

اثر پیش شرط سازی با هایپراکسی نورموباریک بر صدمه بافتی، عملکرد مکانیکی و بی نظمی های حاصل از ایسکمی-جریان مجدد

در قلب ایزوله موش بزرگ آزمایشگاهی وابسته به مورفین

رهام مظلوم^۱، سهراب حاجی زاده^۲، سعید سمنایان^۳، خلیل پورخلیلی^۴، غلامرضا بیات^۵،

فیروزه علویان^۶، فاطمه صفری^۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۸/۱۱

چکیده

هدف: هایپراکسی پیش شرط سازی است که به دلیل دسترسی آسان در بالین مورد توجه محققین قرار گرفته است. وابستگی به مورفین به عنوان یک عامل پیش شرط ساز شناخته شده است. با توجه به گستردگی پدیده اعتیاد به مواد مخدر و استفاده از هایپراکسی در بالین احتمال تداخل اثر این دو عامل بر صدمات ناشی از ایسکمی-جریان مجدد قلبی بسیار زیاد است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی همزمان این دو عامل پیش شرط ساز بر صدمات ناشی از ایسکمی-جریان مجدد در قلب است. **روش:** در هفت گروه ۱۰ تایی از موش های بزرگ، قلب حیوانات در دستگاه لانگندورف ایزوله شد و پس از ایجاد سکنه منطقه ای، میزان رهائش آنزیم کراتین فسفوکیناز برای تعیین صدمه بافتی، حاصل ضربان-فشار برای ارزیابی عملکرد مکانیکی و تعداد دوره های تکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی برای تعیین بی نظمی های ناشی از ایسکمی-جریان مجدد قلبی مورد بررسی قرار گرفت. **یافته ها:** هایپراکسی نورموباریک در قلب ایزوله موش بزرگ وابسته به مورفین موجب کاهش رهائش کراتین فسفوکیناز و افزایش عملکرد مکانیکی در دوره جریان مجدد شد، ولی کاهش معناداری در بی نظمی ها نسبت به هر کدام از این عوامل پیش شرط ساز مشاهده نشد. **نتیجه گیری:** پیش شرط سازی با هایپراکسی نورموباریک در قلب ایزوله موش بزرگ وابسته به مورفین موجب کاهش صدمه بافتی و بهبود عملکرد قلبی شد.

کلیدواژه ها: پیش شرط سازی، ایسکمی-جریان مجدد، هایپراکسی نورموباریک، وابستگی به مورفین

۱. نویسنده مسئول: دانشجوی دکترا تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس. پست الکترونیک:

rohammazloom@hotmail.com

۲. استاد دانشگاه تربیت مدرس و پژوهشکده علوم شناختی

۳. استاد دانشگاه تربیت مدرس

۴. استادیار دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

۵. دکتری تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۶. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۷. استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

مقدمه

عوارض انفارکتوس حاد قلبی صدماتی است که بر اثر ایسکمی و جریان مجدد پس از آن، در عملکرد قلب ایجاد می شود. آپوتوز و نکروز میوکارد (کلونر و جنینگز^۱، ۲۰۰۱)، افت عملکرد مکانیکی قلب (یلون و داوونی^۲، ۲۰۰۳) و وقوع بی نظمی^۳ های مختلف همانند تکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی (میننگ و هیرس^۴، ۱۹۸۴) از جمله صدمات بافتی حاصل از ایسکمی-جریان مجددند. یکی از روش های قوی برای محافظت از قلب در برابر آسیب های ایسکمی-جریان مجدد تجربی پیش شرط سازی ایسکمیک^۵ قلب است، به این مفهوم که اعمال دوره های کوتاه ایسکمی و جریان مجدد قبل از القاء یک دوره ایسکمی طولانی مدت، سبب کاهش صدمات ناشی از ایسکمی و جریان مجدد بعدی می شود (موری، ریچارد، ریمر و جنینگز^۶، ۱۹۹۰؛ الخولیفی^۷ و همکاران، ۱۹۹۶؛ یلون و داوونی، ۲۰۰۳).

تاکنون روش های پیش شرط سازهای مختلفی از زمان ابداع آن شناخته شده اند که قبل از دوره ایسکمی طولانی مورد استفاده قرار می گیرند. پیش شرط سازهای دمایی، پیش شرط سازهای فارماکولوژیک و پیش شرط سازی با هایپوکسی از جمله انواع مختلف پیش شرط سازی های قلب هستند (یلون و داوونی، ۲۰۰۳).

