

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

دکتر داریوش شکیبایی*

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۰/۷

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

چکیده

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 شده رت انجام شد.

مقدمه:

این مطالعه 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.

روش‌ها:

بالاترین غلظت هوموسیستئین به کار رفته (۰/۵ میلی مول 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 (5955 ± 566) نسبت به گروه کنترل (10818 ± 765) به شکل معنی‌داری کاهش نشان داد.

یافته‌ها:

یافته‌های پژوهش حاضر، نشان دهنده تشدید آسیب قلبی به دنبال ایسکمی در گروهی از رت‌هاست 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.

نتیجه گیری:

هوموسیستئین، قلب جدا شده رت، آسیب به دنبال ایسکمی

واژگان کلیدی:

- تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول‌ها: ۱
تعداد نمودارها: ۱
تعداد منابع: ۱۷

دکتر داریوش شکیبایی، گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

آدرس نویسنده مسئول:

E-mail: dshakibaei@kums.ac.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 (۴-۳) در دراز مدت به عنوان یک عامل خطرزای منجر به بروز مشکلات زیادی، از جمله بیماری‌های عروق کرونری، نارسایی قلب و سکته قلبی می‌گردد (۴-۵). 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 نوبه خود با اختلال تعادل کلسیم داخل سلولی می‌باشد (۴). در برخی مطالعات نشان داده شده است که هیپرهوموسیستئینمیا موجب اختلال عملکرد سیستمیک قلب که موجب افزایش استرس اکسیداتیو در سطح میوکاردی می‌شود؛ معتقدند که این روند می‌تواند در اختلال عملکرد قلب نقش داشته باشد (۶). 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 می‌یابد (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 (۹-۱۰) 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 (۴) 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 مطالعه تجربی با استفاده از رت‌های نر بالغ از نژاد ویستار (wistar) و در محدوده وزنی ۳۰۰-۳۵۰ گرم صورت گرفت. شرایط نگهداری و کار با حیوانات مطابق با استانداردهای مربوط بوده است. ابتدا همه حیوانات با استفاده از تجویز داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شده،

ضرب نوسانات فشاری بطن چپ در تعداد ضربانات در دقیقه است نیز محاسبه گردید (۱۴). 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 میلی لیتر بر دقیقه به ازای هر گرم از وزن قلب مشخص و گزارش شد. مراحل آزمایش بدین ترتیب بود که در گروه کنترل (n=۱۱) قلبها ابتدا دوره تثبیت اولیه و ثبت اطلاعات پایه را به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه گذرانده، سپس وارد مرحله دوم یعنی دوره ایسکمی شدند و به مدت ۴۰ دقیقه در این مرحله باقی می ماند. در این مرحله تغذیه (Perfusion) قلبی متوقف و قلب در یک محفظه محتوی کربس با حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد غوطه ور می شد. بدین ترتیب قلب در این دوره تحت ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global and Normothermic) قرار می گرفت (۱۴). در مرحله سوم، تغذیه قلبی دوباره با مشخصات دوره قبل صورت گرفت و 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.

همچنین در گروه دوم (n=۱۱) مراحل آزمایش مانند گروه اول انجام شد، با این تفاوت که به مدت ۳۰ دقیقه قبل از دوره ایسکمی و همچنین ۵ دقیقه ابتدای مرحله تغذیه مجدد (Reperfusion)، هوموسیستئین به میزان ۰/۵ میلی مول در لیتر به محلول کربس افزوده شد (گروه ۳۰-۰/۵).

سپس مورد عمل جراحی برش قفسه سینه و جدا سازی قلب قرار گرفتند. بلافاصله پس از جداسازی، قلبها در محلول کربس سرد (۴-۰ درجه سانتی گراد) 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 ۲۵، NaHCO₃ برابر ۴/۸، KCl معادل ۱/۲، CaCl₂ به مقدار ۱/۲، Glucose برابر ۱/۲ و KH₂P₀₄ معادل ۱۱ میلی مول در لیتر تغذیه (Perfusion) شدند (۱۴). محلول فوق از کاغذ صافی واتمن شماره Cat No 1002 125 عبور داده شده، پس از مخلوط شدن با گاز اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد)، با PH=۷/۴، حرارت ۳۷ درجه و فشار ثابت ۹۰ سانتی متر 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 گونه ای تنظیم شد که فشار پایان دیاستولی ۱۰-۵ میلی متر جیوه تأمین گردد. بدین ترتیب امکان سنجش معیارهای مختلف عملکردی قلب از جمله فشار بطن چپ (LVP) و میزان نوسانات آن، (Developed Left DLVP (Ventricular Pressure)) که برابر است با فشار سیستولیک بطنی منهای فشار دیاستولیک آن بر حسب میلی متر 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

در گروه سوم نیز ($n=5$) مراحل مشابه انجام شد، با این تفاوت که هموسیستئین به میزان ۰/۱ میلی مول در لیتر و به مدت ۶۰ دقیقه قبل از ایسکمی و نیز ۵ دقیقه اول تغذیه مجدد (Reperfusion) به محلول زمینه‌ای کربس اضافه گردید (گروه ۶۰-۰/۱).

در گروه چهارم ($n=5$) هم با طی مراحل مشابه از میزان ۰/۰۵ میلی مول هموسیستئین در لیتر برای مدت ۶۰ دقیقه قبل از ایسکمی و ۵ دقیقه اول تغذیه مجدد (Reperfusion) استفاده شد (گروه ۶۰-۰/۰۵).

بکارگیری مقادیر مذکور که در سایر مطالعات نیز مورد استفاده قرار گرفت (۴) و همچنین بکارگیری زمان‌های متفاوت، امکان بررسی تأثیر هموسیستئین 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 \pm خطای معیار گزارش شده‌اند. $p < 0/05$ 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 ($BPM \times mmHg$) ۲۰۰۰ (ضربان در دقیقه \times 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 هموسیستئین را دریافت نموده اند اما، همان گونه که ملاحظه می‌گردد 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 ۳۰-۰/۰۵) می‌باشد. در این گروه مقدار CF پس از دریافت هموسیستئین و قبل از شروع ایسکمی ($14 \pm 0/46$ میلی لیتر به ازای هر گرم وزن قلب) در مقایسه با مقدار پایه در این گروه ($12/41 \pm 0/42$ میلی لیتر به ازای هر گرم وزن قلب) و همچنین در مقایسه با CF گروه کنترل در همین مرحله ($12/22 \pm 0/63$ میلی لیتر به ازای هر گرم وزن قلب) به شکل معنی‌داری (به ترتیب آزمون مقایسه زوج‌ها $p=0/002$ و آزمون تی مستقل $p=0/035$) 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 ۴۵ دقیقه آورده شده است. همان گونه که ملاحظه می‌گردد، در همه 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 \times میلی متر جیوه فشار بطنی) گروه کنترل در این مرحله به 1081 ± 765 ، یعنی به حدود $48/6$ درصد مقدار پایه

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 گروه های تست، نسبت به مقادیر پایه در هر گروه با استفاده از آزمون مقایسه زوج ها مورد آنالیز قرار گرفته است. همچنین میزان **RPP** بین گروه های مختلف در هر یک از دوره های پایه، قبل از ایسکمی و تغذیه مجدد با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفته است.

مقادیر پایه				قبل از ایسکمی و پس از دریافت هموسیستئین در گروه های آزمایش				بعد از ۴۵ دقیقه تغذیه مجدد (Reperfusion)				
RPP (mmHg × BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	HR (BPM)	LVP (mmHg)	RPP (mmHg × BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	HR (BPM)	LVP (mmHg)	RPP (mmHg × BPM)	CF/HW (ml/min/gr)	HR (BPM)	LVP (mmHg)	
۱۰۸۱۸	۶/۶۱	۲۲۷	۴۷/۷۲	۲۲۹۲۴	۱۲/۲۲	۲۷۰/۰۹	۸۵	۲۲۲۵۰	۱۲/۱۷	۲۶۷/۳۶	۸۳/۲۷	کنترل n=۱۱
±۷۶۵	±۰/۵۹	±۸/۸۷	±۳/۰۶	±۱۶۰۱	±۰/۶۳	±۹/۰۶	±۵/۷۵	±۱۶۸۷	±۰/۵۹	±۸/۰۶	±۶/۰۸	
۸۲۸۹	۷/۵۲	۲۲۵/۷۹	۳۶/۵۹	۲۱۵۲۹	۱۴±۰/۴۶	۲۵۳/۷	۸۵/۱۸	۲۳۲۵۳	۱۲/۴۱	۲۵۵/۳۷	۹۱/۴۵	هوموسیستئین ۰/۵-۳۰ n=۱۱
±۱۰۱۲	±۰/۳۲	±۱۰/۳۸	±۴/۰۶	±۱۱۹۷	*	±۸/۵۹	±۴/۱۱	±۱۵۱۶	±۰/۴۲	±۹/۲۲	±۵/۵۲	
۵۹۵۵	۶/۰۶	۱۸۹/۲	۳۳/۴	۲۰۹۹۸	۱۱/۶۸	۲۳۶/۶	۹۱/۲	۲۳۱۰۹	۱۱/۰۶	۲۲۶/۲	۱۰۳	هوموسیستئین ۰/۱-۶۰ n=۵
±۵۶۶	±۰/۱۱	±۱۶/۳	±۵/۸۷	±۱۲۰۰	±۰/۴۷	±۱۴/۸۴	±۱۰/۱	±۱۸۳۷	±۰/۴	±۵/۶۵	±۹/۹۵	**
۱۱۴۳۲	۸/۰۸	۲۲۹/۴	۴۸/۴	۲۱۱۳۰	۱۳/۴۳	۲۵۴/۸	۸۳/۶	۲۱۵۴۸	۱۲/۱۱	۲۴۶/۶	۸۷/۶	هوموسیستئین ۰/۵-۶۰ n=۵
±۲۰۵۵	±۰/۸۵	±۱۴/۳۴	±۶/۴۳	±۱۳۲۵	±۰/۲۸	±۱۶/۲۶	±۴/۹۸	±۱۸۴۳	±۰/۳۱	±۱۱/۲	±۶/۵۷	

*: مقایسه با پایه همان گروه $P < 0/05$

** : مقایسه با کنترل همان دوره $P < 0/05$

گروه کنترل (10818 ± 765) به شکل معنی داری کاهش یافته است ($P < 0/05$). این نکته نشان دهنده شدت بیشتر آسیب قلبی در این گروه می باشد. در مجموع نتایج بیانگر آسیب قلبی به دنبال ایسکمی در گروه های مختلف بوده که شدت این آسیب در گروه تست دوم به شکل معنی داری تشدید یافته است.

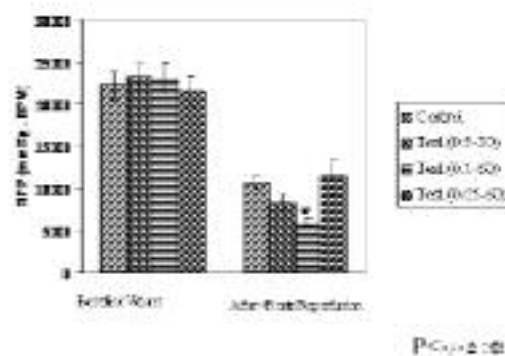
بحث

مهم ترین یافته مطالعه حاضر، نشان دادن تشدید آسیب قلبی به دنبال ایسکمی در گروه دریافت کننده

(22250 ± 1687) تنزل یافته و مقدار **CF** نیز با $54/3$ درصد کاهش از مقدار پایه $12/17 \pm 0/59$ به $6/61 \pm 0/59$ رسیده است. تغییرات واضح **CF** و **RPP** در این مرحله نشان دهنده آسیب قلبی متعاقب 40 دقیقه ایسکمی و 45 دقیقه تغذیه مجدد (**Reperfusion**) می باشد. در عین حال تفاوت معنی داری در میزان **CF** گروه های مختلف نسبت به گروه کنترل در این مرحله دیده نمی شود. اما همان گونه که در نمودار شماره یک ملاحظه می گردد، در این مرحله با استفاده از آزمون واریانس مشخص گردید که در گروه تست دوم ($60-0/1$) میزان **RPP**

منجر به اختلال عملکرد و آسیب اندوتلیالی می گردد (۳-۴)؛ 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 هموسیستئین در گروه تست اول منجر به افزایش معنی دار 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 معنی داری 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 هموسیستئین 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 (۳-۴) و همچنین در مطالعه حاضر نیز واکنش عروقی ناشی از هموسیستئین 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 به دنبال 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



هموسیستئین (۶۰-۱/۰) می باشد که کاهش معنی دار 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 ۴۰ دقیقه ایسکمی و ۴۵ دقیقه تغذیه مجدد، بیانگر این نکته است. در سایر مطالعات مشخص شده است که سطوح غیر طبیعی هموسیستئین منجر به عوارض متعددی از جمله آترواسکلروز، ترمبوز وریدی و مشکلات متعدد قلبی-عروقی در ارگان‌ها می‌گردد (۲). همچنین معتقدند که هموسیستئین در این حالت تأثیرات توکسیک بر آندوتلیوم عروق دارد که ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید به دنبال 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)،

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 می‌شود 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.

هیپرهوموسیستئینمیا موجب افزایش استرس اکسیداتیو در سطح میوکاردی می‌شود؛ معتقدند که این روند در اختلال عملکرد قلبی نقش دارد (۶). همچنین مشخص شده است که در شرایط ایسکمی و اسیدوز ناشی از آن، به دلیل کاهش فعالیت آنزیم *Cystathionine Beta-synthase*، هوموسیستئین تجمع می‌یابد (۷). از سوی دیگر، تشدید آسیب حاصل از ایسکمی در حضور هیپرهوموسیستئینمیا در بافت‌های مغزی (۸) و گوارشی (۳) 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 می‌شود که غلظت کم‌تری را در زمان بیشتر دریافت نموده است. در این گروه هر چند واکنش‌های عروقی قلبی دیده نمی‌شود اما آسیب قلبی واضحی به چشم

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 cysteinylolation 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*

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. Electrophysiological 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.

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

Background:**Abstract**

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 Krebs'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 Krebs'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 \times left ventricular pressure) as a functional cardiac parameter in test group II (5955 \pm 566 beat per minute \times mmHg) significantly decreased in comparison to control group (10818 \pm 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