مقاله پژوهشی
Research Article

اثر پیش شرط سازی با هایپراکسی نورموباریک بر صدمه بافتی، عملکرد مکانیکی و بی نظمی های حاصل از ایسکمی-جریان مجدد در قلب ایزوله موش بزرگ آزمایشگاهی وابسته به مورفین

رهام مظلوم[۱]، سهراب حاجی‌زاده[۲]، سعید سمنانیان[۳]، خلیل پورخلیلی[۴]، غلامرضا بیات[۵]، فیروزه علویان[۶]، فاطمه صفری[۷]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۲۹

چکیده

هدف: هایپراکسی پیش شرط سازی است که به دلیل دسترسی آسان در بالین مورد توجه محققین قرار گرفته است. وابستگی به مورفین به عنوان یک عامل پیش‌شرط‌ساز شناخته شده است. با توجه به گستردگی پدیده اعتیاد به موادمخدر و استفاده از هایپراکسی در بالین احتمال تداخل اثر این دو عامل بر صدمات ناشی از ایسکمی-جریان مجدد قلبی بسیار زیاد است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی همزمان این دو عامل پیش شرط ساز بر صدمات ناشی از ایسکمی-جریان مجدد در قلب است. **روش:** در هفت گروه ۱۰ تایی از موش‌های بزرگ، قلب حیوانات در دستگاه لانگندورف ایزوله شد و پس از ایجاد سکته منطقه ای، میزان رهایش آنزیم کراتین فسفوکیناز برای تعیین صدمه بافتی، حاصل ضربان-فشار برای ارزیابی عملکرد مکانیکی و تعداد دوره‌های تاکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی برای تعیین بی نظمی های ناشی از ایسکمی-جریان مجدد قلبی مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** هایپراکسی نورموباریک در قلب ایزوله موش بزرگ وابسته به مورفین موجب کاهش رهایش کراتین فسفوکیناز و افزایش عملکرد مکانیکی در دوره جریان مجدد شد، ولی کاهش معناداری در بی‌نظمی‌ها نسبت به هرکدام از این عوامل پیش شرط ساز مشاهده نشد. **نتیجه‌گیری:** پیش‌شرط‌سازی با هایپراکسی نورموباریک در قلب ایزوله موش بزرگ وابسته به مورفین موجب کاهش صدمه بافتی و بهبود عملکرد قلبی شد.

کلیدواژه ها: پیش شرط سازی، ایسکمی-جریان مجدد، هایپراکسی نورموباریک، وابستگی به مورفین

۱. نویسنده مسئول: دانشجوی دکترا تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس. پست الکترونیک: rohammazloom@hotmail.com
۲. استاد دانشگاه تربیت مدرس و پژوهشکده علوم شناختی
۳. استاد دانشگاه تربیت مدرس
۴. استادیار دانشگاه علوم پزشکی بوشهر
۵. دکتری تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۶. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۷. استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

مقدمه

عوارض انفارکتوس حاد قلبی صدماتی است که بر اثر ایسکمی و جریان مجدد پس از آن، در عملکرد قلب ایجاد می شود. آپوپتوز و نکروز میوکارد (کلونر و جنینگز[1]، ۲۰۰۱)، افت عملکرد مکانیکی قلب (یلون و داونی[2]، ۲۰۰۳) و وقوع بی نظمی[3] های مختلف همانند تاکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی (منینگ و هیرس[4]، ۱۹۸۴) از جمله صدمات بافتی حاصل از ایسکمی-جریان مجدداند. یکی از روش‌های قوی برای محافظت از قلب در برابر آسیب‌های ایسکمی-جریان مجدد تجربی پیش شرط سازی ایسکمیک[5] قلب است، به این مفهوم که اعمال دوره های کوتاه ایسکمی و جریان مجدد قبل از القاء یک دوره ایسکمی طولانی مدت، سبب کاهش صدمات ناشی از ایسکمی و جریان مجدد بعدی می‌شود (موری، ریچارد، ریمر و جنینگز[6]،۱۹۹۰؛ الخولیفی[7] و همکاران، ۱۹۹۶؛ یلون و داونی، ۲۰۰۳).

تاکنون روش‌های پیش شرط‌سازهای مختلفی از زمان ابداع آن شناخته شده‌اند که قبل از دوره ایسکمی طولانی مورد استفاده قرار می گیرند. پیش‌شرط‌سازهای دمایی، پیش‌شرط‌سازهای فارماکولوژیک و پیش شرط سازی با هایپوکسی از جمله انواع مختلف پیش‌شرط‌سازی‌های قلب هستند (یلون و داونی، ۲۰۰۳).

