

بررسی تاثیر مستقیم ديازپام بر پارامترهای قلبی (فشار بطن و نوسانات آن، ضربان قلب و میزان جریان مایع کرونری) در قلب مجزا شده موش صحرایی هیپوتیروید در شرایط ایسکمی ری پرفیوژن

دکتر داریوش شکیبایی^۱، مریم واعظی^۲، مهوش حصاری^۳، عاطفه اسدمبینی^۴

نویسنده مسوول: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی m.maryamvaezi@gmail.com

دریافت: ۹۱/۱۱/۲۵ پذیرش: ۹۲/۵/۷

چکیده

زمینه و هدف: هیپوتیرویدسم قدرت انقباض و ضربان قلب را کاهش می‌دهد. از آنجایی که ديازپام نیز عملکرد قلبی را تعدیل می‌کند، هدف این مطالعه بررسی تاثیر مستقیم ديازپام بر عملکرد قلب مجزا شده موش صحرایی هیپوتیروید بود.

روش بررسی: مطالعه‌ی تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی در ۴ گروه (کنترل، هیپوتیرویدی، کنترل ديازپام و هیپوتیروید + ديازپام) صورت گرفت. قلب‌های مجزا شده، مطابق روش لانگندورف به شکل Retrograde با محلول کربس پرفیوژ و سه مرحله پایه، ایسکمی و ری پرفیوژن را گذراندند. پارامترهای عملکردی قلب، از جمله نوسانات فشار بطن چپ، ضربان قلب (HR(Heart Rate و RPP(Rate Pressure Product سنجش شدند.

یافته‌ها: در گروه هیپوتیروید در مرحله پایه عملکرد قلب به شکل معنی داری پایین تر از گروه کنترل و کنترل ديازپام بود (به ترتیب $P=0/01$ و $P=0/001$). درصد افت HR و RPP پس از دریافت ديازپام نسبت به مرحله پایه در دو گروه کنترل ديازپام و هیپوتیروید به همراه ديازپام تفاوت معنی داری داشت (به ترتیب $P=0/001$ و $P=0/002$). درصد بازگشت RPP در مرحله ری پرفیوژن در گروه هیپوتیروید (60 ± 5 درصد) نسبت به کنترل (38 ± 1 درصد) و در گروه هیپوتیروید + ديازپام (87 ± 8 درصد) نسبت به گروه هیپوتیروید (60 ± 5 درصد) افزایش معنی داری داشت (به ترتیب $P < 0/0001$ و $P=0/02$).

نتیجه گیری: به کارگیری ديازپام در مراحل پایه و ری پرفیوژن، تاثیرات ناشی از هیپوتیرویدسم را در موش صحرایی تشدید می‌کند، به طوری که باعث افت بیشتر عملکرد قلب موش صحرایی هیپوتیروید در مرحله پایه و افزایش درصد بازگشت آن در مرحله ری پرفیوژن می‌شود. این تاثیرات احتمالاً می‌تواند به دلیل اثرات مشترک ديازپام و هیپوتیرویدسم بر کانال‌های کلسیمی نوع L و یا میزان اکسیژن مصرفی در موش صحرایی باشد.

واژگان کلیدی: هیپوتیرویدسم، قلب مجزا، ديازپام، ایسکمی ری پرفیوژن، موش صحرایی، لانگندورف

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۳- کارشناس ارشد سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

مقدمه

قلب یکی از مهم ترین بافت های پاسخ دهنده به هورمون های تیرویدی محسوب می شود (۱). هورمون های تیرویدی بر قدرت انقباض و ریتم قلبی تاثیرگذار هستند و این تاثیرات را از طریق تنظیم سیگنال های داخل سلولی، که با پاسخ به استرس در ارتباط هستند، اعمال می کنند (۲). مشخص شده است که هیپوتیرویدیسم به عنوان یک بیماری شایع کلینیکی بر عملکرد سیستم قلبی - عروقی تاثیرگذار است، بدین ترتیب که قدرت انقباض و ضربان قلب (HR) در حالت کم کاری تیروید کاهش می یابد (۳ و ۴). همچنین مشخص شده است که هیپوتیرویدیسم منجر به افزایش حفاظت قلبی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی - ری پرفیوژن (تغذیه مجدد) می گردد (۵). علاوه بر آن مطالعات نشان داده اند که بنزودیازپین ها نیز دارای تاثیرات مستقیم بر روی کاهش عملکرد قلبی عروقی هستند (۶). دیاپام یکی از مشتقات بنزودیازپین ها محسوب شده، دارای استفاده های فارماکولوژیک به عنوان آرام بخش و شل کننده ی عضلات می باشد (۷). با توجه به مصارف طبی فراوان دیاپام در جوامع مختلف، جنبه های گوناگون اثر این دارو همواره مورد توجه بوده است. در مطالعه ی گذشته تاثیرات این دارو بر عملکرد قلب متعاقب ایسکمی - ری پرفیوژن گزارش گردیده است (۸). اساسا مطالعات دیگر نشان داده اند لیگاند گیرنده های محیطی بنزو دیاپین (Peripheral Benzodiazepine Receptors) از جمله دیاپام می تواند در شرایط هیپوتیرویدیسم تاثیرات متفاوتی در سطح سلولی از جمله سلول های قلبی داشته باشد. مکانیسم های مختلفی برای این روند پیشنهاد شده است، از جمله عنوان شده که تغییر تاثیرات سلولی لیگاند می تواند به دلیل تغییر در افینیتی، تغییر در تراکم گیرنده های بنزودیازپینی و تغییر در چرخه ی کلسیم سلول باشد (۹ و ۱۰). اختلال ناشی از ایسکمی قلبی با تغییر فسفریلاسیون اکسیداتیو

به گلیکولیز بی هوازی همراه با تولید اسید لاکتیک و اسیدی شدن داخل سلول می باشد (۱۱). بنابراین، با توجه به اینکه بنزودیازپین ها و هیپوتیرویدیسم هر دو بر عملکرد سیستم قلبی عروقی تاثیر گذار هستند، و به دلیل همپوشانی مکانیسم های درگیر در این تاثیرات، این سوال مطرح می گردد که به کارگیری دیاپام در حضور هیپوتیرویدی چه تاثیراتی بر عملکرد قلبی در شرایط عادی و همچنین ایسکمی ری پرفیوژن بر جای خواهد گذاشت. این مساله در مطالعات گذشته مورد بررسی قرار نگرفته بود و مطالعه ی حاضر به منظور یافتن پاسخ این سوال صورت گرفت.

روش بررسی

این مطالعه، تجربی بوده و موش های صحرایی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۳۰ سر موش سفید نر بالغ نژاد ویستار (wistar) دارای وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم بودند و از موسسه ی تحقیقاتی سرم سازی کرج تهیه و در حیوانخانه ی دانشکده ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه نگهداری شدند. تمامی حیوانات مورد استفاده در این مطالعه مراقبت های انسانی مطابق با دستورالعمل های مراقبت از حیوانات سازمانی را دریافت کردند. این موش ها به صورت تصادفی انتخاب شده و به چهار گروه تقسیم گردیدند. جهت القای هیپوتیرویدیسم داروی پروپیل تیوراسیل (Iran hormone company) و جهت اعمال بیهوشی داروی پنتوباریتال سدیم (Sigma, Steinheim, Germany) به کار برده شد به علاوه از داروی (Chemi Darou- Pharmaceuticals) دیاپام (Co. Ltd. Tehran, Iran) نیز در این مطالعه استفاده گردید.

گروه بندی حیوانات: کنترل (n=۸): این گروه با آب و غذای معمولی تغذیه شدند. گروه هیپوتیروید (n=۷): در این گروه به منظور القای هیپوتیرویدیسم پروپیل تیوراسیل به میزان ۰/۱ گرم بر لیتر به آب آشامیدنی اضافه شد، این آب به مدت ۳۰

فشار بطن چپ (LVDP: Left Ventricular Developed Pressure) که برابر است با فشار سیستولیک بطنی منهای فشار دیاستولیک آن بر حسب میلی‌متر جیوه و نیز تعداد ضربان قلب در دقیقه (Beats Per (Minute) فراهم گردید. همچنین معیار عملکرد قلبی موسوم به Rate Pressure Product (RPP) که برابر است با حاصلضرب نوسانات فشاری بطن چپ در تعداد ضربان قلب در دقیقه، محاسبه گردید. برای سنجش میزان جریان مایع کرونری (CSF) Coronary Solution Flow از روش اندازه‌گیری مستقیم با به‌کارگیری سیلندر مدرج استفاده شد (۱۴ و ۱۳). اطلاعات پایه پس از ۲۰ دقیقه دوره‌ی تثبیت اولیه (Stabilization) ثبت شدند. در دو گروه کنترل دیازپام و هیپوتیروئید+دیازپام قلب‌های مجزا به مدت ده دقیقه قبل از ایسکمی با محلول کربس محتوی ۱۰۰ میکرومولار دیازپام (۸) تغذیه شدند. سپس قلب‌ها وارد مرحله‌ی دوم یعنی دوره‌ی ایسکمی شدند و به مدت ۴۰ دقیقه در این مرحله باقی ماندند. در این مرحله تغذیه یا پرفیوژن متوقف و قلب در یک محفظه‌ی محتوی کربس با حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد غوطه‌ور شد. بدین ترتیب قلب در این دوره تحت ایسکمی کلی با درجه حرارت طبیعی (Global Normothermic Ischemia) قرار گرفت. سپس تغذیه مجدد (Reperfusion) به مدت ۴۵ دقیقه ادامه یافت (۸).

سنجش هورمون‌های تیروئیدی: در این مرحله هورمون‌های تیروئیدی (میزان T_4 و T_3 سرم) در گروه دریافت‌کننده‌ی پروپیل تیوراسیل و همچنین در گروه کنترل توسط روش Electro Chemi Luminescence (ECL) به کمک دستگاه (Elecsys ۲۰۱۰, Roche Hitachi, Germany) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: نتایج به‌صورت متوسط میانگین $\pm$ خطای معیار از میانگین ارایه شده‌اند. مقایسه‌ی بین داده‌ها با استفاده از Unpaired t-test و آزمون آنالیز واریانس با Tukey Post Test

روز در اختیار رت‌ها قرار گرفت (۱۲). گروه کنترل دیازپام ($n=8$) در این گروه به مدت ده دقیقه قبل از ایسکمی دیازپام ۱۰۰ میکرومول بر لیتر (۸) به‌محلول پرفیوژن اضافه گردید. گروه هیپوتیروئید+دیازپام: این گروه تیماری مشابه با گروه هیپوتیروئید داشتند با این تفاوت که ده دقیقه قبل از شروع ایسکمی، دیازپام ۱۰۰ میکرومول بر لیتر به محلول پرفیوژن اضافه گردید.

آماده سازی قلب مجزا شده: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پنتوباربیتال سدیم بیهوش شدند. سپس مورد عمل جراحی برش قفسه‌ی سینه و جداسازی قلب قرار گرفتند. بلافاصله پس از جداسازی، قلب‌ها در محلول کربس سرد (۴-۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار داده شدند و به سرعت آئورت به کانول دستگاه متصل گردید. قلب‌ها مطابق روش لانگندورف و به شکل Retrograde با محلول کربس حاوی $NaCl=118$, $CaCl_2=1/2$, $KCl=4/8$, $NaHCO_3=25$, $Glucose=11$, $MgSO_4=1/2$ و $KH_2PO_4=1/2$ بر حسب میلی مول در لیتر پرفیوژ شدند. بافر ذکر شده پس از مخلوط شدن با گاز اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد) با $pH=7.4$ و دمای ۳۷ درجه و فشار هیدروستاتیک ثابت ۶۵ میلی‌متر جیوه برای تغذیه‌ی قلبی مورد استفاده قرار گرفت. یک بالون پلاستیکی 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 MLT ۸۴۴ (AD Instruments, New South Wales, Australia) و از طریق Bridge Amp آن به Power Lab مدل ML۸۲۵ (AD Instrument, New South Wales, Australia) و سپس به رایانه متصل بود. حجم بالون به گونه‌ای تنظیم شد که فشار پایان دیاستولی ۵ تا ۱۰ میلی‌متر جیوه تامین گردد. این حجم طی مطالعه، ثابت نگاه داشته شد. بدین ترتیب، امکان سنجش معیارهای مختلف عملکردی قلب از جمله نوسانات

جدول ۱: داده‌های حاصل از سنجش هورمون‌های تیرویدی در گروه تست و کنترل

گروه‌ها هورمون‌ها	کنترل	هیپوتیرویدی
T ₄ (n=6)	3/3 ± 0/2	0/7 ± 0/03 *
T ₃ (n=6)	1/3 ± 0/8	0/63 ± 0/02 *

این نتایج نشان داد که حیوانات پس از دریافت پروپیل تیوراسیل با دوز و مدت ذکر شده، دچار هیپوتیرویدیسم گردیده‌اند.

بررسی عملکرد قلبی: مقادیر مختلف پارامترهای قلبی (HR, LVDP, CSF and RPP)، در جدول ۲ نشان داده شده است.

انجام شد و $P < 0/05$ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Instat, version 3/05 انجام شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری هورمون‌های تیرویدی: داده‌های حاصل از سنجش هورمون‌های تیرویدی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد، سطح هورمون‌های تیرویدی سرم خون در گروه هیپوتیرویدی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت و این کاهش در سطح هر دو هورمون تیرویدی T₄ و T₃ دیده شد. بدین ترتیب که میزان هورمون‌های T₄ و T₃ در گروه هیپوتیرویدی به شکل معنی‌داری ($P = 0/001$) نسبت به گروه کنترل کمتر بود.

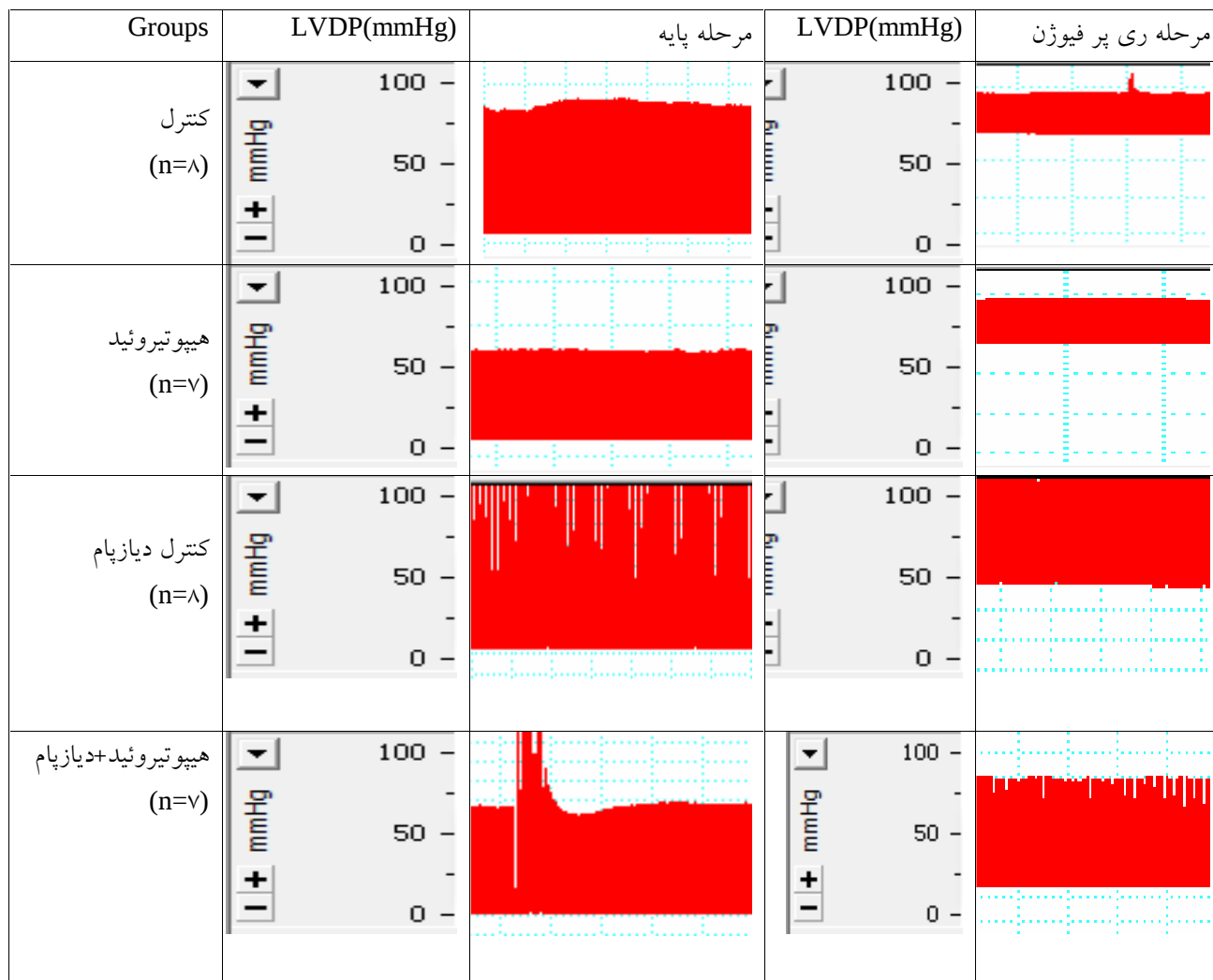
جدول ۲: پارامترهای مختلف عملکردی قلب در گروه‌های مختلف در دوره‌های پایه و دهمین دقیقه‌ی پرفیوژن دیاپام

پارامترها گروه‌ها	مرحله‌ی پایه				دهمین دقیقه‌ی پرفیوژن دیازپام			
	LVDP	HR	CSF	RPP	LVDP	HR	CSF	RPP
کنترل (n=۸)	۷۸±۲	۲۶۷±۳	۱۰±۰/۵	۲۱۲۰۹±۴۳۴	۸۰±۳	۲۵۰±۷	۱۰±۰/۵	۲۰۰۹۰±۶۳۵
هیپوتیروید (n=۷)	۷۱±۱	×۱۷۵±۱۳	۹±۱	××۱۲۴۱۶±۷۹۲	۷۳±۳	۱۹۴±۱۳	۷±۰/۶	×××۱۳۵۴۸±۶۳۴
کنترل دیازپام (n=۸)	۸۴±۸	۲۸۱±۲۸	۱۱±۰/۶	۲۲۳۴۸±۱۰۹۲	۸۴±۷	۲۱۴±۲۷	۱۲±۰/۶	\$۱۶۶۴۸±۱۲۰۷
هیپوتیروید+ دیازپام (n=۷)	۷۵±۵	۱۹۳±۸	۹±۰/۱	##۱۴۴۰۳±۸۶۶	۶۴±۸	۱۴۳±۱۵	۹±۰/۴	### ۱۰۱۱۵±۵۳۲

پارامترهای عملکردی قلب شامل RPP (حاصل ضرب ضربان قلب در فشار بطن چپ)، CSF (جریان مایع کرونر)، HR (ضربان قلب) و LVDP (نوسانات فشار بطن چپ)، در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون ANOVA مورد مقایسه قرار گرفتند. مقادیر به‌صورت، میانگین ± خطای معیار ارایه شده است. $P = 0/01$ * در مقایسه با کنترل و $P < 0/05$ در مقایسه با کنترل دیاپام، $P = 0/001$ ** در مقایسه با کنترل و کنترل دیاپام، $P = 0/001$ ### در مقایسه با کنترل و کنترل دیاپام، $P = 0/001$ *** و $P < 0/05$ \$ و $P = 0/001$ #### در مقایسه با کنترل

هیپوتیروئید به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و کنترل دیازپام پایین‌تر بود (به ترتیب $P=0/001$ و $P=0/01$) که نشان دهنده‌ی عملکرد پایین قلب در شرایط هیپوتیروئیدی است.

علاوه بر آن میزان نوسانات فشار بطن چپ نیز به صورت گراف در گروه‌های کنترل و تست نمایش داده شده است (گراف ۱). میزان HR و RPP در مرحله‌ی پایه در گروه



گراف ۱: نمونه‌ای از گراف‌های ثبت شده نوسانات فشار بطن چپ (LVDP: Left Ventricular Developed Pressure) توسط دستگاه Power Lab در گروه‌های کنترل و تست قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض ۴۰ دقیقه ایسکمی کلی با درجه‌ی حرارت طبیعی

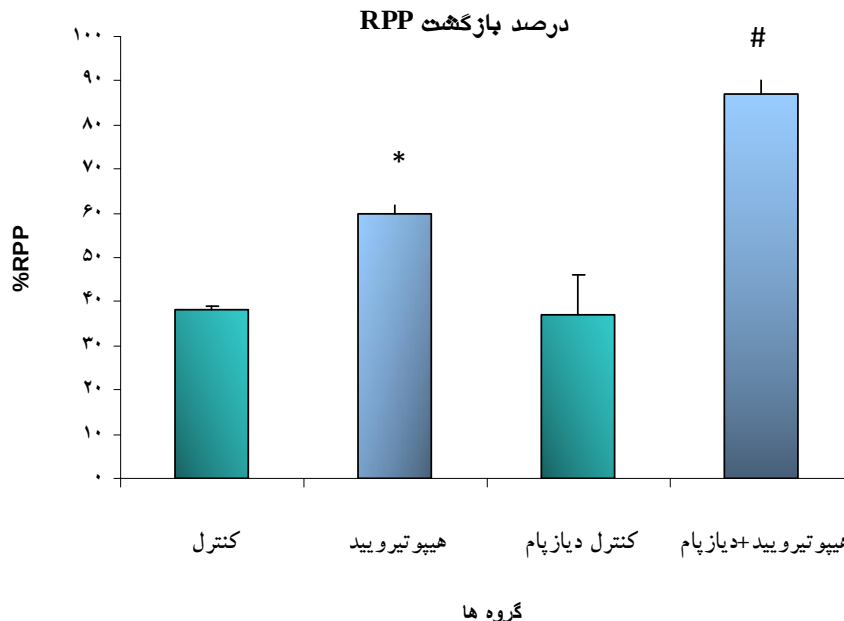
میزان این افت در گروه هیپو+دیازپام به شکل معنی‌داری ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل دیازپام بیشتر بود. از طرفی میزان پارامتر عملکردی قلب (RPP) نیز در این دو گروه به ترتیب افت 24 ± 3 و 29 ± 9 درصدی را بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه نشان داد که تفاوت معنی‌داری از این نظر

همچنین میزان تغییرات HR و RPP از طریق اندازه‌گیری نسبت آن‌ها در مرحله‌ی به‌کارگیری دیازپام به مرحله‌ی پایه محاسبه گردید. نتایج نشان داد که میزان HR در گروه کنترل دیازپام 22 ± 5 درصد و در گروه هیپو+دیازپام 25 ± 7 درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه افت پیدا کرد و

یافته در واقع نشان دهنده‌ی کاهش آسیب ناشی از ایسکمی و ری پرفیوژن در قلب‌های هیپوتیروید است. از طرف دیگر درصد بازگشت عملکرد قلبی در گروه هیپو+دیازپام بیشتر از سایر گروه‌ها بوده و حتی در مقایسه با گروه هیپوتیروید به شکل معنی‌داری بالاتر است ($P=0/02$). به عبارت دیگر، هر چند که به‌کارگیری دیازپام به تنهایی موجب حفاظت معنی‌داری در عملکرد قلب متعاقب ایسکمی و ری پرفیوژن نشده است، اما نتایج حاکی از آن است که حفاظت قلبی ناشی از هیپوتیرویدیسم در حضور دیازپام به شکل معنی‌داری افزایش یافته است. مقادیر T_4 بر حسب میکروگرم بر دسی‌لیتر و مقادیر T_3 بر حسب نانومول بر لیتر بیان شده است. مقادیر به دست آمده از آزمون‌های آماری T-Test Unpaired به‌صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارائه شده است. ($P=0/001^*$ در مقایسه با گروه کنترل).

بین این دو گروه وجود داشت ($P<0/002$). در واقع این یافته‌ها نشان دهنده‌ی افت عملکرد قلبی در حضور دیازپام می‌باشد. همچنین یافته‌ها نشان دهنده‌ی تشدید معنی‌دار افت عملکرد قلبی ناشی از دیازپام در قلب‌های هیپوتیروید می‌باشد. در واقع هرچند که در هر دو گروه به‌کارگیری دیازپام موجب افت عملکرد قلبی (HR) گردید، اما این افت در گروه هیپوتیروید به میزان بیشتری رخ داده است.

درصد بازگشت عملکرد قلبی در مرحله ری پرفیوژن: همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد درصد بازگشت RPP، از طریق نسبت RPP در چهل و پنجمین دقیقه‌ی ری پرفیوژن به دقیقه‌ی بیستم مرحله‌ی پایه محاسبه گردید. نتایج حاصل از آزمون Unpaired T-Test نشان داد که درصد بازگشت RPP در گروه هیپوتیروید به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود ($P<0/0001$). این



نمودار ۱: درصد بازگشت پارامتر عملکردی قلب (RPP; Rate Pressure Product) در گروه‌های آزمایش. مقادیر به‌دست آمده به‌صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارائه شده است. $P<0/0001^*$ در مقایسه با گروه کنترل، $\#P=0/02$ در مقایسه با گروه هیپوتیروید

بحث

یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که به‌کارگیری دیازپام ($100 \mu M$) در قلب‌های مجزا شده‌ی موش‌های هیپوتیریید، منجر به تشدید تاثیرات قلبی ناشی از کم کاری تیروئید می‌گردد. همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد، هیپوتیرییدیسم باعث کاهش معنی‌دار پارامتر عملکردی قلب (RPP) و ضربان قلب (HR)، در مقایسه با گروه کنترل شده است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که هیپوتیرییدیسم منجر به کاهش ضربان قلب (HR) و قابلیت انقباضی آن می‌گردد (۴). از جمله دلایل کاهش قدرت انقباضی کاهش بیان ژن‌های مربوط به تنظیم چرخه‌ی کلسیم شبکه سارکوپلاسمی و افزایش بیان ژن‌های مهار کننده آن‌ها در قلب می‌باشد (۱۵). کانال‌های کلسیمی در رهاسازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی نقش دارند و مطابق با مطالعات انجام شده تعداد این کانال‌ها در حالت کم کاری تیروئید کاهش پیدا می‌کند (۱۶). به‌علاوه مشخص شده است که مصرف انرژی در قلب‌های هیپوتیروئید کاهش می‌یابد و این امر ناشی از بیان عمده‌ی زنجیره‌ی سنگین میوزین نوع β ($\beta-MHC$) (میوزینی با فعالیت $ATPase$ ی کند) در این گونه قلب‌ها می‌باشد (۲). بنابراین نتایج این مطالعه مبنی بر افت پارامترهای عملکردی قلب در شرایط هیپوتیروئیدیسم هماهنگ با سایر مطالعات می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که میزان HR در گروه‌های کنترل دیازپام و هیپوتیروئید+دیازپام به ترتیب ۲۲ و ۲۵ درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه افت پیدا کردند. تفاوت معنی‌داری از نظر درصد افت HR ، بین این دو گروه مشاهده گردید، از طرفی میزان پارامتر عملکردی قلب (RPP) نیز در این دو گروه به ترتیب ۲۴ و ۲۹ درصد بعد از دریافت دیازپام نسبت به حالت پایه، افت نشان دادند که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین این دو گروه وجود داشت. یافته‌های فوق نشان دهنده‌ی تشدید اثرات منفی ناشی از هیپوتیروئیدیسم در حضور دیازپام

است. در مطالعات پیشین، اثرات قلبی دیازپام گزارش شده است که وابسته به غلظت بوده است (۷). یافته‌ها نشان دهنده‌ی این نکته است که دیازپام تاثیر منفی بر عملکرد قلب داشته که این تاثیر در قلب‌های هیپوتیروئید به شکل معنی‌داری بیشتر می‌باشد (جدول ۲). طبق مطالعات گذشته مهار کانال‌های کلسیمی نوع L ، به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم برای کاهش عملکرد قلبی ناشی از دیازپام پیشنهاد گردیده است (۱۷). در واقع، جریان کلسیم از طریق کانال‌های نوع L از اهمیت بالایی در قلب برخوردار است (۱۸). کانال‌ها در شرایط هیپوتیروئیدیسم نیز تحت تاثیر قرار گرفته به نحوی که کاهش دانسیته‌ی این کانال‌ها در شرایط هیپوتیروئیدیسم و کاهش آزاد سازی کلسیم گزارش شده است (۱۹ و ۱۶). به‌علاوه مشخص شده که هیپوتیروئیدیسم منجر به ایجاد اختلال گیرنده‌های دی‌هیدروپی‌ریدینی می‌گردد (۲۰). گیرنده‌ی دی‌هیدروپی‌ریدینی یک نوع از کانال‌های کلسیمی نوع L با پنج زیر واحد می‌باشد (۲۱). در کل مطالعات گذشته نشان دادند که هیپوتیروئیدیسم و دیازپام هر دو بر روی عملکرد کانال‌های نوع L تاثیر می‌گذارند. علاوه بر آن گزارش شده است که دیازپام در غلظت‌های بالا موجب مهار مصرف اکسیژن و هم‌چنین مهار فعالیت $ATPase$ ی میتوکندری می‌گردد (۲۲). بدین ترتیب احتمال تاثیر منفی دیازپام بر عملکرد قلبی از طریق این مکانیسم نیز وجود دارد. هرچند به دلیل محدودیت در مطالعه‌ی فعلی کانال‌های کلسیمی و میزان اکسیژن مصرفی اندازه‌گیری نشده‌اند؛ اما با توجه به یافته‌های مطالعات پیشین چنین به نظر می‌رسد که تاثیرات منفی دیازپام در شرایط هیپوتیروئیدی می‌تواند از طریق مکانیسم‌های فوق‌الذکر توجیه گردد. در مرحله‌ی ری‌پرفیوژن نیز یافته‌ها نشان دادند هیپوتیروئیدیسم موجب افزایش معنی‌دار درصد بازگشت RPP و بهبود عملکرد قلبی شده است. مطالعات گذشته کاهش آسیب ناشی از ایسکمی و ری‌پرفیوژن را در

هیپوتیرویدی موجب حفاظت قلبی در شرایط ایسکمی و ری‌پرفیوژن می‌باشد. با توجه به مطالعات گذشته تاثیر ديازپام در تشدید این حفاظت قلبی می‌تواند از طریق تداخل این دارو در هریک از مکانیسم‌های فوق از جمله کاهش کلسیم داخل سلولی و یا کاهش مصرف اکسیژن سلولی توجیه شود. هر چند که برای مشخص شدن سهم دقیق هر یک از مکانیسم‌های مذکور نیاز به مطالعات تکمیلی وجود داشته و قضاوت در خصوص مکانیسم دقیق آن با اطلاعات فعلی امکان‌پذیر نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری

حضور ديازپام موجب تشدید تاثیرات قلبی ناشی از هیپوتیرویدیسم در موش صحرایی شده است. به این ترتیب که در مرحله‌ی پایه تاثیرات منفی هیپوتیرویدی بر عملکرد قلب با به‌کارگیری ديازپام به شکل معنی‌داری بیشتر شد. از طرف دیگر نشان داده شد که بهبود بازگشت عملکرد قلبی ناشی از هیپوتیروید در قلب‌هایی که ديازپام دریافت کردند افزایش یافته است.

قلب‌های هیپوتیروید، به کاهش نیاز به انرژی و افزایش انرژی قابل دسترس در این گونه قلب‌ها نسبت داده‌اند (۲). از طرفی مشخص شده است که این قلب‌ها دارای کارایی بالاتر و مصرف اکسیژن کمتر به منظور فعالیت مکانیکی خود هستند. به‌علاوه نشان داده شده که سطوح ATP، طی روند ایسکمی در این گونه قلب‌ها آهسته‌تر کاهش پیدا می‌کند (۲۳). در مطالعه‌ی دیگر عنوان شده که افزایش بیان برخی از مولکول‌های درون سلولی مثل ایزوفرم‌های پروتیین کیناز C (PKC) در قلب‌های هیپوتیرویدیسم نقش بسیار مهمی در حفاظت این گونه قلب‌ها در برابر استرس ناشی از ایسکمی دارند (۲۴). همانطور که اشاره شد نتایج این مطالعه نشان داد که به‌کارگیری ديازپام ($100 \mu\text{M}$) باعث بهبود بازگشت عملکرد قلبی متعاقب ایسکمی و ری‌پرفیوژن نسبت به گروه هیپوتیروید شده است. بدین ترتیب که درصد بازگشت عملکرد قلبی در گروه هیپوتیروید+ديازپام به شکل معنی‌داری نسبت به گروه هیپوتیروید بیشتر بود. در واقع، حفاظت قلبی ناشی از هیپوتیرویدیسم با به‌کارگیری ديازپام تشدید شده است (نمودار ۱). همانگونه که ذکر شد مکانیسم‌های مهار چرخه‌ی کلسیم و همچنین کاهش مصرف اکسیژن ناشی از

References

- 1- Klein I, Ojamma K. Thyroid hormone-targeting the heart. *Endocrinology*. 2001; 142: 11-2.
- 2- Pantos C, Mourouzis I, Xinaris C, Papadopoulou Z, Cokkinos D. Thyroid hormone and "Cardiac metamorphosis": potential therapeutic implications. *Pharmacol Ther*. 2008; 118: 277-94.
- 3- Vanderpump MP, Tunbridge WM. Epidemiology and prevention of clinical and

- subclinical hypothyroidism. *Thyroid*. 2002; 12: 839-47.
- 4- Auer J, Berent R, Weber T, Lassnig E, Eber B. Thyroid function is associated with presence and severity of coronary atherosclerosis. *Clin Cardiol*. 2003; 26: 569-73.
- 5- Pantos C, Malliopolou V, Mourouzis I, et al. Propylthiouracil-induced hypothyroidism is associated with increased tolerance of the isolated rat heart to ischaemia-reperfusion. *J Endocrinol*. 2003; 178: 427-35.

- 6- Baum VC, Palmisano BW. The immature heart and anesthesia. *Anesthesiology*. 1997; 87: 1529-48.
- 7- Hara Y, Kobayashi H, Ooshiro S, et al. Negative inotropic effect of diazepam in isolated guinea pig heart. *J Vet Med Sci*. 2001; 63: 135-43.
- 8- Shackebaei D, Godini A, Reshadat S. The effects of diazepam in cardio depressant concentration on the function of isolated rat heart in ischemia-reperfusion. *Saudi Med J*. 2008; 29: 847-53.
- 9- Kragie L, Smiehorowski R. Altered peripheral benzodiazepine receptor binding in cardiac and liver tissues from thyroidectomized rats. *Life Sci* 1994; 55: 1911-8.
- 10- Veenman L, Gavish M. The peripheral-type benzodiazepine receptor and the cardiovascular system. Implications for drug development. *Pharmacol Ther*. 2006; 110: 503-24.
- 11- Marzouk SA, Buck RP, Dunlap LA, Johnson TA, Cascio WE. Measurement of extracellular pH, K(+), and lactate in ischemic heart. *Anal Biochem*. 2002; 308: 52-60.
- 12- Hapon MB, Varas SM, Jahn GA, Giménez MS. Effects of hypothyroidism on mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. *J Lipid Res*. 2005; 46: 1320-30.
- 13- Shackebaei D, King N, Shukla B, Suleiman MS. Mechanisms underlying the cardioprotective effect of L-cysteine. *Mol Cell Biochem*. 2005; 277: 27-31.
- 14- Reshadat S, Nikray R, Alord S, Shackebaei D, Godini A, Hesari M. The effects of acetazolamide on ischemia reperfused isolated hearts of 2- and 8-week-old rabbits. *Saudi Med J*. 2012; 33: 250-5.
- 15- Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation*. 2007; 116: 1725-35.
- 16- Arai M, Otsu K, MacLennan DH, Alpert NR, Periasamy M. Effect of thyroid hormone on the expression of mRNA encoding sarcoplasmic reticulum proteins. *Circ Res*. 1991; 69: 266-76.
- 17- Kanaya N, Murray PA, Damron DS. The differential effects of midazolam and diazepam on intracellular Ca²⁺ transients and contraction in adult rat ventricular myocytes. *Anesth Analg*. 2002; 95: 1637-44.
- 18- Zang M, Salam T, Xu YJ, Dahala NS. Modification of ischemia reperfusion induced injury by cardioprotective intervention in myocardial protection. *New York Blackwell*. 2004.
- 19- Wibo M, Kilar F, Zheng L, Godfraind T. Influence of thyroid status on postnatal maturation of calcium channels, beta-adrenoceptors and cation transport ATPases in rat ventricular tissue. *J Mol Cell Cardiol*. 1995; 27: 1731-43.
- 20- Wibo M, Feron O, Zheng L, Maleki M, Kolar F, Godfraind T. Thyroid status and postnatal changes in subsarcolemmal distribution and isoform expression of rat cardiac dihydropyridine receptors. *Cardiovasc Res*. 1998; 37: 151-9.
- 21- Koeppen B, Estenton B. Skeletal muscle physiology. Bern & Levy Physiology. 6rd ed. Andishe Rafie; 2010. p. 284.
- 22- Vorobjev IA, Zorov DB. Diazepam inhibits cell respiration and induces fragmentation of

mitochondrial reticulum. *FEBS Lett.* 1983; 163: 311-4.

23- Abe M, Obata H, Tanaka H. Functional and metabolic responses to ischemia in the isolated perfused hypothyroid rat heart. *Jpn Circ J.* 1992; 56: 671-80.

24- Cross HR, Murphy E, Bolli R, Ping P, Steenbergen C. Expression of activated PKC epsilon (PKC epsilon) protects the ischemic heart, without attenuating ischemic H (+) production. *J Mol Cell Cardiol.* 2002; 34: 361-7.

The Direct Effect of Diazepam on the Cardiac Parameters (Left Ventricular Developed Pressure, Heart Rate and Coronary Solution Flow) in Isolated Hypothyroid Rat Heart under Schemia Reperfusion Conditions

Shackebaei D¹, Vaezi M¹, Hesari M¹, Asadmobini A¹

¹Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Corresponding Author: Vaezi M, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

E-mail: m.maryamvaezi@gmail.com

Received: 13 Feb 2013 **Accepted:** 29 Jul 2013

Background and Objective: Hypothyroidism decreases cardiac contractility and heart rate. Since cardiac function is also modulated by diazepam, the aim of this study was to investigate the direct effect of diazepam on the isolated hypothyroid rat heart.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 30 rats in four groups (control, hypothyroid, control diazepam and hypothyroid+diazepam). According to Langendorff method, isolated hearts were retrogradly perfused with Krebs solution and passed 3 stages of baseline, ischemia and reperfusion. Cardiac parameters including left ventricular developed pressure, Heart Rate (HR) and Rate Pressure Product (RPP) were calculated.

Results: At baseline, heart function significantly decreased in hypothyroid group compared with control and control diazepam groups ($P=0.01$ & $P=0.001$ respectively). Percentage decline of HR and RPP at baseline stage after diazepam administration, was significantly different in the control diazepam and hypothyroid+diazepam groups ($P=0.001$ & $P=0.002$ respectively). Recovery percentage of RPP in reperfusion stage significantly increased in hypothyroid group ($60\pm5\%$) compared with control ($38\pm5\%$) and in hypothyroid+diazepam group ($87\pm8\%$) compared with hypothyroid group ($60\pm5\%$), ($P<0.0001$ & $P=0.02$, respectively).

Conclusion: Administration of diazepam exacerbates the effect of hypothyroidism at baseline and reperfusion stages in rats. In other words, diazepam perfusion leads to greater decline of hypothyroid rat heart function at baseline and higher recovery percentage at the reperfusion stage. These effects can be due to the common effects of hypothyroidism and diazepam on the L-type calcium channels or the amount of oxygen consumption in rats.

Keywords: Hypothyroidism, Isolated heart, Diazepam, Ischemia- reperfusion, Rat, Langendorff