

مقاله پژوهشی

اثر تروپی سترون بر بیان ژن های دخیل در فرآیند آپوپتوز در بافت عضله قلبی هایپر تروف شده موش های صحرایی

مهسا فخر غلامی^۱، فاطمه صفری^۲، علیرضا کریم‌اله^{۳*}

۱. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

پذیرش: ۲۹ فروردین ۱۴۰۱

دریافت: ۱۷ بهمن ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف: هایپر تروفی بطن چپ ناشی از فشار خون بالا فاکتور خطر مستقل نارسایی قلبی و مرگ ناگهانی است. پیشرفت هایپر تروفی عضله قلب با فعال شدن مسیرهای آپوپتوتیک در این سلول ها همراه است. تروپی سترون آنتاگونیست گیرنده δ -HT₁ است که مطالعات اخیر اثرات محافظت قلبی آن را نشان داده اند. هر چند مکانیسم های مسئول این اثرات ناشناخته اند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر تروپی سترون بر میزان نسخه برداری فاکتور ناتوریتیک BNP بعنوان مارکر هایپر تروفی و بیان ژن های پرو-آپوپتوتیک BAX و BAD در قلب هایپر تروف شده موش صحرایی است.

روش ها: ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به گروه های زیر تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل شامل حیوانات دست نخورده ۲- گروه هایپر تروفی بدون درمان ۳- گروه هایپر تروفی دریافت کننده تروپی سترون با دوز روزانه ۳ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز ۴- گروه تروپی سترون که بدون مداخله جراحی صرفا دارو را به مدت ۲۱ روز دریافت نمودند. مدل هایپر تروفی بطن چپ توسط جراحی و تنگی آئورت شکمی القا شد. بیان ژن های هدف توسط تکنیک Real-time PCR اندازه گیری شد.

یافته ها: در گروه هایپر تروفی بدون درمان سطح BNP mRNA در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ($p < 0.001$). در گروه تروپی سترون + هایپر تروفی سطح BNP mRNA در مقایسه با گروه بدون درمان بطور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). سطح BAD mRNA در بافت عضله قلب گروه هایپر تروفی افزایش یافت ($p < 0.001$). تیمار با تروپی سترون سطح BAD mRNA را نسبت به گروه هایپر تروفی به طور معنی داری کاهش داد ($p < 0.001$). تغییرات بیان BAX در هیچ یک از گروه های آزمایش از نظر آماری معنی دار نبود.

نتیجه گیری: تروپی سترون می تواند از پیشرفت هایپر تروفی القایی فشار خون بالا به نارسایی قلبی حداقل تا حدی با کاهش بیان BAD جلوگیری کند.

واژه های کلیدی: آپوپتوز، تروپی سترون، هایپر تروفی بطن چپ، BAX، BAD، BNP

مقدمه

بیماری های عروق کرونر و دریچه ای رخ دهد. یکی از مهمترین دلایل ایجاد و پیشرفت این عارضه، فشار خون بالا است که در طولانی مدت با اعمال بار مقاوتی بالا بر روی قلب منجر به هایپر تروفی سلول های عضله قلب و فیبروز ماتریکس خارج سلولی می گردد. هایپر تروفی بطن چپ در ابتدا به عنوان یک پاسخ سازشی جهت حفظ برون ده طبیعی قلب ایجاد میگردد اما پیشرفت هایپر تروفی با اختلالات ساختاری و عملکردی در قلب همراه خواهد بود که به صورت نارسایی قلبی

هایپر تروفی بطن چپ (LVH) پاسخ سازشی قلب به افزایش فعالیت همودینامیکی در طولانی مدت است. به عبارتی، زمانی که سلول های عضله قلب در معرض فشار بیش از حد قرار گیرند، باتوجه به اینکه توانایی تقسیم ندارند، دچار هایپر تروفی یا افزایش حجم خواهند شد که با افزایش اندازه سلول ها و بازسازی ماتریکس خارج سلولی همراه است. این عارضه می تواند به صورت فیزیولوژیک (در پاسخ به ورزش مداوم و بارداری) و یا پاتولوژیک (به دنبال افزایش فشارخون،

قلبی افزایش می‌یابند [۶]. از طرفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۲، که خود در طی هایپرتروفی در بافت افزایش می‌یابند، می‌توانند مسیر آپوپتوز ذاتی را با القا انتقال BAX/BAD به میتوکندری در قلب، که نقش کلیدی در پیشرفت هایپرتروفی قلبی به نارسایی قلبی است، القا کنند [۷]. بنابراین یافتن عوامل فارماکولوژیکی که بتواند به‌نوعی از افزایش سطح این فاکتورها در قلب پیشگیری نماید می‌تواند در پیشگیری از پیشرفت هایپرتروفی پاتولوژیک به‌سوی نارسایی قلبی ارزشمند باشد.

