

## تأثیر پست کاندیشنینگ بر پاسخ التهابی ناشی از آسیب ایسکمی-رپرفیوژن میوکارد در رت

رضا بدل زاده (PhD)<sup>۱</sup>، اعظم عباس زاده (MSc)<sup>۲\*</sup>، شهربانو عربیان (PhD)<sup>۲</sup>، فاطمه حیدرزاده (MSc)<sup>۳</sup>

۱- مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران

۳- دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

دریافت: ۹۲/۹/۳، اصلاح: ۹۲/۱۰/۱۵، پذیرش: ۹۲/۲/۲۴

### خلاصه

**سابقه و هدف:** بیماریهای ایسکمیک قلبی جزو مهمترین علل مرگ و میر در جوامع امروزی بوده و پست کاندیشنینگ بعنوان یک استراتژی درمانی جدید در محافظت قلبی در شرایط ایسکمیک مطرح است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر ایسکمیک پست کاندیشنینگ بر التهاب ناشی از آسیب ایسکمی-رپرفیوژن میوکارد در رت نر می باشد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه تجربی از ۲۱ سر رت نر نژاد ویستار استفاده شد که به ۳ گروه کنترل، گروه ایسکمی-رپرفیوژن و گروه پست کاندیشنینگ تقسیم بندی شدند. پس از جراحی، قلب موشهای ایزوله شده و به دستگاه لانگذورف با فشار ثابت متصل گردیدند. در گروه های دوم و سوم بعد از ۱۵ دقیقه دوره ثبتیت عملکرد قلب، ایسکمی منعکسه ای به مدت ۳۰ دقیقه با بستن شریان کرونری نزولی قدامی چپ (left anterior descending) و سپس رپرفیوژن بدت ۶۰ دقیقه با باز کردن مجدد شریان کرونری LAD القا شد. در گروه سوم (پست کاندیشنینگ) در شروع رپرفیوژن، پست کاندیشنینگ به صورت ۳ دوره متناوب ۰۰ ثانیه ای رپرفیوژن و ایسکمی به قلبها ایزوله اعمال شد. پس از نمونه برداری از ناجیه ایسکمیک، سوپرناتانت حاصل از نمونه های بطن چپ جهت اندازه گیری کراتین کیناز به عنوان شاخص آسیب و فاکتورهای التهابی ایترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتورنکروز توموری-آلfa (TNF-α) با استفاده از کیت های اختصاصی به روش الیزا استفاده گردید.

**یافته ها:** ایسکمی-رپرفیوژن توانست سطح آنزیم کراتین کیناز میوکاردی را نسبت به گروه کنترل افزایش دهد ( $12 \pm 4$  U/I در مقایسه با  $10 \pm 3$  U/I) ( $P < 0.05$ ). همچنین سطوح عوامل التهابی IL-6 و TNF-α در گروه ایسکمی-رپرفیوژن بطور معنی داری در مقایسه با کنترل افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). اعمال پست کاندیشنینگ توانست از افزایش مقدار آنزیم کراتین کیناز در قلب ایسکمیک جلوگیری کرده و آن را به حدود  $17 \pm 3$  U/I برساند و مقادیر IL-6 و TNF-α را نسبت به گروه ایسکمی-رپرفیوژن بطور معنی داری کاهش دهد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** ایسکمیک پست کاندیشنینگ می تواند با جلوگیری از تشدید پاسخ های التهابی در میوکارد از شدت آسیب رپرفیوژن کاسته و باعث محافظت قلب ایسکمیک شود.

