Physiology and Pharmacology, 12 (2), 91 - 100
Summer 2008 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Evaluation of the effects of normobaric hyperoxia pretreatment on ischemia-reperfusion injury in a regional ischemia model using isolated rat heart

Khalil Pourkhalili[1], Sohrab Hajizadeh[1*], Ali Khoshbaten[2], Taki Tiraihi[3]

1.Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2.Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3.Dept. Anatomy, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 8 Jan 2008 Revised: 13 Apr 2008 Accepted: 14 May 2008

Abstract

Introduction: Recent studies have shown beneficial effects of hyperoxia pretreatment (HOP) against ischemia-reperfusion injury in different organs. The aim of the present study was to investigate the effect of early and late phases of preconditioning induced by normobaric hyperoxia (≥ 95% O2) on ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart.

Methods: Following 60 and 180 minutes of hyperoxia, rat hearts were isolated immediately (HOP60 and HOP180) or after 24 hours (HOP60/24 and HOP180/24), and were subjected to 30 minutes of regional ischemia followed by 120 minutes of reperfusion. Incidence and severity of ventricular arrhythmias, mechanical function of the heart and coronary flow were assessed during 120 min of reperfusion. LDH and CK release into the coronary effluent were measured. Infarct size also was calculated by triphenyl tetrazolium chloride staining at the end of reperfusion.

Results: Incidence and severity of reperfusion arrhythmias were significantly reduced after hyperoxia pretreatment, especially in the early phase of treatment. Hyperoxia improves mycardial contractile function and decreases coronary flow reduction during reperfusion. Infarct size and enzymes release were also significantly decreased in the early and late phases of hyperoxia pretreatment.

Conclusion: These results indicate that hyperoxia pretreatment before induction of regional heart ischemia reduces cardiac infarct size and attenuates reperfusion induced arrhythmias in isolated rat heart.

Keywords: Hyperoxia, Ischemia-reperfusion injury, Heart protection, Arrhythmias

* Corresponding author e- mail: hajizads@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۲ (۲) ، ۹۱ – ۱۰۰
تابستان ۱۳۸۷

اثرات پیش درمانی با هیپراکسی نورموباریک بر آسیب‌های ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد در مدل ایسکمی ناحیه‌ای قلب ایزوله موش‌های صحرایی

خلیل پورخلیلی[۱]، سهراب حاجی‌زاده[۱*]، علی خوش باطن[۲]، تقی الطریحی[۳]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی،دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران
۳. گروه علوم تشریح ، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

دریافت: دی ۸۶ بازبینی: فروردین ۸۷ پذیرش: اردیبهشت ۸۷

چکیده

مقدمه: مطالعات اخیر اثرات سودمند پیش درمانی با هیپراکسی را علیه آسیبهای ناشی از ایسکمی و جریان مجدد در بافتهای مختلف نشان داده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات اولیه و تاخیری هیپراکسی نورموباریک بر آسیب های ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد در قلب ایزوله موش صحرایی می باشد.

روش‌ها: بعد از ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه استنشاق گاز اکسیژن (۹۵ ٪ ≤)، قلب موشها بلافاصله یا ۲۴ ساعت بعد ایزوله و در دستگاه قلب ایزوله قرار گرفت. سپس ایسکمی ناحیه ای با بستن شریان کرونر نزولی قدامی چپ به مدت ۳۰ دقیقه اعمال و به دنبال آن ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد برقرار گردید. شیوع و شدت آریتمی‌ها و همچنین فعالیت مکانیکی قلب و میزان جریان کرونری در طول جریان مجدد مورد بررسی قرار گرفت. میزان رهایش آنزیم های LDH و CK به داخل مایع خروجی کرونر اندازه گرفته شد. سایز انفارکتوس در ناحیه ایسکمیک نیز بوسیله رنگ آمیزی اسلایس‌ها با تری فنیل تترازولیوم کلراید در پایان جریان مجدد محاسبه گردید.

یافته‌ها: هیپراکسی سبب کاهش معنی دار شیوع و شدت آریتمی‌ها در زمان جریان مجدد بویژه در فاز اولیه پیش درمانی با هیپراکسی می گردد. میزان جریان کرونر و عملکرد قلبی نیز در زمان جریان مجدد بهبود قابل ملاحضه ای را در گروههای هیپراکسی نسبت به گروه کنترل نشان می دهد. همچنین سایز ناحیه انفارکتوس و رهایش آنزیمهای قلبی نیز بوسیله هیپراکسی هم در فاز اولیه و هم در فاز تاخیری کاهش معنی داری پیدا می نماید.

نتیجه‌گیری: یافته های این تحقیق نشان می دهد که پیش درمانی با هیپراکسی نورموباریک قبل از القاء ایسکمی ناحیه ای قلب سبب کاهش حجم سکته میوکارد شده و آریتمی های زمان جریان مجدد را نیز کم می نماید.

واژه‌های کلیدی: هیپراکسی، آسیب ایسکمی ـ جریان مجدد، محافظت قلبی، آریتمی

مقدمه

آسیب ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد (Ischemia- reperfusion injury) در موارد مختلف مثل سکته های قلبی، جراحی بای پس قلبی ـ ریوی، پیوند بای پس کرونر، پیوند قلب و یا در زمان عمل جراحی ترمبوز شریانهای کرونر رخ می دهد [۱]. بنابراین امروزه محققین دنبال یافتن راهکارهایی برای افزایش دادن مقاومت بافت قلب در برابر آسیب ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد قبل از وقوع احتمالی یک عارضه قلبی در افراد مستعد یا قبل از اعمال جراحی قلب

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: hajizads@modares.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

می باشند. پیش آماده سازی (Preconditioning) بافت قلب یکی از روشهای مفید برای افزایش مقاومت میوکارد در ایسکمی می باشد. دوره های کوتاه ایسکمی ـ جریان مجدد قبل از یک دوره آسیب ایسکمی طولانی مدت (پیش آماده سازی ایسکمیک)، روشی قوی در محافظت از میوکارد در مقابل آسیب ایسکمی ـ جریان مجدد می باشد [۲]. پیش آماده سازی ایسکمیک (Ischemic preconditioning) یک پروسه دو فازی است: فاز اولیه سریعاً بعد از دوره‌های کوتاه ایسکمی ـ جریان مجدد شروع می‌شود و برای حداکثر ۲ الی ۳ ساعت طول می‌کشد و فاز تأخیری یا نهایی ۱۲ تا ۲۴ ساعت بعد از محرک پیش آماده سازی شروع می‌شود و به مدت ۴۸ الی ۹۶ ساعت ادامه می‌یابد. پیش آماده سازی ایسکمیک نه تنها موجب کاهش سایز انفارکتوس قلب می شود بلکه اثر قابل توجهی نیز در کاهش شدت آریتمی‌ها و اختلالات انقباضی بعد از ایسکمی دارد [۳,۲]. اما کاربرد پیش آماده سازی ایسکمیک مستلزم قطع کامل جریان خون بافت می باشد که این امر مشکل ساز و در بسیاری از موارد کلینیکی قابل اجرا نبوده و غیر اخلاقی نیز می باشد. برای مقابله با این مشکلات، تحقیقات در جهت پیدا کردن روشی است که کاربرد آن راحت و قابل اجرا بوده و در عین حال از مسیر های سیگنالینگ پیش آماده سازی ایسکمیک تقلید نماید. یکی از این روشها برای القاء تحمل به ایسکمی (Ischemic tolerance) در بافت‌ها استفاده از درصدهای بالای اکسیژن (هیپراکسی) می باشد. اثرات هیپراکسی در کاهش آسیب های ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد در بافت های مختلف مشخص شده است. تحقیقات نشان داده است که پیش درمانی با هیپراکسی (Hyperoxia pretreatment) نورموباریک و هیپرباریک قبل از اعمال ایسکمی طولانی در قلب سبب کاهش سایز سکته قلبی و بهبود فعالیت انقباضی قلب بعد از ایسکمی می شود [۴، ۵، ۶]. اثرات مفید و محافظتی هیپراکسی در مقابله با آسیب های ناشی از ایسکمی و جریان مجدد در بافت‌ها ی دیگر مثل نخاع [۷]، مغز [۸، ۹]، کبد [۱۰] و کلیه [۱۱] نیز نشان داده شده است. اثر سودمند هیپراکسی طولانی مدت مداوم و پیوسته در محافظت از بافت مغز در مقابل ایسکمی در آزمایشگاه ما نیز به اثبات رسیده است [۹]. علاوه بر سایز انفارکتوس و فعالیت مکانیکی، آریتمی های قلبی نیز مسئله بسیار مهمی در زمان ایسکمی ـ جریان مجدد می باشد و همچنین یکی از دلایل مرگ ناگهانی می باشند [۱۲]. اگرچه اثرات مفید هیپراکسی در آسیب های ناشی از ایسکمی ـ جریان مجدد در بافت قلب در مطالعات پیشین تا حدودی نشان داده شده است ولی این مطالعات عمدتا مربوط به اثرات محافظتی اولیه پیش درمانی با هیپراکسی می باشد و درباره فاز تاخیری عملکرد هیپراکسی در کاهش آسیب قلب در مواجهه با ایسکمی ـ جریان مجدد و مهمتر از این درباره نقش هیپراکسی در کاهش آریتمی های ناشی از جریان مجدد مطالعه ای وجود ندارد. بنابراین به منظور بهتر مشخص شدن اثرات مفید هیپراکسی در قلب تصمیم گرفته شد تا اثرات ضد آریتمی احتمالی هیپراکسی و همچنین نقش هیپراکسی در فاز تاخیری پیش آماده سازی در مدل قلب ایزوله موش صحرایی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر از نژاد Wistar در محدوده وزنی بین۲۵۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده شد. حیوان‌ها در حیوان خانه دانشگاه تربیت مدرس در دمای ۲۰ الی۲۲ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری می شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