تروپی سترون یک آنتاگونیست گیرنده $5-HT_3$ است که به‌عنوان یک داروی ضد تهوع در بیمارانی که تحت شیمی‌درمانی قرار گرفته‌اند استفاده می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تروپیسترون در بیماری‌های مختلف، از جمله دیابت، پیری مغز و بیماری آلزایمر، عمدتاً با تعدیل آپوپتوز، التهاب و مسیرهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در انواع سلولی مرتبط، اثر درمانی دارد [۸]. بعلاوه، مطالعه علیمردادی و همکاران نشان داد تیمار موش‌های صحرایی مبتلا به سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین با تروپیسترون توانست تغییرات ساختاری و عملکردی قلب را بهبود بخشد [۹]. در مطالعه‌ای دیگر، تجویز تروپی سترون به موش‌های دچار شوک ناشی از خونریزی نیز از طریق فعال‌سازی مسیر پروتئین کیناز B (Akt) توانست قلب را در برابر آسیب ناشی از این شوک محافظت نماید که با بهبود پارامترهای مرتبط با عملکرد قلب، کاهش فاکتورهای پیش‌التهابی و کاهش میزان آپوپتوز در بافت عضله قلب همراه بود [۱۰].

با وجود اهمیت بیان فاکتورهای پرو-آپوپتوتیک خانواده BCL2 در بیماری‌زایی هایپرتروفی قلب و همچنین با وجود اثرات محافظت قلبی گزارش شده برای تروپیسترون، تاکنون گزارشی دال بر اثر تروپی سترون بر سطح mRNA ژن‌های BAX و BAD در بافت قلب دچار هایپرتروفی ارائه نشده است. لذا در مطالعه حاضر اثر تروپی سترون بر بیان ژن‌های BAX و BAD در بافت قلب در مدل هایپرتروفی عضله قلب بررسی شد. ضمناً با توجه به اهمیت بیان پپتید ناتریورتیک BNP در بافت هایپرتروف شده سطح mRNA این فاکتور نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

بروز خواهد نمود که از مهمترین علل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی در دنیا می‌باشد. پاتوفیزیولوژی هایپرتروفی پیچیده و چند عاملی است، چرا که بر چندین سیستم سلولی و مولکولی تأثیر می‌گذارد. شواهد نشان می‌دهد فعال شدن مسیرهای استرس اکسیداتیو، التهاب، و آپوپتوز در سلول‌های عضله قلب از مهمترین مکانیسم‌های درگیر در بیماری‌زایی هایپرتروفی قلبی هستند. در طی پیشرفت هایپرتروفی فاکتورهای پرو-هایپرتروفیک به موازات القای رشد در سلول‌های عضله قلب و ایجاد هایپرتروفی، مسیرهای آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شده) را نیز در کاردیومیوسیت‌ها فعال می‌کنند [۱، ۲]. با رخداد استرس قلبی، پیوندهای متقابل کلاژن تخریب می‌شود و میوسیت‌ها درازتر می‌شوند و از کنار هم می‌لغزند و منجر به اتساع بطن می‌شوند. در سطح سلولی، میوسیت‌های قلبی طولانی می‌شوند، درون ماتریکس میوکارد بازآرایی شده، می‌میرند و با بافت فیبری جایگزین می‌شوند. این تغییرات در مجموع به‌عنوان "بازسازی" نامیده می‌شوند. از آنجایی که بازسازی بطن یک فرآیند فعال است و پس از آسیب اولیه قلبی منجر به زوال فیزیولوژیکی می‌شود، یک هدف درمانی جذاب است [۳]. بنابراین مهار مرگ سلولی می‌تواند از فیروز بافت و پیشرفت هایپرتروفی فیزیولوژیک به سمت پاتولوژیک و در نهایت نارسایی قلبی جلوگیری کند. یکی از ویژگی‌های بارز هایپرتروفی پاتولوژیک قلب، تغییر پروفایل بیان ژن به سمت مشخصات جنینی، از جمله تنظیم مثبت بیان ژن‌های پپتید ناتریورتیک دهلیزی (ANP)^۱ و پپتید ناتریورتیک مغزی (BNP)^۲ است. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش بیان BNP در هردو سطح ژن و پروتئین در سلول‌های عضله قلب ارزش تشخیصی و پیش‌آگهی در هایپرتروفی قلبی دارد. علاوه‌براین، محققان گزارش کرده‌اند که افزایش BNP می‌تواند به‌طور مستقل آپوپتوز را در سلول‌های عضله قلب القا کند [۴، ۵].

پروتئین‌های Bcl2 شامل خانواده‌ای از پروتئین‌های میتوکندریایی پیش‌برنده/ضدآپوپتوز هستند که نقش کلیدی به عنوان آغازگر، تنظیم‌کننده، و فاکتور مسیر ذاتی آپوپتوز دارند. مطالعات نشان داده است که در طی هایپرتروفی میوکارد پروتئین‌های پرو-آپوپتوتیک BAX و BAD در بافت عضله

¹ Atrial natriuretic peptide

² Brain natriuretic peptide

³ Reactive oxygen species

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی بوده و به روش آزمایشگاهی بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۴ سر) در محدوده وزن ۱۷۰-۲۲۰ گرم انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و غذا، سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و دما و رطوبت مناسب نگهداری شدند. حیوانات براساس اصول راهنمایی در نگهداری و استفاده از حیوانات مصوب کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات دانشگاه شهید صدوقی یزد (کد ثبت کمیته اخلاق پزشکی: IR.SSU.MEDICINE.REC.1395.219) مورد مطالعه قرار گرفتند.

