Archive of SID

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 20(121): 10-19

Original Article

Effect of Thymol on Serum Antioxidant Capacity of Rats Following Myocardial Hypertrophy

Mohabbat Jamhiri[1], Zeinab Hafizibarjin[2], Mojtaba Ghobadi[2], Ali Moradi[3], Fatemeh Safari[4*]

1.M.Sc in Medical Physiology, Herbal Plant Research Center, Department of Physiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2.M.Sc in Medical Physiology, Department of Physiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3.Associate Professor, PhD of Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4.Assistant Professor, PhD of Medical Physiology, Herbal Plant Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 11 Jan 2017, Accepted: 10 Jun 2017

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

Abstract

Background: Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of hypertension-induced cardiac hypertrophy. Plants are a rich source of antioxidant compounds. Thymol is a natural monoterpen phenol which is plentiful in some plants and shows many biological effects. The aim of the present study was to assess the effects of thymol on activity of antioxidant enzyme catalase, malondialdehyde (MDA) level and the activity of the inhibition of free radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl), following left ventricular hypertrophy in rats.

Materials and Methods: In this experimental study, rats were divided into hypertrophied group without any treatment (H group) and rats pretreated with 25 and 50 mg/kg/day of thymol (Thy25+H and Thy50+H groups, respectively). Intact animals were served as control (Ctl). Animal model of left ventricular hypertrophy was induced by abdominal aortic banding. Serum catalase (CAT) activity, malondialdehyde (MDA) level and the activity of inhibition of free radicals DPPH were determined by the biochemical methods.

Results: In Thy25+H and Thy50+H groups, the CAT activity was increased significantly in serum ($p<0.01$, vs. Ctl). Also, serum level of MDA was decreased significantly compared to the group H in Thy25+H and Thy50+H groups ($p<0.05$ and $p<0.001$, respectively). The effect of inhibiting DPPH free radicals was increased significantly in Thy25+H and Thy50+H groups compared to the group H ($p<0.001$ and $p<0.05$, respectively).

Conclusion: The findings of this study suggest that thymol as an antioxidant causes cardioprotective effects and as well as prevents left ventricular hypertrophy via augmentation of serum antioxidant capacity.

Keywords: Catalase, Malondialdehyde, DPPH, Myocardial hypertrophy, Oxidative stress, Thymol

*Corresponding Author:
Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
Email: Sa.physiol@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۴ (شماره پیاپی ۱۲۱)، تیر ۱۳۹۶، ۱۹-۱۰

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

بررسی اثر تیمول بر ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم در موش‌های صحرایی دچار هیپرتروفی میوکارد

محبت جمهیری[۱]، زینب حفیظی بارجین[۲]، مجتبی قبادی[۲]، علی مرادی[۳]، فاطمه صفری[۴*]

۱.کارشناس ارشد فیزیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲.کارشناس ارشد فیزیولوژی پزشکی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۳.دانشیار، دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۴.استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز هیپرتروفی قلبی ناشی از هیپرتانسیون دارد. گیاهان منبع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند. تیمول یک فنل مونوترپن طبیعی است که در برخی گیاهان به وفور یافت می‌شود و اثرات بیولوژیک متعددی را نشان می‌دهد. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تیمول بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز، سطح مالون دی آلدئید (MDA) و میزان فعالیت خنثی سازی رادیکال DPPH (۲ ۲-دی فنیل ۱-پیکریل-هیدرازیل) به دنبال هیپرتروفی بطن چپ در موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، حیوانات به موش‌های هیپرتروف شده بدون درمان(گروه H) و موش‌های هیپرتروف پیش درمان شده با تیمول با دوزهای روزانه ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند(به ترتیب گروه‌های Thy25+H و Thy50+H). حیوانات دست نخورده به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند(Ctl). به منظور القای هیپرتروفی بطن چپ، حیوانات تحت تنگی آئورت شکمی قرار گرفتند. فعالیت سرمی کاتالاز، سطح MDA و میزان فعالیت خنثی سازی رادیکال DPPH طبق روش‌های بیوشیمیایی تعیین گردید.

یافته‌ها: فعالیت کاتالاز در گروه‌های Thy25+H و Thy50+H، به طور قابل توجهی در سرم افزایش یافت .vs (p<۰/۰۱H). علاوه بر این، سطح MDA سرمی در گروه‌های Thy25+H و Thy50+H در مقایسه با گروه H به طور معنی‌داری کاهش یافت(به ترتیبp<۰/۰۵ و p<۰/۰۰۱). میزان خنثی‌سازی رادیکال آزاد DPPH نیز در گروه‌های Thy25+H و Thy50+H نسبت به گروه H افزایش معنی‌داری را نشان داد(به ترتیبp<۰/۰۵ و p<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تیمول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان سبب به وجود آمدن اثرات کاردیوپروتکتیو می‌شود و هم‌چنین با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی از هیپرتروفی بطن چپ جلوگیری می‌نماید.

واژگان کلیدی: استرس اکسیداتیو، تیمول، کاتالاز، مالون دی آلدئید، هیپرتروفی میوکارد، DPPH

***نویسنده مسئول:** ایران، یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

Email: Sa.physiol@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

هیپرتروفی بطن چپ(LVH) به عنوان یک عامل خطر مرگ و میر در بیمارانی که مبتلا به فشار خون بالا هستند در نظر گرفته شده است. LVH یک نوع پاسخ سازش پذیری برای حفظ عملکرد عادی قلب به انواع محرک‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد، که اگر در طولانی مدت ادامه پیدا کند به نارسایی قلبی و در نهایت مرگ منجر خواهد شد(۱). استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری‌های قلبی عروقی مانند فشار خون بالا، تصلب شرایین، هیپرتروفی بطن چپ و نارسایی قلبی نقش مهمی دارد(۲). در حالت طبیعی بدن، بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، تعادل برقرار است. عدم تعادل در میزان تولید رادیکال‌ها و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، سبب به وجودآمدن استرس اکسیداتیو می‌شود(۳). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که روند هیپرتروفی با گسترش استرس اکسیداتیو در ارتباط می‌باشد به طوری که علاوه بر افزایش موضعی شاخص‌های اکسیداتیو در بافت میوکارد و عروق در سرم نیز سطح این فاکتورها افزایش می‌یابد. اگر چه منابع دقیق رادیکال‌های آزاد در هیپرتروفی قلب هنوز به طور کامل شناخته نشده است، ولی شواهد نشان می‌دهد که زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و NADPH اکسیداز به عنوان منابع اصلی تولید ROS (Reactive oxygen species) در کاردیومیوسیت‌ها به شمار می‌آیند(۴). بر اساس مطالعات گذشته NDPH اکسیداز موجود در کاردیومیوسیت‌ها به عنوان منبع اصلی تولید ROSها در هیپرتروفی بطن چپ ناشی از فشار خون بالا نشان داده شده است(۵). هم‌چنین نتایج تحقیق سسلی و همکاران نشان می‌دهد که گونه‌های اکسیژن فعال از طریق تولید محصولات واسطه باعث فعال شدن مکانیسم‌هایی از جمله آزادسازی سیتوکروم c و فعال شدن کاسپاز می‌شود که به دنبال آن منجر به تولید استرس اکسیداتیو و در نهایت باعث آپوپتوز سلول‌های قلبی می‌گردد(۶). هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگری از ROSها به عنوان القا کننده هیپرتروفی میوسیت‌ها و نارسایی قلبی نام برده شده است(۷). در بعضی از مطالعات نشان داده شده است که ترکیبات ناپایدار رادیکال‌های آزاد بر روی چربی، پروتئین، DNA و کربوهیدرات سلول‌ها تاثیر می‌گذارند که از بین این مواد چربی‌ها نسبت به رادیکال‌های آزاد دارای بیش‌ترین حساسیت می‌باشند که منجر به تولید مالون دی‌آلدهید می‌شود که از مهم‌ترین شاخص‌های اندازه‌گیری سطح استرس اکسیداتیو است(۸).

مطالعات انسانی و حیوانی مختلف نشان داده‌اند که عصاره و ترکیبات فعال گیاهی مانند مونوترپن‌ها می‌توانند نقش مهمی در افزایش مقاومت قلب و عروق در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی داشته باشند. تیمول یک ایزومر کارواکرول(مونوترپن فنولی) می‌باشد. اسانس تیمول در گیاهانی مانند آویشن و زنیان به مقدار فراوانی وجوددارد(۹، ۱۰). این ماده دارای خواص فارموکولوژیکی متنوعی از جمله اثرات قلب و عروقی مثل وازوریلکسیشن، کاهنده فشار خون و خواص آنتی اکسیدان است(۱۱- ۱۳). دب و همکارانش در سال ۲۰۱۱، اثرات آنتی اکسیدانی تیمول را در سلول‌های سرطانی HL-60 گزارش کردند(۱۴). هم‌چنین در مطالعه‌ی دیگری اثرات آنتی اکسیدانی تیمول و کارواکرول در آلزایمر گزارش شده است(۱۵). در مطالعه‌ای که گروه ما به صورت پایلوت انجام داد، تجویز تیمول توانست مارکرهای هیپرتروفیک مانند وزن قلب / وزن بدن و سطح mRNA پپتید ناتریورتیک دهلیزی(ANP) در موش‌های تحت تنگی آئورت شکمی کاهش دهد. در این راستا با توجه به ضرورت دستیابی به روش‌های درمانی کارامدتر جهت درمان بیماری هیپرتروفی میوکارد و هم‌چنین با وجودی که اثرات ضد استرس اکسیداتیو و قلبی عروقی تیمول در مطالعات پیشین گزارش شده و با در نظر گرفتن اهمیت استرس اکسیداتیو موضعی و سیستمیک در پاتوژنز هیپرتروفی بطن چپ، تاکنون گزارشی مبنی بر اثر احتمالی تیمول بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم حیوانات دچار هیپرتانسیون و هیپرتروفی میوکارد ارائه نشده است لذا در مطالعه حاضر به بررسی این موضوع خواهیم پرداخت.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع مداخله‌ای- تجربی و از نوع آزمایشگاهی بود. این مطالعه بر روی رت‌های نر نژاد ویستار با وزن تقریبی۱۷۰-۲۱۰گرم انجام گردید. تمامی حیوانات با چرخه روشنایی – تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی انجام گرفت. در این مطالعه حیوانات به شش گروه زیر تقسیم شدند(n=۷).

۱-گروه کنترل (Ctl): در این گروه هیچ اقدام دارویی و هیپرتروفی صورت نپذیرفت.

۲-گروه هیپرتروفی(H): در این گروه حیوانات تحت انجام جراحی و تنگی آئورت شکمی قرار گرفتند و دو هفته بعد بدون مداخله دارویی نمونه‌ها جمع‌آوری گردید.

۳-گروه هیپرتروفی با مصرف DMSO (DMSO+H): در این گروه حیوانات با DMSO(دی‌متیل سولفواکسید) ۴ درصد به عنوان حلال تیمول تیمار شدند.

۴-گروه دریافت کننده تیمول (Sigma-Aldrich) با دوز ۲۵ mg/kg/day قبل از هیپرتروفی (Thy25+H).

۵- گروه دریافت کننده تیمول با دوز ۵۰ mg/kg/day قبل از هیپرتروفی (Thy50+H).

در گروه‌های درمان، حیوانات از ۷ روز قبل از القای هیپرتروفی تیمول با دوزهای فوق و یا DMSO را دریافت کرده و سپس تحت جراحی و ایجاد مدل هیپرتروفی قرار می‌گرفتند. هم‌چنین دوره تیمار با دارو تا دو هفته بعد از جراحی نیز ادامه یافت.

۶- گروه دریافت کننده تیمول با دوز۲۵ mg/kg/day بدون هیپرتروفی(Thy25): به منظور بررسی اثر داروی تیمول به تنهایی بر مارکرهای مورد مطالعه یک گروه از حیوانات تیمول را با دوز مذکور به مدت ۳ هفته به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و بدون القای هیپرتروفی نمونه‌های آن‌ها جمع‌آوری گردید.

القای هیپرتروفی بطن چپ

برای القای هیپرتروفی، از روش تنگی آئورت شکمی استفاده گردید(۱۶). برای انجام این کار، بعد از بیهوش کردن حیوان با ترکیب کتامین(۷۰mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) فاصله بین آخرین دنده و استخوان فمور، تراشیده و برش داده شد. بعد از کناز زدن بافت‌های مجاور، شریان شکمی را در ناحیه سوپرارنال آشکار کرده، سپس در بالای محل جدا شدن شریان‌های کلیوی، آئورت توسط یک نیدیل G-۲۱ تنگ گردید. بعد از اطمینان از تنگی شریان و نه انسداد کامل آن، نیدل با دقت و به آرامی از وسط گره خارج و پوست و عضلات به صورت مجزا بخیه گردیدند. در انتها از اسپری تتراسایکلین(آنتی بیوتیک) در محل برش پوست استفاده شد. مطالعات پایلوت گروه ما و نیز مطالعات گذشته نشان داده است که پس از گذشت دو هفته مدل هیپرتروفی در حیوانات القاء می‌رگردد. دو هفته بعد از جراحی، مجددا حیوان را بیهوش کرده و بلافاصله بعد از خون‌گیری، نمونه‌های خون را سانتریفیوژ کرده و سرم آن‌ها به فریزر در دمای C ۸۰- منتقل گردید. در روز آزمایش از سرم‌های مورد نظر برای سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی مورد نظر استفاده شد.

سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

با توجه به اهمیت عملکرد آنزیم کاتالاز در پاسخ به استرس اکسیداتیو در قلب، در بخش اول این مطالعه به بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه سرم گروه‌های آزمایش پرداختیم. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi و با دنبال نمودن تجزیه پراکسید هیدروژن(H_2O_2) اندازه‌گیری شد. واکنش با اضافه کردن ۳۰ میلی‌مولار H_2O_2 به حجم مناسبی از سرم در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار(PH=۷) شروع شد. سپس جذب طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید(۱۷).

سنجش مالون دی آلدئید

جهت اندازه گیری سطح MDA سرم، به ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر از سرم به همراه ۵ میکرولیتر هیدروکسی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

تولوئن بوتیله (۲/. درصد، اتانول به عنوان حلال برای این ماده استفاده شده است. شرکت سیگما) و۴۰۰ میکرولیتر اسید تری کلرواستیک ۵ درصد مخلوط و محلول به مدت ۱۰ دقیقه با دورRpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پس از برداشتن ۲۰۰ میکرولیتر از محلول تشکیل شده، ۱۵۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک (۴/. درصد، اسید استیک به عنوان حلال استفاده شده است. شرکت سیگما) به آن‌ها اضافه شد و مخلوط به مدت یک ساعت در بن ماری ۹۵ درجه قرار گرفت و پس از آن به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در دمای ۴- قرار داده شد و در نهایت جذب در ۵۳۲ nm و ۵۷۲nm نانومتر توسط دستگاه نانودراپ (Biotech Instrument Model: Box998) اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت مالون دی آلدئید از تتراتوکسی پروپان به عنوان کنترل و رسم نمودار استاندارد استفاده شد(۱۸).

تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی تیمول با استفاده از DPPH

اثر آنتی اکسیدانی تیمول به کمک۲-۲- دی فنیل ۱- پیکریل-هیدرازیل(DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. ۴۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH به همراه ۳۸۰ میکرولیتر بافر فسفات (PH:۷/۴) و ۲۰ میکرولیتر سرم مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اطاق قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه نانودراپ (Biotech Instrument Model: Box998) در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از DPPH به همراه متانول و بافر فسفات به عنوان کنترل استفاده شد(۱۹).

ظرفیت آنتی اکسیدانی تیمول توسط DPPH با توجه به فرمول زیر محاسبه گردید:

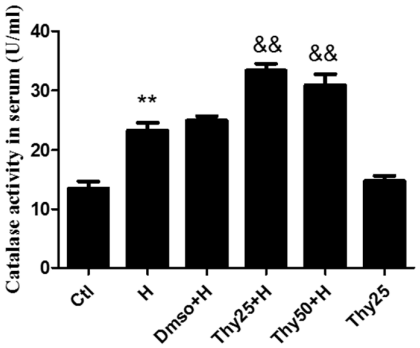
$$\%\text{DPPH radical scavenging activity} = 100[(OD_{control} - OD_{sample}) \div OD_{control}] \times$$

آنالیز آماری:

داده‌های حاصل از این مطالعه توسط تست آماری ANOVA یک طرفه و Tukey Post-test در نرم افزار prism مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند. $P<0/05$ ملاک معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

تغییرات سطح سرمی فعالیت آنزیم کاتالاز، مالون دی آلدئید و DPPH: همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است میزان فعالیت کاتالاز در سرم حیوانات گروه H در مقایسه با گروه Ctl به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است($p<0/01$).هم‌چنین فعالیت کاتالاز در گروه‌های Thy25+H و Thy50+H در مقایسه با گروه هیپرتروفی اختلاف معنی داری نشان می دهد($p<0/01$).

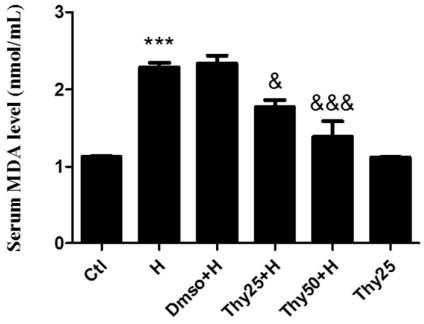


نمودار ۱: فعالیت آنزیم کاتالاز در سرم در گروه‌های کنترل(Ctl)، هیپرتروف(H)، هیپرتروف دریافت کننده تیمول(Thy) با دوزهای mg/kg ۲۵ ,۵۰ گزارش شده است(n:۷). داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند($^{**}P<0/01$). در مقایسه با گروه Ctl و ($^{\&\&}P<0/01$) درمقایسه با گروه H سنجیده شده است.

www.SID.ir

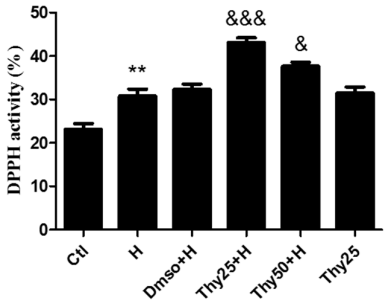
Archive of SID

در خصوص اثر تیمول بر سطح سرمی MDA نتایج حاکی از آنست که در سرم گروهH غلظت MDA در مقایسه با گروه Ctl افزایش معنی‌داری پیدا کرده است($p< ۰/۰۰۱$). هم‌چنین غلظت MDA در سرم گروه‌های Thy25+H و Thy50+H نیز درمقایسه با گروه H به طور معنی‌داری کاهش یافت (به ترتیب در سطح $p<۰/۰۵$ و $P<۰/۰۰۱$). (نمودار ۲).



نمودار ۲: غلظت مالون دی آلدئید(MDA) در سرم در گروه‌های کنترل(Ctl)، هیپرتروف(H)، هیپرتروف دریافت کننده تیمول (Thy) بادوزها mg/kg ۲۵ ,۵۰ گزارش شده است(n:۷). داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند($P<۰/۰۱$*) درمقایسه با گروه Ctl و $P<۰/۰۰۱$&&& , $P<۰/۰۵$& درمقایسه با گروه H سنجیده شده است.**

همان طور که در نمودار ۳ نشان داده شده است اندازه‌گیری میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی توسط تست DPPH حاکی از آنست که درصد مهار یا خنثی‌سازی رادیکال‌های DPPH در سرم گروه H در مقایسه با گروه Ctl افزایش معنی‌داری پیدا کرده است($p<۰/۰۱$). در حالی که این میزان در سرم گروه‌های Thy25+H و Thy50+H در مقایسه با گروه Hبه طور معنی‌داری افزایش یافت(به ترتیب $p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۵$).



نمودار ۳: میزان فعالیت خنثی سازی رادیکال DPPH در سرم در گروه‌های کنترل(Ctl)، هیپرتروف (H)، هیپرتروف دریافت کننده تیمول (Thy) با دوزهای mg/kg ۲۵, ۵۰ گزارش شده است(n:۷). داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند. $P<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه Ctl و $P<۰/۰۰۱$&&& , $P<۰/۰۵$& درمقایسه با گروه H سنجیده شده است.**

لازم به ذکر است که در گروه Thy25 تغییر معنی‌داری در هیچ یک از پارامترهای بیوشیمیایی فوق مشاهده نگردید.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

بحث

در این پژوهش مشخص شد تیمول توسط تغییرات آنزیم‌ها و فاکتورهای درگیر در فرآیند به وجود آمدن استرس اکسیداتیو بر هیپرتروفی میوکارد ناشی از فشار خون بالا موثر می‌باشد. هیپرتانسیون مزمن با افزایش بار سیستولیک در بطن چپ سبب تغییرات مخرب ساختاری و عملکردی در میوکارد در می‌شود که مهم‌ترین آن‌ها هیپرتروف شدن سلول‌های قلبی می‌باشد(۱). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که افزایش تولید ROS در شرایط پاتولوژیک بسیاری از پروسه‌های بیولوژیک سلول‌های قلبی مانند جریان‌های یونی، کنترل کلسیم، جفت شدن تحریک و انقباض، ساختار و عملکرد پروتئین‌ها و بسیاری از فاکتورهای رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۷، ۲۰). نتایج حاصل از مطالعات گذشته و از جمله مطالعه قبل ما نشان داده است که تنگی آئورت شکم، در طی دو هفته می‌تواند فشار خون را در افزایش دهد، در نتیجه فعالیت قلب در مقابل پس بار زیاد، منجر به تغییرات زیادی درآن می‌شود.

در مطالعه‌ای که پیکسوتو- نوست و همکارانش انجام دادند تجویز تیمول توانست فشار خون را به طور قابل توجهی کاهش دهد(۱۲). لازم به ذکر است که تیمول یک فنول مونوترپن موجود در روغن‌های طبیعی گیاهان معطر مختلف مانند پونه کوهی، آویشن می‌باشد که از طریق مکانیسم‌های مختلف که هنوز به طور کامل شناخته نشده‌اند اثرات قلب و عروقی خود را اعمال می‌کند(۹).

در مطالعه‌ی حاضر رابطه مستقیمی بین هیپرتروفی بطن چپ و تغییرات مرتبط با استرس اکسیداتیو وجود دارد چرا که در میزان فعالیت آنزیم‌های درگیر در فرآیند استرس اکسیداتیو من جمله کاتالاز و هم‌چنین غلظت MDA در پاسخ به هیپرتانسیون به طور معنی‌داری در حال افزایش است. بر پایه مطالعات اخیر، بروز استرس اکسیداتیو به عنوان یک عامل مهم در هیپرتروفی قلبی مطرح شده است. چرا که در مطالعه سینگال و همکارانش مشاهده شد که افزایش فشار شریانی سبب ایجاد استرس و سبب تحریک هیپرتروفی قلب می‌گردد(۲۱). هم‌چنین در مطالعه‌ی دای و همکارانش نشان داده شد که ROSهای میتوکندریایی می‌تواند نقش اساسی در پیشرفت هیپرتروفی قلبی ناشی از آنژیوتانسین II داشته باشند(۲۲). تحت شرایط فیزیولوژیک اثرات سمی این رادیکال‌ها توسط آنزیم‌هایی هم‌چون کاتالاز خنثی می‌شود. کاتالاز نیز یک آنزیم کاملاً شناخته شده است که از طریق سم زدایی H_2O_2 مقاومت قلب را به آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سرم بطن چپ در گروه هیپرتروفی افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل نشان داد که به نظر می‌رسد یک مکانیسم سازشی جهت مقابله با افزایش تولید یون هیدروژن پراکسید می‌باشد. این نتایج با مطالعه‌ای که بر میزان بیان پروتئین آنزیم‌های کاتالاز در حیواناتی که دارای فشار خون بالا بودند سازگارست(۲۳). هم‌چنین در این قسمت از مطالعه مشاهده شد که تجویز تیمول باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در سرم قلب هیپرتروفی شده می‌شود. بر اساس اطلاعات ما، این اولین گزارش در خصوص اثرات آنتی اکسیدانی تیمول بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سرم بافت میوکارد هیپرتروف شده می‌باشد. هم‌چنین مطالعه قبل گروه ما نشان داد که کارواکرول (یک مونوترپن فنولی می‌باشد که از تیمول به عنوان یکی از ایزومرهای آن نام برده می‌شود و هم‌چنین این دو ماده از گیاهانی مانند آویشن استخراج می‌شوند) قادر می‌باشد به واسطه بیان mRNA و افزایش سطح فعالیت این آنزیم، قلب را در مقابل آسیب ناشی از هیپرتروفی میوکارد محافظت کند(۱۷).

از آن‌جایی که ROSها به شدت واکنش پذیر می‌باشند از این رو می‌توانند به ترکیبات سلولی مختلف از جمله غشای لیپیدی آسیب برسانند. لیپید پراکسیدازها حاصله از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌توانند شروع کننده‌ی پراکسیداسیون لیپیدی با رادیکال‌های آزاد باشند. مالون دی الدئید که محصول اصلی و نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است، اغلب به عنوان یک شاخص در آسیب سلولی مطرح است. اطلاعات کمی در ارتباط با پراکسیداسیون لیپیدهای سرم بطن چپ در هنگام

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

هیپرتروفی میوکارد وجود دارد که می‌توان به عنوان محدودیت‌های این مطالعه در نظر گرفت اما با این حال در مطالعه‌ی که توسط جیی و همکارانش بر روی قلب‌های هیپرتروفی شده که بعد از پنج هفته تحت ایسکمی و ری پرفیوژن قرار گرفتند انجام گرفت، نشان داده شد که سطح مالون دی آلدئید در این حیوانات افزایش می‌یابد(۲۴) اما به هر حال هنگام بروز استرس اکسیداتیو معمولا میزان MDA افزایش پیدا می‌کند که نشان دهنده وجود القای استرس اکسیداتیو و میزان پراکسیداسیون لیپیدها است.

از طرفی دیگر در برخی از مطالعات میزان این مارکر در حیوانات هیپرتروفی شده کاهش پیدا کرده است به طوری که گوپتا و سینگال در مطالعه‌ای که بر روی رت انجام دادند نشان دادند که میزان این مارکر در حیوانات هیپرتروفی شده کاهش پیدا کرده است(۲۵). لذا این نتایج متناقض شاید به دلیل نوع پروتکل آزمایش یا حیوان مورد استفاده در آزمایش می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، میزان MDA سرم بطن چپ در گروه هیپرتروفی، افزایش معنی‌داری مشاهده شد و تجویز تیمول توانست سطح این مارکر اکسیداتیو را در سرم این حیوانات کاهش داد.

DPPH (۲ ۲-دی فنیل ۱-پیکریل-هیدرازیل) به عنوان یک رادیکال آزاد پایدار، از شاخص‌های مرتبط با وضعیت آنتی اکسیدانی می‌باشد(۲۶). در مطالعاتی که اخیرا در خصوص DPPH بر روی ترکیبات مونوترپنی از جمله تیمول و کارواکرول صورت گرفته است، خواص آنتی اکسیدانی این دو ماده مورد تأیید قرار گرفته است(۲۷، ۲۸). اثرات آنتی اکسیدانی تیمول در سلول‌های سرطانی HL-60 (۱۴) و آلزایمر(۱۵) نیز ثابت شده است. از طرفی در مطالعه‌ی حاضر میزان فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH در سرم بطن چپ رت‌های هیپرتروف شده‌ی بدون درمان و سایر گروه‌های درمان شده با تیمول افزایش یافت، به احتمال زیاد به نظر می‌رسد که علت این افزایش در گروه هیپرتروفی به دلیل یک مکانیسم سازشی در برابر تجمع رادیکال‌های آزاد می‌باشد. هنوز مکانیسم‌های اصلی اثرات قلبی عروقی تیمول به طور کامل شناخته نشده‌اند هر چند بلوک کانال‌های کلسیمی(۱۲) از جمله مکانیسم‌های مهم اثر این فنل گیاهی می‌باشد. این احتمال وجود دارد که بخشی از اثرات آنتی اکسیدانی تیمول به دلیل وجود گروه هیدروکسیلی موجود بر روی حلقه بنزن در ساختار شیمیایی این ماده است که از این طریق تا حدودی قلب را از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت نموده است. از یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزایش فشار خون ناشی از تنگی آئورت منجر به استرس اکسیداتیو و هیپرتروفی بطن چپ می‌گردد که تجویز تیمول توانست فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPHرا افزایش و پراکسیداسیون لیپیدی در سرم بطن چپ را کاهش دهد. تیمول به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی با مهار تولید و توسعه ROSها و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، باعث افزایش اثرات کاردیوپروتکتیو در مقابل هیپرتروفی قلبی ناشی از هیپرتانسیون می‌گردد. یافتن مکانیسم‌های دقیق‌تر اثرات کاردیوپروتکتیو تیمول مستلزم آزمایشات گسترده‌تر و د قیق‌تری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی می‌باشد. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد بابت تأمین هزینه‌های مالی این تحقیق و هم‌چنین از اعضای گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی این دانشگاه جهت مشارکت در انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی این طرح، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Gupta S, Das B, Sen S. Cardiac hypertrophy: mechanisms and therapeutic opportunities. Antioxidants & redox signaling. 2007;9(6):623-52.

2.Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury part I: basic mechanisms and in vivo

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

Fundamental & clinical pharmacology. 2010;24(3):341-50.
13.Aeschbach R, Löliger J, Scott B, Murcia A, Butler J, Halliwell B, et al. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. Food and Chemical Toxicology. 1994;32(1):31-6.
14.Deb DD, Parimala G, Devi SS, Chakraborty T. Effect of thymol on peripheral blood mononuclear cell PBMC and acute promyelotic cancer cell line HL-60. Chemico-biological interactions. 2011;193(1):97-106.
15.Azizi Z, Ebrahimi S, Saadatfar E, Kamalinejad M, Majlessi N. Cognitive-enhancing activity of thymol and carvacrol in two rat models of dementia. Behavioural pharmacology. 2012;23(3):241-9.
16.Mashhadi FD, Reza JZ, Jamhiri M, Hafizi Z, Mehrjardi FZ, Safari F. The effect of resveratrol on angiotensin II levels and the rate of transcription of its receptors in the rat cardiac hypertrophy model. The Journal of Physiological Sciences. 2016:1-7.
17.Ghobadi M, Naghedi A, Hasan S. Effect of Carvacrol on Catalase Activity and mRNA Expression Following Left Ventricular Hypertrophy in Rats.
18.Lunec J. Free radicals: their involvement in disease processes. Annals of Clinical Biochemistry. 1990;27(3):173-82.
19.Zhao Z, Yin Y, Wu H, Jiang M, Lou J, Bai G, et al. Arctigenin, a potential anti-arrhythmic agent, inhibits aconitine-induced arrhythmia by regulating multi-ion channels. Cellular Physiology and Biochemistry. 2013;32(5):1342-53.
20.Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. The Journal of clinical investigation. 2005;115(3):500-8.
21.Singal P, Kirshenbaum L. A relative deficit in antioxidant reserve may contribute in cardiac failure. The Canadian journal of cardiology. 1990;6(2):47-9.
22.Dai D-F, Johnson SC, Villarin JJ, Chin MT, Nieves-Cintrón M, Chen T, et al. Mitochondrial oxidative stress mediates monitoring of ROS. Circulation. 2003;108(16):1912-6.
3.Scandalios JG. The rise of ROS. Trends in biochemical sciences. 2002;27(9):483-6
4.Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. The FASEB Journal. 1987.٥-٤٤١:(٦)١;
5.Li J-M, Gall NP, Grieve DJ, Chen M, Shah AM. Activation of NADPH oxidase during progression of cardiac hypertrophy to failure. Hypertension. 2002;40(4):477-84.
6.Cesselli D, Jakoniuk I, Barlucchi L, Beltrami AP, Hintze TH, Nadal-Ginard B , et al. Oxidative stress–mediated cardiac cell death is a major determinant of ventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomyopathy. Circulation research. 2001;89(3):279-86.
7.Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and mitochondrial DNA damage in heart failure. Circulation Journal. 2008;72(SupplementA):A31-A7.
8.Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. 2005;15(4):316-28.
9.Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species. Journal of agricultural and food chemistry. 2001;49(9):4168-70.
10.Shahidi F, Janitha P, Wanasundara P. Phenolic antioxidants. Critical reviews in food science & nutrition. 1992;32(1):67-103.
11.Magyar J, Szentandrássy N, Bányász T, Fülöp L, Varró A, Nánási PP. Effects of thymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. British journal of pharmacology. 2002;136(2):330-8.
12.Peixoto-Neves D, Silva-Alves K, Gomes M, Lima F, Lahlou S, Magalhaes P, et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol ,on rat isolated aorta.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:36 +0330 on Monday September 25th 2017

angiotensin II–induced cardiac hypertrophy and Gαq overexpression–induced heart failure. Circulation research. 2011;108(7):837-46.
23.Sindhu RK, Roberts CK, Ehdaie A, Zhan C-D, Vaziri ND. Effects of aortic coarctation on aortic antioxidant enzymes and NADPH oxidase protein expression. Life sciences. 2005;76(8):945-53.
24.Ji L, Fu R, Mitchell E, Griffiths M, Waldrop T, Swartz H. Cardiac hypertrophy alters myocardial response to ischaemia and reperfusion in vivo. Acta physiologica scandinavica. 1994;151(3):279-90.
25.Gupta M, Singal PK. Higher antioxidative capacity during a chronic stable heart hypertrophy. Circulation research. 1989;64(2):398-406.
26.Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C .Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 1995;28(1):25-30.
27.Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry. 2004;85(4):633-40.
28.Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research. 2000;14(5):323-8.

www.SID.ir