IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۱ (٤)، ۲٤۹- ۲٤۲ زمستان ۱۳۹٦

مقاله پژوهشی

نقش نیتریک اکساید بر هیپوکامپ ایسکمیک در طی ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه

فاطمه زارع مهرجردی[۱]، حمید رضا پازوکی-طرودی[۲]، منصوره سلیمانی[۳]، مرجان عجمی[۴]، ناهید ابوطالب[۲*]

۱. مرکز تحقیقات زیست پزشکی اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد
۲. مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران
۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران
۴. انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۲۶ بهمن ۹۴ پذیرش: ۲۸ فروردین ۹۵

چکیده

مقدمه: ریموت ایسکمیک پره کاندیشنینگ (RIPC = remote ischemic preconditioning) پدیده ای است که در طی آن دوره های کوتاه مدت ایسکمی در یک اندام دور موجب حفاظت بافت از آسیب های ناشی از ایسکمی طولانی می گردد. هدف اصلی این مطالعه، بررسی نقش نیتریک اکساید در ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه بر صدمات ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی در بافت هیپوکامپ می باشد.

روش ها: ۶۰ موش سوری نر نژاد BALB/C با وزن ۳۵-۳۰ گرم به طور تصادفی در شش گروه قرار گرفتند. گروه sham، گروه IR (ایسکمی گلوبال مغزی)، گروه IPC (ایسکمی موقت کلیه)، گروه RIPC (IPC+IR)، گروه L-NAME + IPC + IR (تزریق L-NAME ۳۰ دقیقه قبل از IPC)، گروه L-NAME + sham + IR. سه روز بعد از ایسکمی مغزی، میزان تراکم سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ و میزان نیتریک اکساید (NO) بافت هیپوکامپ در گروه های مختلف اندازه گیری شد.

یافته ها: RIPC از کاهش تراکم سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ به دنبال ایسکمی جلوگیری کرد ($p \leq ۰/۰۵$). افزایش در میزان نیتریک اکساید هیپوکامپ در گروه RIPC در مقایسه با گروه IR مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$). مهار نیتریک اکساید به وسیله L-NAME، اثرات محافظتی RIPC بر کاهش صدمات بافتی در هیپوکامپ ایسکمیک را مهار کرد ($p \leq ۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: افزایش نیتریک اکساید در طی RIPC از صدمات ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن در ناحیه هیپوکامپ جلوگیری می کند.

واژه های کلیدی: ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه، ایسکمی-رپرفیوژن مغزی، موش سوری، نیتریک اکساید

مقدمه

ایسکمی مغزی به عنوان دومین علت مرگ و میر و ناتوانی در دنیا شناخته شده است که ۱۰٪ از کل مرگ و میر ها را در دنیا شامل می شود. آمار گزارش شده در ایران مشابه آمار جهانی است. سالانه تنها در آمریکا حدود ۸۰۰۰۰۰ نفر دچار سکته مغزی می شوند [۱، ۲]. ۸۷٪ موارد سکته مغزی به دلیل ترومبوز شریان مغزی است که ایسکمی فوکال محسوب می شود. سکته مغزی نوع گلوبال به طور عمده ناشی از قطع کامل جریان خون به دنبال ایست قلبی است. امروزه با شوک الکتریکی و فیبریلاسیون بطنی، بسیاری از بیماران دچار ایست قلبی به زندگی برگردانده می شوند، ولی عوارض ناشی از ایسکمی تا مدت های طولانی گریبان گیر بیمار است. این عوارض که شامل افسردگی، ترس، اضطراب، اختلال حافظه و یادگیری است به طور عمده ناشی از آسیب به نورون های هیپوکامپ می باشد [۳]. هیپوکامپ نسبت به حوادث ایسکمیک بسیار حساس می باشد [۴]. بعد از ایسکمی گلوبال مغزی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: aboutaleb.na@gmail.com
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

صدمات ناشی از ایسکمی و رپرفیوژن باعث اختلالات فراوان در عملکرد این عضو می گردد. در طی ریپرفیوژن، بازگشت مجدد خون در بافت دچار ایسکمی باعث افزایش استرس های اکسیداتیو شده و منجر به التهاب و آسیب های اکسیداتیو می گردد [۵]. امروزه استراتژی های فارماکولوژیک برای مقابله با سکته مغزی و عوارض آن در کلینیک ناامیدکننده به نظر می رسند، لذا توجه محققان این زمینه به سمت استراتژی هایی جلب شده که از خواص درونی مغز برای مقابله با ایسکمی بهره ببرند. یکی از مکانیزم های اندوژن شناسایی شده ایسکمیک پره کاندیشنینگ (IPC) است که یک پاسخ سازشی به یک ایسکمی موقت بافتی است که بافت را نسبت به ایسکمی طولانی و کشنده بعدی مقاوم می سازد [۶].

