Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

نقش نیتریک اکسید درون‌زا در پیش شرطی نمودن ایسکمیک قلب در موش صحرایی

فاطمه میرارشادی [۱] دکتر مهدیه فقیهی [۲] دکتر احمدرضا دهپور [۳]

[۱] مربی گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل [۲] دانشیار گروه فیزیولوژی، [۳] استاد گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

مجله پزشکی هرمزگان سال چهاردهم شماره اول بهار ۸۹ صفحات ۲۱-۱۳

چکیده

مقدمه: *ایسکمیک پره کاندیشنینگ (ischemic preconditioning – IPC) پدیده ای است که در طی آن دوره‌های کوتاه‌مدت ایسکمی موجب حفاظت قلب در مقابل آسیب‌های ناشی از ایسکمی طولانی می‌گردد. پیشنهاد گردیده که ماده نیتریک اکساید (NO) یک ماده مؤثر در پدیده فوق می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات NO بر روی عملکرد قلبی در طی ایسکمی و پرفیوژن مجدد در قلب ایزوله موش صحرایی می‌باشد.*

روش کار: *در این مطالعه تجربی از ۲۸ رأس موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم، نژاد Sprague dawley موجود در دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده گردید. قلب موش‌ها بعد از بیهوشی به سرعت جدا و پس از اتصال به دستگاه لانگندورف، عمل پرفیوژن با محلول کربس با فشار ثابت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برقرار گردید. نمونه‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. گروه کنترل به مدت ۱۷۰ دقیقه با محلول کربس پرفیوژ شد. گروه ایسکمی/ پرفیوژن مجدد (IR) به مدت ۳۰ دقیقه تحت ایسکمی قرار گرفت. در گروه ایسکمی – پره کاندیشنینگ (IPC) یک دوره کوتاه مدت ایسکمی/ پرفیوژن مجدد قبل از برقراری ایسکمی ۳۰ دقیقه‌ای ایجاد شد و در گروه IPC + L-NAME قبل از برقراری دوره کوتاه مدت ایسکمی / پرفیوژن مجدد، L-NAME (o.1mM) به محلول پرفیوژن افزوده شد. در پایان هر دوره، ضربان قلب (HR)، فشاربطن چپ (LVDP)، حاصل ضرب فشار و ضربان قلب (RPP= LVDP×HR)، سایز انفارکتوس و میزان جریان کرونری محاسبه گردید. جهت مقایسه میانگین‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS آنالیز واریانس و تست تکمیلی Tukey استفاده گردید. سطح معنی‌دار کمتر از ۰۵/۰ در نظر گرفته شد.*

نتایج: *ایسکمی/ پرفیوژن مجدد باعث کاهش عملکرد قلبی (کاهش RPP) و ایجاد ناحیه انفارکتوس در قلب شد و IPC اثرات سوء حاصل از ایسکمی و پرفیوژن مجدد را بطور معنی‌داری کاهش داد. بین گروه IPC و IPC + L-NAME اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری: در این مطالعه مولکول NO در ایجاد اثرات حفاظتی ناشی از پدیده IPC نقشی ندارد.

کلیدواژه‌ها: *آسیب خون‌رسانی مجدد –نیتریک اکسید – Ischemic Preconditioning– موش‌های صحرایی، نژاد اسپراگو داولی*

نویسنده مسئول:
فاطمه میرارشادی
دانشکده پزشکی – دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل
اردبیل – ایران
تلفن: ۷۷۲۲۵۳۹ ۴۵۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
fmirershadii@iauardabil.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۸/۴/۸ اصلاح نهایی: ۸۸/۹/۱۹ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۲۷

مقدمه:

قلب یکی از اندام‌های حیاتی است که می‌تواند در معرض خطر قطع اکسیژن‌رسانی و بروز ایسکمی قرار بگیرد. ایسکمی در قلب موجب آسیب بافتی و اختلال عملکرد می‌شود (۱). برقرار کردن پرفیوژن مجدد در قلبی که دچار ایسکمی شده یکی از روش‌های درمانی است (۲). اما پرفیوژن مجدد علاوه بر درمان، موجب ایجاد آسیب بافتی نیز می‌شود (۳). این آسیب‌ها در طیف وسیعی قرار داشته و تحت عنوان آسیب‌های ناشی از ایسکمی / پرفیوژن مجدد : Ischemia Reperfusion (I/R) شناخته می‌شوند (۲).

