

اثر پیش تغذیه روغن دانه کتان بر میزان ضایعه ایسکمیک

مغزی و اختلالات عصبی - حرکتی در مدل جانوری رت

سید وحید حسینی^۱، مهدی رهنما^{۲*}، محمد رضا بیگدلی^۳

^۱ گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، زنجان، ایران، ^۲ گروه فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، زنجان، ایران ^۳ گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: سکتة مغزی سومین عامل مرگ و میر در کشورهای صنعتی بعد از بیماری قلبی - عروقی و سرطان است. با توجه به محتوای بالای مواد آنتی اکسیدانی روغن دانه کتان مانند آلفا لینولنیک اسید، لیگنان و همچنین ترکیب‌های فنلی مانند سکوایزولاریسیرینول (SDG)، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین روغن دانه کتان بر کاهش میزان ضایعه ایسکمیک مغزی و اختلالات عصبی - حرکتی در مدل سکتة مغزی موش صحرایی انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش نر از نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند، گروه‌ها شامل: کنترل، شم و سه گروه آزمایشی بودند که دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن روغن دانه کتان را به صورت خوراکی از طریق گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. دو گروه کنترل و شم آب مقطر دریافت کردند. دو ساعت بعد از آخرین دوز گاواژ شده، هر گروه ۷ تایی به منظور اندازه‌گیری میزان ضایعه مغزی و اختلالات عصبی - حرکتی تحت جراحی مدل انسداد شریان میانی مغز قرار گرفتند. انسداد شریان میانی مغز در واقع با استفاده از این مدل، سکتة مغزی ایسکمیک در حیوان ایجاد گردید که از نوع موضعی بود. داده‌های مربوط به میزان آسیب بافتی با استفاده از آزمون آنوا و من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانه امتیازهای اختلالات عصبی - حرکتی با مصرف روغن دانه کتان در گروه دوز ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت ($P < 0.05$). میزان ضایعه ایسکمیک مغزی در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت، ولی درصد کل ضایعه مغزی در گروه کنترل در مقایسه با گروه دوز ۰/۲۵ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. درصد میزان ضایعه ایسکمیک در ناحیه پنومبرا در گروه دوز ۰/۷۵ و گروه دوز ۰/۵ نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد، ولی درصد میزان ضایعه در ناحیه پنومبرا در گروه کنترل در مقایسه با ناحیه پنومبرا در گروه دوز ۰/۲۵ تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: روغن دانه کتان به خصوص در دوزهای ۰/۵۰ و ۰/۷۵ باعث کاهش میزان ضایعه ایسکمیک مغزی و کاهش اختلالات عصبی - حرکتی در مدل جانوری سکتة مغزی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ایسکمیک مغزی، روغن دانه کتان، موش صحرایی، اختلالات عصبی - حرکتی

* نویسنده مسئول: مهدی رهنما، زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیولوژی جانوری

Email: meh_rahnema@yahoo.com

مقدمه

امروزه سکته مغزی سومین علت مرگ و میر بعد از بیماری‌های قلبی و سرطان محسوب می‌شود و سالانه میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا به این بیماری مبتلا می‌گردند (۱). سکته مغزی می‌تواند عوارضی چون فلج ناحیه‌ای از بدن و مشکلاتی در حافظه، فکر کردن، حرف زدن و حرکت کردن را به وجود آورد (۲). ۱۵ درصد سکته‌ها به علت هموراژی و ۸۵ درصد به علت ایسکمی است. ایسکمی در اثر عواملی چون ترومبوز، آمبولی و کاهش خون‌رسانی سیستمیک به وجود می‌آید (۲). در سکته ایسکمی جریان خون مغزی به دلیل انسداد عروق خون قطع می‌شود و یک پروسه بسیار پیچیده در سطح سلولی و بافت شروع می‌شود که اصطلاحاً آبشار ایسکمی نامیده می‌شود که نهایتاً منجر به آسیب بافتی و بروز سکته ایسکمیک می‌شود (۳ و ۴). کاهش فعالیت و ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به وارد شدن آسیب جدی به اجزای تشکیل دهنده سلول نظیر؛ لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شده و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌گردد (۵). شواهد پژوهشی نشان می‌دهند، رادیکال‌های آزاد نقش انکارناپذیری در تشکیل، گسترش ادم و ضایعات ثانویه مغزی پس از سکته مغزی دارند (۶ و ۷). هر ساله عده زیادی از افراد در جوامع گوناگون به دلایل مختلف به درجاتی از سکته‌های مغزی و عوارض متعاقب آن مبتلا می‌شوند. عوارض ناشی از این بیماری، طیف وسیعی از مشکلات و ناتوانی‌ها را برای بیمار به ارمغان آورده و فرد را

عملاً از چرخه فعالیت و بهره‌وری اجتماعی خارج نموده و انسان مولد را به جرگه دریافت کنندگان خدمات درمانی، مراقبتی و بازتوانی که متضمن صرف هزینه‌های فراوانی برای سیستم‌های بهداشتی-درمانی کشورها است وارد می‌کند (۹ و ۸). با وجود پیشرفت‌های زیادی که در علم پزشکی صورت گرفته، متأسفانه هنوز درمان مؤثر و اختصاصی برای این بیماران یافت نشده است. تا این تاریخ استفاده از ترومبولیتیک‌ها تنها روش درمان اختصاصی در بیماران سکته مغزی در کلینیک است (۱۰). به هر حال در همه بیماران این روش درمانی نمی‌تواند مفید باشد، به دلیل این که اولاً تجویز ترومبولیتیک‌ها تا سه ساعت بعد از وقوع ایسکمی مؤثر است، ولی بیمارانی که در بیمارستان بستری می‌شوند معمولاً ساعت‌ها از وقوع سکته مغزی آن‌ها گذشته است، ثانیاً این روش درمانی همراه با عوارض زیادی از جمله خون‌ریزی داخل مغزی و غیره می‌باشد، که باعث محدود کردن استفاده آن می‌شود. به طوری که بررسی‌ها نشان می‌دهند، این روش در حدود ۳ درصد از بیماران سکته مغزی مؤثر است (۱۰). بنابراین استفاده از مواد و یا داروهای گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی داشته باشند، ممکن است بتواند مغز را در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیدانت‌ها در سکته مغزی تا حدودی محافظت نموده و باعث کاهش مرگ نرونی شوند.