یکی از این پیش شرط سازها که به تازگی برای افزایش مقاومت بافت ها در برابر ایسکمی^۸ مورد استفاده قرار گرفته اکسیژن هایپراریک و نورموباریک است که استفاده از آن مدت ها قبل در کلینیک مورد توجه بوده است (چوی^۹ و همکاران، ۲۰۰۶). اما استفاده از اکسیژن به عنوان یک عامل پیش شرط ساز بافتی برای ارتقاء مقاومت بافت ها، پدیده جدیدی است که توجه محققین بسیاری را به خود جلب کرده است و بحث در مورد چگونگی روش استفاده مطلوب از آن همچنان ادامه دارد (تیپولد^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۱؛

1. Kloner & Jennings

3. arrhythmia

5 ischemic preconditioning

7. Alkhulaifi

9. Choi

2. Yellon & Downey

4. Manning & Hearse

6. Murray, Richard, Reimer & Jennings

8. ischemic tolerance

10. Tahepold

چوی و همکاران، ۲۰۰۶؛ بیگدلی و همکاران، ۲۰۰۸؛ پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹؛ و کارو^۱ و همکاران، ۲۰۱۰). از سوی دیگر، اکثر مطالعات صورت گرفته در ارتباط با اثرات مفید پیش شرط‌سازی بر روی قلب حیوانات سالم انجام گرفته است و اطلاعات کمی درباره کارایی کاربرد پیش شرط‌سازی در شرایط پاتولوژیک و یا همراه با عوامل پیش شرطی سازهای دیگر وجود دارد.

یکی دیگر از روش‌های پیش شرط‌سازی که به تازگی مطرح شده است، وابستگی به مورفین^۲ است که پژوهش بر روی آن در مراحل آغازین است و همچنان ادامه دارد (پیرت^۳ و همکاران، ۲۰۰۵). پدیده اعتیاد و وابستگی به موادمخدر از جمله عواملی است که خود به تنهایی با توجه به نتایج و پیامدهای روانشناختی و اجتماعی به عنوان یک عامل آسیب‌زا شناخته شده است. مورفین به عنوان یک آگونیست عمومی گیرنده‌های اپیوئیدی استفاده گسترده‌ای برای تسکین درد در بالین دارد و در موارد بسیاری مورد سوء مصرف قرار می‌گیرد (لیشمانوف^۴ و همکاران، ۲۰۰۸). همین مسئله احتمال تداخل آن با عوامل فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک را افزایش می‌دهد. از سوی دیگر مشاهده اثرات محافظتی وابستگی به مورفین در برابر آسیب‌های ایسکمی-جریان مجدد و مسیر پیام‌رسانی داخل سلولی متفاوت آن نسبت به پیش شرط‌سازهای دیگر (پیرت و گراس^۵، ۲۰۰۶) زمینه خاصی را برای پژوهش جدید ایجاد می‌کند.

با توجه به مورد بحث بودن هر کدام از این دو عامل و همین‌طور سؤال برانگیز بودن اثر آنها بر یکدیگر و احتمال تداخل آنها در بالین، اثر هر کدام از این دو پیش شرط‌ساز به‌طور جداگانه و تأثیر هر دو عامل به‌طور هم‌زمان بر صدمه بافتی، بی‌نظمی‌ها و فعالیت مکانیکی حاصل از ایسکمی-جریان مجدد در این پژوهش مورد بررسی قرار می‌گیرد.

روش

جامعه، نمونه و روش نمونه گیری

در این پژوهش از موش های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ الی ۳۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از موسسه رازی تهیه شدند و بعد از انتقال به لانه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس در شرایط استاندارد آب و غذایی و دمای حدود ۲۵ درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری می شدند.

در این پژوهش اثرات هم زمان هایپراکسی ($\geq 95\%$)، ۱- اتمسفر) و وابستگی به مورفین روی آسیب ناشی از ایسکمی- جریان مجدد در قلب ایزوله موش های صحرایی نر در هفت گروه ده تایی مورد بررسی قرار گرفت. قلب حیواناتی که در پایان ۲۰ دقیقه ابتدایی پس از ایزوله شدن دچار بی نظمی واضحی نبود و اختلاف فشار بین فشار سیستولیک و دیاستولیک بیشتر از ۶۰ میلی متر جیوه بود در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. گروه بندی انجام شده در این مطالعه به این شرح است: ۱- کنترل نرمال (C)، که از هوای معمولی (اکسیژن ۲۱ درصد) استفاده می کردند؛ ۲- هایپراکسی (H)، که به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب در معرض هایپراکسی قرار گرفتند؛ ۳- سالین (S)، که طبق پروتوکل وابستگی سالین تزریق شد؛ ۴- وابسته ۱ (M1)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی، برای تغذیه قلب از بافر کربس-هنسلیت خالص استفاده شد؛ ۵- وابسته ۲ (M2)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی، برای تغذیه قلب از بافر کربس-هنسلیت دارای غلظت پایه مورفین سولفات ($5 \mu\text{mol}$ در یک لیتر بافر) استفاده شد؛ ۶- هایپراکسی + سالین (H+S)، که طبق پروتوکل وابستگی سالین تزریق شد و بعد از آخرین تزریق، هایپراکسی به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب اعمال شد؛ در نهایت ۷- هایپراکسی + وابسته (H+M)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی و بعد از آخرین تزریق، به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب در معرض هایپراکسی قرار گرفتند.

برای بررسی اثرات پیش شرط‌سازی با هایپراکسی بلافاصله بعد از درمان با هایپراکسی (به مدت ۱۸۰ دقیقه در مخزن هایپراکسی)، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن^۱ در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت، در حالی که حیوانات گروه‌های کنترل نیز در همان محفظه قرار گرفته ولی از هوای معمولی اتاق (اکسیژن ۲۱٪) استنشاق می‌کردند. برای اندازه‌گیری درصد اکسیژن داخل محفظه نیز از یک دستگاه سنجش درصد اکسیژن لوترون^۲ استفاده شد که پروب دستگاه در داخل محفظه قرار می‌گرفت (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹). برای بررسی اثرات پیش شرط‌سازی با وابستگی به مورفین از سولفات مورفین^۳ که از شرکت "تماد" (تهیه مواد اولیه داروپخش) تهیه شد استفاده شد. پس از آخرین تزریق برای القای وابستگی (تزریق ۱۰ میلی گرم مورفین سولفات به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دو بار در روز، به صورت زیر جلدی^۴، به مدت ۱۰ روز (فن^۵ و همکاران، ۱۹۹۹)، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت. برای بررسی اثرات پیش شرط‌سازی با هایپراکسی نورموباریک پس از آخرین تزریق مورفین، حیوان به مدت ۱۸۰ دقیقه در مخزن هایپراکسی قرار می‌گرفت و بلافاصله بعد از درمان با هایپراکسی، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت.

۶۹

69

سال ششم، شماره ۳۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

روند جراحی حیوانات پس از انجام تیمار به این صورت انجام پذیرفت: در ابتدا حیوانات توسط تیوپنتال سدیم (۶۰ mg/kg، داخل صفاقی) بی‌هوش و برای جلوگیری از انعقاد خون ۴۰۰ الی ۵۰۰ واحد هپارین در داخل ورید دمی تزریق می‌شد. سپس قفسه سینه حیوان شکافته می‌شد به طوری که قلب آشکار شده و آماده لوله‌گذاری می‌شد. برای جلوگیری از تخلیه مواد انرژی‌زای قلب، بر روی آن محلول کربس سرد ۴ درجه ریخته تا

1. perfusion
2. Lutron-DO 5510, Taiwan
3. morphine sulfate
4. sub-cutaneous
5. Fan

از ضربان بیفتند. سپس یک نخ سیلک ۵ صفر از زیر شریان کرونر قدامی چپ^۱، ۲ تا ۳ میلیمتر پایین تر از مبدا آن، در جدار بطن چپ عبور داده می شد و در محل قرار می گرفت تا برای القاء ایسکمی ناحیه ای^۲ در زمان ایسکمی مورد استفاده قرار گیرد. سپس آئورت لوله گذاری شده و قلب از بافت های اطراف جدا می شد و برای برقراری پرفیوژن با بافر کربس-هنسلیت (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹) که تمام مواد آن از شرکت مرک^۳ تهیه گردید، با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به دستگاه لانگندورف متصل می شد. بافر کربس-هنسلیت به طور دائم توسط گاز کربوژن (۹۵٪ اکسیژن + ۵٪ دی اکسید کربن) هوادهی شده و pH آن نیز در ۷/۴ تنظیم می شد. ۲۰ دقیقه بعد از به تعادل رسیدن عملکرد قلب پس از قرار گیری در دستگاه لانگندورف، ایسکمی ناحیه ای به مدت ۳۰ دقیقه با بستن شریان کرونر نزولی قدامی چپ و به دنبال آن ۲ ساعت عمل جریان مجدد با باز کردن شریان ذکر شده انجام می شد (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹).

میزان آنزیم کراتین فسفوکیناز^۴ در داخل مایع خروجی کرونر^۵ به عنوان شاخصی از آسیب بافت قلبی تحت بررسی قرار گرفت. برای این کار از مایع خروجی کرونری در دقایق ۱، ۲۰، ۶۰ و ۱۲۰ جریان مجدد نمونه گیری و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد فریز و نگهداری شد. اندازه گیری این آنزیم به وسیله کیت تهیه شده از شرکت "پارس آزمون" و به کمک دستگاه اتوآنالایزر تکنیکون^۶ انجام شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد در لیتر و به صورت میانگین چهار زمان مذکور بیان شد.

برای بررسی فعالیت مکانیکی قلب از محصول ضربان-فشار^۷ بر حسب mmHg.beats/min استفاده شد. این شاخص که معرف فعالیت مکانیکی قلب است از طریق حاصل ضرب تعداد ضربان قلب^۸ در فشار کلی ایجاد شده توسط بطن چپ^۹ به دست می آید ($RPP = HR \times LVDP$). فشار کلی ایجاد شده توسط بطن چپ از اختلاف فشار

1. left anterior descending coronary artery
3. Merck
5. coronary effluent
7. rate pressure product
9. left ventricular developed pressure

2. regional (local) ischemia
4. creatine phosphokinase
6. TECHNICON RA-1000
8. heart rate

سیستولیک و دیاستولیک که از طریق بالن داخل بطن چپ به دست می‌آید مورد محاسبه قرار گرفت. میانگین حد اکثر و حد اقل موج فشار در زمان‌های تعیین شده به عنوان فشار سیستولیک و دیاستولیک در نظر گرفته شد (پیرت و گراس، ۲۰۰۶).

فعالیت الکتریکی قلب برای آنالیز بی‌نظمی‌های مختلف قلبی، از طریق اتصال سه الکتروود صورت پذیرفت که دو الکتروود فلزی به قلب (یکی بر روی نوک قلب^۱ و دیگری بر روی دهلیز راست (گره سینوسی-دهلیزی) قرار می‌گرفت) و یک الکتروود به عنوان مرجع در نظر گرفته و موج الکتریکی به دست آمده ثبت شد. برای بررسی بی‌نظمی‌ها از شاخص تعداد دوره^۲های تاکیکاردی بطنی^۳ و فیبریلاسیون بطنی^۴ در دوره‌های ایسکمی و جریان مجدد استفاده شد. فعالیت الکتریکی و مکانیکی قلب با استفاده از دستگاه Power lab مدل ۴/۳۰ به کامپیوتر منتقل و ذخیره می‌شد.

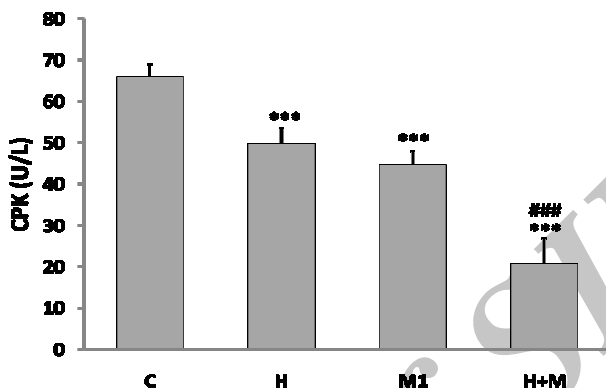
اطلاعات به دست آمده برای میزان رهائش آنزیم، فعالیت مکانیکی قلب و تعداد بی‌نظمی‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین بیان شد. برای آنالیز آماری میزان رهائش آنزیم‌ها و تعداد بی‌نظمی‌ها از تحلیل واریانس یک‌راهه و در صورت معنی دار بودن اختلاف از آزمون توکی استفاده شد. برای آنالیز آماری محصول ضربان-فشار قلب از طرح اندازه‌گیری مکرر^۵ استفاده شد.

یافته‌ها

در آزمایش‌های انجام شده بین گروه‌های C و S تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و به این دلیل برای مقایسه با گروه‌های دیگر از گروه C استفاده شد. چون بین گروه‌های M1 و M2 و همین‌طور بین گروه‌های H و H+S نیز تفاوت معنی‌داری دیده نشد به ترتیب گروه‌های M1 و H برای مقایسه نسبت به گروه‌های دیگر استفاده شد.

1. apex
2. episode number
3. ventricular tachycardia
4. ventricular fibrillation
5. repeated measure

میزان رهایش آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK-MB) قلبی

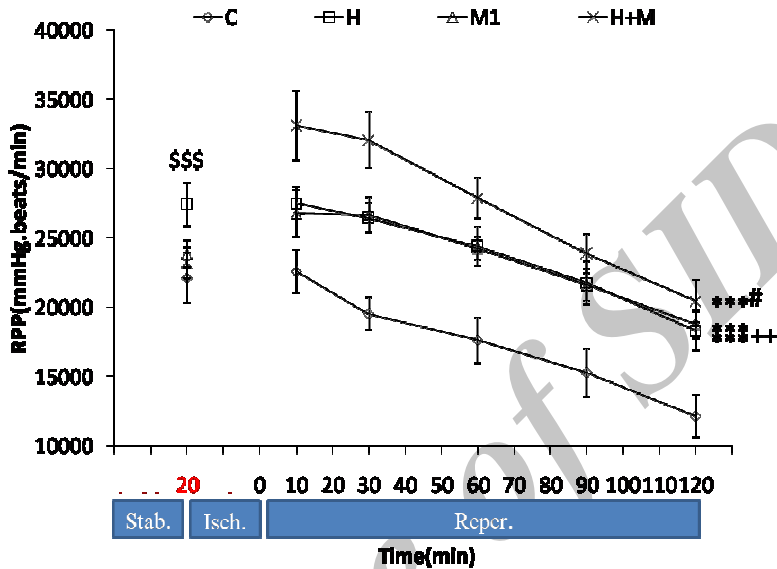


نمودار ۱: میزان رهایش آنزیم CPK-MB به داخل مایع خروجی کروئری. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل می باشد. ### نشان دهنده $P < 0.001$ بین گروه های پیش شرط سازی شده است. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه هایپراکسی + وابسته.

نمودار ۱ میزان رهایش آنزیم CPK-MB از قلب در طول ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد به داخل مایع خروجی کروئری را نشان می دهد. در گروه C مقدار CPK-MB آزاد شده در مایع خروجی کروئری 65 ± 3 واحد در لیتر (U/L) بود. در گروه H این مقدار به 50 ± 3 واحد در لیتر کاهش یافت که این تفاوت معنی دار بود ($P < 0.001$). در گروه M1 این مقدار به 45 ± 3 واحد در لیتر و در گروه H+M به 21 ± 6 واحد در لیتر کاهش یافت که این کاهش ها نسبت به گروه کنترل نورموکسی تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0.001$). در مقایسه بین چهار گروه، بین دو گروه H و M1 در میزان رهایش CPK-MB تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ولی بین گروه H+M با دو گروه پیش شرط سازی شده اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.001$ مشهود بود. بیشترین کاهش رهایش CPK-MB در گروه H+M دیده شد.

این اطلاعات نشان داد که میزان آسیب بافتی در گروه H+M نسبت به گروه های بدون تیمار و تحت تیمار کاهش معنی داری داشت.

محصول ضربان-فشار



نمودار ۲: حاصل ضربان-فشار در طول انجام آزمایش. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0.001$ نسبت به گروه C در دوره جریان مجدد است. # نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0.05$ بین گروه H+M با گروه M1 در زمان جریان مجدد است. \$\$\$ نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0.001$ بین گروه H نسبت به سه گروه دیگر در دقیقه ۲۰ تثبیت می‌باشد. ++ نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0.01$ بین گروه H+M با گروه H در دوره جریان مجدد است. Stab.: دوره تثبیت، Isch.: دوره ایسکمی، Reper.: دوره جریان مجدد، C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین، H+M: گروه هایپراکسی + وابسته. در دوره ایسکمی و ۱۰ دقیقه ابتدائی جریان مجدد به دلیل وقوع بی‌نظمی‌های شدید ضربان و فشار قابل تشخیص نیست و لذا حاصل ضربان-فشار در این زمان‌ها قابل محاسبه نیست.

حاصل ضربان-فشار در طی جریان مجدد به طور تدریجی کاهش می‌یابد (نمودار ۲). حاصل ضربان-فشار در دقیقه ۲۰ دوره تثبیت تفاوت معنی‌داری بین گروه H با سه گروه دیگر نشان می‌دهد ($P < 0.001$). بین سه گروه دیگر (گروه‌های غیر از گروه H) در این زمان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

در گروه C و همین طور گروه H تفاوت معنی داری بین دقیقه ۲۰ تثبیت نسبت به دقیقه ۱۰ جریان مجدد دیده نشد. کاهش معناداری بین دقیقه ۱۲۰ جریان مجدد نسبت به دقیقه ۲۰ تثبیت برای گروه C وجود داشت (۴۵٪ کاهش، $P < 0/001$). همانند گروه C، در گروه H نیز بین دقیقه ۱۲۰ جریان مجدد نسبت به دقیقه ۲۰ تثبیت کاهش معناداری مشاهده گردید (۳۳٪ کاهش، $P < 0/001$).

حاصل ضربان-فشار در تمام زمان های جریان مجدد بین دو گروه C و گروه H تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0/001$).

در گروه M1، بین دقیقه ۲۰ تثبیت با دقایق ۱۰ و ۱۲۰ جریان مجدد به ترتیب ۱۲٪ افزایش و ۲۱٪ کاهش دیده شد که هر دو اختلاف در سطح $P < 0/001$ معنی دار بود.

در گروه H+M بین دقایق ۲۰ تثبیت با ۱۰ و ۱۲۰ جریان مجدد به ترتیب افزایش ۴۲٪ و کاهش ۱۸٪ وجود داشت که در هر دو تفاوت معنی دار در سطح $P < 0/001$ مشهود بود.

مقدار عددی حاصل ضربان-فشار در زمان های مشخص جریان مجدد در گروه M1 با گروه H+M در سطح $P < 0/05$ تفاوت معنی دار داشت و بین گروه H+M با H تفاوت در سطح $P < 0/01$ معنی دار بود.

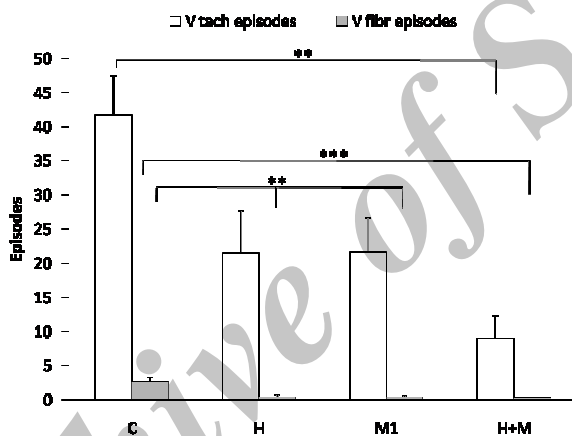
در دوره جریان مجدد بین گروه M1 با H تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۲). این اطلاعات نشان داد که حاصل ضربان-فشار در دوره جریان مجدد در گروه H+M نسبت به گروه های بدون تیمار و تحت تیمار افزایش معنا داری داشته است.

تعداد بی نظمی ها در زمان ایسکمی و جریان مجدد:

تعداد دوره های تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی در دوره ایسکمی در شکل ۳ نشان داده شده است.

در خلال ایسکمی، تعداد دوره های VT فقط در گروه H+M ($9 \pm 3/2$) نسبت به گروه های C ($42/2 \pm 5/8$) کاهش معنی داری در سطح $P < 0/01$ را نشان می دهد. بین گروه های دیگر تفاوت معنی داری نسبت به هم دیده نشد (نمودار ۳).

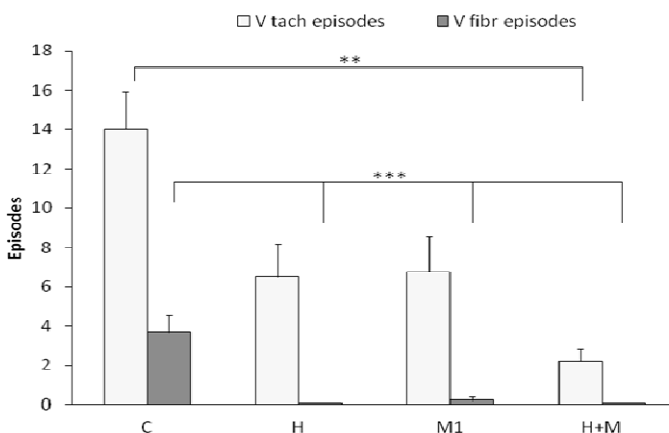
در خلال ایسکمی، در مقایسه تعداد دوره‌های VF بین گروه‌های C و M1 (به ترتیب $۲/۶ \pm ۰/۶$ و $۰/۳۳ \pm ۰/۲۳$) اختلاف معناداری وجود داشت ($P < ۰/۰۱$). گروه‌های H و H+M (به ترتیب با مقادیر $۰/۳۷ \pm ۰/۲۶$ و $۰/۲۲ \pm ۰/۱۴$) تفاوت معنی‌داری در سطح $P < ۰/۰۰۱$ نسبت به گروه C نشان دادند. گرچه گروه H+M نسبت به گروه‌های دیگر کمترین مقدار را در تعداد دوره‌های VF دارا بود ولی بین گروه‌های پیش‌شرط‌سازی شده تفاوت معناداری دیده نشد.



نمودار ۳: تعداد دوره‌های تکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) در دوره ایسکمی. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند. ** نشان دهنده تفاوت در سطح $P < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه C است. *** نشان دهنده تفاوت در سطح $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه C می‌باشد. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه‌های پراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه‌های پراکسی + وابسته.

تعداد دوره‌های VT و همین‌طور VF در دوره جریان مجدد در شکل ۴ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار در تعداد دوره‌های VT بین گروه H+M ($۲/۶ \pm ۰/۶$) با گروه C ($۱۴ \pm ۱/۹$) وجود داشت ($P < ۰/۰۱$) و در دیگر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر دیده نشد (نمودار ۴).

در خلال جریان مجدد، تعداد دوره های VF در گروه C ($3/7 \pm 0/8$) نسبت به گروه های H، M1 و H+M (به ترتیب با مقادیر صفر، $0/22 \pm 0/14$ و صفر) تفاوت معنی داری را در سطح $P < 0/001$ نشان دادند. در گروه های H و H+M دوره VF ایجاد نشد و به صفر رسیده بود. بین سه گروه پیش شرط سازی شده تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۴).



نمودار ۴: تعداد دوره های تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) در دوره جریان مجدد. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. * نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0/01$ در مقایسه با گروه C است. ** نشان دهنده تفاوت در سطح $P < 0/001$ در مقایسه با گروه C می باشد. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین، H+M: گروه هایپراکسی + وابسته.

این یافته ها نشان داد که تعداد دوره بی نظمی ها هم در ایسکمی و هم در دوره جریان مجدد در گروه H+M نسبت به گروه بدون تیمار کاهش معناداری نشان داده است، ولی بین گروه های تحت تیمار (گروه های H، M1 و H+M) اختلاف معناداری وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری

همان طور که پیشتر گفته شد اکثر مطالعات انجام شده در زمینه پیش شرط سازی با هایپراکسی در شرایط طبیعی بوده و درباره اثرات مفید پیش شرط سازی با هایپراکسی در شرایط پاتولوژیک و یا با پیش شرط سازهای دیگر اطلاعات کمی در دسترس است. فقط

در یک پژوهش به طور مستقیم اثر هایپراکسی و استروئیدها با هم مورد مطالعه قرار گرفته است. این پژوهش که توسط کالجوستو^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸ صورت پذیرفت نشان داد که جمع اثر این دو عامل پیش شرط ساز موجب کاهش فشار انتهای دیاستولی بطن چپ و کاهش بی‌نظمی‌ها می‌شود (کالجوستو و همکاران، ۲۰۰۸).

در پژوهش حاضر اثرات محافظتی قلب بیش از اثر هر کدام از این پیش شرط‌سازها به تنهایی بارز شد به طوری که این اثر در میزان رهایش CPK (شاخصی از آسیب بافتی) و حاصل ضرب ضربان-فشار (شاخصی از مکانیک قلب) به طور کامل بارز بود، ولی تعداد بی‌نظمی‌ها در بین گروه‌های تحت تیمار در زمان ایسکمی و جریان مجدد کاهش معناداری را نشان نداد.

بیشترین کاهش آسیب بافتی در گروه H+M دیده شد که البته این کاهش نسبت به تمامی گروه‌ها کاهش معناداری را نشان داد. این کاهش آسیب بافت در دوره جریان مجدد احتمالاً موجب بهبود شاخص عملکردی قلب نیز شده است.

با توجه به اینکه در انتهای دوره تثبیت، حاصل ضربان-فشار در گروه H نسبت به سه گروه دیگر تفاوت معناداری داشت این مسئله احتمالاً نشان دهنده اثرات قویتر وابستگی بر جریان‌های یونی در حالت عادی نسبت به هایپراکسی است ولی بر طبق نتایج، پس از مداخله هایپراکسی و وابستگی در دوره پس از ایسکمی (دوره جریان مجدد) هر دو عامل موجب تقویت اثر یکدیگر برای ایجاد حفاظت از بافت و بهبود عملکرد قلب شد که به نوعی می‌توان این حالت را به افزایش اثرات پیش شرط سازی حین اثر همزمان این دو عامل تعبیر کرد. البته اینکه هر کدام از این دو عامل پیش شرط‌ساز چه مقدار و طی چه مکانیسمی موجب افزایش اثرات پیش شرط سازی می‌شوند نیاز به پژوهش‌های بیشتری در سطوح عوامل پیام‌رسان داخل سلولی دارد.

در مورد تعداد دوره‌های تکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی، هم در دوره ایسکمی و هم در دوره جریان مجدد با اینکه بیشترین کاهش در گروه H+M دیده شد ولی اختلافی بین گروه‌های تحت تیمار وجود نداشت. شاید دلیل عدم اختلاف بین گروه‌های تحت تیمار،

حد اکثر اثر در هر کدام از عوامل پیش شرط ساز باشد که این مسئله در مورد فیبریلایسیون بطنی در دوره جریان مجدد مشاهده می شود که هیچ فیبریلایسینی در این دوره در گروه های H+M و H روی نداد.

از مطالب گفته شده و یافته های این پژوهش می توان به این نتیجه رسید که با توجه به این که هم هایپراکسی به عنوان یک عامل پیش شرط ساز مطرح است و هم وابستگی به مورفین، اگر هر دو عامل از یک سازوکار برای پیش شرط سازی استفاده نمایند بین گروه H+M نسبت به H و یا M1 نباید تفاوت معنی داری در متغیرهای اندازه گیری شده دیده شود. این مطلب در مورد بی نظمی ها صادق بود، ولی در مقایسه بین این گروه ها افزایش معنی دار در حاصل ضربان-فشار در گروه H+M نسبت به دو گروه تحت تیمار دیگر وجود داشت و از سوی دیگر تفاوت معنی دار در مقدار کراتین فسفوکیناز مشاهده گردید که نشان دهنده صدمه کمتر بافت قلب در این گروه نسبت به بقیه گروه ها است و این مورد یافته های مربوط به بهبود شاخص حاصل ضربان-فشار را تأیید می نماید. لذا این یافته ها احتمال وجود سازوکارهای مختلف در پیش شرط سازی با هایپراکسی و در پیش شرط سازی با مورفین به صورت مزمن را نشان می دهد که مطالعات دیگر به طور غیر مستقیم آن را تأیید می نماید، یعنی به احتمال زیاد از سویی عوامل پیش شرط ساز موثر در هایپراکسی (مانند ROS، NF- κ B، iNOS، Bcl-2 و K_{ATP} channels) (گراس و پیرت، ۲۰۰۳؛ کیم^۱ و همکاران، ۲۰۰۱؛ کوتانی^۲ و همکاران، ۲۰۰۰؛ راجش^۳ و همکاران، ۲۰۰۴ و تیپولد و همکاران، ۲۰۰۳) اثر می گذارند و از سوی دیگر عوامل موثر در پیش شرط سازی وابستگی به مورفین (مانند گیرنده آدرنرژیک بتا دو و PKA و دیگر عوامل ناشناخته (پیرت و گراس، ۲۰۰۶) اثر خود را اعمال می کنند.

البته با توجه به یافته ها این احتمال وجود دارد که در سازوکار اثرات ضد بی نظمی این پیش شرط سازها همپوشانی وجود داشته باشد.

همان طور که اشاره شد متأسفانه پژوهش های کمی در زمینه وابستگی و اثرات پیش شرط سازی با مورفین به صورت مزمن انجام شده است و به همین دلیل اطلاعاتی در

این زمینه برای مقایسه با آزمایش‌های ما در دسترس نیست. لذا آن چه بیان شد احتمالاتی است که طی پژوهش‌های بعدی باید صحت آن‌ها مورد آزمایش قرار گیرد.

با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش و با توجه به احتمال تداخل این دو عامل در بالین می‌توان انتظار داشت که اثرات محافظتی بیشتری برای بافت قلب در حالت هم‌زمانی آن‌ها با هم به وقوع خواهد پیوست، البته این نکته نیز باید در بالین مورد آزمایش قرار بگیرد تا بتوان روی آن قضاوت کرد.

با توجه به مطالب مورد بحث این نکته روشن است که اثر پیش شرط‌سازی با هاپیراکسی نورموباریک بر قلب ایزوله موش صحرائی نر وابسته به مورفین موجب تقویت اثرات محافظتی در مقایسه با هریک از عوامل پیش شرط‌ساز استفاده شده به تنهایی است که این مسئله در حفاظت از بافت و عملکرد قلب بارز است.

منابع

- Alkhulaifi, A. M., Jenkins, D. P., Pugsley, W. B. & Treasure, T. (1996). Ischaemic preconditioning and cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*, 10, 792-798.
- Bigdeli, M. R., Hajizadeh, S., Froozandeh, M., Heidarianpour, A., Rasulian, B., Asgari, A. R., Pourkhalili, P. & Khoshbaten, A. (2008). Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- α level. *Exp Neurol*, 212, 298-306.
- Choi, H., Kim, S. H., Chun, Y. S., Cho, Y. S., Park, J. W. & Kim, M.S. (2006). In vivo hyperoxic preconditioning prevents myocardial infarction by expressing bcl-2. *Exp Biol Med (Maywood)*, 231, 463-472.
- Fan, G. H., Ling-Zhi., Wang, L. Z., Qiu, H. C., Ma, L. & Pei, G. (1999). Inhibition of Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II in rat hippocampus attenuates morphine tolerance and dependence. *Mol Pharmacol*, 56, 39-45.
- Gross, G. J. & Peart, J. N. (2003). KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 285, H921-930.
- Kaljusto, M. L., Stenslökken, K.O., Mori, T., Panchenko, A., Frantzen, M. L., Valen, G. & Vaage, J. (2008). Preconditioning effects of steroids and hyperoxia on cardiac ischemia—reperfusion injury and vascular reactivity. *Eur J Cardiothorac Surg*, 33, 355-363.
- Karu, I., Tähepöld, P., Ruusalepp, A. & Starkopf, J. (2010). Pretreatment by hyperoxia, a tool to reduce ischaemia-reperfusion injury in the myocardium. *Curr Clin Pharmacol*, 5, 125-132.
- Kim, C. H., Choi, H., Chun, Y. S., Kim, G. T., Park, J. W. & Kim, M. S. (2001). Hyperbaric oxygenation pretreatment induces catalase and reduces infarct size in ischemic rat myocardium. *Eur J Physiol*, 442, 519-525.

- Kloner, R. A. & Jennings, R. B. (2001). *Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1*. *Circulation*, 104, 2981-2989.
- Kotani, N., Hashimoto, H., Sessler, D., Muraoka, M., Hashiba, E. & Kubota, T. (2000). Supplemental intraoperative oxygen augments antimicrobial and proinflammatory responses of alveolar macrophages. *Anesthesiology*, 93, 15-25.
- Lishmanov, Y. B., Stakheev, D. L., Krylatov, A. V., Naryzhnaya, N. V., Maslov, L. N., Ovchinnikov, M.V. & Kolar, F. (2008). Myocardial Resistance to Ischemic and Reperfusion Injuries under Conditions of Chronic Administration of Opioid Receptor Agonists and Antagonists. *B Exp Biol Med*, 145, 642-644.
- Manning, A. & Hearse, D. (1984). Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol*, 16, 497-518.
- Murray, C. E., Richard, V. J., Reimer, K. A. & Jennings, R. B. (1990). Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res*, 66, 913-931.
- Peart, J. N. & Gross, G. J. (2006). Cardioprotective effects of acute and chronic opioid treatment are mediated via different signaling pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 291, 1746-1753.
- Poorkhalili, K., Hajizadeh, S., Taraihi, T., Akbari, Z., Esmaeili, M., Bigdeli, M. R. & Khoshbaten, A. (2009). Ischemia and reperfusion-induced arrhythmias: role of hyperoxic preconditioning. *J Cardiovasc Med*, 10, 645-642.
- Rajesh, K. G., Sasaguri, S., Suzuki, R., Xing, Y. & Maeda, H. (2004). Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels. *Int J Cardiol.*, 96, 41-49.
- Tahepold, P., Valen, G., Starkopf, J., Kairane, C., Zilmer, M. & Vaage, J. (2001). Pretreating rats with hyperoxia attenuates ischemia-reperfusion injury of the heart. *Life Sci*, 68, 1629-1640.
- Tahepold, P., Vaage, J., Starkopf, J. & Valen, G. (2003). Hyperoxia elicits myocardial protection through a nuclear factor kappaB-dependent mechanism in the rat heart. *Journal Thorac Cardiovasc Surg*, 125, 650-660.
- Yellon, D. M., & Downey, J. M. (2003). Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*, 83, 1113-1151.