Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

Physiology and Pharmacology, 18 (2), 156-169
Summer 2014 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Therapeutic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D and losartan co-administration on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

Mohsen Sharifi klishadi[1,2], Farideh Zarei[3], Shahnaz Shekarforoush[4], Fereshteh Safari[5], Fatemeh Safari[2,1*]

1. Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Cardiovascular Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. Dept. of Physiology, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Dept. of Physiology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran
5. School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Received: 1 Mar 2014 **Accepted: 9 Jul 2014**

Abstract

Introduction: Studies support the idea that low levels of vitamin D are associated with a higher risk of heart disease. Losartan has also been prescribed as a drug commonly used for treating hypertension. The aim of the current study was to investigate the effects of 1,25-dihydroxyvitamin D in combination with a non-hypotensive dose of losartan on myocardial infarct size, reperfusion-induced arrhythmia and cardiac expression of survival factors in the ischemic-reperfused rat heart.

Methods: Male rats were randomly divided into untreated ischemia-reperfused rats (IR group) and groups pre-treated with losartan (Los+IR) or vitamin D_3 (VitD+IR) or both of them (Los+VitD+IR). Animals were subjected to 30 min of left coronary artery occlusion followed by 120 min of reperfusion. Infarct size measurement was performed using tetrazolium chloride. Incidence of arrhythmia was analysed according to Lambeth convention. Gene expression was evaluated by real time RT-PCR technique.

Results: In VitD+IR and Los+IR groups the infarct size did not differ significantly. In Los+VitD+IR group, the infarct size was decreased by 21.4±7.3% ($P<0.001$ vs. IR, $P<0.05$ vs. VitD+IR, $P<0.01$ vs. Los+IR). The number of ventricular ectopic beats was 201±32 beats in Los+VitD+IR group ($P<0.001$ vs. IR, $P<0.01$ vs. VitD+IR, $P<0.05$ vs Los+IR). The increase of thioredoxin-1 and catalase transcription levels was not significant in Los+IR and VitD+IR groups, however, in Los+VitD+IR group the mRNA levels of these survival factors were markedly increased ($P<0.001$ vs IR).

Conclusion: Co-administration of a non-hypotensive dose of losartan and vitamin D_3 protects the heart against ischemia-reperfusion injury accompanied by an increase in transcription of prosurvival factors.

Key words: Myocardial ischemia reperfusion, Vitamin D_3, Losartan, Thioredoxin-1, catalase

* Corresponding author e-mail: fa.cardio@gmail.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۸ (۲)، ۱۵۶ – ۱۶۹
تابستان ۱۳۹۳

فیزیولوژی و فارماکولوژی

تجویز توام 1,25 dihydroxyvitamin D و لوزارتان آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن میوکارد را در موش صحرایی کاهش می‌دهد

محسن شریفی کلیشادی[۱،۲]، فریده زارعی[۳]، شهناز شکرفروش[۴]، فرشته صفری[۵]، فاطمه صفری[۱،۲*]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد
۲. مرکز تحقیقات قلب و عروق یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد
۴. گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس
۵. دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز

دریافت: ۱۰ اسفند ۹۲ پذیرش: ۱۸ تیر ۹۳

چکیده

مقدمه: کمبود ویتامین D ارتباط مستقیم با وقوع بیماریهای قلبی دارد. لوزارتان نیز یک داروی ضد فشار خون با اثرات کاردیوپروتکتیو است. هدف از این مطالعه بررسی اثر مصرف همزمان دوزهای غیر موثر بر فشار خون و ایسکمی 1,25 dihydroxyvitamin D (ویتامین D3) و لوزارتان بر اندازه ناحیه انفارکت، شیوع آریتمی‌های دوره رپرفیوژن و بیان فاکتورهای محافظتی در قلب ایسکمیک موش‌های صحرایی بود.

روش ها: موش‌های صحرایی نر به گروههای ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR)، گروههای تیمار با لوزارتان (Los+IR) و ویتامین D_3 (VitD+IR) و گروه دریافت کننده هر دو دارو (Los+VitD+IR) تقسیم شدند. جهت القای ایسکمی شاخه نزولی شریان کرونر چپ به مدت ۳۰ دقیقه مسدود و به مدت ۱۲۰ دقیقه تحت خونرسانی مجدد قرار گرفت. اندازه‌گیری ناحیه انفارکت توسط رنگ آمیزی با تترازولیوم کلراید و آنالیز آریتمی‌ها مطابق قرارداد لامبس صورت گرفت. میزان بیان ژن‌ها توسط تکنیک real time RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: در گروه‌های VitD+IR و Los+IR اندازه ناحیه انفارکت نسبت به گروه IR کاهش معنی‌داری نشان نداد. در گروه Los+VitD+IR اندازه انفارکت به 7.3%±21.4 رسید (P<0.001 vs. IR, P<0.05 vs. VitD+IR, P<0.01 vs. Los+IR). تعداد ضربانات زودرس بطنی در گروه Los+VitD+IR 32±201 ضربه بود (P<0.001 vs. IR) این کاهش نسبت به گروههای VitD+IR و Los+IR نیز معنی‌دار بود (P<0.01وP<0.05). سطح mRNA تیوردوکسین۱ و کاتالاز در گروه‌های VitD+IR و Los+IR تغییر معنی‌داری نداشت اما در گروه Los+VitD+IR به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<0.001vs. IR).

نتیجه گیری: استفاده همزمان از دوز غیر موثر بر ایسکمی لوزارتان و فرم فعال ویتامین D می‌تواند با افزایش بیان فاکتورهای محافظتی در قلب، مقاومت قلب را در برابر آسیب ایسکمی رپرفیوژن افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی رپرفیوژن میوکارد، ویتامین D ، لوزارتان، تیوردوکسین۱، کاتالاز

مقدمه

فعالیت سیستم رنین- آنژیوتانسین نقش مهمی در پاتولوژی آسیب ایسکمی رپرفیوژن میوکارد دارد. آنژیوتانسین II نه تنها با تنگ کردن عروق باعث کاهش اکسیژن رسانی به قلب می‌شود بلکه با فعال کردن گیرنده AT1 موجب فعال شدن مسیر سیگنالینگ JAK-STAT و نیز افزایش بیان ژن‌های MAPK، NF-κB، TGF-β و fas در کاردیومیوسیت ها می‌گردد که از عوامل مهم درگیر در آسیب

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: fa.cardio@gmail.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

ناشی از ایسکمی- رپرفیوژن میوکارد محسوب شده و موجب القای آپوپتوز در کاردیومیوسیت‌ها می‌شوند [۱۱, ۱۵]. آنژیوتانسین Π در طی ایسکمی میوکارد تولید ATP در کاردیومیوسیت‌ها را کاهش و در مقابل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را افزایش داده و موجب پیشرفت استرس اکسیداتیو می‌گردد که سرانجام کاردیومیوسیت ها را به سمت مرگ سلولی هدایت خواهد کرد [۷, ۱۲]. با توجه به اثرات مخرب آنژیوتانسین در ایسکمی و رپرفیوژن میوکارد، در سالهای اخیر استفاده از داروهای مهار کننده این سیستم به منظور پیشگیری و درمان آسیب ایسکمی رپرفیوژن میوکارد مورد توجه قرار گرفته است [۵]. لوزارتان یک داروی مهار کننده گیرنده نوع یک آنژیوتانسین (AT1) می‌باشد که بعنوان یک داروی ضد فشار خون به بازار عرضه شد اما مطالعات سال‌های اخیر از جمله مطالعه گروه ما نشان داده است که این دارو مستقل از اثر ضد فشار خونی، می‌تواند با اثر مستقیم بر کاردیومیوسیت‌ها اثرات کاردیوپروتکتیو در قلب اعمال نماید که بسیار به دوز و مدت زمان استفاده دارو وابسته است به طوریکه در مطالعه قبل ما مصرف دوز نسبتاً پایین و غیر موثر بر فشار خون داروی لوزارتان به مدت یک هفته کاهش معنی داری در اندازه ناحیه انفارکت و شدت آریتمی‌های دوره ایسکمی ایجاد نکرد در حالیکه با افزایش مدت درمان به ۱۰ هفته اثرات آنتی ایسکمی قابل توجهی ایجاد گردید [۱۸].

با وجود جایگاه داروهای مهارکننده سیستم رنین- آنژیوتانسین در پیشگیری و درمان آسیب ناشی از ایسکمی میوکارد آمار رو به افزایش مرگ و میر ناشی از این بیماری قلبی شاهدی بر عدم کفایت این داروها در درمان است. مطالعات اخیر، ارتباط بین کمبود ویتامین D_3 و میزان وقوع بیماری‌های قلبی عروقی را به خوبی نشان داده‌اند [۱۴, ۱۷]. ویتامین D به طور عمده در پوست توسط تبدیل فتوشیمیایی ۷-دهیدروکلسترول به ویتامین D3 (کوله‌کلسیفرول) تولید می‌شود و با هیدروکسیلاسیون متوالی در کبد و کلیه‌ها به فرم فعال خود یعنی 1,25-dihydroxyvitamin D3 یا کلسیتریول تبدیل می‌گردد و سرانجام با اتصال به گیرنده‌های خود اثرات فیزیولوژیک گسترده‌ای را در سلول‌ها اعمال می‌کند. به عبارتی امروزه از ویتامین D به جای یک ویتامین بعنوان یک پره هورمون یاد می‌شود که با دارا بودن گیرنده‌های غشایی و هسته‌ای در اکثر سلول‌ها از جمله کاردیومیوسیت‌ها، سلولهای اندوتلیال و سلول‌های عضله صاف عروق نقشی فراتر از تنظیم کنندگی هموستاز کلسیم را به خود اختصاص داده است [۶, ۲۴]. تحقیقات نشان داده است که موش‌های فاقد گیرنده ویتامین D و یا آنزیم سنتز کننده ویتامین دچار اختلالات ساختاری و عملکردی در قلب هستند که به صورت هیپرتروفی و نارسایی میوکارد بروز می‌کند و درمان با ویتامین D و آنالوگ‌های آن از اختلالات مذکور پیشگیری می‌کند مصرف ویتامین D در موش‌های دچار نارسایی قلبی نیز بهبود قابل توجهی را در عملکرد بطن چپ ایجاد می‌کند [۱۳, ۱۶, ۲۲] اما نقش دقیق این ویتامین در کاهش آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن حاد میوکارد و به ویژه مکانیسمهای مولکولی مسوول، همچنان با ناشناخته‌های فراوانی روبروست. با وجود جایگاه ویژه لوزارتان در گروه داروهای کاردیوپروتکتیو و نیز اهمیت مصرف ویتامین D در افزایش سلامت قلب و عروق که در سالهای اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است گزارشی مبنی بر اثر سینرژیسم این دو دارو در افزایش مقاومت قلب در برابر ایسکمی ارائه نشده است لذا در مطالعه حاضر به بررسی اثر مصرف توام 1,25 dihydroxyvitamin D (ویتامین D3) و لوزارتان بر وقوع آریتمی های ناشی از رپرفیوژن میوکارد، سایز ناحیه انفارکت و نیز بیان فاکتورهای survival در بافت قلب ایسکمیک خواهیم پرداخت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی رت‌های نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم انجام گردید. حیوانات با سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ساعته و دسترسی آزاد به آب وغذا نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی انجام گرفت. هدف از این مطالعه در مرحله اول بررسی اثر مصرف همزمان لوزارتان و ویتامین D بر سایز ناحیه انفارکت بطن چپ بود بدین منظور حیوانات به ۵ گروه تقسیم شدند (n=10):

۱- گروه ایسکمی-رپرفیوژن(IR): در این گروه با انسداد شریان LAD به مدت ۳۰ دقیقه و باز کردن مجدد شریان به

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

مدت ۱۲۰ دقیقه مدل ایسکمی رپرفیوژن در حیوانات القا گردید. پس از تزریق اوانس بلو و رنگ‌آمیزی با تترازولیوم کلراید (TTC) اندازه ناحیه انفارکت تعیین گردید.

۲- گروه لوزارتان+ ایسکمی رپرفیوژن (Los+IR): این گروه از حیوانات لوزارتان (داروپخش-ایران) را با دوز ۱۰ mg/kg/day به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. سرم فیزیولوژیک بعنوان حلال لوزارتان مورد استفاده قرار گرفت. مطالعات قبل از جمله مطالعه پایلوت گروه ما نشان داد که مصرف لوزارتان با دوز مذکور که دوز نسبتاً پایین لوزارتان محسوب می‌گردد کاهش قابل توجهی در فشار خون حیوانات ایجاد نمی‌کند در مطالعه قبل گروه ما لوزارتان با دوز ۱۰ استفاده شده بود که به مدت ۱ هفته اثر قابل توجهی در کاهش آسیب ایسکمی نداشت اما افزایش دوره درمان به ۴ هفته اثرات آنتی ایسکمی این دارو را آشکار نمود لذا در مطالعه حاضر دارو با دوره درمان کوتاه‌تری استفاده گردید تا بتوانیم اثرات سینرژیسم احتمالی را بهتر مورد ارزیابی قرار دهیم.

۳- گروه ویتامین D_3 + ایسکمی رپرفیوژن (VitD+IR): حیوانات این گروه ویتامین D3 (1,25 dihydroxyvitamin D داروپخش-ایران) را به دوز 0.1μg/kg/day به مدت ۱۴ روز و با روش تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. سپس با انسداد شریان و بازکردن مجدد شریان مدل ایسکمی رپرفیوژن القا گردید.

۴- گروه شم دارو (Pro+IR): این گروه از حیوانات Propylene glycol را بعنوان حلال ویتامین D دریافت و سپس تحت ایسکمی رپرفیوژن قرار گرفتند.

۵- گروه لوزارتان+ ویتامین D_3+ ایسکمی رپرفیوژن (Los+VitD+IR): حیوانات این گروه لوزارتان و ویتامین D را به مدت ۱۴ روز دریافت کرده و سپس تحت القای ایسکمی رپرفیوژن میوکارد قرار گرفتند.

به منظور اطمینان از عدم تغییر قابل توجه در سطح سرمی ویتامین D_3 و کلسیم در گروه دریافت کننده ویتامین، در پایان رپرفیوژن نمونه خون از حیوان گرفته، بعد از سانتریفیوژ سرم را جداسازی نموده و میزان ویتامین D سرم اندازه‌گیری شد.

هدف دیگر از این مطالعه بررسی اثر لوزارتان و ویتامین بر میزان نسخه‌برداری ژن‌های survival در بافت ایسکمیک میوکارد بود. با توجه به اینکه جهت اندازه‌گیری سایز انفارکت از رنگ‌آمیزی استفاده گردید امکان انجام مطالعه مولکولی در بافت میوکارد ۵ گروه قبل فراهم نبود لذا در ۵ گروه دیگر از حیوانات، مشابه گروههای قبل تیمار با دارو و انجام جراحی صورت گرفت با این تفاوت که در پایان رپرفیوژن بافت ایسکمیک بطن چپ جهت انجام مطالعه مولکولی جمع‌آوری گردید (n=5).

با توجه به اینکه در تمام گروههای مورد آزمایش (گروههای مربوط به اندازه‌گیری سایز انفارکت و گروههای مولکولی) ثبت فشار خون و ECG صورت گرفت، در واقع داده‌های فشار خون، ضربان قلب و شدت آریتمی‌های دوره رپرفیوژن در گروههای با n=15 مورد آنالیز قرارگرفته است.

