

# Antiarrhythmic Effect of the Ethanol Extract of Pomegranate Mesocarp on Isolated Heart Following Ischemia and Reperfusion

Kazerani H.R<sup>1</sup>.*PhD*, Rahimi K\*.*PhD*

\*Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

<sup>1</sup>Department of Physiology, The School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

## Abstract

**Aims:** Ischemic heart disease is the most prevalent cause of mortality in current populations. In recent years, many researchers have focused on plants to discover new natural therapeutic agents. The aim of this study was to evaluate the antiarrhythmic effect of the ethanolic extract of pomegranate mesocarp on rat isolated heart following myocardial ischemia and reperfusion.

**Materials & Methods:** The hearts from Wistar rats were removed under deep anesthesia and were studied using Langendorff apparatus. The control and the test animals, in groups of 10, were gavaged with distilled water or the ethanol extract of pomegranate juice (200 mg/kg), respectively, daily for 3 weeks. At the end of the experimental period, the isolated hearts of the animals were studied. After 30 min stabilization, all hearts experienced 30 min global ischemia followed by 90 min reperfusion. Cardiac arrhythmias including single, salvo, ventricular tachycardia (VT), and ventricular fibrillation (VF) were characterized according to the guidelines of Lambeth Convention.

**Findings:** The ethanolic extract of pomegranate mesocarp caused a remarkable significant reduction in all kinds of arrhythmias including single, salvo, ventricular tachycardia, and ventricular fibrillation.

**Conclusion:** The results of this research suggest promising protective effects for the ethanolic extract of pomegranate mesocarp against ischemia and reperfusion induced arrhythmias in isolated rat heart.

## Key words:

Punicaceae: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=Polyphenols>];

Myocardial Reperfusion Injury: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000889>];

Anti-Arrhythmia Agents: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=Myocardial+Reperfusion+Injury>];

Polyphenols: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=Punicaceae>];

---

\*Corresponding Author

Tel: 08733625743

Fax: 66156-85156

Address: Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

Received: 2018/ Des /26

Accepted: 2019/ Mar /16

ePublished: 2019/ May /16

# اثر آنتی آریتمیک عصاره اتانولی پیه انار متعاقب آسیب ایسکمی و پرفوزیون مجدد در قلب ایزوله

حمید رضا کازرانی PhD

گروه فیزیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

\* کاوه رحیمی PhD

مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

## چکیده

**اهداف:** شایع ترین علت مرگ و میر در جوامع امروزی بیماری ایسکمیک قلب است. در سال های اخیر، بسیاری از محققان بر روی گیاهان به منظور کشف عوامل درمانی طبیعی و جدید تمرکز کرده اند. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات آنتی آریتمیک عصاره اتانولی پیه انار بر قلب ایزوله رت متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد میوکارد بود.

**مواد و روش ها:** قلب رت های نژاد ویستار تحت بی هوشی عمیق خارج شد و توسط دستگاه لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. حیوانات در گروه های ده تایی شاهد و آزمون روزانه به مدت سه هفته توسط لوله معدی به ترتیب آب مقطر و یا عصاره اتانولی پیه انار (200 mg/kg) دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش، قلب ایزوله حیوانات مورد مطالعه قرار گرفت. پس از دوره تثبیت (30 دقیقه)، قلب ها 30 دقیقه ایسکمی عمومی و سپس 90 دقیقه پرفوزیون مجدد را تجربه نمودند. آریتمی های قلبی شامل ضربانات نایجای بطنی منفرد، دو یا سه انقباض نایجا و پشت سرهم، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی بر اساس قواعد Lambeth ثبت گردید.

**یافته ها:** عصاره اتانولی پیه انار موجب کاهش چشم گیر و معنی دار انواع آریتمی شامل آریتمی های منفرد، salvo، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی گردید.

**نتیجه گیری:** نتایج این پژوهش، اثرات حفاظتی امیدوار کننده ای برای عصاره اتانولی پیه انار در برابر آریتمی های ناشی از ایسکمی و پرفوزیون مجدد در قلب ایزوله رت پیشنهاد می نماید. **واژگان کلیدی:** پونیکاسه، ضایعه پرفوزیون مجدد میوکارد، عوامل آنتی آریتمیک، پلی فنول ها.

تاریخ دریافت: 1397/10/05

تاریخ پذیرش: 1397/12/25

\*نویسنده مسئول: kaveh\_rahimi66a@yahoo.com

اثر آنتی آریتمیک عصاره اتانولی پیه انار متعاقب آسیب ایسکمی و پرفوزیون

پرفوزیون مجدد ایجاد می شوند یکی از دلایل اصلی مرگ و میر ناشی از آسیب ایسکمی و پرفوزیون مجدد هستند<sup>[3]</sup>. چندین فاکتور از جمله رادیکال های آزاد اکسیژن، هموستاز پتاسیم<sup>[4]</sup>، اختلال در کلسیم<sup>[5]</sup>، تحرک گیرنده های آدرنرژیک<sup>[6]</sup> و افزایش آدنوزین مونوفسفات حلقوی<sup>[7]</sup> در ایجاد آریتمی در طی دوره پرفوزیون مجدد پس از آسیب ایسکمی نقش دارند. در حال حاضر داروهای زیادی با منشأ شیمیایی به منظور درمان آریتمی های قلبی متعاقب ایسکمی استفاده می شوند<sup>[3]</sup>، اما اثرات توکسیک این داروها و عوارض احتمالی آنها نگران کننده است<sup>[8]</sup>.

ترکیبات فنولی با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی منحصر به فرد خود می توانند در حفاظت از قلب در برابر آسیب ایسکمی و پرفوزیون مجدد نقش مهمی ایفا کنند. اثرات حفاظتی این ترکیبات در بیماری های قلبی - عروقی عموماً به تعدیل عملکرد اندوتلیوم عروق، خواص آنتی اکسیدان و ضد التهاب، القای تولید نیتریک اکساید و انبساط عروق، مهار بیش فعالی پلاکت ها، مهار پرولیفراسیون و آنژیوژنز نسبت داده شده است<sup>[9]</sup>. پوست میوه انار (*Punica granatum*) به دلیل حضور فنول های نظیر الاژیک تانن ها، اسید الاژیک و اسید گالیک دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی می باشد. بیشترین میزان ترکیبات فنولی میوه انار در قسمت پیه انار مشاهده شده به گونه ای که میزان آن در پیه و پوست این میوه چندین برابر بیشتر از آب انار برآورد شده است<sup>[10-12]</sup>. خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی برای عصاره پوست انار نسبت داده اند. بدین ترتیب که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده با متانول توسط روش بتاکاروتن لینولئات 83 درصد و روش خنثی نمودن ترکیب 1 و 11 فنیل پیکریل هیدرولاز 81 درصد گزارش شده است<sup>[11-13]</sup>.

آنتی اکسیدان ها موجب کاهش آریتمی های قلبی در دوره پرفوزیون مجدد می شوند<sup>[13]</sup>. در سال های اخیر آنتی اکسیدان های طبیعی موجود در سبزیجات و میوه ها جهت حفاظت از قلب در برابر آسیب ناشی از ایسکمی و پرفوزیون مجدد مورد توجه قرار گرفته اند<sup>[14,15]</sup>. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی آریتمیک عصاره پیه انار در برابر آسیب ایسکمی و پرفوزیون مجدد در رت بوده است.

## مواد و روش ها

### حیوانات مورد آزمایش

این مطالعه از نوع تحلیلی مداخله ای بود و بر روی رت های نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 250-200 گرم انجام شد. آب و غذا به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت و حیوانات تا زمان آزمایش در دمای 22±2 درجه سانتیگراد و دوره های تاریکی/روشنایی 12 ساعته نگهداری شدند. این پژوهش بر اساس قوانین و دستورالعمل کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد و بر این اساس اخلاق زیستی و حقوق حیوانات مورد مطالعه لحاظ گردید.

### عصاره گیری پیه انار

میوه انار رقم شیشه کپ فردوس از ناحیه خراسان جنوبی

دوره 25، شماره 2، بهار 1398

## مقدمه

آسیب پرفوزیون مجدد در طول از سرگیری جریان خون به ارگان به دنبال ایسکمی رخ می دهد و کاملاً مجزا از آسیب ایسکمی می باشد<sup>[1]</sup>. هنگامی که اکسیژن رسانی محدود شود بافت آسیب می بیند و بعد از یک دوره این آسیب غیر قابل برگشت می شود. میزان آسیب ایجاد شده در هر بافت به نوع بافت بستگی دارد. به عنوان مثال اگر تا چند ساعت به عضله اسکلتی اکسیژن نرسد، دچار آسیب نمی شود. این زمان در مورد ارگان های حیاتی مانند مغز در حد چند دقیقه و در مورد قلب تا 20 دقیقه می باشد<sup>[2]</sup>. آریتمی های قلبی که به دنبال ایسکمی در طول دوره

فصل نامه علمی پژوهشی افق دانش

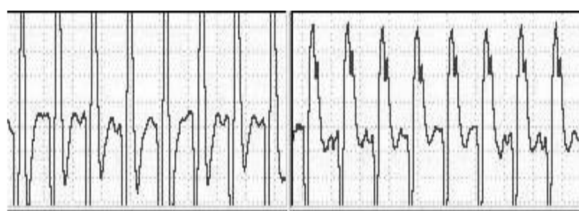
(ventricular fibrillation: VF) طبقه بندی می‌شوند.

### آنالیز آماری

بمنظور ارزیابی آماری و رسم نمودارها از نرم افزار آماری گرافپد پریزم (GraphPad Software, USA) استفاده شد. نتایج پژوهش توسط آزمون T مقایسه شد.

### یافته‌ها

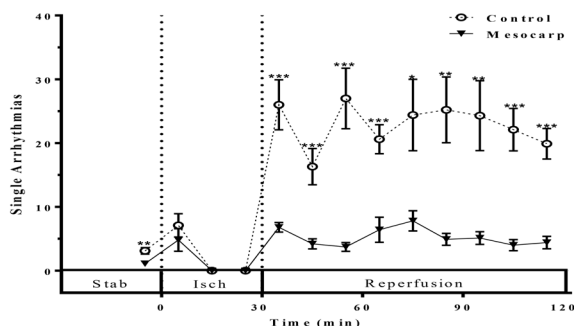
این پژوهش به بررسی اثر آنتی آریتمیک عصاره اتانولی پیه انار در دوره ایسکمی و پرفوزیون مجدد در قلب ایزوله رت پرداخت. عصاره اتانولی پیه انار طی مدت سه هفته به طور روزانه به موش‌های مورد مطالعه به صورت خوراکی تجویز شد و سپس اثر آن بر آریتمی در دوره ایسکمی و پرفوزیون مجدد قلب ایزوله رت مورد ارزیابی قرار گرفت. در تصویر شماره ۱ تصویر الکتروکاردیوگراف مربوط به قلب سالم و انفارکشن در میوکارد قلب نشان داده شده است.



شکل ۱) الکتروکاردیوگرام در قلب ایزوله سمت چپ الکتروکاردیوگرام مربوط به قلب سالم و سمت راست الکتروکاردیوگرام مربوط به انفارکشن در میوکارد قلب را نشان می‌دهد.

آریتمی‌های منفرد در اوایل دوره ایسکمی در هر دو گروه به میزان اندک ( $< 1$  آریتمی در دقیقه) مشاهده شدند (نمودار ۱). طی دوره ایسکمی تفاوت معنی داری بین گروه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد. طی دوره پرفوزیون مجدد آریتمی‌های منفرد بروز بسیار بیشتری در گروه شاهد داشتند ( $6/7-1/2$  در مقایسه با  $7/8-3/7$  آریتمی در دقیقه،  $p < 0/05$ ).

نمودار ۱) اثر عصاره اتانولی پیه انار بر آریتمی‌های منفرد متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد



طی ۳ هفته دوره آزمایش، رت‌های گروه آزمون عصاره اتانولی پیه انار و رت‌های شاهد دارو نما دریافت نمودند ( $n=10$ ). قلب ایزوله کلیه رت‌ها پس از تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی عمومی و سپس ۹۰ دقیقه پرفوزیون مجدد را تجربه نمودند. علامت ستاره بیانگر تفاوت معنی دار ( $p < 0/001$ ،  $***$ ؛  $p < 0/01$ ،  $**$ ؛  $p < 0/05$ ،  $*$ ) در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

آریتمی‌های slavo در اوایل دوره ایسکمی تنها در گروه شاهد مشاهده شد (نمودار ۲). بروز این آریتمی‌ها طی دوره پرفوزیون مجدد در گروه شاهد نسبتاً بالا بود ( $6/9-0/0$ ).

تهیه گردید و با آب مقطر شستشو داده شد. پس از جدا کردن پوست، پیه انار (بخش‌های سفید داخل پوسته میوه انار) جدا شد و خشک گردید. پیه خشک شده در اتانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در داخل دستگاه شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس عصاره به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره بدست آمده توسط دستگاه خشک کن انجمادی (Zirbus Vac 0.5) ساخت کشور آلمان خشک گردید و تا زمان انجام آزمایش به دور از رطوبت و در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد.

### گروه‌های آزمایشی

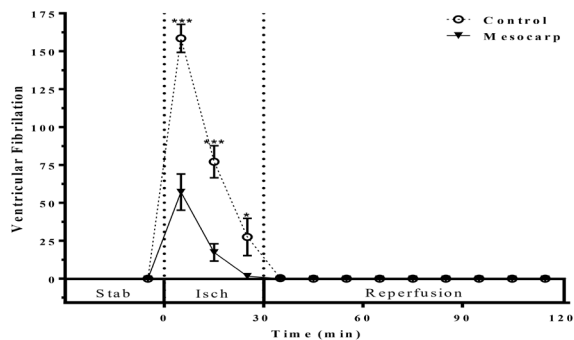
حیوانات مورد مطالعه به طور تصادفی در دو گروه شاهد و آزمون، هر گروه متشکل از ۱۰ رت توزیع شدند. به گروه آزمون به مدت زمان سه هفته روزانه  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره اتانولی پیه انار توسط گاواژ معدی خورانده شد. گروه شاهد حجم مشابهی از دارونما (آب مقطر) دریافت نمود. پس از اتمام دوره تیمار، قلب حیوانات مورد مطالعه تحت بی‌هوشی عمیق از قفسه سینه خارج شد و با استفاده از سیستم لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. پس از تثبیت قلب (۳۰ دقیقه)، با قطع جریان کربس به قلب به مدت ۳۰ دقیقه، ایسکمی عمومی ایجاد گردید. سپس با برقراری مجدد جریان کربس به مدت ۱۲۰ دقیقه، قلب‌های ایزوله پرفوزیون مجدد را تجربه نمودند. شایان ذکر است هیچ گزارشی در رابطه با اثرات قلبی عصاره پیه انار در دسترس نیست و دوز فوق بر اساس دوزهای به کار رفته در سایر مطالعات تخمین زده شد [14-15].

### پرفوزیون قلب ایزوله

رت‌ها توسط تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم ( $60 \text{ mg/kg}$ ، سیگما) بی‌هوش شدند. پس از تزریق هیپارین ( $500$  واحد بین المللی) به داخل ورید پشتی قزیب، قفسه سینه شکافته شد و قلب حیوان خارج گردید. قلب‌های جدا شده در محلول کربس صفر درجه قرار گرفته و بلافاصله ضمن اتصال به دستگاه لانگن دورف، توسط محلول کربس (بر حسب میلی مول در لیتر:  $\text{NaCl}$ : ۱۱۸؛  $\text{NaHCO}_3$ : ۲۵؛  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : ۲؛  $\text{KCl}$ : ۲؛  $\text{CaCl}_2$ : ۲۳؛  $\text{MgSO}_4$ : ۲؛  $\text{pH}$ : ۷/۴؛  $37^\circ\text{C}$ ) پرفیوز گردیدند. محلول کربس مورد استفاده حداقل ۲۰ دقیقه قبل از شروع و همچنین طی دوره آزمایش توسط گازهای اکسیژن و دی اکسید کربن (به ترتیب با نسبت‌های ۹۵ و ۵ درصد حجم) حباب دهی می‌شد [16].

طی مدت آزمایش، ثبت ECG توسط دو الکتروود که به گوشک راست و نوک قلب متصل بودند، توسط دستگاه الکتروفیزیولوژی پاولب (ML110، استرالیا) انجام می‌شد. ارزیابی موارد آریتمی بر اساس قواعد Lambeth که یکی از الگوهای استاندارد طبقه بندی و مطالعه آریتمی‌های قلبی به شمار می‌رود، صورت پذیرفت [16]. بر این اساس آریتمی‌های قلبی به چند دسته شامل ضربانات نابجای بطنی منفرد (single)، دو یا سه انقباض نابجا و پشت سرهم که اصطلاحاً Salvo نامیده می‌شود، تکیکاردی بطنی (ventricular tachycardia: VT) و فیبریلاسیون بطنی

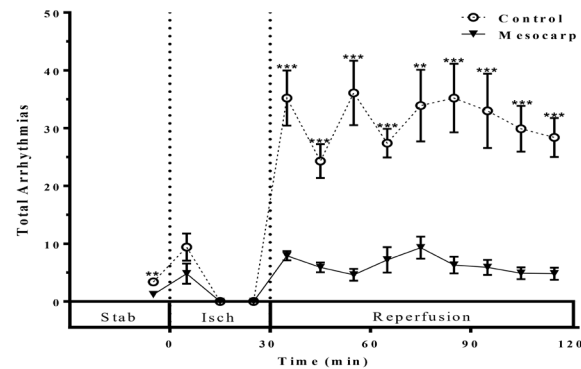
نمودار ۴) اثر عصاره اتانولی پیه انار بر بروز فیبریلاسیون بطنی متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد



طی ۳ هفته دوره آزمایش، رت‌های گروه آزمون عصاره اتانولی پیه انار و رت‌های شاهد دارونما دریافت نمودند (n=10). قلب ایزوله کلیه حیوانات پس از تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی عمومی و سپس ۹۰ دقیقه پرفوزیون مجدد را تجربه نمودند. علامت ستاره بیانگر تفاوت معنی دار (p < 0.05, p < 0.01) در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

مجموع آریتمی‌های مختلف، اعم از منفرد، salvo، تاکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی در نمودار شماره ۵ آمده است. بر این اساس، بروز انواع آریتمی طی دوره ایسکمی اندک بوده و تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نمی‌شود. با این حال، طی دوره پرفوزیون مجدد بروز انواع آریتمی در گروه شاهد رخدادی بین ۲/۴-۳/۶ بار در دقیقه داشته است که در مقایسه با گروه آزمون (کمتر از یک آریتمی در دقیقه) به طور معنی داری بیشتر بوده است (p < 0.01).

نمودار ۵) اثر عصاره اتانولی پیه انار بر مجموع آریتمی‌های بطنی متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد



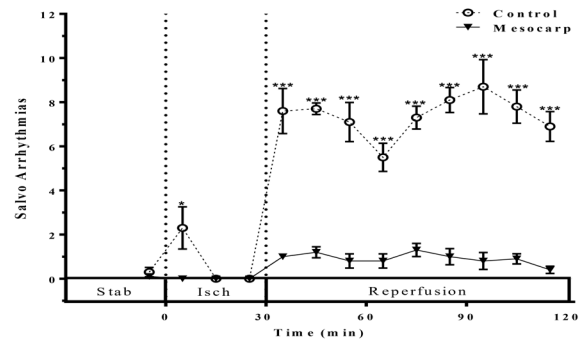
طی ۳ هفته دوره آزمایش به رت‌های گروه آزمون عصاره اتانولی پیه انار و به رت‌های گروه شاهد دارو نما گاوژ گردید (n=10). قلب ایزوله کلیه حیوانات تحت بی‌هوشی خارج شده و به روش لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. پس از ۳۰ دقیقه تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی عمومی و سپس ۹۰ دقیقه پرفوزیون مجدد اعمال گردید. علامت ستاره بیانگر تفاوت معنی دار (p < 0.05, p < 0.01) در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

### بحث

این مطالعه به بررسی تأثیر عصاره اتانولی پیه انار بر آریتمی قلبی در قلب ایزوله رت پرداخت. عصاره اتانولی پیه انار طی مدت سه هفته روزانه به داخل معده حیوانات گروه آزمون گاوژ گردید. پس از این دوره، قلب تمامی رت‌ها تحت بی‌هوشی از بدن حیوان خارج شده و به روش لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. یادآور می‌گردد، قلبها در هر دو گروه ۳۰ دقیقه ایسکمی عمومی و سپس ۹۰ دقیقه پرفوزیون مجدد را تجربه نمودند. پیش‌درمانی با عصاره دوره ۲۵، شماره ۲، بهار ۱۳۹۸

بار در دقیقه) در حالی که این آریتمی‌ها در گروه آزمون بروز بسیار کمتری داشتند (p < 0.01).

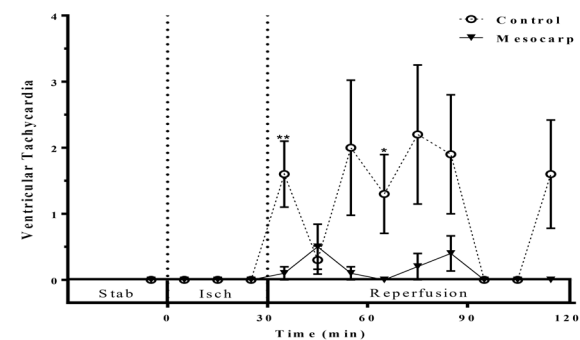
نمودار ۲) اثر عصاره اتانولی پیه انار بر آریتمی‌های salvo متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد



رت‌های گروه آزمون به مدت ۳ هفته به روش گاوژ داخل معدی عصاره اتانولی پیه انار دریافت نمودند (n=10). طی همین مدت رت‌های گروه شاهد به روش مشابه دارونما (آب مقطر) دریافت نمودند. قلب کلیه حیوانات مورد آزمایش تحت بی‌هوشی عمیق از قفسه سینه خارج شد و توسط دستگاه لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. قلب‌ها در هر دو گروه پس از دوره تثبیت (۳۰ دقیقه)، ایسکمی عمومی (۳۰ دقیقه) و پرفوزیون مجدد (۹۰ دقیقه) را تجربه کردند. علامت ستاره بیانگر تفاوت معنی دار (p < 0.05, p < 0.01) در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

تاکیکاردی بطنی (VT) در هیچ یک از دو گروه طی دوره ایسکمی مشاهده نشد (نمودار ۳). با اینحال مواردی از این نوع آریتمی طی دوره پرفوزیون مجدد به وقوع پیوست که در برخی زمان‌ها به طور معنی داری در گروه شاهد بیشتر از گروه آزمون بود (p < 0.05).

نمودار ۳) اثر عصاره اتانولی پیه انار بر تاکیکاردی بطن متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد



رت‌های گروه آزمون طی ۳ هفته دوره آزمایش روزانه توسط لوله معدی عصاره اتانولی پیه انار دریافت نمودند. رت‌های شاهد طی همین مدت به روشی مشابه، دارو نما دریافت کردند (در هر دو گروه: n=10). در پایان دوره، قلب ایزوله کلیه حیوانات توسط دستگاه لانگن دورف مورد مطالعه قرار گرفت. پس از ۳۰ دقیقه تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی عمومی و سپس ۹۰ دقیقه پرفوزیون مجدد اعمال گردید. علامت ستاره بیانگر تفاوت معنی دار (p < 0.05, p < 0.01) در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

فیبریلاسیون بطنی در هر دو گروه مورد مطالعه فقط طی دوره ایسکمی مشاهده گردید (نمودار ۴). بروز این نوع آریتمی در گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر از گروه آزمون بود (۳-۱۶) در مقایسه با ۰/۲-۶ مورد در دقیقه به ترتیب در گروه‌های شاهد و آزمون، (p < 0.01).

اتانولی پیه انار موجب کاهش بروز انواع آریتمی متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد در رت گردید.

سندروم‌های حاد کرونر و نارسایی قلبی ناشی از ایسکمی حاد میوکارد درصد بالایی از پذیرش‌های بیمارستانی و علل مرگ و میر را در کشورهای صنعتی و در حال توسعه شامل می‌شود. اگرچه درمان دارویی و جراحی سالیانه هزینه‌های گزافی را به خود اختصاص داده، اما هنوز میزان مرگ و میر، ناتوانی و عوارض ناشی از بیماری ایسکمی قلب به سطح قابل قبولی کاهش نیافته است [17]. بیماری ایسکمی قلب همواره با افزایش خطر بروز تاکی کاردی و فیبریلاسیون بدخیم بطنی و مرگ ناگهانی همراه است [18]. ارتباط رادیکال‌های آزاد با آسیب ایجاد شده در بسیاری از بیماری‌ها به خوبی نشان داده شده است. در بسیاری از بیماری‌ها تشکیل اکسیدان‌ها از منابع اندوژنوس به طور ثانویه موجب تشدید آسیب می‌شوند [19، 20]. صدمات ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو به دلایلی از جمله افزایش تولید رادیکال سوپر اکسید، دلوکالیزه شدن پروتئین‌های هم و متالوپروتئین‌ها و همچنین ایجاد نقص در سد آنتی اکسیدانی سلول نسبت داده شده است [21].

در بیماران مبتلا به نارسایی عروق کرونر، اگرچه برقراری مجدد جریان خون متعاقب ایسکمی برای نجات میوکارد لازم است اما خود پرفوزیون مجدد موجب آسیب میوکارد می‌شود. تغییرات عملکردی دوره پرفوزیون مجدد شامل دپرسیون انقباض، کاهش جریان کرونر و همچنین تغییر واکنش عروق است. پس از ایسکمی میوکارد میزان گونه‌های فعال اکسیژن افزایش پیدا میکند که نقشی کلیدی در آسیب دوره پرفوزیون مجدد ایفا می‌نمایند [22]. مطالعه روی قلب ایزوله نشان داده است که آسیب‌های دوره ایسکمی برگشت پذیر هستند، اما طی دوره پرفوزیون مجدد به علت افزایش تولید اکسیدان‌ها، آسیب‌ها برگشت ناپذیرند. بنابراین با اینکه برقراری مجدد جریان خون پس از ایسکمی برای برگشت به متابولیسم طبیعی لازم است، بازگشت اکسیژن به بافت قلب خود میتواند مضر باشد. آسیب دوره پرفوزیون مجدد به طول ایسکمی و شدت کاهش جریان کرونر بستگی دارد. چند دقیقه ایسکمی برای بروز آریتمی‌هایی نظیر تاکی کاردی و فیبریلاسیون بطنی در دوره پرفوزیون مجدد کافی است [23]. با این حال، اگر ایسکمی طولانی تر شود موجب اختلال در انقباض عضله و نارسایی عملکردی غیر قابل برگشت و در نهایت نکرور قلب می‌گردد [22]. در این رابطه آسیب به میتوکندری، آنزیم زانتین اکسیداز، اسید چرب غیر اشباع به واسطه P-450، اکسیداسیون کاتکول آمین و پراکسیداسیون هیدروژن از اهمیت ویژه ای برخوردار می‌باشند [24]. کاهش آنتی اکسیدان‌های اندوژنوس در طول دوره پرفوزیون مجدد مهمترین دلیل اختلالات ریتمیک بعد از آسیب ایسکمی قلب می‌باشد [25]. در واقع رادیکال‌های آزاد روی عملکرد کانال‌های یونی اثر می‌گذارند و موجب اختلالات الکتروفیزیولوژیک می‌شوند که در نهایت به آریتمی بطنی می‌انجامد [26].

در این مطالعه تجویز داخل معدی عصاره اتانولی پیه انار توانست بروز آریتمی‌های منفرد، salvo، تاکی کاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دهد. آنتی اکسیدان‌ها با تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی از ایجاد آسیب غیر قابل برگشت در دوره پرفوزیون مجدد جلوگیری می‌کنند [27]. در یک مطالعه که روی توت سیاه شیلی انجام شد، اثرات آنتی آریتمیک گیاه متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد میوکارد به خاصیت آنتی اکسیدانی آن نسبت داده شد [28]. همچنین نشان داده شده که عصاره گیاه جینکو (*Ginkgo biloba*) و ماده مؤثره آن (جینکولید) از بروز آریتمی‌های قلبی متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد قلبی جلوگیری می‌کند [29]. اثرات مشابهی نیز به ماده رزروآتول موجود در انگور قرمز و بربرین نسبت داده شده است [30، 31]. در یک مطالعه مشابه، موش‌ها قبل از ایجاد ایسکمی موضعی تحت پیش درمان با عصاره برگ زیتون، به مدت ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸ روز قرار گرفتند. در این تحقیق پیش درمان حیوانات برای بیش از ۷ روز و مخصوصاً برای ۲۸ روز، شدت و وقوع آریتمی‌ها را کاهش داد [32]. در مطالعه دیگری، ۱۰ روز پیش درمان با اسید الژیک (یک آنتی اکسیدان قوی موجود در انار) منجر به محافظت از قلب در برابر آریتمی ناشی از ایزوپروتونول در رت شده است [33]. در مطالعه قبلی ما مشخص شد پیش درمانی از طریق تجویز خوراکی پیه انار موجب بهبود عملکرد همودینامیک قلب و کاهش وسعت ناحیه انفارکت شده پس از ایسکمی و پرفوزیون مجدد میوکارد می‌شود [34]. مکانیسم‌های مختلفی از جمله تعدیل کانال‌های پتاسیمی و کلسیمی برای اثرات آنتی آریتمیک آنتی اکسیدان‌های گیاهی عنوان شده است [27، 35]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند آب انار حاوی مقادیر زیادی آنتی اکسیدان می‌باشد [36] اثرات حفاظتی آب انار بر ایسکمی در سایر ارگان‌ها از مغز و کلیه گزارش شده است. اثرات نوروپروتکتیو پلی فنل‌های موجود در آب انار موجب بهبود آسیب ایسکمی در مغز نوزادان موش صحرایی شده است [37]. همچنین پیش درمانی با آب انار موجب کاهش آسیب اکسیداتیو و تغییرات هیستوپاتولوژیک در ایسکمی و پرفوزیون مجدد در بافت کلیه شده است [38]. بنابراین نتایج بدست آمده ممکن است با اثر تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی آب انار مرتبط باشد.

### نتیجه گیری

در این مطالعه تجویز عصاره اتانولی پیه انار به صورت تجویز داخل معدی و به مدت سه هفته توانست موجب کاهش بروز آریتمی در قلب ایزوله رت متعاقب ایسکمی و پرفوزیون مجدد گردد. امید است با مطالعات کامل تر در این زمینه بتوان از ترکیبات طبیعی بمنظور کاهش آریتمی‌های قلبی بهره گرفت.

**تشکر و قدردانی:** بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد قدردانی می‌گردد (۳/۴۸۹۷۳).

**تاییدیه اخلاقی:** این پژوهش بر اساس قوانین و دستورالعمل کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد و بر این اساس اخلاق زیستی و حقوق حیوانات مورد مطالعه لحاظ گردید.



peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem. 2006;96(2):254-60.

11- Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J A & F chem. 2002;50(1):81-86.

12- Turgut SS, Işıkcı F, Soyer A. Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. Meat Sci. 2017;129(21):111-9.

13- Kopacz M, Karwatowska-Prokopczuk E, BereŹsewicz A. Reperfusion Arrhythmias and Purine Wash-out in Isolated Rat and Rabbit Heart. Effect of Allopurinol, Dimethylthiourea and Calcium Reduction. J Mol & Cell Cardio. 1993;25(7):859-74.

14- Kini AS, Lee P, Marmur JD, Agarwal A, Duffy ME, Kim MC, et al. Correlation of postpercutaneous coronary intervention creatine kinase-MB and troponin I elevation in predicting mid-term mortality. American Journal of Cardiology. 93(1):18-23.

15- S. L. Protecting the myocardial cell during coronary revascularization. The William W. L. Glenn Lecture. Circulation. 2006;4(114(1)):339-343.

16- Walker MJA, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RWF, Janse MJ, Yellon DM, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. 1988;15(4):447-55.

17- Williams RS, Benjamin IJ. Protective responses in the ischemic myocardium. JCI. 2000;106(7):813-8.

18- Wu ZK, Iivainen T, Pehkonen E, Laurikka J, Tarkka MR. Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization. Circulation. 2002;106(24):3091-6.

19- Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. Biochem J. 1984;222(1):1-15.

20- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., Eds., Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1989. 1-25.

21- Hassan HA, Abdel-Aziz AF. Evaluation of free radical-scavenging and anti-oxidant properties of black berry against fluoride toxicity in rats. Food & chem toxico. 2010;48(8-9):1999-2004.

22- Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. Cardio Res. 2006;70(2):181-90.

**تعارض منافع:** هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

**منبع مالی:** معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد حمایت مالی این پژوهش (پژوهه شماره ۳/۲۰۰۶۹) را بر عهده داشته است.

**سهم نویسندگان:** حمید رضا کازرانی (نویسنده اول) طراحی اولیه مطالعه/ایده/آنالیز آماری (۵۰٪) و کاوه رحیمی (نویسنده مسئول) انجام آزمایشات/نگارش مقاله (۵۰٪).

#### منابع

1- Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. Free Radic. Biol. Med. 1993;15(1):77-96.

2- Downey JM. Free radicals and their involvement during long-term myocardial ischemia and reperfusion. Annu Rev Physiol. 1990;52:487-504.

3- Wasmer K, Eckardt L. Management of atrial fibrillation around the world: a comparison of current ACCF/AHA/HRS, CCS, and ESC guidelines. 1368-74.

4- Tanaka K, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rabbit heart: Characterization of the influence of the duration of regional ischemia and the extracellular potassium concentration. J Mol Cell Cardiol. 1988;20(3):201-11.

5- Hearse DJ, Tosaki A. Free radicals and calcium: simultaneous interacting triggers as determinants of vulnerability to reperfusion-induced arrhythmias in the rat heart. J Mol Cell Cardiol. 1988;20(3):213-23.

6- Penny WJ, Culling W, Lewis MJ, Sheridan DJ. Antiarrhythmic and electrophysiological effects of alpha adrenoceptor blockade during myocardial ischaemia and reperfusion in isolated guinea-pig heart. J Mol Cell Cardiol. 1985;17(4):399-409.

7- Podzuweit T, Binz K-H, Nennstiel P, Flaig W. The anti-arrhythmic effects of myocardial ischaemia. Relation to reperfusion arrhythmias? 1989. 81-90.

8- Frommeyer G, Milberg P, Uphaus T, Kaiser D, Kaese S, Breithardt G, et al. Antiarrhythmic Effect of Ranolazine in Combination with Class III Drugs in an Experimental Whole-Heart Model of Atrial Fibrillation. Cardio Therapeu. 2007;31(6):63-71.

9- Vita JA. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. Am J Clin Nutr. 2005;81(1):292-297.

10- Li Y, Guo C, Yang J, Wei J, Xu J, Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate

- 34- Kaveh Rahimi HRK. Protective effect of the ethanol extract of pomegranate mesocarp on isolated rat heart following ischemia and reperfusion. *JMP*. 2018.
- 35- Teichert RW, Olivera BM. Natural products and ion channel pharmacology. *Future Med. Chem.* 2010;2(5):331-44.
- 36- Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5):1062-76.
- 37- Wešt T, Atzeva M, Holtzman DM. Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic ischemic injury. *Dev Neurosci.* 2007;29(8):363-72.
- 38- Sancaktutar, Ahmet A et al. The protective effects of pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Urology annals.* 2014;6(1):46-50.
- 23- Bernier M HD, Manning AS. Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals. Studies with "anti-free radical" interventions and a free radical-generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res.* 1986;58(3):331-40.
- 24- Bolli R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium"). *JACC.* 1988;12(1):239-49.
- 25- Ismail MK, Samera MY, Abid SK. Oxidative stress markers and antioxidant activity in patients admitted to Intensive Care Unit with acute myocardial infarction. *IJHC.* 2018;12(5):14-9.
- 26- Kiselyov K, Muallem S. ROS and intracellular ion channels. *Cell calcium.* 2016;60(2):108-14.
- 27- Wang S, Wang Z, Fan Q, Guo J, Galli G, Du G, et al. Ginkgolide K protects the heart against endoplasmic reticulum stress injury by activating the inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ /X box-binding protein-1 pathway. *Br. J. Pharmacol.* 2016;173(15):2402-18.
- 28- Céspedes, Carlos L, El-Hafidi, Mohammed Pavon, Natalia Alarcon, Julio. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. *Chemistry Food.* 2008;107(2):820-9.
- 29- Zhao X, Yao H, Yin HL, Zhu QL, Sun JL, Ma W, Shi YQ, Liang ZG, Li BX. Ginkgo biloba extract and ginkgolide antiarrhythmic potential by targeting hERG and ICa-L channel. *Journal of pharmacological science.* 2013;123(4):318-27.
- 30- Li BX, Yang BF, Zhou J, Xu CQ, Li YR. Inhibitory effects of berberine on IK1, IK, and HERG channels of cardiac myocytes. *APS.* 2001;22(2):125-31.
- 31- Zhao XY, Li GY, Liu Y, Chai LM, Chen JX, Zhang Y, et al. Resveratrol protects against arsenic trioxide-induced cardiotoxicity in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol.* 2008;154(1):105-13.
- 32- Ma Y, Wang Y, Gao Y, Fu Y, Li J. Total flavonoids from Ganshanbian (*Herba Hyperici Attenuati*) effect the expression of CaL-alpha1C and K(ATP)-Kir6.1 mRNA of the myocardial cell membrane in myocardial ischemia-reperfusion arrhythmia rats. *JTCM=chang I tsa chih ying wen pan.* 2014;34(3):357-61.
- 33- Mohan M, Patankar P, Ghadi P, Kasture S. Cardioprotective potential of *Punica granatum* extract in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *JPP.* 2010;1(1):32-7.