

اثرات ضد آپوپتوزی آتورواستاتین در نارسایی تجربی قلب، ایجاد شده با ایزوپروتونول

یوسف دوستار^۱، داریوش مهاجری^۱

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۳/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۱

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه پاتوبیولوژی، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: نارسایی قلبی یکی از عوامل مهم مرگ و میر در کشورهای صنعتی می‌باشد. این مطالعه برای ارزیابی اثرات ضد آپوپتوزی آتورواستاتین در نارسایی تجربی قلب، ایجاد شده توسط ایزوپروتونول، در موش صحرایی انجام گردید.

مواد و روش کار: ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در ۵ گروه ۱۰ سری: ۱- شاهد سالم، ۲- شاهد بیمار (نارسایی قلب)، ۳- بیمار تیمار با دوز پایین آتورواستاتین، ۴- بیمار تیمار با دوز متوسط آتورواستاتین، ۵- بیمار تیمار با دوز بالای آتورواستاتین تقسیم گردید. برای ایجاد بیماری، ایزوپروتونول روزانه به میزان ۰/۵ mg/kg به مدت ۱۰ روز به‌صورت زیرجلدی تزریق شد. گروه‌های ۱ و ۲، فقط نرمال سالین (۱۰ ml/kg) دریافت کردند. گروه‌های ۳ تا ۵ نیز، به ترتیب آتورواستاتین را به میزان ۵ mg/kg، ۱۰ و ۱۵ دریافت کردند. کلیه تیمارها از طریق خوراکی به‌شکل محلول در نرمال سالین (۱۰ ml/kg)، به‌طور روزانه، ۳ هفته قبل از تزریق ایزوپروتونول آغاز و تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، موش‌ها آسان‌کشی و از بطن چپ قلب آن‌ها برش‌هایی با رنگ آمیزی تانل تهیه گردید. سلول‌های آپوپتوتیک با استفاده از میکروسکوپ نوری شمارش گردیدند. داده‌ها، از لحاظ آماری توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در گروه ۲ ایزوپروتونول باعث افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در مقایسه با گروه شاهد سالم شد ($p < 0/001$). در گروه‌های ۳، ۴ و ۵ آتورواستاتین (۵ mg/kg، ۱۰ و ۱۵) باعث کاهش معنی‌دار (به ترتیب $p < 0/05$ ، $p < 0/01$ و $p < 0/001$) تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در مقایسه با گروه ۲ شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد آتورواستاتین به صورت وابسته به دوز مانع از مرگ آپوپتوزی سلول‌های عضلانی قلب در اثر ایزوپروتونول در موش صحرایی می‌گردد. [م ت ع پ ز، ۱۳(۲): ۱۹-۱۳]

کلیدواژه‌ها: نارسایی قلب، ایزوپروتونول، آتورواستاتین، آپوپتوز، موش صحرایی

مقدمه

گرانیل پیروفسفات توسط استاتین‌ها به‌صورت خوراکی می‌تواند به‌عنوان مکانیسم اثرات غیراختصاصی و مفید این داروها مطرح باشد. مطالعاتی در ارتباط با اثر مفید استاتین‌ها در محافظت قلب در شرایط هیپرتروفیک و آپوپتوزیس انجام شده است.^۱ اما این اثرات مفید در برخی شرایط مثلاً در رابطه با استاتین‌های قوی و مصارف دراز مدت دوزهای بالای آن مورد شک و تردید قرار می‌گیرد.^{۱۱}

در حقیقت استاتین با مهار مسیر مولونات ضمن مهار تولید برخی پروتئین‌های پرنیله‌کننده که در مکانیسم‌های پاتولوژیک دخیل هستند، تولید بعضی از عوامل مفید و محافظتی مثل (Coenzyme Q 10) ubiquinone را نیز جلوگیری می‌کند. CoQ10 در غشای بسیاری از ارگانل‌ها از جمله میتوکندری‌ها یافت می‌شود و نقش اصلی در تولید انرژی در میتوکندری‌ها دارد. CoQ10 یکی از اجزای اصلی در زنجیره الکترون است و در تنفس هوازی سلولی و تولید ATP شرکت می‌کند. برخی شواهد کلینیکی اثرات مفیدی را از این ویتامین محلول در چربی در درمان نارسایی‌های قلبی ارائه می‌دهند.^{۱۲} اخیراً برای برخی از پزشکان و محققان این سوال مطرح شده است که آیا ممکن است مصرف دوزهای بالای استاتین‌ها در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی (علی‌رغم اثرات مفید گزارش شده) در دراز مدت از طریق مهار سنتز این CoQ10 و با تشدید هیپرتروفی باعث پیشرفت نارسایی قلبی در آن‌ها شود. تحریک مزمن گیرنده‌های بتا آدرنرژیک قلب توسط

