

پنج ماهگی می‌باشد (۱۱) هر چند که افزایش مقاومت قلب نسبت به ایسکمی در سنین قبل از بلوغ نسبت به دوران پس از آن امری شناخته شده است، اما با توجه به نتایج مطالعات صورت گرفته، درخصوص روند تغییرات مقاومت در دوران قبل از بلوغ توافق نظر وجود ندارد. به عبارت دیگر مشخص نیست که حداکثر میزان مقاومت قلبی نسبت به ایسکمی در بدو تولد می‌باشد و یا در مقطع زمانی بین تولد و بلوغ. با توجه به اهمیت و ارزش بالینی این نکته و همچنین اختلاف نظرهای موجود و فقدان اطلاعات کافی در این زمینه، مطالعه حاضر به منظور بررسی آسیب پذیری قلب نسبت به ایسکمی در سنین ۲، ۳، ۶ و ۸ هفتگی در قلب مجزا شده خرگوش صورت گرفته است.

### روش بررسی

این مطالعه به روش تجربی و بر روی خرگوش سفید آزمایشگاهی (تهیه شده از موسسه رازی) در گروه‌های سنی دو هفتگی ( $n=9$ )، سه هفتگی ( $n=7$ )، شش هفتگی ( $n=7$ ) و هشت هفتگی ( $n=9$ ) صورت گرفت. حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری می‌شدند. ابتدا حیوانات با استفاده از تجویز داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم با دوز ۶۰ میلی‌گرم به کیلوگرم بیهوش شده، سپس مورد عمل جراحی برش قفسه سینه و جداسازی قلب قرار گرفتند. بلافاصله پس از جداسازی قلبها در محلول کربس سرد ( $4-0$  درجه سانتی‌گراد) قرار داده شده و به سرعت آئورت به کانول

### مقدمه

مطالعات تجربی متعددی نشان داده‌اند که مقاومت قلب نسبت به ایسکمی در دوره قبل از بلوغ بیشتر از دوره پس از بلوغ می‌باشد (۱). در مطالعه‌ای نشان داده شده که مقاومت قلب موش نسبت به ایسکمی از ۲ تا ۱۸ ماهگی به تدریج کاهش می‌یابد (۲). برخی مطالعات نشان دهنده کاهش تدریجی مقاومت قلبی نسبت به ایسکمی در قلب مجزا شده خرگوش در سنین بین ۷ تا ۹۰ روزگی می‌باشند (۳). مشخص گردیده که مقاومت قلب مجزا شده خرگوش نسبت به ایسکمی گلوبال هیپوترمیک در دوره نوزادی (یک هفته‌گی) بیشتر از دوره قبل از بلوغ (یک ماهگی) و پس از بلوغ (چهار ماهگی) می‌باشد (۴). همچنین مشخص شده که مقاومت قلب مجزا شده خرگوش ده روزه نسبت به هیپوکسی بشکل معنیداری بیشتر از قلبهای مجزا شده در سن ۳۰ روزگی می‌باشد (۵). از طرف دیگر برخی مطالعات دیگر نشان داده‌اند که مقاومت افزایش یافته این قلبها هم‌هنگ با تغییرات آنزیمی و ساختمانی نبوده (۶) و در حضور ایسکمی دراز مدت نیز ماندگار نمی‌باشد (۷). علاوه بر آن برخی مطالعات مشخص ساخته‌اند که در شرایط ایسکمی طولانی همراه با بکارگیری مکرر و مداوم کاردیوپلژیا، آسیب پذیری قلب جوان بیشتر از قلب بالغین می‌باشد (۸-۱۰) گزارش یک تحقیق دیگر حاکی از این است که مقاومت قلب مجزا شده خرگوش در سن ۳ تا ۴ هفتگی بشکل معنیداری بیش از قلبهای مجزا شده در سنین دو هفتگی و

کرونری (coronary flow-CF) از روش اندازه‌گیری مستقیم با بکارگیری سیلندر مدرج استفاده شد. مراحل آزمایش بدین ترتیب بود که قلبها ابتدا دوره تثبیت اولیه و ثبت اطلاعات پایه را به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه گذرانده، سپس وارد مرحله دوم یعنی دوره ایسکمی شدند و به مدت ۳۵ دقیقه در این مرحله باقی می‌ماندند. در این مرحله تغذیه قلبی متوقف و قلب در یک محفظه محتوی کربس با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد غوطه ور می‌شد. بدین ترتیب قلب در این دوره تحت ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global and Normothermic) قرار می‌گرفت (۱۳). در مرحله سوم، تغذیه قلبی دوباره با مشخصات دوره قبل از ایسکمی صورت گرفت و این دوره موسوم به تغذیه مجدد (Reperfusion) به مدت ۴۵ 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. به این منظور درصد تغییرات پارامترهای مختلف قلبی در مرحله پس از ایسکمی (متعاقب ۴۵ دقیقه تغذیه مجدد) نسبت به مرحله قبل از ایسکمی، برای هر گروه محاسبه شده و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و tukey post test در بین گروههای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر بشکل میانگین±خطای استاندارد گزارش شده و  $p < 0/05$  بعنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در جدول ۱ مقادیر پایه پارامترهای قلبی در گروههای

دستگاه متصل گردید. قلبها مطابق روش لانگندورف و به شکل Retrograde با محلول کربس حاوی  $\text{NaCl}=118$ ,  $\text{NaHCO}_3=25$ ,  $\text{KCl}=4.8$ ,  $\text{CaCl}_2=1.2$ ,  $\text{MgSO}_4=1.2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4=1.2$ ,  $\text{Glucose}=11$  میلی مول در لیتر تغذیه (Perfusion) شدند. محلول فوق از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ (Cat No 1002 125) عبور داده شده، پس از مخلوط شدن با گاز اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد)، با  $\text{PH}=7/4$ ، حرارت ۳۷ درجه و فشار ثابت (۵۰ میلی‌متر جیوه در گروههای اول و دوم و ۶۰ میلی‌متر جیوه در گروههای سوم و چهارم) (۱۲) برای تغذیه قلبی مورد استفاده قرار گرفت. سپس یک بالون لاتکس 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 ۱۰-۵ میلی‌متر جیوه تأمین گردد. بدین ترتیب امکان سنجش معیارهای مختلف عملکردی قلب از جمله فشار بطن چپ (LVDP) که برابر است با فشار سیتولیک بطنی منهای فشار دیاستولیک آن برحسب میلی‌متر جیوه و نیز تعداد ضربان قلب در دقیقه (Beat Per Minute (BPM) فراهم گردید. همچنین معیار عملکردی قلبی موسوم به Rate (pressure product-RPP) که برابر حاصل ضرب نوسانات فشاری بطن چپ در تعداد ضربان قلب در دقیقه است نیز محاسبه گردید (۱۳) برای سنجش میزان جریان مایع

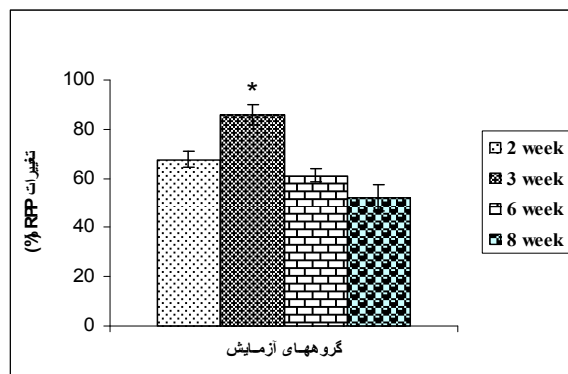
می‌باشد. همچنین مشخص شد که اختلاف بین میزان درصد بازگشت عملکرد قلبی در قلب‌های گروه با سن دو و هشت هفته نیز معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) می‌باشد. در خصوص میزان بازگشت جریان کرونری بدنبال ایسکمی (نمودار ۲) نیز مشخص شد که این مقدار در گروه‌های با سن ۲ هفته  $87/24 \pm 2/55$ ، سه هفته  $92/88 \pm 1/64$  و ۶ هفته  $72/66 \pm 3/8$  و ۸ هفته  $74/13 \pm 3/52$  درصد میزان پایه در هر گروه بودند. در رابطه با این پارامتر نیز حداکثر میزان بازگشت مربوط به گروه با سن سه هفته بوده که تفاوت آن با گروه‌های ۶ هفته و ۸ هفته اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.001$ ) داشت. همچنین تفاوت بین میزان بازگشت CF در گروه با سن دو هفته نسبت به گروه‌های ۶ و ۸ هفته نیز معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود.

مختلف آورده شده است. میزان وزن قلبها و RPP آنها مناسب با سن هر گروه و هماهنگ با سایر مطالعات می‌باشد (۱۲). میزان درصد تغییرات RPP در دوره پس از ایسکمی نسبت به مرحله پایه در نمودار ۱ آورده شده است. بازگشت عملکرد قلبی بدنبال ایسکمی در قلبهای گروه با سن دو هفته  $67/57 \pm 3/27$  درصد میزان پایه، در گروه سه هفته  $85/81 \pm 4/36$  درصد، گروه ۶ هفته  $61/19 \pm 2/83$  درصد و در گروه ۸ هفته  $52/03 \pm 5/09$  درصد مقدار پایه بودند. حداکثر بازگشت عملکرد قلبی نسبت به مرحله قبل از ایسکمی در گروه با سن سه هفته بوده است. با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه مشخص گردید که اختلاف بین این گروه با گروه‌های دو هفته ( $p < 0.05$ )، ۶ هفته ( $p < 0.01$ ) و هشت هفته ( $p < 0.001$ ) معنی‌دار

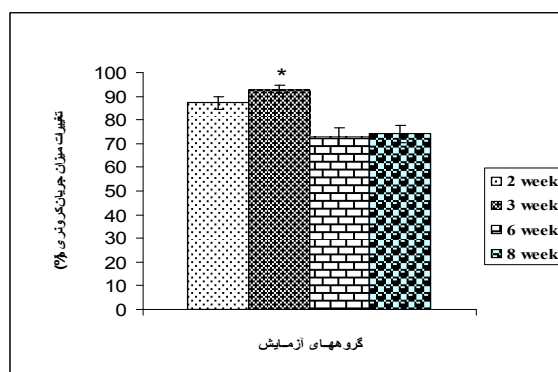
جدول ۱: مقادیر وزن حیوانات (خرگوش) و قلب آنها و نیز مقادیر پایه پارامترهای عملکردی قلب

و میزان جریان کرونری در گروه‌های آزمایش

مقادیر پایه پارامترهای قلبی				وزن قلب (گرم)	وزن حیوانات (گرم)	گروه‌ها
حاصل ضرب ضربان قلب در افزایش فشار بطن چپ	میزان جریان عروق کرونری (ml)	افزایش فشار بطن چپ (mmHg)	ضربان قلب (BPM)			
$14964 \pm 511$	$10/65 \pm 1/17$	$71/37 \pm 2/58$	$211 \pm 8$	$0/96 \pm 0/13$	$192 \pm 22$	۲ هفته
$14520 \pm 813$	$10/85 \pm 0/94$	$73/28 \pm 3/57$	$199 \pm 5$	$0/97 \pm 0/04$	$259 \pm 17$	۳ هفته
$17887 \pm 1002$	$30/43 \pm 0/95$	$94/63 \pm 4/19$	$192 \pm 9$	$2/4 \pm 0/09$	$819 \pm 23$	۶ هفته
$18205 \pm 912$	$27/56 \pm 1/69$	$93/27 \pm 2/6$	$196 \pm 10$	$2/86 \pm 0/14$	$947 \pm 40$	۸ هفته



نمودار ۱: درصد تغییرات حاصل ضرب میزان افزایش فشار بطن چپ در ضربان قلب (Rate Pressure) پس از ۲۵ دقیقه ایسکمی کلی با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد در گروههای آزمایش. مقادیر (میانگین±خطای استاندارد) توسط آنالیز واریانس مورد مقایسه واقع شده و  $p < 0.05$  معنی دار تلقی شده است. \* اختلاف معنی دار با سایر گروهها.



نمودار ۲: درصد تغییرات میزان جریان کرونری پس از ۴۵ دقیقه تغذیه مجدد (Reperfusion) نسبت به قبل از ۳۵ دقیقه ایسکمی کلی با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد در گروههای آزمایش. مقادیر (میانگین±خطای استاندارد) توسط آنالیز واریانس مورد مقایسه واقع شده و  $p < 0.05$  معنی دار تلقی شده است. اختلاف با گروه ۶ و ۸ هفته.

بیش از قلبهای با سن بیشتر از یک ماه میباشند. این یافته هماهنگ با سایر مطالعات می باشد (۳-۵). از طرف دیگر این نکته که بازگشت عملکرد قلبی متعاقب ایسکمی در قلبهای با سن سه هفته بشکل معنی داری بیش از قلبهای با سن دو هفته میباشند، حائز اهمیت بوده و نشاندهنده الگوی متفاوتی از میزان مقاومت قلبی نسبت به ایسکمی در دوران پس از تولد می باشد. در مطالعه مشابهی مشخص شده که متعاقب کاردیوپلژی و ایسکمی

## بحث

مهمترین یافته مطالعه حاضر عبارت از بازگشت مناسبتر عملکرد قلبی پس از ایسکمی در سن سه هفتهگی که بشکل معنی داری با سن کمتر و بیشتر از این مقطع متفاوت بود. این یافته جدیدی است که در سایر گزارشها کمتر مورد توجه واقع شده است. نتایج مطالعه حاضر حاکی از اینست که میزان درصد بازگشت عملکرد قلبی متعاقب ایسکمی در خرگوشهای با سن کمتر از یک ماه بشکل معنی داری

مناسبت ATP در این قلبها (مصرف آهسته‌تر ATP و کاهش کاتابولیسم آن بوسیله ۵- نوکلئوتیداز) و نیاز به اکسیژن کمتر برای تأمین و نقل و انتقال کلسیم مورد نیاز در روند انقباض اشاره نمود (۱,۱۴,۱۵) با توجه به اختلافات متابولیک قلبهای جوان و بالغ، این نکته مشخص شده که پاسخ آنها نیز به کاردیوپلژیا، متفاوت و وابسته به سن می‌باشد (۱۶). از طرف دیگر معتقدند که ظرفیت بالای گلیکولیتیک قلبهای نابالغ منجر به تولید بیشتر لاکتات می‌گردد که به نوبه خود موجب افت بیشتر PH بافتی می‌گردد (۸). همچنین آسیب‌پذیری بالاتر قلبهای جوان نسبت به تأثیرات توکسیک رادیکالهای اکسیژن نیز مشخص گردیده است (۱۷). این نکات منفی می‌تواند سبب آسیب‌پذیری بیشتر این قلبها نسبت به ایسکمی در مقاطعی از دوره قبل از بلوغ گردد. بنابراین بنظر می‌رسد که در دوران پس از تولد عوامل متعدد مثبت و منفی تأثیرگذار بر روند مقاومت قلبی نسبت به ایسکمی وجود داشته و با توجه به نتایج مطالعه حاضر و با تاکید بر الگوی متفاوت مقاومت قلبی در سنین مختلف، باید معلوم کرد کدامیک از مکانیسمهای نامبرده شده در هر سنی از تولد فعالیت می‌باشد. بنابراین بررسی تکمیلی جهت مشخص شدن مکانیسم این مقاومت افزایش یافته در مقاطع زمانی خاص، پیشنهاد می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

هیپوترمیک، میزان بازگشت عملکرد قلب مجزا شده خرگوش در سن ۳ تا ۴ هفتگی بیش از سنین دو هفتگی و پنج ماهگی می‌باشد (۱۱). نتایج مطالعه حاضر نیز تاکید به این الگوی متفاوت

تحت شرایط ایسکمی گلوبال نورموترمیک دارد. با وجود تحقیقات متعدد در این زمینه، هنوز علت آسیب‌پذیری کمتر قلب نسبت به ایسکمی و هیپوکسی در دوره قبل از بلوغ بدرستی مشخص نیست (۸). اینکه قلبهای جوان نسبت به قلبهای بالغ تحمل بیشتری نسبت به ایسکمی دارند احتمالاً ناشی از فشار پایین اکسیژن محیطی در دوره جنینی می‌باشد. در واقع دسترسی محدود میوکارد به اکسیژن در این دوره منجر به فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی متابولیکی بر علیه هیپوکسی می‌گردد. از جمله فعال شدن بعضی از ژنها که در این شرایط آنزیمهای مورد نیاز را کد می‌کنند. پس از تولد نوزاد و شروع زندگی در محیط غنی از اکسیژن، روندهای متابولیک حفاظتی به تدریج فروکش می‌کنند، اما این روند نیاز به زمان داشته و در واقع به دلیل فعال بودن این مکانیسم در دوره پس از تولد نیز مقاومت قلبی در این هنگام بیش از بالغین می‌باشد (۱). تفاوت‌های ساختمانی و متابولیک متعدد دیگری بین میوکارد نابالغ و بالغ وجود دارد، که می‌توانند منجر به تحمل مناسب‌تر شرایط ایسکمیک در قلبهای نابالغ گردد. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به ذخیره گلیکوژن بالاتر و حفظ

تولد و بلوغ به حداکثر می‌رسد.

### تقدیر و تشکر

با سپاس و تشکر از مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به خاطر فراهم آوردن امکانات این تحقیق.

با توجه به نتایج می‌توان گفت بازگشت عملکرد قلبی پس از ایسکمی در سن سه هفتگی بشکل معنی‌داری بیشتر از دیگر گروهها بوده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقاومت قلب نسبت به ایسکمی الگوی کاهش نداشتن بلکه میزان مقاومت در قلب خرگوش در زمانی بین

### References

1. Rosenkranz E R, Feng J, Li H L. Myocardial preconditioning in the experimental model: a new strategy to improve myocardial protection. In: Salerno T A, Ricci M, Editors. Myocardial Protection. First edition, New York: Blackwell Publishing 2004. p. 252-259.
2. Willems L, Zatta A, Holmgren K, Ashton KJ, Headrick JP. Age-related changes in ischemic tolerance in male and female mouse hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 38: 245-256.
3. Murashita T, Kempsford R D, Hearse D J. Age-dependent changes in the tolerance of the rabbit heart to ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg* 1990; 4: 492-7.
4. Bove EL, Stammers AH. Recovery of left ventricular function after hypothermic global ischemia. Age-related differences in the isolated working rabbit heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91: 115-22.
5. Fitzpatrick CM, Shi Y, Hutchins WC, Su J, Gross GJ, Ostadal B, and et al. Cardioprotection in chronically hypoxic rabbits persists on exposure to normoxia: role of NOS and KATP channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: H62-8.
6. Murashita T, Borgers M, Hearse DJ. Developmental changes in tolerance to ischaemia in the rabbit heart: disparity between interpretations of structural, enzymatic and functional indices of injury. *J Mol Cell Cardiol* 1992; 24: 1143-54.
7. Nakamura H, del Nido PJ, Jimenez E, Sarin M, Feinberg H, Levitsky S. Age-related differences in cardiac susceptibility to ischemia/reperfusion injury. Response to deferoxamine. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1992; 104: 165-72.
8. Bittira B, shum -tim D, Tchervenkov C I. New concepts in myocardial protection in pediatric cardiac surgery. In: Salerno T A, Ricci M, Editors. Myocardial Protection. First edition, New York: Blackwell Publishing 2004. p. 264-265.
9. Magovern JA, Pae WE Jr, Waldhausen JA. Age-related changes in the efficacy of crystalloid cardioplegia. *J Surg Res* 1991; 51: 229-32.
10. Baker JE, Boerboom LE, Olinger GN. Age-related changes in the ability of hypothermia and cardioplegia to protect ischemic rabbit myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96: 717-24.
11. Podesser B, Hausleithner V, Seitelberger R, Wollenek G, Wolner E, Steiert H. New developments in the isolated working heart: a comparison of neonatal, immature, and adult rabbits after sixty minutes of ischemia in respect to hemodynamic and biochemical parameters. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1993; 30: 189-96.
12. Carr LJ, VanderWerf QM, Anderson SE, Kost GJ. Age-related response of rabbit heart to normothermic ischemia: a 31P-MRS study. *Am J Physiol.* 1992; 262: H391-8.
13. Shackebaei D, King N, Shukla B, Suleiman MS. Mechanisms underlying the cardioprotective effect of L-cysteine. *Mol Cell Biochem* 2005; 277: 27-31.
14. Nishioka K, Jarmakani JM. Effect of ischemia on mechanical function and high-energy phosphates in rabbit myocardium. *Am J Physiol* 1982; 242: H1077-83.
15. Pridjian AK, Bove EL, Bolling SF, Childs KF, Brosamer KM, Lupinetti FM. Developmental differences in myocardial protection in response to 5'-nucleotidase inhibition. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 520-6.

16. McCully JD, Rousou AJ, Parker RA, Levitsky S. Age and gender-related differences in mitochondrial oxygen consumption and calcium with cardioplegia and diazoxide. *Ann Thorac Surg* 2007; 83: 1102-9.
17. Parrish MD. Oxygen radical injury in the immature isolated rabbit heart. *J Dev Physiol* 1991; 16: 243-9.