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

پیش شرطی سازی (Preconditioning: PC) پدیده‌ای است که در آن پیش از وقوع ایسکمی/ پرفیوژن مجدد، بافت در معرض محرکی قرار می‌گیرد و این محرک یکسری از عوامل درون سلولی را فعال کرده و موجب افزایش مقاومت میوسیت‌های قلبی می‌شود. افزایش مقاومت میوسیت، میزان آسیب قلبی در اثر ایسکمی/ پرفیوژن مجدد را کاهش داده و باعث بهبود عملکرد قلبی می‌شود (٦-٤).

یکی از مهمترین این محرک‌ها، استفاده از ایسکمی کوتاه مدت، قبل از ایسکمی/ پرفیوژن مجدد است که به آن ایسکمیک پری‌کاندیشنینگ (Ischemic Preconditioning: IPC) می‌گویند. لذا می‌توان با بکار بردن این تکنیک قلب را در طی ایسکمی‌های غیرقابل اجتناب در شرایط مختلف بالینی مثل جراحی‌های قلبی، پیوند قلب و... تا حدود زیادی آسیب‌ناپذیر نمود. اما بکار بردن این تکنیک نیاز به قطع جریان خون دارد که عملاً امکان‌پذیر نیست. لذا با شناخت مکانیسم عمل IPC و بکار بردن عواملی که می‌توانند اثرات آن را تقلید کنند می‌توان این تکنیک را روی قلب پیاده نمود. مکانیسم حفاظتی IPC بر روی قلب هنوز بدرستی شناخته نشده ولی عوامل مختلفی را در ایجاد آن دخیل می‌دانند. یکی از عوامل مؤثر در این پدیده نیتریک اکسید (Nitric Oxide: NO) می‌باشد (١١-٧).

در مقاله‌ای گزارش شده که کاهش NO در بدن موجب بروز بیماریهایی از جمله آترواسکلروز، افزایش فشارخون و آسیب قلبی می گردد (١٢). همچنین از NO به عنوان کوفاکتور ضروری در رابطه با کانالهای پتاسیمی حساس به ATP و نقش آنها در IPC نام برده شده است (٨). در تحقیقی دیگر NO را به عنوان مهارکننده کانالهای کلسیمی میوسیت و عامل حفاظتی IPC بیان کرده و NO را عامل کاهش قدرت انقباضی عضله قلبی در رابطه با IPC دانستند (١٣).

در مطالعه دیگری گزارش شده است که رادیکالهایی در دوره ایسکمی / پرفیوژن مجدد (IR) تولید می‌شود که صدمات بافتی ایجاد می‌کنند و NO را در این مورد دخیل دانستند (١٤).

هدف ما در این مطالعه با توجه به گزارشات مختلفی که از نقش NO در پدیده IPC بیان شده است، بررسی ارتباط بین IPC و NO می‌باشد. جهت انجام این مطالعه از قلب ایزوله موش صحرایی نر و دستگاه لانگندورف استفاده گردید و برای بررسی اثرات احتمالی NO، داروی L-NAME را که مهارکننده سنتز NO می‌باشد بکار بردیم.

روش کار:

در این مطالعه تجربی، از ٢٨ رأس موش صحرایی نر نژاد Sprague dawley با محدوده وزنی ٢٥٠-٢٠٠ گرم موجود در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده گردید. حیوانات در شرایط یکسان و در دمای معمولی آزمایشگاه ٣±٢٥ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. موش‌ها بصورت تصادفی به ٤ گروه ٧ عددی تقسیم شدند. در همه گروه‌ها نیم ساعت قبل از شروع کار به حیوان هپارین (٥٠٠ واحد به صورت داخل صفاقی) تزریق شده و سپس حیوان را به کمک تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (٦٠mg/kg) بیهوش کردیم. بعد از بیهوشی کامل، حیوان تحت عمل جراحی قرار گرفته، قلب را به سرعت ایزوله کرده و به دستگاه لانگندورف انتقال دادیم. محلول پرفیوژن، کربس هنسله (PH=٧/٤) محتوی گاز کاربوژن (٩٥٪ اکسیژن و ٥٪ دی‌اکسیدکربن) با فشار ثابت و دمای ٣٧ درجه سانتیگراد است. فشار و دما در تمام طول آزمایش حفظ شده و برای همه گروه‌ها ثابت است.

در تمام گروه‌ها بعد از اتصال قلب به دستگاه، به قلب اجازه داده می‌شود تا در شرایط جدید به وضعیت ثبات برسد و اندازه‌گیری‌ها بعد از این زمان انجام خواهد شد. اگر تعداد ضربان قلب، قدرت انقباضی و جریان کروناری در سه زمان متوالی و هر بار به مدت ٥ دقیقه ثابت بماند نشان‌دهنده سازگار شدن قلب با شرایط جدید می‌باشد. در صورت عدم سازگاری، قلب مورد نظر را کنار می‌گذاریم. در ضمن قلب‌هایی که فشار داخل بطن چپ آنها کمتر از ١٠٠میلی‌متر جیوه و ضربان قلب کمتر از ٢٣٠ بود، از مطالعه خارج گشتند.