کتان با نام علمی *Linum ussitatissimum* گیاهی است یک ساله از تیره Linaceae که قادر به رشد در شرایط آب و هوایی گرم و خشک ایران بوده و به

صورت بوته‌ای رشد می‌کند و تنها گونه این خانواده است که از لحاظ تجارتي اهمیت فراوانی یافته است (۱۱). گل‌ها در انتهای ساقه اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند. رنگ گل‌ها سفید، آبی و یا بنفش است. میوه کپسول و ۵ خانه‌ای است. در هر کپسول حداکثر ۱۰ دانه وجود دارد. دانه تخم مرغی شکل، مسطح و به رنگ قهوه‌ای روشن و یا قهوه‌ای تیره و براق است (۱۲). دانه کتان منبع ارزشمندی از ترکیب‌های فنلی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. لیگنان موجود در دانه کتان می‌تواند آنتی‌اکسیدانی طبیعی در روغن دانه‌ی کتان باشد (۱۳). همچنین دانه کتان منبع خوب اسیدهای چرب ضروری امگا-۳ از نوع آلفا لینولنیک اسید (ALA) می‌باشد و منبع ارزشمندی از فیبر رژیمی، مواد معدنی و ویتامین‌ها است (۱۳).

دانه کتان اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد که خواص آن در درمان زخم در موش‌های صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۴). نشان داده شده است که آلفا لینولنیک (ALA) موجود در روغن دانه کتان به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای خود، فرد را در برابر ایسکمی قلبی (۱۵)، تشکیل کلون‌های سرطانی (۱۶) و دیابت (۱۷) محافظت می‌کند و نقش مهمی در بهبود عملکرد عروقی دارد. همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شد که دانه کتان به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای خود از جمله آلفا لینولنیک اسید باعث کاهش التهاب و مهار آپوپتوز بعد از ایجاد ایسکمی در موش‌های صحرایی شد (۱۸). در مطالعه دیگری اثر عصاره اتانولی دانه کتان و اثرات ضد فشارخونی آن در مدل

حیوانی با بستن شریان کلیوی به مدت ۴۵ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید درمان با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، باعث ترمیم سطوح نیتروژن اوره خون، کاهش سطوح فاکتور نکروز توموری α (TNF- α) و همچنین کاهش فشار خون می‌شود که احتمالاً به دلیل ترکیبات فنلی موجود در دانه کتان مانند سکوایزولاریسیریزینول (SDG) است که موجب مهار گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) شده و در نهایت موجب پیشگیری از التهاب می‌شود (۱۹). از آنجایی که آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سکته می‌شوند (۲۰)، بنابراین نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند (۲۱). نظر به این که این گیاهان یکی از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند، تحقیق‌های در این زمینه رو به افزایش می‌باشد. گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو می‌شوند (۲۲). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شوند (۲۳). با توجه به محتوای بالای مواد آنتی‌اکسیدانی روغن دانه کتان که خواص آن در درمان

میلی لیتر بر کیلوگرم هر روز به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ دریافت نمودند. گروه‌های کنترل و شام با آب مقطر گاوژ شدند. دوزهای انتخابی بر اساس مطالعه‌های انجام شده قبلی بود (۲۴). دو ساعت بعد از آخرین تیمار، در هر گروه اصلی که شامل ۷ سر موش بود، شریان میانی مغز مسدود شد تا برای اندازه‌گیری حجم سکتة مغزی مورد استفاده قرار گیرند. گروه شام جراحی شد، ولی ایسکمی مغزی در آن‌ها ایجاد نشد. برای ایجاد مدل سکتة مغزی (انسداد شریان میانی مغزی) موش‌ها بعد از توزین، با داروی کلرال هیدرات (شرکت مرک آلمان) به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. جراحی مدل سازی انسداد شریان میانی مغزی^(۱) مطابق دستورالعمل لونگا و همکاران انجام شد (۲۵). به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۳-۰ وارد شریان کاروتیدی خارجی^(۲) می‌شد و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی از طریق عبور از شریان کاروتیدی داخلی^(۳) و درحالی که رگ پتریگوپالاتین بسته بود پیش می‌رفت. در اثر تماس نخ بخیه و شریان قدامی مغزی^(۴) جریان خون از هر طرف به سوی شریان میانی مغزی^(۵) بسته شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلی‌متر طول نخ از تنه شریان کاروتیدی خارجی مشخص شد. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت

بسیاری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است و به دلیل محدود بودن تحقیق‌های انجام شده بر روی آنتی‌اکسیدان‌های این گیاه بر روی سکتة مغزی در مطالعه‌های بالینی، لذا تصور می‌شود که اثر پیش‌تغذیه روغن دانه کتان باعث کاهش میزان سکتة مغزی و اختلالات عصبی - حرکتی در مدل سکتة مغزی موش صحرایی شود. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین دانه کتان بر کاهش میزان ضایعه‌های ایسکمی و اختلالات عصبی - حرکتی در مدل سکتة مغزی موش صحرایی بود.

روش بررسی

دانه‌های کتان پس از خریداری از یک عطاری در شهر یزد، به وسیله شرکت ایران کلد پرسینگ تهران با استفاده از دستگاه کلد پرس روغن‌گیری صورت گرفت؛ سپس روغن در ظرفی در بسته در دمای ۱۰ - ۱۵ درجه سیلسیوس نگهداری شد. در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم که از انسستیتو پاستور ایران خریداری شدند استفاده گردید. حیوانات در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی در دمای ۲۲ درجه سیلسیوس نگهداری و با غذای استاندارد موش صحرایی تغذیه گردیدند. حیوانات مورد مطالعه به صورت تصادفی در ۵ گروه به شرح ذیل تقسیم شدند و در هر گروه ۷ سر موش صحرایی قرار گرفت؛ گروه کنترل، گروه شام و ۳ گروه آزمایشی که روغن دانه کتان را با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵

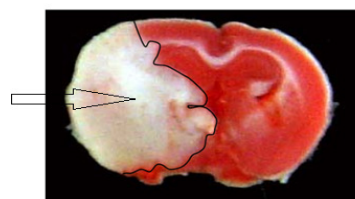
1-Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO).
2-External Carotid Artery (ECA).
3-Internal Carotid Artery (ICA).
4-Anterior Cerebral Artery (ACA).
5-Middle Cerebral Artery (MCA).

گرفت. ارزیابی حجم آسیب بافتی به این صورت انجام شد، ۲۴ ساعت بعد از القای ایسکمی حیوانات تحت بیهوشی عمیق با داروی کلرال هیدرات به میزان ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کشته شده و مغزها به دقت خارج شدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در سالیان سرد قرار گرفتند. سپس، مغز موش‌های صحرایی در ماتریکس مغز قرار گرفت و به طور کروئال به مقاطع ۲ میلی‌متر برش داده شدند. این مغزها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲ درصد ۲،۳،۵-تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC شرکت مرک آلمان) در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس برای رنگ‌آمیزی حیاتی انکوبه شدند. از برش‌ها با استفاده از دوربین دیجیتال قابل اتصال به کامپیوتر عکس‌برداری شد. مساحت ناحیه آسیب دیده (مناطق که رنگ نمی‌گرفت) هر برش با استفاده از نرم‌افزار *Uthsca Image Tools* اندازه‌گیری شد و با ضرب کردن مساحت‌های مذکور در ضخامت ۲ میلی‌متر و جمع اعداد حاصل از ۷ برش حجم ناحیه آسیب بافتی محاسبه شد (۲۶).

حرکتی در ۵ مقیاس دسته‌بندی شد. شماره صفر (۰) هیچ‌گونه عارضه نورولوژیک نشان نمی‌دهد، شماره یک (نارسایی کامل در انتهای پنجه‌های جلویی) یک نقص نورولوژیک کانونی خفیف در نظر گرفته می‌شود. شماره دو (به چپ چرخیدن) نقص نورولوژیک کانونی متوسط؛ شماره سه (افتادن به سمت چپ) نقص کانونی شدید؛ رت‌های شماره ۴ به طور خودبه‌خودی نمی‌توانند راه بروند و سطح هوشیاری پایین دارند و رت‌هایی که طی ۲۴ ساعت بعد از جراحی می‌میرند در صورتی که بعد از رنگ‌آمیزی بخش وسیعی از مغزشان آسیب دیده باشد و مرگ منحصر به سخته مغزی باشد، به آن شماره داده می‌شود (۲۷). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS وارد شد. داده‌های مربوط به حجم آسیب بافتی با استفاده از آزمون آنوا و ارزیابی اختلالات عصبی - حرکتی به وسیله آزمون من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند ($P < 0.05$) از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پیش تیمار با روغن کتان با دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز، باعث کاهش ضایعه مغزی در کل منطقه نیم‌کره راست مغزی در رت‌هایی که تحت جراحی انسداد شریان میانی مغز قرار گرفتند، شد. این کاهش از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود. به ترتیب در دوز ۰/۷۵ ($P = 0.001$)، در دوز ۰/۵ ($P = 0.001$)، همچنین پیش تیمار با روغن دانه کتان با دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌لیتر بر



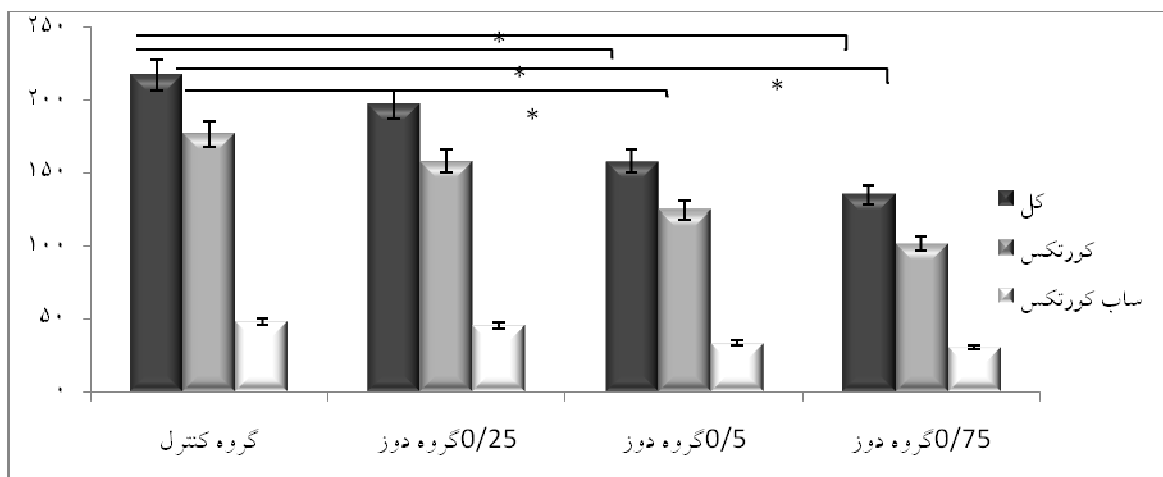
تصویر ۱: اندازه‌گیری میزان ضایعه مغزی با استفاده از نرم‌افزار ImageTools را نشان می‌دهد.

