SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و پنجم/شماره ۸٤/بهار ۱۳۸۶

تأثیر هوموسیستئین بر آسیب قلبی به دنبال ایسکمی در قلب جدا شدهٔ رت

دکتر داریوش شکیبایی*

* استادیار گروه فیزیولوژی و عضو مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۹/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: هوموسیستئین یک اسید آمینه محتوی سولفور است که افزایش مقدار آن در بدن به عنوان یک عامل خطرزای بیماری‌های قلبی عروقی شناخته می‌شود. بیماری افزایش هوموسیستئین خون (هیپرهوموسیستئینمیا) با استرس اکسیداتیو و آسیب عروقی متعاقب آن همراه می‌باشد؛ اما در مورد تأثیرات قلبی آن در شرایط ایسکمی و خونرسانی مجدد (Reperfusion) اطلاعات کافی در دست نیست. بنابراین پژوهش حاضر بررسی تأثیر هوموسیستئین بر آسیب متعاقب ایسکمی در قلب جدا شدهٔ رت انجام شد.

روش‌ها: این مطالعهٔ تجربی بر روی ۳۲ رت‌های نر بالغ صورت گرفت. قلب حیوانات به روش لانگندورف مجزا شد و تحت تغذیه با محلول کربس با فشار ثابت، معیارهای عملکردی آن مورد سنجش قرار گرفت. در گروه کنترل قلب‌ها سه مرحله تثبیت اولیه و ثبت اطلاعات پایه، ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global and Normothermic) به مدت ۴۰ دقیقه و تغذیه مجدد به مدت ۴۵ دقیقه را گذراندند. در گروه اول، هوموسیستئین به میزان ۰/۵ میلی مول در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه قبل و ۵ دقیقه پس از ایسکمی به محلول زمینه‌ای اضافه شد. در گروه دوم و سوم نیز به ترتیب ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی مول در لیتر هوموسیستئین به مدت ۶۰ دقیقه قبل و ۵ دقیقه پس از ایسکمی، به محلول کربس اضافه گردید. بررسی مقادیر معیارهای مختلف قلبی قبل از ایسکمی نسبت به مقدار پایه با استفاده از آزمون مقایسه زوج‌ها و مقایسه آن بین گروههای مختلف در هر دوره با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفت.

یافته‌ها: بالاترین غلظت هوموسیستئین به کار رفته (۰/۵ میلی‌مول در لیتر) منجر به افزایش معنی‌دار میزان جریان کرونری قبل از دوره ایسکمی شد. همچنین در دوره تغذیه مجدد، پارامتر عملکردی قلب یا همان RPP (Rate Pressure Product) در گروه تست دوم (۵۶۶±۵۹۵۵) نسبت به گروه کنترل (۷۶۵±۱۰۸۱۸) به شکل معنی‌داری کاهش نشان داد.

نتیجه گیری: یافته‌های پژوهش حاضر، نشان دهنده تشدید آسیب قلبی به‌دنبال ایسکمی در گروهی از رت هاست که هوموسیستئین را با غلظت متوسط و در زمان طولانی دریافت نموده است. این اثر ممکن است به دلیل تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از هوموسیستئین در دوره تغذیه مجدد باشد.

واژگان کلیدی: هوموسیستئین، قلب جدا شدهٔ رت، آسیب به‌دنبال ایسکمی

تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول ها: ۱
تعداد نمودار ها: ۱
تعداد منابع: ۱۷

آدرس نویسندهٔ مسئول: دکتر داریوش شکیبایی، گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
E-mail: dshakibaei@kums.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

هوموسیستئین یک اسید آمینه محتوی سولفور است و به طور عمده به شکل مشتقی از سوخت و ساز متیونین موجود در رژیم غذایی، در بدن تشکیل می‌شود. مقدار آن در بدن به طور عمده به وسیله دو عامل ژنتیکی و تغذیه‌ای تعیین می‌گردد(۱). غلظت طبیعی آن در مایعات بدن بین ۵ تا ۱۵ میکرومول در لیتر است اما در بیماری موسوم به هیپرهوموسیستئینمیا این مقادیر افزایش می‌یابد. اگرچه هیپرهوموسیستئینمیا با منشأ ژنتیکی نادر می‌باشد اما موارد اکتسابی آن در ۵ الی ۷ درصد جوامع انسانی(۲). سطح بالای هوموسیستئین به عنوان یک عامل خطرزای مهم برای بیماری‌های قلبی عروقی(۳)، هیپرهوموسیستئینمیا به دنبال آسیب‌های اندوتلیالی و اختلالات عملکردی قلب(٤-۳) در دراز مدت به عنوان یک عامل خطرزای منجر به بروز مشکلات زیادی، از جمله بیماری‌های عروق کرونری، نارسایی قلب و سکته قلبی می‌گردد (۵-٤). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که تأثیرات توکسیک هوموسیستئین بر اندوتلیوم عروق به طور عمده ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و استرس اکسیداتیو است؛ که به نوبهٔ خود با اختلال تعادل کلسیم داخل سلولی می‌باشد(٤). در برخی مطالعات نشان داده شده است که هیپرهوموسیستئینمیا موجب اختلال عملکرد سیستولیک قلب که موجب افزایش استرس اکسیداتیو در سطح میوکاردی می‌شود؛ معتقدند که این روند می‌تواند در اختلال عملکرد قلب نقش داشته باشد(٦). همچنین نشان داده شده است که در شرایط ایسکمی و در حضور اسیدوز ناشی از آن، به دلیل کاهش فعالیت آنزیم Cystathionine Beta–synthase، هوموسیستئین تجمع می یابد(۷).

از سوی دیگر، تشدید آسیب حاصل از ایسکمی در حضور هیپرهوموسیستئینمیا در بافت‌های مغزی(۸) و گوارشی(۳) نیز گزارش شده است. هر چند که تأثیر سطوح بالای هوموسیستئین بر دستگاه قلب و گردش خون، به ویژه آسیب‌های اندوتلیالی و آترواسکلروز، به خوبی شناخته شده(۳) اما، در رابطه با نقش آن در آسیب قلبی به دنبال ایسکمی مطالعات چندانی صورت نگرفته است. با وجود بررسی‌های به عمل آمده، در مورد تأثیر مستقیم هوموسیستئین بر قلب، اطلاعات کافی در این رابطه در دست نیست(۱۰-۹) و در مجموع مطالعات معدودی در مورد تأثیرات آن بر قلب صورت گرفته است(۱۱). همچنین مکانیسم تأثیرات پاتوژنیک هوموسیستئین بر قلب به خوبی مشخص نیست(٤) و چگونگی آن مورد بحث می‌باشد(۱۲).

با توجه به اهمیت استرس اکسیداتیو در آسیب قلبی متعاقب ایسکمی(۱۳) چنین به نظر می‌رسد که حضور هوموسیستئین در این دوره می‌تواند نقش مهمی در آسیب قلبی و اختلال عملکردی ناشی از آن داشته باشد. بنا بر اهمیت موضوع و نظر به محدودیت اطلاعات موجود در این زمینه، بررسی حاضر به منظور تعیین تأثیر هوموسیستئین بر آسیب متعاقب ایسکمی در قلب جدا شد از رت صورت گرفته است.

روش‌ها

این مطالعهٔ تجربی با استفاده از رت‌های نر بالغ از نژاد ویستار (wistar) و در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم صورت گرفت. شرایط نگهداری و کار با حیوانات مطابق با استانداردهای مربوط بوده است. ابتدا همهٔ حیوانات با استفاده از تجویز داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم با دوز ٦۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شده،

Archive of SID
www.SID.ir

سپس مورد عمل جراحی برش قفسه سینه و جدا سازی قلب قرار گرفتند. بلافاصله پس از جداسازی، قلب‌ها در محلول کربس سرد (٤-٠ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و به سرعت آئورت به کانول دستگاه متصل گردید. قلب‌ها مطابق روش لانگندورف و به شکل Retrograde با محلول کربس حاوی NaCl به میزان ٢٥، $NaHco_3$ برابر ٤/٨، KCl معادل ١/٢، $CaCl_2$ به مقدار ١/٢، Glucose برابر ١/٢ و KH2P04 معادل ١١ میلی‌مول در لیتر تغذیه (Perfusion) شدند(١٤). محلول فوق از کاغذ صافی واتمن شماره Cat No 1002 125 عبور داده شده، پس از مخلوط شدن با گاز اکسیژن (٩٥ درصد) و دی اکسید کربن (٥ درصد)، با PH=٧/٤، حرارت ٣٧ درجه و فشار ثابت ٩٠ سانتی‌متر آب برای تغذیه قلبی مورد استفاده قرار گرفت؛ سپس یک بالون پلی اتیلنی کوچک محتوی آب از طریق دهلیز چپ و دریچه میترال به بطن چپ قلب وارد گردید. این بالون از طریق یک کاتتر به Pressure Transducer مدل MLD844 و از طریق Bridge Amp آن به Power Lab مدل ML825 و سپس به رایانه متصل بود. حجم بالون به گونه‌ای تنظیم شد که فشار پایان دیاستولی ١٠-٥ میلی‌متر جیوه تأمین گردد. بدین ترتیب امکان سنجش معیارهای مختلف عملکردی قلب از جمله فشار بطن چپ (LVP) و میزان نوسانات آن، DLVP (Developed Left Ventricular Pressure) که برابر است با فشار سیستولیک بطنی منهای فشار دیاستولیک آن بر حسب میلی‌متر جیوه و نیز BPM یا همان تعداد ضربانات قلب در دقیقه (Beat per minute) فراهم گردید. همچنین معیار عملکرد قلب موسوم به RPP (Rate Pressure Product) که برابر حاصل ضرب نوسانات فشاری بطن چپ در تعداد ضربانات در دقیقه است نیز محاسبه گردید(١٤). برای سنجش میزان جریان مایع کرونری یا CF (Coronary Flow) از روش اندازه گیری مستقیم با بکارگیری سیلندر مدرج استفاده شد. سپس از تقسیم میزان جریان کل مایع به وزن هر قلب، میزان جریان کرونری بر حسب میلی‌لیتر بر دقیقه به ازای هر گرم از وزن قلب مشخص و گزارش شد. مراحل آزمایش بدین ترتیب بود که در گروه کنترل (n=١١) قلب‌ها ابتدا دوره تثبیت اولیه و ثبت اطلاعات پایه را به مدت ٣٠-٢٠ دقیقه گذرانده، سپس وارد مرحله دوم یعنی دوره ایسکمی شدند و به مدت ٤٠ دقیقه دراین مرحله باقی می‌ماند. دراین مرحله تغذیه (Perfusion) قلبی متوقف و قلب در یک محفظه محتوی کربس با حرارت ٣٧ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور می‌شد. بدین ترتیب قلب دراین دوره تحت ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global and Normothermic) قرار می‌گرفت (١٤). در مرحله سوم، تغذیه قلبی دوباره با مشخصات دوره قبل صورت گرفت و دوره موسوم به تغذیه مجدد (Reperfusion) به مدت ٤٥ دقیقه ادامه یافت. سپس با مقایسه معیارهای مختلف قلبی پس از طی دوره ایسکمی نسبت به مرحله اول، میزان آسیب حاصل از ایسکمی تعیین شد.

همچنین درگروه دوم (n=١١) مراحل آزمایش مانند گروه اول انجام شد، با این تفاوت که به مدت ٣٠ دقیقه قبل از دوره ایسکمی و همچنین ٥ دقیقه ابتدای مرحله تغذیه مجدد (Reperfusion)، هوموسیستئین به میزان ٠/٥ میلی مول در لیتر به محلول کربس افزوده شد (گروه ٣٠-٠/٥).

Archive of SID
www.SID.ir

در گروه سوم نیز (n=۵) مراحل مشابه انجام شد، با این تفاوت که هوموسیستئین به میزان ۰/۱ میلی‌مول در لیتر و به مدت ٦۰ دقیقه قبل از ایسکمی و نیز ۵ دقیقه اول تغذیه مجدد (Reperfusion) به محلول زمینه‌ای کربس اضافه گردید (گروه ٦۰–۰/۱).

در گروه چهارم (n=۵) هم با طی مراحل مشابه از میزان ۰/۰۵ میلی‌مول هوموسیستئین در لیتر برای مدت ٦۰ دقیقه قبل از ایسکمی و ۵ دقیقه اول تغذیه مجدد (Reperfusion) استفاده شد (گروه ٦۰–۰/۰۵).

بکارگیری مقادیر مذکور که در سایر مطالعات نیز مورد استفاده قرار گرفت(٤) و همچنین بکارگیری زمان‌های متفاوت، امکان بررسی تأثیر هموسیستیئین با غلظت‌ها و زمان‌های مختلف بر عملکرد قلب را فراهم ساخت.