در مجموع ۵ گروه آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت: ۱- کنترل نورموکسی (CN)، که هوای معمولی (اکسیژن ۲۱ ٪) استنشاق میکردند (۱۰ سر). ۲- ۶۰ دقیقه هیپراکسی (اکسیژن ۹۵ ٪ ≤) بلافاصله قبل از ایزوله نمودن قلب (HOP60)، (۷ سر). ۳- ۱۸۰ دقیقه هیپراکسی بلافاصله قبل از ایزوله نمودن قلب (HOP180)، (۸ سر). ۴- ۶۰ دقیقه هیپراکسی ۲۴ ساعت قبل از ایزوله نمودن قلب (HOP60\24)، (تعداد ۶). ۵- ۱۸۰ دقیقه هیپراکسی ۲۴ ساعت قبل از ایزوله نمودن قلب (HOP180\24)، (تعداد ۶). برای بررسی اثرات اولیه پیش آماده سازی با هیپراکسی بلافاصله بعد از درمان با هیپراکسی قلب حیوان از بدن جدا شده و در دستگاه لانگندورف قرار گرفت و برای بررسی اثرات تاخیری پیش آماده سازی با هیپراکسی، ۲۴ ساعت بعد از درمان با هیپراکسی قلب جدا و در دستگاه قرار گرفت.

بلافاصله یا ۲۴ ساعت قبل از جداسازی قلب، حیوانها در محیط حاوی اکسیژن نورموباریک و با درصد بالا (۹۵ ٪ ≤ و ۱ اتمسفر) قرار می‌گرفتند. برای این منظور حیوانات به مدت ۱ و ۳

ساعت در داخل باکس اکسیژن به ابعاد ۲۰×۲۵×۳۵ سانتی متر قرار داده می‌شدند و اکسیژن از طریق لوله‌ای به داخل محفظه وارد می‌شد. میزان جریان اکسیژن در حدی تنظیم می‌شد (حدود ۲ لیتر در دقیقه) که درصد اکسیژن محفظه مساوی یا بالاتر از ۹۵ درصد باقی بماند. برای اندازه‌گیری غلظت اکسیژن داخل محفظه از دستگاه سنجش درصد اکسیژن Lutron-DO 5510, (Taiwan) استفاده شد.

برای جدا سازی قلب و پرفیوژن در دستگاه قلب ایزوله (لانگندورف)، در ابتدا حیوانات توسط پنتوباربیتال سدیم (۶۰ mg/kg ، صفاقی) بیهوش و برای جلوگیری از انعقاد خون ۲۵۰ الی ۳۰۰ واحد هپارین در داخل ورید دمی تزریق شد. سپس جناق را از دو طرف برش داده بعد جناق کلمپ و به سمت سر حیوان ثابت شد. در این حالت قلب کاملا آشکار گردیده و آماده کانول گذاری می‌شد. برای جلوگیری از تخلیه مواد انرژی زای قلب، بر روی آن محلول کربس سرد ۴ درجه ریخته تا از ضربان بیفتد. سپس یک نخ سیلک ۵ صفر از زیر شریان کرونر قدامی چپ (LAD)، ۲ تا ۳ میلیمتر پایین تر از مبدا آن، در جدار بطن چپ عبور داده شد و در محل قرار گرفت. این نخ برای القاء ایسکمی ناحیه‌ای در زمان ایسکمی مورد استفاده قرار می‌گرفت. سپس آئورت کانوله شده و قلب از بافتهای اطراف جدا می گردید و جهت برقراری پرفیوژن به دستگاه لانگندورف متصل می‌شد. جهت پرفیوژن قلب در دستگاه از محلول کربس ـ هنسلیت با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد استفاده شد. همچنین محلول کربس به طور دائم توسط گاز کربوژن (۹۵ ٪ اکسیژن+ ۵ ٪ دی اکسید کربن) هوادهی شده که pH آن نیز در ۷/۴ تنظیم می‌شد. بعد از ۲۰ دقیقه که زمان برگشت فعالیت طبیعی قلب می بود (دوره تثبیت)، ایسکمی ناحیه ای به مدت ۳۰ دقیقه با بستن شریان کرونر قدامی چپ اعمال شد بعد از سپری شدن دوره ایسکمی، انسداد شریان را باز نموده و ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد برقرار گردید.

برای بررسی فعالیت مکانیکی قلب در سراسر طول آزمایش، فشار داخل بطن چپ از طریق وارد نمودن یک بالون لاتکس پر از مایع که از طریق کانول به مبدل فشار متصل می گشت، ثبت گردید. هچنین فعالیت الکتریکی قلب جهت آنالیز آریتمی های مختلف قلبی، نیز از طریق اتصال دو الکترود فلزی به قلب که یکی بر روی نوک قلب و دیگری بر روی دهلیز راست قرار می‌گرفت، ثبت شد. فعالیت های ثبت شده بوسیله دستگاه فیزیوگراف با استفاده از یک برد آنالوگ به دیجیتال به کامپیوتر منتقل و ذخیره گردید. فشار ایجاد شده توسط بطن چپ (Left ventricular developed pressure) از اختلاف فشار سیستولی و دیاستولی بطن چپ مورد محاسبه قرار گرفت (LVDP = LVSP- LVEDP). همچنین حاصل ضربان- فشار (Rate pressure product) به عنوان شاخصی از فعالیت مکانیکی قلب بر حسب $mmHg.beats.min^{-1}$ با حاصل ضرب تعداد ضربان قلب در فشار کلی ایجاد شده طبق فرمول زیر محاسبه گردید: $RPP = HR \times LVDP$.

جهت تعیین حجم ناحیه سکته، در پایان ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد مجددا شریان کرونر قدامی نزولی چپ بسته و قلب از دستگاه جدا شد و یک سی سی محلول اوانس بلو (Evans blue) ۲ درصد به داخل کانول آئورتی تزریق گردید تا ناحیه غیر ایسکمیک میوکارد را رنگ آمیزی (آبی) نماید. به این ترتیب مرز بین ناحیه در خطر(Area at risk) (ناحیه در خطر، ناحیه ای است که توسط شریان LAD خونرسانی می شود) و سایر نواحی غیر ایسکمیک قلب از همدیگر مشخص شد. بعد قلب در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز و در ماتریکس قلب قرار گرفته و برشهایی هایی با ضخامت ۲ میلیمترگرفته شد. سپس اسلایس‌ها به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه در محلول تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) ۱ درصد در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. TTC در بافتهای زنده با NADH و آنزیم دهیدروژناز واکنش می دهد و باعث رنگ گرفتن بافت می شود. سلولهای مرده به دلیل پارگی غشاء سلول، این کوفاکتور و آنزیم را از دست داده و رنگ نمی گیرند. نواحی که سالم و دچار مرگ سلولی نمی شوند به رنگ قرمز و نواحی انفارکته شده به رنگ روشن در می آیند. برای محاسبه سکته، بوسیله دوربین دیجیتال از اسلایس‌ها عکس گرفته شد. حجم ناحیه انفارکتوس توسط نرم افزار Image tool محاسبه گردید و بر حسب درصد ناحیه در خطر گزارش شد.

میزان فعالیت آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز در داخل مایع خروجی کرونر به عنوان شاخصی از آسیب میوکارد اندازه گیری شد. برای این کار از مایع خروجی کرونری در دقایق ۱، ۲۰، ۶۰ و ۱۲۰ جریان مجدد نمونه گیری و در دمای۷۰- درجه سانتی گراد فریز و نگهداری شد. اندازه گیری آنزیم‌ها

جدول ۱- پارامترهای همودینامیک در قلب ایزوله که دچار ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد شده است

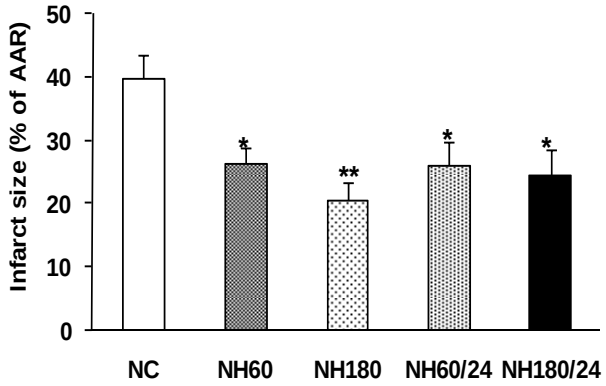
	تثبیت	ایسکمی	جریان مجدد			
پارامتر/ گروه	۲۰	۳۰	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰
ضربان قلب (ضربان در دقیقه)						
NC	۳۰۱±۸	۲۴۳±۱۱	۲۵۶±۱۵	۲۵۶±۱۷	۲۲۳±۲۲	۲۱۹±۱۹
HOP 60	۲۹۹±۱۱	۲۷۹±۲۰	۳۲۲±۱۵	۳۱۰±۱۵	۲۸۸±۱۴	۲۷۴±۱۴
HOP 180	۳۳۳±۱۸	۳۰۲±۲۳	۲۹۹±۱۶	۳۰۰±۱۶	۲۸۹±۱۷	۲۷۸±۱۸
HOP 60/24	۳۳۰±۹	۳۲۷±۱۸	۳۰۷±۴	۳۰۰±۶	۲۹۱±۵	۲۸۶±۱۴
HOP 180/24	۳۲۲±۲۲	۲۸۸±۱۹	۳۱۴±۲۸	۲۸۰±۲۴	۲۵۶±۲۹	۲۵۰±۲۸
فشار ایجاد شده در بطن چپ (میلیمتر جیوه)						
NC	۷۶/۹±۳/۳	۵۸/۵±۳	۷۴±۲/۸	۷۰/۴±۲	۶۵/۹±۱/۸	۶۱/۴±۱/۴
HOP 60	۸۰/۷±۳/۹	۶۰/۲±۲	۷۲/۷±۱	۶۹/۵±۱/۲	۶۷/۱±۱/۳	۶۶/۶±۰/۸
HOP 180	۷۵/۸±۳/۴	۵۸/۶±۰/۹	۷۷/۸±۱/۲	۷۲/۵±۱/۷	۷۱±۱/۷	۶۸/۱±۱
HOP 60/24	۷۰/۳±۱/۸	۷۳/۸±۱/۹	۷۳/۸±۱/۹	۷۰/۶±۲/۲	۶۷/۵±۲/۸	۶۶/۹±۳/۴
HOP 180/24	۷۷/۳±۳/۷	۷۳/۳±۲/۷	۷۳/۳±۲/۷	۷۱/۸±۳/۳	۶۹/۴±۳/۴	۶۵/۴±۲/۸
حاصل ضربان ـ فشار (میلیمتر جیوه × ضربان در دقیقه)						
NC	۲۳۱۲۶±۹۸۸	۱۴۰۳۰±۷۱۳	۱۸۸۸۱±۱۲۸۳	۱۶۶۸۷±۱۵۲۷	۱۵۸۷۵±۱۲۸۹	۱۳۳۸۵±۱۱۳۴
HOP 60	۲۴۰۳۲±۱۲۵۹	۱۶۶۸۵±۱۱۲۲	۲۳۳۸۲±۱۰۵۱	۲۱۵۱۸±۹۷۹	۱۹۳۵۰±۹۶۲	۱۸۲۷۰±۹۱۸
HOP 180	۲۵۱۰۱±۱۴۲۲	۱۷۷۶۴±۱۴۸۶	۲۳۲۶۷±۱۴۷۰	۲۱۸۶۴±۱۴۶۳	۲۰۶۵۳±۶۱۹	۱۹۰۰۰±۱۳۱۴
HOP 60/24	۲۳۲۴۵±۹۷۹	۱۸۵۴۶±۱۲۴۴	۲۲۶۹۱±۵۶۸	۲۱۲۱۶±۳۳۸	۱۹۶۲۱±۸۳۳	۱۸۹۸۸±۶۸۹
HOP 180/24	۲۴۸۶۲±۱۹۵۴	۱۶۹۰۹±۹۴۸	۲۲۶۷۸±۱۳۵۱	۱۹۸۹۲±۱۲۶۶	۱۷۴۹۸±۱۵۰۵	۱۶۱۳۰±۱۴۴۷

پارامترهای همودینامیک قلب در دقیقه ۲۰ دوره تثبیت، دقیقه ۳۰ دوره ایسکمی و دقایق ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دوره جریان مجدد

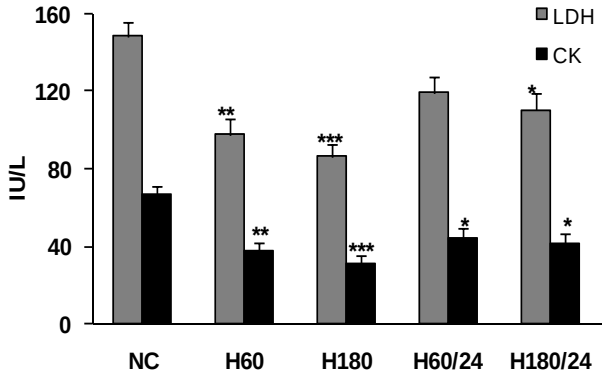
بوسیله روش اسپکتروفتومتری انجام شد و میزان فعالیت آنها بر حسب واحد در لیتر بیان شد.

