بررسی اثر IC87201 به عنوان مهارکننده PSD95/nNOS بر کاهش عوارض قلبی پس از سکته مغزی در موش‌های صحرایی

مریم محمدیان[1]، امین اله بهاءالدینی[2*]، محمدرضا نام‌آور[3]

۱- دانشجوی دکترا، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات نورولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

یافته / دوره ۲۷ / شماره ۱ / بهار ۱۴۰۴ / مسلسل ۱۰۳

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۶/۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۲

مقدمه: ناهنجاری‌های الکتروکاردیوگرام و آریتمی‌های قلبی بعد از سکته مغزی بسیار رایج هستند. این مطالعه به بررسی اثر IC87201، یک مولکول مؤثر بر مسیر سیگنالینگ درون‌سلولی گیرنده NMDA، بر کاهش طولانی شدن فاصله QT، به‌عنوان شایع‌ترین تغییر الکتروکاردیوگرام پس از ایسکمی مغزی، در موش‌های صحرایی نر پرداخته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۱۵ سر موش صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی به سه گروه MCAO، MCAO+DXM (دکسترومتورفان هیدروبروماید مونوهیدرات، آنتاگونیست گیرنده NMDA)، و MCAO+IC87201 تقسیم شدند (n=۵). دو ساعت پس از ایسکمی، در این سه گروه به ترتیب حلال، DXM و IC87201 به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. امتیاز رفتاری پیش از ایسکمی و چهار و چهل‌وهشت ساعت پس‌ازآن با استفاده از آزمون نقص عصبی (NDS) سنجیده شد. تفاوت‌های آماری با استفاده از آنالیز واریانس با مقادیر تکراری (ANOVA repeated measures) بررسی شد (P<۰/۰۵).

یافته‌ها: فاصله QT به‌طور قابل‌توجهی پس از ایسکمی طولانی شد. تجویز IC87201 این فاصله را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، درحالی‌که DXM چنین اثری نداشت. نسبت LF/HF، به‌عنوان شاخص تعادل سیستم عصبی خودمختار بر عملکرد قلبی، چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی افزایش معنی‌دار یافت. این عدم تعادل چهل‌وهشت ساعت پس از تزریق هر دو ترکیب IC87201 و DXM بهبود یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند که ایسکمی مغزی می‌تواند باعث افزایش فعالیت سیستم سمپاتیک و در پی آن طولانی شدن فاصله QT شود. تجویز IC87201 ممکن است با کاهش این فاصله در بهبود آن مؤثر باشد؛ بنابراین، IC87201 احتمالاً می‌تواند به عنوان یک گزینه مناسب برای کاهش عوارض قلبی پس از سکته مغزی در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی مغزی، طولانی شدن فاصله QT، IC87201، گیرنده NMDA.

*آدرس مکاتبه: شیراز، چهارراه ادبیات، دانشکده علوم، ساختمان شماره ۱، گروه زیست شناسی.

پست الکترونیک: bahaodini@shirazu.ac.ir

مقدمه

سکته مغزی، به‌عنوان دومین علت مرگ‌ومیر جهان و سومین عامل برجسته در ایجاد ناتوانی، امروزه به یک چالش بزرگ در حوزه بهداشت جهانی تبدیل شده است. این بیماری ممکن است به دلیل پارگی عروق مغزی (سکته هموراژیک) یا انسداد آن‌ها (سکته ایسکمیک) رخ دهد (۱). طبق آمار سازمان بهداشت جهانی، ۸۷ درصد از سکته‌های مغزی از نوع ایسکمیک هستند (۲). شواهد قابل‌توجهی وجود دارد مبنی بر اینکه ایسکمی مغزی اثرات مضری بر عملکرد قلب دارد به‌طوری‌که مرگ‌های مرتبط با اختلالات قلبی یکی از علل اصلی مرگ پس از سکته مغزی معرفی می‌شوند (۳). طبق مطالعات، سکته مغزی باعث ایجاد تغییرات در عملکرد سیستم عصبی خودمختار و افزایش بروز آریتمی‌های قلبی می‌شود (۴). تقریباً ۱۵ تا ۴۵ درصد از بیماران مبتلا به سکته مغزی، برخی از انواع ناهنجاری‌ها را در ثبت الکتروکاردیوگرام نشان می‌دهند (۵-۹)، ازجمله طولانی شدن فاصله QT که شایع‌ترین پیامد قلبی سکته مغزی، به‌ویژه ایسکمی نیمکره راست مغز است (۴).

مطالعات زیادی نشان داده است که ایسکمی مغزی به ترتیب باعث افزایش و کاهش نشانگرهای سمپاتیک و پاراسمپاتیک می‌شود و این موضوع در مقاله‌ای توسط Sörös و Hachinski به تفصیل مورد بررسی قرار گرفته است (۱۰). پیامدهای عصبی سکته مغزی تا حد زیادی وابسته به محل وقوع ایسکمی است. در بین ساختارهای مختلف مغز، قشر اینسولار توجه زیادی را به خود جلب کرده است به‌طوری‌که ایسکمی قشر اینسولار سمت راست منجر به فعال شدن بیش‌ازحد سیستم سمپاتیک می‌شود که تأثیر افزایش فعالیت این سیستم بر عملکرد الکتریکی قلب در ثبت الکتروکاردیوگرام بیمار قابل مشاهده است (۱۱). روش‌های مختلفی برای تشخیص اختلال عملکرد سیستم عصبی خودمختار پس از سکته مغزی وجود دارد. ارزیابی آریتمی‌های قلبی و نوسانات ضربان قلب (Heart Rate Variability) می‌تواند اطلاعات مفیدی در این زمینه ارائه دهد. همچنین تجزیه‌وتحلیل دامنه‌های فرکانسی HRV به‌عنوان یک روش ساده و کاربردی برای ارزیابی اثر سیستم عصبی اتونوم بر فعالیت قلب به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲).

