

اثرات آنتی آریتمیک رزوراترول متعاقب ایسکمی و ریپرفیوژن قلب ایزوله موش صحرایی

حمیده کاظمی راد^{۱*}، حمیدرضا کازرانی^۲

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

پست الکترونیکی: rad_20009@yahoo.com

۲- بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

Antiarrhythmic effects of resveratrol against myocardial ischemia and reperfusion induced injury

Hamideh kazmirad^{1*}, Hamid Reza Kazerani²

1- Physiology PhD student, The School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.

2- Department of Physiology, The School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.

The current research was aimed to investigate the cardioprotective effects of resveratrol on isolated rat heart following myocardial ischemia and reperfusion. Accordingly, the hearts from 20 Wistar rats were studied in groups of 10 using a Langendorff setup; and the effects of resveratrol on antiarrhythmic of isolated hearts subjected to global ischemia (30min) and reperfusion (120min) were investigated. resveratrol caused a remarkable and significant reduction in various arrhythmias including single, salvos, ventricular tachycardia and ventricular fibrillation.

Keywords: resveratrol, cardiac arrhythmia, myocardial ischemia and reperfusion, isolated heart.

چکیده:

زمینه و اهداف: رزوراترول دارای مواد آنتی اکسیدان قوی است که اثر حفاظتی قابل توجهی روی سلول‌های مختلف بدن و از جمله قلب، مغز، کلیه و امثال آن به جا می‌گذارد. بر این اساس ۲ گروه ۱۰ تایی از رت‌های نژاد ویستار انتخاب شدند و قلب آن‌ها توسط دستگاه لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. قلبهای ایزوله گروه‌های شاهد و آزمون (رزوراترول) به مدت ۳۰ دقیقه تثبیت شدند و سپس ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه پرفوزیون مجدد را تجربه کردند. رزوراترول موجب کاهش معنی دار انواع آریتمی شامل آریتمی منفرد، سالو، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی گردید.

واژه‌های کلیدی: رزوراترول، آریتمی، ایسکمی پرفوزیون مجدد، قلب ایزوله رت

محور مقاله ارسالی: دامپزشکی، فیزیولوژی دام

مقدمه، مواد و روش‌ها:

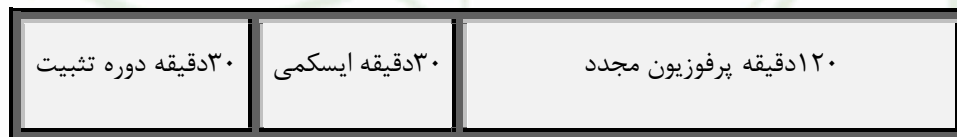
رزوراترول برای اولین بار از گیاهی به نام *Polygonum capsidatum* استخراج شد. با گذشت زمان این ماده از گیاهان مختلف شناسایی شد که مهمترین آنها پوست و دانه انگور می باشد. این ترکیب متابولیسم لیپیدها را تنظیم می کند و از اکسیداسیون لیپیدها و تجمع پلاکت ها جلوگیری می نماید[1,2,3].

رزوراترول به عنوان ترکیب ترانس (۵، ۳، ۴ تری هیدروکسی استیل بن) پلی فنولیک فیتوآلکسین در گیاهان مختلفی از جمله انگور، انواع توت و بادام زمینی یافت می شود. رزوراترول یک آنتی اکسیدان بسیار قوی و طبیعی است که اثرات حفاظتی در بیماری های کرونری و قلبی دارد[1,2,3]. این مولکول عملکرد های بسیار وسیعی و فواید درمانی بسیاری دارد که عمده اثر آن کنترل اکسیداسیون و التهاب می باشد[3]. این ماده به عنوان یکی از ترکیبات محتمل در پیشگیری و درمان التهاب مزمن شناخته شده است. اثرات بیولوژیکی رزوراترول بسیار متنوع و زیاد است[4,5] و دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی بسیار وسیعی می باشد [5,6]. این ترکیب در فرم های خالص شده یا مصنوعی موجب مهار اکونوزئیده در پلاکت موش صحرایی می شود و در متابولیسم آراشیدونیک دخالت می کند و موجب مهار فعالیت و تجمع پلاکت، مهار فعالیت بسیاری از پروتئین کینازها و مهار کننده بسیار قوی برای ازبین بردن گونه های رادیکال های آزاد تولید شده توسط لوکوسیت های پلی مورفونوکلئار انسانی می باشد. رزوراترول اثر بیشتری روی مهار اکسیداسیون LDL نسبت به ویتامین E دارد. این ترکیب دارای اثرات ضدپیری[7] و ضد سرطان می باشد [8]. خصوصیت حفاظتی عصاره رزوراترول بر اورگان هایمانند کلیه [9]، مغز [10] و قلب [11] شناخته شده می باشد. سطوح سلولی مولکولی رزوراترول موجب فعال شدن تعداد زیادی تعدیل کننده و مقادیر کمی پروتئین [12] در داخل سلولی می شود که در این میان می توان به فاکتورهای رونویسی هسته ای حساس به رودوکس [13] مانند NFκB یا فاکتورهای رونوشت برداری حساس به سوخت مانند sirtuins اشاره کرد [14]. بخش اعظمی از مکانیسم های داخل سلولی رزوراترول به صورت ناشناخته باقی مانده است. در بیماری های انسداد کرونری، رزوراترول اثرات حفاظتی بسیار قوی روی سلول های میوکاردی اعمال می کند [15,16]. رزوراترول دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است به طوریکه موجب از بین بردن رادیکال های پروکسیل می شود [17] این مولکول تولید نیتریک اکساید در عروق اندوتلیال را نیز تحریک می کند [18].

این مطالعه بر روی موش های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. حیوانات در شرایط یکسان و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش به آب و غذای کافی به طور آزاد دسترسی داشتند. رت ها به طور تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و تحت بیهوشی عمیق با تیوپنتال سدیم (۶۰ mg/kg) قرار گرفتند و هپارین (۵۰۰ واحد بین المللی) به داخل ورید قضیب تزریق گردید. بعد از ۵

دقیقه قفسه سینه برش داده شد و قلب خارج گردید. بلافاصله قلب در محلول کربس صفر درجه قرار داده شد و سپس سریعاً به دستگاه لانگن دورف متصل گردید. قلب توسط محلول کربس (ترکیبات بر اساس میلی مول در لیتر): $\text{NaCl}: 44/58$ ، $\text{CaCl}_2: 147/22$ ، $\text{KCl}: 74/55$ ، $\text{MgSO}_4: 246/47$ ، $\text{NaHCO}_3: 84/21$ ، $\text{KH}_2\text{PO}_4: 136/29$ ، $17/198$ ، گلوکز، $147/22$ ، $\text{pH} 7.4$: و درجه حرارت 37°C درجه سانتی‌گراد تغذیه گردید. و دوره آزمایش، محلول کربس توسط توسط گاز اکسیژن و دی اکسید کربن (با نسبت ۹۵٪ و ۵٪) حباب‌دهی می‌گردید.

فعالیت الکتریکی قلب (ECG) نیز از طریق اتصال دو الکتروده که به ترتیب به آپکس قلب و گوشک راست متصل شده بودند و توسط دستگاه الکتروفیزیولوژی پاور لب (ML110) آریتمی های قلبی از این طریق بررسی شدند. ابتدا قلب ایزوله جهت تثبیت به مدت ۳۰ دقیقه توسط محلول کربس پرفیوز شد و سپس ایسکمی عمومی (با قطع جریان کربس) به مدت ۳۰ دقیقه صورت پذیرفت. سپس قلب به مدت ۱۲۰ دقیقه پرفیوژن مجدد را تجربه نمودند. دو گروه آزمایشی شاهد و آزمون در نظر گرفته شد. قلب ها در گروه شاهد پس از تثبیت (۳۰) دقیقه، ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه پرفیوژن مجدد را تجربه نمودند. گروه آزمون مشابه گروه شاهد بود با این تفاوت که به میزان ۱۰ میکرومول در لیتر رزوراترول به محلول کربس افزوده شد.