به منظور بررسی پارامترهای عملکردی قلب از جمله RPP و همچنین پارامتر CF بین مراحل پایه و قبل از ایسکمی در هر گروه از آزمون مقایسه زوج‌ها و جهت مقایسه معیارهای قلبی در مراحل پایه، قبل و بعد از ایسکمی در بین گروههای مختلف از آزمون تی مستقل و همچنین آنالیز واریانس یک طرفه و Tukey post Test استفاده گردید. مقادیر به شکل میانگین±خطای معیار گزارش شده‌اند. p<۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقادیر معیارهای قلبی در گروه‌های مختلف و مراحل متوالی آزمایش در جدول شماره یک آورده شده است. همان گونه که در ستون اول این جدول ملاحظه می‌گردد، مقادیر RPP در شرایط پایه و در هر چهار گروه مورد بررسی، بالاتر از (BPM×mmHg) ۲۰۰۰۰ (ضربان در دقیقه × میلی متر جیوه فشار بطنی) بوده، در عین حال تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته است. این نکته نشان دهنده عملکرد مناسب و مشابه قلب‌ها در شرایط پایه است. در ستون دوم این جدول، معیارهای قلبی پیش از شروع ایسکمی آورده شده است. در این مرحله قلب‌ها در گروه‌های تست، مقادیر مختلف هوموسیستئین را دریافت نموده اند اما، همان گونه که ملاحظه می گردد میزان RPP آن‌ها با مقادیر پایه خودشان (با استفاده از آزمون مقایسه زوج‌ها) و همچنین با گروه کنترل (با استفاده از آزمون آنالیز واریانس) تفاوت معنی‌داری نداشته است. تغییر معنی‌دار در این مرحله مربوط به میزان جریان کرونری (CF) در گروه تست اول (گروه ۳۰–۰/۵) می باشد. در این گروه مقدار CF پس از دریافت هوموسیستئین و قبل از شروع ایسکمی (۱٤±۰/٤٦ میلی لیتر به ازای هرگرم وزن قلب) در مقایسه با مقدار پایه در این گروه (۱۲/٤۱±۰/٤۲ میلی لیتر به ازای هرگرم وزن قلب) و همچنین در مقایسه با CF گروه کنترل در همین مرحله (۱۲/۲۲±۰/٦۳ میلی لیتر به ازای هرگرم وزن قلب) به شکل معنی داری (به ترتیب آزمون مقایسه زوج‌ها p=۰/۰۰۲ و آزمون تی مستقل p=۰/۰۳۵) افزایش نشان داده است. در ستون سوم این جدول مقادیر پارامترهای قلبی پس از طی دوره ایسکمی و همچنین گذراندن دوره تغذیه مجدد (Reperfusion) به مدت ٤۵ دقیقه آورده شده است. همان گونه که ملاحظه می گردد، در همهٔ گروه‌ها، افت قابل توجهی در میزان جریان کرونری و همچنین RPP قلب‌ها در مقایسه با مقادیر پایه رخ داده است. به عنوان مثال میزان RPP (ضربان در دقیقه × میلی متر جیوه فشار بطنی) گروه کنترل در این مرحله به ۱۰۸۱۸±۷٦۵، یعنی به حدود ٤۸/٦ درصد مقدار پایه

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. میزان پارامترهای قلبی در گروه های مختلف و دوره های متوالی آزمایش.

میزان تغییرات پارامترهای CF/HR و RPP قبل از ایسکمی و پس از دریافت هموسیستئین در گروه‌های تست، نسبت به مقادیر پایه در هر گروه با استفاده از آزمون مقایسه زوج‌ها مورد آنالیز قرار گرفته است. همچنین میزان RPP بین گروه‌های مختلف در هر یک از دوره‌های پایه، قبل از ایسکمی و تغذیه مجدد با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفته است.

