJ, Goldsborough MA, Hillis A, Beauchamp N, Barker PB, Borowicz LM Jr, et al. Diffusion and perfusion-weighted brain magnetic resonance imaging in patients with neurologic complications after cardiac surgery. Arch Neurol 2001; 58(7): 571–576.
30. Ruiz V. Statins upregulate CD 36 expressin in human monocytes an affect strengthened when combined with PPAR-gamma ligand putative contribution of Rho GTPase in statin-induced CD36 expression. Biochem Pharmacol 2004; 67(2): 303-313
31.Gertz K, Laufs U, Lindauer U, Nickenig G, Böhm M, Dirnagl U, Endres M. Withdrawal of statin treatment abrogates stroke protection in mice. Stroke 2003; 34: 551–557.
32. Elewa HF, Kozak A, El-Remessy AB, Frye RF, Johnson MH, Ergul A, Fagan SC. Early atorvastatin reduces hemorrhage after acute cerebral ischemia in diabetic rats. J Pharmacol Exp Ther 2009; 330(2): 532-540.

Effects of Atorvastatin on Hippocampal CA1 Cells Following Transient Global Ischemia in Male Rats

Faghani M (PhD)[1]- Movaseghi SH(PhD)[2]- Molladost H(PhD)[3]- *Ejlali F(MSc)[1]

***Corresponding Address:** Anatomical sciences department, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Email: farhang.ejlali@gmail.com

Received: 25 Jul/2014 Accepted : 22 Sep/2014

Abstract

Introduction: Ischemic stroke is a major cause of death in the world after cancer and heart attack. CA1 hippocampus is one of the most sensitive parts of the brain to ischemia and hypoxia. Antioxidants prevent cell damage consequent cell death by omitting free radicals and component resulted from cell damage.

Objective: Evaluating the protective effect of atorvastatin on hippocampal CA1 cells following transient global ischemia in male rats

Materials and Methods: This experimental study was conducted on a total of 24 male adult NMRI rats weighing 250-300 g with average age of 8-10 weeks. They were randomly divided into four groups: control, sham, vehicle and treatment. To produce ischemia reperfusion model, common carotid artery in both sides were blocked for 20 minutes . First dose atorvastatin (10 mg/kg) in the treatment group was administrated after 6 hours following ischemia reperfusion, then 24, 48 and 72 hours intraperitoneal. After four days, all rats were killed, and the brain were dissected and processed for nissl histological staining. The results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's tests.

Results: In the present study, there was no significant difference in the number of pyramidal cell in CA1 hippocampus between the treatment group and control group. But the number of healthy pyramidal cells in ischemia and vehicle groups decreased, and there was a statistically significant difference between them and control group ($P<0.05$).

Conclusion: Present findings suggest that using atorvastatin 10mg/kg after transient ischemia reperfusion, can decrease severity of damage and cell death in CA1 hippocampus cells.

Key words: Apoptosis/ Atorvastatin/ Hippocampus/ Ischemia/ Reperfusion.

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 93, Pages: 39-46

Please cite this article as: Faghani M, Movaseghi SH, Molladost H, Ejlali F. Effects of Atorvastatin on Hippocampal CA1 Cells Following Transient Global Ischemia in Male Rats. J of Guilan University of Med Sci 2015; 24(93):39-46. [Text in Persian]

1. Anatomical Sciences Department, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2. Anatomical Sciences Department, Faculty of Medicine, Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran