فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۷ (۲)، ۱۳۷ – ۱۴۷
تابستان ۱۳۹۲

فیزیولوژی و فارماکولوژی

نقش گیرنده های مینرالوکورتیکوئید بر روی اثرات حاد هیدروکورتیزون در قلب ایزوله ایسکمیک موش صحرایی

وحید خوری[۱]، حبیبه شیرمحمدلی[۱]، علی محمد علیزاده[۲*]، مریم رجائی[۱]، اردشیر بنی کریم[۱]، محمد هادی ملصقی[۱]
۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان
۲. مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

دریافت: ۲۱ دی ۹۱ پذیرش: ۲۱ اسفند ۹۱

چکیده

مقدمه: مطالعات نشان داد که اثرات حاد محافظت قلبی کورتیکواستروئیدها با مکانیسم ناشناخته در غلظتهای بالا کمتر می‌گردد. فرضیه اینکه اثرات حاد غلظت بالای هیدروکورتیزون از طریق گیرنده های مینرالوکورتیکوئیدی کاهش می‌یابد. بنابراین اثرات حاد محافظتی غلظتهای مختلف هیدروکورتیزون بر قلب و ارتباط آن با گیرنده های مینرالوکورتیکوئیدی در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت.

روش ها: مطالعه بطور تجربی بر روی ۹۶ سر موش صحرایی نر، در ۸ گروه با غلظتهای مختلف هیدروکورتیزون (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) انجام گرفت. همچنین از اسپیرنولاکتون (آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید) جهت بررسی نقش گیرنده های مینرالوکورتیکوئیدی در اثرات هیدروکورتیزون استفاده گردید. قلب بعد از جداسازی به سیستم لانگندورف متصل و تحت ایسکمی ۳۰ دقیقه ای و جریان مجدد ۹۰ دقیقه ای قرار گرفته و حجم سکته و میزان آریتمی های بطنی محاسبه گردید. برای مقایسه داده‌ها از آنوا دوطرفه استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که هیدروکورتیزون در غلظت‌های مختلف موجب کاهش حجم ناحیه سکته و محافظت کاردیومیوسیت ها شده است که این اثرات حفاظتی در غلظت‌های بالا کمتر بوده است ($p<۰/۰۵$). کاربرد اسپیرنولاکتون به عنوان آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید، موجب تقویت این اثرات حفاظتی گردیده است ($p<۰/۰۵$)، البته استفاده از هیدروکورتیزون و اسپیرونولاکتون اثرات معنی داری بر بروز و شدت آریتمی های بطنی نسبت به گروه ایسکمی– جریان مجدد نداشته است ($p>۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که اثرات محافظت قلبی هیدروکورتیزون به عنوان یک ماده پیش شرطی ساز فارماکولوژیک می‌تواند در غلظت‌های متوسط و بالا، حداقل تا بخشی با گیرنده مینرالوکورتیکوئید معکوس گردد.

واژه‌های کلیدی: هیدروکورتیزون، ایسکمی میوکارد، اسپیرنولاکتون، موش صحرایی

مقدمه

بیماری‌های ایسکمیک قلبی یکی از مهمترین علل مرگ و میر در میان جوامع امروزی است [۱۸]. در حال حاضر روشهای زیادی در زمینه پیشگیری و درمان این بیماری به کار گرفته شده که یکی از این روش ها پدیده پیش شرطی سازی است. پیش شرطی سازی بافت (Preconditioning)، مواجهه کردن بافت با یک عامل آسیب رسان کم قدرت چه بصورت ایسکمیک یا فارماکولوژیک قبل از مواجهه با عامل آسیب رسان قویتر و کشنده، می‌تواند تا با تحریک مکانیسم‌های دفاعی درونی، مقاومت بافت را افزایش داده و شدت ضایعات ناشی از ایسکمی–جریان مجدد را کاهش دهد. پیش شرطی سازی قلبی یک روش مهم شناخته شده برای کاهش

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: aalizadeh@razi.tums.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Archive of SID
www.SID.ir

آسیب‌های قلبی ناشی از ایسکمی طولانی مدت می‌باشد [۱۵]. مطالعات گسترده در این زمینه، از نقش مثبت مواد اندوژن همچون آدنوزین، برادی کینین، نیتریک اکساید، اکسی توسین، اریتروپویتین و کورتیکواستروئیدها حکایت دارد [۱، ۳، ۲۰، ۲۳، ۲۵، ۲۶]. تعداد بسیار زیادی از مطالعات حیوانی و بالینی وجود دارند که به نقش مفید کورتیزول اگزوژن (متیل پردنیزولون، هیدرکورتیزون، دگزامتازون و پردنیزون) در کاهش حجم سکته و مرگ و میر بعد از آن اشاره کرده‌اند [۱۲، ۱۶، ۳۸]. مطالعه گذشته ما در خرگوش نشان داد که هیدروکورتیزون سبب کاهش معنی دار در حجم سکته قلب همزمان با کاهش سطح تروپونین می‌شود [۹]. افزایش ۱۰ برابری سطح استروئیدها در بافت قلبی (نسبت به سطح سرمی) در جریان سندرم کرونری حاد، وجود گیرنده های این هورمون‌ها بر روی سلول‌های میوکارد و اثرات محافظتی کورتیکواستروئیدها در پدیده ایسکمی-پرفیوژن مجدد، همگی شواهدی از دخالت هورمون‌های آدرنال در سندرم کرونری حاد می‌باشند [۱۶]. در مقابل این نظریه، نشان داده شده است که کورتیزول و کورتیکواسترون سرم در جریان انفارکتوس میوکارد حاد افزایش می‌یابد و جالب اینکه هرچه شدت ایسکمی بیشتر باشد، سطح این هورمون‌ها نیز بالاتر خواهد بود [۱۵]. نتایج تمام این مطالعات بر این نکته تاکید دارد که هرچه سطح سرمی کورتیزول در سندرم کرونری حاد بیشتر باشد، شدت بیماری نیز بیشتر است [۱۵، ۲۹].

در مطالعات مختلفی نشان داده شده است که آلدوسترون و مینرالوکورتیکوئیدهای اندوژن در قلب تولید شده و آنزیم‌های سازنده آن در قلب و عروق وجود دارد و در حالات پاتولوژیک مانند نارسایی احتقانی قلبی و ایسکمی، غلظت آن در کاردیومیوسیت ها بالا می‌رود [۳۴، ۳۵]. نشان داد شد که مصرف اسپیرنولاکتون (آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید) و متابولیت آن اپلرنون در بیماران بعد از ایسکمی اثرات مفیدی در کاهش مرگ و میر، و بهبود پارامترهای بالینی داشته است [۳۲]. دو مطالعه اخیر توسط فان و می هالیدو نشان داد که دگزامتازون و هیدروکورتیزون به ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ نانومولار سبب افزایش معنی دار در حجم سکته قلب شدند که این افزایش توسط اسپیرنولاکتون از بین می‌رود، در صورتی که دگزامتازون در غلظت‌های ۰/۵ تا ۱ میکرومولار سبب کاهش حجم سکته شده و این اثر محافظتی در دوز ۲ میکرومولار از بین می‌رود [۱۱، ۲۹]. فرضیه تحقیق حاضر این است که اثرات غلظت‌های فارماکولوژیک هیدروکورتیزون از طریق گیرنده مینرالوکورتیکوئیدی کاهش می‌یابد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات حاد محافظتی غلظت‌های مختلف هیدروکورتیزون بر حجم سکته و ارتباط آن با گیرنده های مینرالوکورتیکوئید در قلب ایزوله موش صحرایی طراحی گردیده است.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر به صورت تجربی بر ۹۶ سر موش صحرایی نر نژاد Sprague Dawley (۳۰۰-۲۵۰ گرم) در مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی گلستان از شهریورماه سال ۱۳۹۰ تا شهریورماه سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام گرفت.

داروهای مورد استفاده شامل هیدروکورتیزون (عاملی برای پیش شرطی سازی قلب) و اسپیرونولاکتون (آنتاگونیست گیرنده مینراکورتیکوئید) که از شرکت سیگما (Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, USA) خریداری شده است.

حیوانات بطور تصادفی به ۸ گروه ۱۲ تایی تقسیم شده‌اند.

۱- گروه ایسکمی-جریان مجدد (Ischemia-Reperfusion, IR): در این گروه پس از جراحی، ۱۵ دقیقه پایداری بافت، ۱۵ دقیقه محلول کربس و سپس ۳۰ دقیقه ایسکمی طولانی مدت و متعاقب آن ۹۰ دقیقه جریان مجدد اعمال گردید.

۲- گروه IPC (Ischemic Preconditioning): در این گروه پس از جراحی و ۱۵ دقیقه پایداری بافت، ۴ دوره ایسکمی ۵ دقیقه ای و جریان مجدد ۵ دقیقه ای، سپس ۳۰ دقیقه ایسکمی طولانی مدت و متعاقب آن ۹۰ دقیقه جریان مجدد اعمال گردید.

۳- گروه های ۳ الی ۶، گروه های هیدروکورتیزون با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار [۱۵، ۲۹] به مدت ۱۵

www.SID.ir
Archive of SID

دقیقه قبل از ایسکمی طولانی مدت انفوزیون و سپس مشابه گروه یک انجام گردید.

۷-گروه هیدروکورتیزون+اسپیرنولاکتون: در این گروه هیدروکورتیزون (۵ میکرومولار) به همراه اسپیرنولاکتون (۱۰ میکرومولار) [۲۹] به مدت ۱۵ دقیقه قبل از ایسکمی طولانی مدت انفوزیون و سپس مشابه گروه یک انجام گردید.

۸- گروه اسپیرنولاکتون: در این گروه اسپیرنولاکتون به مدت ۱۵ دقیقه قبل از ایسکمی طولانی مدت انفوزیون و سپس مشابه گروه یک انجام گردید.

جراحی حیوانات: در همه گروه‌ها نیم ساعت قبل از جراحی، ۵۰۰ واحد هپارین به صورت داخل صفاقی تزریق شده و سپس بیهوشی با پنتوباربیتال سدیم (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) انجام گردید [۲۴]. حیوان بعد از بیهوشی کامل تحت جراحی قرار گرفته و قفسه سینه باز گردید. سپس آئورت جهت جریان رتروگراد عروق کرونری کانوله گردید. پس از آن نخ سیلک ۰-۶ را از زیر شاخه شریان کرونر نزولی قدامی چپ عبور داده و سپس قلب از قفسه سینه خارج شده و به دستگاه لانگندورف جهت پرفیوژن انتقال داده شد. بافر بیکربناتی هنسله- کربس با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به عنوان محلول پرفیوژن استفاده گردید [۴]. دما در طول مدت آزمایش ۳۷ درجه و فشار محلول پرفیوژن ۷۰ الی ۸۰ میلی متر جیوه ثابت گردید. در تمام گروه ها ۱۵ دقیقه اول اتصال قلب به دستگاه به عنوان زمان سازش قلب با وضعیت جدید در نظر گرفته شد و اندازه گیری‌های پایه بعد از این زمان انجام گرفت. ایسکمی موضعی با بستن شریان کرونر نزولی قدامی چپ توسط نخ سیلک ۰-۶ ایجاد و جریان مجدد نیز با باز نمودن نخ مذکور برقرار گردید [۲۲]. در تمام گروه‌ها ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۹۰ دقیقه جریان مجدد اعمال گردید. ثبت داده‌ها در مطالعه حاضر به صورت خارج سلولی با استفاده از الکترودهای نقره به صورت تک قطبی انجام شده است. با قرار دادن یک الکترود در دهلیز چپ، یک الکترود در نوک قلب و دو الکترود جهت حذف سیگنال‌های اضافه ثبت سه کاناله، ECG از قلب ثبت گردید [۲۱، ۲۲].

بررسی حجم سکته: در انتهای جریان مجدد قلب از دستگاه لانگندورف جدا و شریان کرونر نزولی قدامی چپ دوباره با نخ سیلک بسته شد و محلول اوانس بلو یک درصد به میزان ۰/۵ میلی لیتر از طریق کانول آئورت انفوزیون گردید. سپس انفوزیون با سرم فیزیولوژی صورت گرفت تا از پخش اضافه اوانس بلو جلوگیری گردد. در پایان قلب در فویل آلومینیومی قرار گرفته و در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. روز بعد، پس از خارج کردن قلب از فریزر، بطن راست و ضمائم اضافی برداشته و به کمک قالب مدرج برش‌های ۲ میلی متری از بطن چپ (از قاعده به آپکس) تهیه گردید. برش‌ها با تری فنیل تترازولیوم کلراید رنگ آمیزی و به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. سپس ناحیه در معرض خطر و ناحیه انفارکته با برنامه نرم افزاری فتوشاپ محاسبه گردید. روش محاسبه حجم ناحیه سکته Digital Planimetry نامیده می‌شود. در این روش پس از رنگ آمیزی تترازولیوم کلراید هر قطعه از قلب بصورت جداگانه توسط اسکنر اسکن (از هر ۲ سمت قطعه)، سپس با استفاده از برنامه فتوشاپ حجم ناحیه سکته (ناحیه سفید رنگ) و ناحیه در معرض خطر (مجموع ناحیه سفید رنگ و قرمز رنگ) بصورت میزان پیکسل گزارش گردید. سپس نسبت پیکسل حجم ناحیه سکته به پیکسل ناحیه در معرض خطر به عنوان درصد حجم ناحیه سکته و نسبت پیکسل ناحیه در معرض خطر به پیکسل کل بطن‌ها به عنوان درصد ناحیه در معرض خطر گزارش گردید [۱۰].

تعیین و ارزیابی آریتمی های بطنی: در این مطالعه آریتمی های بطنی در طی ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۵ دقیقه اول جریان مجدد با محاسبه دو شاخص شدت و میزان بروز آریتمی ها و نیز سیستم امتیازدهی مورد ارزیابی قرار گرفته است. شایع‌ترین و خطرناک‌ترین آریتمی های بطنی طبق مدل Lambeth شامل ضربانات نابجای بطنی (Ventricular Ectopic Beats, VEBs)، تاکی کاردی بطنی (Ventricular Tachycardia, VT) و فیبریلاسیون بطنی (Ventricular Fibrillation, VF) می‌باشند [۳۶]. VEBs به کمپلکسهای QRS زودرس و پهن شده اطلاق می‌شود که هرگاه یک در میان با کمپلکس طبیعی QRS حادث شود به آن بای ژمینه و هرگاه به ازای هر دو کمپلکس QRS طبیعی، یک VEBs ایجاد گردد به آن تری ژمینه گویند و سایر انواع مرکب کوپلت

Archive of SID
www.SID.ir

(دو عدد VEBs پشت سر هم) و تریپلت (سه عدد VEBs پشت سر هم) نامیده می‌شوند. در این بررسی VEBs بطور جداگانه شمارش شدند. VT به ایجاد بیش از سه عدد VEBs پشت سر هم گفته می‌شود. VF نیز به کمپلکس‌های نامشخص و کم ولتاژ QRS اطلاق می‌شود که اگر کمتر از ۲ دقیقه طول بکشد به آن VF گذرا و در غیر اینصورت VF پایدار خواهد بود. در مطالعه حاضر میزان بروز (درصدی از حیوانات که دچار VT و VF شدند) و همچنین شدت آریتمی های بطنی، بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند.

در بررسی شدت آریتمی از سیستم امتیاز دهی به شرح ذیل استفاده شد [۲]. صفر امتیاز: ۰ تا ۴۹ عدد VEBs، یک امتیاز: ۵۰ تا ۴۹۹ عدد VEBs، دو امتیاز: بیش از ۵۰۰ عدد VEBs یا یک اپیزود VT و یا VF، سه امتیاز: بیش از یک اپیزود VT و یا VF گذرا یا هر دو به مدت کمتر ۶۰ ثانیه، چهار امتیاز: VT و یا VF گذرا یا هر دو به مدت ۶۰ تا ۱۲۰ ثانیه، پنج امتیاز: VT و یا VF گذرا یا هر دو به مدت بیش از ۱۲۰ ثانیه، شش امتیاز: VF کشنده بعد از ۱۵ دقیقه انسداد شریان کرونر، هفت امتیاز: VF کشنده بین دقیقه ۴ تا دقیقه ۱۵ بعد از انسداد شریان کرونر، هشت امتیاز: VF کشنده بین دقیقه ۱ تا دقیقه ۴ بعد از انسداد شریان کرونر و نه امتیاز: VF کشنده کمتر از یک دقیقه بعد از انسداد شریان کرونر.

جهت آنالیز آماری داده‌ها، از نرم افزار SPSS ویراست ۱۶ استفاده گردید. داده‌ها بصورت انحراف معیار ± میانگین گزارش گردید. برای مقایسه بین گروه‌ها از روش آنالیز واریانس دوطرفه استفاده گردید. داده های مربوط به بروز آریتمی ها به درصد گزارش شده و برای آنالیز آماری از Fisher Exact Test استفاده شد. برای آنالیز آماری داده های مربوط به شدت آریتمی های بطنی از آزمون Kruskal-Wallis استفاده گردید. در تمام آزمون‌ها، $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

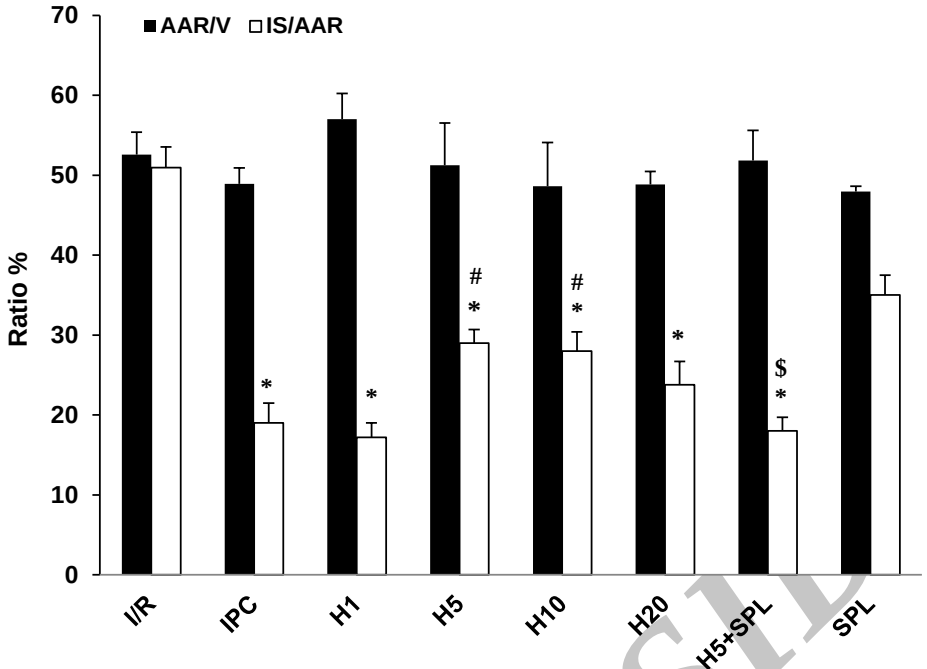
در مطالعه حاضر اثرات هیدروکورتیزون در ۴ غلظت ۱، ۵، ۱۰ و۲۰ میکرومولار مورد بررسی قرار گرفت که در هر ۴ غلظت کاهش چشمگیری در حجم سکته قلب مشاهده گردید و نسبت به I/R معنی دار بوده است ($P<0/05$) اما نسبت به گروه IPC تفاوتی نداشته است. هیدروکوتیزون در غلظت ۱ میکرومولار بیشترین کاهش حجم سکته را نشان داد که نسبت به غلظتهای ۵ و ۱۰ میکرومولار نیز معنی دار بود ($P<0/05$) ولی نسبت به غلظت ۲۰ میکرومولار معنی دار نبود (شکل ۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثرات محافظتی هیدروکورتیزون در قلب در غلظت ۵ میکرومولار شروع به کاهش کرده است (شکل ۱)، بنابراین جهت تعیین نقش گیرنده مینرالوکورتیکوئید در اثرات محافظتی هیدرروکورتیزون، غلظت ۵ میکرومولار انتخاب و در ادامه آزمایشات استفاده گردید. نتایج گروه ۷ مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اضافه کردن اسپیرنولاکتون (به عنوان آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید) به هیدروکورتیزون، باعث کاهش معنی دار در حجم سکته نسبت به گروه I/R ($P<0/05$) و نیز گروه هیدروکورتیزون ۵ و۱۰ میکرومولار به تنهایی شده است ($P<0/05$). اسپیرنولاکتون به تنهایی موجب کاهش غیر معنی دار حجم سکته نسبت به گروه I/R شده است ($P>0/05$) (شکل ۱).

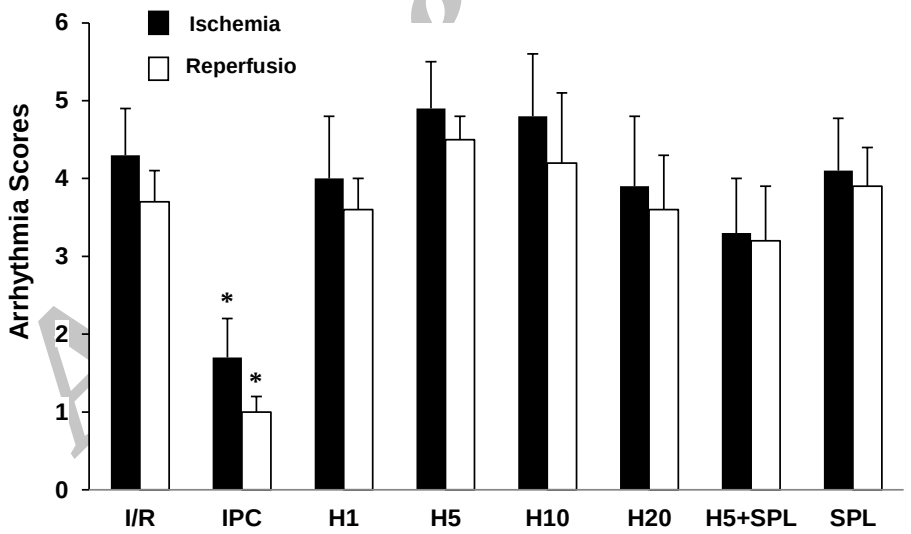
در بخشی دیگر از مطالعه حاضر، آریتمی های موجود در مراحل ایسکمی و جریان مجدد به طور جداگانه درجه بندی شدند (شکل ۲). طبق این نمودار گروه IPC نسبت به گروه I/R کاهش معنی داری در میزان آریتمی ها (VEB، VT و VF) را نشان داد ($p<0/05$). گروه های هیدروکورتیزون نسبت به گروه IPC میزان بالاتری از آریتمی ها را به خود اختصاص دادند ($p<0/05$). البته در بین گروه های هیدروکورتیزون اختلاف چندانی در درجه آریتمی ها مشاهده نشده است. اضافه نمودن اسپیرنولاکتون به هیدروکورتیزون ۵ میکرومولار، موجب کاهش در درجه آریتمی ها نسبت به گروه هیدروکورتیزون ۵ میکرومولار تنها شده است ولی این کاهش معنی دار نبوده است.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعداد اپیزودهای VF و VT در گروه IPC کمتر از I/R بوده ($P<0/05$) و غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومولار از هیدروکورتیزون نیز دارای اپیزودهای VF کمتری بوده، اما با افزایش غلظت هیدروکورتیزون میزان بروز اپیزودها افزایش یافت و بیشترین

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- اثرات هیدروکورتیزون و اسپیرنولاکتون بر حجم سکته در قلب ایزوله موش صحرایی
*: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه I/R معنی دار در نظر گرفته شده است. # : ۰/۰۵ >p در مقایسه با گروه H1 معنی دار در نظر گرفته شده است. $: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه I/R، H5 وH10 معنی دار در نظر گرفته شده است. I/R = ایسکمی–جریان مجدد، IPC = ایسکمیک پریکاندیشنینگ، H1, H5, H10, H20 = هیدروکورتیزون ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، SPL = اسپیرنولاکتون (۱۰میکرومولار). IS = Infarct Size، V = Ventricular، AAR = Area At Risk.



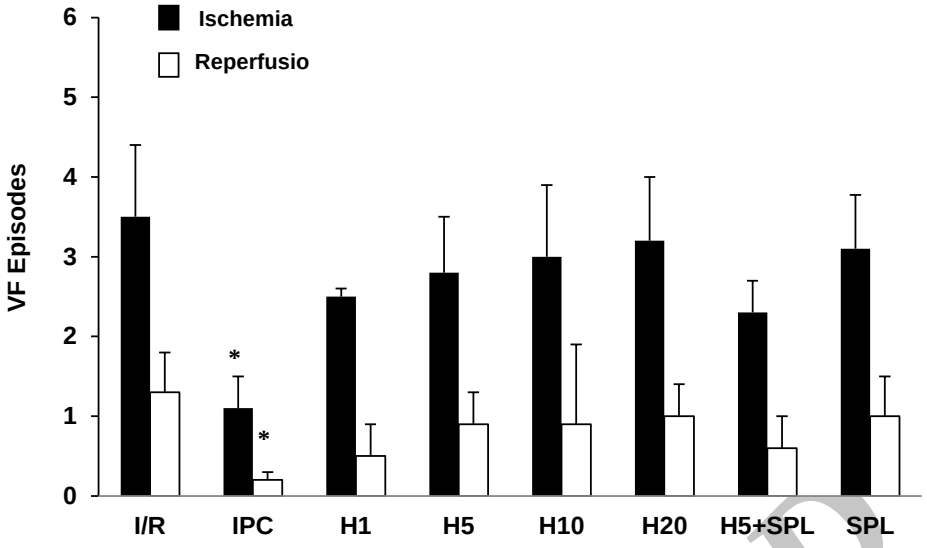
شکل ۲- اثرات هیدروکورتیزون و اسپیرنولاکتون بر شدت آریتمی ها در قلب ایزوله موش صحرایی، اعداد به صورت میانگین± خطای استاندارد محاسبه شده‌اند.
*: p <۰/۰۵ در مقایسه با گروه I/R معنی دار در نظر گرفته شده است. I/R = ایسکمی –جریان مجدد، IPC = ایسکمیک پریکاندیشنینگ، H1, H5, H10, H20 = هیدروکورتیزون ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، SPL = اسپیرنولاکتون (۱۰میکرومولار).

میزان بروز VF در هیدروکورتیزون ۲۰ میکرومولار مشاهده گردید. بعلاوه میزان بروز VF در گروه ترکیب هیدروکورتیزون و اسپیرنولاکتون نیز نسبت به گروه I/R کمتر بوده، لیکن معنی دار نبوده است.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف هیدروکورتیزون موجب کاهش حجم سکته در قلب

www.SID.ir



شکل ۳- اثرات هیدروکورتیزون و اسپیرنولاکتون بر اپیزودهای فیبریلاسیون بطنی در قلب ایزوله موش صحرایی، اعداد به صورت میانگین± خطای استاندارد محاسبه شده اند. *: $p<0/05$ در مقایسه با گروه I/R معنی دار در نظر گرفته شده است. I/R = ایسکمی– جریان مجدد، IPC = ایسکمیک پریکاندیشنینگ، H1, H5, H10, H20 = هیدروکورتیزون ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، SPL = اسپیرنولاکتون (۱۰میکرومولار).

موش صحرایی شده است که این اثرات حفاظتی در غلظت‌های بالا کمتر بوده است. اضافه نمودن اسپیرنولاکتون، به عنوان آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید به هیدرکورتیزون باعث اثرات حفاظتی هیدروکورتیزون گردیده است. این اثرات احتمالاً می‌تواند به علت نقش ذاتی دارو و یا نقش حفاظتی مهار گیرنده مینراکوکورتیکوئید باشد. بنابراین احتمالاً تحریک گیرنده مینرالوکورتیکوئیدی بخشی از اثرات محافظتی هیدروکورتیزون را کاهش می‌دهد.

در مورد اثرات محافظتی هیدروکورتیزون اندوژن و اگزوژن مطالعات مختلفی انجام شده است. به عنوان مثال، حافظی مقدم و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که دگزامتازون با افزایش سطوح اندوتلیال نیتریک اکساید سنتتاز و نیتریک اکساید موجب کاهش حجم ناحیه سکته می‌گردد [۱۹]. فان و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که دگزامتازون در غلظت های کمتر از ۲ میکرومولار (۰/۵ و ۱ میکرومولار) سبب کاهش حجم ناحیه سکته در قلب ایزوله موش صحرایی می‌گردد و این اثر در دوز ۲ میکرومولار از بین می‌رود [۱۱]. در مطالعه‌ی حاضر، علیرغم کاهش اثرات محافظتی هیدرکورتیزون در قلب با افزایش دوز، ولی همچنان اثر محافظتی خود را حفظ کرده است که با نتایج مطالعه فان تفاوت دارد. هرچند مشابه با مطالعه فان، بیشترین اثر در دوز ۱ میکرومولار مشاهده گردیده است [۱۱]. از سوی دیگر می هالیدو در سال ۲۰۰۹ نشان داد که دگزامتازون و هیدرکورتیزون در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ نانومولار سبب افزایش معنی دار در حجم ناحیه سکته می‌گردند [۲۹]. دو مطالعه اخیر نشان می‌دهد که غلظت‌های فیزیولوژیک کورتیکواستروئیدها در شرایط مختلف آزمایشگاهی جواب‌های متناقض در حفاظت قلبی ایجاد می‌کند. برخی مطالعات بالینی نیز در همین راستا، اثرات نامطلوبی از کورتیکواستروئیدها نشان داده‌اند. مثلاً در مطالعه‌ی Wiener، سطوح کورتیزول و کورتیکواسترون در بیماران مبتلا به انفارکتوس حاد میوکارد بالا بوده، در حالی که گروه کنترل با آنژین صدری خفیف، از سطوح نرمال این هورمون برخوردار بودند [۳۷]. همچنین در مطالعه‌ی Nito و همکاران در سال ۲۰۰۴، کورتیزول به عنوان یک فاکتور پیش بینی کننده برای مرگ و میر ناشی از مشکلات میوکارد معرفی گردید [۳۱]. سطح کورتیزول این بیماران با حجم سکته بزرگتر، بالاتر بود و طول مدت بالابودن سطح کورتیزول نیز در بیماران از دست رفته، بیشتر از بیمارانی بود که زنده مانده‌اند [۳۱]. مجموع مطالعات فوق و مطالعه‌ی حاضر، می‌تواند موید این مطلب باشد که دوز اثرات محافظت قلبی کورتیکواستروئیدها نمودار bell shaped دارد که در دو انتهای آن اثرات کم و در میانه بیشترین اثر را دارد. علت و مکانیسم این اثرات وابسته به دوز و bell shaped کورتیکواستروئید ها به طور کامل مشخص نیست [۱۱، ۲۹]. با

www.SID.ir
Archive of SID

توجه به مطالعات مختلفی که در این زمینه صورت گرفته بیشتر براین باورند که به احتمال قوی کورتیکواستروئیدها در دوزهای مختلف از طریق رسپتورهای متفاوتی عمل می‌کنند و در نتیجه اثرات متفاوتی نشان می‌دهند.

مطالعات مختلفی جهت تعیین نوع گیرنده درگیر در اثرات محافظت قلبی کورتیکواستروئیدها انجام شده است. به عنوان مثال، حافظی مقدم بر این باور بود که اثرات کورتیکواستروئیدها به اثرات ضدالتهابی یا فعالیت گلوکوکورتیکوئید آنها ارتباط ندارد و ممکن است مربوط به اثرات مینرالوکورتیکوئیدی و پاکسازی رادیکال‌های آزاد باشد [۱۹]. در مقابل، برخی مطالعات تاکید بر اثرات کورتیکواستروئیدها به عنوان عوامل کاردیوپروتکتیو از طریق گیرنده گلوکوکورتیکوئید با مکانیسم کاهش پاسخ التهابی و افزایش اثرات محافظتی در کاهش حجم سکته داشته‌اند [۵، ۱۲]. جهت تائید مکانیسم دخالت گیرنده های گلوکوکورتیکوئید یا مینرالوکورتیکوئیدی در اثرات محافظتی هیدروکورتیزون، می هالیدو از یک آنتاگونیست گیرنده پروژسترون/گلوکوکورتیکوئید (RU486) به همراه کورتیزول استفاده کرد که تغییری در اثر کورتیزول در کاهش حجم سکته مشاهده نکرد ولی همراه با آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید (اسپیرونولاکتون) اثرات کورتیزول بهبود یافت [۲۹] که مشابه نتایج مطالعه حاضر بوده است. این خود شاهدی است بر اینکه کورتیزول علاوه بر رسپتور گلوکوکورتیکوئید، از طریق رسپتور مینرالوکورتیکوئید نیز می‌تواند عمل می‌کند. طبق مطالعه می هالیدو، کورتیزول در غلظت‌های پایین اثر آلدوسترون را تقلید کرده و باعث افزایش آپوپتوزیس می‌شود. اثرات فیزیولوژیک استروئیدها از طریق گیرنده گلوکوکورتیکوئید در محدوده غلظت۱۰ نانومولار تا ۱ میکرومولار اتفاق می‌افتد و نیز در غلظت‌های بالاتر آپوپتوزیس کاردیومیوسیت ها هم از طریق گلوکوکورتیکوئید و مینرالوکورتیکوئیدها ایجاد می‌شود [۲۹]. طبق مطالعه فاندر، گیرنده مینرالوکورتیکوئید قلبی در حضور ROS و/یا تغییرات در وضعیت ردوکس داخل سلولی فعال می‌شود و این احتمالاً موجب می‌شود که در شرایط ایسکمی قلبی تمایل کورتیکواستروئیدها به گیرنده مینرالوکورتیکوئید بیشتر شود [۱۴]. مطالعات بالینی زیادی وجود دارد که شاهدی برای نقش فعال گیرنده مینرالوکورتیکوئید در ایسکمی میوکارد و نارسایی قلبی است. به عنوان مثال، مطالعه فراککارلو و همکاران در سال ۲۰۰۸، نشان داد که تجویز آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید بین روزهای ۳ الی ۱۴ بعد از انفارکتوس میوکارد دارای اثرات مطلوب از نظر تشکیل عروق جدید در میوکارد آسیب دیده در نتیجه انفیلتراسیون ماکروفاژها و سیتوکین ها با تحریک فاکتورهای رگزایی می‌باشد [۱۳]. همچنین اسکمیت و همکاران نشان دادند که تجویز آنتاگونیست گیرنده مینرالوکورتیکوئید در انتهای دوره ایسکمی بسیار موثر است [۳۳]. مطالعه لی و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز موافق این اثرات بوده است [۲۷]. در مطالعه حاضر نیز ترکیب اسپیرنولاکتون و هیدروکورتیزون اثرات بیشتری در کاهش حجم سکته نسبت به هیدروکورتیزون تنها داشته است که تایید مطالعات فوق در خصوص نقش گیرنده مینرالوکورتیکوئید در اثرات استروئیدها در قلب می‌باشد. اما مکانیسم اثرات مفید اسپیرنولاکتون در بهبود اثرات هیدروکورتیزون به طور دقیق مشخص نیست و اینکه آیا تنها از طریق بلوک اثرات آلدوسترون عمل می‌کند یا مکانیسم‌های دیگری نیز دخیل هستند؟ طبق مطالعه‌ی یانگ در سال ۲۰۰۱، استرس مزمن قلبی موجب تحریک آنزیم ۱۱-β هیدروکسیلاز و بیان mRNA آلدوسترون سنتتاز می‌شود [۴۰]. افزایش این آنزیم در طی ایسکمی میوکارد موجب افزایش تبدیل کورتیزول (فعال) به کورتیزون (غیرفعال) و کاهش فعال سازی مینرالوکورتیکوئید با گلوکوکورتیکوئید می‌شود. کورتیزول از گیرنده مینرالوکورتیکوئیدها دور و به آلدوسترون اجازه دسترسی به گیرنده مینرالوکورتیکوئید و فعال سازی آن را می‌دهد [۷]. در نتیجه می‌توان گفت با ظهور آنزیم ۱۱-β هیدروکسیلاز دهیدروژناز، آلدوسترون از طریق مینرالوکورتیکوئید اعمال اثر می‌کند و بلوک اثرات آلدوسترون با اسپیرنولاکتون، می‌تواند یکی از مکانیسم‌های اثرات مفید هیدروکورتیزون باشد.

در ادامه در مطالعه حاضر مشاهده شد که با افزایش غلظت هیدروکورتیزون میزان بروز آریتمی های VF نیز افزایش یافت. از آنجایی که در مطالعه حاضر با افزایش غلظت هیدروکورتیزون، حجم سکته نیز زیاد گردید، از این لحاظ با مطالعه کورتیس [۸] که اندازه ناحیه ایسکمی را یکی از موارد

www.SID.ir
Archive of SID

اصلی تعیین کننده بروز آریتمی می‌داند، همخوانی دارد. در مطالعه حاضر اثرات ضدآریتمی های بطنی از اسپیرونولاکتون مشاهده شد. در برخی مطالعات اثرات مضر آلدوسترون در قلب به صورت بروز آریتمی های بطنی و اختلال عملکرد قلبی شناخته شده است [۷]. در مطالعات اخیر نقش غیرژنی آلدسترون در غلظت کم در کوتاه مدت بر روی مبادله گر سدیم هیدروژن مشخص شده است. آلدسترون تولید شده در قلب از طریق افزایش رادیکال آزاد اکسیژن می‌تواند اثرات پروآریتمی داشته، بنابراین احتمالاً اسپیرونولاکتون می‌تواند اثرات پروآریتمی آن را خنثی کند [۷، ۱۷]. از طرفی اثرات اختصاصی اسپیرونولاکتون بر روی ژن انسانی (HERG) مربوط به کانالهای پتاسیم و مهار کانال کلسیم اثرات ضدآریتمی اختصاصی از این دارو را بدون وابستگی به رسپتور مینرالوکورتیکواسترویید نشان داده است [۷]. همچنین در برخی مطالعات، اسپیرنولاکتون پارامترهای الکتروفیزیولوژیک مثل QT-interval dispersion [عبارت است از پخش غیریکنواخت رپلاریزاسیون (QT) در لایه های مختلف بطنی (میوکارد، اپیکارد، اندوکارد) و یا اختلاف رپلاریزاسیون بین بطن راست و چپ و یا در سیستم هدایتی بطنی که ناشی از اختلاف رپلاریزاسیون منتج از جریانهای پتاسیم می‌باشد و می‌تواند به آریتمی های کشنده بطنی ختم شود را بهبود داده و همچنین تغییرپذیری ضربان قلب را افزایش داده و باعث کاهش PVBs و بروز اپیزودهای VT گردید [۲۸، ۳۲، ۳۹]. این مطالعات نشان دادند که گیرنده مینرالوکورتیکوئید یک کاندید برای بروز آریتمی است که به عنوان یک فاکتور مهم در کنترل، ظهور و/یا فعالیت کانال‌های یونی و احتمالاً سایر فاکتورهای مهم در اختلال ریتم نقش دارند. برخی مطالعات کانال‌های پتاسیمی میتوکندریایی حساس به ATP را در ایجاد اثرات محافظتی در برابر آریتمی ها موثر دانستند چون بلوکرهای آن اثرات آنتی آریتمیک ایجاد شده توسط تحریکات پریکاندیشنیگ نظیر IPC را کاهش دادند [۶].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هیدروکورتیزون اگزوژن با اعمال اثرات حاد مستقیم به عنوان عامل پیش شرطی سازی فارماکولوژیک در غلظت‌های متوسط و بالا می‌تواند اثرات محافظتی در کاردیومیوسیت های قلبی اعمال کند که حداقل قسمتی از این اثرات از طریق گیرنده مینرالوکورتیکوئید در غلظت‌های بالا برعکس می‌گردد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان می‌باشد که بدینوسیله نویسندگان از مسئولین آن تقدیر و تشکر می‌نمایند.

References

[1] Alizadeh AM, Faghihi M, Khori V, Mohsenikia M, Effect of pre-treatment with oxytocin on cardiac enzymes in regional ischemia-reperfusion injury induced in the rat heart. ***Physiol Pharmacol*** 15 (2012) 572-582.

[2] Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, MohammadGhasemi F, Imani A, Houshmand F, Khori V, Oxytocin protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via pathway involving mitochondrial ATP-dependent potassium channel. ***Peptides*** 31 (2010) 1341-1345.

[3] Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, MohammadGhasemi F, Khori V, Role of endogenous oxytocin in cardiac ischemic preconditioning. ***Regul Pept*** 167 (2011) 86-90.

[4] Alizadeh AM, Faghihi M, Khori V, Sohanaki H, Pourkhalili K, Mohammadghasemi F, Mohseniki M, Oxytocin protects cardiomyocytes from apoptosis induced by ischemia-reperfusion in rat heart: Role of mitochondrial ATP-dependent potassium channel and permeability transition pore. ***Peptides*** 36 (2012) 71-77.

[5] Bourbon A, Vionnet M, Leprince P, Vaissier E, Copeland J, McDonagh P, The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response. ***Eur J Cardiothorac Surg*** 26 (2004) 932-8.

[6] Brown DA, O'Rourke B, Cardiac mitochondria and arrhythmias. ***Cardiovasc res*** 88 (2010) 241-9.

[7] Chai W, Hofland J, Jansen PM, Garrelds IM, de Vries

Archive of SID
www.SID.ir

R, van den Bogaerdt AJ, Steroidogenesis vs. steroid uptake in the heart: do corticosteroids mediate effects via cardiac mineralocorticoid receptors? ***J Hypertens*** 28 (2010) 1044-53.

[8] Curtis MJ, Walker MJ, Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia. ***Cardiovasc Res*** 22 (1988) 656-65.

[9] Davarian A, Khori V, Nayebpour M, Cardioprotective Effects of Exogenous and Endogenous Hydrocortisone in the Rabbit Model of Ischemia-Reperfusion. ***Int J Morphol*** 28 (2010) 653-658.

[10] Faghihi M, Alizadeh AM, Khori V, Latifpour M, Khodayari S, The role of nitric oxide, reactive oxygen species, and protein kinase C in oxytocin-induced cardioprotection in ischemic rat heart. ***Peptides*** 37 (2012) 314-9.

[11] Fan WJ, Genade S, Genis A, Huisamen B, Lochner A, Dexamethasone-induced cardioprotection: a role for the phosphatase MKP-1? ***Life sci*** 84 (2009) 838-46.

[12] Fillinger MP, Rassias AJ, Guyre PM, Sanders JH, Beach M, Pahl J, Watson RB, Whalen PK, Yeo KT, Yeager MP, Glucocorticoid effects on the inflammatory and clinical responses to cardiac surgery. ***J Cardiothorac Vasc Anesth*** 16 (2002) 163-9.

[13] Fraccarollo D, Galuppo P, Schraut S, Kneitz S, van Rooijen N, Ertl G, Bauersachs J, Immediate mineralocorticoid receptor blockade improves myocardial infarct healing by modulation of the inflammatory response. ***Hypertension*** 51 (2008) 905-14.

[14] Funder JW, RALES, EPHESUS and redox. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 93 (2005) 121-5.

[15] Giugliano GR, Giugliano RP, Gibson CM, Kuntz RE, Meta-analysis of corticosteroid treatment in acute myocardial infarction. ***Am J Cardiol*** 91 (2003) 1055-9.

[16] Gomez-Sanchez CE, Gomez-Sanchez EP, Cardiac Steroidogenesis-New Sites of Synthesis, or Much Ado About Nothing? ***J Clin Endocrinol Metab*** 86 (2001) 5118-20.

[17] Gomez-Sanchez EP, Ahmad N, Romero DG, Gomez-Sanchez CE, Origin of aldosterone in the rat heart. ***Endocrinology*** 145 (2004) 4796-802.

[18] Gross ER, Gross GJ. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. ***Cardiovasc Res*** 70 (2006) 212-21.

[19] Hafezi-Moghadam A, Simoncini T, Yang Z, Limbourg FP, Plumier JC, Rebsamen MC, Hsieh CM, Chui DS, Thomas KL, Prorock AJ, Laubach VE, Moskowitz MA, French BA, Ley K, Liao JK, Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. ***Nat Med*** 8 (2002) 473-9.

[20] Imani A, Faghihi M, Sadr SS, Niaraki SS, Alizadeh AM, Noradrenaline protects in vivo rat heart against infarction and ventricular arrhythmias via nitric oxide and reactive oxygen species. ***J Surg Res*** 169 (2011) 9-15.

[21] Khori V, Alizadeh F, Najafi S, Pourabouk M, Nayebpour M, Salehi A, Shirafkan AA, Saleki S, Badaghabadi F, Davariyan A, Alizadeh AM, Protective effects of simvastatin on atrioventricular node during simulated experimental atrial fibrillation in vitro. ***Physiol Pharmacol*** 14 (2010) 127-136.

[22] Khori V, Azadbakht M, Nayebpour M, Alizadeh AM, Pourabouk M, Badaghabadi F, Changizi SH, Moheimani HR, Rate-dependent electrophysiological effects of Crocus sativus on extracellular field potential of isolated rabbit heart in-vitro. ***J Med Plants*** 9 (2010) 48-56.

[23] Khori V, Davarian A, Nayebpour M, Salaki S, Salehi A, Shirafkan AA, Badaghabadi F, Pourabouk M, Alizadeh AM, Changizi S, Effect of nitric oxide modulation on the basic and rate-dependent electrophysiological properties of AV-node in the isolated heart of rabbit: The role of adrenergic and cholinergic receptors. ***Physiol Pharmacol*** 14 (2010) 12-22.

[24] Khori V, Najafi SA, Alizadeh AM, Moheimani HR, Shakiba D, Alizadeh F, Nayebpour M, Protective role of simvastatin on isolated rabbit atrioventricular node during experimental atrial fibrillation model: role in rate control of ventricular beats. ***Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*** 385 (2012) 697-706.

[25] Khori V, Nayebpour M, Mansourian AR, Davarian A, Naseri M, Salehi A, Alizadeh A-M, Altered levels of nodal excitability by rate-dependent inhibitory effects of essential oil of Citrus aurantium on the electrophysiological properties of isolated perfused rabbit AV-Node. Protective role in the prevention of ouabain toxicity. ***Int J Morphol*** 28 (2010) 445-451.

[26] Kloner RA, Rezkalla SH, Preconditioning, postconditioning and their application to clinical

Archive of SID
www.SID.ir

cardiology. ***Cardiovasc Res*** 70 **(**2006) 297-307.

[27] Loan Le TY, Mardini M, Howell VM, Funder JW, Ashton AW, Mihailidou AS, Low-Dose Spironolactone Prevents Apoptosis Repressor With Caspase Recruitment Domain Degradation During Myocardial Infarction. ***Hypertension*** 59 (2012) 1164-9.

[28] MacFadyen RJ, Barr CS, Struthers AD, Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients. ***Cardiovasc res*** 35 (1997) 30-4.

[29] Mihailidou AS, Le TYL, Mardini M, Funder JW, Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors during experimental myocardial infarction. ***Hypertension*** 54 (2009) 1306-12.

[30] Nagata K, Obata K, Xu J, Ichihara S, Noda A, Kimata H, Kato T, Izawa H, Murohara T, Yokota M, Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and failure in low-aldosterone hypertensive rats. ***Hypertensio****n* 47 (2006) 656-64.

[31] Nito I, Waspadji S, Harun S, Markum H, Correlation between cortisol levels and myocardial infarction mortality among intensive coronary care unit patients during first seven days in hospital. ***Acta Med Indones*** 36 (2004) 8-14.

[32] Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. ***N Engl J Med*** 341 **(**1999) 709-17.

[33] Schmidt K, Tissier R, Ghaleb B, Drogies T, Felix SB, Krieg T. Cardioprotective effects of mineralocorticoid receptor antagonists at reperfusion. ***Eur Heart J*** 31 (2010) 1655-62.

[34] Silvestre JS, Heymes C, Oubénaïssa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Delcayre C, Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. ***Circulation*** 99 (1999) 2694-701.

[35] Silvestre JS, Robert V, Heymes C, Aupetit-Faisant B, Mouas C, Moalic JM, Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat physiological regulation. ***J Biol Chem*** 273 (1998) 4883-91.

[36] Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, Cobbe SM, Coker SJ, Harness JB, Harron DW, The Lambeth conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. ***Cardiovasc Res*** 22 (1988) 447-455.

[37] Wiener K, Plasma cortisol, corticosterone and urea in acute myocardial infarction: clinical and biochemical correlations. ***Clin Chim Acta*** 76 (1977) 243-50.

[38] Yeager M, Guyre P, Munck A, Glucocorticoid regulation of the inflammatory response to injury. ***Acta Anaesthesiol Scand*** 48 (2004) 799-813.

[39] Yee KM, Pringle SD, Struthers AD, Circadian variation in the effects of aldosterone blockade on heart rate variability and QT dispersion in congestive heart failure. ***J Am Coll Cardiol*** 37 (2001) 1800-7.

[40] Young MJ, Clyne CD, Cole TJ, Funder JW, Cardiac steroidogenesis in the normal and failing heart. ***J Clin Endocrinol Metab*** 86 (2001) 5121-6.

Archive of SID

www.SID.ir