جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۸
صفحات: ۱۹۵- ۱۸۹

اثر پیش‌شرطی‌سازی با فنیل‌افرین بر آنزیم‌های قلبی در ایسکمی/پرفیوژن مجدد موضعی در قلب ایزوله موش صحرایی

علیرضا ایمانی[۱] *PhD*، رویا نادری[۱] *MSc*، مهدیه فقیهی[*] *PhD*

چکیده

اهداف. با وجود این‌که برقراری پرفیوژن مجدد در قلب ایسکمیک ارزش درمانی فراوانی دارد، سبب ایجاد ضایعات دیگری نیز می‌شود. هدف اصلی این مطالعه ارزیابی اثر پیش‌شرطی‌سازی با فنیل‌افرین بر آسیب ناشی از ایسکمی/پرفیوژن مجدد و نیز نقش کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP و منافذ عبوری نفوذپذیر میتوکندریایی در آن بود.

مواد و روش‌ها. قلب موش صحرایی بیهوش جدا شد و در بافر کربس به دستگاه لانگندورف انتقال یافت. در گروه کنترل فقط مراحل جراحی انجام شد. در گروه دوم، ۳۰ دقیقه ایسکمی و متعاقبا ۶۰ دقیقه پرفیوژن مجدد ایجاد شد. در گروه سوم، فنیل‌افرین ۱۰ دقیقه قبل از القای ایسکمی/پرفیوژن مجدد تزریق شد. گروه‌های چهارم و پنجم مانند گروه سوم بودند به‌جز این‌که به‌ترتیب در آنها از ۵- هیدروکسی دکانوئیات (۱۰۰μmol/l) و آتراکتیلوزاید (۲۰mmol/l) استفاده شد. در گروه ششم، به حیوانات ۲۴ ساعت قبل از ایسکمی/پرفیوژن مجدد، فنیل‌افرین داخل صفاقی تزریق شد. گروه‌های هفتم و هشتم نیز مانند گروه ششم بودند، به‌جز این‌که به‌ترتیب ۵- هیدروکسی دکانوئیات و آتراکتیلوزاید نیز دریافت کردند.

یافته‌ها. ایجاد ایسکمی/پرفیوژن مجدد سبب افزایش سطح آنزیم‌های قلبی LDH و CKMB در مایع کرونری جمع‌آوری‌شده در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد شد. پیش‌شرطی با فنیل‌افرین سطح آنزیم‌ها را کاهش داد و استفاده از ۵- هیدروکسی دکانوئیات و آتراکتیلوزاید اثر حفاظتی فنیل‌افرین را حذف کرد.

نتیجه‌گیری. پیش‌شرطی‌سازی با فنیل‌افرین از طریق بازکردن کانال‌های mitoKATP و مهار منافذ mPTP سبب حفاظت زودرس و دیررس قلب ایزوله موش صحرایی در آسیب ایسکمی/پرفیوژن مجدد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ایسکمی/پرفیوژن مجدد، فنیل‌افرین، لاکتات دهیدروژناز، کراتین‌کیناز، میتوکندری

دریافت مقاله: ۸۸/۷/۸ پذیرش مقاله:۸۸/۱۱/۱۶

*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران faghihim@sina.tums.ac.ir
۱ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بیماری ایسکمی قلبی، مهم‌ترین علت مرگ‌ومیر در بسیاری از کشورهای دنیا بوده و زمانی حادث می‌شود که در نتیجه اختلال در عروق‌کرونر، خون‌رسانی به میوکارد کاهش یافته و اکسیژن مورد نیاز قلب به‌خوبی تامین نشود. در این راستا به‌نظر می‌رسد، برقراری پرفیوژن مجدد، امری ضروری برای حفظ حیات در قلب ایسکمیک است. اما نشان داده شده است که پرفیوژن مجدد مانند شمشیر دولبه عمل کرده و در کنار ارزش درمانی خود، سبب افزایش مرگ سلولی در قلب و بروز ضایعات دیگری علاوه بر آسیب‌های ناشی از خود ایسکمی می‌شود [۱]. تاکنون مطالعات فراوانی به‌منظور شناخت و معرفی روش‌های درمانی انجام شده تا بتوان با کمک آنها آسیب‌های ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد را در قلب کاهش داد. یکی از موثرترین روش‌های معرفی‌شده، آماده‌سازی یا پیش‌شرطی‌کردن (PC) قلب با استفاده از برخی عوامل دارویی (شیمیایی)، قبل از بروز ایسکمی-پرفیوژن مجدد است [۲، ۳]. PC از نظر زمان شروع، اثر حفاظتی و مدت پایداری آن به ۲ فاز زودرس و دیررس تقسیم می‌شود. اثر حفاظتی درفاز زودرس، بلافاصله پس از القای PC شروع شده و تا ۳-۱ ساعت دوام دارد. فاز دیررس، ۱۲ ساعت پس از القای PC شروع شده و با ایجاد اثر حفاظتی ضعیف‌تر تا ۷۲ ساعت نیز ادامه می‌یابد [۳]. در میان عوامل مختلف دارویی، نشان داده شده است که پیش‌درمانی با کاتکولامین‌ها و تحریک گیرنده‌های α۱- آدرنرژیکی، سبب حفاظت قلب شده و آسیب‌های ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد را به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد [۴، ۵]. میتوکندری‌ها، مهم‌ترین ارگانل داخل سلولی برای تولید و تامین انرژی لازم در سلول‌ها هستند. از طرفی مشخص شده است که میتوکندری‌ها در مرگ سلولی در طی ایسکمی-پرفیوژن مجدد نقش اساسی داشته و آسیب به میتوکندری‌ها منجر به آزادشدن کوفاکتورهای لازم برای آغاز مرگ سلولی، و نیز تولید و آزادشدن عوامل آسیب‌رسانی مانند رادیکال‌های آزاد می‌شود [۶]. به‌نظر می‌رسد که مکانیزم‌های سلولی ناشی از PC در نهایت روی میتوکندری‌ها خاتمه یافته و با حفاظت از این ارگانل داخل سلولی سبب کاهش آسیب‌های ایسکمی-پرفیوژن مجدد می‌شوند. در این میان کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP (mitoKATP) [۷] و منافذ عبوری نفوذپذیرشونده (mPTP) [۸]، در غشای داخلی میتوکندری اهمیت فراوانی دارند. کانال‌های mitoKATP در تنظیم اندازه و حجم ماتریکس میتوکندری‌ها نقش بسزایی دارند، به‌طوری‌که با بازشدن این کانال‌ها، یون پتاسیم به داخل ماتریکس میتوکندری وارد شده و از کوچک‌شدن اندازه و حجم ماتریکس در طی ایسکمی-پرفیوژن مجدد جلوگیری می‌کند و با این عمل ساختمان و عملکرد میتوکندری حفظ می‌شود [۹]. غشای داخلی میتوکندری در شرایط طبیعی و متابولیزم هوازی نسبت به متابولیت‌ها و یون‌ها یا نفوذناپذیرند یا نفوذپذیری کاملا انتخابی و محدود دارند. در شرایط طبیعی و فیزیولوژیک، منافذ mPTP بسته بوده و تحت برخی شرایط مانند پرفیوژن مجدد، این منافذ غیراختصاصی، باز شده و با افزایش نفوذپذیری به یون‌ها و نمک‌ها از غشای داخلی سبب آسیب به میتوکندری می‌شوند [۶، ۱۰]. در این راستا، نشان داده شده است که بازشدن کانال‌هایmito KATP در سلول‌های قلبی سبب ایجاد حفاظت شده و بسته‌شدن کانال‌های مذکور اثر حفاظتی را حذف می‌کند [۱۱]. از طرفی دیگر، به‌نظر می‌رسد که mPTP در طی PC بسته شده و بازشدن آن اثر حفاظتی را از بین می‌برد [۱۰، ۱۲]. بنابراین می‌توان گفت که مکانیزم‌های به‌راه‌افتاده در پدیده PC با اثر بر میتوکندری‌ها، سبب تنظیم فعالیت mitoKATP و mPTP می‌شوند. اندازه‌گیری آنزیم‌های لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) و کراتین‌کیناز-MB (CKMB) برای تشخیص آسیب‌های میوکاردی و ارزیابی وسعت ضایعات ایجادشده به‌کار می‌رود. نشان داده شده است که PC می‌تواند با جلوگیری از آسیب‌های میوکاردی باعث کاهش آنزیم‌های مذکور در قلب موش صحرایی [۱۳] و انسان [۱۴] شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات زودرس و دیررس ناشی از پیش‌درمانی با فنیل‌افرین (آگونیست اختصاصی گیرنده‌های α۱-آدرنرژیک) بر مقادیر آنزیم‌های قلبی LDH و CKMB آزادشده در جریان کرونری در طی ایسکمی- پرفیوژن مجدد و همچنین نقش کانال‌های mitoKATP و منافذ mPTP در پیش‌درمانی با فنیل‌افرین در قلب ایزوله موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۸ راس موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تاریکی- ۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی بدون محدودیت به آب و غذا در دمای ۲۲±۴° C نگهداری می‌شدند. حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلوزین (۶ mg/kg) بیهوش شده و روی تخت جراحی قفسه سینه را باز کرده، قلب به‌سرعت جدا می‌شد و در داخل ظرف محتوی مایع کربس- هنسلت با دمای ۴°C+ (NaHCO3:۲۵، KCl:۴/۷، NaCl:۱۱۸/۵، MgSO4:۱/۲، KH2PO4:۱/۲، Glucose:۱۱، CaCl2:۲/۵ براساس میلی‌مول در لیتر) قرار می‌گرفت. سپس آئورت کانوله شده و به دستگاه لانگندورف انتقال می‌یافت تا قلب به‌صورت رتروگراد با بافر کربس- هنسلت ۳۷° C و اکسیژنه‌شده (۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسیدکربن) پرفیوز شود. برای ایجاد ایسکمی موضعی، نخ سیلک ۴/۰ با دقت از زیر شریان کرونری نزولی چپ (LAD) عبور داده می‌شد. دو انتهای نخ را از داخل لوله نرمی گذرانده و همزمان با کشیدن نخ، لوله دیگری داخل لوله اول قرار داده می‌شد تا LAD بسته شده و ایسکمی موضعی ایجاد شود. پرفیوژن مجدد نیز با خارج‌کردن لوله دوم و آزادکردن نخ صورت می‌گرفت. برای اندازه‌گیری فشار داخل بطن چپ، بالون لاتکس پر از آبی (با فشار ۸-۴ میلی‌متر جیوه) که قبلا به یک ترانسدیوسر فشاری متصل شده بود، از طریق برش کوچکی بر دیواره دهلیز چپ، از دریچه میترال عبور داده و وارد بطن چپ می‌شد. تغییرات فشار بطن چپ از طریق ترانسدیوسر فشاری به دستگاه بایولب، منتقل شده و همواره در طی آزمایش، مانیتور و ثبت می‌شد. پس از پایان‌یافتن مراحل جراحی، به قلب اجازه داده می‌شد تا در یک دوره زمانی با شرایط جدید سازش پیدا کند (حدود ۳۰-۲۰ دقیقه). پس از مدت مذکور، اگر قلب دارای تعداد ضربان کمتر از محدوده نرمال (کمتر از ۲۵۰ ضربه در دقیقه) یا فشار بطن چپ کمتر از ۷۰ میلی‌متر جیوه بود، از مطالعه حذف می‌شد. در این مطالعه، حیوانات تحت ۳۰ دقیقه ایسکمی موضعی و متعاقب آن ۶۰ دقیقه پرفیوژن مجدد قرارگرفتند. بسته‌شدن شریان کرونری LAD برای القای ایسکمی موضعی با سیانوزه‌شدن قلب تایید می‌شد. جریان خروجی کرونر از نوک قلب در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد، جمع‌آوری شده و برای اندازه‌گیری آنزیم‌های قلبی LDH و CKMB مورد استفاده قرارگرفتند.

در این مطالعه فنیل‌افرین (PE) به‌عنوان آگونیست اختصاصی برای تحریک گیرنده α۱- آدرنرژیک، ۵-هیدروکسی دکانوییات (5-HD) به‌عنوان مهارکننده اختصاصی کانال mitoKATP و آتراکتیلوزاید (Atr) به‌عنوان بازکننده اختصاصی منافذ mPTP مورد استفاده قرارگرفتند. تمام داروهای مذکور از شرکت سیگما تهیه شدند.

در این مطالعه حیوانات به‌صورت تصادفی به ۸ گروه ۶تایی تقسیم شدند:

۱-گروه کنترل: در این گروه، قلب موش صحرایی بعد از رسیدن به ثبات به‌مدت ۱۳۵ دقیقه با کربس- هنسلت، پرفیوز شد.

۲-گروه I/R (ایسکمی/ ری‌پرفیوژن): در این گروه، قلب موش صحرایی تحت ۳۰ دقیقه ایسکمی موضعی و متعاقبا ۶۰ دقیقه پرفیوژن مجدد قرارگرفت.

۳-گروه PE در فاز زودرس: در این گروه، قلب حیوان ۱۵ دقیقه قبل از القای ایسکمی موضعی به‌مدت ۵ دقیقه با محلول کربس حاوی فنیل‌افرین (۵۰μmol/L) پرفیوز شد.

۴-گروه PE +5HD در فاز زودرس: در این گروه مانند گروه ۳ عمل شد. با این تفاوت که قلب موش صحرایی ۱۰ دقیقه قبل از پرفیوژن فنیل‌افرین، به‌مدت ۵ دقیقه با 5-HD (۱۰۰μmol/L) پرفیوز شد.