**واژه های کلیدی:** پست کاندیشنینگ، التهاب، رپرفیوژن، ایسکمی میوکارد، محافظت قلبی.

### مقدمه

رپرفیوژن کرونری در انفارکتوس میوکارد، نقش حیاتی دارد اما مشخص شده است که رپرفیوژن خود می تواند بطور بالقوه آسیب میوکارد را تشدید کند که به آن آسیب رپرفیوژن اطلاق می شود (۶). آسیب رپرفیوژن باعث ایجاد آریتمی، آسیب ریز عروقی، استانینگ میوکارد و پدیده بدون جریان مجدد (no reflow) می شود (۱۹ و ۷۷). در رپرفیوژن مرگ سلولی می تواند به علت آپوپتوز، نکروز و اتوفازی رخ دهد (۱). انفارکتوس میوکارد با یک واکنش التهابی همراه است (۹) و تولید نوتروفیل ها، سایتوکاین ها از جمله ایترلوکین ها و کموکاین ها و سایر سلول های التهابی قسمت عمدۀ پاسخ التهابی هستند که در آسیب رپرفیوژن

انفارکتوس حاد میوکارد (AMI) سالانه مسئول مرگ میلیونها نفر در سراسر دنیاست (۱-۴). علت عدمه بیماری ایسکمی قلبی، اترووسکلروز شریان کرونری همراه با ترومیوز شریانی، آمبولی کرونری، اسپاسم و کاهش قطر مجرای شریان کرونری است (۵). ایسکمی میوکارد حالتی است که در آن بافت قلبی به آرامی یا بطور ناگهانی در اثر کمود اکسیژن و دیگر مواد مغذی دچار آسیب شده و این آسیب منجر به مرگ ماهیچه قلبی می شود. رپرفیوژن سریع، مقدار آسیب ماهیچه قلبی جریان خون به قلب ایسکمیک است. رپرفیوژن سریع، مقدار آسیب ماهیچه قلبی را به حداقل رسانده و عملکرد پمپی قلب را حفظ می کند (۳)، با وجود اینکه

\* مسئول مقاله: اعظم عباس زاده

آدرس: کرج، انتهای خیابان شهید بهشتی، میدان دانشگاه، دانشگاه خوارزمی، تلفن: ۰۲۶۳-۴۵۷۹۶۰۰

تجربه کردند،<sup>۳</sup> گروه پست کاندیشنینگ (Postconditioning) که ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۶۰ دقیقه رپرفیوژن را تجربه کردند اما در ابتدای رپرفیوژن در معرض ۳ دوره ۳۰ ثانیه‌ای ایسکمی-رپرفیوژن قرار گرفتند.

**اندازه گیری آنزیم کراتین کیتاز:** جریان کرونری قلب در دقایق اول رپرفیوژن در یک میکروتیوب جمع آوری شده و تا انجام مراحل آزمایش در یخچال ۷-۷۰ درجه نگهداری گردید. آنزیم CK موجود در مایع کرونری قلب به روش اسپکتروفوتومتری و با استفاده از کیت اختصاصی اندازه گیری شده و به صورت U/L ( واحد در لیتر) گزارش شد.

**تهیه سوپرناتانت از بافت قلبی:** در انتهای آزمایش، قسمتی از بطن چپ جدا شده و در نیتروژن مایع قرار داده شد تا فریز شود سپس تا انجام مراحل بعدی در یخچال ۷-۷۰ نگهداری شد. موقع هموژنیزاسیون، وزن معینی از بطن چپ در هموژنایزر شیشه‌ای توسط محلول لیز بر روی بخ هموژن شد. سپس سانتریفوژ شده و محلول رویی یا سوپرناتانت جدا شد و برای انجام مراحل بعدی در یخچال ذکور نگهداری گردید.