برای ارزیابی رفتاری حاصل از سخته، معاینه‌های نورولوژیک بعد از ۲۴ ساعت از خون‌رسانی مجدد انجام شد. از شروع انسداد تا قربانی شدن حیوان مراقبت‌های ویژه انجام شد. یافته‌های عصبی

که در اثر مصرف روغن دانه کتان ایجاد شده است (تصویر ۲).

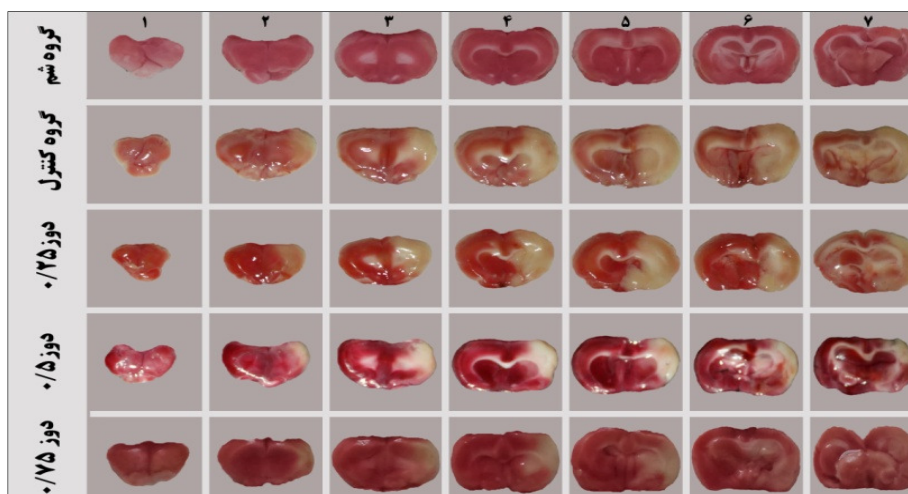
آثار روغن دانه کتان بر اختلالات عصبی- حرکتی میانه امتیازهای اختلالات عصبی- حرکتی به وسیله مصرف روغن دانه کتان به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت؛ گروه کنترل با میانه ۴، دوز ۰/۲۵ با میانه ۳، دوز ۰/۵ با میانه ۱ و دوز ۰/۷۵ با میانه ۱. میان‌های امتیازهای نقص نورولوژیک در گروه‌های مختلف در جدول ۱ آورده شده است.

کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش میزان سگته در منطقه کورتکس مغزی می‌شود. به ترتیب در دوز ۰/۷۵ ($P=0/0001$)، در دوز ۰/۵ ($P=0/0001$)، نتایج حاصل از پیش تیمار با دوز ۰/۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در مقایسه با نتایج گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار بود. به ترتیب در منطقه کل نیمکره راست مغزی ($p=0/88$)، در منطقه کورتکس مغز ($p=0/122$)، محافظت عصبی ایجاد شده به وسیله روغن دانه کتان بیشتر در منطقه پنومبرای کورتکس دیده شد درحالی که در ناحیه ساب کورتکس از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱ و تصویر ۲). کاهش میزان آسیب بافتی نشان دهنده پدیده تحمل به ایسکمی است



نمودار ۱: میزان ضایعه ایسکمیک مغزی در مناطق کل، کورتکس و ساب کورتکس مناطق مغزی.

واحد دوز روغن دانه کتان میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن در روز می‌باشد، مدت تیمار ۳۰ روز بوده است، هر گروه شامل ۷ سرت. *معنی‌دار بودن ($p < 0/05$)



تصویر ۲: اثر دوزهای مختلف روغن دانه کتان بر حجم سگته مغزی

کاهش میزان آسیب بافتی و اختلالات عصبی- حرکتی، اثر پدیده تحمل به ایسکمی حاصل از مصرف روغن دانه کتان را اثبات نمود، در واقع این تحمل در ناحیه پنومبرا و نه در کانون ایسکمی به وجود آمد، زیرا میزان ضایعه مغزی در نواحی کانونی ایسکمی در گروه‌های تیمار شده با گروه شاهد تفاوتی نداشت. واحد دوز عصاره میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن در روز می‌باشد.

جدول ۱: توزیع امتیازهای عصبی - حرکتی ۲۴ ساعت بعد از ایسکمی مغزی در هرگروه و مقایسه آماری آن‌ها $p < 0.05$ ، از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

تحلیل آماری	میانگین	تعداد کل	تعداد					گروه‌های آزمایشی	رتبه	
			۵	۴	۳	۲	۱			۰
۱-۳ و ۱-۴ معنی دار ($P=0.002$) و ($P=0.002$)	۴	۷	۳	۲	۱	۱	۰	۰	کنترل	۱
۲-۳ و ۲-۴ معنی دار ($P=0.026$) و ($P=0.017$)	۳	۷	۲	۱	۲	۱	۱	۰	دوز ۰/۲۵	۲
۳-۴ فاقد معنی ($P=0.805$)	۱	۷	۰	۰	۱	۲	۲	۲	دوز ۰/۵	۳
۱-۲ فاقد معنی ($P=0.383$)	۱	۷	۰	۰	۱	۲	۱	۳	دوز ۰/۷۵	۴

بحث

مکانیسم‌های که در صدمه به بافت مغز دخالت دارند در دو مرحله ایسکمی که به دلیل کاهش جریان خون در موضع مربوطه ایجاد می‌شود و در مرحله ریپرفیوژن که در اثر بازگشت جریان خون به بافت بعد از مدت زمانی از ایسکمی ایجاد می‌شود و متفاوت هستند. با ضربه ایسکمیک و محرومیت بافت مغز از اکسیژن و گلوکز، سلول عصبی دچار کاهش ذخیره

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد پیش‌تیمار با روغن دانه کتان باعث کاهش حجم سگته مغزی و همچنین سبب بهبود اختلالات عصبی - حرکتی در گروه‌های مورد مطالعه شد. پاتوفیزیولوژی پیچیده سگته مغزی در برگیرنده مکانیسم‌های اکسیتوتوکسیتی، مسیرهای التهابی، خسارات اکسیداتیو و عدم تعادل یونی در سلول‌های عصبی مغز است.

زیاد داشته و باعث مرگ سلولی در برخی از نوروها می شود که آنزیم های آنتی اکسیدانی قادرند این نوع آسیب نوروئی را مهار نمایند (۳۲). بر این اساس، به نظر می رسد که در مطالعه حاضر نیز کاهش اختلالات عصبی - حرکتی به دنبال استفاده از روغن دانه کتان، به نوعی به دلیل کاهش ضایعه مغزی بوده که آن هم به علت اثرات آنتی اکسیدانی این ترکیب گیاهی است. نتایج به دست آمده از این تحقیق با برخی از مطالعه های انجام شده اخیر همخوانی دارد؛ برای مثال هایتا و همکاران بررسی خواص آنتی اکسیدانی روغن دانه کتان در پیشگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از سیکلوفسفامید (Cyclophosphamide) در مغز موش پرداختند و بیان داشتند افزایش فعالیت فسفاتاز اسید و آنزیم گلوکوتاتیون اکسیداز به طور قابل توجهی با مصرف روغن دانه کتان مهار می شود. این پژوهش مشخص کرد پیشگیری از استرس اکسیداتیو به واسطه آنتی اکسیدان های روغن دانه کتان مانند لیگنان و آلفالینولینیک اسید موجود در آن می باشد (۳۳). در مطالعه دیگری رادهی و همکاران بررسی اثر ضدافسردگی روغن دانه کتان در مدل های رفتاری در موش ها پرداختند. آن ها نشان دادند در موش هایی که رژیم غذایی خود روغن دانه کتان را دریافت کرده بودند، بی حرکتی و حالت افسردگی به طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین میزان دوپامین و نوراپی نفرین در مغز حیوانات در سطح بالایی نسبت به گروه کنترل بود. نتایج این پژوهش نشان داد آنتی اکسیدان های موجود در روغن دانه کتان به ویژه

انرژی می شود و پروسه های وابسته به انرژی که برای بقا سلول لازم است دچار اختلال می شود (۲۸ و ۴). در مراحل اولیه القای ایسکمی، افزایش تولید رادیکال های آزاد، به طور انکارناپذیری، در تشکیل ادم و پیشرفت ضایعه مغزی ناشی از ایسکمی نقش عمده ای دارند (۶). همچنین آسیب هایی که در اثر خون رسانی مجدد ایجاد می شوند، در نتیجه آزادسازی فاکتورهای التهابی و رادیکال های آزاد در بافت ضایعه دیده مغزی است (۲۹). طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه و تأثیرات آنتی اکسیدانی قوی روغن دانه کتان که از مطالعه های دیگران به دست آمده است، به نظر می رسد در این تحقیق روغن دانه کتان به واسطه این تأثیرات آنتی اکسیدانی توانسته است میزان ضایعه ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهد. در مطالعه حاضر، درمان با روغن دانه کتان در زمان ایسکمی مغزی میزان اختلالات عصبی - حرکتی را به مقدار زیادی بهبود بخشید. براساس مطالعات انجام شده اخیر، افزایش میزان تولید رادیکال های آزاد نیز نقش مهمی در بروز اختلالات عصبی - حرکتی به دنبال القای ایسکمی مغزی به دلیل تخریب سلول های مناطق دچار ایسکمی دارد. از طرفی میزان بروز این اختلالات عصبی - حرکتی بر میزان ضایعه ایجاد شده نیز بستگی دارد (۳۰). رادیکال های آزاد به عنوان اکسیدان ها در بدن با چربی های اشباع واکنش داده و با تولید پراکسیدها، باعث تخریب DNA، لیپیدها و سایر ترکیب های غشایی می شوند (۳۱)، همچنین تولید بیش از حد رادیکال های آزاد نقش مهمی در سمیت نوروئی حاصل از تحریک

سطح بالای آلفالینولینیک اسید باعث تعامل با سیستم آدرنرژیک و دوپامینرژیک می‌شود (۳۴). امروزه داروهای فرآوری شده از گیاهان دارویی به عنوان نوآوری‌های زیستی در عرصه پزشکی جایگزینی شایسته برای داروهای شیمیایی هستند. یکی از علل مهم این جایگزینی عوارض جانبی کمتر داروهای گیاهی نسبت به داروهای شیمیایی است (۳۵). روغن‌های گیاهی دارای مزایای ویژه‌ای می‌باشند که از جمله آن‌ها می‌توان به قابلیت تجدید و تجزیه بیولوژیکی آن‌ها (سازگاری با محیط) اشاره نمود. این روغن‌ها همچنین خواص بیماری‌زایی و آلرژی‌زایی کمتری دارند (۳۶). امروزه مدل‌های حیوانی مختلفی در تحقیقات جهت مطالعه پاتوفیزیولوژی و یافتن روش‌های درمانی ایسکمی مغزی استفاده می‌شود. هرچند هر یک از این مدل‌ها به طور ۱۰۰ درصد مشابه شرایط کلینیکی که در طی ایسکمی مغزی در انسان رخ می‌دهد نیست، با این وجود مدل‌های حیوانی به دلایل مختلفی از جمله آسان بودن نسبی، کم هزینه بودن و نداشتن معذورات اخلاقی کار با انسان، به وسیله دانشمندان به طور گسترده در تحقیق‌ها استفاده می‌شود. علاوه بر این از مدل‌های حیوانی در یافتن روش‌های درمانی و داروهای جدید و همچنین تست کارایی دارو قبل از استفاده در انسان نیز استفاده می‌گردد (۳۷). از مزیت‌های دیگر استفاده از مدل‌های حیوانی این است که ایسکمی مغزی در شرایط استاندارد ایجاد می‌شود و همه عوامل مخدوش‌کننده را به طور کامل می‌توان کنترل نمود (۳۸). به طور

خلاصه مدل‌های حیوانی ایسکمی‌های موضعی و فراگیر مغزی، فرصت‌هایی برای تحقیق و پژوهش در مورد پاتوفیزیولوژی و احتمالاً درمان ضایعه‌های مغزی، در اختیار دانشمندان قرار داده است، اگر چه هیچ یک از این مدل‌ها به طور واقعی و ۱۰۰ درصد نمی‌توانند شرایط و وضعیت‌های به وجود آمده طی سکنه مغزی در انسان را بازسازی کنند.

به دنبال کاهش یا قطع جریان خون موضعی مغز سلول‌های عصبی در مرکز قطع جریان خون در همان دقیق اول سکنه مغزی از بین رفته و آسیب‌های اولیه را ایجاد می‌کنند، ولی سلول‌های عصبی که در حاشیه مرکز قطع جریان خون (ناحیه پنومبرا) قرار دارند، زنده‌اند، ولی فاقد عملکرد طبیعی هستند و به تدریج ممکن است از بین رفته و آسیب ثانویه پس از سکنه مغزی را به وجود آورند. سلول‌های عصبی مستقر در ناحیه پنومبرا قابلیت بازیابی با استفاده از داروها و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را دارند (۳۳). کورتکس مغز به دلیل وجود جریان خون جانبی زیاد بخش اصلی پنومبرا را به خود اختصاص می‌دهد (۴۰ و ۳۹).

اثر محافظتی روغن دانه کتان عمدتاً در برش دو تا پنج مغزی که بخش اعظم کورتکس مغز و ناحیه پنومبرا را تشکیل می‌دهد، مشاهده شده است. در این پژوهش روغن دانه کتان، آسیب ناشی از ایسکمی موضعی را به میزان زیادی در موش‌های صحرایی کاهش داد که این یافته‌ها تا حدودی مشابه در مطالعه رازی و همکاران در سال ۲۰۱۱ می‌باشد. این محققین

جلوگیری می‌شود (۳۰). با توجه به مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع از جمله: لینولنیک اسید و لیگنان موجود در دانه کتان که در مطالب بالا ذکر شد و همچنین نتایج به دست آمده از این تحقیق و همچنین تحقیق‌های قبلی می‌توان هم‌سو بودن نتایج این تحقیق را با نتایج مطالعه‌های قبلی پیرامون کاهش ضایعه مغزی و بهبود اختلالات عصبی - حرکتی پیشنهاد کرد. از ضعف‌های این تحقیق می‌توان به مدل سازی سکتة مغزی اشاره کرد که با شرایط طبیعی بدن که ممکن است در سکتة مغزی اتفاق بیافتد متفاوت است. از نقاط قوت این تحقیق می‌توان به ارزیابی اختلالات عصبی - حرکتی از قبیل: حسی، حرکتی، شناختی و رفتاری در واقع مشابه آن چیزی که در بیماران سکتة مغزی استفاده می‌شود اشاره نمود (۲۷). از جمله پیشنهادهایی که می‌توان در ادامه برای سایر محققین ارائه نمود بررسی و مقایسه اثر امگا-۳ روغن دانه کتان و روغن امگا-۳ ماهی بر نارسایی‌های نورولوژیک سکتة مغزی و همچنین استفاده از عصاره هیدرو الکلی دانه کتان به صورت پیش تغذیه به وسیله گاواژ یا تزریق داخل صفاقی در مدل ایسکمی در موش‌های صحرایی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، روغن دانه کتان اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی دارد و می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی سلولی، مرگ نورونی و اختلالات

نشان دادند رژیم غذایی روغن دانه کتان بعد از ایجاد ایسکمی باعث حفاظت از ریه و همچنین منجر به مهار آپوپتوز و التهاب در موش‌های صحرایی می‌شود (۱۸). همین‌طور یافته‌های مطالعه حاضر تا حدودی با نتایج مطالعات دیگران هم‌خوانی دارد، که در آن نشان داده شده دانه کتان اثر محافظتی در مقابل آسیب اکسیداتیو در کلیه (۴۱) و همچنین میوکارد قلبی ناشی از دوکسورابیسین در موش‌های صحرایی دارد (۴۲). البیشری و همکاران نشان دادند دانه کتان به علت اسیدهای چرب اشباع نشده از جمله امگا-۳ اثرات نافذی بر فشار خون بالا دارد این یافته نیز می‌تواند تأییدی بر نتایج تحقیق حاضر باشد (۴۳).