پس از تقسیم شدن تصادفی حیوانات به ٤ گروه، قلب‌ها در هر گروه به طور متفاوت مورد آزمایش قرار گرفتند. این گروه‌ها عبارتند از:

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

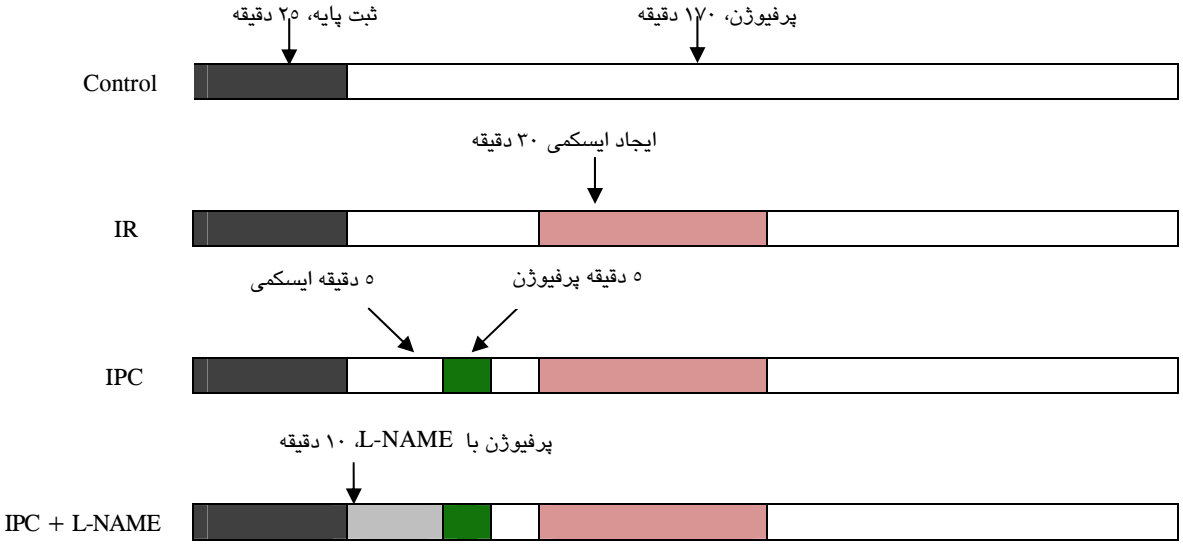
۱- گروه کنترل: در این گروه قلب پس از رسیدن به ثبات و بعد از ۲۵ دقیقه ثبت پایه به مدت ۱۷۰دقیقه با محلول کربس، پرفیوژ می‌شود (۱۵،۱۶).

۲- گروه ایسکمی / پرفیوژن مجدد (IR): در این گروه قلب به مدت ۳۰ دقیقه تحت ایسکمی قرار گرفته و سپس به مدت ۱۲۰ دقیقه با محلول کربس پرفیوژن مجدد انجام می‌شود.

۳- گروهIPC: در این گروه ۵ دقیقه ایسکمی و به دنبال آن ۵ دقیقه پرفیوژن مجدد قبل از برقراری ۳۰ دقیقه ایسکمی اعمال می‌گردد و سپس مانند گروه ۲ عمل می‌شود.

٤- گروهIPC + L-NAME: در این گروه قبل از برقراری ۵ دقیقه ایسکمی، بافت به مدت ۱۰ دقیقه با محلول کربس حاوی(L-nitro-arginine methyl ester) L-NAME (0.1 mMol) پرفیوژ می‌گردد (۱۷،۱۸) و سپس مانند گروه ۳ عمل می‌شود.

شکل ۱ گروه‌های آزمایشی را نشان می‌دهد.



شکل ۱- شکل شماتیکی از گروههای آزمایشی

بعد از ایجاد ثبات در طی زمان پایه، در پایان ۱۷۰ دقیقه تعداد ضربان قلب (HR)، فشار بطن چپ Left) (LVDP Ventricular Developed Pressure و میزان جریان کروناری (coronary flow – CF) ثبت می‌گردد. سپس حاصل ضرب تعداد ضربان و فشار بطن چپ (Rate pressure produce) به عنوان شاخصی از فعالیت مکانیکی قلب بر حسب mmHg.beats /min طبق فرمول زیر محاسبه می‌گردد. RPP= HR × LVDP. در پایان ۱۷۰ دقیقه سایز انفارکتوس اندازه‌گیری می‌شود.