یکی از کلیدی‌ترین مکانیسم‌های آسیب‌رسان پس از ایسکمی مغزی فرایند سمیت تحریکی ناشی از فعال شدن بیش‌ازحد گیرنده‌های NMDA است (۱۳). غلظت بالای گلوتامات از طریق این گیرنده‌ها، سبب اضافه‌بار کلسیم داخل سلولی و تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و آسیب به نورون‌ها می‌شود (۱۴). ترکیباتی که توانایی کاهش میزان آسیب ایسکمی مغزی را دارند، ممکن است در بهبود آسیب‌های قلبی پس از سکته مغزی نیز مؤثر باشند. در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتامات آسیب ایسکمیک مغزی را کاهش می‌دهند (۱۵،۱۶). علیرغم نتایج نسبتاً موفق این ترکیبات در مطالعات پیش کلینیکی، استفاده از این آنتاگونیست‌ها به دلیل عوارض جانبی شدید مانند تهوع، استفراغ، عوارض قلبی عروقی و اثرات روانی (۱۴)، نتوانسته است به یک استراتژی درمانی برای بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک تبدیل شود. بنابراین، هدف قرار دادن مسیرهای سیگنال‌دهی پایین دست گیرنده NMDA را می‌توان به‌عنوان یک رویکرد درمانی جایگزین مدنظر قرار داد. به همین منظور، در دهه‌های اخیر مولکول‌های کوچک جدیدی برای برهم‌کنش با این مسیرها ساخته و معرفی شده‌اند. یکی از این عوامل شیمیایی، مولکول IC87201 است که در سال ۲۰۰۹ توسط Florio معرفی شد (۱۷). این مولکول می‌تواند بر پروتئین‌های سطح داخل سلولی گیرنده‌های NMDA اثر بگذارد. در سیناپس‌های تحریکی، پروتئین داربستی

PSD-95 (Post Synaptic Density-95) از یک سو به گیرنده‌های NMDA و از سوی دیگر به آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی (Neuronal Nitric Oxide Synthase) متصل شده و کمپلکسی به نام PSD95/nNOS را تشکیل می‌دهد. برای فعال‌سازی nNOS و تولید نیتریک اکساید، برهمکنش این آنزیم با پروتئین PSD-95 و همچنین ورود یون‌های کلسیم به‌واسطه گیرنده‌های NMDA ضروری است (۱۸). طبق مطالعات، IC87201 می‌تواند با اثر بر کمپلکس PSD95/nNOS و کاهش استرس نیتروژنی، آسیب‌های ناشی از فرایند سمیت تحریکی را مهار کند (۱۹).

گزارش‌ها در زمینه اثر IC87201 بر آسیب‌های قلبی ناشی از سکته مغزی بسیار محدود است. یافته‌های قبلی ما نشان داده است که IC87201 می‌تواند در بهبود پارامترهای نوسانات ضربان قلب مؤثر باشد (۲۰). در این مطالعه، به‌منظور گسترش این تحقیقات و ارائه اولین شواهد در این زمینه، اثر IC87201 بر طولانی شدن فاصله QT، به‌عنوان یکی از ناهنجاری‌های شایع الکتروکاردیوگرام پس از ایسکمی مغزی، مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین، دکسترومتورفان هیدروبرومایید مونوهیدرات (DXM) به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA برای مقایسه اثر مسدود کردن گیرنده NMDA و تعدیل فعالیت آن از طریق مسیرهای سیگنال‌دهی درون‌سلولی استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Sprague- Dawley با وزن ۲۷۵ تا ۳۵۰ گرم از مرکز پزشکی تطبیقی و تجربی دانشگاه علوم پزشکی شیراز (SUMS)، شیراز، ایران تهیه شده و به‌طور تصادفی به سه گروه MCAO، MCAO+DXM (دکسترومتورفان هیدروبرومایید مونوهیدرات، آنتاگونیست گیرنده NMDA)، و MCAO+IC87201 تقسیم شدند (n=۵). در این مطالعه برای تخصیص تصادفی موش‌ها به سه گروه آزمایشی، از روش قرعه‌کشی دستی با کارت‌های تصادفی استفاده شد. در این روش به هر گروه آزمایشی یک عدد اختصاص داده شد (۱: MCAO، ۲: MCAO+DXM، و ۳: MCAO+IC87201). سپس برای هر گروه، پنج کارت با همان عدد درون یک جعبه قرار داده شد. این کارت‌ها به‌طور تصادفی از جعبه خارج شدند و هر کارت به یک موش اختصاص یافت. به‌این‌ترتیب، هر موش بر اساس عدد موجود در کارت به گروه مشخص‌شده تخصیص داده شد. موش‌ها پیش از جراحی به مدت یک هفته در خانه حیوانات با چرخه نور و دمای کنترل‌شده و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در این مطالعه تجربی، کلیه آزمایش‌های حیوانی مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات، طبق قواعد بین‌المللی و ضوابط کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شیراز با کد شناسه SU-۹۵۳۱۴۶۶ انجام گرفت.

موش‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و پس‌ازآن ایسکمی مغزی در آن‌ها به روش انسداد شریان مغزی میانی (Middle Cerebral Artery Occlusion) به مدت یک ساعت القا شد. همچنین از همه‌ی حیوانات، پیش از القای ایسکمی، ثبت پایه ECG گرفته شد که در نمودارها از آن به‌عنوان حالت پیش ایسکمی یادشده که معادل گروه کنترل در نظر گرفته شده است. در همه گروه‌ها ECG با استفاده از پیکربندی لید II مانیتور شد. سیگنال ECG پیش و چهل‌وهشت ساعت پس از القای ایسکمی مغزی بر روی یک کامپیوتر متصل به سیستم PowerLab (شرکت AD Instrument، استرالیا) نمایش داده شد. پس از پایان دوره ایسکمی، حلال، DXM (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (۲۱) و IC87201 (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (۲۲) به‌صورت داخل صفاقی به ترتیب در گروه‌های MCAO،

MCAO+DXM و MCAO+IC87201 تزریق شد. دومین‌های فرکانسی HRV شامل باندهای فرکانس پایین (Frequency Low)، و فرکانس بالا (High Frequency) از فواصل امواج RR استخراج شده و همچنین نسبت این دو پارامتر محاسبه شد.

القای ایسکمی مغزی

ایسکمی مغزی با تکنیک انسداد شریان مغزی میانی با استفاده از فیلامنت و به روش کویزومی (۲۳) القا شد. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین، برشی به طول دو سانتی‌متر در خط وسط ناحیه قدامی گردن، از پایین چانه تا استرنوم ایجاد شد. سپس فاشیا، غدد و عضلات این ناحیه کنار زده شد تا شریان کاروتید مشترک سمت راست و عصب واگ که به موازات آن قرار دارد، در معرض دید قرار گرفت. در ادامه این شریان با دقت از عصب واگ و غلاف آن، شریان کاروتید خارجی و شریان کاروتید داخلی جدا شد. همچنین شریان کاروتید داخلی تا سطح جمجمه از غدد لنفاوی و اعصاب همراه جدا شده و محل اتصال شریان پتریگوپالاتین به این شریان با استفاده از یک گره موقتی با نخ بخیه‌ی سیلک مسدود شد. سپس یک فیلامنت نایلونی تک‌رشته‌ای ۰-۴ با پوشش سیلیکونی و سر گرد شده با حرارت، وارد شریان کاروتید مشترک شده و از مسیر شریان کاروتید داخلی به طول تقریبی ۱۸ تا ۲۲ میلی‌متر به سمت داخل جمجمه فرستاده شد تا زمانی که ابتدای شریان مغزی میانی را در محل جدا شدن از حلقه‌ی ویلیس مسدود کند. یک ساعت پس از انسداد شریان مغزی میانی، با خارج کردن فیلامنت، خون‌رسانی مجدد انجام شد. درنهایت محل برش بخیه شده و با اکسی تتراسایکلین اسپری شد (۲۴). دمای بدن موش‌ها در طول عمل و بعد از جراحی با پد گرمایشی در ۰/۸±۳۷ سانتی‌گراد کنترل و حفظ شد.

ارزیابی اختلالات عصبی-حرکتی

حیوانات در همه گروه‌ها پیش از القای ایسکمی، چهار (۲۵) و چهل‌وهشت ساعت (۲۶) پس‌ازآن ازنظر فعالیت‌های حسی- حرکتی با استفاده از آزمون پنج امتیازی نقص عصبی (Neurological Deficit Score) مورد ارزیابی قرار گرفتند. بازه زمانی چهار ساعت برای اطمینان از القای صحیح ایسکمی پیش از آغاز درمان و جلوگیری از تداخل اثرات داروهای بیهوشی با آزمون رفتاری در نظر گرفته شد. همچنین، زمان چهل‌وهشت ساعت پس از القای ایسکمی به دلیل بروز اختلالات نوروبیولوژیکی حاد در این دوره زمانی انتخاب شد. (۲۷،۲۸).

امتیازات در این آزمون به شرح زیر بود: یک: هیچ نقص نورولوژیکی اتفاق نیفتاده و در واقع ایسکمی ایجاد نشده است. دو: موش در هنگام آویزان شدن از دم توانایی اکستانسیون کامل پنجه در سمت مقابل آسیب را ندارد. سه: موش در هنگام حرکت بر روی سطح صاف به سمت مقابل نیمکره‌ی آسیب‌دیده می‌چرخد. چهار: حیوان دارای سطح هوشیاری پایینی است و رفلکس ایستادن را ازدست‌داده و به سمت مقابل آسیب می‌افتد. پنج: حیوان فاقد هرگونه فعالیت خود به خودی است. در این مطالعه حیواناتی که دارای امتیاز یک بودند (به‌استثنای ارزیابی‌های پیش از ایسکمی حیوانات) و یا به دلیل آسیب ایسکمی شدید از بین رفتند، از مسیر آزمایش خارج شده و با نمونه‌های دیگری جایگزین شدند (۱۱). پروتکل آزمایش‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است.

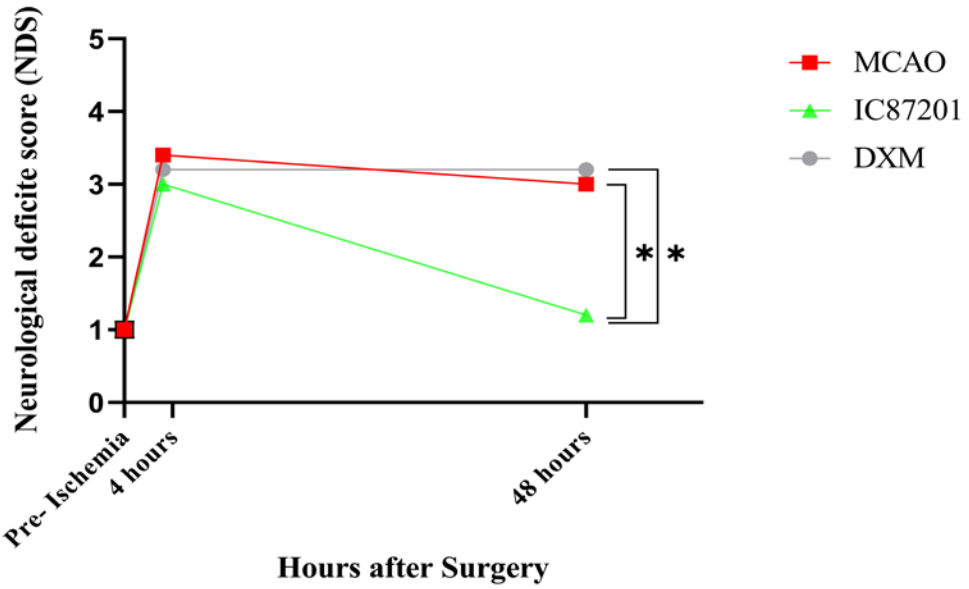
آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل تمامی داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism ۹ انجام شده و داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار گزارش شد. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها، از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. تفاوت‌های آماری با استفاده از آنالیز واریانس با مقادیر تکراری (ANOVA repeated measures) همراه با

آزمون تعقیبی LSD و با سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ بررسی شد.

یافته‌ها

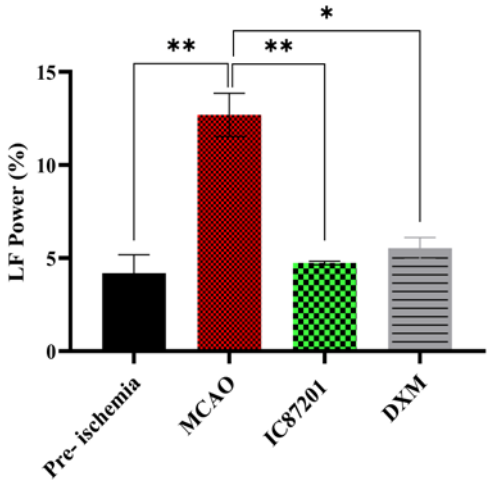
تمام حیوانات ازنظر آسیب حسی-حرکتی پیش از سکته و همچنین چهار و چهل‌وهشت ساعت پس‌ازآن مورد بررسی قرار گرفتند. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، امتیاز آزمون NDS چهار ساعت پس از ایسکمی به‌طور قابل‌توجهی بالاتر رفته که نشان‌دهنده القای موفق ایسکمی در همه گروه‌ها است. این امتیاز چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی، در گروه‌های MCAO و MCAO+DXM همچنان بالا بود ولی در گروه دریافت‌کننده IC87201 به‌طور قابل‌توجهی نسبت به دو گروه دیگر کاهش یافت (P=۰/۰۱۳۹)، که نشان دهنده اثر بهبوددهندگی این دارو است (نمودار ۱).



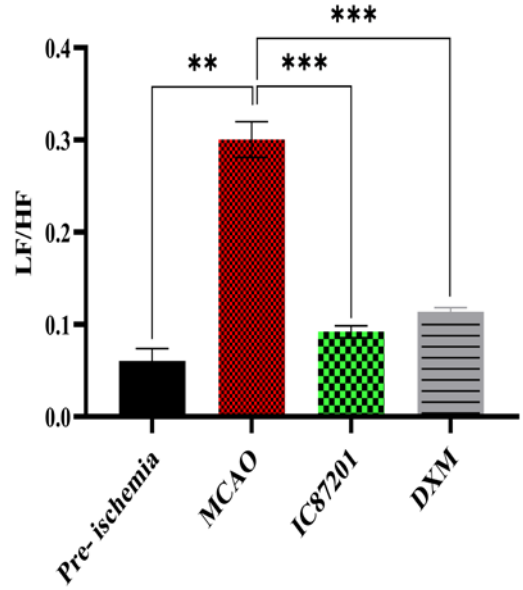
نمودار ۱. بررسی عملکرد حسی-حرکتی حیوانات با استفاده از آزمون نقص عصبی (NDS) در زمان‌های پیش از ایسکمی، چهار ساعت پس از آن و چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی و تزریق داروها (P<۰/۰۵). * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه MCAO و گروه‌های MCAO+IC87201 و MCAO+DXM.

چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی، فاصله QT در گروه MCAO به‌طور معنی‌داری طولانی‌تر از حالت پیش ایسکمی بود (P=۰/۰۱۵۴). این پارامتر در گروه دریافت‌کننده DXM تغییر نکرد؛ اما در گروه تیمار شده با IC87201 به‌طور قابل‌توجهی تا سطح نرمال کاهش یافت (P=۰/۰۰۳۳) (نمودار ۲). نمودار ۳ مقدار نسبت LF/HF را در گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد. این نسبت چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی مغزی در گروه MCAO به‌طور قابل‌توجهی افزایش (P=۰/۰۰۱۷) و در گروه‌های دریافت‌کننده IC87201 (P=۰/۰۰۰۵) و DXM (P=۰/۰۰۰۴) کاهش پیدا کرد (نمودار ۳).

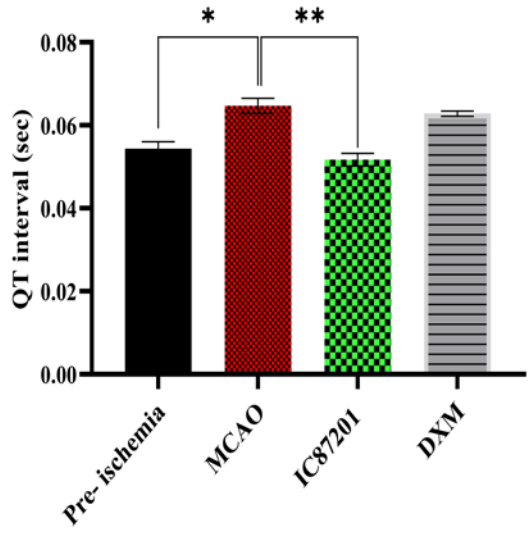
همچنین LF% و HF% به‌طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند و مشخص شد که LF% در گروه مبتلا به ایسکمی مغزی نسبت به حالت پیش از ایسکمی افزایش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۰۷۰). هر دو تیمار IC87201 (P=۰/۰۰۲۲) و DXM (P=۰/۰۱۳۹) توانستند این فاکتور را به‌طور قابل‌توجهی در مقایسه با شرایط ایسکمی کاهش دهند (نمودار ۴). همچنین تغییرات HF% نیز مورد بررسی قرار گرفت که ازنظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۵).



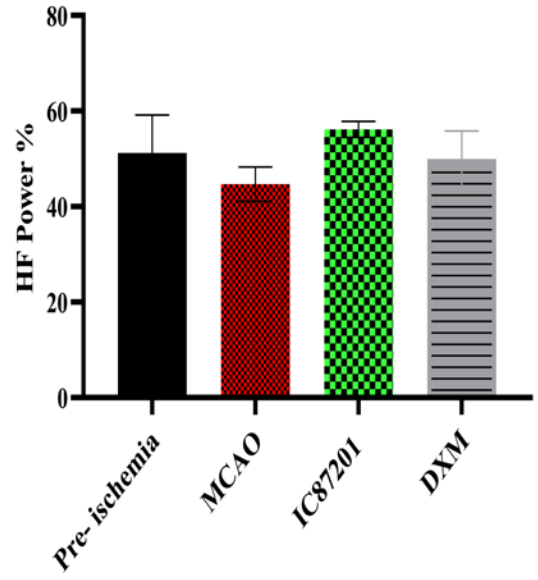
نمودار ۲. بررسی تغییرات فاصله QT در زمان‌های پیش از ایسکمی و چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی و تزریق داروها (P<۰/۰۵). * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه MCAO و حالت پیش از ایسکمی، ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های MCAO و MCAO+IC87201.



نمودار ۳. بررسی تغییرات نسبت LF/HF در زمان‌های پیش از ایسکمی و چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی و تزریق داروها (P<۰/۰۵). ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه MCAO و حالت پیش از ایسکمی، * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه MCAO و گروه‌های MCAO+IC87201 و MCAO+DXM.**



نمودار ۴. بررسی تغییرات دومین فرکانس پایین (LF٪) در زمان‌های پیش از ایسکمی و چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی و تزریق داروها (P<۰/۰۵). * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های MCAO و MCAO+DXM، ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه MCAO و حالت پیش از ایسکمی و همچنین بین گروه‌های MCAO و MCAO+IC87201.



نمودار ۵. بررسی تغییرات دومین فرکانس بالا (HF٪) در زمان‌های پیش از ایسکمی و چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی و تزریق داروها (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای اولین بار اثرات IC87201 به‌عنوان یک مولکول سنتتیک جدید، بر ناهنجاری‌های الکتروکاردیوگرام پس از سکته مغزی مورد بررسی قرار گرفت. به‌طورکلی تغییرات عملکرد قلب از شایع‌ترین مشکلات بیماران پس از سکته مغزی است که در بسیاری از موارد منجر به افزایش مرگ‌ومیر در مرحله حاد پس از سکته می‌شود. در مطالعه حاضر، در حیوانات مبتلا به ایسکمی مغزی، فاصله QT به‌طور قابل‌توجهی نسبت به حالت پیش از ایسکمی طولانی‌تر شد. طبق مطالعات، افزایش فاصله QT شایع‌ترین ناهنجاری ECG است که به دنبال سکته مغزی اتفاق می‌افتد (۲۹-۳۱، ۱۴، ۴). به‌عبارت‌دیگر، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اثرات ایسکمی مغزی بر عملکرد قلبی از طریق برهم خوردن تعادل بین سیستم عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک به سمت افزایش فعالیت سمپاتیک اعمال می‌شود. بنابراین تحریک بیش‌ازحد سیستم عصبی سمپاتیک می‌تواند یکی از مکانیسم‌های احتمالی افزایش فاصله QT به دنبال ایسکمی مغزی باشد (۳۲). آسیب‌های قلبی که به دنبال عدم تعادل سیستم عصبی خودمختار رخ می‌دهد، با دو فرضیه قابل توجیه است: فرضیه اول مربوط به آسیب دیدن ساختارهای مغزی کنترل‌کننده سیستم عصبی خودمختار در شرایط ایسکمی است (۳۳) مانند آمیگدال، سینگولیت قدامی، قشر پری فرونتال شکمی میانی، شکنج فرونتال تحتانی و میانی، و اینسولای قدامی و خلفی (۳۴). فرضیه دوم به بر هم خوردن تعادل رفلکس‌های کنترل‌کننده فعالیت سیستم‌های سمپاتیک و پاراسمپاتیک، فعال شدن بیش‌ازحد سیستم سمپاتیک و در نتیجه افزایش ترشح کاتکول آمین‌ها اشاره دارد (۳۵). صرف‌نظر از عوامل مؤثر بر افزایش فعالیت سمپاتیک، درنهایت این بالا رفتن فعالیت می‌تواند مستقیماً بر قلب اثر بگذارد. در هنگام تحریک شدید سمپاتیک و فعال شدن مداوم گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، اضافه‌بار کلسیم و در نتیجه آن افزایش زمان دوره رپلاریزاسیون پتانسیل عمل در سلول‌های قلبی اتفاق می‌افتد. این رخدادها می‌توانند سبب بروز انواع آریتمی‌ها و ناهنجاری‌های فعالیت الکتریکی قلب بشوند که در ECG قابل مشاهده است (۳۶). در یک پژوهش، طولانی شدن فاصله QT، دوره پتانسیل عمل، و افزایش جریان کانال‌های کلسیمی L-type در کاردیومیوسایت‌های موش‌های صحرایی مبتلا به ایسکمی مغزی گزارش شده است. از بین این پارامترها، افزایش جریان کانال‌های کلسیمی و تجمع این یون در کاردیومیوسایت‌ها به‌عنوان عامل اصلی طولانی شدن فاصله QT در نظر گرفته شده است (۳۷).

در دهه‌های اخیر، HRV به‌عنوان یک شاخص جدید برای بررسی شرایط پاتوفیزیولوژیک قلبی پس از سکته مغزی مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه نیز دومین‌های فرکانسی نوسانات ضربان قلب شامل دومین‌های HF، LF و نسبت LF/HF به‌عنوان نشانگر اصلی اثرات سیستم عصبی خودمختار بر فعالیت قلبی با استفاده از ثبت ECG محاسبه و بررسی شد. در پژوهش‌های گذشته ثابت شده که LF و HF به ترتیب نشانگر کنترل سیستم‌های عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک بر فعالیت قلبی هستند. بنابراین نسبت LF/HF نیز به‌عنوان شاخص تعادل سیستم اتونوم قلبی مطرح می‌شود (۱۸)، به‌طوری‌که بالا رفتن این نسبت به معنای افزایش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک نسبت به پاراسمپاتیک است (۳۸). در مطالعه حاضر نسبت LF/HF، چهل‌وهشت ساعت پس از ایسکمی به‌طور قابل‌توجهی نسبت به حالت پیش از ایسکمی بالاتر بود. همچنین بررسی جداگانه دو پارامتر LF و HF در این مطالعه نشان داد که افزایش نسبت این دو فاکتور عمدتاً در نتیجه افزایش فعالیت سیستم سمپاتیک رخ داده است. در سایر مطالعات نیز نشان داده شده که تغییرات HRV

پس از ایسکمی مغزی با افـزایش نسـبت LF/HF همـراه است و معمولاً این تغییرات دوازده تا چهل‌وهشـت سـاعت پس از ایسکمی در ثبت ECG قابل مشـاهده اسـت (۴۰، ۳۹، ۱۴). این بخش از نتایج مطالعه حاضر بـا نتـایج سـایر تحقیقات هم‌راستا است.

طبق نتایج مطالعات، در کنترل اتونومیک قلبـی نـوعی عدم تقارن (Cerebral Asymmetry) در سـاختارهای کنترل‌کننده وجود دارد، به این معنی کـه قشـر اینسـولار راسـت و چـپ بـه ترتیـب عمـدتاً در کنتـرل پاسـخ‌های سمپاتیک و پاراسـمپاتیک دخیـل هسـتند (۴۱). بنـابراین ایسکمی نیمکره راست مغز اغلـب عواقـب سـمپاتیکی بـه دنبال دارد (۳،۴۲). القای ایسکمی مغزی در نیمکره راست و پاسخ افـزایش فعالیـت سیسـتم سـمپاتیک کـه در ایـن پژوهش به دست آمده است با مطالعات ذکرشده همخوانی دارد.

اثرات محافظت‌کنندگی نورونی DXM، به‌عنوان یـک آنتاگونیسـت غیررقـابتی گیرنـده NMDA، در مطالعـات متعددی پس از ایسکمی مغزی مورد بررسی و تائیـد قـرار گرفته است (۱۵). بااین‌حال، استفاده از این آنتاگونیست‌ها به دلیل عوارض جانبی متعدد نتوانسـته بـه‌عنوان یـک راه حل درمانی مناسب در نظر گرفته شود (۱۴). بنـابراین، در این پژوهش هدف قرار دادن مسیرهای سیگنالینگ داخـل سلولی این گیرنده‌ها به‌عنوان یک استراتژی جایگزین برای کاهش شدت آسیب ناشـی از ایسـکمی مـدنظر قـرار داده شده و در همین راستا از ترکیب IC87201 به‌عنوان یک مولکول کوچک جدید استفاده شد.

بر اساس نتایج این مطالعه، استفاده از IC87201 پـس از ایسکمی مغزی سبب بازگشت فاصله QT به حالت پـیش از ایسکمی شـد. در پژوهش‌هـای گذشـته نشـان داده شـده است که این مولکول به‌طور مستقیم بر پروتئین‌های متصـل به بخش داخل سـلولی گیرنـده NMAD اثـر می‌گـذارد و برهمکنش پروتئین/ پروتئین PSD-95 و آنزیم nNOS را قطع می‌کند. در نتیجه تولید نیتریک اکساید و آسیب ناشـی از رادیکال‌های آزاد نیتروژن را بدون اثر بر فعالیت کاتـالیکی آنـزیم nNOS کـاهش می‌دهـد. همچنـین، IC87201 تداخلی با جریان پـس سیناپسـی گیرنـده‌های NMDA و فعالیت نرمال آن نـدارد (۱۹). بـا توجـه بـه بیـان گسـترده گیرنـده‌های NMDA در قشـر اینسـولار، اثـرات قلبـی IC87201 را می‌توان بـه بهبـود آسـیب ایسـکمی در ایـن سـاختار و سـایر بخش‌هـای کنترل‌کننـده سیسـتم عصـبی خودمختار نسبت داد. در برخی تحقیقات گزارش شده است که فعـال شـدن گیرنـده‌های NMDA در قشـر اینسـولار منجـر بـه افـزایش فعالیـت سیسـتم سـمپاتیک می‌شـود (۴۳،۴۴). بنابراین، محتمل است کـه IC87201 از طریـق مهار مسیرهای داخل سلولی گیرنده‌های NMDA از بـروز فراینـد سـمیت تحریکـی، بـه‌عنوان مهم‌تـرین مکانیسـم آسیب‌رسان پس از ایسکمی مغزی، در مناطقی ماننـد قشـر اینسـولار جلـوگیری کنـد. هرچنـد بـرای مشـخص شـدن مکانیسم دقیق اثرات بهبوددهنده این ترکیـب پژوهش‌هـای بیشتری مورد نیاز است.

در این مطالعه، به دلیل محدودیت‌های مالی و زمـانی، ارزیابی‌های مولکولی مربـوط بـه مکانیسـم اثـر دارو انجـام نشده است. در همین راستا، بررسی برخی پارامترها ماننـد شاخص‌های استرس نیتروژنی در حضور این دارو می‌توانـد به تعیین دقیق‌تر مکانیسم اثر آن کمـک کنـد. همچنـین، بررسی‌های استریولوژیک بر روی سـاختارهای مغـزی کـه سیستم عصبی خودمختار را کنترل می‌کننـد، ماننـد قشـر اینسولار، می‌تواند در پژوهش‌های آینده به روشن‌تر شـدن پتانسیل درمانی این دارو کمک شایانی نماید.

به‌طورکلی، یافته‌های این پـژوهش بـا نتـایج مطالعـات قبلی در مورد نقش محور مغز-قلب در طول سکته مغـزی ایسکمیک حاد هم‌جهت است. انسداد شریان مغزی میـانی در نیمکره راست مغز سبب فعال شدن بیش‌ازحد سیسـتم سمپاتیک و طولانی شدن فاصله QT می‌شود کـه تجـویز

IC87201 می‌تواند از طولانی شدن این فاصله جلوگیری کند. با مقایسه اثر IC87201 و DXM، به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA، می‌توان نتیجه گرفت که تعدیل فعالیت گیرنده NMDA باهدف قرار دادن مسیرهای پایین‌دست روش مؤثرتری نسبت به مهار کامل این گیرنده است. بااین‌حال، برای مشخص شدن مکانیسم دقیق اثرات بهبوددهنده این ترکیب پژوهش‌های بیشتری موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین‌وسیله از کلیه افرادی که در انجام این تحقیق مشارکت و همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچ‌کدام از نویسندگان این مقاله، افراد یا سازمان‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

حمایت مالی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دوره دکترا با شماره گرنت SU-۹۵۳۱۴۶۶-۱ است که با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است. در این راستا از دانشگاه شیراز جهت فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی برای اجرایی شدن این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین، خلاصه‌ای از این مقاله قبلاً در پنجمین کنگره بین‌المللی و بیست و ششمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، سمنان، ایران به‌صورت سخنرانی ارائه شده است.

مشارکت نویسندگان

مریم محمدیان جراحی‌های حیوانات، آزمون‌های رفتاری، و تحلیل داده‌ها را انجام داده و همچنین پیش‌نویس مقاله را نوشت. امین اله بهاءالدینی طراحی مطالعه، نظارت بر روند انجام آزمایش‌ها و ویرایش مقاله را انجام داد. تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را برای انتشار تائید کردند.

ملاحظات اخلاقی

تمامی مراحل و آزمایش‌های حیوانی مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات، طبق قواعد بین‌المللی و ضوابط کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شیراز با کد شناسه SU-۹۵۳۱۴۶۶ انجام شده است.

References

1. Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2020;1866(4):165260.
2. Grysiewicz RA, Thomas K, Pandey DK. Epidemiology of ischemic and hemorrhagic stroke :incidence, prevalence, mortality, and risk factors. Neurologic clinics. 2008;26(4):871-95.
3. Diener H-C, Hacke W, Davis S. Predictors of Early Cardiac Morbidity and Mortality After Ischemic Stroke. 2007.
4. Simula S, Muuronen AT, Taina M, Jäkälä P, Sipola P, Vanninen R, et al.. Effect of middle cerebral artery territory ischemic stroke on QT interval. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2014;23(4):717-23.
5. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation: a major contributor to stroke in the elderly: the Framingham Study. Archives of internal medicine. 1987;147(9):1561-4.
6. Cheung RT, Hachinski V. Cardiac effects of stroke. Current treatment options in cardiovascular medicine. 2004;6(3):199-207.
7. Åsberg S, Henriksson KM, Farahmand B , Asplund K, Norrving B, Appelros P, et al. Ischemic stroke and secondary prevention in clinical practice: a cohort study of 14 529 patients in the Swedish Stroke Register. Stroke. 2010;41(7):1338-42.
8. Hannon N, Sheehan O, Kelly L, Marnane M, Merwick A ,Moore A, et al. Stroke associated with atrial fibrillation–incidence and early outcomes in the north Dublin population stroke study. Cerebrovascular Diseases. 2009;29(1):43-9.
9. Björck S, Palaszewski B, Friberg L, Bergfeldt L. Atrial fibrillation, stroke risk, and warfarin therapy revisited: a population-based study. Stroke. 2013;44(11):3103-8.
10. Sörös P, Hachinski V. Cardiovascular and neurological causes of sudden death after ischaemic stroke. The Lancet Neurology. 2012;11(2):179-88
11. Meyer S, Strittmatter M, Fischer C, Georg T, Schmitz B. Lateralization in autononic dysfunction in ischemic stroke involving the insular cortex. Neuroreport. 2004;15(2):357-61.
12. Kuwahara M, Yayou K-i, Ishii K, Hashimoto S-i, Tsubone H, Sugano S. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. Journal of electrocardiology. 1994;27(4):333-7.
13. Yang ZZ, Li J, Li SX, Feng W, Wang H. Effect of ginkgolide B on striatal extracellular amino acids in middle cerebral artery occluded rats. Journal of ethnopharmacology. 2011;136(1):117-22.
14. Wu QJ, Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. Molecular brain. 2018;11:1-14.
15. Werling LL, Lauterbach EC, Calef U. Dextromethorphan as a potential neuroprotective agent with unique

mechanisms of action. The neurologist. 2007;13(5):272-93.
16. Radenovic L, Selakovic V, Janac B, Andjus P. Neuroprotective efficiency of NMDA receptor blockade in the striatum and CA3 hippocampus after various durations of cerebral ischemia in gerbils. Acta Physiologica Hungarica. 2011;98(1):32-44.
17. Florio S, Loh C, Huang S, Iwamaye A, Kitto K, Fowler K, et al. Disruption of nNOS-PSD95 protein–protein interaction inhibits acute thermal hyperalgesia and chronic mechanical allodynia in rodents. British journal of pharmacology. 2009;158(2):494-506.
18. Colivicchi F, Bassi A, Santini M, Caltagirone C. Cardiac autonomic derangement and arrhythmias in right-sided stroke with insular involvement. Stroke. 2004;35(9):2094-8.
19. Zhou L, Li F, Xu H-B, Luo C-X, Wu H-Y, Zhu M-M, et al. Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95. Nature medicine. 2010;16(12):1439-43.
20. Mohammadian M, Bahaoddini A. IC87201, a PSD-95/nNOS Inhibitor, Ameliorates Heart Rate Variability in the Rat Model of Middle Cerebral Artery Occlusion. Insights in Biology and Medicine. 2023; 7: 001-006
21. Bokesch PM, Marchand JE, Connelly CS, Wurm WH, Kream RM. Dextromethorphan inhibits ischemia-induced c-fos expression and delayed neuronal death in hippocampal neurons. Anesthesiology. 1994;81(2):470-7.
22. Smith AE, Xu Z, Lai YY, Kulkarni PM, Thakur GA, Hohmann AG, et al. Source memory in rats is impaired by an NMDA receptor antagonist but not by PSD95-nNOS protein–protein interaction inhibitors .Behavioural brain research. 2016;305:23-9.
23. Koizumi J. Experimental studies of ischemic brain edema. 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. Jpn J Stroke. 1986;8:1-8.
24. Owjfard M, Bigdeli MR, Safari A, Namavar MR. Effects of nicorandil on neurobehavioral function, BBB integrity, edema and stereological parameters of the brain in the sub-acute phase of stroke in a rat model. Journal of biosciences. 2020;45:1-16.
25. Mohammadian M, Bahaoddini A, Namavar MR. The IC87201 (a PSD95/nNOS Inhibitor) Attenuates Post-Stroke Injuries. Neurochemical Research. 2024:1-12.
26. Owjfard M, Taghadosi Z, Bigdeli MR, Safari A, Zarifkar A, Borhani-Haghighi A, et al. Effect of nicorandil on the spatial arrangement of primary motor cortical neurons in the sub-acute phase of stroke in a rat model. Journal of Chemical Neuroanatomy. 2021;117:102000.
27. Martin-Villalba A, Herr I, Jeremias I, Hahne M, Brandt R, Vogel J, et al. CD95 ligand (Fas-L/APO-1L) and tumor

necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand mediate ischemia-induced apoptosis in neurons. Journal of Neuroscience. 1999;19(10):3809-17.
28. Rosenbaum DM, Gupta G, D'Amore J, Singh M, Weidenheim K, Zhang H, et al. Fas (CD9/٥APO-1) plays a role in the pathophysiology of focal cerebral ischemia. Journal of neuroscience research. 2000;61(6):686-92.
29. Sander D, Klingelhöfer J. Changes of circadian blood pressure patterns after hemodynamic and thromboembolic brain infarction .Stroke. 1994;25(9):1730-7.
30. Sander D, Klingelhöfer J. Extent of autonomic activation following cerebral ischemia is different in hypertensive and normotensive humans. Archives of neurology. 1996;53(9):890-4.
31. Fure B, Bruun Wyller T, Thommessen B. Electrocardiographic and troponin T changes in acute ischaemic stroke. Journal of internal medicine. 2006;259(6):592-7.
32. Murthy SB, Shah S, Rao CPV, Bershad EM, Suarez JI. Neurogenic stunned myocardium following acute subarachnoid hemorrhage: pathophysiology and practical considerations. Journal of intensive care medicine. 2015;30(6):318-25.
33. Kocan MJ. The brain-heart connection: cardiac effects of acute ischemic stroke. Journal of Cardiovascular Nursing. 1998;13(1):57-68.
34. Sun L, Du J, Zhang G, Zhang Y, Pan G, Wang L et al. Aberration of L-type calcium channel in cardiac myocytes is one of the mechanisms of arrhythmia induced by cerebral ischemia. Cellular Physiology and Biochemistry. 2008;22(1-4):147-56.
35. McCance AJ. Assessment of sympathoneural activity in clinical research. Life sciences. 1991;48(8):713-21.
36. Oppenheimer S, Cechetto D. The insular cortex and the regulation of cardiac function. Comprehensive Physiology. 2011;6(2):1081-133.
37. Billman GE. The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. Frontiers Media SA; 2013. p. 26.
38. Chen C-F, Lin H-F, Lin R-T, Yang Y-H, Lai C-L. Relationship between ischemic stroke location and autonomic cardiac function. Journal of Clinical Neuroscience. 2013;20(3):406.٩-
39. Ay H, Arsava EM, Koroshetz WJ, Sorensen AG. Middle cerebral artery infarcts encompassing the insula are more prone to growth. Stroke. 2008;39(2):373-8.
40 Goulart MT, Busnardo C, Belém-Filho IJ, Benini R, Fassini A, Crestani CC, et al. NMDA receptors in the insular cortex modulate cardiovascular and autonomic but not neuroendocrine responses to restraint stress in rats. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2022;119:110598.
41. Marins FR, Iddings JA, Fontes MA, Filosa JA .Evidence that remodeling of insular cortex neurovascular unit contributes to hypertension-related

sympathoexcitation. Physiological reports. 2017;5(5):e13156.
42. Malliani A, Montano N. Heart rate variability as a clinical tool. Italian Heart Journal. 20. 45-3:439;2.
43. Strittmatter M, Meyer S, Fischer C, Georg T, Schmitz B. Location-dependent patterns in cardio-autonomic dysfunction in ischaemic stroke. European neurology. 2003;50(1):30-8.
44. Marins FR, Limborço-Filho M, Iddings JA, Xavier CH, Biancardi VC, Stern JE, et al. Tachycardia evoked from insular stroke in rats is dependent on glutamatergic neurotransmission in the dorsomedial hypothalamus. European Journal of Neurology. 2021;28(11):3640-9.

.

Investigation of the Effect of IC87201, a PSD95/nNOS Inhibitor, on Reducing Cardiac Complications After Stroke in Male Rats

Mohammadian M[1], Bahaoddini A[2*], Namavar MR[3]
1. PhD Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran
2.Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran, bahaodini@shirazu.ac.ir
3.Associate Professor, Clinical Neurology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz. Iran

Received: *2024/8/29* Accepted: *2025/1/31*

Abstract

Background: Abnormalities of electrocardiogram and cardiac arrhythmias after stroke are very common. This study investigated the effect of IC87201, a molecule affecting the NMDA receptor intracellular signaling pathway, on reducing QT interval prolongation, as the most common electrocardiogram change after cerebral ischemia, in male rats.

Materials and Methods: In this study, 15 male adult rats were randomly divided into three groups: MCAO, MCAO+DXM (dextromethorphan hydrobromide monohydrate, NMDA receptor antagonist), and MCAO+IC87201 (n=5 each). Two hours after ischemia, solvent, DXM, and IC87201 were injected intraperitoneally into these three groups, respectively. Pre-ischemia, four hours, and forty-eight hours post-ischemia neurological-behavioral scores were assessed using the neurological deficit score test. Statistical differences were measured using repeated measures analysis of variance ($P<0.05$).

Results: QT interval significantly prolonged after ischemia. Administration of IC87201 significantly reduced this interval, whereas DXM did not have such an effect. The LF/HF ratio, as an index of autonomic nervous system balance on cardiac performance, significantly increased forty-eight hours after ischemia. This imbalance improved forty-eight hours after the injection of both IC87201 and DXM.

Conclusion: The results of this study indicated that cerebral ischemia could lead to an increase in sympathetic activity, which in turn causes prolonged QT interval. The administration of IC87201 may be effective in improving this condition by reducing the QT interval. Therefore, IC87201 may potentially be considered a suitable option for reducing cardiac complications following stroke.

Keywords: Cerebral ischemia, IC8720, NMDA Receptor, QT interval prolongation.

Citation: Mohammadian M, Bahaoddini A, Namavar MR. Investigation of the Effect of IC87201, a PSD95/nNOS Inhibitor, on Reducing Cardiac Complications After Stroke in Male Rats. Yafte. 2025; 27(1):53-66.