**اندازه گیری فاکتورهای التهابی:** قبل از سنجش نمونه‌های فریز شده به آرامی به دمای اتاق رسانده شدند و به آرامی مخلوط گردیدند. ابتدا چاهک‌ها دوبار توسط بافرشیشو شسته شد، سپس در یک سری از چاهک‌ها رقیق کننده نمونه و در بقیه چاهک‌ها نمونه‌ها ریخته شد. سپس آنتی بادی پلی کلونال آنتی IL-6 و TNF- $\alpha$  رت کنوتونگه شده با بیوتین بطور جدگانه در همه چاهک‌ها ریخته شد و با پارافیلم روی آن پوشانده شد و در دمای اتاق به مدت دو ساعت انکوبه گردیدند. سپس پارافیلم را برداشته و خفره‌ها خالی شده و توسط بافر شیشو شسته شدند. این بار Streptavidin-HRP به همه چاهک‌ها اضافه شد و بعد از پوشاندن با پارافیلم به مدت یک ساعت انکوبه گردید و سپس محلول پیش ماده TMB اضافه گردید و به مدت ده دقیقه انکوبه شد و یک محصول رنگی مطابق با مقدار فاکتور التهابی موجود در آن در استاندارد یا نمونه تشکیل شد. در آخر محلول توقف واکنش (Stop Solution) جهت متوقف کردن واکنش آنزیم اضافه گردید و بعد از آن مقدار جذب هر چاهک در اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۵۰ nm تعیین گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار گزارش شده‌اند. برای مقایسه تفاوت میانگین‌ها در بین گروه‌ها از آزمون آماری one-way ANOVA و بدنال آن تست تعییی Tukey استفاده و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

**سطح آنزیم کراتین کیتاز در آسیب I/R:** آنزیم کراتین کیتاز از فلوئی کرونری در اوایل رپرفیوژن اندازه گیری شد که در گروه‌های آزمایش قابل مقایسه بود. در گروه کنترل که آسیبی در آن ایجاد نشده بود مقدار کراتین کیتاز کم و در حد  $U/L 12 \pm 4$  بود، بعد از ایجاد ایسکمی رپرفیوژن، به علت آسیب ایجاد شده مقدار آن افزایش یافته و به حد  $U/L 27 \pm 3$  رسید، اما بعد از اعمال پست کاندیشنینگ، مقدار این آنزیم به  $U/L 17 \pm 3$  رسید و این یافته نشان می‌دهد که پست کاندیشنینگ، میزان آسیب را بطور معنی داری کاهش داده است ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

میکارد شرکت می‌کنند و باعث تشدید این آسیب می‌گرددند (۱۰). از آنجا که التهاب بخش عمده ای از این آسیب را تشکیل می‌دهد پر واضح است که روش‌های حفاظت‌علیه تشدید التهاب نیز بتواند باعث حفاظت بیشتر میکارد شود.

پست کاندیشنینگ یکی از استراتژی‌های درمانی آسیب رپرفیوژن است که در آن یک سری از دوره‌های کوتاه مدت رپرفیوژن و ایسکمی درست در ابتدای رپرفیوژن به قلب اعمال می‌شود. این استراتژی سایز ناحیه افارکته را کاهش داده و قلب را در برابر آسیب ایسکمی-رپرفیوژن حفاظت می‌کند (۱۱ و ۱۲). پست کاندیشنینگ توسط مکانیسم‌های مختلفی حفاظت قلبی را القا می‌کند که از جمله می‌توان به تشکیل و آزادسازی هورمون‌ها و عوامل محافظتی درونی، برقراری اسیدوز در طول رپرفیوژن اولیه، فعال سازی پروتئین کیتازها و جلوگیری از عملکرد میتوکندریایی اشاره کرد. همچنین نشان داده شده است که پست کاندیشنینگ تجمع نوتروفیل را کاهش داده و آسیب اندوتیال را تقلیل می‌دهد (۱۳)، اما با این وجود، اثر پست کاندیشنینگ بر التهاب ناشی از آسیب ایسکمی و رپرفیوژن قلب هنوز به طور کامل بررسی نشده است و در این مطالعه سعی بر این است تا اثرات ایسکمیک پست کاندیشنینگ بر میانجی‌های التهابی IL-6 و IL-8 در پدیده آسیب رپرفیوژن میکارد مشخص شود.

## مواد و روشها

**حیوانات:** در این مطالعه از ۲۱ سر رت نر نژاد ویستار استفاده شد که محدوده وزنی آنها ۲۵۰-۳۰۰ گرم بود. حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند و در مورد مصرف غذا و آب محدودیتی نداشتند. شرایط نگهداری برای همه حیوانات یکسان بود.

**آماده سازی، جراحی و رپرفیوژن قلب ایزوله:** بعد از تعیین وزن حیوانات و اطمینان از محدوده وزنی بیان شده، همه حیوانات بصورت تزریق داخل صفاقی هپارینه شده و سپس توسط مخلوطی از کاتامین و زایلازین بیوهش شدند و سپس قلبها به سرعت از بدن رت خارج شده و به دستگاه لانگدوفور متصل گردیدند و توسط آنورت با محلول کربس که توسط گاز کربوژن گازدار شده بود در فشار رپرفیوژن ثابت  $75\text{mmHg}$  و دمای  $7/4$  درجه سانتیگراد پررفیوژ شدند. فشار بطن چپ بوسیله یک بالون لاتکس بر از آب وارد شده درون بطن چپ، از طریق یک شکاف کوچک در دهلیز چپ ثبت شد.

**القای ایسکمی-رپرفیوژن منطقه ای:** در شروع آزمایش، یک رشته نخ  $-0$  سیلک اطراف شریان کرونری نزولی قدامی چپ (LAD) قرار داده شد. بعد از یک دوره ثبیت ۱۵ دقیقه ای، زمانیکه قلب ضربان طبیعی خود را بازیافت، همه قلب‌ها در معرض ایسکمی منطقه ای به مدت ۳۰ دقیقه و به دنبال آن رپرفیوژ به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند. ایسکمی منطقه ای و رپرفیوژ به ترتیب بوسیله بستن و دوباره باز کردن LAD القا شد. مشاهده یک کاهش فوری در فشار بطن چپ در شروع ایسکمی و تغییر رنگ سطح بطن چپ، ملاک انسداد کرونری قرار گرفت. ایسکمیک پست کاندیشنینگ نیز توسط ۳ چرخه ۳۰ ثانیه‌ای ایسکمی-رپرفیوژ توسط باز و بسته کردن جریان کربس به آنورت درست در شروع رپرفیوژن القا شد (۴).

**پروتکل آزمایش:** رت‌ها به سه گروه ۷ تابی تقسیم شدند. (۱) گروه کنترل، (۲) گروه ایسکمی-رپرفیوژن (I/R) که ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۶۰ دقیقه رپرفیوژ را

اشاره کرد: ۱) عمل غیرطبیعی عروقی و اندوتیال که نتیجه آن جریان شریانی مغایب می باشد که ممکن است معادل پدیده بدون جریان مجدد در نظر گرفته شود، ۲) غیر طبیعی شدن قابلیت انقباضی و عوامل متابولیتی قلب، ۳) آرتیتمی ها (بی نظمی در ضربان قلب) در وضعیت I/R. در این مطالعه پست کاندیشنینگ از افزایش شاخص تورم سلولی و آپوپتوز (۱۶). در این مطالعه پست کاندیشنینگ از افزایش شاخص های مهم التهابی یعنی TNF- $\alpha$  و IL-6 جلوگیری می کند. آسیب ایسکمی میوکاردی، یک پاسخ التهابی حاد در لوکوسیت های دارای هسته چند شکلی ایجاد می کند، شواهد نشان می دهد که برهم کنش و اکتش های التهابی بوسیله ریپفیوژن تقویت می شود و می تواند در آسیب میوکاردی شرکت داشته باشد (۱۵). یک بخش مهم آسیب، به برهم کنش لوکوسیت ها با سلول های اندوتیال عروقی کرونری، دیواره های شریانی و میوسیت های قلبی نسبت داده می شود. یک جز کلیدی آسیب ایسکمی ریپفیوژن میوکاردی تراکم لوکوسیت های دارای هسته چند شکلی می باشد. آسیب ریز عروق بوسیله اثرات سلول های التهابی از طریق آزادسایی میانجی های التهابی و کاهش تصاعدی جریان خون ایجاد می شود (۱۷). واکنش التهابی مرکب از یک پاسخ هومورال (سیتوکین ها، سیستم کمپلمان) و به علاوه پاسخ وساطت شده بوسیله سلول ها (نوتروفیل، مونوسیت/ماکروفازها، مست سل ها) است (۱۸-۹).

یکی از مکانیسم های عمدۀ آسیب ریپفیوژن میوکاردی در بدن، واکنش متقابل اندوتیلوم- نوتروفیل (شروع فرآیند التهاب) می باشد. در طول ایسکمی- ریپفیوژن میوکاردی، نوتروفیل ها بوسیله مولکولهای التهابی آزاد شده توسط میوسیت های قلبی، سلولهای اندوتیال و مست سل ها فال می شوند. نوتروفیل ها بوسیله اجزای سیستم کمپلمان و سیتوکاین هایی نظیر اینترلوکین ها، TNF- $\alpha$  و IL-6 فعال می شوند (۵). فاکتورهای اینترلوکین-۶ و TNF- $\alpha$  در مطالعات قبلی مشخص شده است که پست کاندیشنینگ عمل آزاد می شوند. در مطالعات قبلی مشخص شده است که پست کاندیشنینگ عمل غیرطبیعی اندوتیال و فالسازی اندوتیال را کاهش داده و بنابراین منجر به کاهش برهم کنش اندوتیال/ لوکوسیت می شود (۱۶)، در نتیجه فعالیت لوکوسیت ها کاهش یافته و آزادسازی محصولات آنها نیز کاهش می یابد، پس TNF- $\alpha$  و IL-6 کمتر آزاد شده و پاسخ التهابی هم که توسعه این میانجی ها قرار بود توسعه پیدا کند، محدود می شود. با وجود این، مطالعات تکمیلی دیگری در این خصوص چهت مشخص شدن مسیرهای سیگنالینگ متهی به تولید سیتوکاینها و چگونگی تداخل آنها در تاثیر محفوظی پست کاندیشنینگ در مدل ایسکمی و ریپفیوژن مورد نیاز است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر چنین استباط می شود که پست کاندیشنینگ می تواند با کاهش تولید آنزیم کراتین کیاز میوکاردی و سیتوکاینهای پیش التهابی TNF- $\alpha$  و IL-6 و مهار یکی از اجزای اصلی دخیل در فیزیولوژی آسیب ایسکمی- ریپفیوژن میوکارد که همان پاسخ التهابی و تولید عوامل التهابی است، از گسترش آسیب ریپفیوژن میوکارد جلوگیری نموده و بدین ترتیب باعث محافظت قلب در برابر این آسیب گردد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی تبریز در اجرای این پروژه تحقیقاتی سپاسگزاری می گردد.

**سطح ۶ IL-6 در آسیب I/R :** IL-6 به عنوان یک سیتوکین هم اثر ضدالتهابی و هم اثر پیش التهابی دارد، در گروه کنترل حدود ۳۰ pg/ml بود اما در گروه I/R به علت آسیب ایسکمی- ریپفیوژن ایجاد شده مقدار آن بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته و به میزان ۹۲ pg/ml رسید. با این حال، بعد از اعمال ایسکمیک پست کاندیشنینگ، مقدار IL-6 نسبت به گروه I/R بطور معنی داری (۰/۰۵ p<۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۱).

**سطح TNF- $\alpha$  در آسیب I/R :** مقدار TNF- $\alpha$  که عمدتاً توسط ماکروفازهای فعال شده طی آسیب و التهاب افزایش آزاد می شود، در گروه کنترل در حدود ۶ pg/ml بود اما آسیب ایسکمی- ریپفیوژن، مقدار آن را افزایش داده و به حدود ۱۹ pg/ml رساند. از طرفی دیگر، اعمال پست کاندیشنینگ در گروه سوم به علت اثر حفاظتی پست کاندیشنینگ، مقدار TNF- $\alpha$  را بطور معنی داری کاهش داد، هرچند این کاهش تا حد گروه کنترل نرسید ولی تا حد ۱۲/۵ pg/ml کاهش یافت، که این نشان دهنده اثر محفوظی پست کاندیشنینگ بر قلب ایسکمیک می باشد که از ایجاد التهاب بیشتر جلوگیری کرده است (جدول ۱).