جهت اندازه‌گیری فشار بطن چپ یک عدد بالن لاتکس در داخل بطن چپ قرار داده می‌شود. داخل این بالن تا فشار ۱۰- ۸ میلیمتر جیوه از آب پر شده و به یک ترانس دیوسر فشاری متصل است.

برای اندازه‌گیری جریان کروناری با استفاده از یک عدد استوانه مدرج، میزان محلولی که بعد از پرفیوژ کردن از قلب خارج می‌شود را به مدت یک دقیقه جمع‌آوری می‌نمائیم.

جهت اندازه‌گیری سایز آنفارکتوس، بعد از پایان کار از قلب برشهایی تهیه می‌نماییم. جهت تهیه بهتر برش، قلب را دردمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده و برشهایی با ضخامت حدود ۲ میلیمتر جدا کرده و در محلول تری فنیل تترا زولیم کلرید (TTC) در بافر فسفات (PH=7) به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم. بعد از این

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

مدت برشها را در فرمالین ۱۰٪ قرار می‌دهیم تا کنتراست رنگ بین مناطقی که آسیب دیده‌اند و مناطقی که سالم‌اند بیشتر شود. مناطق سالم به رنگ قرمز و مناطقی که در اثر ایسکمی دچار آسیب شده‌اند به رنگ زرد تا سفید دیده می‌شوند. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ سایز انفارکتوس محاسبه شد.

تمام اندازه‌گیری‌ها به استثنای سایز انفارکتوس در دو زمان متفاوت یعنی در پایان ۲۵ دقیقه ثبت پایه و پایان ۱۷۰ دقیقه پرفیوژ انجام می‌شود. سایز انفارکتوس فقط در پایان ۱۷۰ دقیقه اندازه‌گیری شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده ها، برای ارائه نتایج توصیفی از میانگین و انحراف معیار و مقایسه میانگین‌ها از آزمون ANOVA استفاده کردیم. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها از آزمون تکمیلی TUKEY استفاده شد و P<۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار بودن تفاوت آماری در نظر گرفته شد.

نتایج:

در زمان پایه هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر مقادیر LVDP، HR، و CF وجود ندارد. این مقادیر در این زمان به عنوان پایه در نظر گرفته می‌شوند. میزان پارامترهای فوق در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- اندازه پارامترهای قلبی در زمان پایه

گروه	n	LVDP (mmHg)	CF (ml/min)	HR (b.p.m)
Control	۷	۱۱۲/٤±۱/٥	۱۲/۹±۱/۱	۲٥۰±۱۰
IR	۷	۱۱۱/٦±۲	۱۱/۳±۷	۲٦۰±۹
IPC	۷	۱۱۲/٤±۳/٥	۱۲/۱±۱/۳	۲٥٥±۸
IPC+L-NAME	۷	۱۱۰/٥±۳/٥	۱۰/۲±۱/٤	۲٦۰±۱۲

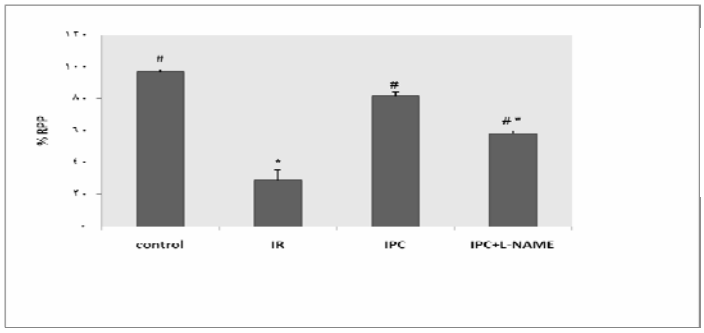
LVDP: فشار بطن چپ، CF: میزن جریان کروناری، HR: تعداد ضربان قلبی، IR: ایسکمی – پرفیوژن مجدد، IPC: ایسکمی – پری‌کاندیشنینگ، L-NAME: ال نیتروآرژنین متیل استر

در تمام گروه‌ها بلافاصله بعد از شروع ایسکمی، LVDP و HR کاهش یافته و در مدت چند دقیقه به صفر می‌رسند و تا پایان ایسکمی در حد صفر باقی مانده و در صورت پرفیوژن مجدد، افزایش می‌یابند. در انتهای پرفیوژن (پایان ۱۷۰ دقیقه) پارامترهای LVDP، HR، و RPP به صورت درصد، نسبت به پایه گزارش می‌شوند (جدول شماره ۲). RPP٪ از حاصل ضرب HR٪ در LVDP٪ به دست می‌آید که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲- اندازه پارامترهای قلبی در پایان ۱۷۰ دقیقه پرفیوژن

گروه	n	LVDP (%)	CF (ml/min)	HR (%)	RPP%
Control	۷	۹۸±۱/٦	۱۲/۸±۱/۸	۹۹±٥٥	۹۷±۱/٥
IR	۷	٥۷±۲/۷ *	۱۱/٥±۲/۳	٥۲±۳/۲ *	۲۹±٦/۲ *
IPC	۷	۹۲±۱/۳ #	۱۱/۳±۱/۸	۹۰±۱/۸ #	۸۲±۲/۳ #
IPC+L-NAME	۷	۷٥±۱/۲ *#	۱۲/۳±۱/۲	۷۸±۱/٥ *#	٥۸±۱/۸ *#

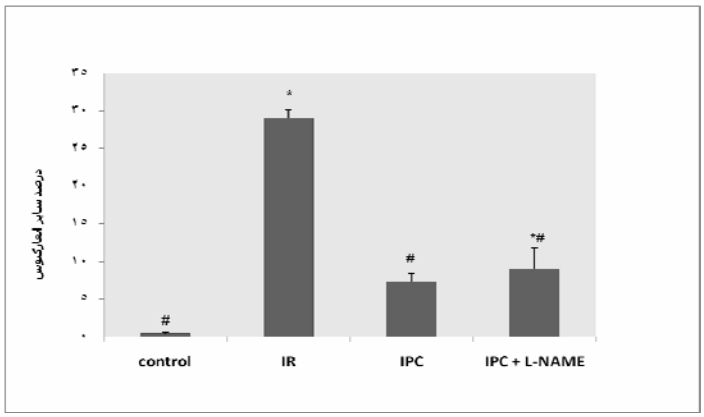
LVDP: فشار بطن چپ، CF: میزن جریان کروناری، HR: تعداد ضربان قلبی، RPP: حاصل‌ضرب فشار در تعداد ضربان قلبی، IR: ایسکمی – پرفیوژن مجدد، IPC: ایسکمی – پری‌کاندیشنینگ، L-NAME: ال نیتروآرژنین متیل استر *: مقایسه گروهها با گروه کنترل با P<۰/۰۵ # مقایسه گروهها با گروه IR با P<۰/۰۵



* وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل
# وجود اختلاف معنی دار با گروه IR
گروه IPC + L-NAME با گروه IPC اختلاف معنی دار ندارد.

نمودار شماره ۱- میزان درصد RPP در گروههای آزمایشی

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018



* وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل
# وجود اختلاف معنی دار با گروه IR
گروه IPC + L-NAME با گروه IPC اختلاف معنی دار ندارد

شکل شماره ۲- درصد سایز انفارکتوس در گروههای آزمایشی

میزان درصد RPP در انتهای پرفیوژن شاخصی برای تعیین عملکرد قلبی بوده و جهت مقایسه گروه‌ها بکار می‌رود.

در گروه IR میزان درصد RPP نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) کاهش نشان می‌دهد.

در گروه IPC درصد RPP نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نداشته ولی نسبت به گروه IR افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) نشان می‌دهد.

در گروه IPC+L-NAME درصد RPP نسبت به گروه کنترل و همین طور نسبت به گروه IR کاهش معنی‌دار $P < ۰/۰۵$ نشان می‌دهد اما اختلاف معنی‌داری با گروه IPC ندارد. درصد اندازه انفارکتوس در پایان پرفیوژن در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.

اندازه انفارکتوس در گروه IR نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری ($P < ۰/۰۵$) دارد.

اندازه انفارکتوس در گروه IPC نسبت به گروه IR کاهش معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) دارد ولی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نیست.

در گروه IPC + L-NAME اندازه انفارکتوس نسبت به گروه IR تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) داشته ولی نسبت به گروه IPC و گروه IR تفاوت معنی‌دار نیست. مقدار جریان کروناری در تمام گروه‌ها در طی ایسکمی به صفر رسیده و پس از شروع پرفیوژن مقدار آن به ۱۰۰- ۹۵٪ میزان پایه می‌رسد و تا پایان در همین حد باقی می‌ماند.