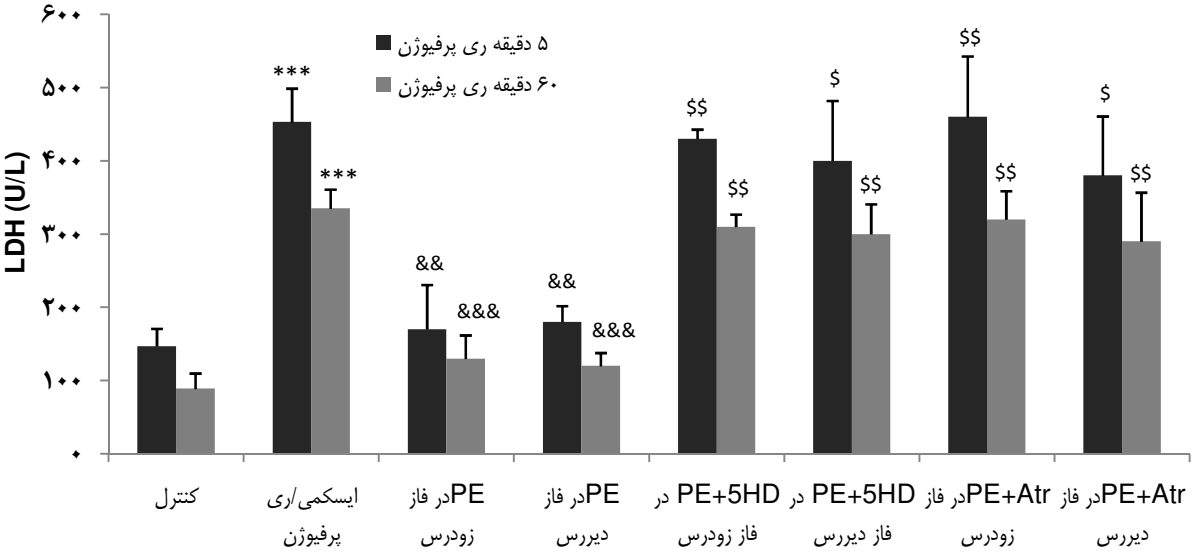
۵-گروه PE +Atr در فاز زودرس: این گروه نیز مانند گروه ۳ بوده به‌علاوه این‌که قلب موش‌صحرایی در طی ۵ دقیقه انتهایی ایسکمی موضعی و ۱۵ دقیقه اول پرفیوژن مجدد، درمعرض Atr (۲۰mmol/L) قرارگرفت.

۶-گروه PE در فاز دیررس: در این گروه، ۲۴ ساعت قبل از القای ایسکمی موضعی و پرفیوژن مجدد، فنیل‌افرین (mg/kg ۱۰) به‌صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد.

۷-گروه PE+5H در فاز دیررس: مانند گروه ۶ عمل می‌شد به‌علاوه این‌که قلب حیوان ۲۵ دقیقه قبل از ایسکمی موضعی و پرفیوژن مجدد به‌مدت ۵ دقیقه با 5-HD (۱۰۰μmol/L) پرفیوز می‌شد.

۸-گروه PE +Atr در فاز دیررس: مانند گروه ۶ عمل می‌شد به‌علاوه این‌که قلب موش‌صحرایی در طی ۵ دقیقه انتهایی ایسکمی موضعی و ۱۵ دقیقه اول پرفیوژن مجدد، درمعرض

Atr (۲۰mmol/L) قرار می‌گرفت. سپس جریان خروجی کرونر در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد، جمع‌آوری شده و میزان آنزیم‌های LDH وCKMB موجود در آن با استفاده از کیت‌های اختصاصی و آماده (شرکت پارس آزمون) و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور اندازه‌گیری شدند. داده‌های مربوط به مقدار آنزیم‌ها به‌صورت انحراف‌معیار±میانگین گزارش شده‌اند و ارزیابی آماری با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی توکی انجام شد. p<۰/۰۵، از نظر آماری معنی‌دار درنظر گرفته شد.



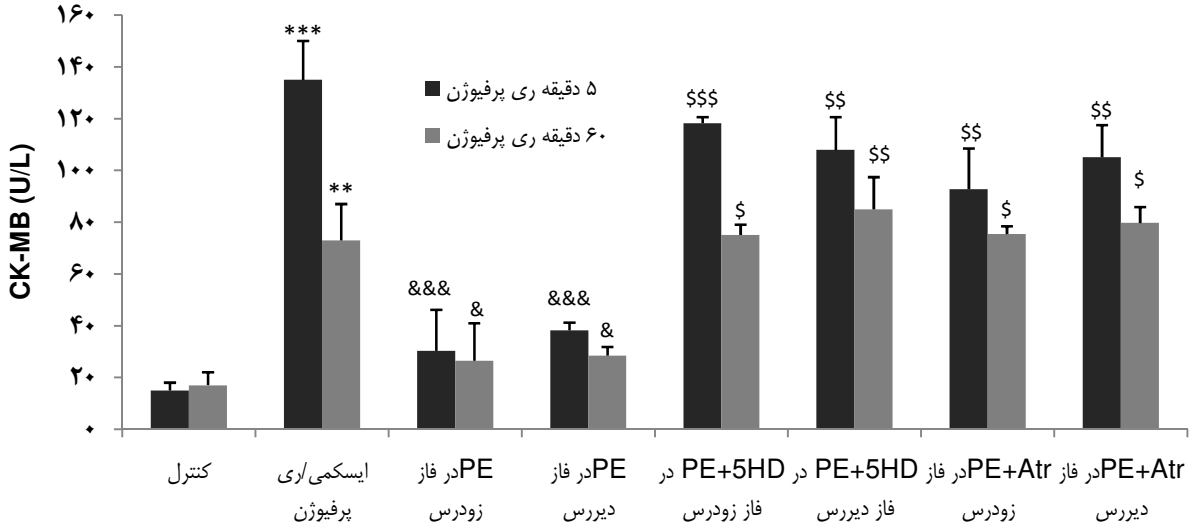
نمودار۱) مقادیر آنزیم LDH در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در گروه‌های مورد بررسی.

مقادیر به‌صورت انحراف‌معیار±میانگین نشان داده شده‌اند.

***(p<۰/۰۰۱): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.

&& (p<۰/۰۱)، &&&(p<۰/۰۰۱): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه I/R.

$$ (p<۰/۰۱)، $ (p<۰/۰۵): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه های فنیل‌افرین زودرس و دیررس.



نمودار۲) مقادیر آنزیم CKMB در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در گروه‌های مورد بررسی.

مقادیر به‌صورت انحراف‌معیار±میانگین نشان داده شده‌اند.

(p<۰/۰۱)، *(p<۰/۰۰۱): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.

& (p<۰/۰۵)، &&& (p<۰/۰۰۱): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه I/R.

$ (p<۰/۰۵)،$$ (p<۰/۰۱)، $$$ (p<۰/۰۰۱): وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه‌های فنیل‌افرین زودرس و دیررس.

نتایج

نمودارهای ۱ و ۲، تغییرات آنزیم‌های قلبی CKMB و LDH را در گروه‌های مورد مطالعه در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد نشان می‌دهند. میانگین مقدار LDH (واحد در لیتر IU/L) به‌ترتیب در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در گروه کنترل برابر با ۱۴۷±۲۴ و ۸۹±۲۱ و در گروه IR برابر با ۴۵۳±۴۶ و ۳۳۵±۲۶ بود. مقدار آنزیم CKMB (واحد در لیترIU/L) در گروه کنترل به‌ترتیب ۱۵±۳ و ۱۷±۵ و در گروه I/R برابر با ۱۳۵±۱۵ و ۷۳±۱۴ بود. نتایج بالا نشان داد که القای ایسکمی موضعی و پرفیوژن مجدد در گروه I/R به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح آنزیم‌های قلبی شده است.

استفاده از فنیل‌افرین در فاز زودرس در گروه PE سبب کاهش معنی‌دار LDH (۱۷۰±۶۱ و ۱۳۰±۳۲) و CKMB (۳۰/۳±۱۵/۸ و ۲۶/۴±۱۴/۵) به‌ترتیب در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در مقایسه با گروه I/R شد. در مقایسه با گروه PE در فاز زودرس، به‌کاربردن 5HD در گروه PE +5HD در فاز زودرس، سبب حذف اثر کاهندگی فنیل‌افرین بر آنزیم‌های مذکور شده و مقدار LDH (۴۳۰±۱۳ و ۳۱۰±۱۷) و CKMB (۱۱۸/۲±۲/۴ و ۷۵/۱±۳/۹) را به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. همچنین استفاده از Atr در گروه PE + Atr فاز زودرس، باعث شد مقادیر LDH (۴۶۰±۸۳ و ۳۲۰±۳۹) و CKMB (۹۲/۷±۱۵/۸ و ۷۵/۴±۳) به سطح گروه I/R بازگشته و مقادیر آنها در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه PE در فاز زودرس افزایش یابد.

به‌کاربردن فنیل‌افرین در فاز دیررس در گروه PE سبب کاهش معنی‌دار LDH (۱۸۰±۲۲ و ۱۲۰±۱۸) و CKMB (۳۸/۲±۳ و ۲۸/۵±۳/۳) به‌ترتیب در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در مقایسه با گروه I/R شد. استفاده از 5HD در گروه PE -5HD فاز دیررس، باعث شد به‌طور معنی‌داری مقدار LDH (۴۰۰±۸۲ و ۳۰۰±۴۱) و CKMB (۱۰۷/۹±۱۲/۷ و ۸۵±۱۲/۴) به‌ترتیب در دقایق ۵ و ۶۰ پرفیوژن مجدد در مقایسه با گروه PE فاز دیررس، افزیش یافته و تفاوتی با گروه IR نداشته باشد. بنابراین 5HD نیز اثر فنیل‌افرین را در فاز دیررس خنثی کرده و سبب بازگشت مقادیر LDH و CKMB به سطح گروه I/R شد. به‌کاربردن Atr در گروه pE + Atr فاز دیررس نیز سبب معکوس‌شدن اثر فنیل‌افرین در فاز دیررس بر آنزیم‌های قلبی شده و مقدار LDH (۳۸۰±۸۱ و ۲۹۰±۶۷) و CKMB (۱۰۵/۱±۱۲/۴ و ۷۹/۷±۶/۱) را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه PE فاز دیررس افزایش داد.

بحث

نتایج مطالعه نشان داد که به‌دنبال ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۶۰ دقیقه پرفیوژن مجدد در گروه I/R، مقادیر آنزیم‌های قلبی LDH و CKMB به‌طور چشمگیری در مقایسه با گروه کنترل، افزایش یافته‌اند و پیش‌درمانی با فنیل‌افرین سبب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های مذکور در فازهای زودرس و دیررس شده است. بنابراین مشخص شد که فنیل‌افرین با پیش‌شرط‌سازی، سبب ایجاد حفاظت زودرس و دیررس در قلب ایزوله موش صحرایی شده است. برای بررسی نقش کانال‌های mKATP و منافذ mPTP در اثر حفاظتی ناشی از فنیل‌افرین، کانال‌ها توسط آنتاگونیست اختصاصی5-HD مهار شده و منافذ توسط بازکننده اختصاصی Atr باز نگهداشته شدند. نتایج نشان داد که استفاده از 5-HD یا به‌کاربردن Atr، سبب حذف اثر حفاظتی فنیل‌افرین در هر دو فاز زودرس و دیررس شده و مجددا مقادیر آنزیم‌های LDH و CKMB به سطح گروه I/R برگشته‌اند. بنابراین احتمالا اثر حفاظتی ناشی از تحریک گیرنده‌های α۱- آدرنرژیک توسط فنیل‌افرین در دو فاز زودرس و دیررس، از طریق بازشدن کانال‌های mKATP و بسته‌شدن منافذ mPTP در قلب موش‌صحرایی ایجاد شده است. قبلا نشان داده شده بود که کاتکولامین‌ها می‌توانند از طریق تحریک گیرنده‌ای α۱- آدرنرژیک سبب القای PC در قلب ایزوله شوند [۵]. تحریک گیرنده‌های G- پروتئینی [۳] و نهایتا فعال‌شدن آنزیم پروتئین‌کینازC (PKC)، در ایجاد PC نقش بسزایی دارند [۱۵]. از سوی دیگر گیرنده‌های α۱- آدرنرژیک از نوع G- پروتئینی بوده و می‌توانند در داخل سلول باعث فعال‌شدن PKC شوند [۱۶]. بنابراین به‌نظر می‌رسد که شاید فنیل‌افرین به‌واسطه فعال‌کردن PKC در داخل سلول باعث PC شده باشد. در مطالعه دیگری، استفاده از فنیل‌افرین منجر به کاهش آپوپتوز در میوکارد موش صحرایی شده و این اثر با مهار

گیرنده‌های α۱- آدرنرژیک از بین رفته است [۱۷]. به‌علاوه پیش‌درمانی با فنیل‌افرین در خرگوش‌ها با افزایش پروتئین‌های ضدآپوپتوز سبب کاهش معنی‌دار اندازه انفارکتوس شده است [۱۸]. شاید در این مطالعه، فنیل‌افرین با افزایش پروتئین‌های ضدآپوپتوز، مرگ سلولی را کاهش داده و سبب کاهش آزادشدن آنزیم‌های قلبی به داخل جریان خروجی کرونر شده باشد. از آن‌جا که در فاز دیررس لازم است که پروتئین‌های حفاظتی جدیدی سنتز شود [۱۹]، پس فنیل‌افرین در فاز دیررس سبب سنتز پروتئین‌های جدید شده است. همچنین مشخص شده است که PKC در قلب موش صحرایی سبب فعال‌شدن پروتئین‌کیناز فعال‌کننده میتوژن (MAPKinase) شده و از این طریق با فعال‌کردن فاکتورهای نسخه‌برداری در هسته [۲۰]، موجب سنتز پروتئین‌هایی نظیر آنزیم نیتریک‌اکسایدسنتاز (NOS)، سیکلواکسیژناز (COX)، هم‌اکسیژناز و Bcl-2 می‌شود [۲۱]. بنابراین ممکن است حفاظت دیررس ایجادشده توسط فنیل‌افرین به‌دلیل سنتز چنین پروتئین‌های جدیدی باشد. گرچه در این مطالعه به مکانیزم‌های سلولی که منجر به بازشدن کانال‌های mitoKATP می‌شود، پرداخته نشده، ولی فرضیات زیر را می‌توان درنظرگرفت:

