مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دوازدهم، شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۶۴۰ ـ ۶۳۳ (اسفند ۱۳۸۹)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر اکسی‌توسین بر استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی ـ پرفیوژن مجدد میوکارد در موش صحرایی

دکتر فریبا هوشمند[۱]، دکتر مهدیه فقیهی[۲]، دکتر صالح زاهدی اصل[۳]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۳) پژوهشکده‌ی علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده‌ی پزشکی، گروه فیزیولوژی، کدپستی: ۸۸۱۳۸۳۳۴۳۵، دکتر فریبا هوشمند؛
e-mail: hoshmandf@sina.tums.ac.ir

چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو نتیجه‌ی عدم تعادل بین تولید پیش‌سازهای اکسیدانی و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های قلبی ـ عروقی بر عهده دارند. در پژوهش حاضر این پرسش که آیا اکسی‌توسین (OT) می‌تواند استرس اکسیداتیو ناشی از انفارکتوس قلبی را در موش‌های صحرایی کاهش دهد، بررسی شد. مواد و روش‌ها: ایسکمی میوکارد با بستن شریان کرونر نزولی قدامی چپ به مدت ۲۵ دقیقه و پرفیوژن مجدد به مدت ۱۲۰ دقیقه ایجاد شد. اکسی‌توسین در دوزهای ۰/۰۰۰۱–۱ میکروگرم ۳۰ دقیقه قبل از ایسکمی به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. برای اندازه‌گیری میزان پلاسمایی شاخص استرس اکسیداتیو مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، در انتهای پرفیوژن مجدد یک نمونه‌ی خون تهیه شد. یافته‌ها: بین دوز اکسی‌توسین و سطح MDA پلاسما یک رابطه‌ی وابسته به دوز مشاهده شد. اکسی‌توسین ۰/۰۱ میکروگرم به طور معنی‌داری میزان MDA را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. بلوک گیرنده‌های OT به وسیله‌ی آتوسیبان موجب از بین رفتن اثر آن در کاهش استرس اکسیداتیو گردید. میزان MDA در گروه‌های L-NAME و آتروپین نسبت به گروه OT افزایش یافته و به سطح گروه کنترل رسید. در گروه آنانتین میزان MDA مانند گروه OT و به طور معنی‌داری کمتر از کنترل بود. نتیجه‌گیری: اکسی‌توسین در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی ـ پرفیوژن مجدد مفید بوده و در ایجاد این اثر اکسید نیتریک و استیل کولین نقش دارند. یافته‌های این پژوهش پیشنهاد می‌کند که شاید بتوان از اکسی‌توسین برای حفاظت بافت در مقابل استرس اکسیداتیو استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اکسی‌توسین، ایسکمی– پرفیوژن مجدد، استرس اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدئید
دریافت مقاله: ۸۹/۳/۴ ـ دریافت اصلاحیه: ۸۹/۷/۲۴ ـ پذیرش مقاله: ۸۹/۷/۲۶

مقدمه

بیماری‌های قلبی ـ عروقی به‌ویژه ایسکمی قلبی به علت تنگی عروق کرونر، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قلبی است. بر اساس یافته‌های بررسی‌های اخیر ترکیبات اکسیژن‌دار فعال مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2) و پراکسی نیتریت (ONOO) به عنوان عوامل خطر جدید مطرح شده‌اند.[۱] برقراری دوباره‌ی جریان خون در یک بافت، بعد از ایسکمی گرچه یک روش درمانی است اما سبب آسیب بافتی بیشتری می‌گردد و شدت این آسیب به مدت زمان ایسکمی و حساسیت بافت بستگی دارد. در حالی‌که آسیب ایسکمی به دلیل فقدان انرژی مورد نیاز برای برقراری هموستاز است، آسیب پرفیوژن مجدد به طور اصولی از تولید رادیکال‌های اکسیژن ناشی می‌شود. در طی پرفیوژن مجدد، هیپوگزانتین که در مرحله‌ی ایسکمی تجمع یافته بود، در اثر آنزیم گزانتین اکسیداز به گزانتین متابولیزه می‌شود و در این فرایند

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

رادیکال‌های سوپراکسیداز تولید و به هیدروژن پراکسید (H2O2)، یا رادیکال‌های هیدروکسیل(OH) تبدیل می‌شوند.[۲]

آسیب اکسیداتیو وقتی به وجود می‌آید که دفاع آنتی اکسیدانی متشکل از گلوتاتیون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هم شکسته شود.[۳] به دلیل پتانسیل زیاد گونه‌های فعال اکسیژن[i] (ROS) در آسیب به سیستم‌های حیاتی، دخالت آسیب اکسیداتیو را در بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت، سرطان، آلزایمر، پارکینسون و هم‌چنین بیماری‌های قلبی ـ عروقی مهم می‌شمارند.[۴] لیپیدها به آسیب اکسیداتیو بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون لیپیدی یکی از اثرات قابل توجه استرس اکسیداتیو می‌باشد.[۵] به دنبال پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده که به طور اساسی در غشاهای سلولی و لیپوپروتئین‌ها قرار دارند، اسیدهای چرب ناپایدار هیدروپراکسیداز ممکن است به کربونیل‌ها از جمله مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که پایداری بیشتری دارند، و یکی از شاخص‌های مورد استفاده در پژوهش پراکسیداسیون لیپید در انسان و حیوان است تبدیل شوند.[۴]

پدیده‌ی پیش شرط سازی (PC)[ii] یکی از موثرترین روش‌های کاهش آسیب‌های ایسکمی ـ پرفیوژن مجدد است که درسال ۱۹۸۶ توسط ماری وهمکاران معرفی گردید.[۶] پیش شرط سازی می‌تواند با محدود کردن اندازه‌ی انفارکتوس، بهبود عملکرد قلب بعد از ایسکمی و کاهش شیوع آریتمی، آسیب میوکارد ناشی از ایسکمی پرفیوژن مجدد را کاهش دهد.[۷] در بافت‌های مورد درمان با PC، کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها، کاهش تولید سیتوکین‌ها، کاهش مرگ سلولی و کاهش استرس اکسیداتیو ثابت شده است.[۸] علاوه بر ایسکمی استفاده از عوامل دیگری مانند عوامل فارماکولوژیک، ورزش و هورمون‌ها نیز در ایجاد پیش شرط سازی مطرح شده‌اند.[۹]

هورمون نوروهیپوفیزی اکسی‌توسین (OT) دارای طیف وسیعی از اعمال فیزیولوژیک است که از راه سیستم اکسیتوسینرژیک محیطی و مرکزی ایجاد می‌شود.[۱۰،۱۱] در دهه‌ی گذشته دیدگاه جدیدی در مورد اثرات این هورمون در کنار فعالیت‌های کلاسیک اکسی‌توسین در انقباض رحم و خروج شیر به وجود آمده و به نقش اکسی‌توسین بر عملکرد سیستم قلبی ـ عروقی توجه خاصی شده است.[۱۲،۱۳] اکسی‌توسین در قلب نیز سنتز می‌شود و گیرنده‌های آن (OT/OTR) که متعلق به خانواده G- پروتئین‌ها است روی سلول‌های قلب وجود دارند.[۱۴] تولید موضعی اکسی‌توسین در تنظیم عمل قلب و بسترهای عروقی اهمیت داشته و به‌عنوان یک واسطه‌ی مهم کنترل عروقی مطرح است.[۱۴] هم‌چنین حضور سیستم OT/OTR در حفره‌های قلبی حاکی از نقش اتو/پاراکرین این پپتید است.[۱۵] اکسی‌توسین دارای یک اثر اینوتروپ ـ کرونوتروپ منفی روی قلب است.[۱۶] این هورمون باعث تحریک رهایی ANP[iii] از کاردیومیوسیت‌ها می‌شود و این احتمال وجود دارد که اثر اینوتروپ منفی به دلیل عمل ANP رها شده ناشی از اکسی‌توسین باشد. علاوه بر این، تحریک سنتز اکسید نیتریک توسط اکسی‌توسین می‌تواند گوانیل سیکلاز محلول در کاردیومیوسیت‌ها را تحریک و موجب پیشبرد اثر اینوتروپ منفی گردد.[۱۶]

گزارش شده که اکسی‌توسین دارای گیرنده روی رشته‌های اعصاب کولینرژیک پس گانگلیونی در قلب است و به احتمال زیاد از راه اتصال با گیرنده‌ی خود روی این نورون‌ها اثرات اینوتروپ و کرونوتروپ منفی را اعمال می‌کند.[۹]

در پژوهش قبلی این آزمایشگاه نشان داده شد که تزریق اکسی‌توسین قبل از ایجاد ایسکمی- پرفیوژن مجدد شدت آسیب‌های غیر قابل برگشت میوکارد را کاهش داد. این اثر حفاظتی اکسی‌توسین از راه سازوکار یا سازوکارهایی که مستلزم فعال شدن گیرنده‌های اختصاصی اکسی‌توسین هستند، صورت پذیرفت. هم‌چنین مشاهده شد اکسی‌توسین به صورت وابسته به دوز قادر به تقلید از روند پیش شرط سازی است و این اثر حفاظتی اکسی‌توسین به طور عمده در دوز ۰/۰۱ میکروگرم مشاهده شد که با عدم تغییرات میانگین فشار شریانی و ضربان قلب همراه بود.[۱۷]

با توجه به اثرات اکسی‌توسین در تحریک رهایی ANP، استیل کولین (Ach) و اکسید نیتریک (NO) در این پژوهش نقش آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین در کاهش آسیب میوکارد ناشی از ایسکمی- پرفیوژن مجدد (I/R) در موش‌های صحرایی نر و نیز نقش ANP، Ach و NO در ایجاد این پاسخ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۸۰ سر موش صحرایی سفید نر از نژاد Sprague-Dawley در محدوده‌ی وزنی ۳۲۰-۲۸۰ گرم

i - Reactive Oxygen Peptide
ii - Preconditioning
iii - Atrial Natriuretic Peptide

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

استفاده گردید. این حیوانات در شرایط استاندارد از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و حرارت (۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. همه‌ی گروه‌ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و در صورت نیاز هر ۹۰-۶۰ دقیقه نصف دوز مجدد تزریق می‌شد. سپس حیوان در وضعیت خوابیده به پشت روی تخت جراحی ثابت می‌شد. درجه‌ی حرارت بدن با استفاده از لامپ در حد ۱±۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد حفظ شد. تمام حیوانات قبل از شروع آزمایشات ۱۰۰ واحد بر کیلوگرم هپارین دریافت کردند. برای انجام تراکئوتومی و کانول گذاری نای، با ایجاد برشی طولی در خط وسط پوست ناحیه‌ی گردن و کنار زدن عضلات گردن، شریان کاروتید مشخص می‌شد. با جدا کردن شریان از عصب واگ، با استفاده از کاتتر (آنژیوکت زرد) هپارینه (۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر) شریان کاروتید برای تهیه نمونه‌ی خون و ثبت فشارخون، کانوله شده و به ترانسدیوسر فشاری دستگاه PowerLab[i] متصل گردید.

پس از کانول گذاری نای، حیوان به دستگاه ونتیلاتور[ii] وصل شد. ونتیلاتور با مخلوطی از هوای اتاق و اکسیژن، تعداد تنفس ۷۰-۶۰ بار در دقیقه و حجم ۱/۲ میلی‌لیتر به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن تنظیم شده و در مدت انجام کار نیز میزان اشباع خون شریانی با استفاده از دستگاه پالس اکسیمتر[iii] مانیتور می‌گردید و با برقراری فشار مثبت ۵-۳ سانتی‌متر آب از بروز آتلکتازی جلوگیری شد. در مدت انجام آزمایش برای ثبت لید II الکتروکاردیوگرام الکترودهای زیر پوستی به سیستم ثبت داده[iv] متصل شدند. برای انجام توراکوتومی چپ، برشی در سمت چپ قفسه سینه به موازات استرنوم و به طور تقریبی با فاصله‌ی ۳ میلی‌متر از آن ایجاد گردید و با شکستن دنده‌ی چهارم، قلب در معرض دید قرار گرفت. در این مرحله به آرامی پرده پریکارد را از قلب جدا کرده و نخ سیلک ۰-۶ به دقت از زیر شریان کرونر نزولی قدامی چپ (LAD) عبور داده شد. دو انتهای نخ سیلک از داخل لوله‌ی پلاستیکی کوچک متصل به یک تنظیم‌کننده عبور داده شد. سپس با بالا بردن تنظیم‌کننده ایجاد کشش روی شریان کرونر LAD ایسکمی موضعی ایجاد می‌شد و با پایین‌آوردن تنظیم‌کننده و شل کردن نخ، کشش از روی شریان برداشته شده و پرفیوژن مجدد برقرار می‌گردید. پس از پایان مرحله‌ی جراحی و قبل از شروع آزمایش‌ها، اجازه داده شد تا حیوان به شرایط پایدار از نظر فشارخون و ضربان قلب برسد. در این پژوهش تمام حیوانات مورد ۲۵ دقیقه ایسکمی و به دنبال آن ۱۲۰ دقیقه پرفیوژن مجدد قرار گرفتند. بستن شریان کرونری LAD و القا ایسکمی منجر به افت فشار خون شریانی و تغییرات نوار قلب (پهن شدن موج QRS، بلند شدن قطعه S-T) گردید. پس از فرآیند جراحی حیوانات به طور تصادفی در یکی از ۱۰ گروه زیر قرار گرفتند.

در گروه کنترل (I/R)، حیوانات در معرض ۲۵ دقیقه ایسکمی و به دنبال آن ۱۲۰ دقیقه پرفیوژن مجدد قرار گرفتند.

در گروه‌های ۶-۲، ۳۰ دقیقه قبل از القای ایسکمی ۲۵ دقیقه‌ای، اکسی‌توسین در ۵ دوز مختلف (۰/۰۰۰۱-۱ میکروگرم) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به منظور بررسی نقش رسپتور اکسی‌توسین در گروه ۷، آتوسیبان که یک آنتاگونیست اکسی‌توسین است، با دوز ۶-۱۰ مولار، ده دقیقه قبل از تزریق اکسی‌توسین با دوز موثر (دوز ۰/۰۱ میکروگرم) به‌طور داخل صفاقی تزریق شد.[۱۸] در گروه‌های ۱۰-۸، ده دقیقه قبل از دوز ۰/۰۱ میکروگرم اکسی‌توسین، L-NAME، آتروپین و آنانتین با دوزهای 10^{-6} مولار به‌طور داخل صفاقی تزریق شدند.[۱۶،۱۹]

در پایان ۱۲۰ دقیقه پرفیوژن مجدد یک نمونه خون (۱ میلی‌لیتر) از شریان کاروتید به منظور اندازه‌گیری شاخص استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد گرفته شد و پس از سانتریفوژ (به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد) جدا گردید و تا زمان تحلیل، نمونه‌های پلاسما در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در پلاسما با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (Satoh, 1978) که بر اساس واکنش با تیوباربیتوریک اسید است، اندازه‌گیری شد.

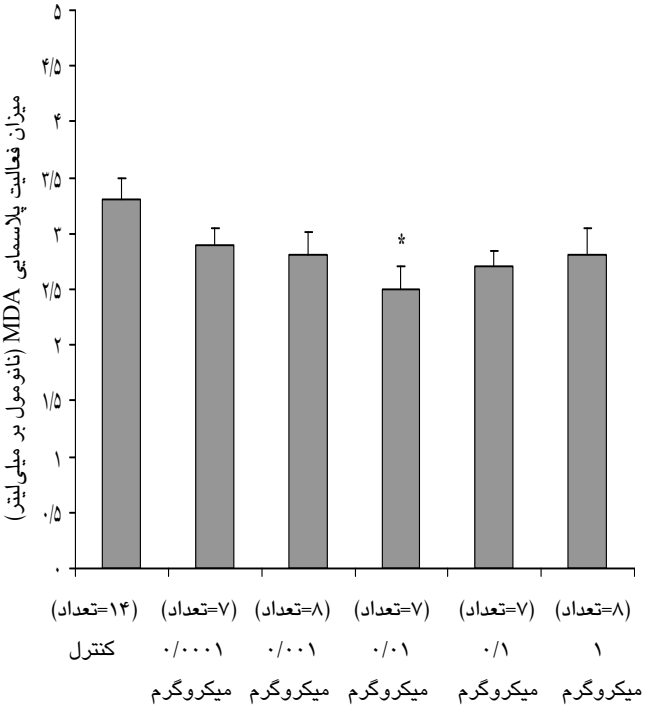
تمام داده‌های این پژوهش به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند. برای ارزیابی تفاوت بین گروهی میزان MDA پلاسما از روش آنالیز واریانس یکطرفه (آنووا)، آزمون Dunnett استفاده گردید. در تمام آزمون‌ها $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

i - MLT844,ADInstruments, Australia
ii - Model 683, Harvard Apparatus, USA
iii - Oxypen, Envitec Co.,Germany
iv - Power Lab data acquisition system, 4 channel, ADInstruments, Australia

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

یافته‌ها

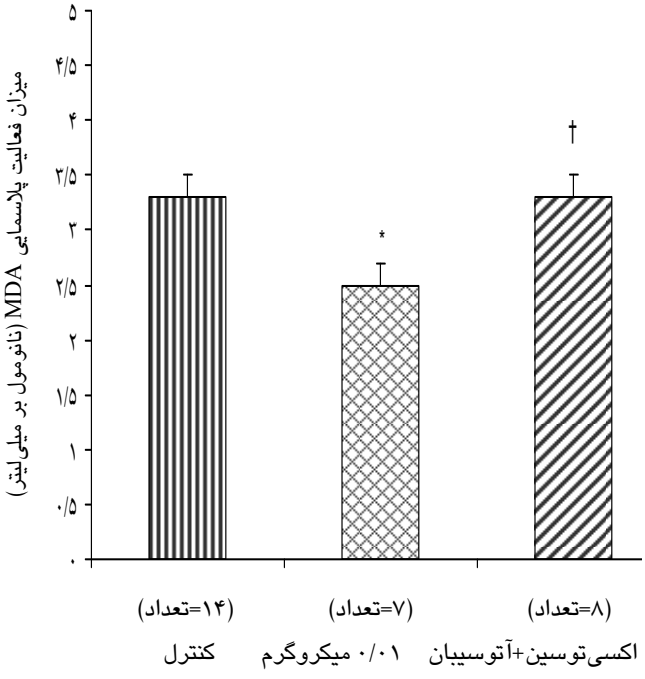
تزریق اکسی‌توسین مانع افزایش شاخص لیپید پراکسیداسیون MDA نسبت به گروه کنترل گردید. نمودار ۱، غلظت MDA پلاسما را در مطالعه‌ی دوز ـ پاسخ اکسی‌توسین نشان می‌دهد. در گروه‌های اکسی‌توسین غلظت MDA به‌صورت وابسته به دوز و "U" شکل در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش در دوز ۰/۰۱ میکروگرم اکسی‌توسین با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱- مطالعه دوز- پاسخ اکسی‌توسین بر سطح پلاسمایی مالونیل دی‌آلدئید MDA در موش‌های صحرایی در معرض آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. * اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل ایسکمی-پرفیوژن مجدد را نشان می‌دهد.

همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود تزریق اکسی‌توسین با دوز کمینه‌ی ۰/۰۰۰۱ میکروگرم تغییری بر میزان MDA ایجاد نکرد، ولی با افزایش دوز اکسی‌توسین میزان شاخص MDA در مقایسه با گروه کنترل، ایسکمی- پرفیوژن مجدد (I/R) کاهش یافت، به طوری که در دوز ۰/۰۱ میکروگرم این کاهش در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود. ولی با افزایش بیشتر دوز میزان MDA دوبار افزایش یافته و به سطح گروه کنترل رسید.

در پژوهش کنونی، وابسته به گیرنده بودن اثر اکسی‌توسین، استفاده از آتوسیبان ۶-۱۰ مولار قبل از اکسی‌توسین در گروه ۰/۰۱ میکروگرم (اکسی‌توسین+ آتوسیبان) سبب افزایش معنی‌دار MDA (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه اکسی‌توسین گردید و آتوسیبان با حذف اثر OT سبب افزایش مجدد لیپید پراکسیداسیون مانند گروه کنترل شد (نمودار ۲).

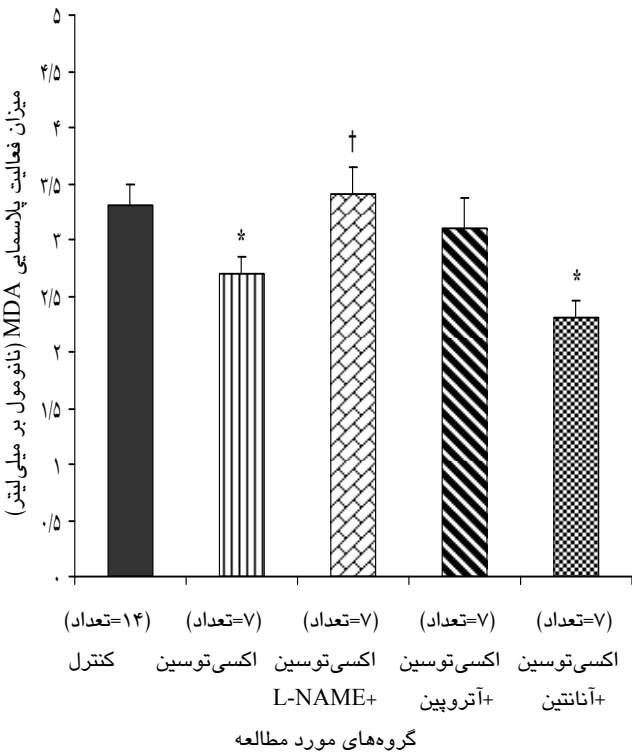


نمودار ۲- اثر آتوسیبان بر سطح پلاسمایی مالونیل دی‌آلدئید (MDA) در موش‌های صحرایی در معرض آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. *اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل ایسکمی-پرفیوژن مجدد را نشان می‌دهد. †اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه ۰/۰۱ میکروگرم اکسی‌توسین را نشان می‌دهد.

در بررسی سازوکارهای ایجادکننده‌ی پاسخ آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین، تزریق L-NAME، پیش از اکسی‌توسین سبب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) شاخص MDA در مقایسه با گروه اکسی‌توسین ۰/۰۱ میکروگرم تا حد گروه کنترل گردید (نمودار ۳). تزریق آتروپین قبل از اکسی‌توسین ۰/۰۱ میکروگرم موجب شد میزان MDA به سطح گروه کنترل باز گردد هر چند این افزایش در مقایسه با گروه اکسی‌توسین معنی‌دار نبود (نمودار ۳). تزریق آنانتین قبل از تزریق اکسی‌توسین سبب مهار اثر آنتی‌اکسیدانی

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

اکسی‌توسین نگردید و افزایشی در میزان شاخص MDA در مقایسه با گروه اکسی‌توسین ایجاد نشد و در این گروه در مقایسه با گروه کنترل سطح MDA کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان داد (نمودار ۳).



نمودار۳- اثر L-NAME، آتروپین و آنانتین بر سطح پلاسمایی مالونیل دی‌آلدئید (MDA) در موش‌های صحرایی در معرض آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. * اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل ایسکمی-پرفیوژن مجدد را نشان می‌دهد.† اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه اکسی‌توسین (۰/۰۱ میکروگرم) را نشان می‌دهد.

بحث

استرس اکسیداتیو در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن به علت افزایش فعالیت اکسیدازها و یا کاهش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها ایجاد می‌شود. در این پژوهش نشان داده شد که تزریق اکسی‌توسین قبل از ایسکمی-پرفیوژن مجدد می‌تواند میوکارد را در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از پرفیوژن مجدد محافظت کند.

در اثر آسیب ناشی از ایسکمی- پرفیوژن مجدد، میزان MDA افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده‌ی استرس اکسیداتیو است.[۲۰] مالونیل‌دی‌آلدئید که به عنوان مارکری برای آسیب استرس‌اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد یکی از محصولات به دست آمده از پراکسیداسیون لیپیدها توسط ROS است.[۵]

در پژوهش ایسر و همکاران، تجویز اکسی‌توسین سبب کاهش سطح MDA بافتی افزایش یافته در مدل کولیت ناشی از استیک اسید شد. این اثر نشان می‌دهد که اکسی‌توسین با کاهش لیپید پراکسیداسیون، یکپارچگی سلولی را حفظ می‌کند. اکسی‌توسین از راه اعمال ضد التهابی و جلوگیری از بروز آسیب ناشی از ROS به‌عنوان یک عامل بهبود دهنده‌ی التهاب کولون عمل می‌کند.[۲۱] هم‌چنین تزریق اکسی‌توسین قبل از برقراری ایسکمی و تکرار آن قبل از پرفیوژن مجدد مانع افزایش سطح MDA بافتی در اثر آسیب ایسکمی ـ پرفیوژن مجدد کبد می‌گردد.[۲۲] تاتپ و همکاران نیز نشان دادند که تجویز اکسی‌توسین باعث کاهش پاسخ افزایشی MDA در اثر ایسکمی ـ پرفیوژن مجدد کلیه می‌شود.[۲۳] در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که اکسی‌توسین دارای اثرات حفاظتی در برابر آسیب اکسیداتیو قلب می‌باشد، این نتیجه دلالت بر اثر اکسی‌توسین در کاهش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن است.

علاوه بر نقش اکسی‌توسین روی عامل اکسیداتیو MDA، در مورد اثر این هورمون روی تغییرات میزان گلوتاتیون (GSH) در بافت‌های ایسکمیک پاسخ‌های متفاوتی گزارش شده است. تجویز OT قبل از ایسکمی کولون و کلیه باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در این دو بافت گردیده، در صورتی‌که در میزان GSH کبد ایسکمیک به دنبال تزریق اکسی‌توسین تغییری در مقایسه با گروه I/R ایجاد نشد. در مورد اثر OT بر فعالیت دیگر عوامل سیستم آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز وابسته به مس و روی (CuZn- SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) نیز پژوهشی انجام نشده است.

گزارش شده اکسی‌توسین از راه مهار تراوش نوتروفیلی سطح MPO بافتی را کاهش می‌دهد. MPO بافتی به عنوان شاخصی از تراوش نوتروفیلی نقش اساسی در تولید اکسیدان به وسیله‌ی نوتروفیل‌ها دارد.[۲۲] نوتروفیل‌های فعال با تولید و رهایی متابولیت‌های گونه‌های فعال اکسیژن و پروتئین‌های سیتوتوکسیک به مایع خارج سلولی موجب ایجاد آسیب بافتی می‌شوند. ایسر و همکاران معتقدند اکسی‌توسین از راه یک سازوکار وابسته به نوتروفیل سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و اصلاح آسیب اکسیداتیو در بافت کولون می‌شود.[۲۴] هم‌چنین یافته‌های پژوهش داسنسیل

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

نشان داد اثرات حفاظتی اکسی‌توسین در برابر آسیب اکسیداتیو کبدی به واسطه‌ی اثر مهاری این نوروپپتید بر مهاجرت نوتروفیل‌ها و بلوک رهایی سیتوکین‌های پیش التهابی است.[۲۲]

نقش اکسی‌توسین در مهار لیپید پراکسیداسیون ممکن است از علل کاهش اندازه‌ی انفارکتوس در اثر آسیب قلبی ناشی از ایسکمی- پرفیوژن مجدد باشد. اکسی‌توسین آنزیم‌های قلبی لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز را نیز کاهش می‌دهد.[۱۷] ماهیت آنتی ـ اکسیدانی و ضد التهابی اکسی‌توسین در مدل‌های مختلف ایجاد التهاب از جمله کولیت، سپسیس و پیلونفریت نیز مشاهده شده است.[۲۱،۲۴،۲۵]

به منظور تعیین نقش گیرنده‌ی اختصاصی اکسی‌توسین در کاهش لیپید پراکسیداسیون، گیرنده‌های OT با تزریق آتوسیبان مهار شد. نمودار ۲ نشان داد که با تزریق آتوسیبان اثر آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین از بین رفته و سطح پلاسمایی MDA به سطح گروه کنترل بازگشت. این یافته نشان می‌دهد که اثر حفاظتی اکسی‌توسین در برابر استرس اکسیداتیو از راه گیرنده‌های اختصاصی آن انجام می‌شود.

برای بررسی نقش اکسید نیتریک (NO) در ایجاد اثرات آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین، سنتز NO توسط L-NAME مهار شد. یافته‌ها نشان داد که استفاده از L-NAME سبب حذف اثرات آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین شده و میزان پلاسمایی شاخص MDA در مقایسه با گروه OT به طور معنی‌داری افزایش یافته و به سطح گروه کنترل باز می‌گردد.

اکسید نیتریک به وسیله‌ی همه انواع سلول‌های قلبی تولید شده و در برابر ایسکمی- پرفیوژن مجدد قلبی اثرات حفاظتی دارد. در شرایط فیزیولوژیک، NO تون وازودیلاتوری کرونر را حفظ می‌کند، تجمع پلاکتی را مهار و مانع چسبندگی نوتروفیل‌ها و پلاکت‌ها به اندوتلیوم عروقی می‌شود.[۲۶] یکی از اثرات سودمند NO جمع‌آوری (scavenging) رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. NO با اثر بر ساب‌یونیت غشایی NADPH اکسیداز تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (-O2) از نوتروفیل‌ها را کاهش می‌دهد. به‌علاوه اکسید نیتریک، آنزیم هم‌اکسیژناز، آنتی‌اکسیدان داخل سلول‌های اندوتلیال را فعال کرده و حفاظت اضافه‌ای را ایجاد می‌کند.[۲۷] هم‌چنین افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به غیر فعال کردن NO و افزایش تنگی عروقی می‌شود.[۲۸] در پژوهش حاضر ممکن است تزریق اکسی‌توسین قبل از ایجاد ایسکمی- پرفیوژن مجدد، منجر به افزایش سطح فعالیت NO شده و سپس با مهار تجمع و چسبندگی نوتروفیل‌ها سبب اثرات آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده گردد.

در بررسی نقش استیل کولین در ایجاد اثرات حفاظتی اکسی‌توسین مشاهده شد تزریق آتروپین، آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین، با حذف اثر حفاظتی اکسی‌توسین سبب افزایش شاخص بیوشیمیایی مورد سنجش شد. بنابراین استیل کولین در ایجاد اثر حفاظتی اکسی‌توسین در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی- پرفیوژن مجدد میوکارد نقش دارد.

در قلب سیستم اعصاب داخلی (intrinsic) وجود دارد که در تنظیم فعالیت قلب شرکت می‌کند.[۲۹] گیرنده‌های اکسی‌توسین در قلب علاوه بر رشته‌های اعصاب پس گانگلیونی کولینرژیک، روی نورون‌های کولینرژیک داخلی نیز قرار دارند و فعالیت این گیرنده‌ها سبب رهایی استیل کولین می‌گردد.[۱۶،۳۰] اتصال اکسی‌توسین به گیرنده‌های روی فیبرهای پس‌گانگلیونی پاراسمپاتیکی قلب باعث اثرات اینوتروپ و کرونوتروپ منفی روی قلب می‌شود.[۱۶] استیل کولین عامل فارماکولوژیک قوی است که با تقلید از ایسکمی پیش شرط سازی (IPC) قادر است قلب را در طی یک دوره ایسکمی طولانی‌مدت در برابر انفارکتوس مقاوم سازد.[۳۱] استیل کولین هم‌چنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از هیپوکسی را مهار می‌کند و آتروپین این اثر مهاری را از بین می‌برد.[۳۲] هم‌چنین در پژوهش یانگ، تزریق استیل کولین باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (SOD) و کاهش لیپید پراکسیداسیون (MDA) میوکارد گردید.[۳۳]

در این پژوهش نیز با تزریق آتروپین میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA افزایش یافت و به حد گروه کنترل رسید. اگرچه این افزایش در مقایسه با گروه اکسی‌توسین معنی‌دار نبود، این احتمال وجود دارد که استیل کولین رها شده از میوسیت‌ها عامل کاهش استرس اکسیداتیو مشاهده شده با اکسی‌توسین ۰/۰۱ میکروگرم باشد.

در مورد نقش فاکتور ناتریورتیک دهلیزی (ANP) در ایجاد اثرات حفاظتی اکسی‌توسین، بلوک گیرنده‌ی ANP با استفاده ازآنانتین، قبل از تزریق اکسی‌توسین سبب مهار اثر آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین نگردید و افزایشی در میزان شاخص MDA در مقایسه با گروه اکسی‌توسین ایجاد نشد. بنابراین به احتمال زیاد ANP در ایجاد اثرات حفاظتی اکسی‌توسین در برابر آسیب استرس اکسیداتیو نقشی ندارد.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

به علاوه مشخص شده که اثر ANP روی سیستم ایمنی با عمل ماکروفاژها ارتباط دارد.[۲۶] فاکتور ناتریورتیک دهلیزی فعالیت NF-kB را کاهش می‌دهد و سبب سرکوب تمام سیتوکین‌ها از جمله TNF-α می‌شود. علاوه بر اثر حفاظتی ANP در برابر آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد در قلب، کبد وکلیه، هم‌چنین ANP هپاتوسیت‌ها را در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از آزاد شدن ROS از سلول‌های کوپفر فعال شده، محافظت می‌کند.[۳۴،۳۵] هم‌چنین اکسی‌توسین با اثر بر گیرنده‌هایش روی میوسیت‌های قلبی، سبب افزایش سطح پلاسمایی فاکتور ناتریورتیک دهلیزی (ANP) می‌شود.[۳۶] فاکتور ناتریورتیک دهلیزی یکی از عوامل اثر اینوتروپ و کرونوتروپ منفی ناشی از اکسی‌توسین است. بنابراین ممکن است که افزایش ANP به واسطه‌ی اثر اکسی‌توسین در ایجاد اثرات آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین نقش داشته باشد. اما یافته‌های به‌دست آمده نشان‌دهنده‌ی عدم تاثیر ANP در بروز پاسخ آنتی‌اکسیدانی اکسی‌توسین است.

بر اساس یافته‌های این پژوهش اکسی‌توسین در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی – پرفیوژن مجدد مفید بوده و در ایجاد این اثر اکسید نیتریک و استیل کولین نقش دارند. یافته‌های این پژوهش پیشنهاد می‌کند که شاید بتوان از اکسی‌توسین برای حفاظت بافت در مقابل استرس اکسیداتیو استفاده کرد.

سپاسگزاری: هزینه‌ی انجام این پژوهش از راه دانشگاه علوم پزشکی تهران تأمین شده است. از همکاری همه افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. Circulation 2003; 108: 1912-6.
2. Rhee JE, Jung SE, Shin SD, Suh GJ, Noh DY, Youn YK, et al. The effects of antioxidants and nitric oxide modulators on hepatic ischemic-reperfusion injury in rats. J Korean Med Sci 2002; 17: 502-6.
3. Poirier B, Lannaud-Bournoville M, Conti M, Bazin R, Michel O, Bariety J, et al. Oxidative stress occurs in absence of hyperglycaemia and inflammation in the onset of kidney lesions in normotensive obese rats. Nephrol Dial Transplant 2000; 15: 467-76.
4. Katalinic V, Modun D, Music I, Boban M. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determineed by 2,2-'azinobis (3-ethylbenzot-hiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2005; 140: 47-52.
5. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chem Phys Lipids 1987; 45: 337-51.
6. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Precond-itioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986; 74: 1124-36.
7. Buyukates M, Kalaycioglu S, Oz E, Soncul H. Effects of ischemic preconditioning in human heart. J Card Surg 2005; 20: 241-5.
8. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/r-eperfusion injury: emerging concepts. Eur J Vasc Endovasc Surg 2005; 29: 106-15.
9. Domenech RJ. Preconditioning: a new concept about the benefit of exercise. Circulation 2006; 113: e1-3.
10. Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. Physiol Rev 2001; 81: 629-83.
11. Ring R, Malberg J, Potestio L, Ping J, Boikess S, Luo B, Schechter L, et al. Anxiolytic-like activity of oxytocin in male mice: behavioral and autonomic evidence, therapeutic implications. Psychopharmacology (Berl) 2006; 185: 218-25.
12. Costa-E- Sousa RH, Pereira-Junior PP, Oliveira PF, Olivares EL, Werneck-de-Castro JP, Mello DB, et al. Cardiac effects of oxytocin: is there a role for this peptide in cardiovascular homeos-tasis? Regul Pept 2005; 132: 107-12.
13. Gutkowska J, Jankowski M, Mukaddam-Daher S, McCann SM. Oxytocin is a cardiovascular hormone. Braz J Med Biol Res 2000; 33: 625-33.
14. Miller ME, Davidge ST, Mitchell BF. Oxytocin does not directly affect vascular tone in vessels from nonpregnant and pregnant rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 282: H1223-8.
15. Jankowski M, Hajjar F, Kawas SA, Mukaddam-Daher S, Hoffman G, McCann SM, et al. Rat heart: a site of oxytocin production and action. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 14558-63.
16. Mukaddam-Daher S, Yin YL, Roy J, Gutkowska J, Cardinal R. Negative inotropic and chronotropic effects of oxytocin. Hypertension 2001; 38: 292-6.
17. Houshmand F, Faghihi M, Zahediasl S. Biphasic protective effect of oxytocin on cardiac ische-mia/reperfusion injury in anaesthetized rats. Peptides 2009; 30: 2301-8.
18. Reversi A, Rimoldi V, Marrocco T, Cassoni P, Bussolati G, Parenti M, et al. The oxytocin receptor antagonist atosiban inhibits cell growth via a "biased agonist" mechanism. J Biol Chem 2005; 280: 16311-8.
19. Carvajal JA, Aguan K ,Thompson LP, Buhi-mschi IA, Weiner CP. Natriuretic peptide-induced rela-xation of myometrium from the pregnant guinea pig is not mediated by guanylate cyclase activation. J Pharmacol Exp Ther 2001; 297: 181-8.
20. Bian GX, Li GG, Yang Y, Liu RT, Ren JP, Wen LQ, et al. Madecassoside reduces ischemia-reperfusion injury on regional ischemia induced heart infarction in rat. Biol Pharm Bull 2008; 31: 458-63.
21. Iseri SO, Sener G, Saglam B, Gedik N, Ercan F, Yegen BC. Oxytocin ameliorates oxidative colonic inflammation by a neutrophil-dependent mechanism. Peptides 2005; 26: 483-91.
22. Dusunceli F, Iseri SO, Ercan F, Gedik N, Yegen C, Yegen BC. Oxytocin alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Peptides 2008; 29: 1216-22.
23. Tugtepe H, Sener G, Biyikli NK, Yuksel M, Cetinel S, Gedik N, et al. The protective effect of oxytocin on renal

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

ischemia/reperfusion injury in rats. Regul Pept 2007; 140: 101-8.
24. Iseri SO, Sener G, Saglam B, Gedik N, Ercan F, Yegen BC. Oxytocin protects against sepsis-indu-ced multiple organ damage: role of neutrophils. J Surg Res 2005; 126: 73-81.
25. Biyikli NK, Tugtepe H, Sener G, Velioglu-Ogunc A, Cetinel S, Midillioglu S, et al. Oxytocin alle-viates oxidative renal injury in pyelonephritic rats via a neutrophil-dependent mechanism. Pepti-des 2006; 27: 2249-57.
26. Dal Secco D, Moreira AP, Freitas A, Silva JS, Rossi MA, Ferreira SH, et al. Nitric oxide inhibits neutrophil migration by a mechanism dependent on ICAM-1: role of soluble guanylate cyclase. Nitric Oxide 2006; 15: 77-86.
27. Sayan H, Ozacmak VH, Altaner S, Aktas RG, Arslan SO. Protective effects of L-arginine on rat terminal ileum subjected to ischemia/reperfusion. J Pediatr Gastr-oenterol Nutr 2008; 46: 29-35.
28. Vaziri ND, Wang XQ, Oveisi F, Rad B. Induction of oxidative stress by glutathione depletion causes severe hypertension in normal rats. Hypertension 2000; 36: 142-6.
29. Armour JA. Myocardial ischaemia and the cardiac nervous system. Cardiovasc Res 1999;41: 41-54.
30. Pournajafi-Nazarloo H, Perry A, Partoo L, Papademeteriou E, Azizi F, Carter CS, et al. Neonatal oxytocin treatment modulates oxytocin receptor, atrial natriuretic peptide, nitric oxide synthase and estrogen receptor mRNAs expression in rat heart. Peptides 2007; 28: 1170-7.
31. Critz SD, Cohen MV, Downey JM. Mechanisms of acetylcholine- and bradykinin-induced preco-nditioning. Vascul Pharmacol 2005; 42: 201-9.
32. Kim M, Kim MO, Heo JS, Kim J, Han HJ. Acetylcholine inhibits long-term hypoxia-induced apoptosis by suppressing the oxidative stress-mediated MAPKs activation as well as regulation of Bcl-2 ,c-IAPs, and caspase-3 in mouse embr-yonic stem cells. Apoptosis 2008; 13: 295-304.
33. Yang B, Lin H, Xu C, Liu Y, Wang H, Han H, Wang Z. Choline produces cytoprotective effects against ischemic myocardial injuries: evidence for the role of cardiac cardiac m3 subtype muscarinic acetylcholine receptors. Cell Physiol Biochem 2005; 16: 163-74.
34. Sangawa K, Nakanishi K, Ishino K, Inoue M, Kawada M, Sano S. Atrial natriuretic peptide pro-tects against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. Ann Thorac Surg 2004; 77: 233-7.
35. Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C, Ezrin A, Hottendorf R. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. J Pharmacol Toxicol Methods 1997; 37: 1-7.
36. Gutkowska J, Jankowski M, Lambert C, Muk-addam-Daher S, Zingg HH, McCann SM. Oxy-tocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94: 11704-9.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]

Original Article

The Role of Oxytocin on Cardiac Ischemia-Reperfusion-Induced Oxidative Stress in Rats

Houshmand F [1,2], Faghihi M[2], Zahediasl S[3]

[1]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, [2]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, [3]Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran
e-mail: hoshmandf@sina.tums.ac.ir

Received: 25/05/2010 **Accepted**: 18/10/2010

Abstract

Introduction: Oxidative stress is caused by the imbalance between production of pro-oxidants and the antioxidant defenses. Reactive oxygen species (ROS) can play an important role in the pathogenesis of cardiovascular diseases. The present study aimed at investigating whether administration of oxytocin ameliorates oxidative stress induced by experimental myocardial infarction in rats. Materials and Methods: Cardiac ischemia-reperfusion (I/R) was induced by occlusion of left main coronary artery of rats for 25 min, followed by a period of reperfusion for 2h. OT at doses of 0.0001-1 µg was administered intraperitoneally 30 min prior to ischemia. Following reperfusion, blood samples were taken for measuring the plasma MDA levels, as an index of lipid peroxidation. Results: We observed a dose-dependent association between dose of oxytocin and plasma MDA. Oxytocin 0.01µg significantly reduced MDA levels as compared to control group. Blockade of specific OT receptors by atosiban attenuated the anti-oxidative effect of OT. The MDA level in the L-NAME and atropine groups were higher than those in the OT group and reach to control group, whereas the MDA levels in the anantin group were same as OT group and significantly lower than those in the control group. Conclusions: Oxytocin has a beneficial effect, mediated by NO and Ach, on cardiac tissue against oxidative damage due to I/R, suggesting that oxytocin can be used to tissue protection against oxidative stress.

Keywords: Oxytocin, Ischemia-Reperfusion, Oxidative stress, Malondialdehyde

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2024-07-27]