بحث و نتیجه‌گیری:

در ایسکمی - پرفیوژن مجدد روند آسیب به دو مرحله ایسکمی و پرفیوژن تفکیک می‌گردد. در فاز ایسکمی همه سلولها دچار تغییرات بیوشیمیایی و پاتولوژیکی می‌شوند و در فاز پرفیوژن گروهی از سلولهای آسیب دیده فعالیت خود را باز می‌یابند در صورتی که تعداد زیادی از آنها دچار مرگ می‌شوند (۱۹). تغییرات متابولیک و ساختمانی که در جریان ایسکمی در سلول پیدا می‌شوند عبارتند از: از بین رفتن ذخایر ATP، تورم سلولی، فعالیت نامنظم آنزیم‌های سلولی و افزایش روند گلیکولیز که موجب تجمع لاکتات در داخل سلول شده و اسیدوز رخ می‌دهد، در نهایت سلول با کاهش گلوتاتیون روبرو شده و در واقع از دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول کاسته می‌شود (۲۰).

در پرفیوژن مجدد جریان کامل و مؤثر خون در عروق ایجاد نخواهد شد چون با تورم سلولهای اندوتلیال در حین ایسکمی و مسدود شدن مسیر جریان خون، فیزیولوژی طبیعی عروق بهم خورده است (۱۹).

در مورد قلب نیز پدیده ایسکمی - پرفیوژن مجدد منجر به آسیب جدی میوکارد شده و به دنبال آن اختلال در عملکرد قلب دیده می‌شود. کاهش قدرت انقباض قلبی، کاهش ریت قلبی، ایجاد آریتمی قلبی و همین طور مشاهده نقاطی از میوکارد که دچار ایسکمی و مرگ سلولی شده از جمله

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

اختلالاتی است که در اثر ایسکمی - پرفیوژن مجدد بوجود می‌آید (۲۱،۲۲).

IPC (Ischemic Preconditioning) عبارت است از دوره‌های ایسکمی کوتاه مدت که نقش حفاظتی در مقابل آسیب ایسکمی - پرفیوژن مجدد در میوکارد ایفا می‌کند (۲۳) و موجب کاهش صدمات چه از نظر کارکرد قلبی و چه از نظر سایز انفارکتوس می‌شود. مکانیسم عمل IPC به خوبی مشخص نشده است اما شواهد زیادی وجود دارد که نیتریک اکساید (NO) در پدیده IPC نقش دارد. در سالهای اخیر مطالعات زیادی در این مورد صورت گرفته است و این مولکول را در اثرات بهبوددهندگی IPC دخیل می‌دانند. بعضی از مقالات به نقش مثبت آن در ایجاد اثرات محافظتی IPC اشاره می‌کنند (۱۱-۷) و در عین حال بعضی دیگر از مقالات از نقش زیان‌آور آن بحث می‌کنند و معتقدند که با ممانعت از تولید این مولکول در دوره ایسکمی و پرفیوژن مجدد می‌توان صدمات بافتی را کاهش داد (۲۳،۲٤).

در مطالعه ما مشاهده شد که القای یک دوره کوتاه مدت ایسکمی - پرفیوژن مجدد (IPC) منجر به کاهش معنی‌داری در صدمات ناشی از ایسکمی - پرفیوژن مجدد، چه از نظر عملکرد قلبی و چه از نظر سایز انفارکتوس شد. به منظور پی بردن به نقش NO در این رابطه از داروی L-NAME (L- Nitro-arginine methyl ester به عنوان مهارکننده سنتز NO استفاده کردیم و مشاهده شد که حذف NO اثرات بهبوددهندگی IPC را تحت تأثیر قرار نداده و میزان عملکرد قلبی و سایز انفارکتوس را تغییر معنی‌دار نمی‌دهد. نتیجه‌ای که ما به دست آوردیم با مطالعه (۲۵) مطابقت دارد که در آن دخالت مولکول NO را در پدیده IPC منتفی دانسته‌اند. در گزارشی دیگر (۲۲) عنوان کرده‌اند که مهار NO موجب بهبود عملکرد قلبی و کاهش اندازه انفارکتوس در موشهای صحرایی می‌شود.

در مطالعه‌ای دیگر (۲٦) گزارش شده که تولید NO موجب عملکرد غیرطبیعی قلب می‌شود. گروهی دیگر مکانیسم ایجاد آسیب توسط NO در میوکارد را به دلیل اثراتش در روند مرگ سلولی می‌دانند و عقیده دارند که NO این روند را تسریع می‌بخشد (۲۷). مهار تنفس میتوکندریایی و تولید رادیکالهای آزاد مکانیسم دیگری است که عقیده دارند NO از این طریق موجب ایجاد آسیب میوکارد می‌شود (۲۸).