حیوانات به گروه‌های زیر تقسیم شدند ($n = 6$):

۱- گروه کنترل شامل موش‌های صحرایی دست‌نخورده سالم بودند که صرفاً نرمال سالین (حلال دارو) را دریافت کردند.

۲- گروه هایپرتروپی بدون درمان: در این گروه حیوانات صرفاً تحت انجام جراحی به منظور القای مدل هایپرتروپی عضله قلب قرار گرفتند.

۳- گروه هایپرتروپی + تروپی سترون: در این گروه حیوانات پس از اینکه تحت القای هایپرتروپی قرار گرفتند داروی تروپی سترون (شرکت نوارتیس فارما، بازل، سوئیس) را نیز با دوز ۳ mg/kg/day به روش تزریق داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز دریافت نمودند.

۴- گروه تروپی سترون: در این گروه آزمایش حیوانات بدون القای هایپرتروپی داروی تروپی سترون را با دوز ۳ mg/kg/day دریافت نموده و سپس نمونه آن‌ها جمع آوری گردید.

القای هایپرتروپی به روش تنگی آنورت شکمی

به منظور القای هایپرتروپی بطن چپ در موش‌های صحرایی تنگی آنورت شکمی صورت پذیرفت. ایجاد فشار خون مزمن به روش مذکور، قلب را دچار یک هایپرتروپی پاتولوژیک می‌سازد. به‌طور خلاصه، موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی زایلانین-کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم زایلانین) بیهوش شدند. در پهلوی چپ حیوان، فاصله بین آخرین دنده و استخوان ران را تراشیده و پوست و بافت زیر جلدی را در ناحیه نزدیک به ستون فقرات با

تیغ جراحی برش دادیم. با استفاده از پنس چربی‌های روی کلیه را کنار زده، شریان شکمی را پیدا کرده و نخ را از زیر آن رد کردیم. سوزن شماره ۲۱ را در کنار شریان قرار داده و دور شریان گره زده و بعد از اطمینان از تنگی شریان نه انسداد کامل آن، اضافات نخ شماره صفر را جدا کرده و کلیه و چربی‌ها را به جای خود برگردانیم. سپس لایه زیر پوست با استفاده از سوزن راند و نخ قابل جذب و پوست با استفاده از سوزن کاتینگ و نخ غیرقابل جذب بخیه زده شدند. سپس حیوان‌ها را به قفس برگردانده و هر یک در قفسی مجزا نگهداری شدند. پس از گذشت سه هفته حیوان‌ها را مجدداً بیهوش کرده و نمونه بافت بطن چپ قلب جهت انجام مطالعه مولکولی استخراج و به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید [۱۱].

استخراج RNA و بررسی بیان ژن‌های هدف

پس از هموژن کردن بافت قلب با استفاده از محلول RNXplus (سیناژن-ایران) mRNA طبق پروتوکول موجود از بافت استخراج گردید. با استفاده از کیت سنتز cDNA (پارس طوس-ایران) cDNA با استفاده از ۱۰۰۰ نانوگرم RNA سنتز شد. سپس cDNA گروه‌های آزمایش در حضور پرایمرهای اختصاصی و مسترمیکس حاوی سایبرگرین (تاکارا-ژاپن) تحت انجام واکنش Real time-PCR قرار گرفتند. سطح mRNA بعنوان مارکر هایپرتروپی قلب و سطح mRNA Bax و Bad بعنوان فاکتورهای پرو-آپوپتوتیک مورد بررسی قرار گرفتند. ژن β -Actin بعنوان ژن رفرنس در نظر گرفته شد. داده‌ها به روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده و پروتوکول زمان، دما و مراحل واکنش real-time PCR به ترتیب در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

آنالیز آماری

به‌منظور مقایسه داده‌ها در بین گروه‌های مختلف آزمایش از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون متعاقب توکی استفاده شد. داده‌ها توسط نرم افزار Graph pad prism مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $p < 0.05$ ملاک معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

ژن	پرایمر پیشرو	پرایمر معکوس
BNP	5'-TGATTCTGCTCCTGCTTTTC-3'	5'-GTGGATTGTTCTGGAGACTG-3'
BAD	5'-GGAGCATCGTTCAGCAGCAG-3'	5'-CCATCCCTTCATCTTCCTCAGTC-3'
BAX	5'-CGAGCTGATCAGAACCATCA-3'	5'-CTCAGCCCATCTTCTTCCAG-3'
B-actin	5'-CTGACGTCCACCCTGACT-3'	5'-GGCAGCTATGTGAGAGCC-3'

یافته‌ها

تغییرات سطح mRNA BNP در بافت عضله قلب گروه‌های آزمایش

همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده است در گروه هایپر تروپی بدون درمان (گروه Hyp) سطح mRNA BNP در مقایسه با گروه کنترل به میزان $7 \pm 60\%$ افزایش یافته است که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.01$). این درحالیست که در گروه هایپر تروپی دریافت‌کننده داروی تروپی سترون (Hyp+Trop) در مقایسه با گروه تیمار نشده (Hyp) سطح mRNA BNP به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p < 0.05$). در عین حال، در گروه دریافت‌کننده دارو به تنهایی، تغییر معنی‌داری در سطح mRNA BNP مشاهده نشد.

تغییرات سطح بیان ژن‌های BAD و BAX در بافت عضله قلب گروه‌های آزمایش

در این مطالعه تغییرات میزان نسخه‌برداری فاکتورهای پرو-آپوپتوتیک BAX و BAD نیز در بافت بطن چپ حیوانات بررسی گردید. یافته‌های حاصل از این بخش از مطالعه نشان داد که در گروه هایپر تروپی بدون مداخله دارویی (گروه Hyp) سطح mRNA BAD و همچنین سطح mRNA BAX به ترتیب به میزان $12 \pm 120\%$ و $5 \pm 30\%$ افزایش یافت که

درخصوص تغییرات سطح mRNA BAD افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد ($p < 0.01$). اما در گروه دریافت‌کننده تروپی سترون که حیوانات به همراه القا هایپر تروپی دارو را نیز دریافت نمودند (گروه Trop + Hyp) سطح mRNA BAD در مقایسه با گروه هایپر تروپی شده بدون درمان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.01$). در گروه دریافت‌کننده دارو بدون القا هایپر تروپی (گروه Trop) تغییر معناداری در سطح بیان BAD و BAX مشاهده نشد. تغییرات سطح mRNA BAX نیز در هیچ یک از گروه‌های آزمایش معنی‌دار نبود (نمودار ۲).

بحث

نتایج بخش اول این مطالعه نشان داد که تنگی آئورت شکمی منجر به افزایش سطح بیان ژن BNP شد که می‌تواند نشان‌دهنده ایجاد هایپر تروپی در بافت عضله قلب باشد. القا هایپر تروپی بطن چپ توسط ایجاد فشار خون بالا مزمن ناشی از تنگی آئورت شکمی یک روش استاندارد و شناخته شده است. در این روش، چند روز بعد از تنگ کردن شریان، به دلیل فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین سطح فشار خون به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. از آنجاکه پمپاژ قلب در برابر فشار خون بالا به تدریج قلب را به سمت هایپر تروف شدن می‌برد

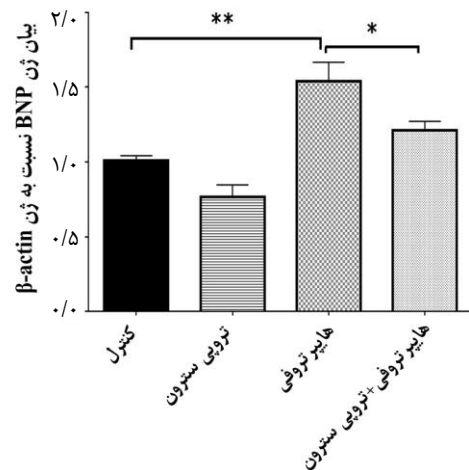
جدول ۲- پروتکل زمان، دما و مراحل واکنش real-time PCR

توضیحات	زمان	دما (°C)	مرحله	سیکل
دنا تورا سیون اولیه	۴ دقیقه	۹۵	۱	×۱
دنا تورا سیون الگو	۳۰ ثانیه	۹۵	۲	×۳۵
اتصال	۳۰ ثانیه	۶۰	۳	×۳۵
تکثیر	۳۰ ثانیه	۷۲	۴	×۳۵
تکثیر نهایی	۵ دقیقه	۷۲	۵	×۱

محافظت قلبی تروپیسترون در این مدل از بیماری‌های قلبی باشد [۱۳]. HT-۵ (سروتونین) در تنظیم رشد طبیعی قلب نقش دارد، اما همچنین می‌تواند از طریق مکانیسم‌های غیرمستقیم مانند تحریک وابسته به ROS آوران‌های سمپاتیک قلبی بر قلب تأثیر منفی بگذارد که منجر به عوارض قلبی مختلف مانند هایپرتروفی بطنی می‌شود. فعال‌سازی سیستم سمپاتیک خود می‌تواند هایپرتروفی قلب را با مکانیسم‌های مختلف از جمله القای آپوپتوز و افزایش استرس اکسیداتیو قلبی به نارسایی قلبی برساند. علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که سروتونین می‌تواند به‌طورمستقیم آپوپتوز و نکروز را در کاردیومیوسیت‌ها القا کند [۱۴، ۱۳، ۳].

در تأیید اثرات محافظت قلبی تروپی سترون، مطالعه اسدی و همکاران بر روی سلول‌های عضله قلب رده H9c2 که به‌واسطه تیمار با دوز بالای گلوکز هایپرتروف شده بودند نشان داد که تیمار این سلول‌ها با تروپیسترون به مدت ۴۸ ساعت از افزایش اندازه سلول‌ها، افزایش سطح پپتید ANP و همچنین افزایش بیان فاکتور نسخه‌برداری NFAT که در پیشرفت هایپرتروفی نقش کلیدی دارد جلوگیری می‌کند [۱۵]. مصرف همزمان تروپی سترون با داروی دوکسوروبیسین و همچنین داروهای شیمی درمانی (سیکلو فسفامید، آدریامایسین و وینکریستین) نیز توانست سطح بیومارکرهای مرتبط با آسیب قلبی شامل LDH و CPK را در سرم کاهش داده و نیروی انقباضی عضله پاپیلری را بهبود بخشد. همچنین فاصله Q-T را که در الکتروکاردیوگرام به‌طور غیرطبیعی افزایش یافته بود به سطح نرمال برگرداند [۱۶]. طبق اطلاعات ما، مطالعه حاضر برای اولین بار اثر کاهندگی تروپی سترون را بر روی بیان BNP در مدل هایپرتروفی قلبی گزارش می‌کند. البته درخصوص مکانیسم احتمالی اثر ضدهایپرتروفی تروپی سترون به انجام مطالعات دقیق‌تری نیاز است تا مشخص گردد آیا اثر کاهندگی تروپی سترون بر بیان BNP به دلیل تغییر عوامل همودینامیکی بوده است و یا تروپیسترون مستقیماً مسیرهای هایپرتروفی و یا مسیر سنتز BNP را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

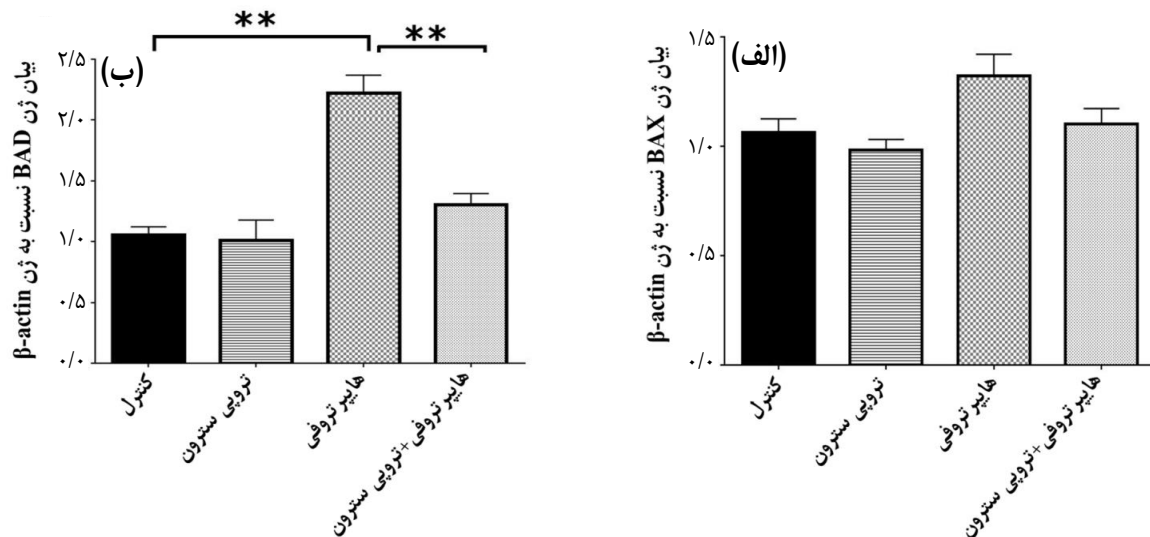
نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان داد که به‌دنبال القا هایپرتروفی میوکارد ناشی از افزایش فشار خون، سطح mRNA فاکتور پرو-آپوپتوتیک BAD به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد. فعال‌شدن مسیرهای آپوپتوتیک و به‌دنبال آن مرگ میوسیت‌های قلبی یکی از مهمترین مکانیسم‌های درگیر



نمودار ۱- اثر تروپی سترون با دوز ۳ میلی گرم/کیلوگرم/روز بر سطح BNP mRNA در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی دچار هایپرتروفی قلبی ناشی از تنگی آئورت شکمی. حیوانات دست‌نخورده به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده‌اند. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۶ سر موش صحرایی بوده است. *: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0.05$; **: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0.001$.

در طی ۲ تا ۳ هفته بعد از تنگ کردن شریان هایپرتروفی قلبی ایجاد خواهد شد. باتوجه‌به مطالعات گذشته افزایش سطح بیان فاکتور ناتریورتیک BNP یکی از مارکرهای ایجاد هایپرتروفی بطن چپ با ارزش تشخیصی و پیش‌آگهی است که در مطالعه حاضر نیز مورد تأیید قرار گرفت [۱۲]. تجویز تروپی-سترون با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز توانست سطح بیان ژن BNP را در بافت بطن چپ هایپرتروف شده به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد که می‌تواند نشان‌دهنده اثر ضدهایپرتروفی تروپی سترون در قلب باشد.

علیرغم مطالعات زیادی که در سال‌های اخیر بر روی اثرات جانبی تروپیسترون انجام شده است، مکانیسم‌های مسئول این اثرات همچنان ناشناخته‌اند. مطالعه Huo و همکاران بر روی هایپرتروفی ناشی از تنگی آئورت شکمی در موش نشان داد که تروپی سترون نسبت وزن قلب به وزن بدن و فیروز بین بافتی را در این حیوانات کاهش می‌دهد. علاوه بر این، تروپی سترون سطح نورآدرنالین سرم را که در پی هایپرتروفی و فعالیت سمپاتیک افزایش یافته بود به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد. باتوجه‌به این که سروتونین از طریق فعال کردن گیرنده‌های ۵-HT فیبرهای آوران سمپاتیک را فعال می‌سازد، مهار عملکرد سیستم سمپاتیک نیز می‌تواند یکی از مکانیسم‌های اثر



نمودار ۲- اثر تروپینی سترون با دوز ۳ میلی گرم/کیلوگرم/روز بر سطح mRNA فاکتورهای پرو-آپوپتوتیک، (الف) BAD و (ب) BAX در بافت میوکارد موش‌های صحرایی دچار هایپرتروفی قلبی ناشی از تنگی آئورت شکمی. حیوانات دست‌نخورده به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده‌اند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۶ سر موش صحرایی بوده است. **: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0.001$.

شرایط پاتولوژیک تحت کنترل درآورند می‌توانند از پیشرفت هایپرتروفی عضله قلبی پیشگیری کرده و در سبب درمانی بیماران مبتلا به این بیماری قرار گیرند. در مطالعه حاضر، تجویز تروپینی سترون در موش‌های صحرایی دچار هایپرتروفی میوکارد از افزایش سطح بیان فاکتور BAD در بافت عضله قلب هایپرتروف شده به‌طور قابل‌توجهی پیشگیری کرد. درخصوص اثر احتمالی تروپینی سترون بر روند آپوپتوز و یا بیان پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز در بافت قلب گزارش‌های زیادی در دست نیست. اخیراً در مطالعه‌ای بر روی سلول‌های عصبی رده PC12 تیمار شده با غلظت بالای گلوکز (جهت القا آپوپتوز) نشان داده شد که پیش تیمار با تروپینی سترون به‌طور قابل‌توجهی درصد بقا این سلول‌ها را افزایش داده و آپوپتوز را در این سلول‌ها مهار می‌کند. نکته جالب توجه این بود که تروپینی سترون توانست بیان BAX و نیز فعالیت کاسپاز-۳ را در این سلول‌ها کاهش دهد [۸].

برخی محققان معتقدند که تروپینی سترون مستقل از اثر بر گیرنده سروتونینی به‌عنوان یک داروی ضد التهابی نیز می‌تواند اعمال اثر کند که در واقع سرکوب التهاب به نوعی مهار آپوپتوز را به‌دنبال خواهد داشت. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای که اخیراً بر روی سلول‌های مغزی صورت گرفته مشخص گردید که تروپینی سترون سمیت عصبی ناشی از H_2O_2 را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. محققان به این نتیجه رسیدند که تروپینی سترون

در پیشرفت هایپرتروفی پاتولوژیک عضله قلبی است. به‌طوری‌که مطالعه بر روی نمونه‌های انسانی مربوط به بیماران نارسایی قلبی به خوبی ثابت کرده است که با پیشرفت هایپرتروفی به‌سوی نارسایی سطح پروتئین‌های BAX، BAK و میزان بیان انواع کاسپازها در بافت قلبی افزایش می‌یابد [۱۷]. همچنین در مطالعات حیوانی نیز در طی این پیشرفت افزایش بیان پروتئین‌های پرو-آپوپتوتیک BAX، BAK و افزایش بیان فاکتورهای التهابی نشان داده شده است [۱۸]. نتایج این بخش از مطالعه ما با مطالعات گذشته بر روی مدل هایپرتروفی قلبی همخوانی دارد. به‌عنوان مثال، صفری و همکارانش نشان دادند که ۴ هفته بعد از تنگی آئورت شکمی سطح mRNA BAD در بافت بطن چپ به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد [۱۹]. افزایش سطح پروتئین BAX نیز در بافت میوکارد موش‌های صحرایی دچار هیپرتانسیون ذاتی نیز نشان داده شده است [۲۰].

بنابراین می‌توان افزایش بیان فاکتورهای پرو-آپوپتوتیک BAX و BAD را به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم مسئول فعال شدن روند آپوپتوز در سلول‌های عضله قلبی دانست که به دنبال ایجاد هایپرتروفی پاتولوژیک به تدریج مرگ سلولی را القا کرده و با حذف سلول‌های کارآمد قلب موجب فیبروز بافتی شده و قلب را به سمت نارسایی هدایت خواهد کرد [۲۱]. بنابراین در صورتی که عوامل دارویی بتوانند بیان فاکتورهای مذکور را در

نتیجه گیری

باتوجه به این که آپوپتوز در مرحله پایانی هایپرتروفی قلب رخ می دهد و مسدود شدن آپوپتوز روزها و هفته ها پس از آسیب می تواند از ایجاد نارسایی قلبی جلوگیری کند [۲۵]، تجویز تروپی سترون (روزها پس از ایجاد هایپرتروفی) می تواند از پیشرفت هایپرتروفی قلبی به نارسایی قلبی جلوگیری کند.

سپاسگزاری

از همکاری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد قدردانی میشود.

ملاحظات مالی

برای اجرای پژوهش حاضر حمایت مالی دریافت نشده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

م.ف.: انجام پژوهش، تجزیه و تحلیل آماری و نگارش مقاله؛ ف.ص.و.ع.ک.: ایده پژوهش و نظارت بر حسن اجرا.

فهرست منابع

- [1] Anselmi A, Lotrionte M, Biondi-Zoccai GG, Galiuto L, Abbate A, Left ventricular hypertrophy, apoptosis, and progression to heart failure in severe aortic stenosis. *Eur Heart J* 26 (2005) 2747-2747.
- [2] Hang T, Huang Z, Jiang S, Gong J, Wang C, Xie D, Ren H, Apoptosis in pressure overload-induced cardiac hypertrophy is mediated, in part, by adenine nucleotide translocator-1. *Ann Clin Lab Sci* 36 (2006) 88-95.
- [3] Dorn GW, Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodelling. *Cardiovasc Res* 81 (2009) 465-473.
- [4] Chang P, Zhang M, Zhang X, Li G, Hu H, Wu J, Wang X, Yang Z, Zhang J, Chen W, B-type natriuretic peptide attenuates endoplasmic reticulum stress in H9c2 cardiomyocytes underwent hypoxia/reoxygenation injury under high glucose/high fat conditions. *Peptides* 111 (2019) 103-111.
- [5] Zhang X, Sha M, Yao Y, Da J, Jing D, Increased B-type-natriuretic peptide promotes myocardial cell apoptosis via the B-type-natriuretic peptide/long non-coding RNA LSINCT5/caspase-1/interleukin 1 β signaling pathway. *Mol Med Rep* 12 (2015) 6761-6767.
- [6] Choi Y-H, Cowan DB, Moran AM, Colan SD, Stamm C, Takeuchi K, Friehs I, Pedro Jd, McGowan Jr FX, Myocyte apoptosis occurs early during the development of pressure-overload hypertrophy in infant myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 137 (2009) 1356-1362.
- [7] Burgoyne JR, Mongue-Din H, Eaton P, Shah AM, Redox signaling in cardiac physiology and pathology. *Circ Res* 111 (2012) 1091-1106.
- [8] Aminzadeh A, Protective effect of tropisetron on high glucose induced apoptosis and oxidative stress in PC12 cells: roles of JNK, P38 MAPKs, and mitochondria pathway. *Metab Brain Dis* 32 (2017) 819-826.
- [9] Alimoradi H, Barzegar-Fallah A, Hassanzadeh G, Mohammadi-Rick S, Asadi F, Delfan B, Abbasi A, Dehpour AR, The cardioprotective effects of an antiemetic drug, tropisetron, on cardiomyopathy related to doxorubicin. *Cardiovasc Toxicol* 12 (2012) 318-325.

- [10] Liu FC, Hwang TL, Liu FW, Yu HP, Tropisetron Attenuates Cardiac Injury in a Rat Trauma-Hemorrhage Model. *Shock* 38 (2012) 76-81.
- [11] Dorri Mashhadi F, Zavvar Reza J, Jamhiri M, Hafizi Z, Zare Mehrjardi F, Safari F, The effect of resveratrol on angiotensin II levels and the rate of transcription of its receptors in the rat cardiac hypertrophy model. *J Physiol Sci* 67 (2017) 303-309.
- [12] Sergeeva IA, Christoffels VM, Regulation of expression of atrial and brain natriuretic peptide, biomarkers for heart development and disease. *Biochim Biophys Acta* 1832 (2013) 2403-2413.
- [13] Huo R, Chen C, Chen Y, Li Z, Hou Y, Dong D, 5-HT₃ receptor antagonists protect against pressure overload-induced cardiac hypertrophy in murine. *Acta Pharm Sin B* 2 (2012) 16-22.
- [14] Bianchi P, Kunduzova O, Masini E, Cambon C, Bani D, Raimondi L, Seguelas M-H, Nistri S, Colucci W, Leducq N, Oxidative stress by monoamine oxidase mediates receptor-independent cardiomyocyte apoptosis by serotonin and postischemic myocardial injury. *Circulation* 112 (2005) 3297-3305.
- [15] Asadi F, Razmi A, Dehpour AR, Shafiei M, Tropisetron inhibits high glucose-induced calcineurin/NFAT hypertrophic pathway in H9c2 myocardial cells. *J Pharm Pharmacol* 68 (2016) 485-493.
- [16] Alimoradi H, Barzegar-Fallah A, Mohammadi-Rick S, Asadi F, Delfan B, Dehpour A, Pretreatment of CAV combination chemotherapy with tropisetron shows less cardio and neurotoxicity side effects in rats. *J Clinic Toxicol* 56 (2012) 2161-0495.
- [17] Latif N, Khan MA, Birks E, O'Farrell A, Westbrook J, Dunn MJ, Yacoub MH, Upregulation of the Bcl-2 family of proteins in end stage heart failure. *J Am Coll Cardiol* 35 (2000) 1769-1777.
- [18] Sarkar S, Chawla-Sarkar M, Young D, Nishiyama K, Rayborn ME, Hollyfield JG, Sen S, Myocardial cell death and regeneration during progression of cardiac hypertrophy to heart failure. *J Biol Chem* 279 (2004) 52630-52642.
- [19] Sadeghzadeh S, Hejazian SH, Jamhiri M, Hafizibarjin Z, Sadeghzadeh S, Safari F, The effect of carvedilol on transcription levels of Bcl-2 family proteins in hypertrophied heart of rats. *Physiol Pharmacol* 22 (2018) 54-62.
- [20] Fortuño MaA, Ravassa S, Etayo JC, Díez J, Overexpression of Bax protein and enhanced apoptosis in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats: effects of AT₁ blockade with losartan. *Hypertension* 32 (1998) 280-286.
- [21] Benling Q, Linsheng C, Lin W, Jingqun Z, Study on apoptosis and expression of P53, bcl-2, Bax in cardiac myocytes of congestive heart failure induced by ventricular pacing. *J Tongji Med Univ* 21 (2001) 202-205.
- [22] Khalifeh S, Fakhfour G, Mehr S, Mousavizadeh K, Dehpour A, Khodaghali F, Kazmi S, Rahimian R, Beyond the 5-HT₃ receptors: a role for α 7nACh receptors in neuroprotective aspects of tropisetron. *Hum Exp Toxicol* 34 (2015) 922-931.
- [23] [de la Vega L, Muñoz E, Calzado MA, Lieb K, Candelario-Jalil E, Gschaidmeir H, Färber L, Mueller W, Stratz T, Fiebich BL, The 5-HT₃ receptor antagonist tropisetron inhibits T cell activation by targeting the calcineurin pathway. *Biochem Pharmacol* 70 (2005) 369-380.
- [24] Rahimian R, Fakhfour G, Ejtemaei Mehr S, Ghia JE, Genazzani AA, Payandemehr B, Dehpour AR, Mousavizadeh K, Lim D, Tropisetron attenuates amyloid-beta-induced inflammatory and apoptotic responses in rats. *Europ J Clin Invest* 43 (2013) 1039-1051.
- [25] Busk PK, Cirera S, MicroRNA profiling in early hypertrophic growth of the left ventricle in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 396 (2010) 989-993.

Research paper

The effect of tropisetron on expression of the pro-apoptotic factors in the rat model hypertrophic heart

Mahsa Fakhr Gholami¹, Fatemeh Safari², Alireza Karimollah^{1*}

1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran
2. Department of Physiology, School of medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran

Received: 6 February 2022

Accepted: 18 April 2022

Abstract

Background and Aim: Hypertension-induced left ventricular hypertrophy is an independent risk factor of heart failure and sudden death. Progression of cardiac hypertrophy is accompanied by activation of apoptosis signaling pathways. Tropisetron is a 5HT-3 receptor antagonist that its cardioprotective effects has been revealed by recent studies. Though, the underlying mechanisms are still unclear. The aim of the current study is to investigate the effect of tropisetron on gene expression of BNP (as the hypertrophy marker) and pro-apoptotic factors (BAD and BAX) in the rat model of hypertrophic heart.

Methods: Male Wistar rats (n = 24) were divided to the following groups: (I) control group including intact animals, (II) un-treated hypertrophy group (hypertrophy), (III) tropisetron-treated rats (3 mg/kg/day, 21 days) during progression of hypertrophy (tropisetron + hypertrophy group), (IV) tropisetron-treated rats without induction of hypertrophy (tropisetron group). The left ventricular hypertrophy model was induced by surgical abdominal aortic banding. Gene expression was assessed by Real-time PCR.

Results: cardiac BNP mRNA level increased significantly in Hypertrophy group compared to the control ($p < 0.001$). In the tropisetron + hypertrophy group, BNP mRNA level was decreased significantly when compared with un-treated Hypertrophy group ($p < 0.05$). The transcription level of BAD was also upregulated in left ventricle of un-treated hypertrophy group ($p < 0.001$ vs. control). However, in the Tropisetron+Hypertrophy group, BAD mRNA level was decreased significantly compared to the untreated hypertrophy group ($p < 0.001$). The transcription level of BAX did not change significantly among the experimental groups.

Conclusion: Tropisetron can prevent the progression of pressure overload-induced hypertrophy to heart failure at least in part by decreasing BAD expression.

Keywords: Apoptosis, Tropisetron, Left ventricular hypertrophy, BAX, BAD, BNP

Please cite this article as follows:

Fakhr Gholami M, Safari F, Karimollah A, The effect of tropisetron on expression of the pro-apoptotic factors in the rat model hypertrophic heart. *Iran J Physiol Pharmacol* 6 (2022) 43-51.

*Corresponding author: karim2560@yahoo.com (ORCID: 0000-0002-6684-333x)