نشان داده شده که فعال‌شدن گیرنده‌های α۱- آدرنرژیک، سبب آزادشدن نیتریک‌اکساید (NO) [۲۲] و فعال‌شدن PKC [۱۶] می‌شود. از طرفی NO [۲۳] و PKC [۲۴] نیز مستقیما کانال‌های mitoKATP را باز می‌کنند. پس شاید فنیل‌افرین به‌واسطه آزادکردن NO یا فعال‌کردن PKC موجب بازشدن کانال‌هایmitoKATP شده باشد. از طرف دیگر، تحریک گیرنده α1- آدرنرژیک توانسته است با تحریک بیان ژنی آنزیم نیتریک‌اکسایدسنتاز القایی (iNOS) باعث افزایش تولید NO شده و حفاظت دیررس در قلب موش سوری ایجاد کند [۲۰]. مشخص شده است که بازشدن کانال‌هایmKATP با مهار تجمع کلسیم در میتوکندری‌ها می‌تواند با کاهش آزادشدن سیتوکرومC و برخی فاکتورهای ایجادکننده آپوپتوز، سبب حفاظت شود [۲۵]. همچنین بازشدن این کانال‌ها منجر به تنظیم حجم و اندازه میتوکندری‌ها شده و از این طریق با حفظ ساختمان و عملکرد میتوکندری، مصرف ATP را توسط آنزیم F1F0-ATPase موجود در غشای داخلی میتوکندری در شرایط ایسکمی کاهش می‌دهد و با حفظ انرژی باعث افزایش بقا در میوسیت‌های قلبی می‌شود [۲۶]. استرس اکسیداتیو، خالی‌بودن ماتریکس میتوکندری از نوکلئوتیدهای آدنین‌دار، افزایش غلظت فسفات‌ها در ماتریکس و دپولاریزاسیون غشای داخلی میتوکندری از عواملی هستند که با تغییردادن حساسیت mPTP به کلسیم سبب بازشدن این منافذ می‌شوند. از آن‌جا که چنین شرایطی در طی پرفیوژن مجدد به‌وجود می‌آید، این فرضیه مطرح است که mPTP فقط در طی فاز پرفیوژن مجدد باز می‌شود [۶]. نشان داده شده که بازشدن کانال‌های mKATP و فعال‌شدن PKC سبب بسته‌شدن منافذ mPTP می‌شود [۲۷]. با استناد به مطالب ذکرشده، به‌نظر می‌رسد که شاید فنیل‌افرین با دخالت PKC و نیز بازکردن کانال‌های mKATP و به‌دنبال آن کاهش کلسیم، منافذ mPTP را مهار کرده باشد. اخیرا مشخص شده که کانکسین-۴۳ موجود در ساختمان اتصالات شکافی، در میوسیت‌های قلبی سبب مهار منافذ mPTP شده و در شکل‌گیری اثر حفاظتی ناشی از پیش‌شرطی‌شدن، نقش دارد [۲۷]. همچنین فنیل‌افرین می‌تواند سبب افزایش بیان ژن کانکسین- ۴۳ در قلب شود [۲۸]. بنابراین، می‌توان گفت که احتمالا فنیل‌افرین در طی فاز دیررس با تحریک بیان ژنی کانکسین-۴۳ و سنتز این پروتئین سبب مهار منافذ mPTP شده است.

نتیجه‌گیری

مصرف فنیل‌افرین به‌ترتیب، ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت قبل از ایسکمی/پرفیوژن مجدد موضعی، سبب کاهش آنزیم های قلبی LDH و CKMB می‌شود که نشانگر ایجاد حفاظت زودرس و دیررس در قلب است. مصرف 5-HD و Atr اثر کاهندگی فنیل‌افرین بر آنزیم‌های قلبی را در هر دو فاز زودرس و دیررس کاهش داده و این امر نشان‌دهنده نقش احتمالی بازشدن کانال‌های mKATP و بسته‌شدن منافذ mPTP در اثر حفاظتی ناشی از فنیل‌افرین است.