	مقادیر پایه				قبل از ایسکمی و پس از دریافت هموسیستئین در گروه‌های آزمایش				بعد از ٤٥ دقیقه تغذیه مجدد (Reperfusion)			
	LVP (mmHg)	HR (BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	RPP (mmHg × BPM)	LVP (mmHg)	HR (BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	RPP (mmHg × BPM)	LVP (mmHg)	HR (BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	RPP (mmHg × BPM)
کنترل n=۱۱	۸۳/۲۷ ±٦/۰۸	۲٦۷/۳٦ ±۸/۰٦	۱۲/۱۷ ±۰/۵۹	۲۲۲۵۰ ±۱٦۸۷	۸۵ ±۵/۷۵	۲۷۰/۰۹ ±۹/۰٦	۱۲/۲۲ ±۰/٦۳	۲۲۹۲٤ ±۱٦۰۱	٤۷/۷۲ ±۳/۰٦	۲۲۷ ±۸/۸۷	٦/٦۱ ±۰/۵۹	۱۰۸۱۸ ±۷٦۵
هوموسیستئین ۰/۵–۳۰ n=۱۱	۹۱/٤۵ ±۵/۵۲	۲۵۵/۳۷ ±۹/۲۲	۱۲/٤۱ ±۰/٤۲	۲۳۲۵۳ ±۱۵۱٦	۸۵/۱۸ ±٤/۱۱	۲۵۳/۷ ±۸/۵۹	۱٤±۰/٤٦ *	۲۱۵۲۹ ±۱۱۹۷	۳٦/۵۹ ±٤/۰٦	۲۲۵/۷۹ ±۱۰/۳۸	۷/۵۲ ±۰/۳۲	۸۲۸۹ ±۱۰۱۲
هوموسیستئین ۰/۱–٦۰ n=۵	۱۰۳ ±۹/۹۵	۲۲٦/۲ ±۵/٦۵	۱۱/۰٦ ±۰/٤	۲۳۱۰۹ ±۱۸۳۷	۹۱/۲ ±۱۰/۱	۲۳٦/٦ ±۱٤/۸٤	۱۱/٦۸ ±۰/٤۷	۲۰۹۹۸ ±۱۲۰۰	۳۳/٤ ±۵/۸۷	۱۸۹/۲ ±۱٦/۳	٦/۰٦ ±۰/۱۱	۵۹۵۵ ±۵٦٦ **
هوموسیستئین ۰/۰۵–٦۰ n=۵	۸۷/٦ ±٦/۵۷	۲٤٦/٦ ±۱۱/۲	۱۲/۱۱ ±۰/۳۱	۲۱۵٤۸ ±۱۸٤۳	۸۳/٦ ±٤/۹۸	۲۵٤/۸ ±۱٦/۲٦	۱۳/٤۳ ±۰/۲۸	۲۱۱۳۰ ±۱۳۲۵	٤۸/٤ ±٦/٤۳	۲۲۹/٤ ±۱٤/۳٤	۸/۰۸ ±۰/۸۵	۱۱٤۳۲ ±۲۰۵۵

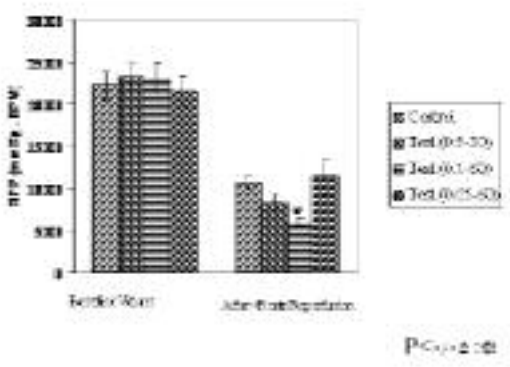
*: مقایسه با پایه همان گروه P<۰/۰۵
**: مقایسه با کنترل همان دوره P<۰/۰۵

(۲۲۲۵۰±۱٦۸۷) تنزل یافته و مقدار CF نیز با ۵٤/۳ درصد کاهش از مقدار پایه ۰/۵۹ ± ۱۲/۱۷ به ۰/۵۹±٦/٦۱) رسیده است. تغییرات واضح CF و RPP در این مرحله نشان دهنده آسیب قلبی متعاقب ٤۰ دقیقه ایسکمی و ٤۵ دقیقه تغذیه مجدد (Reperfusion) می‌باشد. در عین حال تفاوت معنی‌داری در میزان CF گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل در این مرحله دیده نمی‌شود. اما همان گونه که در نمودار شماره یک ملاحظه می‌گردد، در این مرحله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس مشخص گردید که در گروه تست دوم (٦۰–۰/۱) میزان RPP (BPM×mmHg) (۵۹۵۵±۵٦٦) نسبت به گروه کنترل (۱۰۸۱۸±۷٦۵) به شکل معنی‌داری کاهش یافته است (P<۰/۰۵). این نکته نشان دهنده شدت بیشتر آسیب قلبی در این گروه می‌باشد. در مجموع نتایج بیانگر آسیب قلبی به‌دنبال ایسکمی در گروه‌های مختلف بوده که شدت این آسیب در گروه تست دوم به شکل معنی‌داری تشدید یافته است.

