Archive of SID

مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۱، شماره‌ی ۸۸ آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ٤٥ تا ٥٥

بررسی تاثیر مستقیم دیازپام بر پارامترهای قلبی (فشار بطن و نوسانات آن، ضربان قلب و میزان جریان مایع کرونری) در قلب مجزا شده موش صحرایی هیپوتیرویید در شرایط ایسکمی ری پرفیوژن

دکتر داریوش شکیبایی[۱]، مریم واعظی[۲]، مهوش حصاری[۳]، عاطفه اسدمبینی[۲]

نویسنده‌ی مسوول: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی m.maryamvaezi@gmail.com

دریافت: ۹۱/۱۱/۲۵ پذیرش: ۹۲/۵/۷

چکیده

زمینه و هدف: *هیپوتیرویید‌یسم قدرت انقباض و ضربان قلب را کاهش می‌دهد. از آنجایی‌که دیازپام نیزعملکرد قلبی را تعدیل می‌کند، هدف این مطالعه بررسی تاثیر مستقیم دیازپام بر عملکرد قلب مجزا شده موش صحرایی هیپوتیرویید بود.*

روش بررسی: *مطالعه‌ی تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی در ٤ گروه (کنترل، هیپوتیرویید‌ی، کنترل دیازپام و هیپوتیرویید + دیازپام) صورت گرفت. قلب‌های مجزا شده، مطابق روش لانگندورف به‌شکل Retrograde با محلول کربس پرفیوژ و سه مرحله پایه، ایسکمی و ری‌پرفیوژن را گذراندند. پارامترهای عملکردی قلب، از جمله نوسانات فشار بطن چپ، ضربان قلب HR(Heart Rate) و RPP(Rate Pressure Product) سنجش شدند.*

یافته‌ها: *در گروه هیپوتیرویید در مرحله‌ی پایه عملکرد قلب به‌شکل معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل و کنترل دیازپام بود (به‌ترتیب P=۰/۰۱ و P=۰/۰۰۱). درصد افت HR و RPP پس از دریافت دیازپام نسبت به مرحله‌ی پایه در دو گروه کنترل دیازپام و هیپوتیرویید به همراه دیازپام تفاوت معنی‌داری داشت (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۰۲). درصد بازگشت RPP در مرحله‌ی ری‌پرفیوژن در گروه هیپوتیرویید (۵±٦۰ درصد) نسبت به کنترل (۱±۳۸ درصد) و در گروه هیپوتیرویید + دیازپام (۸±۸۷ درصد) نسبت به گروه هیپوتیرویید (۵±٦۰ درصد) افزایش معنی‌داری داشت (به‌ترتیب P<۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۲).*

نتیجه‌گیری: *به‌کار گیری دیازپام در مراحل پایه و ری‌پرفیوژن، تاثیرات ناشی از هیپوتیرویید‌یسم را در موش صحرایی تشدید می‌کند، به‌طوری‌که باعث افت بیشتر عملکرد قلب موش صحرایی هیپوتیرویید در مرحله‌ی پایه و افزایش درصد بازگشت آن در مرحله ری پرفیوژن می‌شود. این تاثیرات احتمالا می‌تواند به‌دلیل اثرات مشترک دیازپام و هیپوتیرویید‌یسم بر کانال‌های کلسیمی نوع L و یا میزان اکسیژن مصرفی در موش صحرایی باشد.*

واژگان کلیدی: هیپوتیرویید‌یسم، قلب مجزا، دیازپام، ایسکمی ری پرفیوژن، موش صحرایی، لانگندورف

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۳- کارشناس ارشد سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

قلب یکی از مهم‌ترین بافت‌های پاسخ دهنده به هورمون‌های تیروییدی محسوب می‌شود (۱). هورمون‌های تیروییدی بر قدرت انقباض و ریتم قلبی تاثیرگذار هستند و این تاثیرات را از طریق تنظیم سیگنال‌های داخل سلولی، که با پاسخ به استرس در ارتباط هستند، اعمال می‌کنند (۲). مشخص شده است که هیپوتیرویییدیسم به‌عنوان یک بیماری شایع کلینیکی بر عملکرد سیستم قلبی ـعروقی تاثیرگذار است، بدین ترتیب که قدرت انقباض و ضربان قلب (HR) در حالت کم کاری تیروییید کاهش می‌یابد (٤و۳). همچنین مشخص شده است که هیپوتیرویییدیسم منجر به افزایش حفاظت قلبی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی‌ـ ری پرفیوژن (تغذیه مجدد) می‌گردد (۵). علاوه برآن مطالعات نشان داده‌اند که بنزودیازپین‌ها نیز دارای تاثیرات مستقیم بر روی کاهش عملکرد قلبی عروقی هستند (٦). دیازپام یکی از مشتقات بنزودیازپین‌ها محسوب شده، دارای استفاده‌های فارماکولوژیک به‌عنوان آرام بخش و شل کننده‌ی عضلات می‌باشد (۷). با توجه به مصارف طبی فراوان دیازپام در جوامع مختلف، جنبه‌های گوناگون اثر این دارو همواره مورد توجه بوده است. در مطالعه‌ی گذشته تاثیرات این دارو بر عملکرد قلب متعاقب ایسکمی- ری پرفیوژن گزارش گردیده است (۸). اساسا مطالعات دیگر نشان داده‌اند لیگاند گیرنده‌های محیطی بنزو دیازپین (Peripheral Benzodiazepine Receptors) از جمله دیازپام می‌تواند در شرایط هیپوتیرویییدیسم تاثیرات متفاوتی در سطح سلولی از جمله سلول‌های قلبی داشته باشد. مکانیسم‌های مختلفی برای این روند پیشنهاد شده است، ازجمله عنوان شده که تغییر تاثیرات سلولی لیگاند می‌تواند به‌دلیل تغییر در افینیتی، تغییر در تراکم گیرنده‌های بنزودیازپینی و تغییر در چرخه‌ی کلسیم سلول باشد (۱۰و۹). اختلال ناشی از ایسکمی قلبی با تغییر فسفریلاسیون اکسیداتیو به گلیکولیز بی‌هوازی همراه با تولید اسید لاکتیک و اسیدی شدن داخل سلول می‌باشد (۱۱). بنابراین، با توجه به اینکه بنزودیازپین‌ها و هیپوتیرویییدیسم هر دو بر عملکرد سیستم قلبی عروقی تاثیر گذار هستند، و به‌دلیل همپوشانی مکانیسم‌های درگیر در این تاثیرات، این سوال مطرح می‌گردد که به‌کارگیری دیازپام در حضور هیپوتیرویییدی چه تاثیراتی بر عملکرد قلبی در شرایط عادی و همچنین ایسکمی ری پر فیوژن بر جای خواهد گذاشت. این مساله در مطالعات گذشته مورد بررسی قرار نگرفته بود و مطالعه‌ی حاضر به منظور یافتن پاسخ این سوال صورت گرفت.

روش بررسی

این مطالعه، تجربی بوده و موش‌های صحرایی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۳۰ سر موش سفید نر بالغ نژاد ویستار (wistar) دارای وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم بودند و از موسسه‌ی تحقیقاتی سرم سازی کرج تهیه و در حیوانخانه‌ی دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه نگهداری شدند. تمامی حیوانات مورد استفاده در این مطالعه مراقبت‌های انسانی مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت از حیوانات سازمانی را دریافت کردند. این موش‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب شده و به چهار گروه تقسیم گردیدند.

جهت القای هیپوتروییدیسم داروی پروپیل تیوراسیل (Iran hormone company) و جهت اعمال بیهوشی داروی پنتوباربیتال سدیم (Sigma, Steinheim, Germany) به‌کار برده شد به‌علاوه از داروی (Chemi Darou- Pharmaceuticals Co. Ltd. Tehran, Iran) دیازپام نیز در این مطالعه استفاده گردید.

گروه بندی حیوانات: کنترل (n=۸): این گروه با آب و غذای معمولی تغذیه شدند. گروه هیپوتیرویید (n=۷): در این گروه به‌منظور القای هیپوتیرویییدیسم پروپیل تیوراسیل به میزان ۰/۱ گرم بر لیتر به آب آشامیدنی اضافه شد، این آب به مدت ۳۰

www.SID.ir

Archive of SID

روز در اختیار رت‌ها قرار گرفت (۱۲). گروه کنترل دیازپام (n=۸) در این گروه به مدت ده دقیقه قبل از ایسکمی دیازپام ۱۰۰ میکرومول بر لیتر (۸) به‌محلول پرفیوژن اضافه گردید. گروه هیپوتیروئید+دیازپام: این گروه تیماری مشابه با گروه هیپوتیروئید داشتند با این تفاوت که ده دقیقه قبل از شروع ایسکمی، دیازپام ۱۰۰ میکرومول بر لیتر به محلول پرفیوژن اضافه گردید.

آماده سازی قلب مجزا شده: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پنتوبار بیتال سدیم بیهوش شدند. سپس مورد عمل جراحی برش قفسه‌ی سینه و جداسازی قلب قرار گرفتند. بلافاصله پس از جداسازی، قلب‌ها در محلول کربس سرد (۴-۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار داده شدند و به سرعت آئورت به کانول دستگاه متصل گردید. قلب‌ها مطابق روش لانگندورف و به شکل Retrograde با محلول کربس حاوی $NaCl$= ۱۱۸، $CaCl_2$= ۱/۲، KCl = ۴/۸، $NaHCO_3$= ۲۵، Glucose= ۱۱، KH_2PO_4 ۱/۲ و $MgSO_4$= ۱/۲ بر حسب میلی مول در لیتر پرفیوژ شدند. بافر ذکر شده پس از مخلوط شدن با گاز اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد) با pH=۷/۴ و دمای ۳۷ درجه و فشار هیدروستاتیک ثابت ۶۵ میلی‌متر جیوه برای تغذیه‌ی قلبی مورد استفاده قرار گرفت. یک بالون پلاستیکی کوچک محتوی آب از طریق دهلیز چپ و دریچه میترال به بطن چپ قلب وارد گردید. این بالون از طریق یک کاتتر به pressure transducer مدل MLT ۸۴۴ (AD Instruments, New South Wales, Australia) و از طریق Bridge Amp آن به Power Lab مدل ML۸۲۵ (AD Instrument, New South Wales, Australia) و سپس به رایانه متصل بود. حجم بالون به گونه‌ای تنظیم شد که فشار پایان دیاستولی ۵ تا ۱۰ میلی‌متر جیوه تامین گردد. این حجم طی مطالعه، ثابت نگاه داشته شد. بدین ترتیب، امکان سنجش معیارهای مختلف عملکردی قلب از جمله نوسانات فشار بطن چپ (LVDP: Left Ventricular Developed Pressure) که برابر است با فشار سیستولیک بطنی منهای فشار دیاستولیک آن بر حسب میلی‌متر جیوه و نیز تعداد ضربان قلب در دقیقه (Beats Per (Minute فراهم گردید. همچنین معیار عملکرد قلبی موسوم به Rate Pressure Product (RPP) که برابر است با حاصلضرب نوسانات فشاری بطن چپ در تعداد ضربان قلب در دقیقه، محاسبه گردید. برای سنجش میزان جریان مایع کرونری Coronary Solution Flow (CSF) از روش اندازه‌گیری مستقیم با به‌کارگیری سیلندر مدرج استفاده شد (۱۴و ۱۳). اطلاعات پایه پس از ۲۰ دقیقه دوره‌ی تثبیت اولیه (Stabilization) ثبت شدند. در دو گروه کنترل دیازپام و هیپوتیرویید+دیازپام قلب‌های مجزا به مدت ده دقیقه قبل از ایسکمی با محلول کربس محتوی ۱۰۰ میکرومولار دیازپام (۸) تغذیه شدند. سپس قلب‌ها وارد مرحله‌ی دوم یعنی دوره‌ی ایسکمی شدند و به مدت ۴۰ دقیقه در این مرحله باقی ماندند. در این مرحله تغذیه یا پرفیوژن متوقف و قلب در یک محفظه‌ی محتوی کربس با حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد غوطه‌ور شد. بدین ترتیب قلب در این دوره تحت ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global Normothermic Ischemia) قرار گرفت. سپس تغذیه مجدد (Reperfusion) به مدت ۴۵ دقیقه ادامه یافت (۸).

سنجش هورمون‌های تیروییدی: در این مرحله هورمون‌های تیروییدی (میزان T_4 و T_3 سرم) در گروه دریافت کننده‌ی پروپیل تیوراسیل و همچنین در گروه کنترل توسط روش Electro Chemi Luminescence (ECL) به کمک دستگاه (Elecsys ۲۰۱۰, Roche Hitachi, Germany) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: نتایج به‌صورت متوسط میانگین±خطای معیار از میانگین ارایه شده‌اند. مقایسه‌ی بین داده‌ها با استفاده از Unpaired t-test و آزمون آنالیز واریانس با Tukey Post Test

www.SID.ir

Archive of SID

انجام شد و P<۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Instat, version ۳/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری هورمون‌های تیروییدی: داده‌های حاصل از سنجش هورمون‌های تیروییدی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد، سطح هورمون‌های تیروییدی سرم خون در گروه هیپوتیروییدی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت و این کاهش در سطح هر دو هورمون تیروییدی T٤ و T۳ دیده شد. بدین ترتیب که میزان هورمون‌های T٤ و T۳ در گروه هیپوتیروییدی به شکل معنی‌داری (P= ۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل کمتر بود.

جدول ۱: داده‌های حاصل از سنجش هورمون‌های تیروییدی در گروه تست و کنترل

گروه‌ها / هورمون‌ها	کنترل	هیپوتیروییدی
(n=٦) T٤	۳/۳ ±۰/۲	*۰/۷ ±۰/۰۳
(n=٦) T۳	۱/۳ ±۰/۸	*۰/٦۳ ±۰/۰۲

این نتایج نشان داد که حیوانات پس از دریافت پروپیل تیوراسیل با دوز و مدت ذکر شده، دچار هیپوتیروییدیسم گردیده‌اند.

بررسی عملکرد قلبی: مقادیر مختلف پارامترهای قلبی (HR, LVDP, CSF and RPP)، در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: پارامترهای مختلف عملکردی قلب در گروه‌های مختلف در دوره‌های پایه و دهمین دقیقه‌ی پرفیوژن دیازپام

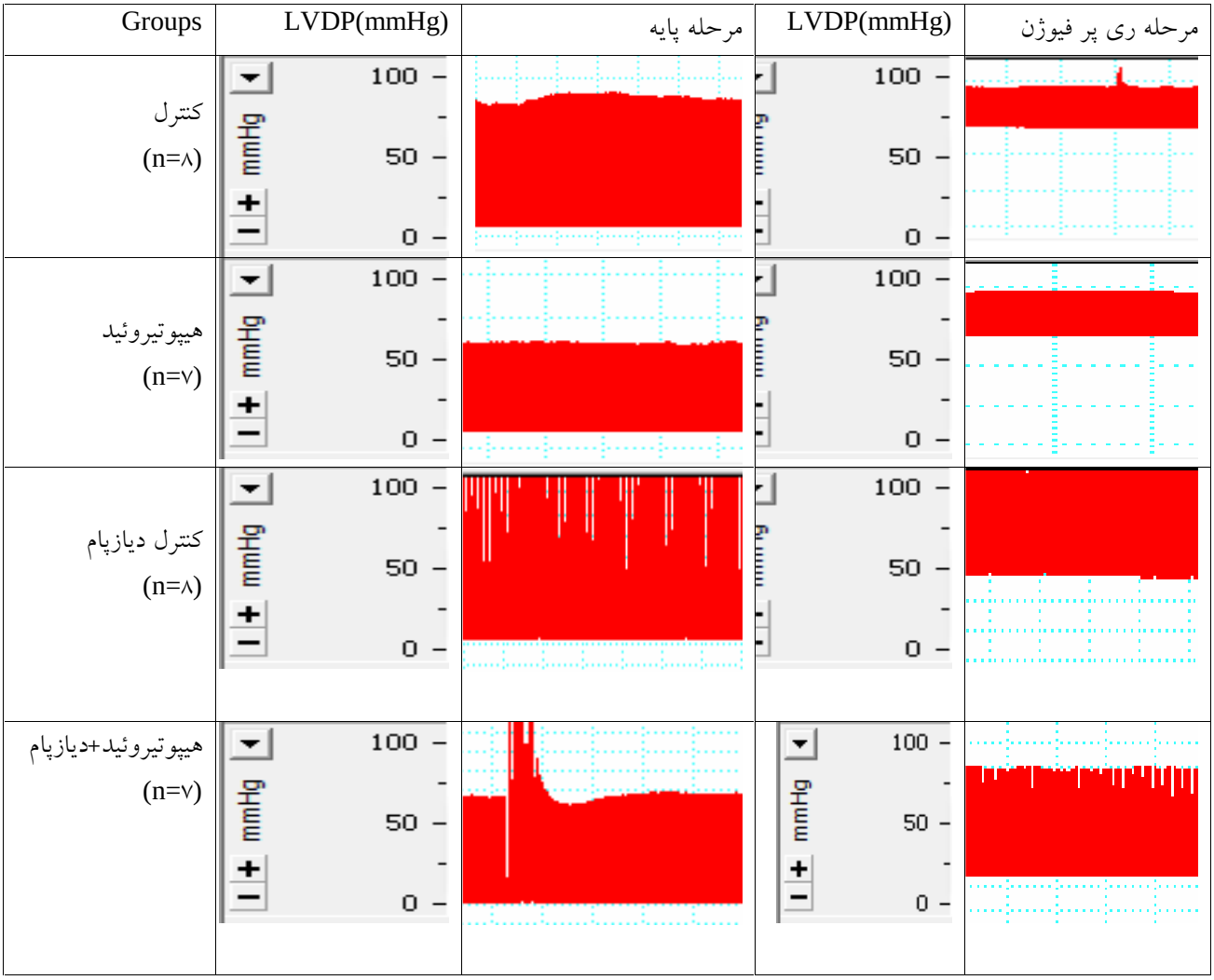
پارامترها / گروه‌ها	مرحله‌ی پایه				دهمین دقیقه‌ی پرفیوژن دیازپام			
	LVDP	HR	CSF	RPP	LVDP	HR	CSF	RPP
کنترل (n=۸)	۷۸±۲	۲٦۷±۳	۱۰±۰/۵	۲۱۲۰۹±٤۳٤	۸۰±۳	۲۵۰±۷	۱۰±۰/۵	۲۰۰۹۰±٦۳۵
هیپوتیرویید (n=۷)	۷۱±۱	×۱۷۵±۱۳	۹±۱	××۱۲٤۱٦±۷۹۲	۷۳±۳	۱۹٤±۱۳	۷±۰/٦	×××۱۳۵٤۸±٦۳٤
کنترل دیازپام (n=۸)	۸٤±۸	۲۸۱±۲۸	۱۱±۰/٦	۲۲۳٤۸±۱۰۹۲	۸٤±۷	۲۱٤±۲۷	۱۲±۰/٦	$۱٦٦٤۸±۱۲۰۷
هیپوتیرویید+ دیازپام (n=۷)	۷۵±۵	۱۹۳±۸	۹±۰/۱	##۱٤٤۰۳±۸٦٦	٦٤±۸	۱٤۳±۱۵	۹±۰/٤	### ۱۰۱۱۵±۵۳۲

پارامترهای عملکردی قلب شامل RPP (حاصل‌ضرب ضربان قلب در فشار بطن چپ)، CSF (جریان مایع کرونر)، HR (ضربان قلب) و LVDP (نوسانات فشار بطن چپ)، در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون ANOVA مورد مقایسه قرار گرفتند. مقادیر به‌صورت، میانگین ± خطای معیار ارایه شده است. P=۰/۰۱ * در مقایسه با کنترل و P<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل دیازپام، P=۰/۰۰۱ ** در مقایسه با کنترل و کنترل دیازپام، P=۰/۰۰۱ ## در مقایسه با کنترل و کنترل دیازپام، P=۰/۰۰۱ ***، $P<۰/۰۵ و P=۰/۰۰۱ ### در مقایسه با کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

علاوه بر آن میزان نوسانات فشار بطن چپ نیز به صورت گراف در گروه‌های کنترل و تست نمایش داده شده است (گراف ۱). میزان HR و RPP در مرحله‌ی پایه در گروه هیپوتیرویید به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و کنترل دیازپام پایین‌تر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۱ و P=۰/۰۰۱) که نشان دهنده‌ی عملکرد پایین قلب در شرایط هیپوتیرویدی است.



گراف ۱: نمونه‌ای از گراف‌های ثبت شده نوسانات فشار بطن چپ (LVDP:Left Ventricular Developed Pressure) توسط دستگاه Power Lab در گروه‌های کنترل و تست قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض ۴۰ دقیقه ایسکمی کلی با درجه‌ی حرارت طبیعی

همچنین میزان تغییرات HR و RPP از طریق اندازه‌گیری نسبت آن‌ها در مرحله‌ی به‌کارگیری دیازپام به مرحله‌ی پایه محاسبه گردید. نتایج نشان داد که میزان HR در گروه کنترل دیازپام ۵ ± ۲۲ درصد و در گروه هیپو+دیازپام ۷±۲۵ درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه افت پیدا کرد و میزان این افت در گروه هیپو+دیازپام به شکل معنی‌داری (P=۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل دیازپام بیشتر بود. از طرفی میزان پارامتر عملکردی قلب (RPP) نیز در این دو گروه به ترتیب افت ۳±۲۴ و ۹±۲۹ درصدی را بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه نشان داد که تفاوت معنی‌داری از این نظر

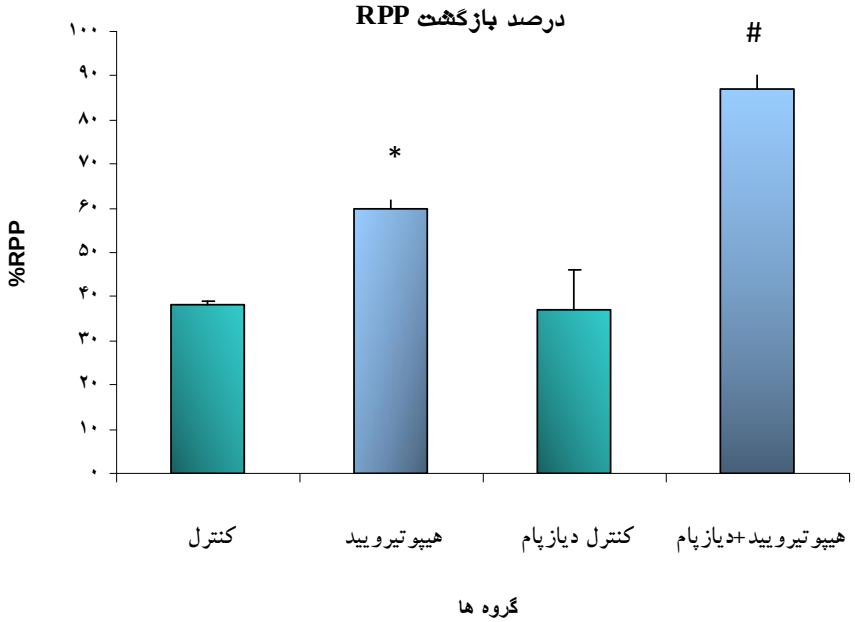
www.SID.ir

Archive of SID

بین این دو گروه وجود داشت (P<۰/۰۰۲). در واقع این یافته‌ها نشان دهنده‌ی افت عملکرد قلبی در حضور دیازپام می‌باشد. همچنین یافته‌ها نشان دهنده‌ی تشدید معنی‌دار افت عملکرد قلبی ناشی از دیازپام در قلب‌های هیپوتیرویید می‌باشد. در واقع هرچند که در هر دو گروه به‌کارگیری دیازپام موجب افت عملکرد قلبی (HR) گردید، اما این افت در گروه هیپوتیرویید به میزان بیشتری رخ داده است.

درصد بازگشت عملکرد قلبی در مرحله ری پرفیوژن:

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد درصد بازگشت RPP، از طریق نسبت RPP در چهل و پنجمین دقیقه‌ی ری‌پرفیوژن به دقیقه‌ی بیستم مرحله‌ی پایه محاسبه گردید. نتایج حاصل از آزمون Unpaired T-Test نشان داد که درصد بازگشت RPP در گروه هیپوتیرویید به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (P<۰/۰۰۰۱). این یافته در واقع نشان دهنده‌ی کاهش آسیب ناشی از ایسکمی و ری پرفیوژن در قلب‌های هیپوتیرویید است. از طرف دیگر درصد بازگشت عملکرد قلبی در گروه هیپو+دیازپام بیشتر از سایر گروه‌ها بوده و حتی در مقایسه با گروه هیپوتیرویید به شکل معنی‌داری بالاتر است (P=۰/۰۲). به عبارت دیگر، هر چند که به‌کارگیری دیازپام به تنهایی موجب حفاظت معنی‌داری در عملکرد قلب متعاقب ایسکمی و ری پرفیوزن نشده است، اما نتایج حاکی از آن است که حفاظت قلبی ناشی از هیپوتیروییدیسم در حضور دیازپام به شکل معنی‌داری افزایش یافته است. مقادیر T٤ بر حسب میکروگرم بر دسی‌لیتر و مقادیر T۳ بر حسب نانومول بر لیتر بیان شده است. مقادیر به دست آمده از آزمون‌های آماری T-Test Unpaired به‌صورت میانگین ± خطای معیار ارایه شده است. (P= ۰/۰۰۱* در مقایسه با گروه کنترل).



نمودار ۱: درصد بازگشت پارامتر عملکردی قلب (RPP; Rate Pressure Product) در گروه‌های آزمایش. مقادیر به‌دست آمده به‌صورت میانگین ± خطای معیار ارایه شده است. P<۰/۰۰۰۱* در مقایسه با گروه کنترل، P=۰/۰۲# در مقایسه با گروه هیپوتیرویید

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که به‌کارگیری دیازپام (۱۰۰ μM) در قلب‌های مجزا شده‌ی موش‌های هیپوتیریید، منجر به تشدید تاثیرات قلبی ناشی از کم کاری تیروییید می‌گردد. همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد، هیپوتیریییدیسم باعث کاهش معنی‌دار پارامتر عملکردی قلب (RPP) و ضربان قلب (HR)، در مقایسه با گروه کنترل شده است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که هیپوتیروییدیسم منجر به کاهش ضربان قلب (HR) و قابلیت انقباضی آن می‌گردد (٤). از جمله دلایل کاهش قدرت انقباضی کاهش بیان ژن‌های مربوط به تنظیم چرخه‌ی کلسیم شبکه سارکوپلاسمی و افزایش بیان ژن‌های مهار کننده آن‌ها در قلب می‌باشد (۱۵). کانال‌های کلسیمی در رهاسازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی نقش دارند و مطابق با مطالعات انجام شده تعداد این کانال‌ها در حالت کم کاری تیروییید کاهش پیدا می‌کند (١٦). به‌علاوه مشخص شده است که مصرف انرژی در قلب‌های هیپوتیروییدکاهش می‌یابد و این امرناشی از بیان عمده‌ی زنجیره‌ی سنگین میوزین نوع β (β –MHC) (میوزینی با فعالیت ATPase ی کند) در این گونه قلب‌ها می‌باشد (۲). بنابراین نتایج این مطالعه مبنی بر افت پارامترهای عملکردی قلب در شرایط هیپوتیروییدیسم هماهنگ با سایر مطالعات می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که میزان HR در گروه‌های کنترل دیازپام و هیپوتیروییید+دیازپام به ترتیب ۲۲ و ۲۵ درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه افت پیدا کردند. تفاوت معنی‌داری از نظر درصد افتHR، بین این دو گروه مشاهده گردید، از طرفی میزان پارامتر عملکردی قلب (RPP) نیز در این دو گروه به‌ترتیب ٢٤ و٢٩ درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه، افت نشان دادند که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین این دو گروه وجود داشت. یافته‌های فوق نشان دهنده‌ی تشدید اثرات منفی ناشی از هیپوتیروییدیسم در حضور دیازپام است. در مطالعات پیشین، اثرات قلبی دیازپام گزارش شده است که وابسته به غلظت بوده است (۷). یافته‌ها نشان دهنده‌ی این نکته است که دیازپام تاثیر منفی بر عملکرد قلب داشته که این تاثیر در قلب‌های هیپوتیروییید به شکل معنی‌داری بیشتر می‌باشد (جدول ۲). طبق مطالعات گذشته مهار کانال‌های کلسیمی نوع L، به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم برای کاهش عملکرد قلبی ناشی از دیازپام پیشنهاد گردیده است (۱۷). در واقع، جریان کلسیم از طریق کانال‌های نوع L از اهمیت بالایی در قلب برخوردار است (۱۸). کانال‌ها در شرایط هیپوتیروییدیسم نیز تحت تاثیر قرار گرفته به نحوی که کاهش دانسیته‌ی این کانال‌ها در شرایط هیپوتیروییدیسم و کاهش آزاد سازی کلسیم گزارش شده است (۱۹و ١٦). به‌علاوه مشخص شده که هیپوتیروییدیسم منجر به ایجاد اختلال گیرنده‌های دی‌هیدروپیریدینی می‌گردد (۲۰). گیرنده‌ی دی‌هیدروپیریدینی یک نوع از کانال‌های کلسیمی نوع L با پنج زیر واحد می‌باشد (۲۱). در کل مطالعات گذشته نشان دادند که هیپوتیروییدیسم و دیازپام هردو بر روی عملکرد کانال‌های نوع L تاثیر می‌گذارند. علاوه بر آن گزارش شده است که دیازپام در غلظت‌های بالا موجب مهار مصرف اکسیژن و هم‌چنین مهار فعالیت ATPase ی میتوکندری می‌گردد (۲۲). بدین‌ترتیب احتمال تاثیر منفی دیازپام بر عملکرد قلبی از طریق این مکانیسم نیز وجود دارد. هرچند به دلیل محدودیت در مطالعه‌ی فعلی کانال‌های کلسیمی و میزان اکسیژن مصرفی اندازه‌گیری نشده‌اند؛ اما با توجه به یافته‌های مطالعات پیشین چنین به نظر می‌رسد که تاثیرات منفی دیازپام در شرایط هیپوتیروییدی می‌تواند از طریق مکانیسم‌های فوق‌الذکر توجیه گردد. در مرحله‌ی ری پرفیوژن نیز یافته‌ها نشان دادند هیپوتیروییدیسم موجب افزایش معنی‌دار درصد بازگشت RPP و بهبود عملکرد قلبی شده است. مطالعات گذشته کاهش آسیب ناشی از ایسکمی و ری‌پرفیوژن را در

www.SID.ir

Archive of SID

قلب‌های هیپوتیرویید، به کاهش نیاز به انرژی و افزایش انرژی قابل دسترس در این گونه قلب‌ها نسبت داده‌اند (۲). از طرفی مشخص شده است که این قلب‌ها دارای کارایی بالاتر و مصرف اکسیژن کمتر به منظور فعالیت مکانیکی خود هستند. به‌علاوه نشان داده شده که سطوح ATP، طی روند ایسکمی در این گونه قلب‌ها آهسته‌تر کاهش پیدا می‌کند (۲۳). در مطالعه‌ی دیگر عنوان شده که افزایش بیان برخی از مولکول‌های درون سلولی مثل ایزوفرم‌های پروتیین کیناز c (PKc) در قلب‌های هیپوتیرویییدیسم نقش بسیار مهمی در حفاظت این‌گونه قلب‌ها در برابر استرس ناشی از ایسکمی دارند (۲٤). همانطور که اشاره شد نتایج این مطالعه نشان داد که به‌کارگیری دیازپام (۱۰۰ µM) باعث بهبود بازگشت عملکرد قلبی متعاقب ایسکمی و ری‌پرفیوژن نسبت به گروه هیپوتیرویید شده است. بدین‌ترتیب که درصد بازگشت عملکرد قلبی در گروه هیپوتیرویید+دیازپام به شکل معنی‌داری نسبت به گروه هیپوتیرویید بیشتر بود. در واقع، حفاظت قلبی ناشی از هیپوتیرویییدیسم با به‌کارگیری دیازپام تشدید شده است (نمودار ۱). همانگونه که ذکر شد مکانیسم‌های مهار چرخه‌ی کلسیم و همچنین کاهش مصرف اکسیژن ناشی از هیپوتیرویییدی موجب حفاظت قلبی در شرایط ایسکمی و ری‌پرفیوژن می‌باشد. با توجه به مطالعات گذشته تاثیر دیازپام در تشدید این حفاظت قلبی می‌تواند از طریق تداخل این دارو در هریک از مکانیسم‌های فوق از جمله کاهش کلسیم داخل سلولی و یا کاهش مصرف اکسیژن سلولی توجیه شود. هر چند که برای مشخص شدن سهم دقیق هر یک از مکانیسم‌های مذکور نیاز به مطالعات تکمیلی وجود داشته و قضاوت در خصوص مکانیسم دقیق آن با اطلاعات فعلی امکان‌پذیر نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری

حضور دیازپام موجب تشدید تاثیرات قلبی ناشی از هیپوتیرویییدیسم در موش صحرایی شده است. به این ترتیب که در مرحله‌ی پایه تاثیرات منفی هیپوتیرویییدی بر عملکرد قلب با به‌کارگیری دیازپام به شکل معنی‌داری بیشتر شد. از طرف دیگر نشان داده شد که بهبود بازگشت عملکرد قلبی ناشی از هیپوتیرویید در قلب‌هایی که دیازپام دریافت کردند افزایش یافته است.

References

1- Klein I, Ojamma K. Thyroid hormone-targeting the heart. *Endocrinology*. 2001; 142: 11-2.

2- Pantos C, Mourouzis I, Xinaris C, Papadopoulio Z, Cokkinos D. Thyroid hormone and "Cardiac metamorphosis": potential therapeutic implications. *Pharmacol Ther*. 2008; 118: 277-94.

3- Vanderpump MP, Tunbridge WM. Epidemiology and prevention of clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid*. 2002; 12: 839-47.

4- Auer J, Berent R, Weber T, Lassnig E, Eber B. Thyroid function is associated with presence and severity of coronary atherosclerosis. *Clin Cardiol*. 2003; 26: 569-73.

5- Pantos C, Malliopoulou V, Mourouzis I, et al. Propylthiouracil-induced hypothyroidism is associated with increased tolerance of the isolated rat heart to ischaemia-reperfusion. *J Endocrinol*. 2003; 178: 427-35.

www.SID.ir

Archive of SID

6- Baum VC, Palmisano BW. The immature heart and anesthesia. *Anesthesiology*. 1997; 87: 1529-48.

7- Hara Y, Kobayashi H, Ooshiro S, et al. Negative inotropic effect of diazepam in isolated guinea pig heart. *J Vet Med Sci*. 2001; 63: 135-43.

8- Shackebaei D, Godini A, Reshadat S. The effects of diazepam in cardio depressant concentration on the function of isolated rat heart in ischemia-reperfusion. *Saudi Med* J. 2008; 29: 847-53.

9- Kragie L, Smiehorowski R. Altered peripheral benzodiazepine receptor binding in cardiac and liver tissues from thyroidectomized rats. *Life Sci* 1994; 55: 1911-8.

10- Veenman L, Gavish M. The peripheral-type benzodiazepine receptor and the cardiovascular system. Implications for drug development. *Pharmacol Ther*. 2006; 110: 503-24.

11- Marzouk SA, Buck RP, Dunlap LA, Johnson TA, Cascio WE. Measurement of extracellular pH, K(+), and lactate in ischemic heart. *Anal Biochem*. 2002; 308: 52-60.

12- Hapon MB, Varas SM, Jahn GA, Giménez MS. Effects of hypothyroidism on mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. *J Lipid Res*. 2005; 46: 1320-30.

13- Shackebaei D, King N, Shukla B, Suleiman MS. Mechanisms underlying the cardioprotective effect of L-cysteine. *Mol Cell Biochem*. 2005; 277: 27-31.

14- Reshadat S, Nikray R, Alord S, Shackebaei D, Godini A, Hesari M. The effects of acetazolamide on ischemia reperfused isolated hearts of 2- and 8-week-old rabbits. *Saudi Med J*. 2012; 33: 250-5.

15- Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation.* 2007; 116: 1725-35.

16- Arai M, Otsu K, MacLennan DH, Alpert NR, Periasamy M. Effect of thyroid hormone on the expression of mRNA encoding sarcoplasmic reticulum proteins. *Circ Res*. 1991; 69: 266-76.

17- Kanaya N, Murray PA, Damron DS. The differential effects of midazolam and diazepam on intracellular Ca2+ transients and contraction in adult rat ventricular myocytes. *Anesth Analg*. 2002; 95: 1637-44.

18- Zang M, Salam T, Xu YJ, Dahala NS. Modification of ischemia reperfusion induced injury by cardioprotective intervention in myocardial protection. *New York Blackwell*. 2004.

19- Wibo M, Kilar F, Zheng L, Godfraind T. Influence of thyroid status on postnatal maturation of calcium channels, beta-adrenoceptors and cation transport ATPases in rat ventricular tissue. *J Mol Cell Cardiol*. 1995; 27: 1731-43.

20- Wibo M, Feron O, Zheng L, Maleki M, Kolar F, Godfraind T. Thyroid status and postnatal changes in subsarcolemmal distribution and isoform expression of rat cardiac dihydropyridine receptors. *Cardiovasc Res*. 1998; 37: 151-9.

21- Koeppen B, Estenton B. Skeletal muscle physiology. Bern & Levy Physiology. 6rd ed. Andishe Rafie; 2010. p. 284.

22- Vorobjev IA, Zorov DB. Diazepam inhibits cell respiration and induces fragmentation of

www.SID.ir

Archive of SID

mitochondrial reticulum. *FEBS Lett*. 1983; 163: 311-4.

23- Abe M, Obata H, Tanaka H. Functional and metabolic responses to ischemia in the isolated perfused hypothyroid rat heart. *Jpn Circ J*. 1992; 56: 671-80.

24- Cross HR, Murphy E, Bolli R, Ping P, Steenbergen C. Expression of activated PKC epsilon (PKC epsilon) protects the ischemic heart, without attenuating ischemic H (+) production. *J Mol Cell Cardiol*. 2002; 34: 361-7.

www.SID.ir

Archive of SID

The Direct Effect of Diazepam on the Cardiac Parameters (Left Ventricular Developed Pressure, Heart Rate and Coronary Solution Flow) in Isolated Hypothyroid Rat Heart under Schemia Reperfusion Conditions

Shackebaei D[1], Vaezi M[1], Hesari M[1], Asadmobini A[1]

[1]Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Corresponding Author: Vaezi M, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

E-mail: m.maryamvaezi@gmail.com

Received: 13 Feb 2013 **Accepted:** 29 Jul 2013

Background and Objective: Hypothyroidism decreases cardiac contractility and heart rate. Since cardiac function is also modulated by diazepam, the aim of this study was to investigate the direct effect of diazepam on the isolated hypothyroid rat heart.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 30 rats in four groups (control, hypothyroid, control diazepam and hypotyroid+diazepam). According to Langendorff method, isolated hearts were retrogradly perfused with Krebs solution and passed 3 stages of baseline, ischemia and reperfusion. Cardiac parameters including left ventricular developed pressure, Heart Rate (HR) and Rate Pressure Product (RPP) were calculated.

Results: At baseline, heart function significantly decreased in hypothyroid group compared with control and control diazepam groups (P=0.01 & P=0.001 respectively). Percentage decline of HR and RPP at baseline stage after diazepam administration, was significantly different in the control diazepam and hypothyroid+diazepam groups (P=0.001 & P=0.002 respectively). Recovery percentage of RPP in reperfusion stage significantly increased in hypothyroid group (% 60±5) compared with control (% 38±5) and in hypotyroid+diazepam group (% 87±8) compared with hypothyroid group (%60±5), (P<0.0001 & P=0.02, respectively).

Conclusion: Administration of diazepam exacerbates the effect of hypothyroidism at baseline and reperfusion stages in rats. In other words, diazepam perfusion leads to greater decline of hypothyroid rat heart function at baseline and higher recovery percentage at the reperfusion stage. These effects can be due to the common effects of hypothyroidism and diazepam on the L-type calcium channels or the amount of oxygen consumption in rats.

Keywords: Hypothyroidism, Isolated heart, Diazepm, Ischemia- reperfusion, Rat, Langendorff

www.SID.ir