منابع

1- Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury: A clinical view

on a complex pathophysiological process. Inter J Cardiol. 2005;100:179-90.
2- Sommerschild HT, Kirkeboen KA. Preconditioning-endogenous defense mechanisms of the heart. Acta Anaesth Scand. 2002;46(2):123-37.
3- Zaugg1 M, Lucchinetti E, Uecker M, PaschT, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning: Signalling and cytoprotective mechanisms. Br J Anaesth. 2003;91(4):551-65.
4- Imani A, Faghihi M, Sadr SS, Keshavarz M, Niaraki SS. Noradrenaline reduces ischemia-induced arrhythmia in anesthetized rats: Involvement of alpha1-adrenoceptors and mitochondrial KATP channels. J Cardiovasc Electrophysiol. 2008;19(3):309-15.
5- Ravingerova T, Pancza D, Ziegelhoffer A, Styk J. Preconditioning modulates susceptibility to ischemia-induced arrhythmias in the rat heart: The role of alpha-adrenergic stimulation and K (ATP) channels. Physiol Res. 2002;51(2):109-19.
6- Lisa FD, Bernardi P. Mitochondria and ischemia-reperfusion injury of the heart: Fixing a hole. Cardiovas Res. 2006;70:191-9.
7- Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: Novel effectors of cardioprotection? Circulation. 1998;97:2463-9.
8- Baines CP, Song CX, Zheng YT, Wang GW, Zhang J, Wang OL, et al. Protein kinase C interacts with and inhibits the permeability transition pore in cardiac mitochondria. Circ Res. 2003;92:873-80.
9- Garlid K, Dos Santos P, Xie ZJ, Costa A, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: The role of mitochondrial ATP-sensitive K+ channel in cardiac function and cardioprotection. Biochem Biophys Acta. 2003;1606:1-21.
10- Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: A new paradigm for myocardial preconditioning? Cardiovasc Res. 2002;55:534-43.
11- Wang S, Cone J, Liu Y. Dual roles of mitochondrial KATP channels in diazoxide-mediated protection in isolated rabbit hearts. Am J Physiol. 2001;280:246-55.
12- He L, Lemasters JJ. Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: A new paradigm of pore structure and function? Febs Lett. 2002;512:1-7.
13- Sharma A, Singh M. Protein kinase C activation and cardioprotective effect of preconditioning with oxidative stress in isolated rat heart. Mol Cell Biochem. 2001;219:1-6.
14- Buyukates M, Kalaycioglu S, Oz E, Soncul HJ. Effects of ischemic preconditioning in human heart. Card Surg. 2005;20:241-5.
15- Cross HR, Murphy E, Bolli R, Ping P, Steenbergen C. Expression of activated PKC protects the ischemic heart without attenuating ischemic H+ production. J Mol Cell Cardiol. 2002;34:361-7.
16- Garcia-Sainz JA, Vazquez-Prado J, Medina LC. α1-adrenoceptors: Function and phosphorylation. Eur J Pharmacol. 2000;398:1-12.
17- Iwai-Kanai E, Hasegawa K, Araki M. α- and β-adrenergic pathways differentially regulate cell type-specific apoptosis in rat cardiac myocytes. Circulation. 1999;100:305-11.
18- Baghelai K, Graham LJ, Wechsler AS. Delayed myocardial preconditioning by α1-adrenoceptors involves inhibition of apoptosis. J Thorac Cardiovasc Surg. 1999;117:980-6.
19- Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: From cellular physiology to clinical cardiology. Physiol Rev. 2003;83(4):1113-51.
20- Tejero-Taldo MI, Gursoy E, Zhao TC, Kukreja RC. Alpha-adrenergic receptor stimulation produces late preconditioning through inducible nitric oxide synthase in mouse heart. J Mol Cell Cardiol. 2002:34(2):185-95.
21- Stein AB, Tang XL, Guo Y, Xuan YT, Dawn B, Bolli R. Delayed adaptation of the heart to stress: Late preconditioning. Stroke. 2004;35(1):2676-9.
22- Node K, Kitakaze M, Kosaka H, Komamura K, Minamino T, Tada M, et al. Roles of alpha 1-adrenoceptor activity in the release of nitric oxide during ischemia of the canine heart. Biochem Biophys Res Commun. 1995;212:1133-8.
23- Sasakin N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marban E. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. Circulation. 2000;101:439-45.
24- Wang Y, Hirai K, Ashraf M. Activation of mitochondrial ATP-sensitive K channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity. Circ Res. 1999;85:731-41.
25- Murata M, Akao M, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP sensitive potassium channels attenuate matrix Ca2+ overload during simulated ischemia and reperfusion: Possible mechanism of cardioprotection. Circ Res. 2001;89:891-8.
26- Korge P, Honda HM, Weiss JN. Protection of cardiac mitochondria by diazoxide and protein kinase C: Implications for ischemic preconditioning. Proc Natl Acad Sci. 2002;99:3312-7.
27- Halestrap AP, Clarke SJ, Khaliulin I. The role of mitochondria in protection of the heart by preconditioning. Biochim Biophys Acta. 2007;1767(8):1007-31.
28- Rojas Gomez DM, Schulte JS, Mohr FW, Dhein S. Alpha 1-adrenoceptor subtype selective regulation of connexin 43 expression in rat cardiomyocytes. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2008;377(1):77-85.

Kowsar Medical Journal
Volume 14, Issue 4, Winter 2010
Page: 32

Effect of pre-treatment with phenylephrine on cardiac enzymes in regional ischemia/reperfusion in the isolated rat heart

Imani A.[1] *PhD*, Naderi R.[1] *MSc*, Faghihi M.[*] *PhD*

Abstract

Aims. Although reperfusion is a valuable method for the survival of ischemic heart, it has additional deleterious effects. The aim of this study was to evaluate the preconditioning effect of phenylephrine on ischemia/reperfusion (I/R) injury and to assess the role of mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels (mitoKATP) and permeability transition pore (mPTP) in rat heart.

Materials & Methods. Anesthetized rat heart was isolated and perfused with Krebs buffer in Langendorff apparatus. In control group, only the surgery procedure was performed. In second group, 30 minutes of regional ischemia followed by 60 minutes of reperfusion. In third group, phenylephrine was perfused 10 min before I/R. Forth an fifth groups were like third but respectively received 5-HD (100 µmol/l) and Atr (20 mmol/l). In sixth group, phenylephrine was injected intraperitoneally 24 hours before I/R. Seventh an eighth groups were like sixth but respectively received 5-HD and Atr.

Results. Performing I/R cause the level of LDH (lactate dehydrogenase) and CKMB (creatine kinase-MB) heart enzymes to increase in the coronary effluent collected in 5 and 60 minutes of reperfusion. Preconditioning with phenylephrine reduced the enzyme level and using 5-HD and Atr abolished the effect of phenylephrine.

Conclusion. Phenylephrine preconditioning induces early and late cardioprotection via opening of mitoKATP channel and inhibition of mPTP in the isolated rat hearts.

Keywords: Ischemia/Reperfusion, Phenylephrine, Lactate Dehydrogenase, Creatine Kinase, Mitochondrium

Submission Date: 30/9/2009, Acceptation Date: 5/4/2010

* Correspondence address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran faghihim@sina.tums.ac.ir
1 Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran