بررسی تاثیر مبودیپین بر متغیرهای همودینامیکی و تغییرات بافت شناسی قلب ایزوله ناشی از آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد در موش صحرایی نر

غلامرضا سپهری[۱]، مصطفی محمدی[۲*]، رفیقه قیاسی[۱،۲]، رضا بدل زاده[۲،۳]، بهمن رشیدی[۴]، هادی ابراهیمی[۲]

[۱]مرکز تحقیقات فیزیولوژی و علوم اعصاب-دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، [۲] مرکز تحقیقات کاربردی دارویی-دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، [۳]باشگاه پژوهشگران جوان-تبریز، تبریز، ایران، [۴]دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۷ ، تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۱۵

Evaluating the effect of mebudipine on hemodynamical parameters and histological changes in isolated heart induced by ischemic-reperfusion injury in male rat

Separi Gh. [1], Mustafa Mohammadi[2*], Rafigeh Ghyasi[1,2], Reza Badalzadeh[2,3], Bahman Rashidi[4], Hadi Ibrahimi[2]

[1]Physiology and Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. [2] Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [3] Young Researcher Club-Tabriz, Tabriz, Iran. [4] Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 26 Jan. 2009, Accepted: 5 May 2009

Objectives: Reperfusion is essential for the survival of ischemic myocardium. However reperfusion itself leads to latter complications include decreasing cardiac contractile function and myocardial tissue injury. The purpose of this study is to evaluate the effect of mebudipine against injuries due to Ischemia-reperfusion in isolated rat heart. **Methods:** 28 male Wistar rats (250-300g) divided in four groups (n=7): sham group, control group, vehicle group and drug group. The animals anesthetized by sodium pentobarbital (60mg/kg –ip). The hearts were removed quickly and mounted on Longendorff apparatus and perfused by Krebs-Henseleit solution under constant pressure at 37 °C. Ischemic groups after 20 minutes stabilization received 30 global ischemia and 120 minutes reperfusion. In drug group the hearts before ischemia were perfused 25 minutes with mebudipine-enriched Krebs-Henseleit(0.1×10^{-3} µM) .At the end of experiment tissue heart samples were prepared. **Results:** Mebudipine prevented from increasing of left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) and enhanced significantly the left ventricular developed pressure (LVDP) and strength of heart contractility ($p<0.05$). Also mebudipine decreased remarkable the rate of edema, inflammatory cells infiltration and heart tissue necrosis compared to control group. **Conclusion:** Results of this study indicate that mebudipine by improving the strength of heart contractility in ischemia-reperfusion period and also by decreasing of myocardial injury can have important protective effects against ischemia-reperfusion injuries in heart.

Key words: *mebudipine, ischemia-reperfusion, isolated heart, rat*

زمینه و هدف: به دنبال ایسکمی قلب، پرفیوژن مجدد برای زنده ماندن میوکارد امر ضروری است اما این امر باعث عوارض بعدی از قبیل کاهش قدرت انقباضی قلب و آسیب بافتی می گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی مبودیپین بر آسیب های ناشی از ایسکمی-پر فیوژن مجدد در قلب ایزوله موش صحرایی می باشد. **روش ها:** عدد موش صحرایی نر ویستار(۳۰۰-۲۵۰ گرم) به چهار گروه ۷ تایی تقسیم شدند: گروههای شم، کنترل، دریافت کننده دارو و حلال دارو. حیوانات بوسیله سدیم پنتوباربیتال (۶۰mg/kg) داخل صفاقی بیهوش شدند. قلبها سریعا برداشته شده و در دستگاه لانگندرف قرار داده شدند و با محلول کربس-هنسلیت با فشار ثابت و دمای ۳۷ºC مشروب شدند. گروههای ایسکمیک، بعد از ۲۰دقیقه تثبیت به مدت ۳۰دقیقه ایسکمی گلوبال و ۱۲۰دقیقه پرفیوژن مجدد دریافت کردند. در گروه دارو، قلبها قبل از ایسکمی به مدت ۲۵ دقیقه محلول کربس حاوی مبودیپین (۳-۱۰×۰/۱ میکرومول) دریافت کردند. در انتهای آزمایش نمونه های بافتی از بطن چپ تهیه شدند. **یافته ها:** مبودیپین از افزایش فشار انتهای دیاستولی در دوره پرفیوژن مجدد جلوگیری کرده و فشار ایجاد شده در بطن چپ و قدرت انقباض قلبی را به طور معنی داری افزایش داد ($P<۰/۰۵$). همچنین مبودیپین میزان ادم، میزان نفوذ سلولهای التهابی و نکروز بافت میوکارد را به طور قابل ملاحظه ای نسبت به گروه کنترل کاهش داد. **نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان می دهند که مبودیپین با بهبود نیروی انقباض قلب در دوره پرفیوژن مجدد و همچنین با کاهش شدت آسیب بافت میوکارد می تواند اثرات محافظتی مهمی در برابر آسیب پرفیوژن مجدد در قلب داشته باشد.

واژه های کلیدی: *مبودیپین، آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد، قلب ایزوله، موش صحرایی.*

*نویسنده مسئول: مصطفی محمدی، استاد، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، تلفن: ۳۳۶۴۶۶۶۴-۰۴۱۱، نـــــمابر: ۳۳۶۴۶۶۶۴-۰۴۱۱

**Corresponding Author: Mustafa Mohammadi, Prpfessor, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-3364664 ; Fax: +98-4113364664 ; E-mail: m.mohammadin@yahoo.com*

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

بیماریهای ایسکمیک قلبی علت اصلی مرگ و میر در جوامع صنعتی است که به دلیل ناکافی بودن جریان خون نواحی از میوکارد که منجر به نکروز بافتی (انفارکتوس) می گردد، بوجود می آیند. بیماری ایسکمیک قلبی در اثر بسیاری از بیماریها مانند هیپرتانسیون، آترواسکلروزیس، هیپرلیپیدمی و دیابت بوجود می آید(۱). درمان بیماریهای ایسکمیک قلب بوسیله روشهایی که باعث برگشت سریع جریان خون به نواحی ایسکمیک (پرفیوژن مجدد) میشود، باعث نصف شدن میزان مرگ و میر شده است(۱،۲). اما از طرف دیگر، پرفیوژن مجدد باعث عوارض بعدی از قبیل کاهش عملکرد انقباضی قلب، افزایش نفوذپذیری عروقی و آریتمی میگردد که خود باعث تشدید آسیب بافتی می گردد (۳-۱).

یکی از عوامل مهم ایجاد کننده آسیب در ایسکمی-پرفیوژن مجدد، افزایش بار کلسیم داخل سلولی است که ممکن است به دنبال افزایش ورود کلسیم از طریق مبادله گر Na^{+}-Ca^{2+}، نشت Ca^{2+} از میتوکندری یا رتیکولوم سارکوپلاسمیک، آزاد شدن Ca^{2+} از پروتئینهای متصل شونده به Ca^{2+} یا ورود Ca^{2+} به داخل سلول از طریق کانالهای کلسیمی غشای سلولی ناشی گردد(۴). کلسیم داخل سلولی هم در دوره ایسکمی و هم در دوره پرفیوژن مجدد افزایش می یابد و منجر به افزایش آسیب میو کارد می شود (۵). لذا، با جلوگیری از افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی می توان از شدت آسیب سلولی کاست.

اعتقاد بر این است که بلوک کننده های کانالهای کلسیمی باعث گشادی عروق کرونری شده و جریان خون را افزایش میدهند (۶). همچنین، میزان اکسیژن مورد نیاز میوکارد را بوسیله کاهش ضربان قلب و قدرت انقباضی قلب، کاهش داده ودر نتیجه باعث کاهش آسیب می شوند (۷).

آنتاگونیستهای دی هیدرو پیریدینی کانالهای کلسیمی بطور وسیعی بعنوان داروهای ضد هیپرتانسیون و ضدآنژین بکار می روند (۹-۶). اما به علت داشتن اثرات اینوتروپیک منفی و بلوک رفلکسی سیستم عصبی سمپاتیک نگرانیهایی در مورد مصرف این داروها وجود دارد (۹). بنابرین سنتز داروی جدیدی که این اثرات منفی را کمتر داشته باشد، می تواند در بهبود وضعیت مفید باشد. مبودیپین داروی بلوک کننده کانال کلسیمی تازه سنتز شده با عوارض قلبی عروقی کمتراز دسته دی هیدروپیریدینی است که باعث گشادی عروق با اثرات اینوتروپیک منفی کمترمی باشد(۱۰).

در مقایسه با نیفیدیپین قدرت مبودیپین در مهار انقباض آئورت بیشتر بوده اما اثر اینوتروپیک منفی آن کمتر می باشد در حالیکه اثر کرونوتروپیک منفی آن بیشتر است (۱۱). با توجه به یافته های بالا، مبودیپین با تاثیر بلوک کنندگی انتخابی برکانالهای کلسیمی می تواند اثرات حفاظتی در نواحی ایسکمیک داشته باشد و در بیماریهای قلبی-عروقی بدون تاثیرات سوء مانند تاکیکاردی رفلکسی و نارسایی قلبی که با مصرف سایر بلوک کننده های کلسیمی دیده می شود مورد استفاده قرار گیرد(۱۰،۱۱).

با توجه به اینکه تاکنون در زمینه اثرات احتمالی حفاظتی مبودیپین بر روی آسیب ایسکمی پرفیوژن مجدد مطالعه ای صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر محافظتی مبودیپین بر روی متغیرهای همودینامیکی و تغییرات بافت شناسی به دنبال آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد در قلب ایزوله موش صحرایی انجام گردیده است تا شاید راهکارهای جدیدی در جهت استفاده از آنتاگونیستهای کلسیم در بیماریهای ایسکمیک قلبی ارائه نماید.

۲- مواد و روشها

از آنجائیکه تا بحال تحقیقی در مورد اثر مبودیپین بر روی قلب ایزوله انجام نگرفته بود، برای بدست آوردن غلظت موثر دارو از غلظتهای مختلف دارو استفاده شد. برای این منظور اثر غلظتهای مختلف داروی مبودیپین بر روی عملکرد قلب ایزوله در سه گروه جداگانه (هرگروه ۶موش) بررسی گردید. قلبهای ایزوله در سه گروه بترتیب با غلظتهای $۱۰^{-۳}\times$ ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ میکرومول داروی مبودیپین مشروب شدند تا دوز موثر بدست آید. برای بدست آوردن دوز مؤثر (محافظتی) دارو ما از مطالعاتی استفاده کردیم که بر روی اثر محافظتی داروهای مشابه دی هیدروپیریدینی بر روی فعالیتهای قلب ایزوله در شرایط اسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد انجام گرفته بود. گزارش شده است که کانالهای کلسیمی در غلظتهایی که اثر کرونوتروپیک و اینوتروپیک کمتر منفی داشتند و باعث گشادی کمتری در عروق کرونری می شدند دارای اثر محافظتی برعلیه آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد بودند (۳).براساس این مطالعات، غلظتی از دارو را به کار بردیم که کمترین اثر تضعیفی را بر روی متغیرهای کرونوتروپیکی (HR) و اینوتروپیکی قلبی (+dP/dt ,LVDP) داشت(نمودارهای ۱-۳). با توجه به نتایج بدست آمده، غلظت $۱۰^{-۳}\times$ ۰/۱ میکرومول به عنوان دوز مؤثر دارو انتخاب گردید.

در این مطالعه از موشهای صحرایی نر،نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم که از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شده بودند، استفاده گردید. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشته و

Archive of SID

www.SID.ir

در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با حرارت ۳±۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری می شدند.
۲۸ عدد موش صحرایی نر به چهار گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:
۱-گروه شم: به مدت ۱۲۰ دقیقه کربس- هنسلیت دریافت کردند (بدون ایسکمی).
۲-گروه کنترل : به مدت ۲۵ دقیقه کربس هنسلیت، بعد به مدت ۳۰ دقیقه ایسکمی گلوبال، بعد به مدت ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد دریافت کردند.
۳-گروه دریافت کننده دارو: قبل از ایسکمی به مدت ۲۵ دقیقه محلول کربس حاوی مبودیپین ($۰/۱ \times ۱۰^{-۳}$ میکرومول) دریافت کردند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه ایسکمی گلوبال، بعد به مدت ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد دریافت گردیدند.
داروی مبودیپین در اتانل ۰/۰۱ درصد حل گردید(۳).
۴) گروه حلال دارو(اتانل): قبل از ایسکمی به مدت ۲۵ دقیقه محلول کربس حاوی اتانل۰/۰۱ درصد دریافت کردند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه ایسکمی گلوبال، بعد به مدت ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد دریافت کردند.
پس از بیهوشی حیوانات با سدیم پنتوباربیتال (۶۰ mg/kg) و تزریق ۵۰۰ IU هپارین به صورت داخل صفاقی برای جلوگیری از تشکیل لخته در عروق کرونری، قفسه سینه حیوانات از طرفین و در امتداد خطوط آگزیلاری، تحت تنفس مصنوعی (تعداد ۵۵-۴۵ بار در دقیقه و حجم جاری ml ۲۰-۱۵) باز شد. سپس، سریعاً قلب از بدن جدا و به ظرف حاوی کربس با دمای ۴ °C انتقال داه شد. پس ازبرداشتن چربی و عروق اطراف بافت قلب، کانول مخصوصی وارد آئورت صعودی شده و سریعاً به دستگاه قلب ایزوله لانگندرف (Langendorff) انتقال داده شد. در این حالت، قلب ایزوله از محلول پرفیوژن "کربس- هنسلیت" مشروب شد فشار پرفیوژن قلب ثابت بوده و برای تمامی نمونه ها ۷۵mmHg در نظر گرفته شد و محلول کربس در دمای ۳۷ °C و PH=۷/۴ با گاز کربوژن($۵٪ CO_2$ و $۹۵٪ O_2$) هوادهی شد(۱۲،۱۳). حدود ۲۰ دقیقه به قلب اجازه داده شد تا فعالیت هایش تثبیت گردد. پس از تثبیت فعالیت ها، یک رکورد پایه (Baseline) از تمامی پارامترهای همودینامیکی گرفته شد. بعد در گروه های دارو داروی مبودیپین را در غلظت($۱۰^{-۳} \times ۱$ µM) به مدت ۲۵ دقیقه به محلول تغذیه کننده قلب اضافه گردید سپس جریان دارو قطع و جریان محلول کربس بدون دارو مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه برقرار شد. در مرحله بعد، جریان محلول به مدت ۳۰ دقیقه قطع شد (دوره ایسکمی گلوبال). بعد از این مدت بلافاصله جریان محلول دوباره برقرار شده و به مدت ۱۲۰ دقیقه ادامه داشت (دوره پرفیوژن مجدد) (۱۵-۱۴). گروه کنترل محلول کربس بدون دارو و گروه حلال دارو محلول کربس حاوی اتانل ۰/۰۱درصد با غلظت ($۰/۱ \times ۱۰^{-۳}$ µM) دریافت نمودند۰
برای بررسی تاثیر مبودیپین بر متغیرهای همودینامیکی قلب ایزوله، بالون مخصوص متصل به کاتتر که از سمت دیگر به ترانسدیوسر فشار(ADInstruments, Australia) متصل بود به آرامی از طریق دریچه میترال وارد بطن چپ شد. از طریق پر کردن داخل بالون با سالین، فشارانتهای دیاستولی بطن چپ (LVEDP) در حدود ۱۰-۵mmHg اعمال شد. بدین وسیله فشار سیستولیک بطن چپ (LVSP)، قدرت انقباض بطن چپ (±dp/dt) ثبت شد. فشار ایجاد شده بوسیله بطن چپ (LVDP) از اختلاف فشار سیستولی و دیاستولی بطن چپ مورد محاسبه قرار گرفت (LVDP = LVSP − LVEDP). برای ثبت ضربان قلب از دو الکترود از جنس طلا متصل به سطح قلب و یک الکترود رفرنس استفاده گردید. کلیه سیگنالها توسط سیستم پاورلب چهار کاناله (ADInstruments, Australia) ثبت شده و از طریق آن به کامپیوتر منتقل گردید.
برای بررسی تغییرات بافتی، بطن چپ قلب جدا شده در انتهای آزمایش با نرمال سالین سرد شستشو داده شد و بلافاصله در محلول تثبیت کننده (فرمالین ۱۰٪) قرارداده شد و بدین صورت ثابت گردید سپس نمونه ها در الکل اتیلیک بصورت صعودی آبگیری شده و نها یتاً در گزیلل شفاف سازی گردید و سپس در پارافین قالبگیری شده و برشهای لازم در قطعات۴ µm از بافت قلب با میکروتوم انجام گرفته و رنگ آمیزی هیستولوژیک به روش *هماتوکسیلین- ائوزین* (Hematotoxylin-Eosin H&E) صورت گرفت. سپس تغییرات بافتی در زیر میکروسکوپ (Olympus BX 40)بررسی وعکسبرداری با دوربین (Olympus)و فیلم کونیکا ISO 100 انجام شد. درجه بندی تغییرات بافت شناسی و شدت ایسکمی به ترتیب زیر انجام گرفت(۱۹ - ۱۶):
۱-بافت سالم (-)
۲- وجود ادم بین سلولی و فاصله بین سلولهای قلبی بیشتر از معمولی(+).
۳-ادم همراه با نفوذ (انفیلتراسیون) سلولهای التهابی (++).
۴- ادم همراه با نفوذ (انفیلتراسیون) سلولهای التهابی و تخریب نسبی سلولها (+++).
۵- ادم همراه با نفوذ (انفیلتراسیون) سلولهای التهابی و لیز سلولی(++++).

Archive of SID
www.SID.ir

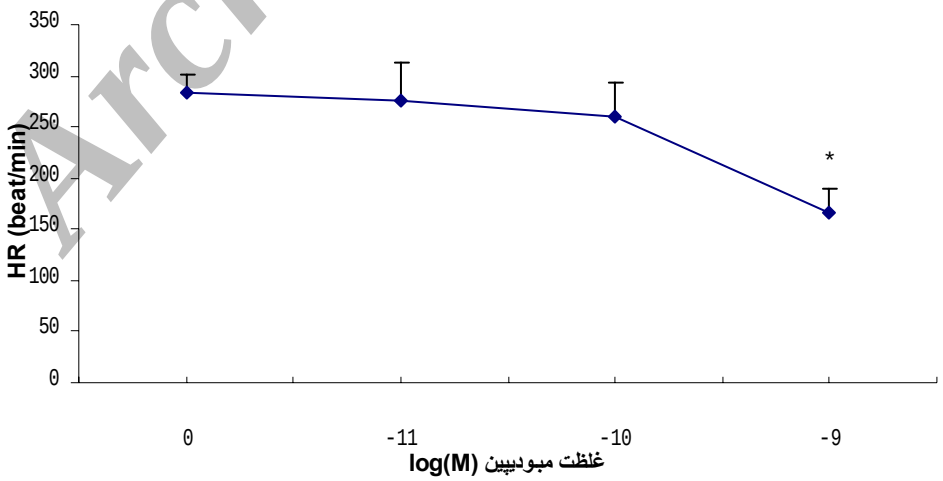
تجریه و تحلیل آماری: کلیه نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند. برای تجزیه و تحلیل اختلاف متغیرهای همودینامیکی در بین گروهها از آزمون آنالیز–واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) و بدنبال آن از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردیده است و P<۰/۰۵. به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. جدول (۱) نتایج مربوط به نتایج مربوط به HR،LVEDP، LVDP، dp± ، را در دوره تثبیت و در دقایق ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پرفیوژن مجدد نشان می دهد. پارامترهای عملکرد قلب در دوره تثبیت تفاوت معنی داری بین گروههای کنترل و دارو نشان ندادند. همچنین در پارامترهای عملکرد قلبی تفاوت معنی داری بین گروههای کنترل و اتانل وجود نداشت، تفاوت معنی داری در ضربان قلب در دوره پرفیوژن مجدد در دو گروه کنترل و دریافت کننده دارو و گروههای کنترل و اتانل مشاهده نگردید. ولی مبودیپین باعث افزایش معنی داری در (LVDP) در زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه بعد ایسکمی گردید(P<۰/۰۵). و در بقیه زمانها هم به طور قابل ملاحظه ای آن را افزایش داد. میزان قدرت انقباضی قلب در گروه دریافت کننده دارو نسبت به گروه کنترل و اتانل بهبود قابل ملاحظه ای داشت. مبودیپین همچنین بطور معنی داری باعث کاهش(LVEDP) در دقایق ۱۰، ۳۰، ۶۰ گردید(P<۰/۰۵). در نتیجه مبودیپین، میزان کنتراکچر بعد ایسکمی را هم کاهش داد.

۳- نتایج

۳-۱: بررسی تأثیر دوزهای مختلف داروی مبودیپین برروی LVDP، dp/dt ماکزیمم و HR

برای بدست آوردن دوز مورد نظر مبودیپین در سه دوز به کار برده شد، در غلظت ۰/۰۱ میکرومول مبودیپین هیچ تأثیری برروی LVDP، dp/dt ماکزیمم و HR نداشت، در غلظت ۰/۱ میکرومول برروی LVDP، dp/dt ماکزیمم تأثیر داشت ولی از لحاظ آماری معنی دار نبود. در غلظت ۱ میکرومول مبودیپین بطور معنی داری باعث کاهش LVDP، dp/dt ماکزیمم وHR گردید (P<۰/۰۵) (نمودارهای ۳-۱).

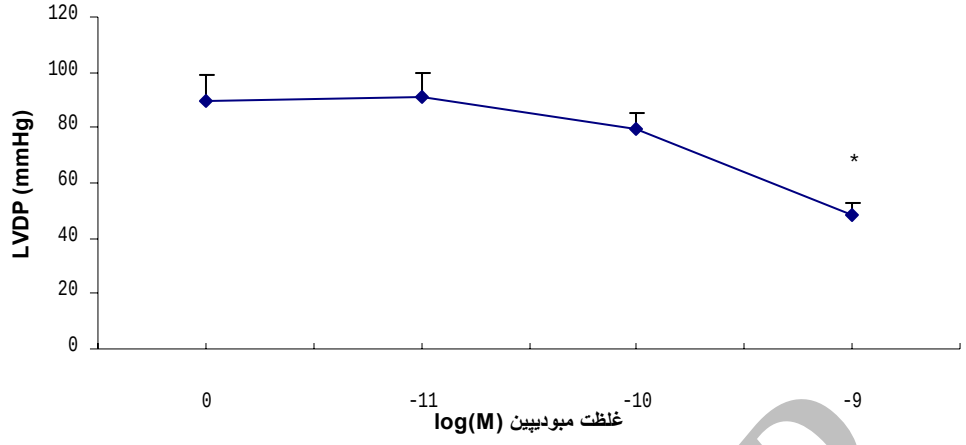
مطالعه بافت شناسی نشان داد که بافت میوکاردی که در معرض ایسکمی قرار نگرفته است(گروه شم) دارای ساختار نرمال و منظم می باشد که در شکل (۱) نشان داده شده است. براساس مطالعات بافت شناسی، سلولهای میوکارد موشهای که در معرض ایسکمی قرار گرفتند ولی دارو دریافت نکردند (گروه کنترل و اتانل)، ادم برجسته، التهاب نواحی وسیع قلب و لیز سلولی را در در مقایسه با گروه شم نشان دادند (شکل ۲و۳، جدول۲). در سلولهای میوکارد موشهایی که مبودیپین دریافت کرده بودند میزان ادم، میزان نفوذ سلولهای التهابی و درجه نکروز بافت میوکارد، به طور قابل ملاحظه ای در مقایسه با گروه کنترل و گروه اتانل کاهش یافت (شکل۴،جدول۲).



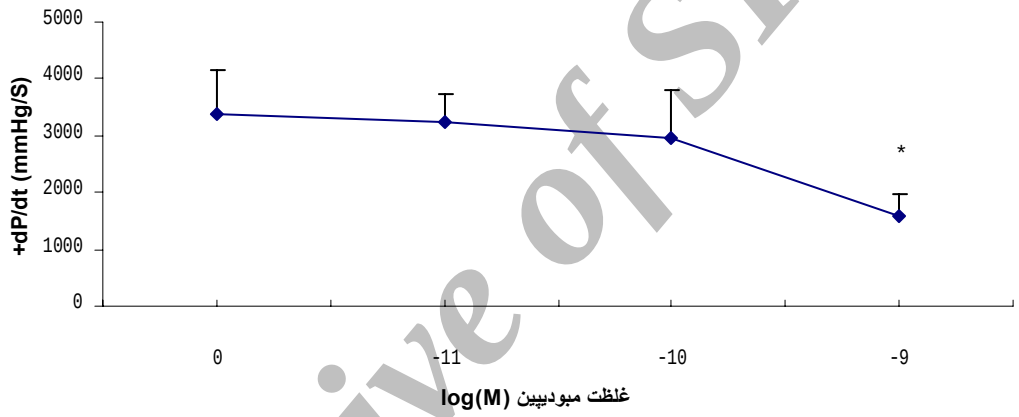
نمودار۱. اثر غلظتهای مختلف مبودیپین برروی ضربان قلب (HR) ، *اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد

Archive of SID

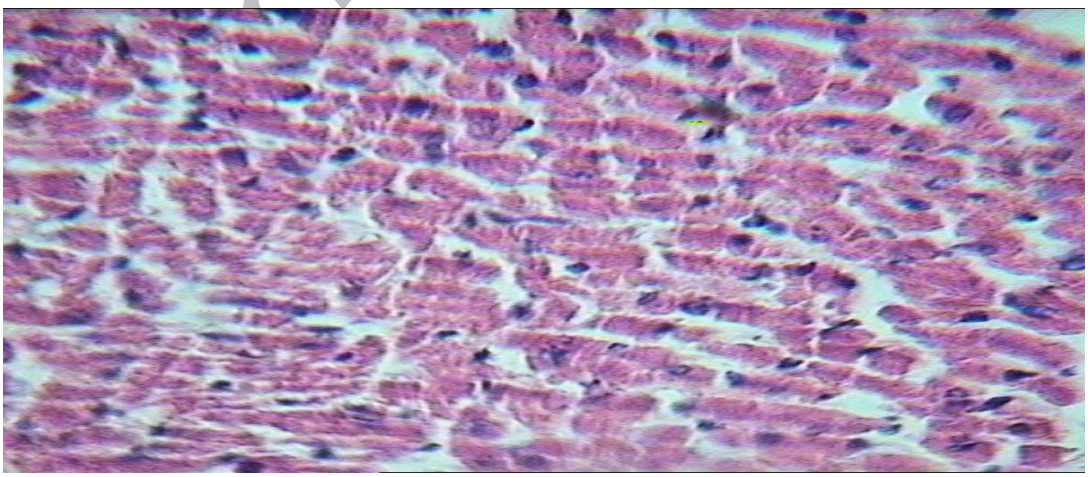
www.SID.ir



نمودار ۲. اثر غلظتهای مختلف مبودیپین برروی فشار ایجاد شده بوسله بطن چپ(LVDP)، *اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد



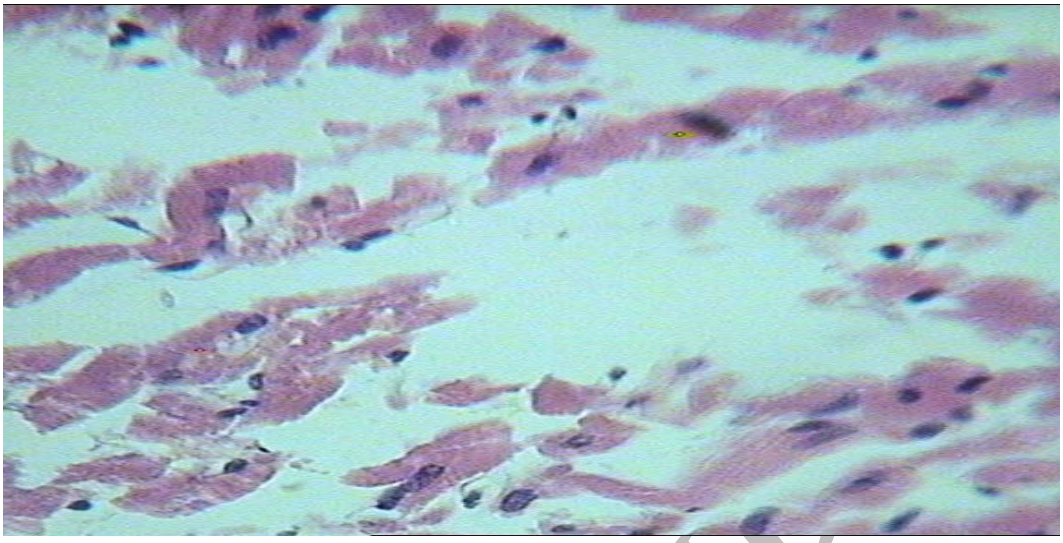
نمودار ۳. اثر غلظتهای مختلف مبودیپین برروی ماکزیمم قدرت انقباض بطن چپ (dp/dt+)، *اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد



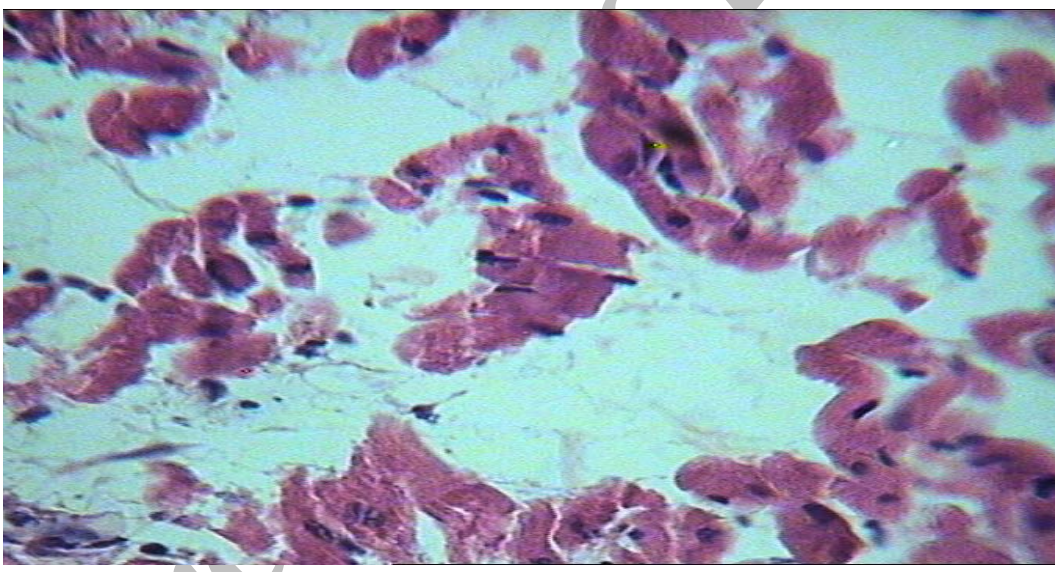
شکل ۱. میکروگراف نوری بافت قلب موش صحرایی گروه شم، روش رنگ آمیزی H&E

Archive of SID

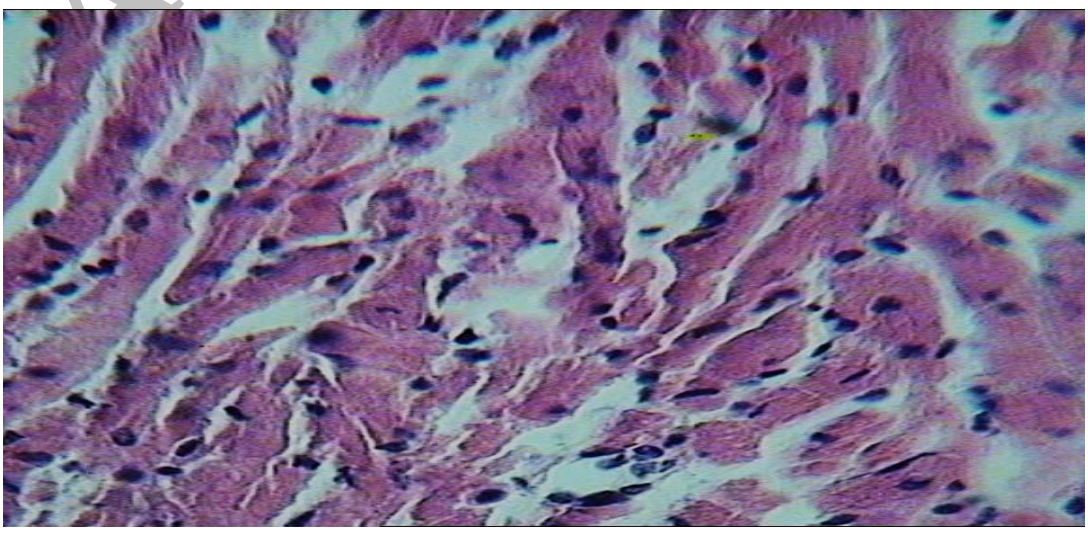
www.SID.ir



شکل۲. میکروگراف نوری بافت قلب موش صحرایی گروه کنترل، روش رنگ آمیزی H&E



شکل ۳. میکروگراف نوری بافت قلب موش صحرایی گروه حلال دارو، روش رنگ آمیزی H&E



شکل۴. میکروگراف نوری بافت قلب موش صحرایی گروه دریافت کننده دارو، روش رنگ آمیزی H&E

www.SID.ir

جدول ۱. پارامترهای همودینامیکی قلب ایزوله بعد از تثبیت و در دقایق ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰پرفیوژن مجدد

پارامتر/گروه	تثبیت	پرفیوژن مجدد ۱۰	۳۰	۶۰	۱۲۰
HR(pulse/min)					
شم	۲۷۹ ±۹ /۸	–	–	–	–
کنترل	۲۸۴± ۶/۷	۲۲۰± ۲۰/۴	۲۴۳ ±۱۱/۸	۲۳۳ ± ۱۱/۱	۲۱۲ ± ۴/۱۱
حلال دارو	۲۷۵ ± ۸/۲	۲۱۶ ±۱۹/۱	۲۵۶± ۱۳/۲	۲۴۷ ± ۱۳/۱	۲۲۷ ±۱۵/۱
دریافت کننده دارو	۲۶۱± ۱۳/۴	۲۰۵±۱۷/۳	۲۱۳ ±۱۹/۴	۲۱۰ ±۱۹/۵	۱۹۵ ±۱۸/۱
LVEDP(mmHg)					
شم	۷/۱±۰/۱	–	–	–	–
کنترل	۷/۴ ±۰/۳	۲۹,۳ ± ۲/۵	۲۷ ±۱/۵	۲۳/۸ ±۱/۲	۱۹/۶ ± ۱/۱
حلال دارو	۷±۰/۳	۳۳,۳ ± ۳,۱	۳۱/۱ ±۱/۱	۲۶/۳ ±۰/۹	۲۲/۵ ± ۱/۴
دریافت کننده دارو	۶/۷ ± ۰/۴	۱۵/۵ ±۱/۲**	۱۵/۳ ± ۱/۳**	۱۴/۵ ±۱/۱*	۱۳/۸ ± ۱/۳
LVDP(mmHg)					
شم	۹۱±۶/6	–	–	–	–
کنترل	۸۹,۸± ۵/۶	۴۲±۳/۸	۴۵/۸ ±۳/۹	۴۵/۸ ± ۶/۷	۴۷/۳±۴/۴
حلال دارو	۹۳ ±۷/۱	۴۶±۵/۱	۴۹ ± ۴/۲	۴۷ ±۷/۱	۵۰/۴ ± ۳/۶
دریافت کننده دارو	۸۱/۶ ± ۵/۶	۶۹±۸**	۶۷ ± ۷*	۵۸ ± ۵/۶	۵۱/۸ ± ۲/۹
+dp/dt(mmHg/s)					
شم	۳۱۹۷±۳۲۷	–	–	–	–
کنترل	۳۳۸۸ ± ۳۱۰	۱۴۹۴ ±۴۶۸	۱۵۷۵ ± ۲۱۷/۵	۱۵۳۲ ±۱۸۹	۱۴۴۵ ±۲۳۷
حلال دارو	۳۲۲۹ ± ۲۷۰	۱۵۲۲ ± ۲۵۰	۱۵۹۰ ±۱۱۰	۱۵۸۵ ± ۲۳۳	۱۵۶۶ ±۲۱۰
دریافت کننده دارو	۳۰۶۶ ± ۳۳۶	۲۷۵۵ ± ۴۳۹*	۲۴۶۰ ±۳۸۱*	۲۰۱۰ ±۲۱۱	۱۹۲±۲۰۰
-dp/dt(mmHg/s)					
شم	−۱۸۹۳±۲۳۶	–	–	–	–
کنترل	−۱۹۹۹ ±۲۱۷	−۹۷۴ ±۱۲۷	−۱۱۳۸ ±۱۴۹	−۱۰۵۴,۸ ±۱۱۷	−۱۰۱۴±۱۵۰
حلال دارو	−۱۹۰۹ ± ۲۶۴	−۱۰۵۰± ۲۴۸	−۱۱۹۹ ±۱۹۸	−۱۱۵۱ ±۱۰۹	−۱۱۰۶ ± ۹۳
دریافت کننده دارو	−۱۸۶۳ ± ۲۵۹	−۱۸۶۳ ±۳۴۲	−۱۵۶۳,۱± ۱۹۶	−۱۳۴۳,۱ ±۱۱۰	−۱۳۰۱ ± ۸۹

* P<۰/۰۵ و** P <۰/۰۵ گروه مربوطه در مقایسه با گروه کنترل در همان زمان

داده ها بصورت انحراف معیار ± میانگین (Mean±SEM) برای هر گروه بیان شده است.

جدول ۲. تغییرات میروسکوپیک نوری مشاهده شده در گروههای آزمایشی

	نوع ضایعه میکروسکوپی مشاهده شده		
گروه های مورد آزمایش	ادم	التهاب	نکروز
گروه شم	–	–	–
گروه کنترل	+++	+++	+++
گروه حلال دارو	+++	+++	+++
گروه دریافت کننده دارو	++	+	–

– : بدون تغییر، تعداد+ : شدت آسیب را نشان می دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

۴- بحث

در این مطالعه مبودیپین، بلوکه کننده کانال کلسیمی از دسته دی هیدروپیریدینی ها را به عنوان عامل آماده سازی قبلی (Precondstioning) به کار بردیم، دریافتیم که باعث بهبود عملکرد انقباض قلبی،کاهش فشار انتهای دیاستولی و میزان کنتراکچر بدنبال ایسکمی- پرفیوژن مجدد در قلبهای ایزوله موشهای صحرایی گردید همچنین مبودیپین منجر به کاهش واضح شدت آسیب بافتی میوکارد در گروه دارو نسبت به گروه کنترل گردید. پرفیوژن مجدد میوکارد بدنبال ایسکمی، منجر به تسریع و افزایش آسیب بافت می شود که بستگی به طول مدت ایسکمی دارد (۲۰) مکانیسم های دقیق آسیب ناشی از پرفیوژن به طور دقیق مشخص نشده است ولی احتمالاتی مثل افزایش کلسیم داخل سلولی، افزایش آزاد شدن رادیکالهای آزاد، اختلال در اندوتلیوم عروقی، افزایش فعالیت نوتروفیلها و تجمع پلاکتی دخیل هستند (۲۳-۲۱). نشان داده شده است که بوسیله بلوک کنند های کانالهای کلسیمی از طریق کاهش غلظت کلسیم داخل سلولی، آسیب سلولی تضعیف شده است. توافق مستدلی در متون هست که میانجی نهایی آسیب سلولی، کلسیم است و غلظت کلسیم داخل سلولی هم در طول ایسکمی و هم در طول پرفیوژن مجدد افزایش می یابد(۳). مطالعات نشان داده اند که عوامل آماده سازی قبلی (Precondstioning) و آماده سازی بعدی (Postcondstioning) به همراه مکانیسم های حمایت کننده داخلی در مقابل آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد مقابله می کنند(۲۴). در یک مطالعه نشان داده شد ه است که بینیدیپین و مانیدیپین به عنوان آنتاگونیست های دی هیروپیریدینی کلسیم باعث حفاظت میوکارد بدنبال ایسکمی-پرفیوژن مجدد در قلب ایزوله خرگوش گردیدند(۴). همچنین نیفدیپین، داروی دیگری از این دسته، توانسته است عملکرد قلبی بدنبال ایسکمی-پرفیوژن مجدد را بهبود بخشیده و میزان وسعت ناحیه انفارکته را کاهش دهد(۶). درمان با آملودیپین بصورت دراز مدت، شدت آسیب میوکاردی در خرگوشهای با تغذیه کلسترول را می تواند کاهش دهد که این کاهش در ارتباط با کاهش میزان کلسیم و کاهش تجمع لکوسیتی در میوکارد با ایسکمی- جریان مجدد می تواند باشد(۵). این یافته ها مشابه نتایج مطالعه حاضر می باشد که اثر مبودیپین به عنوان یک داروی جدید از دسته دی هیدروپیریدینی را در این زمینه بررسی کرده است. مانیدیپین و آملودیپین از طریق افزایش بیان eNOS (آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز) فعالیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانتی دارند و علاوه بر دارا بودن تاثیر پایین آورندگی فشار خون، دارای خاصیت حفاظت عروقی نیز هستند(۲۵،۸). در مطالعه دیگری گزارش شده است که وقتی نیفدیپین قبل و بعد از بلوک قلبی اضافه شد دارای اثرات حفاظتی قلبی بدنبال ایسکمی- پرفیوژن مجدد بوده است که این اثر می تواند از طریق مهار ورود کلسیم به سلول از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ و کاهش تولید رادیکالهای آزاد باشد(۲۶). میزان بهبود مکانیکی قلب با میزان تجمع کلسیم در داخل سلول و طول مدت ایسکمی در ارتباط است (۲۷)، بنابراین مهار ورود کلسیم به داخل سلول از طریق بلوک کانالهای کلسیمی می تواند شدت آسیب را کاهش دهد. اقزایش کلسیم داخل سلولی باعث ایجاد کنتراکچر در طول پرفیوژن مجدد می گردد(۲،۲۸). در مطالعه حاضر چون حجم بالون داخل بطن چپ در طول ایسکمی و پرفیوژن مجدد در حین انجام آزمایش ثابت بود، افزایش LVEDP منعکس کننده افزایش در میزان سفتی و سختی دیواره بطن چپ یا کنتراکچر است که مبودیپین از افزایش بیش از حد LVEDP در دوره پرفیوژن مجدد جلوگیری کرد، بنابراین مبودیپین میزان کنتراکچر را کاهش داده و در نتیجه باعث کاهش قابل ملاحظه ای در میزان نکروز متعاقب کنتراکچر(۲) گردد. فاکتورهای آزاد شده از اندوتلیوم در خودتنظیمی پرخونی واکنشی عروق کرونری موثرهستند و اختلال اندوتلیال در عرض ۲/۵ دقیقه بعد از پرفیوژن مجدد اتفاق می افتد و این اختلال می تواند در ایجاد آسیب پرفیوژن مجدد دخیل باشد(۲۸). مبودیپین بعلت داشتن اثر گشادکنندگی عروق کرونری (۱۰)، می تواند باعث کمتر شدن آسیب اندوتلیوم و درنتیجه باعث کمتر شدن آسیب پرفیوژن مجدد شود. نشان داده شده است که بلوکرهای کانالهای کلسیمی که دارای اثرات انتخابی بیشتری برروی عروق هستند دارای عمل حفاظتی قلبی بدنبال ایسکمی- جریان پرفیوژن هستند(۲۶). این امر ناشی از این حقیقت است که پتانسیل استراحت غشایی عروق بیشتر از سایر نواحی میوکارد است. از آنجایی که پتانسیل استراحت غشایی نواحی ایسکمیک قلبی بیشتر از نواحی غیر ایسکمیک است(۱۱)، بنابرین بلوک کردن انتخابی کانالهای کلسیمی برروی نواحی ایسکمیک دپلاریزه شده، از افزایش بار کلسیمی در این نواحی جلوگیری کرده و درنتیجه آسیب سلولی را کاهش میدهد(۲۶). این احتمال وجود دارد که مبودیپین با داشتن ویژگی با قدرت انتخابی زیادترعروقی، ترکیبی با کارآیی بیشتر محافظت قلبی باشد (۱۱). گزارش شده است که میزان جذب خوراکی مبودیپین در مقایسه با سایر داروهای مشابه مثل نیفدیپین آهسته بوده و این امر باعث می شود که افزایش غلظت پلاسمایی بلوکر کانال کلسیمی تدریجی باشد و در نتیجه عوارض جانبی که

Archive of SID

www.SID.ir

با مصرف سایر بلوکرهای کانالهای کسیمی دیده میشود مانند تاکیکاردی رفلکسی، سردرد، سرخ شدن صورت، سرگیجه کم شود(۱۱). اثرات حفاظتی قلبی مبو دیپین ممکن است به علت اثر مستقیم آن درجلوگیری از افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی و کاهش میزان کنتراکچر، کاهش نیاز به ATP و اکسیژن و افزایش میزان جریان خون کرونری باشد. همچنین مبودیپین می تواند از طریق مکانیسم های حفاظتی دیگری که به سایر داروهای بلوک کننده کلسیمی نسبت داده میشود مانند، افزایش میزان NO (۲۹)، دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانتی و درنتیجه کاهش تولید رادیکالهای آزاد اثرات حفاظتی خود را بر روی بافت قلبی اعمال کند که در این زمینه مطالعات تکمیلی لازم است انجام شود.

۵- نتیجه گیری

مبودیپین با افزایش در LVDP و میزان قدرت انقباضی قلب نسبت به گروه کنترل و هم چینن با کاهش فشار LVEDP و میزان ادم، نفوذ سلولهای التهابی و درجه نکروز بافت میوکارد، اثرات محافظتی خود را بر علیه آسیب های ایسکمی –پرفیوژن مجدد را به طور قابل ملاحظـــه ای اعمال نمود. به نظر می رسد مبودیپین در پاتوفیزیولوژی ایسکمی قلبی و درمان عوارض برقراری پرفیوژن مجدد مبودیپین داروی مفید و مناسبی باشد.

۶- تشکر و قدردانی

هزینه انجام این طرح توسط مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات کاربردی- دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین شده است.

References:

1. Ferdinandy P., Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning, British Journal of Pharmacology, 2003, 138: 532 -543.
2. Moens A.L., Claeys M.J., Timmermans J.P., Vrints M. Myocardial ischemia/reperfusion-ingury, a clinical view on a complex pathophysiological process, International Journal of cardiology, 2005, 100: 179-190.
3. Becker B.F., Mobert J. Low-dose calcium anagonists reduce energy demand and cellular damage of isolated hearts during both ischemic and reperfusion, Naunyn-schmiedebergs Arch pharmacol., 1999, 360: 287-294.
4. Sakaguchi M., Shibata T., Ahattori K., Hirai H., Hosono M., Aoyama T., Ikuta T., Bito Y., Suehiro S. Orally admineistered benidipine and manidipine prevent ischemia-reperfusion injury in the rat heart, Circulation Journal, 2004, 68: 241-246.
5. Hoshida S., Yamashita N., Kuzuya T., Hori M. Reduction in infarct size by chronic amlodipine treatment in cholesterol-fed rabbits, Atherosclerosis, 1998, 138: 163–170.
6. Asanuma H., Kitakaze M., Funaya H., Takashima S., Minamino T., Node K., Sakata Y., Asakura M., Sanada S., Shinozaki Y., Mori H., Kuzuya T., Tada M., Hori M. Nifedipine limits infarct size via NO-dependent mechanisms in dogs, Basic Research Cardiology, 2001, 96(5): 497-505.
7. Katsumata N., Ma X., Higuchi H. Protective effect of diltiazem against ischemia-induced decreases in regional myocardial flow in rat heart, European Journal of Pharmacology, 2000, 398: 83–91.
8. Nishiya D., Enomoto S., Omura T., Matsumoto R., Kusuyama T., Izumi Y., Iwao H., Takeuchi K., and Yoshiyama M. The Long-Acting Ca^{2+}-Channel Blocker Azelnidipine Prevents Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction, Journal Pharmacology Science, 2007, 103: 391 – 397.
9. Sperlakis N. Ischemic Preconditioning: Description, Mechanism, and Significance, In: Heart physiology and pathophysiology. 4th ed., Elsevier Inc, 2001, 867-885,856,
10. Rouzrokh A. Effect of mebudipine and dipodipine, two new channel blickers on voltage-activated calcium current ig pc12 cells, Acta physiological Hungury, 2007, 94(3):199-207.
11. Mirkhani H., Dirin M., and Yossef –Zayeh I. mechanism of vasoselective action of mebodipin, a new calcium channel blocker, Vascular Pharmacology, 2004, 42; 23-29 .
12. Monika S.S., Isolated heart perfusion according to Langendorff-Still viable in the new millennium, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2007, 55: 113–126.
13. Badalzadeh R., Norouzzadeh A., Heydari A., Asgari AR., Khoshbaten A. Effects of low-level of lead exposure on blood pressure and function of the rat isolated heart, Indian Journal of Pharmacology, 2008, 48 (2): 69-72.
14. Hisako O., Kurita T., Sato S. The cardioprotective effect of dexmetomidine on global ischaemia in isolated rat heart, Resuscitation, 2007, 74(3): 538-545.
15. Deyi X. The cardioprotective effect of isosteviol on rats with heart ischemia-reperfusion injury, Life Sciences, 2007, 80: 269–274.
16. Mohanty I., Singh A.D and Kumar G.S. Effect of Curcuma longa and Ocimum sanctum on myocardial apoptosis in experimentally induced myocardial ischemic-reperfusion injury, BMC Complementary and Alternative Medicine, 2006, 6(3): 1-12
17. Hayward R., Ruangthai R., Karnilaw P., Chicco A., Strange R., McCarty H., Westerlind KC. Attenuation of homocysteine-induced endothelial dysfunction by exercise training, Pathophysiology, 2003, 9: 207–214.
18. Hoon K.S., Yu C.W., Lee S.K., Choe H., Chung M.J., Kwak Y.G.,Chae S.W., and Song H.S., Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart, Anesthesia & Analgesia,1997, 85: 719-24.
19. Acikel M., Emin M., Erol MK. Protective effecct of melatonin against myocardial injury induced by isoproterenol in rats, Journal Pineal Research, 2003, 35: 75-79.
20. Hearse D.J. Reperfusion of the ischemic myocardium, J. Mol. Cell Cardi., 1977, 9: 605–616.
21. Piper H.M., Garcia-Dorado D., Ovize M. A fresh look at reperfusion injuy, Cadiovascular Research, 1998, 38: 291–300.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Nayler W.J., Buckley D.J., Leong J. Calcium antagonists and the stunned myocardium, Cardioscience, 1990, 1: 61–64.
23. He W., Zhu F., Wang S., Gang C., Chen C., Yan M. Postconditioning of sevoflurane and propofol is associatd with mitochondrial permeability transition pore, Journal of Zhejiang University Science, 2008, 9(2): 100–108.
24. Lochner A., Genade S., Tromp E., Theron S., and Trolip G. postcardiopelgia myocardial recovery: Effects of halothane, nifedipine, HOE 694, and quinacrine, Cardiovascular Drugs and Therapy, 1998, 12: 267-277.
25. Enring T., Bohm M., Heusch G. The calcium antagonist nisoldipine improves functional recovery of reperfused myocarhum only given before ischemia, Journal cardiovascular Pharmacology, 1992, 20: 63-74.
26. Ko S., Yu C., Lee S., Choe H., Chung M.J., Kwak Y.G., Chae S.W., Song H.S. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart, Anesthesia & Analgesia, 1997, 185: 719-724.
27. Kitakaze M., Koichi N., Tetsuo M., Hiroshi A., Tsunehiko K., Masatsugu H. A Ca Channel Blocker, Benidipine, Increases Coronary Blood Flowand Attenuates the Severity of Myocardial Ischemia via NO-Dependent Mechanisms in Dogs, Journal American Coll. Cardiology, 1999, 33(1): 242-249.
28. Przyklenk K., Ghafari G.B., Eitzman D.T., Kloner R.A. Nifedipine administration after reperfusion ablates systolic contractile dysfunction of postischemic myocardium, Journal American Coll. Cardiology, 1989, 13: 1176–1183.

Archive of SID

www.SID.ir