امروزه بیماری‌های قلبی یکی از مهمترین موارد مرگ و میر به‌شمار می‌رود و اغلب مطالعات سعی در کشف راه‌کاری مناسب برای پیشگیری و درمان نارسایی‌های قلبی دارند. براساس مطالعات دانشمندان به‌نظ می‌رسد داروی آتورواستاتین از طریق مهار و یا فعال کردن مسیرهای متعدد درون سلولی نظیر مهار مسیر NADPH اکسیداز و فعال کردن مسیر پروتئین کیناز C نقش محافظتی در نارسایی‌های قلبی دارا می‌باشد.^{۱۳} استاتین‌ها با مهار هیدروکسی متیل گلو تاریل کوآنزیم A ردوکتاز (HMG-CoA)، سطح سرمی کلسترول را کاهش می‌دهند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که مصرف مقادیر پایین استاتین‌ها برای طولانی مدت بدون عوارض بوده و از خطرات آسیب‌های قلبی عروقی ناشی از هیپرکلستریمی می‌کاهد.^{۱۴} چنین به‌نظر می‌رسد که اثرات مفید استاتین‌ها مربوط به کاهش کلسترول و از طریق مهار مسیر سنتز مولونات می‌باشد.

غیر از کاهش میزان کلسترول اثرات متنوع دیگری نیز به استاتین‌ها نسبت داده می‌شود که بسیاری از آن‌ها از جمله اثرات ضد التهابی، وازودیلاتوری، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوزی اثرات مفیدی هستند.^{۱۵} مولونیک اسید به‌عنوان محصول آنزیم HMG CoA ردوکتاز منشاء بسیاری از ایزوپروپونوئیدهایی است که به غیر از سنتز کلسترول نقش مهمی در وقایع داخل سلولی از قبیل آپوپتوزیس، التهاب، مهاجرت و چسبندگی لوکوسیت‌ها و انعقاد دارند.^{۱۶-۹} بنابراین مهار سنتز ایزوپروپونوئیدهایی مثل فارنزیل فسفات و

در رفتگی در مهره‌های گردن، جدا و پس از پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد، به آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز ارسال گردید. از بطن چپ قلب موش‌ها، مقاطع پی‌درپی با ضخامت ۵ میکرون جهت رنگ‌آمیزی اختصاصی تانل تهیه و مقاطع هیستوپاتولوژیک توسط میکروسکوپ نوری مدل Nikon (ECLIPSE E200)، ساخت کشور ژاپن (مورد ارزیابی قرار گرفت. سلول‌هایی که از لحاظ وقوع آپوپتوز مثبت بودند، با استفاده از میکروسکوپ نوری شمارش و آنالیز گردیدند. برای شمارش سلول‌های آپوپتوتیک، در هر مقطع ۵ میدان میکروسکوپی از منطقه بطن چپ به‌طور تصادفی انتخاب و با بزرگ‌نمایی $\times 40$ مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک تشخیصی آپوپتوز بر اساس دستورالعمل کیت تانل (Insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) انجام پذیرفت. به‌طور خلاصه، برش‌ها پارافین‌زدایی و آبگیری شده سپس در آب مقطر شستشو داده شدند. بافت‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه و در دمای اتاق با ۲۰ گرم/میلی‌لیتر پروتئین کیناز K (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) مجاور گردیدند. فعالیت پراکسیداز آندوزن نیز با انکوباسیون آن در ۳ میلی‌لیتر/لیتر هیدروژن پروکسید/تانول، به‌مدت ۳۰ دقیقه و در دمای 37°C بلوکه گردید. برش‌ها با d^{A} کسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز انتهایی (Terminal deoxynucleotidyl transferase) به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای 37°C انکوبه شدند سپس dUTP (Deoxyuridine triphosphate) کوئزوگه شده با دی‌اکسیژن، به انتهای 3-OH مولکول DNA فراگامته افزوده شد. از آنتی‌بادی آنتی‌دی‌اکسیژن پراکسیداز برای تشخیص نوکلئوتیدهای نشاندار استفاده شد. برش‌ها توسط دی‌آمینوبنزادین رنگ‌آمیزی شده و برای رنگ‌آمیزی زمینه نیز از هماتوئیلین استفاده شد. داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین \pm انحراف استاندارد (Mean \pm SD) ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey مورد بررسی قرار گرفت. اختلافات در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی شدند.

