Archive of SID

تحقیقی

اثر محافظتی لووتیروکسین با مکانیسم کاهش استرس اکسیداتیو در مدل پیش شرطی سازی ایسکمیک در قلب موش صحرایی

معصومه تاجیک[۱]، دکتر وحید خوری[۲]، دکتر عبدالجلال مرجانی[۳]، دکتر شهره تازیکی[٤]، محمدعلی ضیغمی[٥]، دکتر آزاد رضا منصوریان*[٦]

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات ایسکمی، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۲- استاد، مرکز تحقیقات ایسکمی، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۳- استاد، مرکز تحقیقات اختلالات متابولیک، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ٤- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ٥- کارشناسی ارشد بیوشیمی، کارشناس آزمایشگاه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ٦- استاد، مرکز تحقیقات اختلالات متابولیک، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

چکیده

زمینه و هدف : *در پیش شرطی شدن ایسکمیک (ischemic preconditioning: IPC) قلب در دوره‌های کوتاه‌مدت دچار ایسکمی شده و لذا در صورت مواجهه با ایسکمی طولانی، قسمت اعظم ناحیه دچار ایسکمی از آسیب محافظت می گردد. این مطالعه به منظور تعیین اثر محافظتی لووتیروکسین با مکانیسم کاهش استرس اکسیداتیو در مدل پیش شرطی سازی ایسکمیک در قلب موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در در سه گروه ۱۰ تایی انجام شد. در گروه ایسکمی پرفیوژن مجدد (IR) ، قلب حیوان در دستگاه لانگندورف قرار گرفت. در گروه پیش شرطی سازی ایسکمی (IPC) قبل از ایسکمی ماژور در معرض ٤ دوره ایسکمی ٥ دقیقه‌ای همراه با پرفیوژن مجدد قرار گرفت. در گروه دریافت کننده داخل صفاقی لووتیروکسین با دوز ۲۵ میکروگرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن حیوان، قلب در معرض ایسکمی پرفیوژن مجدد قرار گرفت. حجم ناحیه اینفارکت و میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت قلب سنجیده شد.*

یافته ها : *حجم ناحیه آسیب دیده گروه IR ۲٦/٥٥ میلی‌متر مکعب، گروه IPC ۱۱/۱۱ میلی‌متر مکعب و گروه دریافت کننده لووتیروکسین ۱۲/٥٦ میلی‌متر مکعب تعیین شد. تزریق لووتیروکسین همانند IPC حجم ناحیه آسیب‌دیده را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه IR پایین آورد (P<۰/۰٥). میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه IR ۱۳۲۸، در گروه IPC ۷۷۷ و در گروه دریافت کننده لووتیروکسین ۷٦۲ تعیین شد و در گروه‌های IPC و دریافت کننده لووتیروکسین نسبت به گروه IR کاهش نشان داد (P<۰/۰٥).*

نتیجه‌گیری : *تزریق لووتیروکسین با ایجاد پیش شرطی سازی ایسکمیک سبب کاهش اثر سوء ایسکمی پرفیوژن مجدد در قلب موش صحرایی می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *قلب ، ایسکمی ، لووتیروکسین، پیش شرطی سازی ایسکمیک، استرس اکسیداتیو*

* نویسنده مسؤول : دکتر آزاد رضا منصوریان ، پست الکترونیکی azad_r_mansourian@yahoo.com

نشانی : گرگان ، کیلومتر ۲ جاده گرگان به ساری ، مجموعه آموزش عالی دانشگاه علوم پزشکی گلستان (شادروان فلسفی)، دانشکده پزشکی گروه فارماکولوژی، تلفن ۳۲٤۳۰٤۳٤-۰۱۷، نمابر ۳۲٤٤۰۲۲٥

وصول مقاله : ۱۳۹٥/۹/۷ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٦/۳/۲۲ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٦/٤/۲۷

مقدمه

بیماری‌های قلبی - عروقی به ویژه ایسکمی قلبی به علت تنگی عروق کرونر، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قلبی است و زمانی حادث می‌شود که در نتیجه اختلال در عروق کرونر، خونرسانی به میوکارد کاهش یافته و اکسیژن مورد نیاز قلب به خوبی تامین نمی‌شود. به‌نظر می‌رسد برقراری پرفیوژن مجدد با استفاده از مداخلات مکانیکی یا فارماکولوژیکی بعد از ایسکمی حاد قلبی، برای نجات میوکاردیوم زنده ماندنی و حفظ عملکرد سلول‌های عضله قلبی دچار ایسکمی ضروری است (۱و۲). از طرفی خود رپرفیوژن با به راه‌انداختن شروع ناگهانی واکنش‌های اکسیداتیو و پاسخ التهابی موضعی باعث آسیب و مرگ سلولی می‌شود که به عنوان آسیب رپرفیوژن نامیده می‌شود و به مرگ کاردیومیوسیت‌هایی که قبل از رپرفیوژن زنده ماندنی بودند؛ منجر می گردد (۳) و پدیده ایسکمی – رپرفیوژن (I/R) ایجاد می‌شود (۱و۲).

برخی مطالعات نشان داده که ایسکمی کوتاه‌مدت قبل از

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

ایسکمی طولانی، اثرات حفاظتی در برابر انفارکتوس حاد قلبی دارد. خاطره ایسکمی قبلی در محافظت از آسیب ایسکمیک شدید بعدی را پدیده پیش شرطی شدن ایسکمیک (IPC) (ischemic preconditioning) می‌نامند. این پدیده توضیح می‌دهد که اگر قلب در دوره‌های کوتاه‌مدت و متوالی دچار ایسکمی گردد؛ در صورت مواجهه با ایسکمی شدید و طولانی‌مدت، قسمت اعظم ناحیه دچار ایسکمی از آسیب محافظت خواهند شد.

کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP میتوکندری (mitoKATP) بیشتر از کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP غشای پلاسمایی در فرایند پیش‌شرطی شدن قلبی نقش داشته (۴و۵) و بر روی آپوپتوز و نیز نکروز اثر می گذارند (۶). تعدادی از عوامل فارماکولوژیک مانند برادی‌کینین، نیتریک اکساید، آدنوزین و آگونیست آلفا آدرنرژیک باعث پری‌کاندیشنینگ فارماکولوژیکال می‌شوند (۷) و نیز اثرات حفاظتی هورمون تیروئید بر قلب، در سلول، حیوانات و انسان‌ها به اثبات رسیده است (۸). درمان با هورمون تیروئیدی به صورت حاد و یا طولانی مدت، میوکاردیوم را از آسیب ایسکمی ریپرفیوژن حفظ می‌کند. درمان طولانی مدت با لووتیروکسین بازشدن منافذ نفوذپذیر گذرای میتوکندری را مهار نموده و منجر به حفاظت قلب می‌گردد (۸و۹).

هورمون‌های تیروئیدی وضعیت آنتی‌اکسیدانی سلول را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۰و۱۱). میزان اثر هورمون‌های تیروئیدی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، براساس نوع آنزیم و بافت مورد سنجش متغیر است. فعالیت بعضی آنزیم‌ها مانند SOD، تحت تحریک هورمون‌های تیروئیدی افزایش می‌یابد. در قلب‌های درمان شده با تجویز طولانی‌مدت لووتیروکسین فعالیت پروتئین کیناز فعال‌شده میتوژن (p38 mitogen-activated protein kinases: P38MAPK) P38 که در پاسخ به ایسکمی ریپرفیوژن ایجاد می‌گردد؛ کاهش نشان داده (۱۲) و فعالیت P38MAPK در ایسکمی پری‌کاندیشنینگ (IPC) نیز کاهش یافته و این کاهش یک عنصر مهم در حفاظت قلبی ایجاد شده در شرایط IPC است (۱۳). نهایتاً این که افزایش در سطح هورمون‌های تیروئیدی ارتباط زیادی با تغییر در میزان استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدانت‌ها و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) دارد (۱۴). این مطالعه به منظور تعیین اثر محافظتی لووتیروکسین با مکانیسم کاهش استرس اکسیداتیو در مدل پیش شرطی سازی ایسکمیک در قلب موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم در دانشگاه علوم پزشکی گلستان در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق (ir.goums.rec.1394.11) دانشگاه علوم پزشکی گلستان قرار گرفت. پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. موش‌ها در شرایط یکسان و در دمای معمولی ۳±۲۵ درجه سانتی گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. موش‌ها به‌صورت تصادفی به سه گروه ده تایی تقسیم شدند.

در همه گروه‌ها بعد از بیهوشی کامل حیوان تحت عمل جراحی قرار گرفت و قلب را به سرعت ایزوله کرده و به دستگاه لانگندورف انتقال دادیم. محلول پرفیوژن، محتوی گاز کاربوژن (۹۵درصد اکسیژن و ۵درصد دی‌اکسیدکربن)، PH ۷/۴ با فشار ثابت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بود.

گروه‌بندی حیوانات به شرح زیر بود:

گروه اول (گروه ایسکمی): قلب حیوانات در معرض ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۰۰ دقیقه پرفیون مجدد قرار گرفت. روش ایجاد ایسکمی ریپرفیوژن بدین صورت بود که بعد از باز کردن شکم و برداشتن پرده دیافراگم، جدار قفسه‌سینه را کنار زدیم. بعد از پریکاردیوتومی، ورید اجوف تحتانی را کلامپ کرده و با برش در آئورت در ۱ تا ۲ میلی‌متری قلب،کانول مخصوص متصل به تیرود اکسیژن‌دار را درون آئورت (دیستال به دریچه آئورت) (۱۵) ثابت کردیم وسپس قلب را از قفسه‌سینه خارج کردیم. قلب جداشده در محفظه مرکزی با روش تغذیه کرونر مدل لانگندرف با دمای ۳۷±۰/۱ درجه سانتی گراد و pH ۷/۴ ثابت شد. سپس نخ ۰-۶ را از زیر شریان نزولی قدامی چپ در محل اولین شاخه دیاگونال آزاد شده و ابتدای شریان سیرکومفلکس چپ رد کردیم. با قرار دادن یک الکترود در محل گره دهلیزی - بطنی، یک الکترود در محل باندل هیس، یک الکترود در دهلیز چپ، یک الکترود در نوک قلب و دو الکترود برای حذف سیگنال‌های اضافه ثبت سه کاناله (دهلیز، هیس و ECG) از قلب صورت گرفت.

شریان نزولی قدامی چپ در گروه ایسکمی به مدت ۳۰ دقیقه بسته شد و بعد به مدت ۱۰۰ دقیقه مجدد باز شد تا ریپرفیوژن صورت گیرد. ایسکمی با سیانوز منطقه‌ای دیستال به بستن رگ و ری پرفیوژن با برطرف شدن سیانوز در منطقه مشخص می‌شود.

گروه دوم (گروه پیش شرطی سازی ایسکمی (IPC): قلب‌ها قبل از ایسکمی طولانی، در معرض ۴ دوره ایسکمی ۵ دقیقه‌ای همراه با پرفیوژن مجدد قرار گرفتند.

گروه سوم (دریافت کننده لووتیروکسین): حیوانات برای مدت ۱۴ روز لووتیروکسین (T4) محصول شرکت سیگما با دوز ۲۵ میکروگرم به ازای هر صد گرم وزن حیوان به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و پس از آن قلب حیوانات در معرض ایسکمی و پرفیوژن مجدد قرار گرفت.

محاسبه ناحیه در معرض خطر و اندازه آسیب: شریان نزولی قدامی چپ را مجدداً بستیم و رنگ اوانس بلو (Evans blue) با

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

غلظت یک درصد، به میزان ۱ML را از طریق کانول داخل آئورت تزریق کردیم تا مناطق با پرفیوژن از مناطق بدون پرفیوژن قلب مشخص شوند. سپس ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از محلول حاوی پتاسیم از طریق کانول تزریق کردیم تا قلب از تپش بایستد. سپس قلب را شستیم تا رنگ اضافی پاک شود و بعد از خشک کردن و پیچیدن قلب در یک نایلون پلاستیکی شفاف، آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای منفی۴ درجه سانتی‌گراد منجمد کردیم تا برای برش زدن آماده باشد (۱۶و۱۷). سپس قلب را به صورت موازی با شیار دهلیزی بطنی به ضخامت mm ۳-۲ برش دادیم و قطعات را در رنگ تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) یک درصد با غلظت یک درصد، به میزان ۲۰ میلی‌لیتر، محلول در بافر فسفات با PH=۷/۴ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه کردیم (۱۶). در میوکاردیوم قابل حیات TTC توسط آنزیم دهیدروژناز تجزیه می‌شود و بافت به رنگ قرمز تیره در می‌آید و بافت انفارکته رنگ TTC را به خود نگرفته و بی‌رنگ می‌ماند.

سپس قطعات بافتی را در فرمالدهید ۱۰ درصد ثابت کردیم و بعد از ۴۸ ساعت بطن راست همه قطعات چیده شده و دور ریخته شد و قطعات بطن چپ، اسکن گردید. اندازه انفارکشن به‌صورت نسبتی از وزن منطقه نکروتیک به منطقه با خطر بالا بیان شد.

نواحی غیرایسکمیک عدم در معرض خطر (area non at risk: ANAR) به‌صورت آبی، نواحی ایسکمیک (infarct area: IA) به‌صورت سفید و نواحی قلبی در معرض خطر (area at risk: AAR) به‌صورت قرمز رنگ مشخص می‌گردند. اندازه ایسکمی به ترتیب ذیل محاسبه می‌شود:

ناحیه انفارکت IA و ناحیه در معرض خطر AAR را با توجه به تعداد پیکسل اشغال شده در هر ناحیه (میلی متر مکعب) برای هر قطعه حساب می‌کنیم (۱۸).

$$\text{درصد ناحیه در معرض خطر} = \frac{\text{مجموع ناحیه } IA}{\text{مجموع ناحیه } AAR + \text{مجموع ناحیه } IA} \times 100$$

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در بافت قلب: بافت قلب منجمد شده را از دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد خارج و آن را وزن کرده و سپس با تیغ بیستوری تا آن جا که ممکن بود ریز تموده و به آن KCL ۱/۱۵ درصد اضافه کردیم. به یک گرم بافت ۱۰ میلی‌لیتر KCL اضافه شد. سپس آن را با استفاده از دستگاه سونی کیتور (XL-2000 SONICATOR) بر روی یخ، بافت را کاملاً هموژن کردیم. سپس نیم میلی‌لیتر از مخلوط هموژن شده را در یک لوله آزمایش ریخته و ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک یک درصد و نیز یک میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶ درصد اضافه کرده و مخلوط حاصل را به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار دادیم. سپس به مخلوط خنک شده ۴ میلی‌لیتر بوتانل نرمال اضافه کرده و خوب بهم زدیم و بعد از سانتریفیوژ کردن میزان جذب فاز بوتانول را در ۵۳۵ نانومتر قرائت کردیم (۱۹).

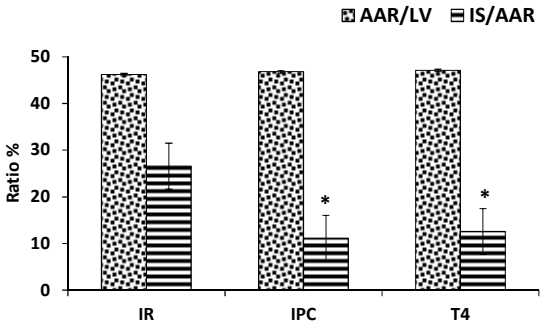
اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی T4 و T3 و TSH در سرم: در سرم حیواناتی که داروی لووتیروکسین دریافت کرده بودند؛ TSH (µIU/ml) با استفاده از کیت الایزا مخصوص موش صحرایی، محصول شرکت Casabio ژاپن و (ng/ml) T3 و (µg/dl) T4 با استفاده از کیت الایزا ساخت شرکت DBC کانادا سنجیده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Graphpad prism-5 تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میزان هورمون‌های تیروئیدی قبل و بعد از تزریق لووتیروکسین از آزمون تی زوجی استفاده شد. برای آنالیز بین چندگروه برای یک متغیر از آزمون ANOVA و مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون Tukey استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در گروه دریافت کننده لووتیروکسین با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن حیوان میزان T3 قبل و بعد از دریافت دارو از ۰/۱۶±۱/۶۳ به ۰/۶۸±۴/۰۱ نانوگرم بر میلی لیتر و میزان T4 از ۰/۳۸±۵/۳۱ به ۰/۵۱±۷/۷۷ میکروگرم بر دسی لیتر افزایش آماری معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). همچنین میزان TSH قبل و بعد از دریافت لووتیروکسین از ۰/۱۲±۰/۴۲ به ۰/۰۵±۰/۱۱ (µIU/ml) کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

حجم ناحیه آسیب دیده در گروه IPC و همچنین در گروه T4 کاهش آماری معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل IR داشت؛ ولی گروه T4 به IPC تفاوت آماری معنی داری نشان نداد (نمودار یک).



نمودار ۱ : نمودار ناحیه در معرض خطر و اندازه آسیب
IR : ایسکمی ریپرفیوژن، IPC : ایسکمی پری کاندیشنینگ
T4 : گروه دریافت کننده لووتیروکسین؛ AAR/LV ناحیه در معرض خطر؛ IS/AAR اندازه آسیب (به نسبت ناحیه در معرض خطر)
** P<۰/۰۵ نسبت به گروه IR*

میزان MDA (nmol/mg heart tissue) در گروه IPC-con (۷۷۷±۶۹) و گروه T4-IR (۷۶۲±۶۸) که داروی لووتیروکسین را دریافت نموده بودند؛ کاهش آماری معنی‌داری نسبت به گروه

www.SID.ir

Archive of SID

IR-con (۱۲۲۸±۳۱) نشان داد (P<۰/۰۵).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر پدیده پیش شرطی سازی قلبی با کاهش اندازه ناحیه آسیب دیده اثر محافظتی در مقابل ایسکمی ریپرفیوژن داشت. همچنین مشخص گردید تجویز مزمن لووتیروکسین، اثرات شبیه به IPC داشته و حجم ناحیه آسیب‌دیده را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه IR-control کاهش داده است. از طرف دیگر میزان MDA که شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی است؛ در هر دو گروه T4 و گروه IPC نسبت به گروه IR کاهش آماری معنی‌داری داشت و این نتیجه با آنچه که از محاسبه اندازه آسیب دیده به‌دست آمد؛ هماهنگ بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که T4 و IPC از تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو داخل سلول جلوگیری نموده‌اند.

هورمون تیروئید به دلیل این که ضربان قلب را تند می‌کند؛ به‌طور بالقوه اثرات زیان‌آوری بر روی ایسکمی دارد؛ اما با توجه به مطالعات انجام شده بر روی انسان و حیوان شواهدی وجود دارد که هورمون تیروئیدی اثر حفاظتی نیز بر روی قلب دارد و درمان‌های حاد و مزمن با هورمون‌های تیروئیدی اثرات محافظتی علیه آسیب ایسکمی نشان داده‌اند (۲۰). از طرف دیگر مطالعات مختلف همچون Lin و همکاران نشان داده که T4 می‌تواند در غلظت‌های فیزیولوژیک و پایین اثر آنتی‌آپوپتوتیک داشته باشد. نتایج مطالعه آنها نشان داد T4 در تومور سل‌ها از طریق مداخله در فسفریلاسیون P53 نقش آنتی‌آپوپتوتیک خود را ایفا می‌کند (۲۱). همچنین Pantos و همکاران نشان دادند تجویز T3 به صورت حاد در حین ریپرفیوژن می‌تواند ریکاوری بعد از ایسکمی را بهبود بخشیده و آپوپتوز را کاهش دهد. این اثر ممکن است نشان‌دهنده اینوتروپیک مثبت و آنتی‌آپوپتوتیک بودن T3 باشد که برای حفظ همودینامیک در شرایط ایسکمی ریپرفیوژن مناسب است (۲۲).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند سیگنالینگ پیش‌شرطی‌سازی قلب (IPC) در میتوکندری موجب تولید مقادیر فراوان NO گشته که موجب باز و فعال شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP میتوکندریایی شده و باعث می‌شود که میزان متوسطی از ROS تولید گردد. سطح بالای ROS برای کاردیومیوسایت مضر است؛ اما سطح متوسط ROS در این مسیر باعث فعال کردن پروتئین کیناز C (PKC) گشته (۲۳و۲۴) و در یک مسیر افزایش PKC باعث افزایش فسفریلاسیون Nrf2 گشته که یک فاکتور رونویسی است و نقش اساسی در تنظیم رونویسی ژن‌های آنتی‌اکسیدانت دارد و با عناصر پاسخ آنتی‌اکسیدانتی پیوند داده و موجب فعال شدن ژن‌های آنتی‌اکسیدانتی و افزایش تولید سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو می‌گردد (۲۵و۲۶). در مسیری دیگر افزایش PKC سبب مهار در باز شدن MPTP (منافذ نفوذپذیر گذرای میتوکندری) شده و رهایی سیتوکروم C کاهش می‌یابد که منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود و با پایین آوردن سطح انرژی از طریق مهار متابولیسم چرخه کربس و کاهش ATP در قلب موجب کاهش در اندازه ناحیه انفارکت می‌شود (۲۷و۲۸). در مطالعه حاضر نیز میزان MDA در گروه IPC کاهش معنی‌داری داشت که تایید کننده مطالعات قبلی و نشانه صحت مطالعه ماست.

در مطالعات مختلفی در ارتباط با اثرات محافظتی و یا مضر لووتیروکسین صحبت شده است. به عنوان مثال در مطالعه Kumar و همکاران مشخص شد پیش‌درمانی با لووتیروکسین، ایجاد پیش‌شرطی سازی فارموکولوژیکال کرده که از طریق یک الگوی مشابه IPC، سبب حفاظت قلب علیه آسیب ایسکمی – ریپرفیوژن (I/R) می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد تجویز مزمن لووتیروکسین، از طریق ایجاد اختلال در باز شدن منافذ MPTP (Mitochondrial Permeability Transition pore) در میتوکندری، اثرات محافظتی خود را اعمال می‌کند (۲۹). در همین راستا Pantos و همکاران نشان دادند لووتیروکسین و IPC بر اساس یک الگوی مشابه موجب حفاظت قلب علیه آسیب ایسکمی می‌شوند (۸) که با نتیجه حاصل از مطالعه ما موافق است.

بعد از ایسکمی بافت آسیب دیده منبع غنی از رادیکال‌های آزاد است و مهم‌ترین آسیبی که این رادیکال‌ها بر روی بافت دارند؛ لیپید پراکسیداسیون است و MDA یکی از محصولات لیپید پراکسیداسیون است (۳۰). بر این اساس در مطالعه Kanwal و همکاران مشخص گردید در گروه IPC، میزان پراکسیداسیون لیپیدی کاهش معنی‌داری نسبت به IR دارد (۳۱) و این نتیجه با یافته مطالعه ما هماهنگ است. در مطالعه Pantos و همکاران نیز مشاهده شد سطح MDA در گروه دریافت کننده داروی لووتیروکسین به‌مدت ۱۴ روز، در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش داشته است؛ ولی در گروه دریافت کننده چهار روز از دارو تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (۳۲).

بدین‌ترتیب نتایج متناقضی در ارتباط با MDA در مطالعات مختلف گزارش شده است. در هر حال نتایج مطالعه ما نشان داد MDA در گروه IPC و گروه درمان شده با لووتیروکسین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه ایسکمی داشت. علت این نتایج متناقض و اختلاف برخی نتایج با مطالعه ما می‌تواند به علت تفاوت در دوز دارو و یا مدت زمان تماس بافت با دارو و یا نحوه دریافت دارو باشد. با توجه به آن که کاهش MDA بیانگر نقش حفاظتی T4 است؛ به‌نظر می‌رسد نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در ارتباط با اثرات پری‌کاندیشنینگ ایجاد شده توسط T4 باشد و در عین حال نیاز به تحقیقات گسترده‌تری در این زمینه است.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که لووتیروکسین می‌تواند همانند پیش‌شرطی‌سازی قلبی با کاهش اندازه ناحیه آسیب‌دیده اثر کاردیوپروتکتیو داشته باشد و مکانیسم این اثرات می‌تواند از طریق کاهش مالون‌دی‌آلدئید و احتمالاً کاهش رادیکال‌های آزاد باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۱۸۴) خانم معصومه تاجیک برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی بالینی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین‌وسیله از همه کارشناسان مرکز اختلالات ایسکمیک و آزمایشگاه بیوشیمی تشکر و قدردانی می‌گردد.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

References

1. Balakumar P, Singh H, Singh M, Anand-Srivastava MB. The impairment of preconditioning-mediated cardioprotection in pathological conditions. Pharmacol Res. 2009 Jul; 60(1): 18-23. doi: 10.1016/j.phrs.2009.03.002

2. Lesnefsky EJ, Chen Q, Tandler B, Hoppel CL. Mitochondrial dysfunction and myocardial ischemia-reperfusion: implications for novel therapies. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2017 Jan; 57: 535-65. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103335

3. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. Br J Surg. 1994 May; 81(5): 637-47.

4. Suzuki M, Sasaki N, Miki T, Sakamoto N, Ohmoto-Sekine Y, Tamagawa M, et al. Role of sarcolemmal K ATP channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. J Clin Invest. 2002 Feb; 109(4): 509-16. doi:10.1172/JCI14270

5. Bian JS, Yong QC, Pan TT, Feng ZN, Ali MY, Zhou S, et al. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes. J Pharmacol Exp Ther. 2006 Feb; 316(2): 670-78. doi: 10.1124/jpet.105.092023

6. Rousou AJ, Ericsson M, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Opening of mitochondrial KATP channels enhances cardioprotection through the modulation of mitochondrial matrix volume, calcium accumulation, and respiration. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004 Nov; 287(5): H1967-76.

7. Taliyan R, Singh M, Sharma PL, Yadav HN, Sidhu KS. Possible involvement of α1-adrenergic receptor and KATP channels in cardioprotective effect of remote aortic preconditioning in isolated rat heart. J Cardiovasc Dis Res. 2010 Jul-Sep; 1(3): 145-51. doi: 10.4103/0975-3583.70917

8. Pantos CI, Malliopoulou VA, Mourouzis IS, Karamanoli EP, Paizis IA, Steimberg N, et al. Long-term thyroxine administration protects the heart in a pattern similar to ischemic preconditioning. Thyroid. 2002 Apr; 12(4): 325-29.

9. Uchiyama Y, Otani H, Wakeno M, Okada T, Uchiyama T, Sumida T, et al. Role of mitochondrial KATP channels and protein kinase C in ischaemic preconditioning. Clinical and experimental pharmacology and physiology. 2003 May; 30(5-6): 426-36. doi: 10.1046/j.1440-1681.2003.03853.x

10. Oziol L, Faure P, Vergely C, Rochette L, Artur Y, Chomard P, et al. In vitro free radical scavenging capacity of thyroid hormones and structural analogues. J Endocrinol. 2001 Jul; 170(1): 197-206.

11. Sayre NL, Sifuentes M, Holstein D, Cheng SY, Zhu X, Lechleiter JD. Stimulation of astrocyte fatty acid oxidation by thyroid hormone is protective against ischemic stroke-induced damage. J Cereb Blood Flow Metab. 2017 Feb; 37(2):514-27. doi: 10.1177/0271678X16629153

12. Pantos CI, Malliopoulou VA, Mourouzis IS, Karamanoli EP, Tzeis SM, Carageorgiou HC, et al. Long-term thyroxine administration increases heat stress protein-70 mRNA expression and attenuates p38 MAP kinase activity in response to ischaemia. J Endocrinol. 2001 Jul; 170(1): 207-15.

13. Marais E, Genade S, Huisamen B, Strijdom J, Moolman J, Lochner A. Activation of 938 MAPK induced by a multi-cycle ischaemic preconditioning protocol is associated with attenuated p38 MAPK activity during sustained ischaemia and reperfusion. J Mol Cell Cardiol. 2001; 33(4): 769-78.

14. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem. 1993 Oct; 26(5): 351-57.

15. Katoh H, Nishigaki N, Hayashi H. Diazoxide opens the mitochondrial permeability transition pore and alters Ca2+ transients in rat ventricular myocytes. Circulation. 2002 Jun; 105(22): 2666-71.

16. Liang Y, Kongstad O, Luo J, Liao Q, Holm M, Olsson B, Yuan S. QT dispersion failed to estimate the global dispersion of ventricular repolarization measured using monophasic action potential mapping technique in swine and patients. J Electrocardiol. 2005 Jan; 38(1): 19-27. doi: 10.1016/j.jelectrocard.2004.09.012

17. Eckle T, Grenz T, Köhler D, Redel A, Falk M, Rolauffs B, et al. Systematic evaluation of a novel model for cardiac ischemic preconditioning in mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006 Nov; 291(5): H2533-H2540. doi: 10.1152/ajpheart.00472.2006

18. Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, Mohammadghasemi F, Khori V. Role of endogenous oxytocin in cardiac ischemic preconditioning. Regul Pept. 2011 Feb; 167(1): 86-90. doi: 10.1016/j.regpep.2010.11.004

19. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem. 1966 Aug; 16(2): 359-64.

20. Schulz R, Cohen MV, Behrends M, Downey JM, Heusch G. Signal transduction of ischemic preconditioning. Cardiovasc Res. 2001 Nov; 52(2): 181-98.

21. Lin HY, Glinsky GV, Mousa SA, Davis PJ. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. Oncotarget. 2015 Jun; 6(17): 14735-43.

22. Pantos C, Mourouzis I, Saranteas T, Clavé G, Ligeret H, Noack-Fraissignes P, et al. Thyroid hormone improves postischaemic recovery of function while limiting apoptosis: a new therapeutic approach to support hemodynamics in the setting of ischaemia-reperfusion? Basic Res Cardiol. 2009 Jan; 104(1): 69-77. doi: 10.1007/s00395-008-0758-4

23. Yang X, Cohen MV, Downey JM. Mechanism of cardioprotection by early ischemic preconditioning. Cardiovasc Drugs Ther. 2010 Jun; 24(3): 225-34. doi: 10.1007/s10557-010-6236-x

24. Heusch G, Boengler K, Schulz R. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the Holy Grail of cardioprotection. Basic Res Cardiol. 2010 Mar; 105(2): 151-54. doi: 10.1007/s00395-009-0080-9

www.SID.ir

Archive of SID

25. Zhang X, Xiao Z, Yao J, Zhao G, Fa X, Niu J. Participation of protein kinase C in the activation of Nrf2 signaling by ischemic preconditioning in the isolated rabbit heart. Mol Cell Biochem. 2013 Jan; 372(1-2): 169-79. doi: 10.1007/s11010-012-1458-9

26. Costa AD, Garlid KD. Intramitochondrial signaling: interactions among mitoKATP, PKCε, ROS, and MPT. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008; 295(2): H874-H882. doi: 10.1152/ajpheart.01189.2007

27. Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection. Cell Physiol Biochem. 2007; 20(1-4): 1-22. doi: 10.1159/000103747

28. Niemann CU, Saeed M, Akbari H, Jacobsen W, Benet LZ, Christians U, et al. Close association between the reduction in myocardial energy metabolism and infarct size: dose-response assessment of cyclosporine. J Pharmacol Exp Ther. 2002 Sep; 302(3): 1123-8.

29. Kumar A, Taliyan R, Sharma PL. Evaluation of thyroid hormone induced pharmacological preconditioning on cardiomyocyte protection against ischemic-reperfusion injury. Indian J Pharmacol. 2012 Jan; 44(1): 68-72. doi: 10.4103/0253-7613.91870

30. Aggarwal BB, Gupta SC, Sung B. Curcumin: an orally bioavailable blocker of TNF and other pro-inflammatory biomarkers. Br J Pharmacol. 2013 Aug; 169(8): 1672-92. doi: 10.1111/bph.12131

31. Kanwal A, Nizami HL, Mallapudi S, Putcha UK, Mohan GK, Banerjee SK. Inhibition of SGLT1 abrogates preconditioning-induced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. Biochem Biophys Res Commun. 2016 Apr; 472(2): 392-98. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.02.016

32. Pantos C, Malliopoulou V, Mourouzis I, Thempeyioti A, Paizis I, Dimopoulos A, et al. Hyperthyroid hearts display a phenotype of cardioprotection against ischemic stress: a possible involvement of heat shock protein 70. Horm Metab Res. 2006 May; 38(5): 308-13. doi: 10.1055/s-2006-925404

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Original Article

Protective effect of levothyroxine with oxidative stress reduction mechanism in ischemic preconditioning model in rat heart

Masoumeh Tajik (M.A)[1], Vahid Khori (Ph.D)[2], Abdoljalal Marjani (Ph.D)[3] Shohreh Taziki (Ph.D)[4], Mohammad Ali Zeyghami (M.A)[5], Azad Reza Mansourian (Ph.D)*[6]

[1]M.A in Biochemistry, Ishemia Research Center, Department of Pharmacology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [2]Professor, Ishemia Research Center, Department of Pharmacology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [3]Professor, Metabolic Disorder Research Center, Department of Biochemistry, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [4]Assistant Professor, Department of Pharmacology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [5]M.A in Biochemistry, Laboratory Expert, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [6]Professor, Metabolic Disorder Research Center, Department of Biochemistry, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

Abstract

Background and Objective: A brief and short duration episode of ischemia is recorded in ischemic preconditioning (IPC). This latter condition provides a status in which large region of heart is protected when prolonged ischemia occurred. Levothyroxine play a protective role in IPC induction, and simultaneously with stress oxidative. This study was conducted to determine the protective effect of levothyroxine with oxidative stress reduction mechanism in ischemic preconditioning model in rat heart.

Methods: This experimental study was performed on 30 male Wistar rats in three groups of 10, as follows. In the reperfusion ischaemia group (IR), the heart of the animal was placed in a Langendorff apparatus. In the ischemic preconditioning group (IPC), prior to major ischemia, was exposed to 4 periods of 5-minute ischemia with reperfusion. In the intraperitoneally administered group, levothyroxine at a dose of 25 microgram per 100 g of body weight, the heart was exposed to reperfusion ischemia. The area of infarct and the level of malondialdehyde in the heart tissue were measured.

Results: The volume of Infarcted region in IR and IPC groups was 26.55 and 11.11 respectively. The same index for the Levothyroxine receiver was 12.56. Based on these findings it was demonstrated that Levothyroxine injection reduced the Infarcted region significantly similar with IPC ($P<0.05$). The MDA Levels in IR and IPC were 1328 and 777, respectively and in Levothyroxine group it was determined as 762. The size of Infarcted region in both IPC and treated with Levothyroxine groups significantly reduced in compared to IR group ($P<0.05$).

Conclusion: Injection of levothyroxine with ischemic preconditioning reduced the effect of reperfusion maladaptive ischemia in rat heart.

Keywords: Heart, Ischemia, Levothyroxine, Ischemic Preconditioning, Oxidative Stress

*** Corresponding Author: Mansourian AR (Ph.D), E-mail: azad_r_mansourian@yahoo.com**

Received 27 Nov 2016 **Revised** 12 Jun 2017 **Accepted** 18 Jul 2017

Cite this article as: Tajik M, Khori V, Marjani A, Taziki Sh, Zeyghami MA, Mansourian AR. [Protective effect of levothyroxine with oxidative stress reduction mechanism in ischemic preconditioning model in rat heart]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Winter; 19(4): 1-7. [Article in Persian]

www.SID.ir