اندازه‌گیری سطح سرمی ویتامین D_3 و کلسیم: به منظور اطمینان از عدم تغییر قابل توجه در سطح سرمی ویتامین D و کلسیم در گروه دریافت کننده ویتامین، در پایان رپرفیوژن یک نمونه خون از حیوان گرفته بعد از سانتریفیوژ، سرم را جدا نموده میزان ویتامین D_3 سرم توسط کیت الایزا (Diasource Belgium) و نیز سطح کلسیم توسط کیت مخصوص (شرکت درمان کاو-ایران) به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

القای مدل ایسکمی – رپرفیوژن میوکارد: رت‌ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۵۰ mg/kg) بیهوش می‌شدند. الکترودهای الکتروکاردیوگرافی به‌صورت سنجاقهای زیر جلدی به حیوان وصل می‌شدند تا اشتقاق دوم الکتروکاردیوگرام ثبت گردد. سپس نای کانوله و به ونتیلاتور (تعداد تنفس ۸۰ بار در دقیقه و حجم یک میلی لیتر به ازاء هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) متصل می‌گردید (هاروارد- آمریکا). در ادامه شریان کاروتید چپ جهت ثبت فشار خون کانوله می‌شد تا فشار خون به‌طور مستقیم و مداوم ثبت گردد. سپس قفسه سینه در فضای بین دنده‌ای چهارم و پنجم باز شده و پس از پاره کردن پریکارد، نخ ۰-۵ سیلک از زیر شریان LAD عبور داده می‌شد بعد از گذشت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه که حیوان شرایط پایدار خود را مجدداً به دست می‌آورد مرحله بعدی یعنی ایسکمی شروع می‌گردید بدین صورت که دو سر نخ عبور داده شده از زیر رگ از درون یک تیوب کشیده و با تیوب دیگر فیکس می‌شد. انسداد شریان LAD به عنوان فاز ایسکمی به

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Real time RT-PCR

Gene	Primer Sequences
B-actin	F: 5′-AACCCTAAGGCCAACCGTGAAAAGAT-3′ R: 5′-ACCGCTCGTTGCCAATAGTGATG-3′
Trx-1	F: 5′-TTCCTTGAAGTAGACGTGGATGAC-3′ R: 5′-AGAGAACTCCCCAACCTTTTGAC-3′
Bcl-2	F: 5′-GATTGTGGCCTTCTTTGAGT-3′ R: 5′-ATAGTTCCACAA AGGCATCC-3′
Catalase	F: 5′-CTGACGTCCACCCTGACT -3′ R: 5′-GGCAGCTATGTGAGAGCC-3′

مدت ۳۰ دقیقه ادامه و سپس ۱۲۰ دقیقه ریرفیوژن صورت میگرفت. در پایان ریرفیوژن، مجدداً شریان LAD بسته شده و یک میلی لیتر اوانس بلو ۰/۵٪ از طریق دهلیز به داخل قلب تزریق می‌شد. در نهایت با شکافتن قفسه سینه به سرعت قلب جدا و برداشته می‌شد. در گروههای هدف اندازه‌گیری ناحیه انفارکت طبق دستورالعمل زیر اقدام می‌گردید و در گروههای هدف بررسی سطح mRNA پس از شستشو با محلول PBS سرد بلافاصله ناحیه فاقد رنگ آبی اوانس بلو به عنوان ناحیه ایسکمی جدا و به نیتروژن مایع منتقل می‌گردید [۱۸].

اندازه‌گیری ناحیه انفارکت: ۲ ساعت پس از فریز شدن، قلب که در قالب مخصوص برش قلب قرار گرفته بود به برش‌های دو میلی‌متری از نوک تا قاعده برش داده شد. برش‌ها به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در محلول حاوی TTC یک درصد و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. TTC (سیگما-آمریکا) در بافت‌های زنده با NADH و آنزیم دهیدروژناز واکنش می‌دهد و باعث رنگ گرفتن بافت می‌شود. سلول‌های مرده به دلیل پارگی غشای سلول این کوفاکتور و آنزیم را از دست داده و رنگ نمی‌گیرند. نواحی سالم که دچار مرگ سلولی نمی‌شوند به رنگ قرمز و نواحی انفارکت شده به رنگ روشن در می‌آیند. برش‌ها روی اسکنر قرار داده شدند و هر دو طرفشان با دقت ۳۰۰dpi اسکن شد. با استفاده از نرم‌افزار Image Tool مساحت نواحی ایسکمیک و انفارکت هر دو سطح برشها اندازه‌گیری شد و میانگین آنها لحاظ گردید. در پایان اندازه انفارکت به‌صورت درصدی از ناحیه ایسکمیک گزارش گردید.

بررسی آریتمی‌ها: تعریف و دسته بندی آریتمی های زمان ریرفیوژن بر اساس مدل Lambeth انجام شد [۳] با استفاده از الکتروکاردیوگرام ثبت شده در ریرفیوژن، اپی زود و شیوع ضربانات زودرس بطنی منفرد (PVC)[1]، بای ژمینی، سالووس و تاکیکاردی بطنی مشخص و تعداد هر کدام شمارش شد. هر کمپلکس QRS زودرس قابل تشخیص و مجزا بعنوان یک PVC شناخته شد. تعداد ۴ یا بیش از ۴ کمپلکس PVC پشت سر هم یک اپیزود تاکیکاردی بطنی در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در مدل ایسکمی ریرفیوژن استفاده شده در این مطالعه با برنامه زمانی ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه در موش صحرایی در زمان ایسکمی آریتمی قابل توجهی مشاهده نمی‌گردد و تنها بعد از بستن شریان st elevation مشاهده می‌گردد اما با شروع ریرفیوژن تعداد زیادی آریتمی در ECG ظاهر می‌گردد. بنابراین آریتمی‌های مورد مطالعه مربوط به دوره ریرفیوژن می‌باشند.

استخراج RNA و انجام RT-PCR: ابتدا بافت از فریزر خارج و بلافاصله توسط بافر RLT موجود در کیت استخراج RNA هموژنیزه گردید. RNA کل طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA مخصوص بافت‌های فیبروز (کیاژن-آمریکا) استخراج گردید. RNA تهیه شده بلافاصله برای سنتز cDNA استفاده شده و یا در فریزر ۸۰°C- نگه‌داری گردید. جهت محاسبه غلظت RNA در روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ جذب نوری رقت معینی از نمونه در طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت گردید. جهت تهیه cDNA واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™M-MuLVReversetranscriptas صورت گرفت (فرمنتاز) پس از بهینه سازی واکنش PCR، cDNA مربوط به گروه‌های مورد آزمایش توسط MasterMix (تاکارا) حاوی سایبرگرین و پرایمرهای اختصاصی تحت واکنش

1. Premature ventricular complex (PVC)

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

جدول ۲. غلظت کلسیم و ویتامینD در سرم رتهای گروه ایسکمی رپرفیوژن (IR) و گروه تیمار شده با ویتامین D_3 (VitD+IR)، دادههـا بـه صـورت Mean±S.D. نشان داده شدهاند.

Groups	Serum concentration of Vitamin D(ng/mL)	Serum concentration of Calcium(mg/dL)
IR	57.42±8.4	9.16±0.6
VitD+IR	63.39±6.1	9.01±1.1

جدول ۳. تغییرات فشار خون متوسط شریانی (MAP) و ضربان قلب قبل از بستن شریان LAD (فشار خون پایه)، ۴ دقیقه بعد از بستن شریان (فشار خون ایسکمی) و در پایان رپرفیوژن (فشار خون زمان نمونهبرداری) در گروههای ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR) و گروههای تیمار شده با ویتـامین D_3 (VitD)، Propylene glycol بعنوان حلال ویتامین (Pro) و لوزارتان (Los)، دادهها به صورت Mean±S.D. نشان داده شدهاند. P<0.05* و P<0.01** در مقایسه با فشار خون پایه در همان گروه سنجیده شده است. (n=15)

Groups	Baseline		4 min after LAD occlusion		End of reperfusion	
	MAP	HR	MAP	HR	MAP	HR
IR	113 ± 10.2	387 ± 17	76.1 ± 8.4*	419 ± 23	109 ± 7.6	403 ± 24
Vit. D + IR	118 ± 8.7	372 ± 21	89± 10.6	390 ± 31	99.2 ± 10.1	396± 20
Pro + IR	109±9.3	393 ± 26	86.8 ± 11.2	408 ± 19	101.8 ± 11.7	379 ± 28
Los + IR	116 ± 11.2	369 ± 29	81.1 ± 13.7**	374 ± 25	104 ± 13.2	386 ± 31
Vit. D + Los + IR	107 ± 10.4	398 ± 31	78.2 ± 9.8*	414 ± 16	112 ± 9.8	375 ± 26

RT-PCR قرار گرفتند. تـوالی پرایمرهـای مـورد اسـتفاده در جدول شماره ۱ خلاصه شده اسـت. ژن بتـا-اکتـین را بعنـوان رفرانس در نظر گرفته و محاسبه نسبت بیان ژن هدف بـه ژن رفرانس مطابق روش Pfaffle صورت گرفت.

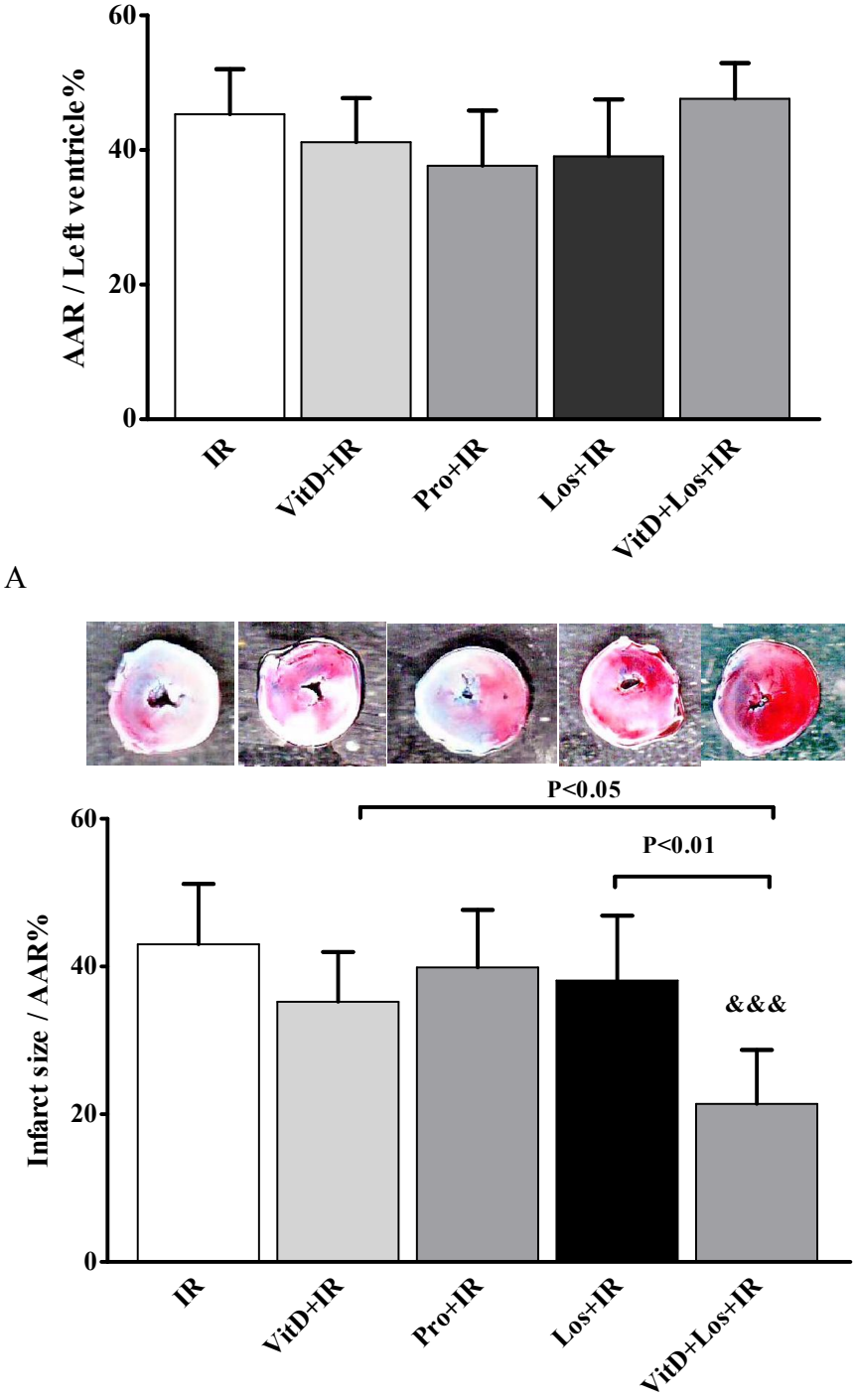
آنالیز آماری: پارامترهای همودینامیک در هـر گـروه بـا آزمون آماری paired t-test مورد آنالیز قرار گرفـت. مقایسـه آریتمیهای قلبی و پارامترهای همودینامیکی بـین گروههـای مختلف توسط تست Kruskal-Wallis و Dunn's multiple comparison post-test صورت گرفت. سطح نسخهبـرداری ژنهای هدف در بین گروههای مختلف با آنالیز واریانس یـک طرفه (ANOVA) و تست متعاقب Tukey مقایسـه گردیـد. دادهها بر اساس Mean ± SD. نشان داده شدهانـد. P<0.05 ملاک معنیداری در نظر گرفته شده است.

یافته ها

تغییرات سطح سرمی ویتامین D_3 و کلسـیم در پاسـخ بـه مصرف ویتامین: نتیجه اندازهگیـری ویتـامین D_3 و کلسـیم در سرم موشهای گروه IR و گروه VitD+IR کـه در جـدول ۲ نشـان داده شـده اسـت حـاکی از آن اسـت کـه در گـروه VitD+IR سطح ویتامین D_3 در سرم 63.39±6.1 نانوگرم در میلی لیتر و سطح کلسیم 9.01±1.1 میلیگـرم در دسـیلیتـر است که نسبت به گروه IR اختلاف معنیداری نشان نمیدهد.

تغییـرات فشـار خـون و ضـربان قلـب در طـی ایسـکمی رپرفیـوژن در پاسـخ بـه ویتـامین D_3 و لوزارتـان: در ابتـدای آزمایش شریان کاروتید کانوله و کاتتر درون آن به ترانسدیوسر فشار متصل میگردید همچنین لیدهای ثبت الکتروکاردیوگرام نیز به اندامهای مربوطه متصـل مـیشـدند بنـابراین در طـول آزمایش فشار خون و الکتروکاردیوگرام بـه طـور مـداوم ثبـت میگردید. فشار خون و ضربان قلـب حیوانـات قبـل از بسـتن LAD و اعمال ایسکمی به عنوان فشـارخون و ضـربان قلـب پایه در نظر گرفته میشود. بلافاصله بعد از بستن شریان، فشار خون به طور ناگهانی کاهش مییافت. افت فشار تا ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بعد از انسداد ادامه و مجدداً شروع به افزایش میکرد. در این مطالعه فشار خون حیوانات ۴ دقیقـه بعـد از بسـتن LAD بعنوان فشـار خـون بعـد از ایسـکمی و فشـار خـون در پایـان رپرفیوژن بعنوان فشار پایانی یا فشار زمان sampling در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که در طی مرحلـه ایسـکمی فشـار خون در هر گروه نسبت به سطح پایـه کـاهش مـییابـد. امـا اختلاف معنی داری در میزان فشـار خـون و ضـربان قلـب در

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

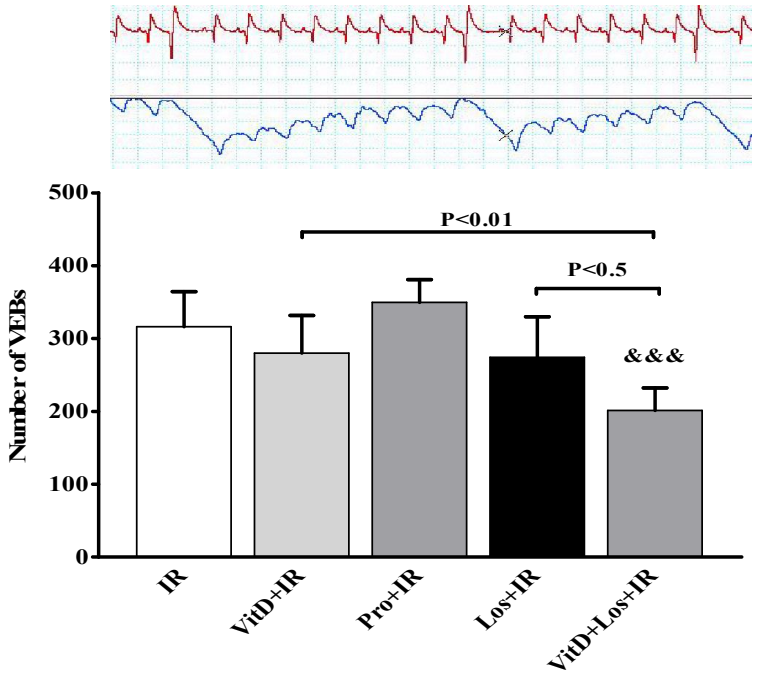


شکل ۱- نسبت اندازه ناحیه ایسکمی یا ناحیه در معرض خطر (AAR) به بطن چپ در گروههای آزمایش (A). بعد از تزریق رنگ اوانس بلو به داخل دهلیز ناحیه فاقد رنگ قلب اندازه‌گیری و بعنوان ناحیه ایسکمی در نظر گرفته شده است. بعد از قرارگیری برش‌های قلب در محلول TTC ناحیه سفید رنگ بعنوان ناحیه انفارکت قابل تشخیص و اندازه‌گیری می‌باشد که به صورت درصد نسبت به ناحیه ایسکمی در گروههای ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR) و گروههای تیمار شده با ویتامینD_3 (VitD)، Propylene glycol بعنوان حلال ویتامین (Pro) و لوزارتان (Los) گزارش گردیده است (B). داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند. $P<0.001^{\&\&\&}$ در مقایسه با گروه IR سنجیده شده است. (n=10)

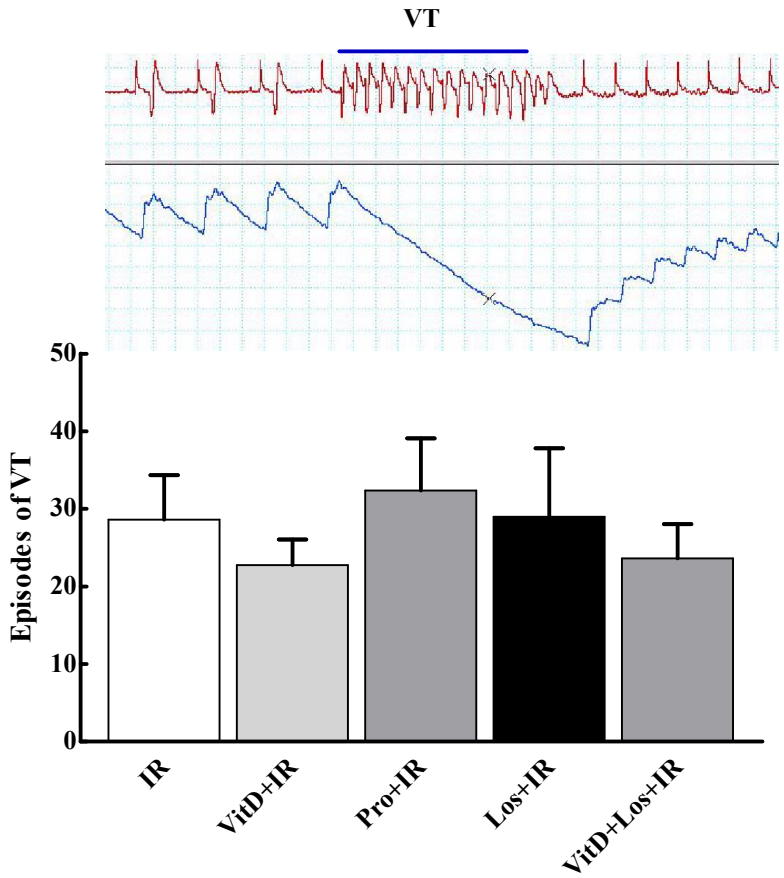
شرایط پایه، ایسکمی و رپرفیوژن بین گروه‌های مختلف تحت مطالعه مشاهده نگردید (جدول۳).

اثر ویتامین D_3 و لوزارتان بر اندازه ناحیه انفارکت بطن چپ: همانطور که اشاره شد بعد از تزریق اوانس بلو ناحیه فاقد رنگ بعنوان ناحیه ایسکمی در نظر گرفته می‌شود نتایج حاصل از اندازه‌گیری این ناحیه نسبت به مساحت بطن چپ در

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

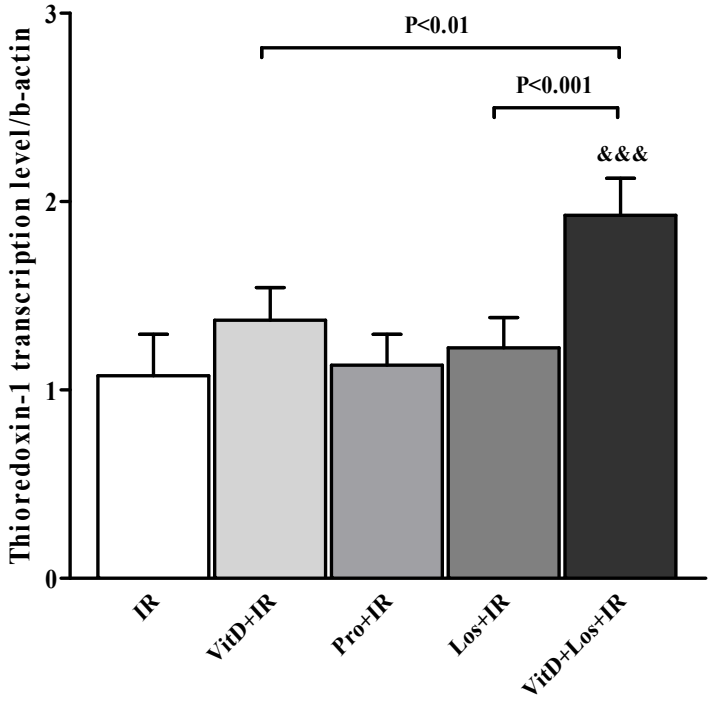


شکل ۲- تعداد کل ضربانات نابجای بطنی(VEBs) طی دوره رپرفیوژن در موشهای تحت ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR) و گروههای تیمار شده با ویتامین(VitD)، Propylene glycol بعنوان حلال ویتامین (Pro) و لوزارتان (Los). داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند. $P<0.001^{\&\&\&}$ در مقایسه با گروه IR سنجیده شده است. (n=15)

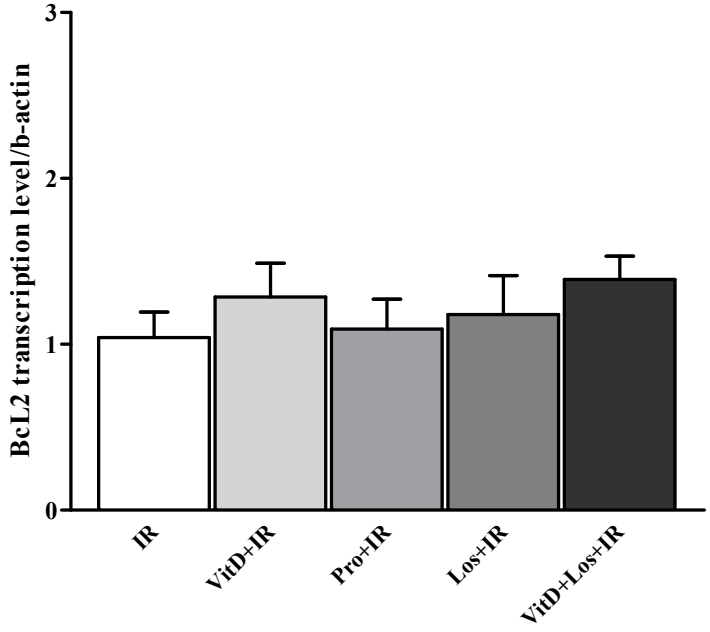


شکل۳- تعداد وقوع تاکیکاردی بطنی(VT) طی دوره رپرفیوژن در موشهای تحت ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR) و گروههای تیمار شده با ویتامین D_3 (VitD)، Propylene glycol بعنوان حلال ویتامین (Pro) و لوزارتان (Los). داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند. (n=15)

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017



4A

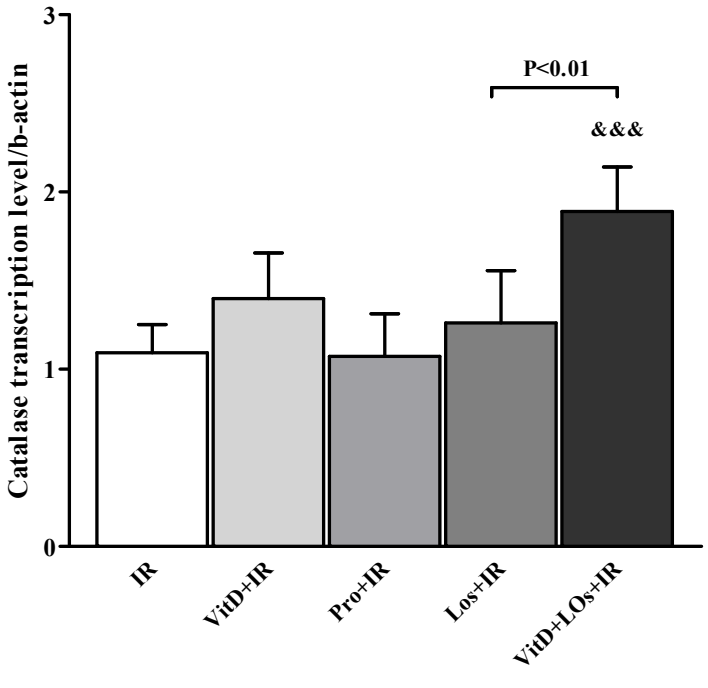


4B

گروههای مختلف آزمایش در شکل ۱-A نشان داده شده و حاکی از آن است که در بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری وجود ندارد که نشان‌دهنده عدم تفاوت در الگوی ایسکمی در گروه‌های مختلف می‌باشد. رنگ‌آمیزی با TTC ناحیه انفارکت را مشخص می‌سازد همانگونه که در شکل ۱-B نشان داده شده است درصد اندازه ناحیه انفارکت نسبت به ناحیه ایسکمی در گروه ایسکمی رپرفیوژن 8.1%±43 است. در گروه‌های VitD+IR و Los+IR اندازه ناحیه انفارکت به ترتیب 6.7%±35.2 و 8.8%±38.1 بود که کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان نمی‌دهد. این در حالیست که در گروه Los+VitD+IR شاهد کاهش معنی‌دار اندازه ناحیه انفارکت در مقایسه با گروه IR بودیم. (P<0.001, 7.3%±21.4) نکته جالب توجه این است که این کاهش در مقایسه با گروههای VitD+IR و Los+IR نیز به ترتیب با P<0.05 و P<0.01 معنی‌دار می‌باشد.

اثر ویتامین D_3 و لوزارتان بر آریتمی‌های دوره رپرفیوژن:

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017



4C

شکل٤- تغییرات سطح mRNA فاکتورهای تیوردوکسین ۱،BcL2 و کاتالاز در ناحیه ایسکمی بطن چپ موشهای تحت ایسکمی رپرفیوژن بدون درمان (IR) و گروههای تیمار شده با ویتامین (VitD)، Propylene glycol بعنوان حلال ویتامین (Pro) و لوزارتان (Los). داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند.$P<0.001^{\&\&\&}$ در مقایسه با گروه IR سنجیده شده است. (n=5)

بررسی الکتروکاردیوگرام ثبت شده از حیوانات حاکی از ظهور تعداد زیادی آریتمی قلبی در شروع رپرفیوژن است که تجزیه و تحلیل آنها طبق مدل لامبس نشان می‌دهد که تعداد ضربانات زودرس بطنی در گروه VitD+IR حدود 51±280 و در گروه Los+IR این تعداد 54±274 ضربان می‌باشد که در هیچ‌یک از گروه‌های مذکور این کاهش معنی‌دار نمی‌باشد. بررسی آریتمی‌ها در گروه Los+VitD+IR نشان میدهد که تعداد ضربانات زودرس بطنی به 32±201 ضربه کاهش یافته است که در مقایسه با گروه IR کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P<0.001$). کاهش VEBsدر این گروه نسبت به گروههای VitD+IR و Los+IR نیز به ترتیب با $P<0.01$ و $P<0.05$ معنی‌دار می‌باشد (شکل ۲). شمارش تعداد اپیزودهای تاکی‌کاردی بطنی در گروههای دارو کاهش معنی‌داری نسبت به گروه IR نشان نداد (شکل ۳).

اثر ویتامین D_3 و لوزارتان بر میزان نسخه‌برداری ژن‌های تیوردوکسین، کاتالاز و BcL2: بررسی میزان نسخه‌برداری از فاکتورهای survival در پاسخ به ویتامین D و لوزارتان نشان می‌دهد که در گروه VitD+IR و گروه Los+IR سطح mRNA تیوردوکسین ۱ نسبت به گروه IR افزایش معنی‌داری نشان نمی‌دهد در حالیکه در گروه Los+VitD+IR سطح mRNA تیوردوکسین به 93±19% افزایش یافت که نسبت به گروه‌های IR و Los+IR با $P<0.001$ و نسبت به گروه VitD+IRبا $P<0.01$ افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

مصرف ویتامین D_3 و لوزارتان به صورت مجزا و مصرف توام اثری بر معنی‌داری بر سطح mRNA BcL2 در میوکارد ایسکمیک نداشت. این در حالیست که سطح mRNA آنزیم کاتالاز در گروه Los+VitD+IR به میزان 25%±89 افزایش داشت که نسبت به گروههای IR ($P<0.001$) و Los+IR ($P<0.01$) معنی‌دار می‌باشد (شکل ۴).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مصرف توام دوز غیر موثر بر ایسکمی لوزارتان و ویتامین D_3 می‌تواند با افزایش فاکتورهای survival، قلب را در برابر آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن میوکارد محافظت نموده و اندازه ناحیه انفارکت و شدت آریتمی‌های دوره رپرفیوژن را کاهش دهد.

مطالعه قبل گروه ما نشان داد که استفاده از لوزارتان با دوز 10mg/kg/day به مدت ۱ هفته در موش‌های صحرایی

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

اثرات کاردیوپروتکتیو قابل ملاحظه‌ای در قلب اعمال نمی‌کند و بروز اثرات آنتی‌ایسکمیک دوز مذکور مستلزم افزایش دوره درمان به حداقل ۴ هفته می‌باشد. در خصوص ویتامین D_3 نیز مطالعه اخیر گروه ما نشان داد استفاده از ویتامین D_3 با دوز مذکور به مدت ۱۴ روز کاهش معنی‌داری در اندازه ناحیه انفارکت ایجاد نمی‌کند. لذا در مطالعه مذکور از دوزهای نسبتاً کم و غیر موثر دارو استفاده شد تا بهتر بتوان در خصوص اثرات سینرژیسم احتمالی آنها قضاوت نمود.

یکی دیگر از معیارهای انتخاب دوزهای مذکور عدم تاثیر دارو بر فشارخون حیوان بود. مطالعه قبل نشان داده بود که لوزارتان با دوز مذکور فشار خون شریانی را به طور معنی دار کاهش نمی‌دهد. در خصوص ویتامین D_3 نیز مطالعه Wong و همکارانش نشان داد که مصرف ویتامین D_3 با دوز ۱۰ نانوگرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در حیوانات سالم فشارخون را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد که در مطالعه حاضر نیز مورد تایید قرار گرفت [۲۵]. با توجه به اینکه مصرف ویتامین D_3 ارتباط مستقیم با سطح سرمی ویتامین و همچنین سطح سرمی کلسیم دارد به منظور اطمینان از عدم تغییر قابل توجه پارامترهای مذکور در پاسخ به مصرف ویتامین در پایان هر آزمایش نمونه سرم خون را جدا کرده و اندازه گیری ویتامین D_3 انجام گردید. همانگونه که جدول۲ نشان می‌دهد مصرف دوز مذکور ویتامین D_3 افزایش قابل ملاحظه ای در سطح سرمی ویتامین D_3 و کلسیم ایجاد نکرد بنابراین دوز مورد استفاده در واقع دوز اصطلاحاً غیرکلسیمیک ویتامین D_3 بوده است.

در مطالعه kang و همکارانش مصرف paricalcitol به عنوان آنالوگ ویتامین D_3 اندازه ناحیه انفارکت را به طور قابل توجهی کاهش داد اما در این مطالعه ایسکمی به طور مزمن ایجاد گردید به طوریکه اندازه ناحیه انفارکت ۴ هفته بعد از بستن شریان LAD مورد بررسی قرار گرفت بنابراین دارو نیز به مدت طولانی (۵ هفته) مورد استفاده قرار گرفت [۱]. در مطالعه ما ویتامین D_3 به فرم *1,25-dihydroxyvitaminD3* با دوز و دوره درمان نسبتاً کوتاهتر مورد استفاده قرار گرفت که می‌توان عدم تاثیر آن بر اندازه ناحیه انفارکت را به دوز و دوره درمان نسبت داد.

مکانیسم‌های مسوول اثرات کاردیوپروتکتیو ویتامین D_3 همچنان ناشناخته‌اند اما بر اساس مطالعات گذشته، مهار سیستم رنین آنژیوتانسین یکی از تارگت‌های اصلی این ویتامین است. ارتباط معکوس بین سطح سرمی ویتامین و فعالیت رنین پلاسما نشان داده شده است به طوریکه ویتامین D بعنوان یک negative regulator سیستم رنین آنژیوتانسین معرفی شده است [۲۷, ۲۹]. در موش‌های فاقد گیرنده ویتامین هیپرتانسیون و هیپرتروفی میوکارد به واسطه افزایش بیان رنین، آنژیوتانسین و آلدوسترون ایجاد می‌گردد [۲۶]. لوزارتان نیز یک مهار کننده گیرنده مخرب AT1 آنژیوتانسین است. بنابراین مهار سیستم رنین آنژیوتانسین می‌تواند از مکانیسم‌های مشترک عملکرد لوزارتان و ویتامین D_3 باشد. یکی از عواملی که بهره‌مندی کامل از ترکیبات مهارکننده سیستم رنین آنژیوتانسین و از جمله لوزارتان را محدود می‌سازد افزایش جبرانی تولید رنین در کلیه‌ها و بافت میوکارد است که در نهایت تولید Ang II را افزایش میدهد. از طرفی مطالعات نشان داده است که ویتامین D_3 سنتز رنین را کاهش می‌دهد [۲۷]. دو مطالعه اخیر بر روی هیپرتروفی میوکارد و نفروپاتی دیابتیک نشان دادند که استفاده توأم ویتامین D_3 و لوزارتان می‌تواند با پیشگیری از افزایش رنین اثرات پروتکتیو قابل توجهی اعمال نماید. به طوریکه مصرف توام آنالوگ ویتامین D_3 و لوزارتان سطح پپتیدهای ناتریورتیک دهلیزی و مغزی (ANP و BNP) را به طور قابل توجهی کاهش و کسر تخلیه را افزایش داد. لازم به ذکر است که در مطالعه مذکور لوزارتان با دوز 30 mg/kg/day به مدت ۲ ماه (در آب آشامیدنی) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین بیان رنین در گروه لوزارتان افزایش یافته بود که با مصرف توام هر دو دارو کاهش یافت [۹, ۲۸].

در مطالعه حاضر مصرف لوزارتان و ویتامین D_3 وقوع آریتمی های دوره ریرفیوژن را به طور قابل ملاحظه ای کاهش داد. یکی از عوامل مهم در وقوع آریتمی ها برهم خوردن هموستاز کلسیم در سلولهای قلبی است. مطالعات گذشته نشان داده است که ویتامین D_3 با اثرات غیر ژنومی و ژنومی عملکرد کانال های کلسیمی را تحت تاثیر قرار می‌دهد بنابراین کاهش وقوع آریتمی‌های دوره ریرفیوژن توسط لوزارتان و ویتامین D_3 می‌تواند ناشی از اثرات سینرژیسم احتمالی آنها در تنظیم محتوای کلسیم در کاردیومیوسیت ها

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

باشد که اثبات این فرضیه مستلزم انجام مطالعات دقیق‌تر در این زمینه است. برخی مطالعات به اثر غیر مستقیم ویتامین بر قلب از طریق تنظیم کلسیم اشاره کرده و بر این باورند که ویتامین D_3 با تقویت عملکرد غده پاراتیروئید و افزایش سطح سرمی کلسیم قدرت انقباض قلب را افزایش می‌دهد [۲۰, ۲۱]. در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری در سطح سرمی کلسیم مشاهده نشد بنابراین به نظر می‌رسد اثرات مستقیم ویتامین بر کاردیومیوسیت‌ها نسبت به اثرات غیر مستقیم بر سطح سرمی کلسیم غالب باشد هرچند نمی‌توان قضاوتی در خصوص اثر ویتامین بر تغییرات سطح کلسیم در کاردیومیوسیت‌ها داشت.

گزارشاتی مبنی بر اثر کاهندگی فشار خون توسط ویتامین D_3 ارائه شده است. مطالعات نشان داده اند که بین سطح سرمی ویتامین و فشار خون سیستولی و دیاستولی افراد رابطه معکوس وجود دارد و در افراد مبتلا به هیپرتانسیون سطح سرمی ویتامین نسبت به افراد با فشار خون طبیعی پایین‌تر است [۱۹]. گروهی از محققان کاهش فشار خون افراد بعد از مواجه شدن با نور ماورای بنفش را نیز به افزایش تولید ویتامین D نسبت داده‌اند [۱۰]. به نظر می‌رسد مهمترین مکانیسم پیشنهاد شده برای اثر هیپوتانسیون ویتامین همچنان مهار سیستم رنین آنژیوتانسین باشد. در مطالعه ما ویتامین D_3 اثری بر سطح فشار خون شریانی نداشت که می‌توان علت آن را دوز نسبتاً پایین ویتامین دانست. ارتباط بین ویتامین D و شیوع بیماری‌های عروق کرونر نیز بسیار مورد توجه محققان قراتر گرفته است ویتامین D ریسک فاکتورهای ابتلا به تنگی عروق کرونر مانند دیابت و هیپرتانسیون را تشدید می‌کند اما از طرفی با اثر مستقیم بر اندوتلیوم رگ نیز کلسیفیکاسیون رگهای کرونر را کاهش داده و در نهایت احتمال وقوع ایسکمی میوکارد را کاهش می‌دهد [۲۳, ۳۰].

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر مصرف همزمان لوزارتان و ویتامین D_3 اثری بر پارامترهای همودینامیکی شامل فشارخون و ضربان قلب نداشت این احتمال تقویت می‌گردد که مصرف لوزارتان و ویتامین D با اثر مستقیم بر کاریومیوسیت ها و فعال کردن مسیرهای survival، سلول‌های قلبی را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت نماید. لذا در این مطالعه سطح بیان ژن‌های تیوردوکسین ۱، BCL2 و کاتالاز نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. تیوردوکسین ۱ یکی از فاکتورهای survival مهم داخل سلول‌های قلبی است که باعث افزایش مقاومت کاردیومیوسیت‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و از جمله ایسکمی می‌گردد [۴]. Bcl-2 یکی از تنظیم کننده‌های اصلی مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در قلب است که با سرکوب فاکتورهای آپوپتوتیک مانند P53 کاردیومیوسیت‌ها را در برابر آپوپتوز محافظت می‌نماید. موش‌های Bcl2-overexpressed نیز بعد از القای ایسکمی دارای تعداد سلولهای آپوپتوتیک کمتر بوده و اندازه ناحیه انفارکت ناشی از ایسکمی در آنها کوچکتر است [۲, ۸]. کاتالاز نیز یک آنزیم کاملاً شناخته شده است که از طریق سم‌زدایی H202 مقاومت قلب را به آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر مصرف توام ویتامین D_3 و لوزارتان بیان Bcl2 را در قلب تغییر نداد اما بیان کاتالاز ویتوردوکسین۱ در بافت ایسکمیک قلب به طور معنی‌داری در پاسخ به مصرف توام داروهای مذکور افزایش یافت که بیانگر فعال شدن مسیرهای حفاظتی در کاردیومیوسیت‌ها توسط ویتامین D_3 و لوزارتان است به عبارتی افزایش تولید فاکتورهای حفظ حیات سلول مانند کاتالاز و تیوردوکسین۱ می‌تواند از مکانیسم‌های بروز اثرات ضد ایسکمی ویتامینD_3 و لوزارتان در قلب باشد.

از یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که می‌توان با استفاده از دوز نسبتاً پایین و غیر موثر بر فشار خون ویتامین D_3 و لوزارتان قلب را در برابر آسیب ایسکمی رپرفیوژن محافظت نموده و اندازه ناحیه انفارکت و شدت آریتمی‌های قلبی ناشی از رپرفیوژن را کاهش داد. شناسایی مکانیسم‌های مولکولی مشترک بین ویتامین D_3 و لوزارتان مستلزم بررسی‌های دقیق‌تر در این زمینه است.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی می‌باشد. نویسندگان این مقاله نهایت سپاسگزاری خود را از جناب آقای دکتر نقدی جهت تامین داروی لوزارتان و ویتامین D_3 اعلام می‌دارند.

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

References

[1] Bae S, Singh S S, Yu H, Lee J Y, Cho B R,Kang P M, Vitamin d signaling pathway plays an important role in the development of heart failure after myocardial infarction. ***J Appl Physiol*** 114 (2013) 979-87.

[2] Chen Z, Chua C C, Ho Y S, Hamdy R C,ChuaB H, Overexpression of bcl-2 attenuates apoptosis and protects against myocardial i/r injury in transgenic mice. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 280 (2001) H2313-20.

[3] Curtis M J, Hancox J C, Farkas A, Wainwright C L, Stables C L, Saint D A, Clements-Jewery H, Lambiase P D, Billman G E, Janse M J, Pugsley M K, Ng G A, Roden D M, Camm A J,Walker M J, The lambeth conventions (ii): Guidelines for the study of animal and human ventricular and supraventricular arrhythmias. ***Pharmacol Ther*** 139 (2013) 213-48.

[4] Das DK, Thioredoxin regulation of ischemic preconditioning. ***Antioxid Redox Signal*** 6 (2004) 405-12.

[5] de Cavanagh E M, Inserra F,Ferder L, Angiotensin ii blockade: A strategy to slow ageing by protecting mitochondria? Cardiovasc Res 89 (2011) 31-40.

[6] DeLuca H F, Overview of general physiologic features and functions of vitamin d. ***Am J Clin Nutr*** 80 (2004) 1689S-96S.

[7] Griendling K K,Ushio-Fukai M, Reactive oxygen species as mediators of angiotensin ii signaling. ***Regul Pept*** 91 (2000) 21-7.

[8] Gustafsson A B,Gottlieb R A, Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart. ***Am J Physiol Cell Physiol*** 292 (2007) C45-51.

[9] Kong J, Kim G H, Wei M, Sun T, Li G, Liu S Q, Li X, Bhan I, Zhao Q, Thadhani R,Li Y C, Therapeutic effects of vitamin d analogs on cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. ***Am J Pathol*** 177 (2010) 622-31.

[10] Krause R, Buhring M, Hopfenmuller W, Holick M F,Sharma A M, Ultraviolet b and blood pressure. ***Lancet*** 352 (1998) 709-10.

[11] Larkin J E, Frank B C, Gaspard R M, Duka I ,Gavras H,Quackenbush J, Cardiac transcriptional response to acute and chronic angiotensin ii treatments. ***Physiol Genomics*** 18 (2004) 152-66.

[12] Matsuhisa S, Otani H, Okazaki T, Yamashita K, Akita Y, Sato D, Moriguchi A, Imamura H,Iwasaka T, Angiotensin iitype 1 receptor blocker preserves tolerance to ischemia-reperfusion injury in dahl salt-sensitive rat heart. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 294 (2008) H2473-9.

[13] Nibbelink K A, Tishkoff D X, Hershey S D, Rahman A,Simpson R U, 1,25(oh)2-vitamin d3 actions on cell proliferation, size, gene expression, and receptor localization, in the hl-1 cardiac myocyte. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 103 (2007) 533-7.

[14] Norman P E,Powell J T, Vitamin d and cardiovascular disease. ***Circ Res*** 114 (2014) 379-93.

[15] Omura T ,Yoshiyama M, Ishikura F, Kobayashi H, Takeuchi K, Beppu S,Yoshikawa J, Myocardial ischemia activates the jak-stat pathway through angiotensin ii signaling in in vivo myocardium of rats. ***J Mol Cell Cardiol*** 33 (2001) 307-16.

[16] Przybylski R, McCune S, Hollis B,Simpson R U, Vitamin d deficiency in the spontaneously hypertensive heart failure [shhf] prone rat. ***Nutr Metab Cardiovasc Dis*** 20 (2010) 641-6.

[17] Reddy Vanga S, Good M, Howard P A,Vacek J L, Role of vitamin d in cardiovascular health. ***Am J Cardiol*** 106 (2010) 798-805.

[18] Safari F, Hajizadeh S, Shekarforoush S, Bayat G, Foadoddini M,Khoshbaten A, Influence of ramiprilat and losartan on ischemia reperfusion injury in rat hearts. ***J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*** 13 (2012) 29-35.

[19] Scragg R, Sowers M,Bell C, Serum 25-hydroxyvitamin d, ethnicity, and blood pressure in the third national health and nutrition examination survey. ***Am J Hypertens*** 20 (2007) 713-9.

[20] Selles J, Massheimer V, Santillan G, Marinissen M J,Boland R, Effects of calcitriol and its analogues, calcipotriol (mc 903) and 20-epi-1alpha,25-dihydroxyvitamin d3 (mc 1288), on calcium influx and DNA synthesis in cultured muscle cells. ***Biochem Pharmacol*** 53 (1997) 1807-14.

[21] Shan J, Resnick L M, Lewanczuk R Z, Karpinski E, Li B,Pang PK, 1,25-dihydroxyvitamin d as a cardiovascular hormone. Effects on calcium current and cytosolic free calcium in vascular smooth muscle cells. ***Am J Hypertens*** 6 (1993) 983-8.

[22] Simpson R U, Hershey S H,Nibbelink K A, Characterization of heart size and blood pressure in the

Downloaded from phypha.ir at 14:42 +0430 on Saturday May 6th 2017

vitamin d receptor knockout mouse. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 103 (2007) 521-4.

[23] Sugden J A, Davies J I, Witham M D, Morris A D, Struthers A D, Vitamin d improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus and low vitamin d levels. ***Diabet Med*** 25 (2008) 320-5.

[24] Wang Y, Zhu J, DeLuca H F, Where is the vitamin d receptor? ***Arch Biochem Biophys*** 523 (2012) 123-33.

[25] Wong M S, Delansorne R, Man R Y, Svenningsen P, Vanhoutte P M, Chronic treatment with vitamin d lowers arterial blood pressure and reduces endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 299 (2010) H1226-34.

[26] Xiang W, Kong J, Chen S, Cao L P, Qiao G, Zheng W, Liu W, Li X, Gardner DG,Li Y C, Cardiac hypertrophy in vitamin d receptor knockout mice: Role of the systemic and cardiac renin-angiotensin systems. ***Am J Physiol Endocrinol Metab*** 288 (2005) E125-32.

[27] Yuan W, Pan W, Kong J, Zheng W, Szeto F L, Wong K E, Cohen R, Klopot A, Zhang Z, Li Y C, 1,25-dihydroxyvitamin d3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic amp response element in the renin gene promoter. ***J Biol Chem*** 282 (2007) 29821-30.

[28] Zhang Z, Zhang Y, Ning G, Deb D K, Kong J,Li Y C, Combination therapy with at1 blocker and vitamin d analog markedly ameliorates diabetic nephropathy: Blockade of compensatory renin increase. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 105 (2008) 15896-901.

[29] Zhou C, Lu F, Cao K, Xu D, Goltzman D,Miao D, Calcium-independentand 1,25(oh)2d3-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1alpha-hydroxylase knockout mice. ***Kidney Int*** 74 (2008) 170-9.

[30] Zittermann A, Fischer J, Schleithoff S S, Tenderich G, Fuchs U, Koerfer R, Patients with congestive heart failure andhealthy controls differ in vitamin d-associated lifestyle factors. ***Int J Vitam Nutr Res*** 77 (2007) 280-8.