ریموت ایسکمیک پره کاندیشنینگ (RIPC) یک روش جدیدتری نسبت به IPC است که درآن ایسکمی موقت و غیر آسیب رسان یک اندام، هم از طریق فاکتورهای بیوشیمیایی موجود در خون و هم از طریق آزاد سازی نوروترانسمیترها از پایانه های عصبی، باعث ایجاد مقاومت در دیگر اندام ها می شود. در واقع اندام هدف بدون این که استرس اولیه ای را متحمل شود، مقاوم می شود [۷]. مطالعات اندکی در سال های اخیر در مورد IPC و RIPC بر ایسکمی مغزی انجام شده است به خصوص مکانیسم های حفاظتی IPC یا RIPC بر روی ایسکمی مغزی به خوبی شناخته نشده است. در مطالعات قبلی که توسط گروه ما انجام شد اثر mTOR (mammalian target of rapamycin) و کانال های KATP در ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه مورد بررسی قرار گرفت [۸، ۹]. یکی از مسیرهایی که در طی ایسکمی و یا در شرایط پره کاندیشنینگ مورد مطالعه قرار می گیرد NO و آنزیم های تولید کننده آن می باشند. برخی از مطالعات اثرات مفید و برخی اثرات آسیب رسان NO را در طی ایسکمی مغزی نشان داده اند. به طور خلاصه اثرات مفید NO شامل: گشادی عروق و افزایش جریان خون بافتی، مهار فعالیت پلاکتی، کاهش تکثیر سلول های عضله صاف عروقی و اثرات ضد باکتریایی و غیره می باشد. اثرات آسیب رسان NO شامل: افزایش استرس های اکسیداتیو، افزایش آپوپتوز و نکروز، مهار زنجیره تنفسی میتوکندریایی و غیره می باشد [۱۰]. در مطالعه حاضر نیز میزان NO و نقش NO بر صدمه بافتی ناشی از نکروز در گروه ایسکمی مغزی و گروه ایسکمی مغزی که تحت ایسکمی موقت کلیه قرار گرفته اند، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۶۰ موش سوری نر بالغ نژاد BALB/C با محدوده وزنی ۳۵-۳۰ گرم که از انستیتو رازی تهیه گردید، استفاده شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. حیوانات در شرایط یکسان و در دمای معمولی آزمایشگاه ۱ ± ۲۱ درجه سانتی گراد و در سیکل ۲۴ ساعته که ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی داشت با دسترسی آزاد به آب و غذای مناسب نگهداری شدند. موش ها به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم شدند. در گروه sham فقط عمل جراحی در ناحیه قدامی- میانی گردن و ناحیه فلانک کلیه چپ انجام شد، بدون این که ایسکمی ایجاد شود. در گروه IPC + sham ایسکمی شریان کلیه چپ به صورت اینتروال (سه ایسکمی پنج دقیقه ای با فاصله پنج دقیقه) انجام شد و ۲۴ ساعت بعد، جراحی در ناحیه قدامی- میانی گردن بدون انسداد شریان های کاروتید اعمال گردید. در گروه sham + IR جراحی در ناحیه فلانک کلیه چپ بدون انسداد شریان کلیه و جراحی در ناحیه گردن برای ایسکمی مغزی با انسداد شریان های مشترک کاروتید به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. در گروه RIPC، ایسکمی کلیه و ۲۴ ساعت بعد ایسکمی مغزی انجام شد. در گروه L-NAME + IPC + IR، L-NAME (تهیه شده از کمپانی سیگما) به میزان ۲۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از ایسکمی کلیه تزریق شد و ۲۴ ساعت پس از آن ایسکمی گلوبال مغزی انجام شد و در گروه L-NAME + sham + IR، قبل از جراحی شم کلیه L-NAME تزریق گردید و ۲۴ ساعت پس از آن ایسکمی گلوبال مغزی اعمال گردید.

به منظور ایجاد مدل ایسکمی موقت کلیه، ابتدا موش ها با استفاده از مخلوط کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۵ mg/kg) تهیه شده از کمپانی الفاستان (alfastan) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس حیوانات در وضعیت فلانک چپ قرار گرفتند. محل عمل به خوبی تراشیده شده و پس از لمس دنده آخر، زیر این دنده برش داده شد. کلیه و شریان کلیوی چپ نمایان شده و بعد از مشاهده رقص

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

شریانی، این شریان با کلمپ نرم بسته شد. ایسکمی به شکل سه ایسکمی پنج دقیقه ای با فاصله پنج دقیقه ریپرفیوژن انجام گرفت. در تمام مدت ایسکمی حیوان به خوبی گرم نگه داشته شد. بعد از اتمام ایسکمی، کمی سرم فیزیولوژی بر روی محل جراحی ریخته شد و به آرامی کلمپ برداشته و محل جراحی بخیه گردید [۹، ۱۱].

جهت ایسکمی گلوبال هیپوکامپ، بیست و چهار ساعت بعد از ایسکمی کلیه، موش ها مجدداً با همان دوز قبلی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. حیوانات را روی تخت جراحی فیکس کرده و قسمت قدامی گردن موش تراشیده شد. سپس تحت شرایط استریل، در قسمت میانی گردن موش برشی به اندازه ۱/۵-۱ سانتی متر داده شد. با مشخص شدن غلاف کاروتید، عصب واگ از غلاف جدا شد و شریان های کاروتید مشترک به صورت دو طرفه به مدت ۲۰ دقیقه بسته شد و سپس موضع عمل بخیه گردید [۸، ۱۲].