## جدول ۱. تغییرات سطح آنزیم کراتین کیاز، اینترلوکین-۶ و فاکتور نکروز توموری در سه گروه آزمایش.

گروه ها	کراتین کیاز اینترلوکین-۶	فاکتور نکروز توموری
	(pg/ml)	(U/L)
Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
کنترل	۳۰±۹	۱۲±۴
ایسکمی- ریپفیوژن	۹۲±۱۱*	۲۷±۳*
پست کاندیشنینگ	۶۵±۳#	۱۷±۳#

\*: P<0.05 در مقایسه گروه ایسکمی- ریپفیوژن با گروه کنترل و #: P<0.05 در مقایسه گروه پست کاندیشنینگ با گروه ایسکمی- ریپفیوژن.

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، ایسکمیک پست کاندیشنینگ اثر حفاظتی خود را در میوکارد رت نشان داد. اعمال پست کاندیشنینگ در ابتدای ریپفیوژن توانست با محدود کردن افزایش سطح آنزیم کراتین کیاز بافتی و همچنین مقدار فاکتورهای التهابی TNF- $\alpha$  و IL-6، آسیب ایجاد شده توسط ایسکمی و ریپفیوژن را به حداقل برساند. مطالعه Zhao و همکاران نشان داد که پست کاندیشنینگ در مدل ایسکمی- ریپفیوژن کروزی در سگ، آسیب ایسکمی- ریپفیوژن (شامل سایز انفارکته و عمل غیر طبیعی اندوتیال) را کاهش می دهد و همچنین پیشنهاد شد که لحظات اولیه ریپفیوژن در بیماری‌زایی آسیب بعد ایسکمیک و آسیب ریپفیوژن مهم بوده و دستکاری این فاز ریپفیوژن اولیه، می تواند پیامدهای فیزیولوژیکی آسیب ایسکمی- ریپفیوژن را کاهش دهد (۱۴). مطالعات آزمایشگاهی در یک مدل ایسکمی- ریپفیوژن میوکارد رت نشان می دهد که اجرای سه دوره پست کاندیشنینگ در دقایق اولیه ریپفیوژن بطور بهینه سایز انفارکتوس را کاهش می دهد. همچنین ادامه دادن الگوریتم پست کاندیشنینگ در دقایق بعدی ریپفیوژن باعث کاهش اضافی سایز انفارکتوس نمی شود (۱۴). اگرچه ریپفیوژن مقدار آسیب ماهیچه قلبی را به حداقل می رساند و عملکرد پمپی قلب را حفظ می کند ولی خود ریپفیوژن باعث ایجاد یک آسیب مشخص در میوکارد می شود (۳). در مورد پیامدهای آسیب ریپفیوژن به موارد زیر می توان

## The Effect of Postconditioning on Inflammatory Response Induced by Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rat

R. Badalzadeh (PhD)<sup>1</sup>, A. Abbaszadeh (MSc)<sup>2\*</sup>, S. Oryan (PhD)<sup>2</sup>, F. Heydarzadeh (MSc)<sup>3</sup>

1. Cardiovascular Research Center, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R. Iran

2. Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. Iran

3. Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, I.R. Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(9); Sep 2014; pp: 43-47

Received: Nov 24<sup>th</sup> 2013, Revised: Jan 5<sup>th</sup> 2014, Accepted: May 14<sup>th</sup> 2014.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Ischemic heart diseases are the leading cause of mortality in modern society and postconditioning is considered as a new therapeutic strategy in cardioprotection against ischemic insults. The purpose of this study was to investigate the effect of ischemic postconditioning on inflammation caused by ischemia-reperfusion myocardium injury in rat.

**METHODS:** In this experimental study, 21 male Wistar rats were used and divided into three groups: control, ischemia-reperfusion and postconditioning. After surgery, the hearts of rats were isolated and mounted on a Langendorff apparatus with a constant pressure. In second and third groups, after 15-minutes stabilization period of cardiac function, the hearts were exposed to 30-minutes regional ischemia by occlusion of left anterior descending coronary artery and followed by 60-minutes reperfusion. In third group (postconditioning), postconditioning was exerted at the start of reperfusion by applying 3 alternative cycles of 30 seconds reperfusion and ischemia. The resulting supernatants of samples from ischemic zone of left ventricle were used to measure creatine kinase (CK) enzyme as an indicator of damage and inflammatory factors interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) using laboratory kits via ELISA assay.