در گروه تحت درمان با روغن دانه کتان، کاهش میزان مرگ و میر سلول‌ها در ارزیابی حجم سکتة مشاهده شد که احتمالاً به علت اثرات آنتی‌اکسیدانی موجود در روغن دانه کتان مانند امگا-۳ و همچنین لیگنان موجود در آن می‌باشد. این ترکیب‌های بعد از جذب از دستگاه گوارش وارد جریان خون می‌شوند و بخشی از آن‌ها پس از انتقال به مغز به علت خاصیت محلول بودن در چربی، از سد خونی - مغزی گذشته و وارد قسمت‌های مختلف مغز می‌شوند. در این محل پلی‌فنل‌ها و اثرات هم افزایی (سینرژیستی) این ترکیب‌ها باعث اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی روی رادیکال‌های آزاد و اسیدهایی می‌شوند که به دنبال کاهش خون‌رسانی در این محل تجمع پیدا کرده‌اند و به آن‌ها واکنش نشان داده و آن‌ها را خنثی می‌کنند. به این ترتیب، از واکنش این رادیکال‌ها با لیپیدهای موجود در غشای نورون‌ها

عصبی-حرکتی را در مدل تجربی ایسکمی مغزی - موضعی کاهش دهد. در نتیجه روغن دانه کتان می‌تواند یک گزینه مناسب برای پیش درمان سکتة مغزی در مطالعه‌های بالینی پیشنهاد گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین وسیله از حمایت مسؤوولین مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان و جناب آقای دکتر ناصریان عضو هیئت علمی دانشگاه با گرایش آمار زیستی به جهت کمک‌های بی‌دریغ ایشان در انجام کارهای آماری تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

REFERENCES:

1. Towfighi A, Saver JL. Stroke declines from third to fourth leading cause of death in the United States: historical perspective and challenges ahead. *Stroke* 2011; 42(8): 2351-5.
2. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *J Transl Med* 2009; 17: 7-97.
3. Durai PJ. Re-canalization in acute ischemic stroke: The strategies. *Neurol India* 2009; 57: 20-7.
4. Douglas L, Tayseer C, Hamid R. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. *Transplant Rev (Orlando)* 2009; 23(1): 1-10.
5. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21(1): 2-14.
6. Chen H, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Okami N, Sakata H, et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(8): 1505-17.
7. Fraser PA. The role of free radical generation in increasing cerebrovascular permeability. *Free Radic Biol Med* 2011; 51(5): 967-77.
8. Taylor TN, Davis PH, Torner JC, Holmes J, Meyer JW, Jacobson MF. Life time cost of stroke in the united states. *Stroke* 1996; 27: 1459-66.
9. Wolf PA, Kannel WB, D Agostino RB. Epidemiology of stroke. In: Ginsberg MD, Bogouslavsky J (editor). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis, and management*. 1th ed. Malden Mass: Blackwell Science; 1998: 834-49.
10. Kwiatkowski TG, Libman RB, Frankel M, Tilley BC, Morqenstern LB, Lu M, et al. Effect of tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke at one year. National institute of Neurological Disorders and stroke Recombinant Tissue Plasminogen Activators stroke study Group. *N Engl J Med* 1999; 10; 340(23): 1781-7.
11. Omid Beigi R, Fakhr Tabatabayi M, Akbari T. Effects of nitrogen fertilization and irrigation on the growth, yield and composition of flax oil. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 2002; 55(1): 53-64.
12. Kasote DM. Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *International Food Research Journal* 2013; 20(1): 27-34.
13. Oomah BD. Flaxseed as functional source. *Journal of the Science of food and Agriculture* 2001; 81: 889-94.
14. Otranto M, Do Nascimento AP, Monte-Alto-Costa A. Effects of supplementation with different edible oils on cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen* 2010; 18(6): 629-36.
15. Prasad K. Flaxseed and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54(5): 369-77.
16. Julie K. Mason, Jianmin Chen, Lillian U Thompson. Flaxseed oil-trastuzumab interaction in breast cancer. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(8-9): 2223-6.
17. Mani UV, Mani I, Biswas M, Kumar SN. An open-label study on the effect of flax seed powder (*Linum usitatissimum*) supplementation in the management of diabetes mellitus. *J Diet Suppl* 2011; 8(3): 257-65.
18. Razi SS, Latif MJ, Li X, Afthinos JN, Ippagunta N, Schwartz G, et al. Dietary flaxseed protects against lung ischemia reperfusion injury via inhibition of apoptosis and inflammation in a murine model. *J Surg Res* 2011; 171(1): 113-21.
19. Arvindkumar EG, Suresh SJ, Subhash LB. Renoprotective effect of *Linum usitatissimum* seeds through haemodynamic changes and conservation of antioxidant enzymes in renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Arab Journal of Urology* 2011; 215-21.
20. Noguchi N, Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. *Free Red Biol Med* 2000; 28(10): 1538-46.
21. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric* 1999; 37: 1027-38.
22. Kumaran A, Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus arematicus*. *Food Chemistry* 2006; 97: 109-14.
23. Perior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. *Diet and Health Implications* *Hortic Sci* 2000; 35: 588-92.
24. Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasoulia B. Neuroprotection of dietary virgin oil on brain lipidomics during stroke. *Curr Neurovasc Res* 2013; 10(3): 231-7.
25. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989; 20(1): 84-91.

26. Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulia B, Asgari AR, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- α level. *Exp Neurol* 2008; 212(2): 298-306.
27. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986; 17(3): 472-6.
28. Prabal D, Suash S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. *Pathophysiol* 2010; 17: 197-18.
29. Huang L, Chen N, Ge M, Zhu Y, Guan S, Wang JH. Ca²⁺ and acidosis synergistically lead to the dysfunction of cortical GABAergic neurons during ischemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394(3): 709-14.
30. Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F. Detection of cardiovascular risk factors by anthropometric measures in Tehranian adults: receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58(8): 1110-8.
31. Pradillo JM, Hurtado O, Romera C, Cárdenas A, Fernández-Tomé P, Alonso-Escolano D, et al. TNFR1 mediates increased neuronal membrane EAAT3 expression after in vivo cerebral ischemic preconditioning. *Neuroscience* 2006; 138(4): 1171-8.
32. Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulia B, Asgari AR, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- α level. *Exp Neurol* 2008; 212(2): 298-306.
33. Bhatia AL, Manda K, Patni S, Sharma AL. Prophylactic action of linseed (*Linum usitatissimum*) oil against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mouse brain. *J Med Food* 2006; 9(2):261-4.
34. Shah Riddhi K, Kenjale Rakesh D, Ghmatkar Priya. Antidepressant effect of linseed oil on various behavioral and pharmacological models of depression in Swiss albino mice. *International Journal of Nutrition Pharmacology Neurological Diseases* 2014;4: 246-51.
35. Delnavaz Hashemlouian B, Ataii Azimi. *Medical and Edible Attributes in Plants*, Islamic Azad University Press. Saveh 2008;180pp.(in Persian).
36. Ahmadi M. *Quality and use of oilseeds*. Tehran Publication of Agricultural Education 2000;76pp.(in Persian).
37. Alonso de Leciana M, Dez-Tejedor E, Carceller F, Roda JM. Cerebral ischemia: from animal studies to clinical practice. *Cerebrovasc Dis* 2001; 11: 20-30.
38. Hossmann KA. Experimental models for the investigation of brain ischemia. *Cardiovascular Research* 1998; 39: 106-20.
39. Segura T, Callej AS, Jordan J. Recommendation and treatment strategies for the management of acute ischemic stroke. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9(7):1071-85.
40. Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology* 2008; 55(3): 310-8.
41. Rizwan S, Nagshbandi A, Farooqui Z, Khan AA, Khan F. Protective effect of dietary flaxseed oil arsenic-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Food Chem Toxicol* 2014;68:99-107.
42. Anand A, Zanwara, Mahabaleswar V, Hegdeb, Subhash L, Bodhankara. Protective role of concomitant administration of flax lignan concentrate and omega-3-fatty acid on myocardial damage in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Food Science and Human Wellness* 2013;2: 29-38.
43. Albishri WM. Favorable effects of flaxseed supplemented diet on liver and kidney function in hypertensive wistar rats. *Joleo Sci* 2013; 62(9): 709-15.
44. Ahmed E Abdel Moneim. Flaxseed oil as a neuroprotective agent on lead Acetate-induced Monoaminergic Alterations and neurotoxicity in rats *Biological Trace Element Research*:2012;148:363-370.

Effect of Pre-nutrition of Flax Seed Oil (*Linum Usitatissimum*) on the amount of Cerebral ischemic lesion and motor nerve disorders in animal model rat

Hosseini SV¹, Rahnema M^{2*}, Bigdeli MR³

¹Department of Animal physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad university, Zanjan, Iran, ²Department of Animal physiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran, ³Department of Medical Physiology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Received: 8 Mar 2015

Accepted: 8 Aug 2015

Abstract

Background & aim: Stroke is the third death agent (factor) in industrial countries after cardiovascular disease and cancer. With regard to high content of antioxidant materials in flax seed oil like α -linolenic acid, lignan as well as phenolic combinations like secoisolarisirsinol (SDG), this study performed for studying relationship between of cerebral ischemic lesion and motor-nerve disorders in model of stroke in rat.

Methods: In the study, 35 male mice from strain Wistar divided to 5 groups. The groups included control, sham and 3 experimental groups. They received doses 0.25, 0.5 and 0.75 ml/kg from flax seed oil orally. By gavage for 30 days two control and sham groups received aqua distillate (distil water). Two hours after the last gavaged dose, overly group with 7 pieces operated for measurement of the amount of cerebral lesion and motor-nerve disorders. (Middle Cerebral Artery Occlusion Model). Middle cerebral Artery Occlusion by the model resulted in local ischemic stroke in animal. Data analyzed by software SPSS, test ANOVA and disorders by test mann-Whitney.

Results: Average of records of motor-nerve disorders decreased significantly in group with dose 0.5 and 0.75 using flax seed oil ($P < 0.05$). The amount of cerebral ischemic lesion in doses 0.5 and 0.75 than to control group is indicated meaning full different, but percent of the total cerebral lesion in control group in compared group with dose 0.25 is not indicated meaningful different. Percent of the amount of ischemic lesion in region penumbra in group 0.75 and 0.5 than to control group is indicated meaningful different, but percent of the amount of lesion in region penumbra in control group in compared region penumbra in group with dose 0.25 is not indicated meaning full different.

Conclusion: Findings of the study indicated that flax seed oil, particular in doses 0.5 and 0.75 resulted to decrease of the amount of cerebral ischemic lesion and decrease of motor-nerve disorders in animal model of stroke.

Keywords: Cerebral ischemia, Flaxseed oil, Rat, Motor nerve disorders.

*Corresponding author: Rahnema M, Department of Animal Physiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Email: Meh_rahnama@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Hosseini SV, Rahnema M, Bigdeli MR. Effect of Pre-nutrition of Flax Seed Oil (*Linum Usitatissimum*) on the amount of Cerebral ischemic lesion and motor nerve disorders in animal model rat. *Armaghane-danesh* 2015; 20 (7): 558-571.