یافته‌ها

در گروه ۲ (شاهد بیمار)، تزریق روزانه ایزوپروتونول به‌طور زیرجلدی به-میزان ۰/۵ ml/kg به‌مدت ۱۰ روز باعث بروز تغییرات شدید آپوپتوز در تارهای عضلانی قلب گردید. در رنگ‌آمیزی تانل، سلول‌های آپوپتوتیک به‌رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره قابل رویت بودند (تصاویر ۱ و ۲). میزان آپوپتوز در این گروه (۱۱/۳ \pm ۰/۶۱) در مقایسه با گروه شاهد سالم (۰/۳۳ \pm ۰/۱۶) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). در گروه ۳، تیمار با دوز پایین آنورواستاتین (۵mg/kg) باعث کاهش شدت بروز آپوپتوز در اثر ایزوپروتونول شد (تصویر ۳)، به‌طوری که اختلاف معنی‌داری بین این گروه (۸/۹ \pm ۰/۳۵) با گروه ۲ (۱۱/۳ \pm ۰/۶۱) وجود داشت ($p < 0.05$) ولی در عین حال بین این گروه با گروه شاهد سالم (۰/۳۳ \pm ۰/۱۶) نیز اختلاف بارز معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.001$).

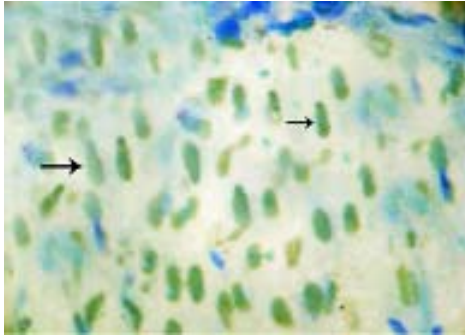
ایزوپروتونول می‌تواند منجر به هیپرتروفی، فیبروز و آپوپتوز تارهای عضلانی قلب شود. بنابراین، از این روش می‌توان به‌عنوان مدلی برای ایجاد هیپرتروفی تجربی بطن چپ و القاء آپوپتوز استفاده کرد.^{۱۳} هیپرتروفی قلب بزرگ شدن جبرانی سلول‌های میوکارد بدون پرولیفراسیون است که آغاز یک پاسخ جبرانی مفید می‌باشد که اگر روند مزمن پیدا کند، می‌تواند منجر به نارسایی قلب شود. اثر آنورواستاتین^{۱۴} و فلوواستاتین^{۱۵} بر انفارکتوس قلبی ناشی از ایزوپروتونول مطالعه شده است که طی آن اثرات مفید درمان کوتاه‌مدت با این دو استاتین بر پارامترهای آنزیماتیک و استرس اکسیداتیو گزارش شده است ولی بررسی در مورد آپوپتوز سلول‌های عضلانی قلب با درمان‌های نسبتاً طولانی انجام نگرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر آنورواستاتین بر آپوپتوز سلول‌های عضلانی قلب در نارسایی بطن چپ ناشی از ایزوپروتونول در موش‌های صحرایی است.

روش کار

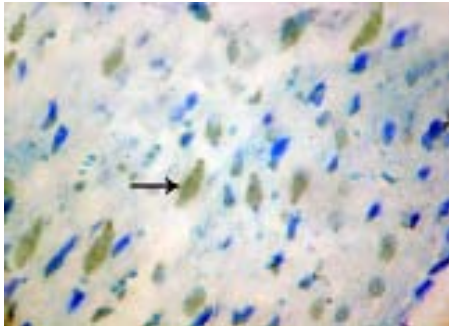
مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۸۸ در مدت ۷ هفته در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز بر روی موش‌های صحرایی انجام پذیرفت برای انجام این مطالعه، تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 23 گرم که از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند، به‌طور تصادفی در ۵ گروه ۱۰ سر شامل گروه‌های: ۱- شاهد سالم، ۲- شاهد بیمار (نارسایی قلب)، ۳- بیمار تیمار با دوز پایین آنورواستاتین، ۴- بیمار تیمار با دوز متوسط آنورواستاتین، ۵- بیمار تیمار با دوز بالای آنورواستاتین تقسیم گردید. شرایط نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای $22 \pm 21^{\circ}\text{C}$ در قفس‌های مخصوص و در بستری از پوشال در نظر گرفته شد. جیره غذایی و آب نیز آزادانه در دسترس حیوان قرار گرفت.

پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها انجام گردید. در این مطالعه، کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود. برای ایجاد بیماری (نارسایی قلبی) در موش‌ها، ایزوپروتونول روزانه و به‌صورت زیرجلدی به‌میزان ۰/۵ mg/kg به‌مدت ۱۰ روز تزریق شد. گروه ۱ به‌عنوان شاهد سالم، نرمال سالیان را به میزان ۱۰ ml/kg به‌شکل خوراکی دریافت کرد. گروه ۲ نیز به‌عنوان شاهد بیمار (نارسایی قلب) نرمال سالیان را به میزان ۱۰ ml/kg به‌شکل خوراکی دریافت کرد. گروه‌های ۳ تا ۵ نیز به‌عنوان گروه‌های بیمار تیمار با دوزهای پایین، متوسط و بالای دارو، به‌ترتیب آنورواستاتین را به میزان ۵ ml/kg، ۱۰ ml/kg و ۱۵ ml/kg دریافت کردند. کلیه تیمارها از طریق خوراکی به‌شکل محلول در نرمال سالیان (۱۰ ml/kg)، به‌طور روزانه، ۳ هفته قبل از تزریق ایزوپروتونول آغاز و تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. برای انجام مطالعات ریزینی، در پایان دوره آزمایش و ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، قلب موش‌ها پس از آسان‌کشی با ایجاد

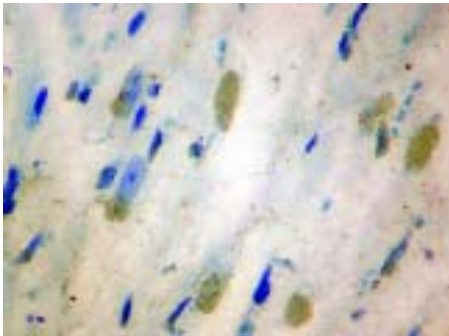
تصویر ۱: نمای ریزینی از بافت قلب یک موش صحرایی از گروه شاهد سالم. بافت قلب از یک نمای طبیعی برخوردار می‌باشد (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 100$).



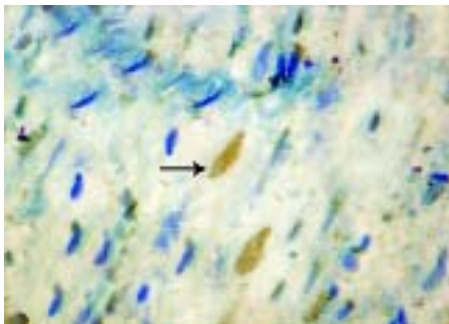
تصویر ۲: نمای ریزینی از بافت قلب یک موش صحرایی از گروه شاهد بیمار. تعداد کثیری از سلول‌های آپپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده می‌گردد. (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 100$).



تصویر ۳: نمای ریزینی از بافت قلب یک موش صحرایی از گروه تیمار با آتورواستاتین با دوز ۵ ml/kg. در بافت قلب، سلول‌های آپپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده می‌گردد. (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 100$).

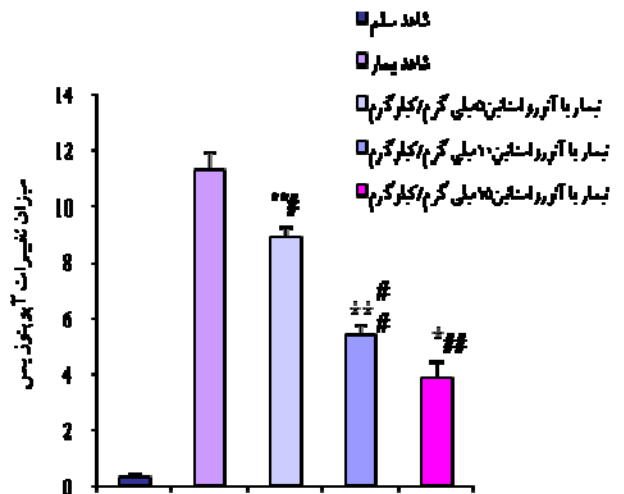


تصویر ۴: نمای ریزینی از بافت قلب یک موش صحرایی از گروه تیمار با آتورواستاتین با دوز ۱۰ ml/kg. در بافت قلب سلول‌های آپپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده می‌گردد. (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 100$).