به منظور بررسی تراکم سلولی در هیپوکامپ، هفتاد و دو ساعت بعد از ایسکمی، چهار موش از هر گروه بیهوش شدند و بلافاصله با برش میانی پوست جدار قدامی شکم، دیافراگم و کناره خارجی دنده ها، قلب نمایان شد با کنار زدن ریه چپ، شریان آئورت نزولی مسدود شد. بطن چپ، در طرف نوک قلب برش داده و از این طریق لوله مخصوص پرفیوژن وارد ابتدای شریان آئورت صعودی گردید. ابتدا حدود ۷۰-۵۰ میلی لیتر محلول نرمال سالین برای خارج کردن خون از درون رگ ها در مدت زمان حدود ۱۰ دقیقه و سپس ۱۰۰- ۷۵ میلی لیتر از محلول فیکساتیو پارافرمالدئید ۴٪ حل شده در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH ۷/۴) با استفاده از نیروی جاذبه و در مدت زمان ۱۵-۱۰ دقیقه از رگ ها عبور داده شد. پس از پایان پرفیوژن، مغز با دقت خارج و در محلول پارافرمالدئید ۴٪ است به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. به منظور آمادگی بافت جهت قالب‌گیری، ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با آب جاری شستشو داده شدند و سپس برای انجام مراحل آب گیری با الکل های صعودی و شفاف سازی با گزیلل و آغشتگی با پارافین، نمونه ها به ترتیب زیر در دستگاه پروسسور قرار داده شد: ۱- الکل ۵۰ درصد، الکل ۷۰ درصد، الکل ۸۰ درصد (هر کدام به مدت ۱/۵ ساعت). ۲- الکل ۹۵ درصد، الکل مطلق (هر کدام دو بار و هر بار به مدت ۱ ساعت). ۳- گزیلن (سه بار و هر بار به مدت ۱/۵ ساعت). ۴- پارافین مایع با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد (سه بار و هر بار به مدت ۲ ساعت). سپس نمونه ها با پارافین قالب گیری شد و بعد از آن توسط دستگاه میکروتوم برش هایی به اندازه ۷ میکرون در فاصله ۲/۷ میلی متر از برگما از مغز گرفته شد. شمارش سلولی در مقاطع با فاصله ۲/۷ میلی متر نسبت به برگما در۳ مقطع با فاصله ۳۰ میکرومتر از یکدیگر در ناحیه هیپوکامپ انجام شد. برای این منظور، نمونه ها بر روی لام قرار داده شد و برای مطالعه میکروسکوپی که شامل رنگ آمیزی نیسل بود، آماده گردید. رنگ آمیزی نیسل برای نشان دادن اجسام نیسل در سیتوپلاسم نورون ها به کار می رود. در این روش، اجسام نیسل به رنگ بنفش- آبی دیده می شوند. این رنگ آمیزی برای شناسایی ساختار پایه ای نورون های سالم از نورون های نکروز شده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می شود [۱۳].

جهت اندازه گیری نیترات و نیتریت هیپوکامپ، کیت اندازه گیری NO از کمپانی abcam تهیه گردید. اندازه گیری نیتریک اکسید با استفاده از واکنش گریس انجام گرفت. NO در محلول تبدیل به نیتریت و نیترات می شود. نیتریت با استفاده از واکنش گریس قابل اندازه گیری است ولی برای اندازه گیری نیترات، باید تبدیل به نیتریت شود که از طریق NADH-dependent enzyme nitrate reductase موجود در کیت، این تبدیل صورت می گیرد. ابتدا طبق دستور العمل کیت، آنزیم ردوکتاز و کوفاکتور آن به نمونه ها اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در دمای اطاق انکوبه شد. در مرحله بعد محلول گریس که شامل ۲ جزء سولفانیل آمید و نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدرو کلراید بود به نمونه ها اضافه و در دمای اطاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و سپس جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. برای منحنی استاندارد از غلظت های مختلف نیتریت استفاده گردید [۱۴].

در این تحقیق نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شدند. نتایج بدست آمده، با استفاده از تست آنالیز واریانس یک طرفه همراه با تست تکمیلی توکی تجزیه وتحلیل گردید و سطح معنی داری کمتر از $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بافتی در ناحیه CA1 هیپوکامپ نشان داد که از نظر تراکم سلول های سالم در گروه ایسکمی رپرفیوژن کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم وجود دارد ($p < ۰/۰۰۱$). در