بحث

مهم‌ترین یافتهٔ مطالعه حاضر، نشان دادن تشدید آسیب قلبی به‌دنبال ایسکمی در گروه دریافت کننده

www.SID.ir



نمودار ۱. میزان فراوانی(Mean±SEM) RPP در دوره‌های پایه (Baseline) و تغذیه مجدد (Reperfusion) در گروه‌های مختلف. مقادیر گروه‌های مختلف در هر دوره با روش آنالیز واریانس مورد بررسی قرار گرفته و تفاوت بین گروه‌های تست با گروه کنترل همان دوره نمایش داده شده است.

معیار عملکردی قلب یعنی RPP در این گروه نسبت به گروه کنترل پس از طی ٤٠ دقیقه ایسکمی و ٤٥ دقیقه تغذیه مجدد، بیانگراین نکته است. در سایر مطالعات مشخص شده است که سطوح غیر طبیعی هوموسیستئین منجر به عوارض متعددی از جمله آترواسکلروز، ترمبوز وریدی و مشکلات متعدد قلبی-عروقی در ارگانیسم می‌گردد(۲). همچنین معتقدند که هوموسیستئین در این حالت تأثیرات توکسیک بر آندوتلیوم عروق دارد که ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید به‌دنبال آن می باشد؛ آسیب عروقی ناشی از رادیکال‌های آزاد منجر به تشدید روند آتروژنیک می گردد و از طرف دیگر هیپرهوموسیستئینمیا رشد سلول‌های عضلات صاف عروقی را تشدید و رشد سلول‌های اندوتلیال را مهار کرده، تأثیر منفی بر تولید نیتریک اکسید و فاکتور شل کننده مشتق از اندوتلیال عروقی داشته(۱۷-۱۵)، منجر به اختلال عملکرد و آسیب اندوتلیالی می گردد (٤-۳)؛ اما نکته قابل توجه در مطالعه حاضر این است که تشدید آسیب قلبی متعاقب ایسکمی و تغذیه مجدد، بدون تفاوت معنی دار در میزان جریان کرونری رخ داده است. هر چند در پژوهش حاضر، استفاده از غلظت ۰/۵ میلی مول در لیتر هوموسیستئین در گروه تست اول منجر به افزایش معنی‌دار میزان جریان کرونری، پس از به کارگیری آن و پیش از شروع ایسکمی شده است اما، پس از طی دوره ایسکمی و تغذیه مجدد تفاوت معنی‌داری در رابطه با میزان جریان کرونری در بین گروه‌های مختلف، از جمله گروه تست دوم، در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی‌شود. بنابراین می توان گفت که تشدید آسیب متعاقب ایسکمی و تغذیه مجدد در گروه دوم دریافت کننده هوموسیستئین مستقل از جریان کرونری بوده است. هر چند در مطالعات قبلی، تأثیر هموسیستئین بر عروق، به ویژه عروق کرونر، به خوبی مورد بررسی قرار گرفته(٤-۳) و همچنین در مطالعه حاضر نیز واکنش عروقی ناشی از هوموسیستئین در مرحله دوم آزمایش مشخص شده است، به نظر می‌رسد که تشدید آسیب ناشی از ایسکمی و تغذیه مجدد در مطالعه فعلی مستقل از این واکنش‌های عروقی و در واقع ناشی از تأثیر مستقیم هموسیستئین بر عضله قلبی باشد.

در سایر مطالعات مشخص شده است که استرس اکسیداتیو نقش بسیار مهمی در آسیب قلبی به‌دنبال ایسکمی و تغذیه مجدد دارد(۱۳). همچنین نقش هیپرهوموسیستئینمیا در ایجاد استرس اکسیداتیو در بعضی پژوهش‌ها بیان شده است(۳،۵). در برخی دیگر از پژوهش‌ها نشان داده شده است که

Archive of SID
www.SID.ir

هیپرهوموسیستئینمیا موجب افزایش استرس اکسیداتیو در سطح میوکاردی می شود؛ معتقدند که این روند در اختلال عملکرد قلبی نقش دارد (٦). همچنین مشخص شده است که در شرایط ایسکمی و اسیدوز ناشی از آن، به دلیل کاهش فعالیت آنزیم Cystathionine Beta–synthase، هوموسیستئین تجمع می یابد(٧). از سوی دیگر، تشدید آسیب حاصل از ایسکمی در حضور هیپرهوموسیستئینمیا در بافت‌های مغزی(٨) و گوارشی(٣) نیز گزارش شده است. در مطالعه حاضر هم تأثیر سطوح بالای هوموسیستئین بر آسیب متعاقب ایسکمی و تغذیه مجدد (Reperfusion) در بافت قلبی مشاهده شد.

نکته قابل توجه در پژوهش حاضر، تأثیر عامل زمان دریافت هوموسیستئین بر شدت آسیب قلبی است. به این ترتیب که هر چند حداکثر غلظت به کار رفته در مطالعه، باعث واکنش عروقی متفاوت با سایر گروه‌ها در سطح کرونر شده است اما، منجر به تشدید آسیب قلبی متعاقب ایسکمی نگردیده است. در حالی که شدت قابل ملاحظه آسیب قلبی در گروهی دیده می شود که غلظت کم‌تری را در زمان بیشتر دریافت نموده است. در این گروه هر چند واکنش‌های عروقی قبلی دیده نمی‌شود اما آسیب قلبی واضحی به چشم می‌خورد که خود از یک سو دلیل بر مستقل بودن دو پدیده پاسخ عروقی و عملکرد بافتی از یکدیگر است و از سو دیگر، بر نقش مهم عامل زمان در رابطه با آسیب بافتی تأکید دارد. در گروه سوم آزمایش، با کاهش مجدد غلظت مشخص می شود که تشدید آسیب قلبی حتی در حضور زمان طولانی هم رخ نمی‌دهد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که مجموعه دو عامل غلظت و زمان نقش تعیین کننده در شدت آسیب بافتی متعاقب ایسکمی در حضور هوموسیستئین دارند؛ این نتیجه‌ای است که در سایر مطالعات به آن کم‌تر توجه شده است.

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر نشان داد که حضور هوموسیستئین منجر به تشدید آسیب متعاقب ایسکمی و تغذیه مجدد در قلب جدا شده رت می‌گردد و دو عامل غلظت و زمان دریافت هوموسیستئین در این رابطه نقش تعیین کننده‌ای دارند. به نظر می‌رسد که این پدیده به دلیل استرس اکسیداتیو ناشی از هوموسیستئین بر بافت قلبی است که در شرایط ایسکمی و اسیدوز بافتی و همچنین به دلیل کاهش فعالیت آنزیم cystathionine Beta-synthase و تجمع هوموسیستئین حاصل از آن، تشدید شده است.

منابع

1. Chambers JC, Kooner JS. Homocysteine: a novel risk factor for coronary heart disease in UK Indian Asians. Heart 2001;86(2):121-2.

2. Reeder SJ, Hoffmann RL, Magdic KS, Rodgers JM. Homocysteine: the latest risk factor for heart disease. Dimens Crit Care Nurs 2000;19(1):22-8.

3. Bar-Or D, Curtis CG, Sullivan A, Rael LT, Thomas GW, Craun M, et al. Plasma albumin cysteinylation is regulated by cystathionine beta-synthase. Biochem Biophys Res Commun 2004; 325(4):1449-53.

4. Chang L, Zhao J, Xu J, Jiang W, Tang CS, Qi YF. Effects of taurine and homocysteine on calcium homeostasis and hydrogen peroxide and superoxide anions in rat myocardial mitochondria. Clin Exp Pharmacol Physiol 2004;31(4):237-43.

5. Joseph J, Kennedy RH, Devi S, Wang J, Joseph L, Hauer-Jensen M. Protective role of mast cells in homocysteine-induced cardiac remodeling. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005;288(5):H2541-5.

6. Devi S, Kennedy RH, Joseph L, Shekhawat NS, Melchert RB, Joseph J. Effect of long-term hyperhomocysteinemia on myocardial structure and function in hypertensive rats. Cardiovasc Pathol

Archive of SID
www.SID.ir

2006;15(2):75-82.
7. Taoka S, Ohja S, Shan X, Kruger WD, Banerjee R. Evidence for heme-mediated redox regulation of human cystathionine beta-synthase activity. J Biol Chem 1998 25;273(39):25179-84.
8. Endres M, Ahmadi M, Kruman I, Biniszkiewicz D, Meisel A, Gertz K. Folate deficiency increases postischemic brain injury. Stroke 2005;36(2):321-5.
9. Shontz RD, Xu Z, Patel KP, Rozanski GJ. Inhibition of K+ currents by homocysteine in rat ventricular myocytes. J Cardiovasc Electrophysiol 2001;12(2):175-82.
10. Pacher P, Ungvari Z, Kecskemeti V. Electro-physiological effects of homocysteine in isolated rat right ventricular papillary muscles and left atria. Gen Pharmacol 1999;32(4):439-43.
11. Sipkens JA, Krijnen PA, Meischl C, Cillessen SA, Smulders YM, Smith DE, et al. Homocysteine affects cardiomyocyte viability: concentration-dependent effects on reversible flip-flop, apoptosis and necrosis. Apoptosis 2007;12(8):1407-18.
12. Cesari M, Rossi GP, Sticchi D, Pessina AC. Is homocysteine important as risk factor for coronary heart disease? Nutr Metab Cardiovasc Dis 2005; 15(2):140-7.
13. Kevin LG, Novalija E, Stowe DF. Reactive oxygen species as mediators of cardiac injury and protection: the relevance to anesthesia practice. Anesth Analg 2005;101(5):1275-87.
14. Shackebaei D, King N, Shukla B, Suleiman MS. Mechanisms underlying the cardioprotective effect of L-cysteine. Mol Cell Biochem 2005;277(1-2):27-31.
15. Sobra J. Hyperhomocysteinemia. Cas Lek Cesk 1996; 135(9):266-9.
16. Mujumdar VS, Aru GM, Tyagi SC. Induction of oxidative stress by homocyst(e)ine impairs endothelial function. J Cell Biochem 2001;82(3): 491-500.
17. Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, Chuniaud L, Miled A, Trivin F, et al Hyperhomocysteinemia, paraoxonase activity and risk of coronary artery disease. Clin Biochem 2006;39(8):821-5.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 25, No 84, Spring 2007

Received: 12.1.2006
Accepted: 28.12.2006

Effect of Homocysteine on Ischemia-Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart

Shakybayee D, Ph.D*.

* Assistant Professor of Physiology, Kermanshah University of Medical Sciences

Abstract

Background: Homocysteine is a sulfur containing amino acid, and its high concentration is known as cardiovascular risk factor results in oxidative stress and vascular disease. There are some studies on cardiovascular effects of homocysteine but its effect on the reperfusion injury is not completely understood. Hence the effect of homocysteine on the ischemia–reperfusion injury in isolated rat heart has been considered in this study

Methods: In this experiment 32 male wistar rats were used. The hearts of animals were isolated according to Langendorff method and perfused by Kreb's solution under constant pressure. Experimental protocol in control group was I: Stabilization period and recording of baseline values, II: Normothermic global ischemia (40min), and III: Reperfusion (45 min). In addition to this protocol, homocysteine (0.5 mmol/lit) was added to Kreb's solution for 30 min before and 5 min after ischemia in test group I. In test group II and III, homocysteine (0.1 & 0.05 mmol/lit) were added to solution for 60 min before and 5 min after ischemia, respectively. Functional cardiac parameters were measured during different periods. Data were analyzed by paired t-test, unpaired t-test and one way ANOVA followed by Tukey post test appropriately

Findings: The maximum concentration of homocysteine (0.5 mmol/lit) significantly increased coronary flow before ischemia. In addition, rate pressure product (heart rate×left ventricular pressure) as a functional cardiac parameter in test group II (5955±566 beat per minute×mmHg) significantly decreased in comparison to control group (10818±765) after 45 min reperfusion ($P<0.05$).

Conclusion: The findings of this study showed the exaggerated reperfusion injury in the test group with longer perfusion time and moderate concentration of homocysteine; This effect is suggested to be due to exaggerated oxidative stress in reperfusion period.

Key words: **Homocysteine, Isolated heart, Ischemia-reperfusion injury**

Page count: 9
Tables: 1
Figures: 1
References: 17

Address of Correspondence: Daryosh Shakybayee MD, Department of Physiology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
E-mail: dshakibaei@kums.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI