

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي يُرِيهِمْ
آيَاتِهِ لَعَلَّهُمْ
يَتَّقُونَ

331811



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم تشریح

عنوان:

بررسی اثرات هیستیدین بر مورفولوژی سلول های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش
صحرائی متعاقب انسداد موقت شریان مغزی میانی

استاد راهنما:

آقای دکتر سید حسن افتخار واقفی

استاد مشاور:

آقای دکتر وحید شیبانی

نگارش:

عباس محمدی پور

زمستان ۱۳۸۷

اداره خدمات مرکز علمی براد
چشمه درک

۱۳۸۸ / ۳ / ۱۷

۱۱۵۲۴۴



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

صور تجلسه دفاع از پایان نامه

تاریخ:.....

شماره:.....

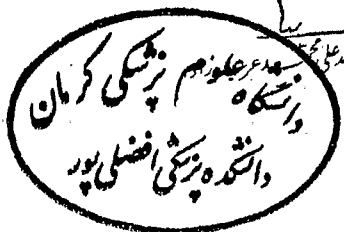
پیوست:.....

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای عباس محمدی پور دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان: بررسی اثرات هیستیدین بر مورفولوژی سلولهای ناحیه CA1 هیپوکمپ موش متعاقب ایسکمی موقت مغزی در ساعت ۱۲ روز دوشنبه مورخ ۸۷/۱۰/۹ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

اسم	نام و نام خانوادگی	سمت
	جناب آقای دکتر سید حسن افتخار واقفی	الف: استاد (ان) راهنما
	جناب آقای دکتر وحید شیانی	ب: استاد (ان) مشاور
	جناب آقای دکتر محسن بصیری	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر غلامرضا سپهری	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	خانم پروانه شریفی	ه: نماینده تحصیلات تکمیلی

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی..... و نمره ۱۹.۶۲..... مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضا معاون آموزشی



در هر حرفه ای که هستید، نه اجازه دهید به بدبینیهای بی حاصل آلوده شوید و نه بگذارید لحظات تاسف بار، که برای هر ملتی پیش می آید، شما را به یاس و ناامیدی بکشاند. در آرامش حاکم بر آزمایشگاهها و کتابخانه هایتان زندگی کنید. نخست از خود بپرسید: برای یادگیری و خودآموزی چه کرده ام؟ سپس همچنان که بیشتر می روید، بپرسید: من برای کشورم چه کرده ام؟ و این پرسش را آنقدر ادامه دهید تا به این احساس شادی بخش و هیجان انگیز برسید که شاید سهم کوچکی در پیشرفت و اعتلای بشریت داشته اید. ما هر پاداشی که زندگی به تلاشهایمان بدهد یا ندهد، هنگامی که به پایان تلاشهایمان نزدیک می شویم،... هر کدامان باید حق آنها داشته باشیم که با صدای بلند بگوییم:

من آنچه در توان داشته ام، انجام داده ام.

«لوئی پاستور»

تقدیم به استاد:

این اثر ناچیز را تقدیم می‌کنم به بهترین استاد دوران تحصیلم
جناب آقای دکتر سید حسن افتخار واقعی؛

استادی که چه از لحاظ علمی و چه از لحاظ اخلاقی، نمونه و بی
نظیر بود و امید آن دارم که بتوانم ذره‌ای از محبت‌های ایشان را
جبران کنم.

تقدیم به پدر:

که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر. توانش
رفت تا به توانایی برسم، مویش سپیدی گرفت تا روسفید بمانم.
او که فروغ نگاهش و روشنی رویش سرمایه های جاودانی زندگی
من است. در برابر وجود گرمی اش زانوی ادب بر زمین می
نهم و با دلی مالا مال از عشق و محبت به دستانش بوسه می زنم.

تقدیم به مادر:

ساکن معبد پاکی ها، او که عطر دلاویزش تا ابدیت در زندگی ام

جاری است و دعاهاى پر از کرامت فداوندی اش را در جای جای

زندگی ام احساس می کنم. همیشه به یادش خواهم بود و همواره

بوسه بر خاک پایش می زنم.

تقدیم به همسر:

بهترین هدیه خداوند و همسفر روزهای زندگی ام.

او که آشنائی اش برایم نعمت و وجودش برایم،

سراسر دلگرمی است

9

نگاهش امید و آرامش زندگی.

حمد و سپاس خداوند بی همتا را که مرا یاری داد تا بتوانم این مرحله از زندگی ام را نیز با موفقیت پشت سر بگذارم.