**FINDINGS:** Ischemia-reperfusion significantly increased the level of myocardial CK enzyme as compared with control group ( $27 \pm 3$  vs.  $12 \pm 4$  U/l) ( $p < 0.05$ ). In addition, the levels of inflammatory agents IL-6 and TNF- $\alpha$  were significantly increased in I/R group ( $p < 0.05$ ). Induction of postconditioning significantly reduced the CK level to about  $17 \pm 3$  U/l in third group and significantly decreased the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  as compared with those of I/R group ( $p < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Postconditioning can protect the heart by preventing the production of inflammatory agents in myocardium, and thereby reduce the reperfusion injury.

**KEY WORDS:** Postconditioning, Inflammation, Reperfusion, Myocardial Ischemia, Cardioprotection.

### Please cite this article as follows:

Badalzadeh R, Abbaszadeh A, Oryan S, Heydarzadeh F. The effect of postconditioning on inflammatory response induced by myocardial ischemia-reperfusion injury in rat. J Babol Univ Med Sci 2014;16(9):43-47.

\* Corresponding Author; A. Abbaszadeh (MSc)

Address: Kharazmi University, Hesarak, Karaj, I.R. Iran

Tel: + 98 263 4579600

E-mail: azam.abbaszadeh66@yahoo.com

## References

- 1.Perrelli M, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species. *World J Cardiol* 2011;3(6):186-200.
- 2.Nahrendorf M, Pittet MJ, Swirski FK. Monocytes: Protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial ischemia. *Circulation* 2010;121(22):2437-45.
- 3.Balakumar P, Rohilla A, Singh M. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: What could be the next footstep? *Pharmacol Res* 2008;57(6):403-12.
- 4.Badalzadeh R, Mohammadi M, Najafi M, Ahmadias N, Frajnia S, Ebrahimi H. The additive effects of ischemic postconditioning and cyclosporine-a on nitric oxide activity and functions of diabetic myocardium injured by ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2011;17(2):181-9.
- 5.Hoffman JW Jr, Gilbert TB, Poston RS, Silldorff EP. Myocardial reperfusion injury: etiology, mechanisms, and therapies. *J Extra Corpor Technol* 2004;36(4):391-411.
- 6.Marzilli M, Hugi A. Cardioprotective therapy in reperfusion injury: lessons from the European myocardial infarction project – free radicals (EMIP-FR). *Heart Metab* 2010;46(1):35-7.
- 7.Zhao Z, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res* 2006;70(2):200-11.
- 8.Yellon DM, Hausenloy DJ. Mechanisms of disease: myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007;357(1):1121-35.
- 9.Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002;53(1):31-47.
- 10.Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68(5):1905-12.
- 11.Zhang L, Ma J, Liu H. Protective Effect of ischemic postconditioning against ischemia reperfusion-induced myocardium oxidative injury in IR rats. *Molecules* 2012;17(4): 3805-17.
- 12.Iliodromitis EK, Zoga A, Vrettou A, et al. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis* 2006;188(2):356-62.
- 13.Marzilli M, Morrone D, Guarini G. Postconditioning. *Heart Metab* 2012;54(1):20-4.
- 14.Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004;62(1):74-85.
- 15.Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction. From bench to cath lab. Part I: Basic considerations. *Arch Cardiovasc Dis* 2008;101(7-8):491-500.
- 16.Sínay L, Kürthy M, Horváth S and et al. Ischaemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;40(2):133-42.
- 17.Ramachandran A, Jha S, Lefer DJ. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: the role of genetically engineered mouse models. *Vet Pathol* 2008;45(5):698-706.
- 18.Bonvini RF, Hendiri T, Camenzind E. Inflammatory response post-myocardial infarction and reperfusion: a new therapeutic target? *Eur Heart J Suppl* 2005;7(Suppl I):I27-36.