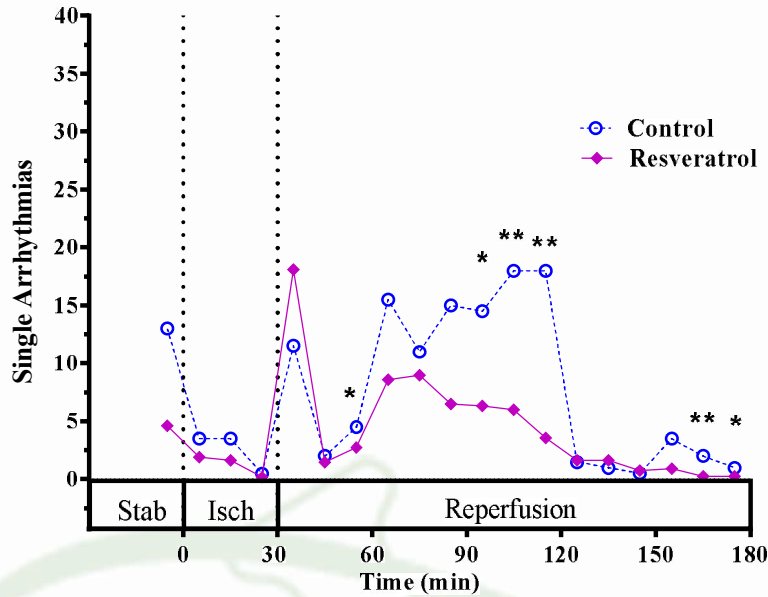


شکل ۱- شماتیکی از مراحل آزمایش بر قلب ایزوله

ارزیابی آماری کلیه داده‌ها و رسم نمودارها توسط نرم افزار گراف‌پد پریزم (Graphpad Software, Graphpad, V6 USA) صورت پذیرفت. تمامی داده ها بر اساس میانه و خطای معیار ($\text{median} \pm \text{SEM}$) بیان شد. گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (t-test non parametric) و آزمون تکمیلی من ویتنی ($\text{Mann-Whitney test of totalt}$) مقایسه شدند و $p < 0.05$ معنی دار تلقی شد.

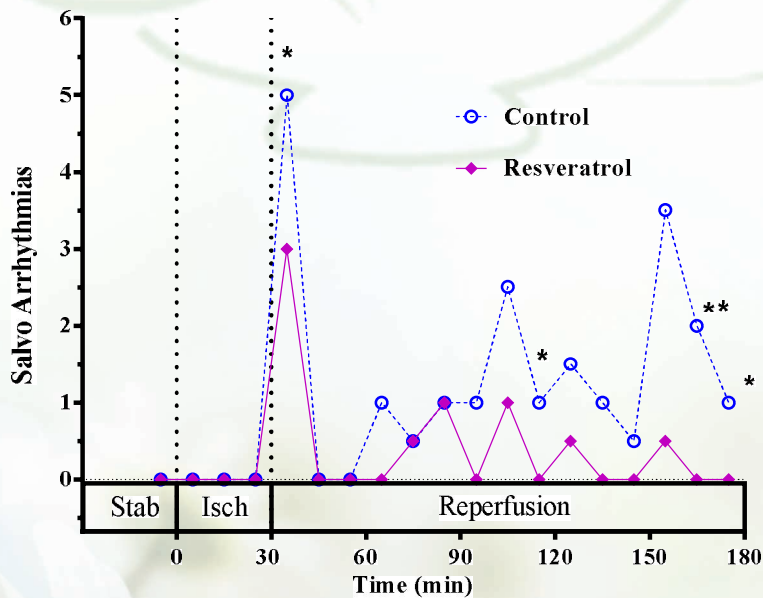
نتایج و بحث:

آریتمی منفرد در اوایل دوره ایسکمی و طی دوره پرفیوژن مجدد، در گروه شاهد به طور معنی داری $p < 0.05$ بیشتر از گروه درمان مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- آریتمی های منفرد در گروه های منفرد در گروه های مختلف آزمایش

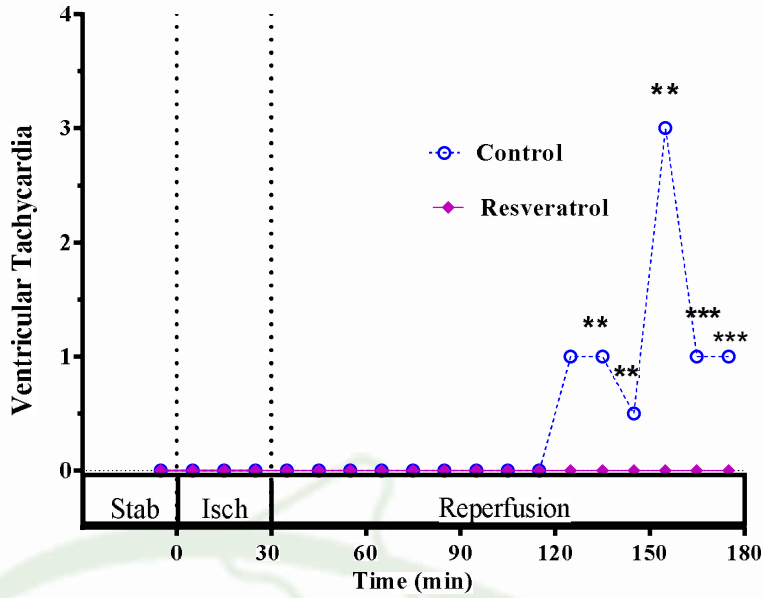
آریتمی های سالو نیز در گروه شاهد در مقایسه با گروه از مون افزایش معنی داری $p < 0.05$ را نشان داد (نمودار ۲).



نمودار ۲- آریتمی های salvo در گروه های مختلف آزمایش

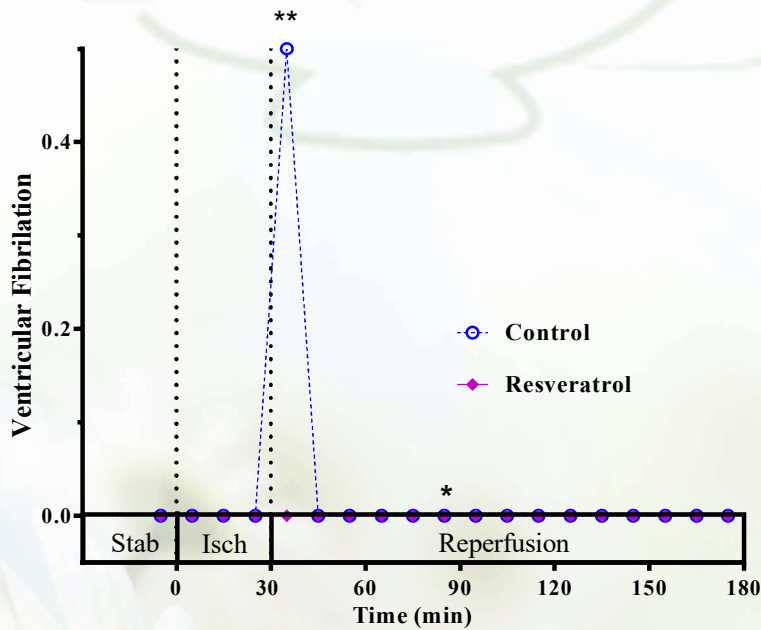
موارد تاکی کاردی بطنی در گروه شاهد در زمان آخر پرفوزیون مجدد بیشتر از گروه آزمون مشاهده شد و افزایش معنی داری

$p < 0.05$ را نشان داد (نمودار ۳).



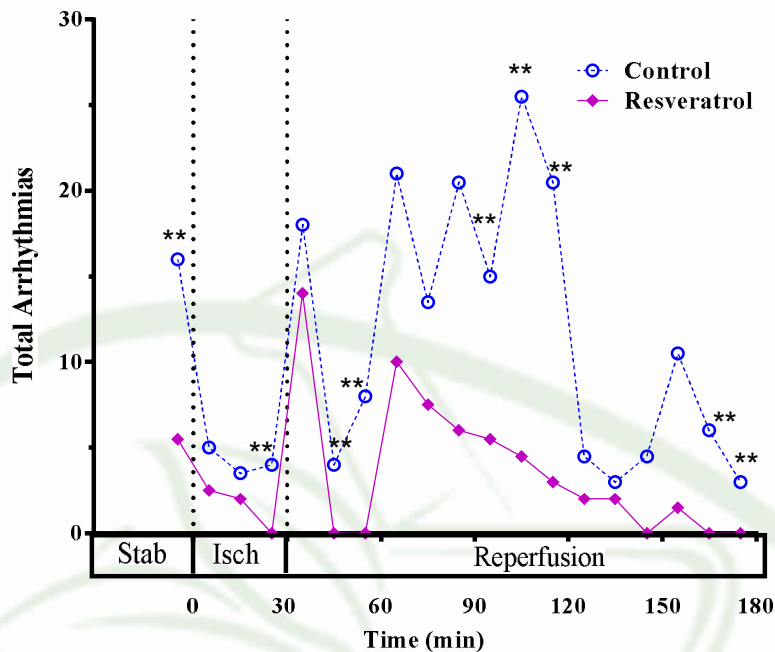
نمودار ۳- تاکی کاردی بطنی در گروه های منفرد در گروه های مختلف آزمایش

فیبریلاسیون بطنی در گروه شاهد در مقایسه با گروه آزمون الگوی مشابهی داشتند اما در زمان های اولیه پرفوزیون مجدد افزایش معنی داری $p < 0.05$ را در فیبریلاسیون بطنی مشاهده می شود (نمودار ۴).



نمودار ۴- فیبریلاسیون بطنی در گروه های منفرد در گروه های مختلف آزمایش

مجموع آریتمی های مختلف شامل منفرد، سالو، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی در نمودار ۵ آمده است. بر این اساس، گروه شاهد بیشترین تعداد آریتمی را در اوایل دوره ایسکمی و همچنین طی دوره پرفیوزیون مجدد نشان می داد که از نظر آماری در مقایسه با گروه آزمون افزایش معنی دار $p < 0.05$ را نشان داد. این در حالی است که گروه هایی که رزوراترول دریافت نموده بودند کاهش مجموع آریتمی مشاهده گردید (نمودار ۵).



نمودار ۵- مجموع آریتمی ها در گروه های منفرد در گروه های مختلف آزمایش

ایسکمی و پرفیوزیون مجدد در قلب ایزوله موش صحرایی موجب بروز آریتمی منفرد، سالو، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی گردید. باتوجه به اینکه رزوراترول جزو یک ترکیب انتی اکسیدانی قوی به حساب می آید و اثر حفاظتی آن روی بسیاری از اورگان های بدن از جمله قلب به اثبات رسیده است [2,9,10,11] افزودن رزوراترول به محلول کریس ورودی به عروق کرونر کاهش معنی داری را در بروز انواع آریتمی نشان داد.

قدردانی

سپاسگذاری از معانت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر پشتیبانی مالی از این پژوهش قدردانی می شود

مراجع:

- [1] Magyar K, Halmosi R, Palfi, A, Feher G, Czopf, L, Fulop, A, Battyany, I, Sumegi, B, Toth, K, Szabados, E. Cardioprotection by resveratrol: A human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. Clin Hemorheol Microcirc; 50: 179-87, 2012.

[2] Kirimlioglu, H, Ecevit A, Yilmaz S, et al. Effect of resveratrol and melatonin on oxidative stress enzymes, regeneration, and hepatocyte ultrastructure in rats subjected to 70% partial hepatectomy. *Transplant Proc* ; 40: 285-9, 2008.

[3] Baxter RA. Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *J Cosmet Dermatol*; 7: 2-7, 2008.

[4] Cui X, Jin Y, Hofseth AB, Pena E, Habiger J, Chumanevich A, et al. Resveratrol suppresses colitis and colon cancer associated with colitis. *Cancer Res*; 3(4):549, 2010.

[5] Smoliga JM, Baur JA, Hausenblas HA. Resveratrol and health—a comprehensive review of human clinical trials. *Mol Nutr Food Res*; 55 (8): 1129-41, 2011.

[6] Yao J, Wang J-Y, Liu L, Li Y-X, Xun A-Y, Zeng W-S, et al. Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. *Arch Med Res*; 41(4): 288-95, 2010.

[7] Martinez J and Moreno J J. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochemical Pharmacology*; 59 (7) : 865–870, 2000.

[8] Wood JG B, Rogina S, Lavu K., howitz, SL, Helfand M, Tatar D. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*; 430: 686–689, 2004.

[9] Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CWW, Fong HHS, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*; 275 : 218–220, 1997.

[10] Saito M, Satoh S, Kojima N, Tada H, Sato M, Suzuki T, Senoo H, Habuchi T. Effects of a phenolic compound, resveratrol, on the renal function and costimulatory adhesion molecule CD86 expression in rat kidneys with ischemia/reperfusion injury. *Arch Histol Cytol* ;68(1):41-9, 2005.

[11] Zhuang H1, Kim YS, Koehler RC, Doré S. Potential mechanism by which resveratrol, a red wine constituent, protects neurons. *Ann N Y Acad Sci*; 993: 276-86, 2003.

[12] Hung LM1, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res*; 47(3): 549-55, 2000.

[13] Doré S1. Unique properties of polyphenol stilbenes in the brain: more than direct antioxidant actions; gene/protein regulatory activity. *Neurosignals*;14(1-2):61-70, 2005.

[14] Juan SH1, Cheng TH, Lin HC, Chu YL, Lee WS. Mechanism of concentration-dependent induction of heme oxygenase-1 by resveratrol in human aortic smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol*;69(1): 41-8, 2005.

[15] Chen J1, Zhou Y, Mueller-Steiner S, Chen LF, Kwon H, Yi S, Mucke L, Gan L. SIRT1 protects against microglia-dependent amyloid-beta toxicity through inhibiting NF-kappaB signaling. *J Biol Chem*;280(48):40364-74,2005.

[16] Ray PS1, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Bertelli A, Das DK. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* ;27(1-2):160-9,1999.

[17] Bradamante S, Barenghi L, Piccinini F, Bertelli AA, De Jonge R, Beemster P, De Jong JW. Resveratrol provides late-phase cardioprotection by means of a nitric oxide- and adenosine-mediated mechanism, *Eur J Pharmacol*;465(1-2):115-23, 2003.

[18] Hung LM1, Chen JK, Lee RS, Liang HC, Su MJ. Beneficial effects of astringinin, a resveratrol analogue, on the ischemia and reperfusion damage in rat heart. *Free Radic Biol Med*; 30(8):877-83, 2001.