یکی از این پیش شرط سازها که به تازگی برای افزایش مقاومت بافت ها در برابر ایسکمی[8] مورد استفاده قرار گرفته اکسیژن هایپرباریک و نورموباریک است که استفاده از آن مدت‌ها قبل در کلینیک مورد توجه بوده است (چوی[9] و همکاران، ۲۰۰۶). اما استفاده از اکسیژن به عنوان یک عامل پیش شرط ساز بافتی برای ارتقاء مقاومت بافت‌ها، پدیده جدیدی است که توجه محققین بسیاری را به خود جلب کرده است و بحث در مورد چگونگی روش استفاده مطلوب از آن همچنان ادامه دارد (تیپولد[10] و همکاران، ۲۰۰۱؛

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

1. Kloner & Jennings
2. Yellon & Downey
3. arrhythmia
4. Manning & Hearse
5 ischemic preconditioning
6. Murray, Richard, Reimer & Jennings
7. Alkhulaifi
8. ischemic tolerance
9. Choi
10. Tahepold

چـوی و همکـاران، ۲۰۰۶؛ بیگـدلی و همکـاران، ۲۰۰۸؛ پـورخلیلی و همکـاران، ۲۰۰۹؛ و کارو[1] و همکاران، ۲۰۱۰). از سوی دیگر، اکثر مطالعات صورت گرفته در ارتباط بـا اثـرات مفید پیش‌شرط‌سازی بر روی قلـب حیوانـات سـالم انجـام گرفتـه اسـت و اطلاعـات کمـی درباره کارایی کاربرد پیش شرط سازی در شرایط پاتولوژیک و یـا همـراه بـا عوامـل پـیش شرطی سازهای دیگر وجود دارد.

یکی دیگر از روش‌های پیش شرط سازی که به تازگی مطرح شده اسـت، وابسـتگی بـه مـورفین[2] اسـت کـه پـژوهش بـر روی آن در مراحـل آغـازین اسـت و همچنـان ادامـه دارد (پیرت[3] و همکاران، ۲۰۰۵). پدیده اعتیاد و وابستگی به موادمخـدر از جملـه عـواملی اسـت که خود به تنهایی با توجه به نتایج و پیامدهای روانشناختی و اجتماعی به عنوان یـک عامـل آسیب زا شناخته شده است. مورفین به عنوان یک آگونیست عمومی گیرنده های اپیوئیدی استفاده گسترده ای برای تسکین درد در بالین دارد و در مـوارد بسـیاری مـورد سوءمصـرف قرار می‌گیرد (لیشمانوف[4] و همکاران، ۲۰۰۸). همـین مسـئله احتمـال تـداخل آن بـا عوامـل فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک را افزایش می‌دهد. از سوی دیگر مشاهده اثرات محـافظتی وابستگی به مورفین در برابر آسیب های ایسکمی-جریان مجدد و مسـیر پیـام رسـانی داخـل سلولی متفاوت آن نسبت به پیش‌شرط‌سازهای دیگر (پیرت و گراس[5]، ۲۰۰۶) زمینه خاصـی خاصی را برای پژوهش جدید ایجاد می‌کند.

با توجه به مورد بحث بودن هرکدام از این دو عامل و همـین‌طـور سـئوال برانگیـز بـودن اثر آنها بر یکدیگر و احتمال تداخل آنها در بـالین، اثـر هرکـدام از ایـن دو پـیش‌شـرط‌سـاز به‌طور جداگانه و تأثیر هر دو عامل به طور هم‌زمان بر صدمه بـافتی، بـی‌نظمـی‌هـا و فعالیـت مکانیکی حاصل از ایسکمی-جریان مجدد در این پژوهش مورد بررسی قرار می‌گیرد.

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

1. Karu
2. morphine dependency
3. Peart
4. Lishmanov
5. Gross

روش

جامعه، نمونه و روش نمونه‌گیری

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ الی ۳۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از موسسه رازی تهیه شدند و بعد از انتقال به لانه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس در شرایط استاندارد آب و غذایی و دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند.

در این پژوهش اثرات هم‌زمان هایپراکسی (٪۹۵≤، ۱ اتمسفر) و وابستگی به مورفین روی آسیب ناشی از ایسکمی- جریان مجدد در قلب ایزوله موش‌های صحرایی نر در هفت گروه ده تایی مورد بررسی قرار گرفت. قلب حیواناتی که در پایان ۲۰ دقیقه ابتدایی پس از ایزوله شدن دچار بی نظمی واضحی نبود و اختلاف فشار بین فشار سیستولیک و دیاستولیک بیشتر از ۶۰ میلی متر جیوه بود در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. گروه‌بندی انجام شده در این مطالعه به این شرح است: ۱ـ کنترل نرمال (C)، که از هوای معمولی (اکسیژن ۲۱ درصد) استفاده می‌کردند؛ ۲ـ هایپراکسی (H)، که به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب در معرض هایپراکسی قرار گرفتند؛ ۳– سالین (S)، که طبق پروتوکل وابستگی سالین تزریق شد؛ ۴- وابسته ۱ (M1)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی، برای تغذیه قلب از بافر کربس-هنسلیت خالص استفاده شد؛ ۵- وابسته ۲ (M2)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی، برای تغذیه قلب از بافر کربس-هنسلیت دارای غلظت پایه مورفین سولفات (μmol ۵ در یک لیتر بافر) استفاده شد؛ ۶- هایپراکسی + سالین (H+S)، که طبق پروتوکل وابستگی سالین تزریق شد و بعد از آخرین تزریق، هایپراکسی به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب اعمال شد؛ در نهایت ۷- هایپراکسی + وابسته (H+M)، که پس از انجام پروتوکل وابستگی و بعد از آخرین تزریق، به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب در معرض هایپراکسی قرار گرفتند.

برای بررسی اثرات پیش‌شرط‌سازی با هایپراکسی بلافاصله بعد از درمان با هایپراکسی (به مدت ۱۸۰ دقیقه در مخزن هایپراکسی)، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن[1] در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت، در حالی که حیوانات گروه‌های کنترل نیز در همان محفظه قرار گرفته ولی از هوای معمولی اتاق (اکسیژن ۲۱٪) استنشاق می‌کردند. برای اندازه‌گیری درصد اکسیژن داخل محفظه نیز از یک دستگاه سنجش درصد اکسیژن لوترون[2] استفاده شد که پروب دستگاه در داخل محفظه قرار می‌گرفت (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹). برای بررسی اثرات پیش شرط سازی با وابستگی به مورفین از سولفات مورفین[3] که ازشرکت "تماد" (تهیه مواد اولیه داروپخش) تهیه شد استفاده شد. پس از آخرین تزریق برای القای وابستگی (تزریق ۱۰ میلی گرم مورفین سولفات به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دو بار در روز، به صورت زیر جلدی[4]، به مدت ۱۰ روز (فن[5] و همکاران، ۱۹۹۹)، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت. برای بررسی اثرات پیش شرط سازی با هایپراکسی نورموباریک پس از آخرین تزریق مورفین، حیوان به مدت ۱۸۰ دقیقه در مخزن هایپراکسی قرار می‌گرفت و بلافاصله بعد از درمان با هایپراکسی، قلب حیوان جدا شده و برای پرفیوژن در دستگاه قلب ایزوله لانگندورف قرار گرفت.

روند جراحی حیوانات پس از انجام تیمار به این صورت انجام پذیرفت: در ابتدا حیوانات توسط تیوپنتال سدیم (۶۰ mg/kg، داخل صفاقی) بی هوش و برای جلوگیری از انعقاد خون ۴۰۰ الی ۵۰۰ واحد هپارین در داخل ورید دمی تزریق می‌شد. سپس قفسه سینه حیوان شکافته می‌شد به طوریکه قلب آشکار شده و آماده لوله گذاری می‌شد. برای جلوگیری از تخلیه مواد انرژی‌زای قلب، بر روی آن محلول کربس سرد ۴ درجه ریخته تا

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

1. perfusion
2. Lutron-DO 5510, Taiwan
3. morphine sulfate
4. sub-cutaneous
5. Fan

از ضـربان بیفتـد. سـپس یـک نـخ سـیلک ۵ صـفر از زیـر شـریان کرونـر قـدامی چـپ[1]، ۲ تا ۳ میلیمتر پایین‌تر از مبدا آن، در جدار بطـن چـپ عبـور داده مـی‌شـد و در محـل قـرار می‌گرفت تا برای القاء ایسکمی ناحیه‌ای[2] در زمان ایسکمی مورد استفاده قرار گیـرد. سـپس آئورت لوله گذاری شده و قلب از بافت های اطراف جدا می‌شد و برای برقـراری پرفیـوژن با بافر کربس-هنسلیت (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹) که تمام مـواد آن از شـرکت مـرک[3] تهیه گردید، بـا دمـای ۳۷ درجـه سـانتیگراد بـه دسـتگاه لانگنـدورف متصـل مـی‌شـد. بـافر کربس- هنسلیت به طور دائم توسط گـاز کربـوژن (۹۵٪ اکسـیژن+ ۵٪ دی اکسـید کـربن) هوادهی شده و pH آن نیز در ۷/۴ تنظیم می‌شد. ۲۰ دقیقه بعد از به تعـادل رسـیدن عملکـرد قلب پس از قرار گیری در دستگاه لانگندورف، ایسـکمی ناحیـه ای بـه مـدت ۳۰ دقیقـه بـا بستن شریان کرونر نزولی قدامی چپ و بـه دنبـال آن ۲ سـاعت عمـل جریـان مجـدد بـا بـاز کردن شریان ذکر شده انجام می‌شد (پورخلیلی و همکاران، ۲۰۰۹).

میزان آنزیم کراتین فسفوکیناز[4] در داخل مایع خروجـی کرونـر[5] بـه عنـوان شاخصـی از آسیب بافت قلبی تحت بررسی قرار گرفت. بـرای ایـن کـار از مـایع خروجـی کرونـری در دقایق ۱، ۲۰، ۶۰ و ۱۲۰ جریان مجدد نمونه‌گیری و در دمای ۷۰- درجه سانتی گـراد فریـز و نگهداری شد. اندازه‌گیری این آنزیم به وسیله کیت تهیه شده از شرکت "پارس آزمـون" و به کمک دستگاه اتوآنالایزر تکنیکون[6] انجام شد. فعالیت آنزیم به صورت واحـد در لیتـر و به صورت میانگین چهار زمان مذکور بیان شد.

بـرای بررسـی فعالیـت مکـانیکی قلـب از محصـول ضـربان-فشـار[7] بـر حسـب mmHg.beats/min استفاده شد. این شاخص که معرف فعالیت مکانیکی قلب است از طریق حاصل‌ضرب تعداد ضربان قلب[8] در فشـار کلـی ایجـاد شـده توسـط بطـن چـپ[9] بـه دسـت می‌آید (RPP = HR × LVDP). فشار کلی ایجاد شـده توسـط بطـن چـپ از اخـتلاف فشـار

1. left anterior descending coronary artery
2. regional (local) ischemia
3. Merck
4. creatine phosphokinase
5. coronary effluent
6. TECHNICON RA-1000
7. rate pressure product
8. heart rate
9. left ventricular developed pressure

سیستولیک و دیاستولیک که از طریق بالن داخل بطن چپ به دست می‌آید مورد محاسبه قرار گرفت. میانگین حد اکثر و حد اقل موج فشار در زمان های تعین شده به عنوان فشار سیستولیک و دیاستولیک در نظر گرفته شد (پیرت و گراس، ۲۰۰۶).

فعالیت الکتریکی قلب برای آنالیز بی‌نظمی‌های مختلف قلبی، از طریق اتصال سه الکترود صورت پذیرفت که دو الکترود فلزی به قلب (یکی بر روی نوک قلب[1] و دیگری بر روی دهلیز راست (گره سینوسی-دهلیزی) قرار می‌گرفت) و یک الکترود به عنوان مرجع در نظر گرفته و موج الکتریکی به دست آمده ثبت شد. برای بررسی بی‌نظمی‌ها از شاخص تعداد دوره[2] های تاکیکاردی بطنی[3] و فیبریلاسیون بطنی[4] در دوره‌های ایسکمی و و جریان مجدد استفاده شد. فعالیت الکتریکی و مکانیکی قلب با استفاده از دستگاه Power lab مدل ۴/۳۰ به کامپیوتر منتقل و ذخیره می‌شد.

اطلاعات به‌دست آمده برای میزان رهایش آنزیم، فعالیت مکانیکی قلب و تعداد بی‌نظمی‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین بیان شد. برای آنالیز آماری میزان رهایش آنزیم‌ها و تعداد بی‌نظمی‌ها از تحلیل واریانس یک‌راهه و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف از آزمون توکی استفاده شد. برای آنالیز آماری محصول ضربان-فشار قلب از طرح اندازه‌گیری مکرر[5] استفاده شد.

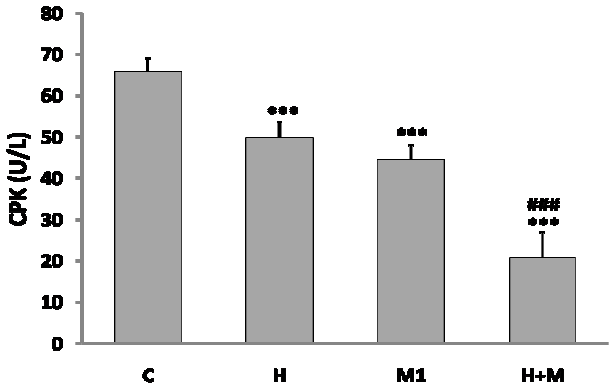
یافته‌ها

در آزمایش‌های انجام شده بین گروه‌های C و S تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و به این دلیل برای مقایسه با گروه‌های دیگر از گروه C استفاده شد. چون بین گروه‌های M1 و M2 و همین طور بین گروه های H و H+S نیز تفاوت معنی داری دیده نشد به ترتیب گروه‌های M1 و H برای مقایسه نسبت به گروه‌های دیگر استفاده شد.

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

1. apex
2. episode number
3. ventricular tachycardia
4. ventricular fibrillation
5. repeated measure

میزان رهایش آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK-MB) **قلبی**



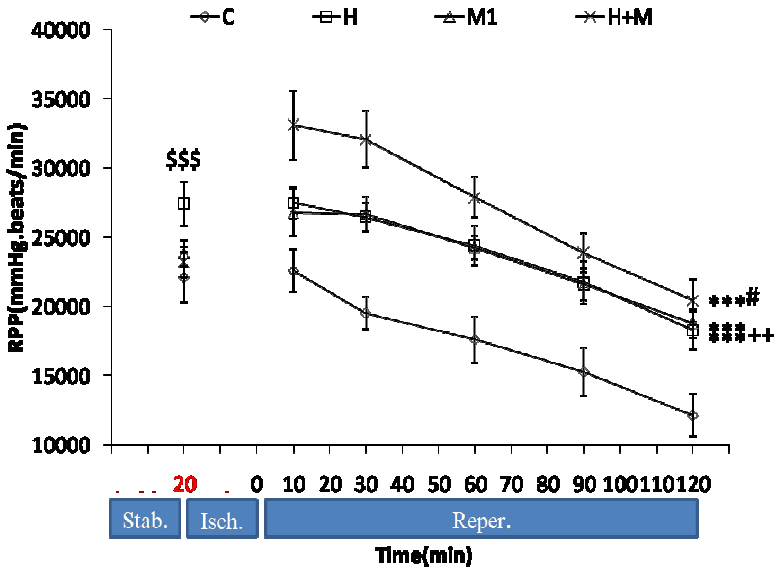
نمودار۱: میزان رهایش آنزیم CPK-MB به داخل مایع خروجی کرونر. مقادیر به صورت میانگین±خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده P <۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل می باشد. ### نشان دهنده P <۰/۰۰۱ بین گروه های پیش شرط سازی شده است. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه هایپراکسی+ وابسته.