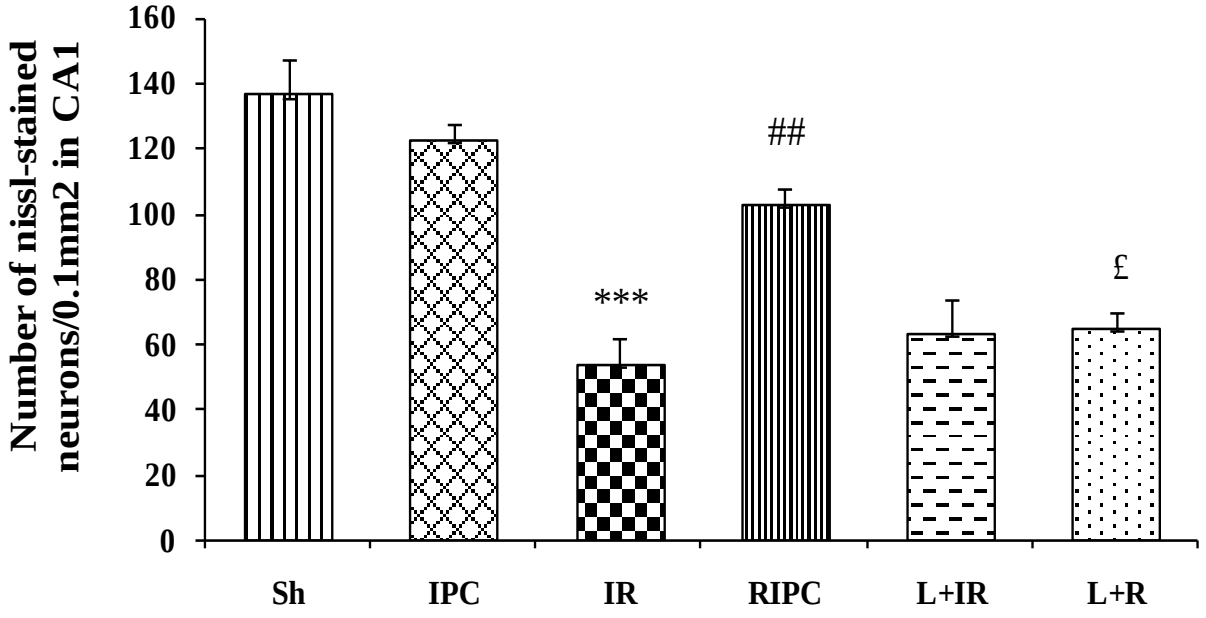
[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

گروه RIPC کاهشی در تراکم سلولی نسبت به گروه شم مشاهده شد اما این تغییر معنی دار نبود. تراکم سلول های سالم در گروه RIPC افزایش معنی داری در مقایسه با گروه ایسکمی رپرفیوژن نشان داد ($p < ۰/۰۱$). کاهش معنی داری در تراکم سلول های سالم در گروه RIPC دریافت کننده L-NAME در مقایسه با گروه RIPC مشاهده گردید ($p < ۰/۰۵$). دریافت L-NAME در گروه ایسکمی رپرفیوژن تغییری در تراکم سلول های سالم ایجاد نکرد (نمودار ۱ و شکل ۱).

مقایسه میانگین میزان نیتریت/نیترات در گروه ایسکمی رپرفیوژن و گروه شم نشان داد که میزان آن در گروه ایسکمی رپرفیوژن افزایش یافته است ولی این افزایش معنی دار نبود. میزان نیتریت ونیترات در گروه RIPC افزایش معنی داری نسبت به گروه IR ($p < ۰/۰۵$) و گروه شم ($p < ۰/۰۱$) نشان داد. دریافت L-NAME در گروه RIPC میزان نیتریت و نیترات در هیپوکامپ را به طور معنی داری کاهش داد ($p < ۰/۰۱$). همچنین مقایسه میانگین نیتریت و نیترات در گروه ایسکمی رپرفیوژن دریافت کننده L-NAME تغییر معنی‌داری را در مقایسه با گروه ایسکمی رپرفیوژن نشان داد ($p < ۰/۰۵$، نمودار ۲).

بحث

در این مطالعه ایسکمی موقت کلیه به صورت معنی داری صدمات نورونی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن را کاهش داد. این نتایج به وسیله کاهش میزان تراکم سلول های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ ایسکمیک تایید شد. نورون های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به حوادث ایسکمیک بسیار حساس هستند [۱۵]. زو و همکاران در مطالعه ای که بر روی موش های نوزادی که تحت ایسکمی طولانی مغز قرار گرفته بودند، نشان دادند که ایسکمی موقت اندام ها قبل از ایسکمی مغزی یا ایسکمی پره کاندیشنینگ اندام ها، باعث کاهش صدمات مغزی ناشی از ایسکمیک و کاهش اندازه انفارکتوس می گردد [۱۶]. طی مطالعه ای هاهن و همکاران نیز نشان دادند که ایسکمی موقت اندام ها منجر به کاهش آسیب نورونی هیپوکامپ بعد از ایسکمی گلوبال یا ایست قلبی می گردد [۱۷]. مطالعات بسیار محدودی در زمینه بررسی مکانیسم اثر RIPC بر ایسکمی مغزی انجام شده است. نقش mTOR و کانالهای KATP به عنوان مکانیسم های دخیل در ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه توسط گروه تحقیقاتی حاضر مورد بررسی



نمودار ۱- مقایسه تراکم سلول های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه های مورد مطالعه (n = ۴). $p < ۰/۰۰۱$ *** مقایسه با گروه شم، $p < ۰/۰۱$ ## مقایسه با گروه ایسکمی-رپرفیوژن (IR)، $p < ۰/۰۵$ £ مقایسه با گروه RIPC.

