IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۳۹۸ ، دوره ۱، شماره ۳، پیاپی ۹، صفحه ۶۲-۵۲

مقاله پژوهشی

تاثیر توام ویلداگلیپتین و پسا–آمادگی ایسکمیک بر انفارکتوس قلبی و میزان بیان میکروریبونوکلئیک اسید ۱۴۰ و ۱۲۵b و به دنبال آسیب ایسکمی–پرفیوژن مجدد قلب موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو

لاله پیرزه[۱]، وهاب باباپور[۱]، رضا بدل‌زاده[۳،۴]*، نگار پناهی[۵]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

دریافت: ۲۷ آذر ۱۳۹۷ پذیرش: ۳ اسفند ۱۳۹۷

چکیده

زمینه و هدف: در این مطالعه، اثر درمان توام داروی ضد دیابتی ویلداگلیپتین و پسا–آمادگی ایسکمیک بر اندازه انفارکتوس و بیان میکروریبونوکلئیک اسیدهای ۱۴۰ و ۱۲۵b (به عنوان تنظیم‌گرهای دینامیک میتوکندری در آسیب ایسکمی–پرفیوژن مجدد قلبی) در موش صحرایی (رت) مبتلا به دیابت نوع دو بررسی شد.

روش‌ها: دیابت مزمن با استفاده از رژیم پرچرب و دوز پایین استرپتوزوتوسین در طی ۳ ماه به رت‌ها القا شد. در ماه آخر دوره دیابتی، ویلداگلیپتین به مدت چهار هفته روزانه خوراکی تجویز شد و آسیب ایسکمی–پرفیوژن مجدد به صورت ناحیه‌ای توسط بستن شریان کرونری نزولی چپ قدامی به مدت ۳۵ دقیقه و باز شدن آن به مدت ۶۰ دقیقه القا شد. پروتکل پسا–آمادگی ایسکمیک در شروع پرفیوژن مجدد به صورت ۶ دوره متناوب ۱۰ ثانیه‌ای ایسکمی و پرفیوژن مجدد انجام شد. پس از نمونه‌برداری از ناحیه ایسکمیک بطن چپ، اندازه ناحیه در معرض خطر انفارکتوس قلبی به روش پلانیمتری بررسی و بیان میکروریبونوکلئیک اسید ۱۴۰ و ۱۲۵b در بطن چپ با استفاده از روش real-time PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: ویلداگلیپتین همراه با پسا–آمادگی ایسکمیک توانست میزان انفارکتوس میوکارد را نسبت به گروه دیابتی تیمارنشده کاهش دهد ($p < ۰/۰۵$)، از افزایش بیان میکروریبونوکلئیک اسید ۱۴۰ ناشی از آسیب ایسکمی–پرفیوژن مجدد در قلب دیابتی جلوگیری کند و باعث افزایش بیان میکروریبونوکلئیک اسید ۱۲۵b شود ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ترکیب درمانی ویلداگلیپتین و پسا–آمادگی ایسکمیک با تغییر فعالیت میکروریبونوکلئیک اسیدهای دخیل در روند محافظت قلبی، موجب محافظت قلب موش‌های دیابتی برعلیه آسیب ایسکمی–پرفیوژن مجدد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: انفارکتوس میوکارد، ایسکمی، ترکیب درمانی، دیابت، میتوکندری

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیکی مزمن است که در درازمدت عوارضی از قبیل اختلالات میکروواسکولار (عروق ریز) مثل رتینوپاتی و نوروپاتی، و اختلالات مربوط به عروق بزرگ شامل بیماری عروق کرونری، آترواسکلروز، پرفشاری خون و سکته قلبی و مغزی ایجاد می‌کند [۱]. یکی از مهمترین عوارض

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: badalzadehr@tbzmed.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-8092-7820)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

مزمن و درازمدت ناشی از دیابت، اختلالات عروق کرونری است. عمده‌ترین عارضه بیماری عروق کرونری، ایسکمی و انفارکتوس حاد میوکارد همراه با سندروم حاد کرونری و نارسایی قلبی است. ایسکمی حاد کرونری معمولاً با کاهش جریان خون به عضله قلب به علت تنگی یا انسداد مکانیکی عروق کرونر ایجاد می‌شود. انفارکتوس حاد میوکارد عبارت از انهدام و مرگ سلولی غیرقابل‌برگشت در بخشی از میوکارد است که به علت وقوع ایسکمی شدید رخ می‌دهد [۲].

پاتوفیزیولوژی آسیب ایسکمی-خون رسانی مجدد یا ایسکمی-پرفیوژن مجدد (IR)[1] میوکارد و تداخل بیماری دیابت با این پدیده پیچیده بوده و مکانیسم‌های متعددی در این زمینه دخیل هستند. هیپوکسی ناشی از ایسکمی منجر به کاهش فعالیت آنزیم آدنیلیل سیکلاز اندوتلیال عروق و کاهش سطح آدنوزین مونوفسفات حلقوی داخل سلولی و افزایش همزمان نفوذپذیری عروقی و در نهایت اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال می‌گردد [۴، ۳]. در ابتدای خون‌رسانی مجدد، افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش رادیکال‌های آزاد به خصوص گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[2]، افزایش کلسیم داخل سلولی، اصلاح سریع pH اسیدی داخل سلول توسط پرفیوژن مجدد، پاسخ‌های التهابی و کاهش ATP[3] منجر به بازشدن روزنه‌های با نفوذپذیری گذرای میتوکندریایی (MPTP)[4] و بسته‌شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP می‌شوند. بازشدن روزنه‌هایMPTP همراه با آزادسازی سیتوکروم C، تورم میتوکندری، دپولاریزاسیون غشای میتوکندری، مهار تولید ATP، فعالیت کاسپازها و در نهایت مرگ سلولی اتفاق می‌افتد [۴-۲].

میکرو ریبونوکلئیک اسیدها (miR)[5] دسته‌ای از ریبونوکلئیک اسیدهای کوچک غیرکدکننده‌ای هستند که بیان ژن‌ها را از طریق مهار ترجمه ریبونوکلئیک اسید و یا پیشبرد تخریب آن تنظیم می‌کنند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که miR در خون در حال گردش هم یافت می‌شوند و به‌عنوان بیومارکرهایی برای شناسایی بیماری‌ها مطرح شوند. فهرست بیماری‌هایی که در آن‌ها اختلال عملکرد miR شناسایی شده رو به افزایش است. در مقایسه با سرطان دانش ما در رابطه با نقش miR در انفارکتوس قلبی و عوارض دیابت بسیار اندک است [۵]. از طرف دیگر، شناسایی ژن‌ها و پروتئین‌های هدف miR که در فرایندهای مختلف سلولی دخالت دارند می‌تواند نقش مهمی در تشخیص و درمان بیماری‌های مختلف داشته باشد. عملکرد طبیعی میتوکندری برای حفظ حیات سلول‌های قلبی در آسیب IR ضروری است و شواهد نشان می‌دهد که miR-۱۴۰ در میتوفاژی و تنظیم دینامیک میتوکندری در شرایط استرسی نقش بازی می‌کند [۷، ۶]. پروتئین میتوفیوژن (mfn)[6] باعث همجوشی یا اتصال میتوکندری‌ها به یکدیگر و حفظ عملکرد آن‌ها می‌شود و به محض القای استرس یا تحریک آپوپتوز، این پروتئین دچار تنظیم کاهشی می‌شود در حالی که miR-۱۴۰ با افزایش بیان همراه است. در واقع، miR-۱۴۰ باعث سرکوب بیان ژن mfn و تحریک تجزیه میتوکندری شده و تخریب این miR باعث تشدید همجوشی میتوکندری می‌شود [۷]. مطالعات نشان دادند که miR-۱۴۰ و mfn با همدیگر در آپوپتوز سلول قلبی نیز دخالت دارند [۷]. بعلاوه، miR-۱۲۵b به شدت در بین گونه‌های مختلف از نماتودها گرفته تا انسان حفظ شده و به دلیل خصوصیات سرکوبگری در انواع مختلفی از بیماری‌ها اهمیت زیادی دارد. miR-۱۲۵b در بسیاری از روندهای سلولی همانند تمایز، التهاب و آپوپتوز نقش داشته و با مهار پرولیفراسیون و متاستاز در سرکوب سرطان نیز تاثیر دارد. این miR در سلول‌های عروق کلسیفیه شده کاهش‌یافته و در التهابات عروقی ناشی از آترواسکلروز افزایش می‌یابد و افزایش آن سلول‌های قلبی را در برابر آسیب هیپوکسیک مقاومتر می‌کند [۹، ۸]. جستجو برای اقدامات درمانی جهت بهبود نتایج بالینی و محدودکردن مرگ سلول قلبی ناشی از خون رسانی مجدد و محافظت قلب بر علیه این پدیده در بیماران مبتلا به بیماری ایسکمیک قلب، مورد هدف تحقیقاتی است [۱۱، ۱۰، ۲]. انواع مداخلات درمانی نوآورانه در طول سال‌های اخیر برای مبارزه با آسیب IR بررسی شده است که از جمله آن‌ها استراتژی‌های آمادگی ایسکمیک[7] و آمادگی فارماکولوژیک می باشند [۱۲]. پساآمادگی ایسکمیک (IPostC)[8] به صورت اعمال دوره‌های زمانی کوتاه‌تر ایسکمی و خون‌رسانی مجدد پس از وقوع ایسکمی میوکارد و در

[1] Ischemic-reperfusion (IR)
[2] Reactive oxygen species (ROS)
[3] Adenosine triphosphate (ATP)
[4] Mitochondrial permeability transition pore (MPTP)
[5] Micro ribonucleic acids (miR)
[6] Mitofusion (mfn)
[7] Ischemic conditioning
[8] Ischemic post-conditioning (IPostC)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

ثانیه‌های ابتدایی خون‌رسانی مجدد تعریف می‌شود که باعث کاهش معنی‌دار اندازه نکروز و انفارکتوس شده و می‌تواند پس از آنژیوپلاستی کرونری یا حین آن در بیماران انجام شود [۱۳، ۱۲].

داروهای رایج جدید ضد دیابت نه تنها کنترل‌کننده گلوکز خون هستند بلکه خطر حوادث قلبی-عروقی را نیز کاهش می‌دهند. از جمله این داروها، دسته دارویی مهارکننده‌های دی‌پپتیدیل‌پپتیدازها هستند. ویلداگلیپتین[9] یک مهارکننده دی‌پپتیدیل‌پپتیداز نوع ۴ می‌باشد و علاوه بر خواص ضددیابتی موثر، دارای اثرات کاهنده کلسترول و استرس اکسیداتیو، ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی، ایجاد ثبات الکتروفیزیولوژی قلب و بهبودی عملکرد میتوکندری قلب در رت[10] سالم و چاق می‌باشد [۱۴، ۱۳، ۱۱]. در خصوص اثرات ویلداگلیپتین بر روند بیان miR دخیل در فرایندهای آسیب IR قلبی در شرایط سالم و یا دیابتی و نیز کاربرد توام آن با IPostC مطالعه‌ای انجام نشده است. تغییرات این miR در بیماری‌های ایسکمیک قلبی علاوه بر نقش پیشگویی بیماری، می‌تواند گویای اثربخشی مداخلات درمانی نیز باشد. لذا، در این مطالعه سعی بر این بود تا اولاً تغییرات miR-۱۴۰ و miR-۱۲۵b به عنوان miR دخیل در دینامیک میتوکندری (به‌علت اهمیت میتوکندری در فرایندهای سلولی در اختلالات ایسکمیک و دیابت) در قلب سالم و دیابتیک همراه و بدون آسیب IR مشخص گردد، و ثانیاً تاثیر کاربرد توام و جداگانه ویلداگلیپتین و IPostC بر تغییرات پارامترهای فوق‌الذکر در آسیب IR قلب دیابتی نوع دو بررسی شود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌بندی

در این مطالعه، از ۸۴ سر رت نر از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی از حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی پزشکی تبریز تهیه شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت تنظیم شده‌ی $25 \pm 3\ ^{o}C$ و بدون محدودیت در مصرف آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات یک هفته بعد از سازگاری با محیط جدید، ابتدا به طور تصادفی ساده به دو گروه سالم (غیردیابتی) و دیابتی تقسیم شدند. تمامی آزمایشات مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی انجام شده است. مقاله حاضر دارای کد اخلاق ۴/۸-۹۳/۵ می‌باشد.

گروه‌های مورد مطالعه در این تحقیق در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. این گروه‌ها در دو سری، یک سری جهت بررسی اندازه انفارکتوس بطن چپ و یک سری جهت انجام آزمایشات مولکولی درنظر گرفته شدند (۶ رت در هر گروه).

القاء مدل حیوانی دیابت نوع دو

در همه گروه‌های دیابتی، از پروتکل رژیم پرچرب همراه با تزریق دوز پایین STZ[11] ارائه شده توسط سرینیواسان[12] و همکاران برای القای دیابت نوع دو استفاده شد [۱۵]. ترکیبات غذای پرچرب (بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم غذا) عبارت بود از: پودر غذای نرمال، ۳۵؛ روغن دنبه گوسفند، ۳۰؛ کازئین، ۲۴؛ کلسترول، ۱؛ سوکروز، ۴؛ کلرید سدیم، ۰/۱؛ پودر مخمر، ۰/۱؛ DL- متیونین، ۰/۳؛ مخلوط ویتامین‌ها و مواد معدنی، ۵/۵. میزان کل کالری غذای پرچرب ۴/۶ kcal/g بود که ۶۰٪ آن از چربی تامین شد. جهت تهیه غذا، ابتدا با توجه به میزان مصرف غذای هر رت حدود ۵ گرم به ازاء ۱۰۰ گرم وزن بدن تهیه شد و سپس براساس میزان دریافت غذا، غذای پرچرب هر هفته آماده می‌گردید. گروه‌های سالم غیردیابتی فقط غذای نرمال دریافت کردند. طول دوره آزمایش ۱۲ هفته بود. در آغاز هفته هفتم، STZ با غلظت ۳۵ mg/kg (در بافر سیترات pH ۴/۵) به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

یک هفته پس از تزریق STZ، اندازه‌گیری FBS[13] (با زدن لانست به دم حیوان و تهیه یک قطره خون و تست گلوکومتری) و تست OGT[14] (از طریق خوراندن ۲ گرم گلوکز خوراکی و نمونه‌گیری از همان خراش ایجاد شده در دم حیوان و اندازه گیری گلوکز خون در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ دقیقه پس از آن) انجام شد. موش‌های صحرایی با FBS بالاتر از ۲۵۰ mg/dl و اختلال

[9] Vildagliptin
[10] Rat
[11] Streptozotocin (STZ)
[12] Srinivasan
[13] Fasting Blood Sugar (FBS)
[14] Oral glucose tolerance

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

جدول ۱- گروه‌بندی حیوانات مورد آزمایش

گروه	توضیحات
گروه سالم بدون IR (H-sham)	رت‌ها به مدت ۱۲ هفته بدون درمان، به همراه رت‌های دیابتی نگهداری شدند و سپس قلب رت‌ها در بساط تحقیقاتی بدون بدون دریافت ایسکمی قرار گرفتند.
گروه سالم با IR (H-IR)	پس از پایان دوره، قلب رت‌های سالم، ایسکمی ناحیه‌ای به مدت ۳۵ دقیقه و سپس پرفیوژن مجدد به مدت ۶۰ را تجربه کردند.
گروه دیابتی بدون IR (D-sham)	رت‌ها به مدت ۱۲ هفته مبتلا به دیابت نوع دو شدند و سپس قلب رت‌ها در بساط تحقیقاتی بدون دریافت ایسکمی قرار گرفتند.
گروه دیابتی با IR (D-IR)	پس از پایان دوره دیابتی، قلب رت‌ها ایسکمی ناحیه ای به مدت ۳۵ دقیقه و سپس پرفیوژن مجدد به مدت ۶۰ دقیقه را تجربه کردند.
گروه دیابتی با IR و IPostC (D-post)	پس از پایان دوره دیابتی، قلب رت‌ها ایسکمی ناحیه‌ای به مدت ۳۵ دقیقه، سپس در ابتدای پرفیوژن مجدد، پروتکل IPostC به صورت ۶ دوره متناوب ایسکمی (۱۰ ثانیه)–پرفیوژن مجدد (۱۰ ثانیه) را دریافت نموده و سپس پرفیوژن مجدد اصلی به مدت ۶۰ دقیقه را تجربه کردند.
گروه دیابتی با IR و ویلداگلیپتین (D-vild)	پس از پایان دوره تیمار رت‌های دیابتی با ویلداگلیپتین به صورت خوراکی با دوز ۶ mg/kg/day، قلب آن‌ها ایسکمی ناحیه‌ای به مدت ۳۵ دقیقه و پرفیوژن مجدد به مدت ۶۰ دقیقه را تجربه کردند.
گروه دیابتی با IR، IPostC و ویلداگلیپتین (D-post-vild)	پس از پایان دوره، تیمار رت‌های دیابتی با ویلداگلیپتین، قلب آن‌ها ایسکمی ناحیه‌ای به مدت ۳۵ دقیقه، سپس در ابتدای پرفیوژن مجدد پروتکل IPostC و در نهایت پرفیوژن مجدد اصلی به مدت ۶۰ دقیقه را دریافت کردند.

OGT (نشان دهنده مرحله اولیه دیابت نوع ۲) به گروه‌های دیابتی اختصاص یافتند.

پروتکل آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد

در این مطالعه، از بساط تحقیقاتی قلب جداشده لانگندورف[15] (مدل ML176-V; AD-Instruments) با نوع فشار ثابت جهت پرفیوژن قلب‌های جداشده استفاده گردید و از محلول کربس-هنسلیت[16] استفاده شد که شامل (در میلی‌مولار): NaCl (۱۱۸)، $NaHCO_3$ (۲۵)، KCl (۴/۸)، $MgSO_4$ (۲/۱)، KH_2PO_4 (۲/۱)، D-گلوکز (۱۲)، $CaCl_2$ (۱/۷) می‌باشد. مواد شیمیایی در آب‌مقطر حل گردیدند. جهت جلوگیری از رسوب، $CaCl_2$ بعد از همه‌ی مواد اضافه گردید. محلول با ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسید کربن (کربوژن) هوادهی شده و pH آن در حدود ۷/۴۵-۷/۳۵ و دمای آن در حدود ۳۷ ^{o}C تنظیم گردید [۱۱].

جداسازی قلب و القاء ایسکمی ناحیه‌ای و پرفیوژن مجدد

پس از پایان دوره ۱۲ هفته، ابتدا رت‌ها وزن شده و سپس با ۵۰۰ واحد هپارین به صورت داخل صفاقی به عنوان ماده ضدانعقادی خون هپارینیزه‌شده و به‌وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش عمومی داده شد. پس از بیهوشی و کسب اطمینان از بیهوشی کامل با فشردن پای حیوان توسط پنس و مشاهده عدم پاسخ و همچنین عدم وجود رفلکس پلک زدن، حیوان بر روی صفحه جراحی مناسبی ثابت شد و بلافاصله قلب حیوان با جراحی از بدن جدا شده و به بساط تحقیقاتی لانگندروف انتقال یافت. بعد از ۱۵ دقیقه دوره‌ی تثبیت فعالیت‌های قلب، تمامی قلب‌ها ایسکمی ناحیه‌ای به مدت ۳۵ دقیقه و سپس پرفیوژن مجدد به مدت ۶۰ دقیقه دریافت کردند. ایسکمی ناحیه‌ای و پرفیوژن مجدد به ترتیب با انسداد و برقراری مجدد جریان شریان کرونری نزولی قدامی چپ (LAD)[17] با استفاده از بستن و باز کردن نخ ابریشمی شماره چهار که در اطراف LAD قرار داده

[15] Langendorff
[16] Krebs-Henseleit
[17] Left anterior descending artery (LAD)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

شده بود، القاء شد [۱۱].

مداخلات درمانی در گروه‌های دیابتی

برای پیش‌درمانی رت‌های دیابتی با ویلداگلیپتین، از پایان هفته هشتم تا پایان دوره دیابتی، به مدت ۴ هفته کامل ویلداگلیپتین خوراکی با دوز mg/kg/day ۶ دریافت کردند [۱۳]. همچنین پروتکل پسا-آمادگی ایسکمیک یا الگوریتم IPostC انتخاب شده در این مطالعه به این صورت بود که پس از ۳۵ دقیقه ایسکمی ناحیه‌ای، در ابتدای پرفیوژن مجدد بلافاصله ۶ دوره ایسکمی و پرفیوژن مجدد پشت سر هم (۱۰ ثانیه/۱۰ثانیه) بر قلب‌ها اعمال شده و سپس ۶۰ دقیقه پرفیوژن مجدد به صورت عادی برقرار شد.

محاسبه اندازه انفارکتوس

برای اندازه‌گیری اندازه انفارکتوس، از روش رنگ‌آمیزی با ۲،۳،۵-تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC)[۱۸] و پلانیمتری کامپیوتری استفاده شد. به طور خلاصه، شریان کرونری LAD در انتهای پرفیوژن مجدد، مجدداً بسته شده و سپس ۲ میلی لیتر رنگ آوانس بلو (۰/۲۵٪) به قلب‌ها از طریق کانول آئورت تزریق شد. پس از آن، قلب‌ها با برش‌های عرضی با ضخامت ۲ میلی‌متر برش داده شدند؛ این قطعه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در TTC ۱٪ در محلول بافر فسفات (pH ۷/۴) غوطه‌ور شدند. سپس با استفاده از نرم افزار Image J، حجم بطنی، ناحیه در معرض خطر و اندازه انفارکتوس قلب به صورت درصدی محاسبه و گزارش شد.

انجام آزمایش real-time PCR برای بررسی میزان بیان miR

الف) استخراج ریبونوکلئیک اسید

تقریباً ۱۰۰ میلی‌گرم از ناحیه در معرض خطر بطن چپ بدست آمد و در ۱ میلی‌لیتر محلول بافر حاوی کوکتل مهار کننده پروتئاز شرکت سیگما در pH ۴/۷ لیز شد. محلول حاصله برای آزمایشات real-time PCR استفاده شد. مجموع miR نمونه‌ها با استفاده از کیت جداسازی miRCURYTM بر اساس پروتکل ارائه شده توسط سازنده (Exiqon، Vedbaek، دانمارک) استخراج شد. برای اندازه‌گیری محتوای ریبونوکلئیک اسید و خلوص آن، از دستگاه نانودراپ ۱۰۰۰ (Thermo Scientific، Wilmington، DE 19810، USA) استفاده شد.

ب) سنتز cDNA

مقدار یک میکروگرم از ریبونوکلئیک اسید با استفاده از کیت مخصوص (Quantitect Reverse Transcription Kit, Qiagen) طبق پروتکل به cDNA تبدیل شد. به طور خلاصه، ابتدا نمونه‌های ریبونوکلئیک اسید به منظور حذف DNA ژنومی به مدت ۲ دقیقه در بافر مخصوص در دمای ^{o}C ۴۲ انکوبه شدند. بعد از این مرحله، نمونه‌های ریبونوکلئیک اسید برای ساخت cDNA آماده شدند. واکنش کلی در دمای ^{o}C ۴۲ و سپس یک مرحله انکوباسیون در دمای ^{o}C ۹۵ انجام شد. به دنبال سنتز cDNA واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)[۱۹] صورت گرفت.

ج) آزمایش Real-time PCR

مشخصات miR مورد آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است (Exiqon، دانمارک). واکنش real-time PCR (سایبر گرین) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت تکرار دوتایی در لوله‌های ۹۶تایی انجام شد. ترکیبات هر واکنش شامل میکرولیتر ۱۲/۵ میکرولیتر محلول SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen)، ۹/۵ میکرولیترآب دیونیزه و ۰/۵ میکرولیتر از هریک از پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومولار و ۲ میکرولیتر cDNA الگو بود.

برنامه زمانی-دمایی دستگاه PCR (Bio-Rad iQ5) در سه مرحله زیر تنظیم گردید: ابتدا مرحله دناچوره شدن[۲۰] مولکول‌های cDNA (^{o}C ۹۵ به مدت ۳ دقیقه)، سپس مرحله دناچوره‌شدن در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت ۳۰ ثانیه و به‌دنبال آن جفت‌شدن[۲۱] به مدت ۳۵ ثانیه در دماهای مختلف اتصال و تکرار سیکل‌ها در ۳۰ ثانیه در دمای ^{o}C ۷۲ در ۴۰ سیکل متوالی و درنهایت

[18] Triphenyl tetrazolium chloride

[19] Polymerase chain reaction (PCR)
[20] Denaturation
[21] Annealing

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

جدول ۲- میکروریبونوکلئیک اسیدها و توالی هدف آن‌ها

توالی هدف	میکروریبونوکلئیک اسید
miR-۱۴۰-۵P	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG
miR-۱۲۵b-۵P	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA

مرحله کشیدگی[22] به مدت ۳ دقیقه در دمای $72^{o}C$.

برای تایید تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم حضور محصولات غیراختصاصی و جفت شدن پرایمرها در مطالعات ابتدایی از الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد و از منحنی ذوب استفاده شد. برای ترسیم منحنی ذوب، دما در هر تکرار از دمای $50-99^{o}C$ هر ۵ ثانیه یک درجه افزایش یافت. نتایج به صورت درصد تغییرات نسبت به میزان بیان کنترل داخلی U6 محاسبه و گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آماری بدست‌آمده از مطالعه به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین گزارش شده‌اند. برای تجزیه و تحلیل آماری از برنامه‌ی نرم‌افزار آماری SPSS استفاده گردید. بررسی بیان نسبی miR براساس مقایسه سیکل‌های آستانه نمونه‌های گروه‌ها و با روش $2^{-\Delta CT}$ انجام شد. برای آنالیز داده‌ها در بین گروه‌های مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)[23] و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها از توکی[24] به عنوان تست تعقیبی استفاده شد. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تغییر معنی‌دار آماری در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

مشخصات عمومی حیوانات

رت‌های با سطح گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ mg/dl دیابتی تعیین گردیدند. رت‌های با سطح گلوکز خون کمتر از ۲۵۰ mg/dl از آزمایش‌های ایسکمی-پرفیوژن مجدد کنار گذاشته شده و جایگزین شدند. در طول مدت ۱۲ هفته، حدود ۲۰٪ از حیوانات دیابتی در طول مدت دیابتی مردند ولی حیوانات دیابتی که ویلداگلیپتین دریافت کرده بودند، هیچگونه مرگ‌ومیری نداشتند. لازم به ذکر است که حیوانات دیابتی که ویلداگلیپتین دریافت کرده بودند نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار وضعیت ظاهری بهتری داشتند. سطح قند خون ناشتا در رت‌های دیابتی (۸/۹ ± ۵۱۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) نسبت به رت‌های غیردیابتی (۳/۲ ± ۹۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به طور معنی‌دار افزایش یافته بود ($p < ۰/۰۰۱$). پیش‌درمانی با ویلداگلیپتین در رت‌های دیابتی منجر به کاهش معنی‌دار سطح قند خون ناشتا به ۴/۶ ± ۳۶۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در مقایسه با رت‌های دیابتی بدون تیمار شد ($p < ۰/۰۰۱$).

اندازه ناحیه انفارکتوس

اندازه ناحیه انفارکتوس به عنوان شاخصی از شدت آسیب IR در قلب ایزوله گروه دیابتی-IR در حدود ۸۶٪ گروه سالم-IR بود (نمودار ۱). تیمارهای جداگانه IPostC یا ویلداگلیپتین به ترتیب موجب کاهش اندازه انفارکتوس رت‌های دیابتی از ۸۶٪ به ۷۱٪ و ۶۷٪ شدند. با این حال، تجویز همزمان تیمارها در رت‌های دیابتی باعث کاهش معنی‌دار اندازه انفارکتوس به ۴۱٪ در مقایسه با ۸۶٪ گروه D-IR شد ($p < ۰/۰۵$، نمودار ۱). لازم به ذکر است که در گروه‌های بدون IR (شم) که آسیب IR دریافت نکرده بودند اندازه انفارکتوس صفر در نظر گرفته شده که در نمودار ۱ نشان داده نشده است.

سطح بیان miR-۱۴۰

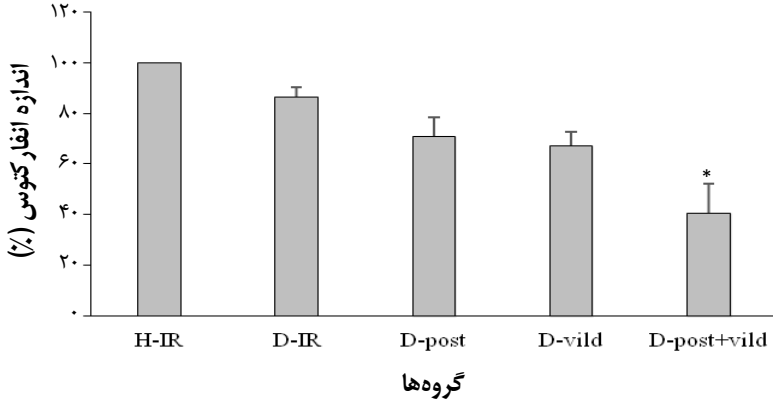
القای دیابت در طول ۱۲ هفته سطح بیان miR-۱۴۰ را نسبت به گروه سالم افزایش داد و همچنین آسیب IR در گروه دیابتی توانست سطح این ژن را در مقایسه با هر دو گروه سالم-IR و دیابتی بدون آسیب IR به طور معنی‌داری افزایش دهد ($p < ۰/۰۵$، نمودار ۲). در مقایسه با گروه D-IR، هیچ یک از مداخلات درمانی به طور جداگانه تاثیر معنی‌داری بر روی بیان miR-۱۴۰ اعمال نکردند ولی درمان ترکیبی با ویلداگلیپتین و IPostC سطح بیان این ژن را بطور معنی‌داری نسبت به گروه D-IR کاهش داد ($p <۰/۰۵$).

سطح بیان miR-۱۲۵b

تغییرات بیان miR-۱۲۵b در بین گروه‌های مختلف در نمودار ۳ نشان داده شده است. نه القای دیابت و نه آسیب IR تاثیر معنی‌داری بر روی بیان این ژن نداشتند. همچنین،

[22] Extension
[23] One-way Analysis of varianve (ANOVA)
[24] Tukey

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]



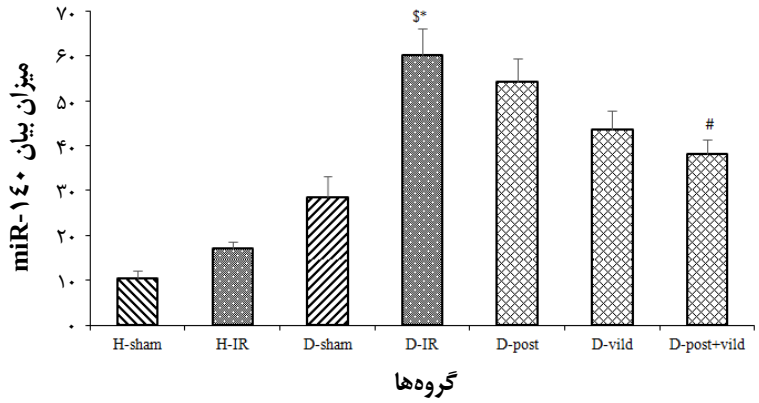
نمودار ۱- اندازه انفارکتوس میوکارد (برحسب درصد تغییرات نسبت به گروه سالم-IR) در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده آسیب IR. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین بیان شده است. تعداد رت برای هر گروه ۶ سر. *: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه D-IR. اختصارات: H: سالم؛ IR: ایسکمی-پرفیوژن مجدد؛ D: دیابتی؛ post: پساآمادگی ایسکمیک؛ vild: ویلداگلیپتین

ویلداپلیپتین به تنهایی و یا IPostC به تنهایی نتوانستند سطح بیان این ژن را نسبت به گروه دیابتی-IR به طور معنی‌داری تغییر دهند. با این وجود، استفاده توام از این مداخلات باعث افزایش معنی‌دار سطح بیان miR-۱۲۵b در مقایسه با گروه کنترل دیابتی گردید ($p <۰/۰۵$، نمودار ۳).

بحث

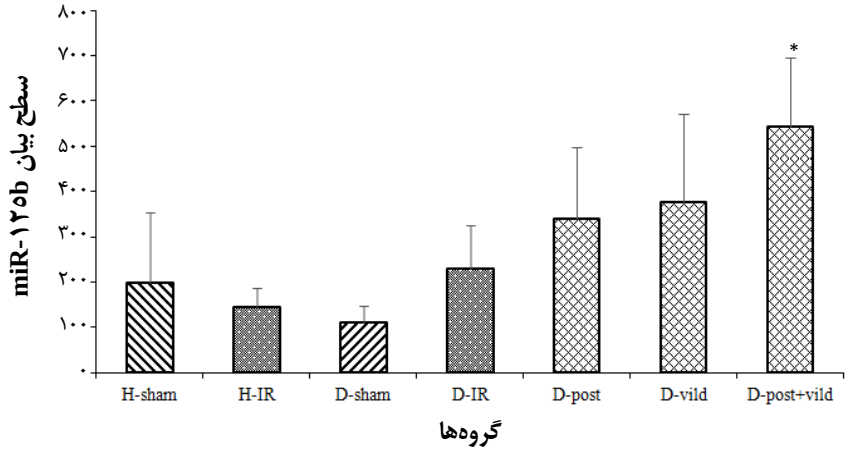
بر اساس نتایج مطالعه حاضر، میزان بیان miR ۱۴۰ و ۱۲۵b در رت‌های دیابتی دریافت‌کننده درمان ترکیبی با ویلداگلیپتین و IPostC به طور معنی‌داری تغییر یافت، بدین صورت که رژیم درمانی ترکیبی سطح بیان miR-۱۴۰ را نسبت به گروه دیابتی بدون درمان کاهش داده و سطح بیان miR-۱۲۵b را افزایش داد ولی تاثیر مداخلات فوق به‌تنهایی معنی‌دار نبود. تغییرات فوق با تاثیر مداخلات درمانی بر کاهش اندازه انفارکتوس و محافظت قلبی مطابقت داشت. این نتایج نشان می‌دهند که استفاده توام دو رویکرد درمانی پیش‌شرطی‌سازی با ویلداگلیپتین و پساآمادگی با ایسکمی منجر به اصلاح بیان miR دخیل در تعدیل دینامیک میتوکندری و بهبودی آن شده و بدین ترتیب از آسیب بیش ازحد قلب دیابتیک در برابر آسیب IR جلوگیری کرده‌اند.

فاکتورهای پیشنهادشده در پاتوژنز قلب دیابتی شامل اختلالات اتونومیک، اختلالات متابولیک، اختلال در هومئوستاز



نمودار ۲- سطح بیان miR-۱۴۰ درکاردیومیوسیتهای گروه های مورد آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین بیان شده است. تعداد رت برای هر گروه ۶ سر. *: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه H-IR؛ $: $p < 0.05$ در مقایسه با گروه D-sham؛ و#: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه D-IR. اختصارات: H: سالم؛ IR: ایسکمی-پرفیوژن مجدد؛ D: دیابتی؛ post: پساآمادگی ایسکمیک؛ vild: ویلداگلیپتین

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]



نمودار ۳- سطح بیان miR-۱۲۵b درکاردیومیوسیتهای گروه های مورد آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین بیان شده است. تعداد رت برای هر گروه ۶ سر. *: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه D-sham. اختصارات: H: سالم؛ IR: ایسکمی-پرفیوژن مجدد؛ D: دیابتی؛ post: پساآمادگی ایسکمیک؛ vild: ویلداگلیپتین

یون‌های داخل سلولی و میتوکندریایی، تغییر در پروتئین‌های ساختمانی و فیبروز بینابینی شرکت دارند. تمامی این عوامل تحت کنترل و تنظیم تعداد وسیعی از ژن ها و miR مربوطه هستند [۵، ۲]. در قلب دیابتی مکانیسم‌هایی مانند اختلال در هومئوستاز یون کلسیم، افزایش فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین، افزایش متابولیسم اسیدهای چرب و پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش التهاب، استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندری منجر به کاهش قدرت انقباضی و عملکرد قلبی می‌شوند [۱۶، ۲]. در مطالعه‌ای اخیراً گزارش شده است که میزان دپولاریزاسیون غشاء میتوکندری و در نتیجه به هم خوردن تعادل الکترولیتی داخل سلولی، سطح ایزوپروستان به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و سطح اینترلوکین-۶ میوکاردی به عنوان شاخص التهاب سلولی در قلب دیابتی بیشتر از قلب سالم می‌باشد [۱۷]. یافته‌های این مطالعه و مطالعات گذشته، این فرضیه را تایید می‌کنند که دیابت می‌تواند منجر به تغییرات متعدد متابولیکی و درون سلولی شود، که همه این تغییرات بر فعالیت واسطه‌های بقاء سلولی تأثیر منفی می‌گذارند [۲]. بنابراین، اعمال هر یک از مداخلات درمانی به صورت جداگانه نمی‌تواند قدرت قابل‌توجهی برای فعال‌کردن مسیرهای حفاظت سلولی از جمله افزایش بیان miR محافظتی داشته باشد. در این مطالعه، ما بر تغییرات بیان دو miR مهم سلولی یعنی ۱۴۰ و ۱۲۵b متمرکز شدیم و مشاهده کردیم که کاربرد تک‌تک مداخلات به تنهایی نتوانست بر تغییرات بیان هر دو ژن در فرایند آسیب IR قلب دیابتی اثرگذار باشد ولی استفاده توام آن‌ها تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای فوق داشت.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که هم شدت آسیب IR قلبی و هم فعالیت و پویایی میتوکندری تحت تاثیر طیفی از miR دستخوش تغییر می‌گردند. miR-۱۴۰ به‌طور مستقیم ژن پویایی میتوکندریMfn1 را هدف قرار می‌دهد و بیان آن را به صورت منفی تنظیم می‌کند و بدین‌وسیله می‌تواند عملکرد میتوکندری را تضعیف نماید [۷]. مطابق این یافته، در مطالعه حاضر در گروه دیابتی سطح بیان این miR نسبت به گروه غیردیابتی افزایش یافت. بنابراین، دیابت با افزایش بیان آن باعث عدم بیان ژن‌های دخیل در همجوشی میتوکندری شده و لذا تخریب میتوکندری و به دنبال آن آسیب سلولی در کاردیومیوسیت ها را افزایش داده است. از طرفی دیگر، این miR از طریق افزایش آپوپتوز سلولی نیز می‌تواند منجر به تشدید آسیب قلبی شود [۱۸]. این نتایج نشان می‌دهد که تعدیل بیان و فعالیت miR-۱۴۰ به طور بالقوه می‌تواند فعالیت دینامیک میتوکندری را بهبود بخشیده و آسیب IR را کاهش دهد. علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان می‌دهد که miR-۱۲۵b به‌طور قابل‌توجهی بیان ژن‌های مختلفی را در قلب تنظیم می‌کند که عملکرد آن‌ها با استرس سلولی، متابولیسم یا بقای سلولی، آپوپتوز و فعالیت میتوکندری مرتبط است [۱۹، ۹، ۸]. این miR از طریق هدف قراردادن و مهار مسیر پیام‌رسانی آپوپتوزی وابسته به p53 و غیرفعال‌سازی NF-κB از آسیب IR میوکارد محافظت می‌کند [۱۹]. در مطالعه حاضر، اگر چه استفاده از درمان‌ها به صورت انفرادی در

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

رت‌های دیابتی نتوانست سطح miRهای ۱۴۰ و ۱۲۵bو اندازه انفارکتوس را نسبت به گروه دیابتی بدون درمان تغییر دهد، اما درمان ترکیبی ویلداگلیپتین و IPostC از طریق تغییر فعالیت این miR ها (به‌ویژه miR-۱۴۰) توانست منجر به محافظت بهتر قلب دیابتی در برابر آسیب IR گردد.

ویلداگلیپتین علاوه بر کنترل هیپرگلسیمی، باعث کاهش پروفایل لیپیدی پلاسما شده و اثرات ضدالتهابی و ضداکسیدانی دارد [۱۳]. ویلداگلیپتین به دلیل اثرات ضدالتهابی و ضداکسیدانی، دارای اثرات حفاظت قلبی در برابر آسیب IR بوده و منجر به افزایش قدرت انقباضی بطن چپ و تقویت بیوژنز میتوکندری قلبی شده است [۱۴، ۱۱]. همچنین، گزارش شده است که پروتکل IPostC به طور موثری آسیب میوکارد ناشی از IR را در قلب‌های غیر دیابتی کاهش می‌دهد، اما قلب دیابتی در مقابل اثر محافظت قلبی IPostC مقاومت کرده و موجب ازبین‌رفتن اثر این پروتکل گشته است [۱۰، ۲]. مطالعات انجام شده در مدل حیوانی نشان داده است که دیابت به علت تغییرات ساختاری و پیام‌رسانی داخل‌سلولی و شرایط همراه با دیابت مانند چاقی، مانع از اثر حفاظت قلبی پروتکل IPostC و نیز مداخلات مشابه می‌شود [۲]. در مطالعات حیوانی چه در مدل دیابت ژنتیکی و چه در مدل شیمیایی دیابت، قلب دیابتی در مقابل اثر IPostC در بازیابی عملکرد قلب و کاهش اندازه نکروز میوکارد مقاومت نشان داده است و علت عدم پاسخ را به عدم فعالیت مناسب پیام‌رسان‌های داخل‌سلولی از قبیل ERK1/2 و پروتئین کیناز Akt نسبت داده‌اند [۲۰]. در مطالعه حاضر هم افزایش معنی‌دار سطح بیان miR-۱۴۰ در گروه دیابتی در مقایسه با گروه سالم غیردیابتی گواه این موضوع است. با وجود این، استفاده توام مداخلات درمانی به صورت همزمان در رت‌های دیابتی احتمالاً می‌تواند بر تاثیرات منفی دیابت بر فعالیت مدیاتورهای داخل سلولی، عملکرد میتوکندری و پاسخ‌های متابولیکی غلبه کرده و به این صورت اثر مداخلات بر روی هم افزوده شده و در نهایت محافظت قلبی حاصل می‌گردد. در مطالعات تکمیلی لازم است که به دنبال اعمال مداخلات درمانی، تغییرات بیان ژن‌های هدف این miR که بر پاسخ های سلولی و فعالیت پروتیئن‌های عملکردی میوکارد و قدرت انقباضی آن تاثیر دارند، بررسی شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب پیش‌درمانی با ویلداگلیپتین و IPostC در قلب دیابتی نوع دو، یک استراتژی خوب برای کاهش آسیب IR میوکارد در رت می‌باشد. افزایش بیان miR-۱۲۵b و به‌ویژه کاهش بیان miR-۱۴۰ نقش مهمی در کاهش اندازه انفارکتوس و محافظت از قلب دیابتی مبتلا به آسیب IR بازی می‌کند. بنابراین، یکی از بهترین روش‌های کاهش اثرات آسیب IR قلبی در شرایط دیابتی، استفاده از درمان‌های ترکیبی مناسب برای تعدیل تغییرات ساختاری، عملکردی و مولکولی ناشی از دیابت می‌تواند باشد.

تشکر و قدردانی

محققین، از مدیریت و کارکنان مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که شرایط انجام این مطالعه را فراهم نمودند، تشکر می‌نمایند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ل.پ: انجام تمام مراحل کار و نگارش مقاله؛ و.ب: ایده‌پردازی، نظارت بر حسن اجرای کار و ویرایش مقاله؛ ر.ب: ایده‌پردازی، طراحی مطالعه، انجام کار و ویرایش مقاله؛ ن.پ: انجام تمام مراحل کار و نگارش مقاله.

فهرست منابع

[1] Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ, Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. ***Diabetes Res Clin Pract*** 87 (2010) 4-14.

[2] Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF, Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. ***Pharmacol Rev*** 59 (2007) 418-458.

[3] Lesnefsky EJ, Chen Q, Tandler B, Hoppel CL, Mitochondrial dysfunction and myocardial ischemia-reperfusion: Implications for novel therapies. ***Ann Rev Pharmacol Toxicol*** 57 (2017)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

535-565.
[4] Ha S-J, Kim W, Mechanism of ischemia and reperfusion injury to the heart: from the viewpoint of nitric oxide and mitochondria. ***Chonnam Med J*** 46 (2010) 129-139.
[5] Maqbool R, Hussain MU, MicroRNAs and human diseases: Diagnostic and therapeutic potential. ***Cell Tissue Res*** 358 (2014) 1-15.
[6] Ong S-B, Hall AR, Hausenloy DJ, Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease. ***Antioxid Redox Signal*** 19 (2013) 400-414.
[7] Jincheng Li, Yuzhen Li, Jianqin Ji, Jianxun Wang, Yanrui Li, Danian Qin, Peifeng Li, Mitofusin 1 is negatively regulated by MicroRNA 140 in cardiomyocyte apoptosis. ***Mol Cell Biol*** 34 (2014) 1788–1799.
[8] Hyun J, Wang S, Kim J, Kim GJ, Jung Y, MicroRNA125b-mediated Hedgehog signaling influences liver regeneration by chorionic plate-derived mesenchymal stem cells. ***Sci Rep*** 5 (2015) 14135.
[9] Le MT, Xie H, Zhou B, Chia PH, Rizk P, Um M, Udolph G, Yang H, Lim B, Lodish HF, MicroRNA-125b promotes neuronal differentiation in human cells by repressing multiple targets. ***Mol Cell Biol*** 29 (2009) 5290-5305.
[10] Safaei N, Sheikhalizadeh MA, Badalzadeh R, Effect of ischemic postconditioning on myocardial protection in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery with cardiopulmonary bypass. ***J Cardiovasc Thorac Res*** 8 (2016) 65-71.
[11] Bayrami G, Alihemmati A, Karimi P, Javadi A, Keyhanmanesh R, Mohammadi M, Zadi-Heydarabad M, Badalzadeh R, Combination of vildagliptin and ischemic postconditioning in diabetic hearts as a working strategy to reduce myocardial reperfusion injury by restoring mitochondrial function and autophagic activity. ***Adv Pharm Bull*** 8 (2018) 319-329.
[12] Feyzizadeh S, Badalzadeh R, Application of ischemic postconditioning's algorithms in tissues protection: response to methodological gaps in preclinical and clinical studies. ***J Cell Mol Med*** 21 (2017) 2257-2267.
[13] Bayrami G, Karimi P, Agha-Hosseini F, Feyzizadeh S, Badalzadeh R, Effect of ischemic postconditioning on myocardial function and infarct size following reperfusion injury in diabetic rats pretreated with vildagliptin. ***J Cardiovasc Pharmacol Ther 23*** (2018) 174-183.
[14] Apaijai N, Sanit J, Chinda K, Palee S, Chattipakorn S, Chattipakorn N, Combined vildagliptin and metformin exert better cardioprotection than monotherapy against ischemia-reperfusion injury in obese-insulin resistant rats. ***PLoS One*** 9 (2014) e102374.
[15] Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul C, Ramarao P, Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. ***Pharmacol Res*** 52 (2005) 313-320.
[16] Saeid F, Aniseh J, Reza B, Manouchehr VS, Signaling mediators modulated by cardioprotective interventions in healthy and diabetic myocardium with ischaemia-reperfusion injury. ***Eur J Prev Cardiol*** 25 (2018) 1463-1481.
[17] Badalzadeh R, Tabatabaei SM, Mohammadi M, Khaki A, Mohammadnezhad D, Combined postconditioning with ischemia and cyclosporine-A restore oxidative stress and histopathological changes in reperfusion injury of diabetic myocardium. ***Iran J Basic Med Sci*** 20 (2018) 1079-1087.
[18] Joshi SR, Dhagia V, Gairhe S, Edwards JG, McMurtry IF, Gupte SA, MicroRNA-140 is elevated and mitofusin-1 is downregulated in the right ventricle of the hypoxia/normoxia model of pulmonary arterial hypertension. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 311 (2016) H689-H698.
[19] Wang X, Ha T, Zou J, Ren D, Liu L, Zhang X, Kalbfleisch J, Gao X, Williams D, Li C, MicroRNA-125b protects against myocardial ischaemia/ reperfusion injury via targeting p53-mediated apoptotic signalling and TRAF6. ***Cardiovasc Res*** 102 (2014) 385-395.
[20] Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Carr RD, Yellon DM, Preconditioning the diabetic heart. ***Diabetes*** 54 (2005) 2360-2364.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]

Research paper

Concomitant effect of vildagliptin and ischemic post-conditioning on myocardial infarction and expression of microRNA-140 and microRNA-125b following ischemic injury-reperfusion injury in rats with type-II diabetes

Laleh Pirzeh[1,2], Vahab Babapour[1], Reza Badalzadeh[3,4*], Negar Panahi[5]

1. Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Sciences and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Cardiovascular Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
3. Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Molecular Medicine Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
5. Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Sciences and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 18 December 2018 Accepted: 23 February 2019

Abstract

Background and aims: This study investigated the effect of combination therapy with vildagliptin and ischemic post-conditioning (IPostC) on myocardial infarction and expression of micro ribonucleic acid miR-140 and miR-125b as the regulators of mitochondrial dynamics in myocardial ischemic-reperfusion (IR) injury of rats with type 2 diabetes mellitus.

Methods: Chronic diabetes was induced in rats using a high-fat diet protocol and a low dose of streptozotocin over a period of 3 months. In the last month of the diabetic period, vildagliptin was administered orally for 4 weeks once a day, and IR injury was induced by closing the anterior left coronary artery bypass graft for 35 min followed by reopening of it for 60 min. The IPostC protocol was performed at the onset of reperfusion in 6 alternative cycles of 10-second ischemia and reperfusion. At the end of the experiment, the ischemic region of left ventricles was sampled. The size of the risk area and myocardial infarction were studied by planimetry. The levels of miR-140 and miR-125b expression in the left ventricle were evaluated using real-time PCR.

Results: The combination of vildagliptin and IPostC was able to reduce myocardial infarction compared to untreated diabetic group ($p < 0.05$), inhibit the elevated expression of miR-140 caused by IR damage, and increase the expression of miR-125b in diabetic hearts ($p < 0.05$).

Conclusion: The combination of vildagliptin and IPostC has cardioprotective effect against IR injury in rats with type II diabetes by change in the expression of micro-RNAs involved in cardioprotection.

Keywords: Myocardial infarction, Ischemia, Combination therapy, Diabetes, Mitochondria

Please cite this article as follows:

Pirzeh L, Babapour V, Badalzadeh R, Panahi N, Concomitant effect of vildagliptin and ischemic post-conditioning on myocardial infarction and expression of microRNA-140 and microRNA-125b following ischemic injury-reperfusion injury in rats with type-II diabetes. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 3 (2019) 52-62.

*Corresponding author: badalzadehr@tbzmed.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-8092-7820)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-05-16]