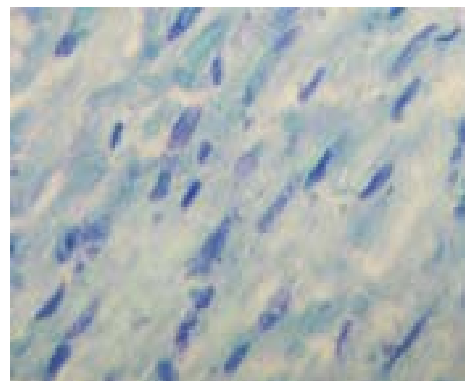
در گروه ۴، تیمار با دوز متوسط آتورواستاتین (۱۰ mg/kg) باعث کاهش قابل توجه بروز آپپتوز در اثر ایزوپروتونول شد (تصویر ۴)، به طوری که اختلاف معنی‌داری بین این گروه (گروه $5/400 \pm 0/3712$) با گروه ۲ (گروه $11/300 \pm 0/6155$) برآورد گردید ($p < 0/01$) ولی با این وجود بین این گروه با گروه شاهد سالم ($0/33 \pm 0/16$) هم‌چنان اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0/01$).

در گروه ۵، تیمار با دوز بالای آتورواستاتین (۱۵ mg/kg) به شدت باعث کاهش بروز آپپتوز در اثر ایزوپروتونول شد (تصویر ۵)، به طوری که اختلاف معنی‌داری بین این گروه (گروه $3/9 \pm 0/56$) با گروه ۲ (گروه $11/3 \pm 0/61$) برآورد گردید ($p < 0/01$) ولی به هر حال، این میزان مصرف عصاره نیز نتوانست تغییرات آپپتوز را به حد نرمال برساند و هنوز بین این گروه با گروه شاهد سالم ($0/33 \pm 0/16$) اختلاف معنی‌دار برقرار بود ($p < 0/05$). مقایسه مقادیر میانگین و انحراف استاندارد آن‌ها در گروه‌های شاهد و تیمار در نمودار ۱ آورده شده است.



نمودار ۱: میانگین تغییرات آپپتوزیس در بافت قلب گروه تیمار و شاهد

*: $p < 0/05$ **: $p < 0/01$ ***: $p < 0/001$ در مقایسه با گروه شاهد سالم. # $p < 0/05$ ## $p < 0/01$ ### $p < 0/001$ در مقایسه با گروه شاهد بیمار



داشتند که تجویز دارو چند روز قبل از ایجاد آسیب، موثرتر از تجویز این دارو در زمان ایسکمی یا بعد از آن می‌باشد.^{۲۱} Laxman و همکاران در سال ۲۰۰۶ به این نتیجه رسیدند که القاء بیان پروتئین FAS در ایسکمی - خونرسانی مجدد بافت قلب باعث بروز آپوپتوز در سلول‌های قلبی می‌گردد و آتورواستاتین نیز به‌طور معنی‌داری از طریق مهار بیان پروتئین FAS باعث کاهش میزان آپوپتوز در سلول‌های قلبی می‌گردد. در مطالعه ایشان استفاده از دوز ۱۰ mg/kg آتورواستاتین به مدت ۳ روز و هر روز یک‌بار قبل از ایجاد تجربی ایسکمی - خونرسانی مجدد بافت قلب، نتایج معنی‌داری در رابطه با اثرات محافظتی در برابر آپوپتوز در پی داشته است.^{۲۲} Zhou و همکاران در سال ۲۰۰۸ به این نتیجه رسیدند که داروهای استاتینی در انفارکتوس‌های ناشی از تاثیر داروی ایزوپروترونول در بافت قلب به‌واسطه فعال کردن مسیرهای تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو به صورت وابسته به دوز نقش سیتوپروتکتیو دارند.^{۲۳} Jiao و همکاران در سال ۲۰۰۷ چنین بیان داشتند که داروی ایزوپروترونول با دوز ۳۰ mg/kg به مدت هفت روز و هر روز یک‌بار باعث القاء آپوپتوزیس در بافت قلب موش‌های صحرائی می‌گردد و در نهایت به نتیجه رسیدند که این دارو از طریق P38MAPK و ONOO مسیر مرگ آپوپتوزی سلول را پیام‌رسانی می‌کند که در مطالعه حاضر در گروهی که دریافت‌کننده ایزوپروترونول بودند این تغییر نیز قابل مشاهده بود.^{۲۴} Son و همکاران در سال ۲۰۰۶ به این نتیجه رسیدند که آتورواستاتین در مهار آپوپتوزیس سلول‌های عضلانی صاف دیواره آئورت به دنبال کلسیفیکاسیون نقش بسیار مهمی دارد. استاتین‌های این مورد بسیار مهم را از طریق مهار بیان GAS6 (Growth Arrest-Specific Gene) باعث کاهش بیان پروتئین‌های وابسته به گیرنده‌ی مربوط به فسفات غیرآلی بنام AXL شده و با القاء کاهش میزان کلسیفیکاسیون به میزان ۴۹ درصد در دیواره آئورت، آپوپتوزیس سلول‌های عضلانی صاف دیواره آئورت را مهار می‌کند.^{۲۵} Yang و همکاران در سال ۲۰۰۸ به این نتیجه رسیدند که داروی آتورواستاتین در سلول‌های بنیادی بافت قلب ایسکمیک خوک باعث مهار آپوپتوزیس، استرس اکسیداتیو و التهاب می‌گردد و از این طریق در بهبودی جایگزینی سلول‌های بنیادی در قلب ایسکمیک خوک‌ها بسیار موثر و مفید می‌باشد.^{۲۶} شایان ذکر است در مطالعه Isabella و همکاران به اثرات آتورواستاتین در القاء آپوپتوز سلول‌های میوفیبروبلاست یا HSCs (Hepatic stellate cells) از مسیر کاسپاز ۳ و ۹ اشاره شده است. سلول‌های HSCs از جمله سلول‌هایی هستند که از تمایز سلول‌های Ito ایجاد می‌شوند و در سنتز پروتئین ماتریکس بافت کبد آسیب دیده نقش دارند. آن‌ها نیز به اثرات وابسته به دوز آتورواستاتین اشاره نموده، به‌طوری که با اندازه‌گیری میزان آتورواستاتین در سرم خون به این نتیجه رسیدند که در دوز ۱۰-۳ mol/lit سرم خون بیشترین اثر آپوپتوتیک خود را

تصویر ۵: نمای ریزینی از مقطع بافت قلب یک موش صحرایی از گروه تیمار با آتورواستاتین با دوز ۱۵ ml/kg. سلول‌های آپوپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده می‌گردد (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی ۱۰۰×).

بحث

در این مطالعه داروی آتورواستاتین باعث کاهش شدت وقوع آپوپتوز ناشی از تزریق روزانه و زیرجلدی ایزوپروترونول به میزان ۰/۵ mg/kg به مدت ۱۰ روز شد، به‌طوری که این اثر محافظتی با افزایش در مصرف داروی آتورواستاتین بیشتر جلب توجه می‌کرد. مطالعات سایر محققین نیز به این موضوع اذعان دارد که دوزهای بالای داروی آتورواستاتین نقش سیتوپروتکتیو موثرتری نسبت به دوزهای متوسط و پایین دارد. Ping و همکاران در سال ۲۰۰۶ به نقش ضدالتهابی و مهار آپوپتوز آتورواستاتین از طریق آنزیم PARP اشاره نمودند. طبق نظر ایشان، با کاهش واسطه‌های التهابی از میزان بیان القاگرهای آپوپتوز نیز احتمالاً کاسته می‌شود.^{۱۶} Schmechel و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان نمودند که آتورواستاتین با تاثیر در ترانس لوکاسیون تحت واحدهای Gys/ Ga باعث محافظت بافت قلب از آسیب‌های القاگر مرگ سلولی می‌گردد.^{۱۷} Luis و همکاران در سال ۲۰۰۲ به تاثیر کاربرد دو داروی سیمواستاتین و آتورواستاتین به‌طور هم‌زمان در القاء آپوپتوز در سلول‌های عضلانی صاف اشاره نمودند که به‌واسطه کاهش پدیداری پروتئین Bcl-2 بوده است.^{۱۸}

Bao و همکاران در سال ۲۰۰۹ به اثر آتورواستاتین در مهار آپوپتوز به‌واسطه کاهش هموسیستئین در سلول‌های آندوتلیال و رید نافی اشاره نمودند. آن‌ها به این نتیجه رسیده بودند که آتورواستاتین احتمالاً از طریق مهار NADPH اکسیداز و مسیر وابسته به آنزیم p38MAPK نقش خود را اعمال می‌دارند.^۱ Tanaka و همکاران در سال ۲۰۰۴ به نقش آتورواستاتین در مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی اشاره نموده و آن را وابسته به پروتئین کیناز C از طریق مهار فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ دانستند.^{۱۹} Tanaka و همکاران در سال ۲۰۰۲ با ارزیابی لاکتات دهیدروژناز نقش سیتوپروتکتیو داروی آتورواستاتین را مورد ارزیابی قرار داده و به این نتیجه رسیدند که نقش آنتی آپوپتوتیکی آن وابسته به دوز بوده و با فعال کردن مسیر پروتئین کیناز C باعث مهار آپوپتوزیس در بافت قلب می‌شود.^۲ Tammy و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ بیان داشتند که داروهای استاتینی در تولید پروتئین‌های مهاری آپوپتوز نظیر BCL2 موثر می‌باشند، به‌طوری که استاتین‌ها از طریق آندوتلین-۱ و NFATc (Nuclear factor activated transcription factor) تاثیر خود را القا می‌کنند. عامل آندوتلین-۱ توانایی آن را دارد که از طریق NFATc باعث افزایش بیان پروتئین BCL2 و مهار آپوپتوزیس در سلول‌های قلبی می‌گردد.^{۲۰} Kwabena و همکاران در سال ۲۰۰۵ ابراز داشتند که آتورواستاتین به‌صورت وابسته به دوز دارای نقش حفاظتی در مرگ سلول‌های قلبی به دنبال ایسکمی خونرسانی مجدد می‌باشد. ایشان اظهار

آسیب سلول‌های عضلانی قلب در انسان‌هایی که به نحوی از این عارضه رنج می‌برند، مورد استفاده قرار داد. لکن، شناخت دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی آن در این مورد نیاز به مطالعات آتی و گسترده‌تری دارد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل یک طرح تحقیقاتی با کد ثبت ۴۲۱ در معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز می‌باشد.

References

- Bao XM, Wu CF, Lu GP. Atorvastatin attenuates homocysteine-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells via inhibiting NADPH oxidase-related oxidative stress-triggered p38MAPK signaling. *Acta Pharmacologica Sin* 2009; 30(10): 1392-98.
- Tanaka K, Honda M, Takabatake T. Antiapoptotic effect of atorvastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, on cardiac myocyte via PKC activation. *Circ J* 2002; 66 (Suppl. 1): 698.
- Long term intervention with pravastatin in ischemic disease (LIPID) study group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998; 339 (19):1349-57.
- Pedersen TR, Kjekshus J, Berg K, et al. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the scandinavian simvastatin survival study. *Atheroscler Suppl* 2004; 5(3): 81-7.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin and risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels *Circulation* 1998; 98(9): 839-44.
- Steinberg D. Hypercholesterolemia and inflammation in atherogenesis: two sides of the same coin. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49(11): 995-8.
- Smit G, Davidson R, Bloor S, et al. Pharmacological properties of ZD4522-a new HMG-CoA reductase inhibitor. *Am J Cardiovasc Drug* 2000; 151(1): 39.
- Arnaud C, Braunersreuther V, Mach F. Toward immunomodulatory and anti inflammatory properties of statins. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15(6): 202-6.
- Coward WR, Marei A, Yang A, et al. Statin induced proinflammatory response in mitogen-activated peripheral blood mononuclear cells through the activation of caspase-1 and IL-18 secretion in monocytes. *J Immunol* 2006; 176(9): 5284-92.
- Stumpf C, Petzi S, Seybold K, et al. Atorvastatin enhances interleukin-10 levels and improves cardiac function in rats after acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)* 2009; 116(1): 45-52.
- Kocsis GF, Pips J, Fekete V, et al. Lovastatin interferes with the infarct size limiting effect of ischemic preconditioning and postconditioning in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(5): H2406-09.
- Van Kerckhoven R, van Veghel R, Saxena PR and Schoemaker RG. Pharmacological therapy can increase capillary density in post-infarction remodeled rat hearts. *Cardiovasc Res* 2004; 61(3): 620-9.
- Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, et al. Isoproterenol induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 1989; 65(3): 657-70.
- Trivedi CJ, Balaraman R, Majithiya JB and Bothara SB. Effect of atorvastatin treatment on isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Pharmacology* 2006; 77(1): 25-32.
- Zhou R, Xu Q, Zheng P, et al. Cardioprotective effect of fluvastatin on isoproterenol-induced myocardial infarction in rat. *Euro J Pharmacol* 2008; 586(1-3): 244-50.
- Ye P, Sheng L, Zhang C and Liu Y. Atorvastatin attenuating down-regulation of peroxisome proliferator activated receptor gamma in preventing cardiac hypertrophy of rats *in vitro* and *in vivo*. *J Pharm Pharm Sci* 2006; 9(3): 365-75.
- Schmechel A, Grimm M, El-Armouche A, et al. Treatment with atorvastatin partially protects the rat heart from harmful catecholamine effects. *Cardiovasc Res* 2009; 82(1): 100-6.
- Blanco-Colio LM, Villa A, Ortego M, et al. 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cells by downregulation of Bcl-2 expression and Rho a prenylation. *Atherosclerosis* 2002; 161(1): 17-26.
- Tanaka K, Honda M, Takabatake T. Anti-apoptotic effect of atorvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, on cardiac myocytes through protein kinase C activation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31(5-6): 360-4.

20. Butterick TA, Igbavboa U, Eckert GP, et al. Simvastatin stimulates production of the antiapoptotic protein BCL2 via endothelin-1 and NFATc3 in SH-SY5Y cells. *Mol Neurobiol* 2010; 41(2-3): 384-91.
21. Mensah K, Mocanu MM, Yellon DM. Failure to protect the myocardium against ischemia/reperfusion injury after chronic atorvastatin treatment. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(8): 1287-91.
22. Laxman D, Zeng H. Atorvastatin inhibits FAS expression in ischemia-reperfusion induced myocardial cell injury. *JRMS (J Res Med Sci)* 2006; 11(3): 137-45.
23. Zhou R, Xu Q, Zheng P, et al. Cardioprotective effect of fluvastatin on isoproterenol-induced myocardial infarction in rat. *Euro J Pharmacol* 2008; 586(1-3):244-50.
24. Jiao X, Hu A, Tao L, et al. Chronic isoproterenol stimulation induces cardiomyocyte apoptosis through p38-cytokine-iNOS pathway. *FASEB J* 2007; 21(6): 958-7.
25. Son BK, Kozaki K, Iijima K, et al. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring Gas6-Axl survival pathway. *Circ Res* 2006; 98(8): 1024-31.
26. Yang YJ, Qian HY, Huang J, et al. Atorvastatin treatment improves survival and effects of implanted mesenchymal stem cells in post-infarct swine hearts. *Eur Heart J* 2008; 29(12): 1578-90.
27. Aprigliano I, Dudas J, Ramadori G and Saile B. Atorvastatin induces apoptosis by caspase-9-dependent pathway: an in-vitro study on activated rat hepatic stellate cells. *Liver Int* 2008; 28(4): 546-557.

The anti-apoptotic effects of atorvastatin in isoproterenol induced experimental heart failure

Yousef Doustar,¹ Daryoush Mohajeri²

Received: 31/May/2010

Accepted: 22/Jun/2010

Background: Heart failure is one of the most important factors of death in industrialized countries. This study was performed to assess the anti-apoptotic effects of atorvastatin in isoproterenol induced experimental heart failure in rats.

Materials and Method: Fifty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 10 animals each, including: 1- healthy control, 2-patient (heart failure) control, 3- patient treated with low dose of atorvastatin, 4- patient treated with moderate dose of atorvastatin, and 5- patient treated with high dose of atorvastatin. For inducing heart failure, isoproterenol was injected subcutaneously at a dose of 0.5 mg/kg daily for 10 days. Groups 1&2 received only normal saline (10 ml/kg). Groups 3-5 received atorvastatin at 5, 10 and 15 mg/kg respectively. All treatments were administered orally in 10 ml/kg normal saline solution, three weeks before isoproterenol injection and continued until the end of trial. Twenty-four hours after the last treatment, the rats were killed and histological sections from left ventricles were prepared through Tunnel staining method. Apoptotic cells were counted by the light microscope. Data were analyzed statistically by one-way ANOVA analysis.

Results: In group 2, isoproterenol treatment increased significantly in the numbers of apoptotic cells in comparison with healthy group ($p<0.001$). In groups 3-5 atorvastatin (5, 10 and 15 mg/kg) caused significant decrease ($p<0.05$, $p<0.01$ and $p<0.001$, respectively) in the numbers of apoptotic cells in comparison with group 2.

Conclusion: The results showed that atorvastatin may prevent isoproterenol induced cardiomyocytes apoptosis in the rats. [ZJRMS, 13(2): 13-19]

Keywords: Heart failure, isoproterenol, atorvastatin, apoptosis, rat

1. Department of Pathobiology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Please cite this article as: Doustar Y, Mohajeri D. The anti-apoptotic effects of atorvastatin in isoproterenol induced experimental heart failure. Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)2011; 13(2): 13-19.