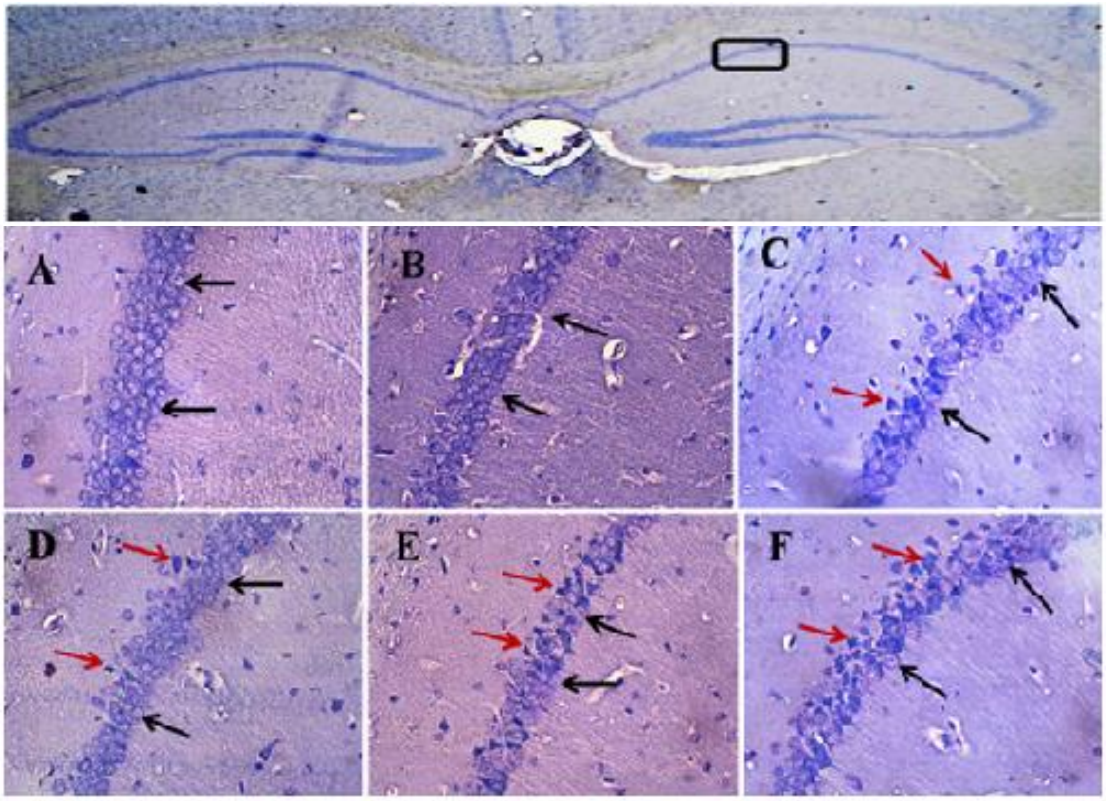
IPC: گروه تحت ایسکمی موقت کلیه

RIPC : گروه تحت ایسکمی موقت کلیه+ ایسکمی-رپرفیوژن مغزی

L + IR : گروه ایسکمی رپرفیوژن مغزی دریافت کننده L-NAME

L + R : گروه ایسکمی موقت کلیه+ ایسکمی-رپرفیوژن مغزی دریافت کننده L-NAME

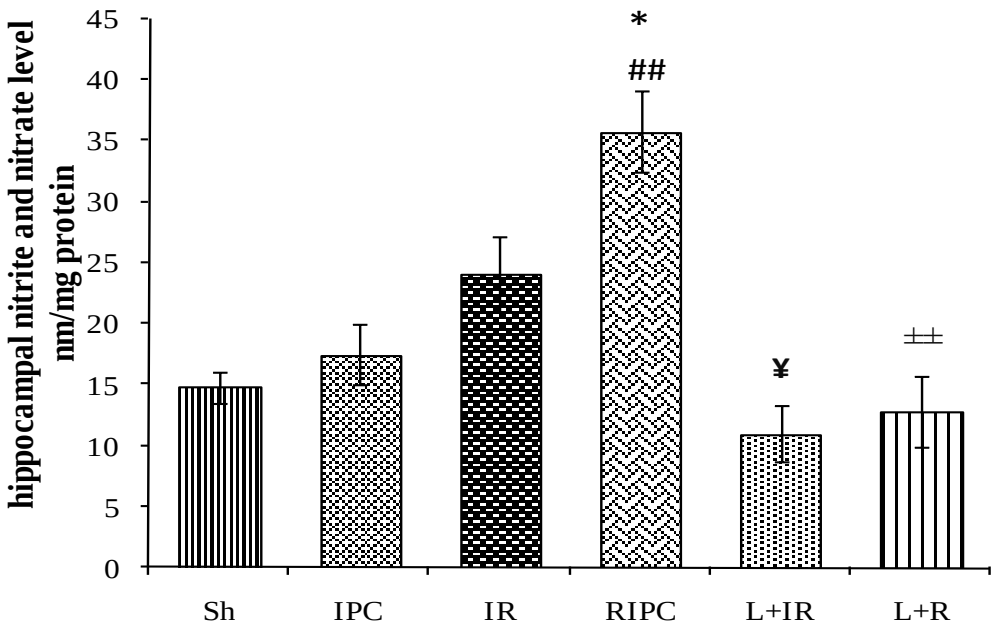
[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۱– بررسی تراکم نورون های ناحیه CA1 هیپوکامپ با رنگ آمیزی نیسل در گروه های مورد مطالعه. فلش سیاه نشان دهنده نورون سالم و فلش قرمز نشان دهنده نورون آسیب دیده است (بزرگ نمایی × 40). A = sham، B = ایسکمی موقت کلیه (IPC)، C= ایسکمی گلوبال مغزی (IR)، D = ایسکمی موقت کلیه + ایسکمی گلوبال مغزی (RIPC)، E = گروه IR دریافت کننده L-NAME، F = گروه RIPC دریافت کننده L-NAME.

قرار گرفت [۸، ۹]. در این مطالعه نیتریک اکساید به عنوان مکانیسم حفاظتی احتمالی در RIPC مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات متعددی نشان داده اند که مهار نیتریک اکساید باعث متوقف شدن پروسه پره کاندیشنینگ می گردد که نشان دهنده نقش نیتریک اکساید در مسیر پره کاندیشنینگ می باشد [۱۸، ۱۹]. نیتریک اکساید نقش دوگانه ای در ایسکمی مغزی دارد هم به عنوان عامل پاتولوژیک و هم به عنوان یک عامل محافظتی عمل می کند. نیتریک اکساید در مغز توسط ۳ نوع NOS(iNOS, nNOS, eNOS) تولید می‌شود. افزایش فعالیت رسپتورهای گلوتاماتی در حین ایسکمی، میزان کلسیم داخل سلولی را افزایش می دهد. افزایش بیان و فعالیت eNOS و nNOS در پاسخ به افزایش کلسیم داخل سلولی باعث تولید مقادیر زیادی نیتریک اکساید می گردد. تولید iNOS در پاسخ یه عوامل التهابی افزایش می یابد. مقادیر زیاد نیتریک اکساید تولید شده از nNOS و iNOS باعث افزایش صدمات ناشی از ایسکمی مغزی می گردد هر چند پاره ای از مطالعات نقش نوروپروتکشن iNOS را نیز نشان داده اند [۲۰]. در مطالعه ای که سنتنو و همکاران بر هیپوکامپ ایسکمی رت انجام دادند، مشاهده کردند که نیتریک اکساید تولید شده از nNOS نیز درطی هیپوکسی پره کاندیشنینگ اثر نوروپروتکتیو دارد [۲۰]. نیتریک اکساید تولید شده از eNOS با افزایش cGMP و وازودیلاتاسیون عروقی باعث افزایش جریان خون ناحیه آسیب دیده و کاهش صدمات بافتی می گردد. نیتریک اکساید تولید شده از eNOS میزان آرتریوژنزیز را افزایش می دهد. همچنین از تجمع و چسبندگی پلاکت ها، چسبندگی نوتروفیل ها به دیواره عروقی، تکثیر سلول های عضله صاف دیواره عروقی ممانعت می کند [۲۰]. بنابراین گرچه نیتریک اکساید به عنوان یک عامل توکسیک در طی ایسکمی عمل می کند اما در ایجاد مقاومت به ایسکمی نیز نقش دارد. نیتریک اکساید در مسیر پره کاندیشنینگ هم نقش شروع کننده و هم نقش مدیاتور دارد. در سال ۲۰۰۵، چیاری و همکاران اثر داروی ایزوفلوران بر ایسکمی قلب را بررسی کردند. ایزوفلوران داروی شناخته

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۲- بررسی میانگین میزان نیتریت/ نیترات نمونه هیپوکامپ بین گروه های مختلف مورد مطالعه (n = ۶). $p < ۰/۰۱$ ## مقایسه با گروه شم، $p < ۰/۰۵$ * مقایسه با گروه ایسکمی رپرفیوژن (IR)، $p < ۰/۰۵$ ¥ مقایسه با گروه ایسکمی رپرفیوژن (IR) ، $p < ۰/۰۱$ ++ مقایسه با گروه RIPC .

IPC : گروه تحت ایسکمی موقت کلیه

RIPC : گروه تحت ایسکمی موقت کلیه+ ایسکمی-رپرفیوژن مغزی

L + IR : گروه ایسکمی رپرفیوژن مغزی دریافت کننده L-NAME

L + R : گروه ایسکمی موقت کلیه+ ایسکمی-رپرفیوژن مغزی دریافت کننده L-NAME

شده ای در پره کاندیشنینگ است. مهار نیتریک اکساید قبل و بعد از تجویز ایزوفلوران، اثر ایزوفلوران در کاهش ناحیه انفارکتوس را مهار کرد [۱۹].

در مطالعه حاضر نشان داده شد که RIPC یا ایسکمی موقت کلیه قبل از ایسکمی-رپرفیوژن مغزی منجر به افزایش میزان نیتریت اکساید در هیپوکامپ می شود که بر صدمات بافتی ناشی از ایسکمی اثر مهاری دارد. مهار نیتریک اکساید در گروه RIPC باعث افزایش مرگ سلولی ناشی از نکروز در هیپوکامپ گردید. مطالعات گذشته نشان داده اند که در طی پره کاندیشنینگ بیان و فعالیت eNOS افزایش می یابد و اثرات پروتکتیو پره کاندیشنیگ را میانجیگری می کند. نتایج مطالعه هاشیگوچی و همکاران نشان داد که بیان eNOS در طی ایسکمی پره کاندیشنینگ در هیپوکامپ ایسکمیک افزایش می یابد و L-NAME اثرات نوروپروتکتیو ایسکمی پره کاندیشنینگ را مهار کرد در حالی که ۷-نیترو ایندازول تاثیری بر نوروپروتکشن نداشت که نقش eNOS را در پره کاندیشنینگ نشان داد [۲۱]. در مطالعه ای دیگر که در یک مدل هموراژی ساب آراکنوئید در موش ها انجام شد مشاهده شد، هیپوکسی پره کاندیشنینگ با فعال کردن eNOS و افزایش میزان نیتریک اکساید اسپاسم عروقی ناشی از خونریزی را کاهش داده و اثرات حفاظتی بر عروق و نورون ها دارد [۲۲]. در مطالعه حاضر نیز مهار نیتریک اکساید قبل از RIPC اثر حفاظتی پره کاندیشنینگ را از بین برد که نقش محافظتی نیتریک اکساید در ایسکمی پره کاندیشنینگ کلیه را نشان می دهد.

نتیجه‌گیری

در مجموع ایسکمی موقت کلیه قبل از ایسکمی کشنده و آسیب رسان مغزی یا ریموت ایسکمیک پره کاندیشنینگ باعث کاهش صدمات ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن در ناحیه هیپوکامپ می گردد. مهار نیتریک اکساید مانع اثرات RIPC می گردد که نشان می دهد نیتریک اکساید می تواند به عنوان مکانیسم احتمالی حفاظتی درگیر در RIPC باشد.

سپاسگزاری

از گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران جهت یاری در انجام این طرح نهایت تشکر را داریم.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

ف.ز.م: انجام مطالعه و نگارش مقاله; ح.ر.پ.ط: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله; م.س: مشاوره; م.ع. و ن.ا: اجرای بخشی از مطالعه.

فهرست منابع

[1] Daneshfard B, Izadi S, Shariat A, Toudaji M , Beyzavi Z, Niknam L, Epidemiology of stroke in Shiraz, *Iran.* ***Iran J Neurol*** 14 (2015) 158-163.

[2] Beal CC, Gender and stroke symptoms: a review of the current literature. ***J Neurosci Nurs*** 42 (2010) 80-87.

[3] Ladwig KH, Schoefinius A, Dammann G, Danner R, Gürtler R, Herrmann R, Long-acting psychotraumatic properties of a cardiac arrest experience. ***Am J Psychiatry*** 166 (1999) 912-919.

[4] Šimonová Z, Štěrbová K, Brožek G, Komárek V, Syková E, Postnatal hypobaric hypoxia in rats impairs water maze learning and the morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. ***Behav Brain Res*** 141 (2003)195-205.

[5] Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F, Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. ***Neurology*** 37 (1987) 1281-1286.

[6] Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, Niinobe M, et al, 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. ***Brain Res*** 528 (1990) 21-24.

[7] Bashir O, Mostafa A, Rizk MS, Al-Ridi Mohamed DMM, Intestinal ischemic preconditioning modulates oxidative stress in rat's spinal cord ischemic reperfusion injury. ***Am J Biomed Sci*** 4 (2012) 220-232.

[8] Mehrjerdi FZ, Aboutaleb N, Habibey R, Ajami M, Soleimani M, Arabian M, et al, Increased phosphorylation of mTOR is involved in remote ischemic preconditioning of hippocampus in mice. ***Brain Res*** 1526 (2013) 94-101.

[9] Mehrjerdi FZ, Aboutaleb N, Pazoki-Toroudi H, Soleimani M, Ajami M, Khaksari M, et al, The protective effect of remote renal preconditioning against hippocampal ischemia reperfusion injury: role of KATP channels. ***J Mol Neurosci*** 57 (2015) 554-560.

[10] Kanaiyalal D, Prajapati CBD, Abhijeet R, Joshi Shyam Sharma, Nilanjan Roy, Role of nitric oxide synthases in cerebral ischemia. ***Current Research & Information on Pharmaceuticals sciences (CRIPS)*** 11 (2010) 50-56.

[11] Aryamanesh S, Faghihi M Kadkhodaei M, Effects of ischemic preconditioning on the renal ischemia-reperfusion injury. ***Tehran Uni Med J*** 61 (2003) 153-163.

[12] Rehni AK, Shri R, Singh M, Remote ischaemic preconditioning and prevention of cerebral injury. ***Indian J Exp Biol*** 45 (2007) 247-252.

[13] Kiernan JA, ***Histological and histochemical methods: Theory and Practice***. 2nd edition. New York: Pergamon press **(**1999).

[14] Ming Z, Wotton CA, Appleton RT, Ching JC, Loewen ME, Sawicki G, et al, Systemic lipopolysaccharide-mediated alteration of cortical neuromodulation involves increases in monoamine oxidase-A and acetylcholinesterase activity. ***J Neuroinflammation*** 12 (2015) 37.

[15] Hartman RE, Lee JM, Zipfel GJ, Wozniak DF, Characterizing learning deficits and hippocampal neuron loss following transient global cerebral ischemia in rats. ***Brain Res*** 43 (2005) 48-56.

[16] Zhou Y, Fathali N, Lekic T, Ostrowski RP, Chen C, Martin RD, et al, Remote limb ischemic postconditioning protects against neonatal hypoxic–ischemic brain injury in rat pups by the opioid receptor/Akt pathway. ***Stroke*** 42 (2011) 439-44.

[17] Hahn CD, Manlhiot C, Schmidt MR, Nielsen TT, Redington AN, Remote ischemic per-conditioning a novel therapy for acute stroke? ***Stroke*** 42(2011) 2960-2962.

[18] Chen XG, Wu BY, Wang JK, Bai T, Mechanism of the protective effects of noninvasive limbs preconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury. ***Chinese Med J*** 118 (2005) 1723-1727.

[19] Chiari PC, Bienengraeber MW, Weihrauch D, Krolikowski JG, Kersten JR, Warltier DC, et al, Role of endothelial nitric oxide synthase as a trigger and mediator of isoflurane-induced delayed preconditioning in rabbit myocardium. ***Anesthesiology*** 103 (2005) 74-83.

[20] Centeno JM, Orti M, Salom JB, Sick TJ, Pérez-Pinzón MA, Nitric oxide is involved in anoxic preconditioning neuroprotection in rat hippocampal slices. ***Brain Res*** 836 (1999) 62-69.

[21] Hashiguchi A, Yano S, Morioka M, Hamada J, Ushio Y, Takeuchi Y, et al, Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase via phosphatidylinositol 3-kinase pathway contributes to ischemic tolerance in the CA1 subfield of gerbil hippocampus. ***J Cereb Blood Flow Metab*** 24 (2004) 271-279.

[22] Vellimana AK, Milner E, Azad TD, Harries MD, Zhou M-L, Gidday JM, et al, Endothelial nitric oxide synthase mediates endogenous protection against subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. ***Stroke*** 42 (2011) 776-782.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Research paper

The role of nitric oxide on ischemic hippocampus during renal ischemic preconditioning

Fatemeh Zare Mehrjerdi[1], Hamidreza Pazoki-Toroudi[2], Mansoureh Soleimani[3], Marjan Ajami[4], Nahid Aboutaleb[2*]

1. Neurobiomedical Research Center, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Physiology Research Center, Physiology Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 13 February 2016 Accepted: 16 April 2016

Abstract

Introduction: Remote ischemic preconditioning (RIPC) is an episode of intermittent sub lethal and brief ischemia in one organ, which causes protection against severe ischemia in another remote organ. The main purpose of this study was to assess the relevance of nitric oxide (NO) in renal ischemic preconditioning during brain ischemia-reperfusion in hippocampal tissue.

Methods: 60 male BALB/C mice weighting 30-35g randomly were divided into six groups. Sham-operated group, IPC group (transient renal ischemia), IR group (global brain ischemia), RIPC (IPC+IR) group, L-NAME + IPC + IR group (L-NAME was injected 30 min before RIPC), L-NAME + sham + IR group. Three days after brain ischemia, the cell density in hippocampal CA1 subregion and the level of nitric oxide (NO) in hippocampus tissue were measured in different groups.

Results: RIPC prevented the reduction in cell density in hippocampal CA1 area following ischemia ($p \leq 0.05$). The level of nitric oxide was significantly increased in the hippocampus in comparison with the IR group ($p \leq 0.05$). L-NAME reversed the protective effects of RIPC on ischemic hippocampal damage by inhibition of nitric oxide ($p \leq 0.01$).

Conclusion: Increased nitric oxide during RIPC can protect the hippocampus against damage caused by ischemia-reperfusion.

Keywords: Brain ischemia-reperfusion, Mice, Nitric oxide, Renal ischemic preconditioning

Please cite this article as follows:
Zare Mehrjerdi F, Pazoki-Toroudi H, Soleimani M, Ajami M, Aboutaleb N, The role of nitric oxide on ischemic hippocampus during renal ischemic preconditioning. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 1 (2017) 242-249.

*Corresponding author e-mail: aboutaleb.na@gmail.com
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]