با این حال گزارشاتی هم وجود دارد که نقش مولکول NO را در پدیده IPC محرز گزارش کرده‌اند و عقیده دارند که NO ممکن است چندین عمل مختلف داخل سلولی داشته باشد که منتهی به اثرات حفاظتی شود. از میان این اثرات می‌توان به تولید CGMP اشاره کرد که موجب کاهش ورود کلسیم به داخل سلول می‌شود. این اثر ممکن است به اثر حفاظتی NO ربط داشته باشد (۲۹). NO می‌تواند موجب فعال شدن آنزیم پروتئین کیناز c گردد (۳۰) و یا کانالهای پتاسیمی حساس به ATP را تحت تأثیر قرار دهد (۳۱). نویسندگانی هم عقیده دارند که NO از طریق تأثیری که روی عمل میتوکندریها دارد، می‌تواند اثر حفاظتی در پدیده IPC داشته باشد (۳۰).

این تناقضات می‌توانند مربوط به مدل آزمایش، دوز دارو و یا اختلاف گونه حیوانات مورد استفاده باشند.

با توجه به نتیجه‌ای که ما از این مطالعه بدست آورده‌ایم و دخالت L-NAME را در پدیده IPC بدون اثر دیدیم حال این سؤال مطرح است که آیا مکانیسم حفاظتی IPC همراه با تولید NO است یا نه؟ به این صورت هم می‌توان عنوان کرد که یا مولکول NO در اثر پدیده IPC تولید نشده و یا اینکه دخالتی در بروز اثرات حفاظتی آن ندارد و یا اینکه دوز داروی مهارکننده (L-NAME) کافی نبوده و بطور کامل نتوانسته تولید NO را مهار نماید.

از طرفی با توجه به نامشخص بودن مکانیسم دقیق IPC و متعدد بودن عواملی که در بروز این پدیده دخالت دارند، منطقی است که حذف فقط یکی از این عوامل نمی‌تواند اثر پدیده فوق را از بین ببرد.

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

References

منابع

1. Hearse DJ. Myocardial ischaemia: can we agree on a definition for the 21st century? *Cardiovasc Res*. 1994;28:1737-44.
2. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol*. 2005 ;100:179-90.
3. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest*.1985;76:1713-9.
4. Sommerschild HT. Preconditioning--endogenous defence mechanisms of the heart during ischemia. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2000;120:3269-73.
5. Yellon DM, Baxter GF, Garcia-Dorado D, Heusch G, Sumeray MS. Ischaemic preconditioning: present position and future directions. *Cardiovasc Res*. 1998;37:21-33.
6. Murphy E. Primary and secondary signaling pathways in early preconditioning that converge on the mitochondria to produce cardio protection. *Circ Res*. 2004;94:7-16.
7. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:1897-918.
8. Raphael J, Drenger B, Rivo J, Berenshtein E, Chevion M, Gozal Y. Ischemic preconditioning decreases the reperfusion-related formation of hydroxyl radicals in a rabbit model of regional myocardial ischemia and reperfusion: the role of K(ATP) channels. *Free Radic Res*. 2005;39:747-54.
9. Nakano A, Liu GS, Heusch G, Downey JM, Cohen MV. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*. 2000;32:1159-67.
10. Hill M, Takano H, Tang XL, Kodani E, Shirk G, Bolli R. Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits despite development of nitrate tolerance. *Circulation*. 2001;104:694-9.
11. Ghaleh B, Tissier R, Berdeaux A. Nitric oxide and myocardial ischemic preconditioning. *J Soc Biol*. 2000;194:137-41.
12. Ignarro LJ, Napoli C, Loscalzo J. Nitric oxide donors and cardiovascular agents modulating the bioactivity of nitric oxide: an overview. *Circ Res*. 2002;90:21-8.
13. Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 ;90:347-51.
14. Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T.Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90:347–51.
15. Small SA, Chawla MK, Buonocore M, Rapp PR, Barnes CA. Imaging correlates of brain function in monkeys and rats isolates a hippocampal subregion differentially vulnerable to aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:7181-6.
16. Ebrahimi S, Faghihi M, Keshavarz M, Kadkhodaee M, Mirershadi F, Asadi B. Anti-infarct effect of magnesium is not mediated by adenosine A1 receptors in rat globally ischaemic isolated hearts. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004;31:868-72.
17. Faghihi M, Mirershadi F, Dehpour AR, Bazargan M. Preconditioning with acute and chronic lithium administration reduces ischemia/reperfusion injury mediated by cyclooxygenase not nitric oxide synthase pathway in isolated rat heart. *Eur J Pharmacol*. 2008;597:57-63.
18. Feng J, Li H, Rosenkranz ER. Bradykinin protects the rabbit heart after cardioplegic ischemia via NO-dependent pathways. *Ann Thorac Surg*. 2000;70:2119-24.
19. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol*. 1997;58:95-117.
20. Brenner BM. Brenner & Rector's The Kidney.6th ed. Philadelphia:W.B.Saunders; 2000.