نمودار۱ میزان رهایش آنزیم CPK-MB از قلب در طول ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد به داخل مایع خروجی کرونری را نشان می دهد. در گروه C مقدار CPK-MB آزاد شده در مایع خروجی کرونر ۳±۶۵ واحد در لیتر (U/L) بود. در گروه H این مقدار به ۳±۵۰ واحد در لیتر کاهش یافت که این تفاوت معنی دار بود (P<۰/۰۰۱). در گروه M1این مقدار به ۳±۴۵ واحد در لیتر و در گروه H+M به ۶±۲۱ واحد در لیتر کاهش یافت که این کاهش‌ها نسبت به گروه کنترل نورموکسی تفاوت معنی داری داشتند (P<۰/۰۰۱).

در مقایسه بین چهار گروه، بین دو گروه H و M1 در میزان رهایش CPK-MB تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ولی بین گروه H+M با دو گروه پیش شرط سازی شده اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱ مشهود بود. بیشترین کاهش رهایش CPK-MB در گروه H+M دیده شد.

این اطلاعات نشان داد که میزان آسیب بافتی در گروه H+M نسبت به گروه های بدون تیمار و تحت تیمار کاهش معنی داری داشت.

محصول ضربان-فشار



نمودار۲: حاصل ضربان- فشار در طول انجام آزمایش. مقادیر به صورت میانگین± خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه C در دوره جریان مجدد است. # نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۵ بین گروه H+M با گروه M1 در زمان جریان مجدد است. $$$ نشان دهنده تفاوت در سطح ۰/۰۰۱> Pبین گروه H نسبت به سه گروه دیگر در دقیقه ۲۰ تثبیت می‌باشد. ++ نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۱ بین گروه H+M با گروه H در دوره جریان مجدد است. .Stab : دوره تثبیت، .Isch: دوره ایسکمی، .Reper: دوره جریان مجدد، C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه هایپراکسی+ وابسته.

در دوره ایسکمی و ۱۰ دقیقه ابتدائی جریان مجدد به دلیل وقوع بی‌نظمی‌های شدید ضربان و فشار قابل تشخیص نیست و لذا حاصل ضربان-فشار در این زمان ها قابل محاسبه نیست.

حاصل ضربان-فشار در طی جریان مجدد به طور تدریجی کاهش می‌یابد (نمودار۲). حاصل ضربان-فشار در دقیقه ۲۰ دوره تثبیت تفاوت معنی‌داری بین گروه H با سه گروه دیگر نشان می‌دهد(P<۰/۰۰۱). بین سه گروه دیگر (گروه های غیر از گروه H) در این زمان تفاوت معنی داری وجود نداشت.

در گروهC و همین‌طور گروه H تفاوت معنی‌داری بین دقیقه ۲۰ تثبیت نسبت به دقیقه ۱۰ جریان مجدد دیده نشد. کاهش معناداری بین دقیقه۱۲۰ جریان مجدد نسبت به دقیقه ۲۰ تثبیت برای گروه C وجود داشت (٪۴۵ کاهش، P<۰/۰۰۱). همانند گروه C، در گروه H نیز بین دقیقه۱۲۰ جریان مجدد نسبت به دقیقه ۲۰ تثبیت کاهش معناداری مشاهده گردید (٪۳۳ کاهش، P<۰/۰۰۱).

حاصل ضربان-فشار در تمام زمان های جریان مجدد بین دو گروهC و گروه H تفاوت معنی داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱).

در گروه M1، بین دقیقه ۲۰ تثبیت با دقایق ۱۰ و ۱۲۰ جریان مجدد به ترتیب ٪۱۲ افزایش و ٪۲۱ کاهش دیده شد که هر دو اختلاف در سطح P<۰/۰۰۱ معنی دار بود.

در گروه H+M بین دقایق۲۰ تثبیت با ۱۰ و ۱۲۰ جریان مجدد به ترتیب افزایش ٪۴۲ و کاهش ٪۱۸ وجود داشت که در هر دو تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱ مشهود بود.

مقدار عددی حاصل ضربان- فشار در زمان های مشخص جریان مجدد در گروه M1 با گروه H+M در سطح P<۰/۰۵ تفاوت معنی دار داشت و بین گروه H+M با H تفاوت در سطح P<۰/۰۱ معنی دار بود.

در دوره جریان مجدد بین گروه M1 با H تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار۲).

این اطلاعات نشان داد که حاصل ضربان- فشار در دوره جریان مجدد در گروه H+M نسبت به گروه های بدون تیمار و تحت تیمار افزایش معنا داری داشته است.

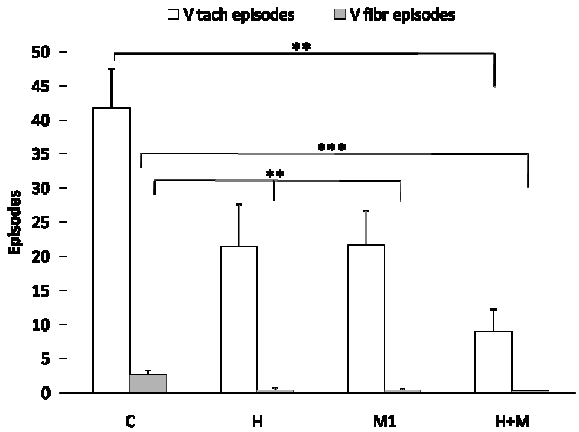
تعداد بی‌نظمی‌ها در زمان ایسکمی و جریان مجدد:

تعداد دوره‌های تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی در دوره ایسکمی در شکل ۳ نشان داده شده است.

در خلال ایسکمی، تعداد دوره های VT فقط در گروه H+M (۹±۳/۲) نسبت به گروه‌های C (۴۲/۲±۵/۸) کاهش معنی داری در سطح P<۰/۰۱ را نشان می‌دهد. بین گروه‌های دیگر تفاوت معنی داری نسبت به هم دیده نشد (نمودار۳).

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

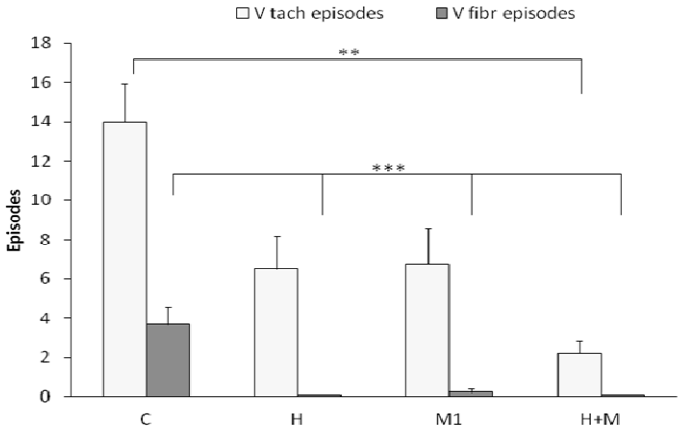
در خلال ایسکمی، در مقایسه تعداد دوره‌های VF بین گروه‌های C و M1 (به ترتیب۰/۶±۲/۶ و۰/۲۳±۰/۳۳) اختلاف معناداری وجود داشت (P<۰/۰۱). گروه های H و H+M (به ترتیب با مقادیر ۰/۲۶±۰/۳۷ و ۰/۱۴±۰/۲۲) تفاوت معنی‌داری در سطح P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه C نشان دادند. گرچه گروه H+M نسبت به گروه های دیگر کمترین مقدار را در تعداد دوره های VF دارا بود ولی بین گروه‌های پیش‌شرط‌سازی شده تفاوت معناداری دیده نشد.



نمودار۳: تعداد دوره های تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) در دوره ایسکمی. مقادیر به صورت میانگین±خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. ** نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه C است. *** نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه C می باشد. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه‌هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه هایپراکسی+ وابسته.

تعداد دوره های VT و همین طور VF در دوره جریان مجدد در شکل ۴ نشان داده شده است. اختلاف معنی دار در تعداد دوره های VT بین گروه H+M (۰/۶±۲/۲) با گروه C (۱/۹±۱۴) وجود داشت (P<۰/۰۱) و در دیگر گروه ها تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر دیده نشد (نمودار۴).

در خلال جریان مجدد، تعداد دوره های VF در گروه C (۳/۷±۰/۸) نسبت به گروه‌های H، M1 و H+M (به ترتیب با مقادیر صفر،۰/۱۴±۰/۲۲ و صفر) تفاوت معنی‌داری را در سطح P<۰/۰۰۱ نشان دادند. در گروه‌های Hو H+M دوره VF ایجاد نشد و به صفر رسیده بود. بین سه گروه پیش‌شرط‌سازی شده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (نمودار۴).



نمودار۴: تعداد دوره های تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) در دوره جریان مجدد. مقادیر به صورت میانگین±خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. ** نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه C است. *** نشان دهنده تفاوت در سطح P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه C می باشد. C: گروه کنترل نورموکسی، H: گروه‌هایپراکسی، M1: گروه وابسته به مورفین ۱، H+M: گروه هایپراکسی+ وابسته.

این یافته‌ها نشان داد که تعداد دوره بی‌نظمی‌ها هم در ایسکمی و هم در دوره جریان مجدد در گروه H+Mنسبت به گروه بدون تیمار کاهش معناداری نشان داده است، ولی بین گروه‌های تحت تیمار (گروه های H، M1 و H+M) اختلاف معناداری وجود نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که پیشتر گفته شد اکثر مطالعات انجام شده در زمینه پیش‌شرط‌سازی با هایپراکسی در شرایط طبیعی بوده و درباره اثرات مفید پیش شرط سازی با هایپراکسی در شرایط پاتولوژیک و یا با پیش شرط سازهای دیگر اطلاعات کمی در دسترس است. فقط

در یک پژوهش به طور مستقیم اثر هایپراکسی و استروئیدها با هم مورد مطالعه قرار گرفته است. این پژوهش که توسط کالجوستو[1] و همکاران در سال ۲۰۰۸ صورت پذیرفت نشان داد که جمع اثر این دو عامل پیش شرط ساز موجب کاهش فشار انتهای دیاستولی بطن چپ و کاهش بی‌نظمی‌ها می‌شود (کالجوستو و همکاران، ۲۰۰۸).

در پژوهش حاضر اثرات محافظتی قلب بیش از اثر هرکدام از این پیش‌شرط‌سازها به تنهایی بارز شد به طوری که این اثر در میزان رهایش CPK (شاخصی از آسیب بافتی) و حاصل ضرب ضربان-فشار (شاخصی از مکانیک قلب) به طور کامل بارز بود، ولی تعداد بی‌نظمی‌ها در بین گروه‌های تحت تیمار در زمان ایسکمی و جریان مجدد کاهش معناداری را نشان نداد.

بیشترین کاهش آسیب بافتی در گروه H+M دیده شد که البته این کاهش نسبت به تمامی گروه‌ها کاهش معناداری را نشان داد. این کاهش آسیب بافت در دوره جریان مجدد احتمالاً موجب بهبود شاخص عملکردی قلب نیز شده است.

با توجه به اینکه در انتهای دوره تثبیت، حاصل ضربان- فشار در گروه H نسبت به سه گروه دیگر تفاوت معناداری داشت این مسئله احتمالاً نشان دهنده اثرات قویتر وابستگی بر جریان های یونی در حالت عادی نسبت به هایپراکسی است ولی بر طبق نتایج، پس از مداخله هایپراکسی و وابستگی در دوره پس از ایسکمی (دوره جریان مجدد) هر دو عامل موجب تقویت اثر یکدیگر برای ایجاد حفاظت از بافت و بهبود عملکرد قلب شد که به نوعی می‌توان این حالت را به افزایش اثرات پیش شرط سازی حین اثر همزمان این دو عامل تعبیر کرد. البته اینکه هرکدام از این دو عامل پیش‌شرط‌ساز چه مقدار و طی چه مکانیسمی موجب افزایش اثرات پیش شرط سازی می‌شوند نیاز به پژوهش‌های بیشتری در سطوح عوامل پیام رسان داخل سلولی دارد.

در مورد تعداد دوره‌های تاکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی، هم در دوره ایسکمی و هم در دوره جریان مجدد با اینکه بیشترین کاهش در گروه H+M دیده شد ولی اختلافی بین گروه های تحت تیمار وجود نداشت. شاید دلیل عدم اختلاف بین گروه های تحت تیمار،

سال ششم، شماره ۲۱، بهار ۱۳۹۱
Vol. 6, No. 21, Spring 2012

1. Kaljusto

حد اکثر اثر در هرکدام از عوامل پیش شرط ساز باشد که این مسئله در مورد فیبریلاسیون بطنی در دوره جریان مجدد مشاهده می شود که هیچ فیبریلاسیونی در این دوره در گروه‌های H+M و H روی نداد.

از مطالب گفته شده و یافته های این پژوهش می‌توان به این نتیجه رسید که با توجه به این که هم هایپراکسی به عنوان یک عامل پیش‌شرط‌ساز مطرح است و هم‌وابستگی به مورفین، اگر هر دو عامل از یک سازوکار برای پیش شرط سازی استفاده نمایند بین گروه H+M نسبت به H و یا M1 نباید تفاوت معنی‌داری در متغیرهای اندازه‌گیری شده دیده شود. این مطلب در مورد بی‌نظمی‌ها صادق بود، ولی در مقایسه بین این گروه‌ها افزایش معنی‌دار در حاصل ضربان–فشار در گروه H+M نسبت به دو گروه تحت تیمار دیگر وجود داشت و از سوی دیگر تفاوت معنی دار در مقدار کراتین فسفوکیناز مشاهده گردید که نشان دهنده صدمه کمتر بافت قلب در این گروه نسبت به بقیه گروه‌ها است و این مورد یافته های مربوط به بهبود شاخص حاصل ضربان–فشار را تأیید می‌نماید. لذا این یافته‌ها احتمال وجود سازوکارهای مختلف در پیش شرط سازی با هایپراکسی و در پیش شرط‌سازی با مرفین به صورت مزمن را نشان می دهد که مطالعات دیگر به طور غیر مستقیم آن را تأیید می‌نماید، یعنی به احتمال زیاد از سویی عوامل پیش‌شرط‌ساز موثر در هایپراکسی (مانند ROS، NF-κB، iNOS، Bcl-2 و K_{ATP} channels) (گراس و پیرت، ۲۰۰۳؛ کیم[1] و همکارن، ۲۰۰۱؛ کوتانی[2] و همکاران، ۲۰۰۰؛ راجش[3] و همکاران، ۲۰۰۴ و تیپولد و همکاران، ۲۰۰۳) اثر می‌گذارند و از سوی دیگر عوامل موثر در پیش‌شرط‌سازی وابستگی به مورفین (مانند گیرنده آدرنرژیک بتا دو و PKA و دیگر عوامل ناشناخته (پیرت و گراس، ۲۰۰۶) اثر خود را اعمال می‌کنند.

البته با توجه به یافته‌ها این احتمال وجود دارد که در سازوکار اثرات ضد بی نظمی این پیش شرط ساز ها همپوشانی وجود داشته باشد.

همان طور که اشاره شد متأسفانه پژوهش‌های کمی در زمینه وابستگی و اثرات پیش‌شرط‌سازی با مورفین به صورت مزمن انجام شده است و به همین دلیل اطلاعاتی در

1. Kim
2. Kotani
3. Rajesh

این زمینه برای مقایسه با آزمایش‌های ما در دسترس نیست. لذا آن چه بیان شد احتمالاتی است که طی پژوهش‌های بعدی باید صحت آن ها مورد آزمایش قرار گیرد.

با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش و با توجه به احتمال تداخل این دو عامل در بالین می‌توان انتظار داشت که اثرات محافظتی بیشتری برای بافت قلب در حالت هم‌زمانی آن ها با هم به وقوع خواهد پیوست، البته این نکته نیز باید در بالین مورد آزمایش قرار بگیرد تا بتوان روی آن قضاوت کرد.

با توجه به مطالب مورد بحث این نکته روشن است که اثر پیش شرط سازی با هایپراکسی نورموباریک بر قلب ایزوله موش صحرائی نر وابسته به مورفین موجب تقویت اثرات محافظتی در مقایسه با هریک از عوامل پیش شرط ساز استفاده شده به تنهایی است که این مسئله در حفاظت از بافت و عملکرد قلب بارز است.

منابع

Alkhulaifi, A. M., Jenkins, D. P., Pugsley, W. B. & Treasure, T. (1996). Ischaemic preconditioning and cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*, *10*, 792-798.

Bigdeli, M. R., Hajizadeh, S., Froozandeh, M., Heidarianpour, A., Rasulian, B., Asgari, A. R., Pourkhalili, P. & Khoshbaten, A. (2008). Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF-α level. *Exp Neurol*, *212*, 298–306.

Choi, H., Kim, S. H., Chun, Y. S., Cho, Y. S., Park, J. W. & Kim, M.S. (2006). In vivo hyperoxic preconditioning prevents myocardial infarction by expressing bcl-2. *Exp Biol Med (Maywood)*, *231*, 463-472.

Fan, G. H., Ling-Zhi., Wang, L. Z., Qiu, H. C., Ma, L. & Pei, G. (1999). Inhibition of Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II in rat hippocampus attenuates morphine tolerance and dependence. *Mol Pharmacol*, *56*, 39–45.

Gross, G. J. & Peart, J. N. (2003). KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *285*, H921-930.

Kaljusto, M. L., Stensløkken, K.O., Mori, T., Panchenko, A., Frantzen, M. L., Valen, G. & Vaage, J. (2008). Preconditioning effects of steroids and hyperoxia on cardiac ischemia—reperfusion injury and vascular reactivity. *Eur J Cardiothorac Surg*, *33*, 355-363.

Karu, I., Tähepõld, P., Ruusalepp, A. & Starkopf, J. (2010). Pretreatment by hyperoxia, a tool to reduce ischaemia-reperfusion injury in the myocardium. *Curr Clin Pharmacol*, *5*, 125-132.

Kim, C. H., Choi, H., Chun, Y. S., Kim, G. T., Park, J. W. & Kim, M. S. (2001). Hyperbaric oxygenation pretreatment induces catalase and reduces infarct size in ischemic rat myocardium. *Eur J Physiol*, *442*, 519-525.

Kloner, R. A. & Jennings, R. B. (2001). *Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications*: part 1. Circulation, 104, 2981-2989.

Kotani, N., Hashimoto, H., Sessler, D., Muraoka, M., Hashiba, E. & Kubota, T. (2000). Supplemental intraoperative oxygen augments antimicrobial and proinflammatory responses of alveolar macrophages. *Anesthesiology, 93*, 15-25.

Lishmanov, Y. B., Stakheev, D. L., Krylatov, A. V., Naryzhnaya, N. V., Maslov, L. N., Ovchinnikov, M.V. & Kolar, F. (2008). Myocardial Resistance to Ischemic and Reperfusion Injuries under Conditions of Chronic Administration of Opioid Receptor Agonists and Antagonists. *B Exp Biol Med, 145*, 642-644.

Manning, A. & Hearse, D. (1984). Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol, 16*, 497-518.

Murray, C. E., Richard, V. J., Reimer, K. A. & Jennings, R. B. (1990). Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res, 66*, 913-931.

Peart, J. N. & Gross, G. J. (2006). Cardioprotective effects of acute and chronic opioid treatment are mediated via different signaling pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol, 291*, 1746–1753.

Poorkhalili, K., Hajizadeh, S., Taraihi, T., Akbari, Z., Esmaeili, M., Bigdeli, M. R. & Khoshbaten, A. (2009). Ischemia and reperfusion-induced arrhythmias: role of hyperoxic preconditioning. *J Cardiovasc Med, 10*, 645-642.

Rajesh, K. G., Sasaguri, S., Suzuki, R., Xing, Y. & Maeda, H. (2004). Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels. *Int J Cardiol.,96*, 41-49.

Tahepold, P., Valen, G., Starkopf, J., Kairane, C., Zilmer, M. & Vaage, J. (2001). Pretreating rats with hyperoxia attenuates ischemia-reperfusion injury of the heart. *Life Sci, 68*, 1629-1640.

Tahepold, P., Vaage, J., Starkopf, J. & Valen, G. (2003). Hyperoxia elicits myocardial protection through a nuclear factor kappaB-dependent mechanism in the rat heart. *Journal Thorac Cardiovasc Surg, 125*, 650-660.

Yellon, D. M., & Downey, J. M. (2003). Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev, 83*, 1113-1151.