در پایان تشکر می کنم از استاد بسیار ارجمندم، جناب آقای دکتر افتخار واقفی که از هر لحاظ استاد نمونه بودند و همیشه مدیون زحمات و الطاف این بزرگوار خواهم بود. و با تشکر از استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر شیبانی، مشاور محترم پایان نامه ام که بی شک بدون زحمات و راهنمایی های ایشان راه به جایی نمی بردم. همچنین متشکر و سپاسگذارم از سایر اساتید و دوستانم که در طول این دوره از تحصیل یاری ام کردند. امیدوارم توفیقی حاصل شود تا بتوانم زحمات و محبت های بی دریغ آنها را پاسخ گویم.

دستان پر فروغ آنها را بوسیده و سلامتی آنها را از درگاه پروردگار مهربان خواستارم. و با سپاس و تشکر از پرسنل محترم گروه آناتومی و مرکز تحقیقات علوم و اعصاب.

رساله مذکور در قالب طرح تحقیقاتی در مرکز تحقیقات علوم و

اعصاب دانشکده علوم پزشکی کرمان به انجام رسیده است.

بدین وسیله از کلیه همکاران و پرسنل محترم آن مرکز تقدیر و

تشکر به عمل می آید.

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
I.....	چکیده فارسی.....
II.....	چکیده انگلیسی.....
III.....	مقدمه و اهداف.....

فصل اول

کلیات و مروری بر مطالعات انجام شده

۱.....	مقدمه ای بر سکتۀ مغزی.....
۲.....	گردش خون مغز.....
۳.....	آناتومی عروق مغز.....
۵.....	هیپوکامپ.....
۶.....	ارتباط هیپوکامپ با سایر نواحی مغز.....
۷.....	سازمان بندی سیناپس هیپوکامپ.....
۸.....	ایسکمی مغزی.....
۹.....	پاتوفیزیولوژی ایسکمی مغزی.....
۹.....	به هم خوردن تعادل یونی.....

- دپولاریزاسیون نواحی اطراف سکتہ..... ۱۰.....
- رادیکالهای آزاد..... ۱۱.....
- سایتوکین ها..... ۱۲.....
- التهاب..... ۱۴.....
- آپوپتوز..... ۱۶.....
- روشهای استفاده شده برای مطالعه ایسکمی مغزی..... ۱۸.....
- ایسکمی موضعی مغزی و انواع آن..... ۱۸.....
- انسداد شریان مغزی میانی از طریق کرانیوتومی..... ۱۸.....
- انسداد شریان مغزی میانی از طریق فتوشیمیایی..... ۱۹.....
- انسداد شریان مغزی میانی با استفاده از آمبولی..... ۲۰.....
- انسداد شریان مغزی میانی با روش فیلامنت..... ۲۱.....
- القای ایسکمی در محیط کشت..... ۲۲.....
- ایسکمی مغزی گلوبال..... ۲۳.....
- ایسکمی مغزی کامل..... ۲۴.....
- ایسکمی مغزی ناقص..... ۲۴.....
- هیستیدین..... ۲۵.....

فصل دوم

مواد و روشها

- وسایل، مواد و روشها..... ۳۰
- حیوانات..... ۳۰
- روش ایجاد ایسکمی..... ۳۱
- وسایل و مواد در بخش هیستولوژی..... ۳۵
- آماده سازی نمونه جهت بررسی توسط میکروسکوپ نوری..... ۳۶
- روش رنگ آمیزی..... ۳۸
- روش محاسبه و تجزیه و تحلیل داده ها..... ۴۲

فصل سوم

نتایج

اثر انسداد موقت شریان مغزی میانی بر مورفولوژی نورونهای ناحیه CA1 هیپوکمپ در

گروههای کنترل، شاهد جراحی و ایسکمی..... ۴۳

مقایسه تاثیر تزریق مقادیر ۱۰۰۰ و ۵۰۰، ۲۰۰ هیستیدین بر مورفولوژی نورون های

ناحیه CA1 هیپوکمپ در مقایسه با گروه ایسکمی..... ۴۶

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری

۵۲..... بحث و تفسیر نتایج

۵۷..... پیشنهادات

۵۸..... منابع

چکیده:

سکته مغزی یک بیماری ناتوان کننده با پاتوفیزیولوژی پیچیده می باشد که در تمام دنیا شیوع بالایی دارد. سکته دومین عامل مرگ و میر در دنیا بوده و یک ششم از انسانها، حداقل یکبار در طول زندگی خود به آن گرفتار می شوند. عوامل زیادی وجود دارند که به دنبال ایسکمی مغزی، منجر به مرگ سلولی می شوند، از جمله آزادسازی گلوتامات و واکنش های التهابی. در واقع واکنشهای التهابی نقش مهمی در آسیب های مغزی به دنبال ریپرفیوژن دارند. از آنجایی که هیستیدین (پیش ساز هیستامین) قادر است واکنش های التهابی و آزادسازی گلوتامات را مهار کند، در این مطالعه اثرات آن مورد بررسی قرار گرفت. ایسکمی موقت مغزی به مدت ۶۰ دقیقه از طریق انسداد موقت شریان مغزی میانی سمت راست ایجاد شد و مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی بعد از ۷ روز مورد بررسی قرار گرفت. حیوانات به شش گروه زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل (۶ عدد)، گروه شاهد (۶ عدد)، گروه ایسکمی (۶ عدد)، گروه ایسکمی با هیستیدین 200 mg/kg (۶ عدد)، گروه ایسکمی با هیستیدین 500 mg/kg (۶ عدد)، گروه ایسکمی با هیستیدین 1000 mg/kg (۶ عدد). انسداد یک ساعته شریان مغزی میانی، آسیب های نورونی شدیدی در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر جای گذاشت. تفاوت معنی داری در تعداد سلول های دژنره و نسبت پان سلولار بین گروه ایسکمی و گروه های کنترل و شاهد وجود داشت. تجویز هیستیدین باعث کاهش آسیب نورونی متعاقب ایسکمی شد که این کاهش قابل ملاحظه بود. تجویز هیستیدین با دوزهای ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ تعداد سلول های دژنره و نسبت پان سلولار را به طور معنی داری در مقایسه با گروه ایسکمی کاهش داد. یافته های حاضر نشان می دهد که تجویز داخل صفاقی هیستیدین، ۳ ساعت قبل از ریپرفیوژن، آسیب ناحیه CA1 هیپوکامپ را کاهش می دهد.

کلمات کلیدی: ایسکمی مغزی، هیپوکامپ و هیستیدین

Abstract

Brain stroke is a devastating disease with a complex pathophysiology which it is prevalent in the all of the world. Stroke is the second most common cause of death worldwide and 1/6 of all human beings will suffer at least one stroke in their lives.

There are multiple processes that lead to cell death after brain ischemia, Such as glutamate release and inflammatory reactions. In tact inflammatory reactions play an important role in ischemia–reperfusion injury in the brain. Since histidine, a precursor of histamine, enables to suppress inflammatory reactions and glutamate release, its effects were examined. Transient cerebral ischemia for 60 min was provoked by transient occlusion of the right middle cerebral artery in rats, and delayed neuronal death was evaluated in CA1 of hippocampus neurons after 7 days. Animals were distributed into six groups as follows: control group (n=6), sham group (n=6), MCAO group (n=6), histidine (200mg/kg) plus MCAO, histidine (500mg/kg) plus MCAO and histidine (1000mg/kg) plus MCAO group.

Transient cerebral ischemia for 1 h provoked severe morphological damage in the CA1 region of hippocampus. There were significant differences in the necrotic cells number and pan cellular necrosis among the control and sham groups and ischemia group. Histidine therapy alleviated ischemic neuronal damage and the magnitude of protection was most prominent. Administration of histidine reduced the necrotic cells and pan cellular necrosis. There were significant differences among the ischemia group and three histidine (200, 500, and 1000 mg/kg)-injected groups. Our present findings show that intraperitoneal administration of histidine 3 h before reperfusion alleviated CA1 damage.

Key word: Brain ischemia, hippocampus, histidine

مقدمه و اهداف:

شریان مغزی میانی (MCA) یکی از دو شاخه انتهایی شریان کاروتید داخلی بوده و از جمله قسمت‌هایی که خونرسانی می‌کند، ناحیه هیپوکامپ مغز می‌باشد. انسداد شریان مغزی میانی از شایعترین علل سکته‌های موضعی مغزی (ایسکمی) در انسان می‌باشد که باعث آسیب عصبی دائم یا موقت و تغییرات مورفولوژیک در بعضی از نواحی مغز از جمله هیپوکامپ می‌شود. هیپوکامپ ناحیه‌ای کلیدی در فرآیند حافظه و یادگیری است و دارای نواحی CA₁، CA₂، CA₃، هیلار و جیروس دنتاتوس است. حساس‌ترین ناحیه هیپوکامپ به ایسکمی ناحیه CA₁ می‌باشد. مطالعات میکروسکوپ نوری در زمینه ایسکمی نشان می‌دهد که ایسکمی بر روی هسته، سیتوپلاسم و حتی عناصر سیتوپلاسمی مثل اجسام نیسل اثر داشته و باعث تغییرات دژنراتیو در نواحی مختلف مغز می‌شود. همچنین مطالعات قبلی اثرات ایسکمی با زمانهای متفاوت را مورد مطالعه قرار داده که نتیجه این مطالعات نشان داده‌اند با القای ایسکمی مغزی با استفاده از متد فیلامنت، نوروتهای موجود در ناحیه CA₁ هیپوکامپ آسیب دیده و این آسیب به صورت چروکیدگی هسته سلولها و متراکم شدن سیتوپلاسم قابل مشاهده است. مواد نوروپروتکتیو متعددی جهت بررسی کاهش عوارض ایسکمی استفاده شده که اسیدآمینه هیستیدین (Histidine) از آن جمله است. این اسیدآمینه را در دوزهای مختلف و در زمانهای متفاوت بعد از ایسکمی استفاده کرده‌اند و مطالعات قبلی حاکی از آن است که بسته به دوز مصرفی، می‌تواند ضایعات ناشی از ایسکمی را کاهش دهد. هیستیدین از راههای مختلفی از جمله با مهار رهایش گلوتامات و مهار واکنش‌های التهابی، باعث کاهش حجم و وسعت ناحیه انفارکتوس در مغز می‌شود. به هر حال مطالعه‌ای که نشان دهنده بررسی اثرات هیستیدین به

صورت تزریق قبل از ریپرفیوژن بر روی مورفولوژی نورونهای ناحیه CA₁ هیپوکامپ به دنبال انسداد موقت MCA باشد یافت نشد، بنابراین در این مطالعه اثرات هیستیدین بر مورفولوژی نورونهای ناحیه CA₁ هیپوکامپ موشهای صحرایی نر به دنبال انسداد موقت MCA بررسی شد.

فصل اول

کلیات و

مروری بر مطالعات

انجام شده

مقدمه ای بر سکته مغزی:

آسیب مغزی به دلیل سکته مغزی به عنوان یک مشکل سلامتی عمومی مطرح است. در آمریکا سکته سومین عامل مرگ و میر می باشد که هر سال حدود ۷۰۰۰۰۰ نفر از جمعیت این کشور به آن مبتلا می شوند. هم اکنون دو میلیون نفر که از سکته جان سالم به در برده اند در آمریکا زندگی می کنند که اکثر آنها از ناتوانی های حرکتی و اختلالات دیگر رنج می برند به طوری که حتی قادر به انجام اعمال شخصی خود نیز نمی باشند. در کشور چین همه ساله ۱/۵ میلیون نفر به خاطر سکته جان خود را از دست می دهند. هزینه های برآورد شده برای این بیماری در آمریکا سالانه ۶۵ بلیون دلار می باشد (Doyle et al 2008). سکته را می توان به دو دسته ایسکمیک و هموراژی تقسیم کرد که نوع ایسکمیک آن بسیار شایعتر بوده و حدود ۸۷٪ کل موارد سکته را شامل می شود. عوامل زیادی متعاقب ایسکمی دست به دست هم داده و منجر به آسیب نورونها می شوند که عبارتند از: عوامل اکسیتوتوکسیک، اسیدوتوکسیسیتی، به هم خوردن تعادل یونی، دپلاریزاسیون ناحیه اطراف سکته، استرس اکسیداتیو و استرس نیتراتیو، التهاب و آپوپتوز (Doyle et al., 2008). سکته هر سنی را درگیر می کند، اما شیوع آن در سنین بالای ۴۵ سال دوبرابر شده و در سنین ۷۵ به بالا، ۱ تا ۲٪ به شیوع آن اضافه می شود. شیوع جهانی سکته تخمیناً بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ مورد از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت می باشد و برخلاف اعتقاد عمومی، میزان بروز سکته مغزی در کشورهای در حال توسعه همانند کشورهای واقع در آسیا و آفریقا، بالاتر از کشورهای توسعه یافته می باشد (Liu et al., 2001).

ایسکمی مغزی و آسیب ناشی از آن به دو روش زیر ایجاد می شود:

(۱) انسداد شریان مغزی که سکته مغزی گفته می شود و یک صدمه غیر قابل برگشت در ناحیه

مرکزی و یک آسیب قابل برگشت در منطقه اطراف آن ایجاد می کند.