21. Strijdom H, Genade S, Lochner A. Nitric Oxide synthase (NOS) does not contribute to simulated ischaemic preconditioning in an isolated rat cardiomyocyte model. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2004;18:99-112.

22. Saito T, Hu F, Tayara L, Fahas L, Shennib H, Giaid A. Inhibition of NOS II prevents cardiac dysfunction in myocardial infarction and congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H339-45.

23. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Physiol*. 1992 ;262:H616-20.

24. Patel VC, Yellon DM, Singh KJ, Neild GH, Woolfson RG. Inhibition of nitric oxide limits infarct size in the in situ rabbit heart. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;194:234-8.

25. Liu GS, Cohen MV, Downey JM. Inhibition of nitric oxide synthesis does not affect ischemic preconditioning in isolated, perfused rabbit hearts. *Circulation*.1999;100(Suppl):1-243.

26. Feng Q, Lu X, Jones DL, Shen J, Arnold JM. Increased inducible nitric oxide synthase expression contributes to myocardial dysfunction and higher mortality after myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2001;104:700-4.

27. Kawaguchi H, Shin WS, Wang Y, Inukai M, Kato M, Matsuo-Okai Y, et al. In vivo gene transfection of human endothelial cell nitric oxide synthase in cardiomyocytes causes apoptosis-like cell death. Identification using Sendai virus-coated liposomes. *Circulation*. 1997;95:2441-7.

28. Brown GC, Borutaite V. Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:1440-50.

29. Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:H2752-65.

30. Jones SP, Bolli R. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*. 2006 ;40:16-23.

31. Shinbo A, Iijima T. Potentiation by nitric oxide of the ATP-sensitive K^+ current induced by K^+ channel openers in guinea-pig ventricular cells. *Br J Pharmacol*. 1997;120:1568–74.

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 18:48 +0330 on Saturday January 20th 2018

Effect of endogenous nitric oxide on cardiac ischemic preconditioning in rat

F. Mirershadi, MSc [1] M. Faghihi, PhD [2] A.R. Dehpour, PhD [3]

Instructor Department of Physiology [1], Islamic Azad University Ardabil Branch, Ardabil, Iran. Associate Professor Department of Physiology [2], Professor Department of Pharmacology [3], Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

(Received 24 May, 2009 Accepted 31 Oct, 2009)

ABSTRACT

Introduction: Ischemic Preconditioning (IPC) is the phenomen that happens on the heart by one or several short periods of ischemia followed by reperfusion that improve the postischemic recovery of mechanical function. Ischemic preconditioning (IPC) may protect the heart from ischemia reperfusion injury by nitric oxide formation. This study investigated the effect of ischemic preconditioning on heart and the relationship between nitric oxide.

Methods: 28 male Sprague dawley rats (200-250 g) in Tehran University of Medical Sciences were used. Rats were anesthetized and hearts were rapidly isolated and perfused in the Langendorff mode at a constant perfusion pressure and temperature of 37℃. hearts were divided to 4 groups. Control group was perfused 170 minutes with buffer solution. ischemic reperfusion (IR) group was subjected to 30 minutes ischemia. (Ischemic preconditioning) IPC group was elicited by 5 min ischemia followed 5 min reperfusion before IR and L-NAME + IPC group, L-NAME (0.1mM) was added into the perfusion solution. Heart rate (HR), left ventricular development (LVDP), RPP (LVDP × HR), infarct size and coronary flow (CF) were measured. ANOVA tests(with TUKEY post test if $p<0.05$) were used for statistical analyses.

Results: IPC improve the postischemic recovery and reduced postischemic ventricular dysfunction in heart and reduction of infarction size. No significant differences were observed between IPC and IPC + L-NAME groups.

Conclusion: L-NAME did not affect postischemic recovery of IPC so in the isolated heart NO isn't involved in the cardioprotective effect of IPC.

Correspondence:
F. Mirershadi, MSc.
Medical School, Islamic Azad University Ardabil Branch.
Ardabil, Iran
Tel:+98 451 7722539
Email:
Fmirershadi@iauardabil.ac.ir

Key words: Ischemic Preconditioning, Myocardial – Myocardial Reperfusion Injury – Nitric Oxide – Rats, Sprague – Dawley