تعریف و دسته‌بندی آریتمی‌ها از نظر شدت و شیوع بر اساس مدل Lambeth انجام شد [۱۳]. با استفاده از الکتروکاردیوگرام ثبت شده در طول آزمایش، اپیزود کمپلکسهای زودرس بطنی منفرد (PVC)، کمپلکسهای زودرس دوتایی (Bigeminy)، کمپلکس‌های زودرس سه تایی (Salvos)، تاکیکاردی بطنی(VT) و فیبریلاسیون بطنی(VF) مشخص و تعداد هر کدام شمارش شد. هر کمپلکس QRS زودرس قابل تشخیص و مجزا بعنوان یک PVC شناخته شد. Bigeminy شکل متفاوتی از PVC است که به صورت دو تایی طبق الگوی زیر ظاهر می‌شود: P, QRS, PVC, P, QRS, PVC, … و دو یا سه کملکس PVC پشت سر هم به عنوان یک Salvos شناخته شد. تعداد ۴ یا بیش از ۴ کمپلکس PVC پشت سر هم یک حادثه (Episode) تاکیکاردی بطنی در نظر گرفته شد. هر سیگنال الکتروکاردیوگرامی که کمپلکس‌های QRS آن به خوبی از همدیگر قابل تمایز نباشد و ضربان هم قابل شمارش نباشد، به عنوان یک حادثه VF در نظر گرفته شد. سیگنال VF که بیش از ۲ دقیقه طول بکشد، بنام فیبریلاسیون بطنی پایدار (SVF) معرفی شد. در مدل Lambeth شیوع و شدت آریتمی‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد. شیوع به معنای وقوع و یا عدم وقوع یک نوع آریتمی بوده و به صورت درصد در یک گروه گزارش شد. شدت آریتمی‌ها بر اساس یک سیستم امتیازدهی ۵ نمره‌ای میباشد که اکتروکاردیوگرام هر قلب بر این اساس مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. امتیاز دهی به این صورت است که به ضربانات زودرس بطنی منفرد نمره ۱، دوتایی یا سه تایی نمره ۲، تاکیکاردی بطنی نمره ۳، فیبریلاسیون بطنی نمره ۴ و برای فیبریلاسیون بطنی پایدار نمره ۵ داده شد. در صورت بروز بیش از یک نوع آریتمی، نمره آریتمی نوع شدیدتر به هر قلب داده شد. این امتیازات برای آنالیز بین گروهی شدت آریتمی‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

داده‌ها به صورت Mean±SEM ارائه شده است. آنالیز آماری پارامترهای فعالیت مکانیکی و میزان رهایش آنزیمهای لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز بوسیله آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد. مقایسه سایز انفارکتوس و تعداد آریتمی‌ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه و در صورت تفاوت معنی دار از تستTukey جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. تست Fisher برای مقایسه شیوع تاکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی استفاده شد. تفاوت در امتیاز آریتمی ها، طول مدت تاکیکاردی و فیبریلاسیون بطنی با استفاده از Mann-Whitney U test آنالیز شده است. $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شده است.



شکل ۱- سایز انفارکتوس بر حسب درصد ناحیه در خطر (نسبت حجم ناحیه انفارکتوس به ناحیه در خطر ضرب در ۱۰۰) بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد. NC؛ گروه کنترل نورموکسی (هوای با اکسیژن ۲۱٪)، HOP60؛ گروه دریافت کننده اکسیژن (۹۵ ≤ ٪) به مدت ۶۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله نمودن قلب. HOP180؛ گروه دریافت کننده اکسیژن به مدت ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله نمودن قلب. HOP60/24؛ گروه دریافت کننده اکسیژن به مدت ۶۰ دقیقه ۲۴ ساعت قبل از ایزوله نمودن قلب. HOP180/24؛ گروه دریافت کننده اکسیژن به مدت ۱۸۰ دقیقه۲۴ ساعت قبل از ایزوله نمودن قلب. مقادیر به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. * نشاندهنده p<۰/۰۵ و ** نشاندهنده p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می باشد.



شکل ۲- میزان رهایش آنزیم های LDH و CK به داخل مایع خروجی کرونر. مقادیر به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. * نشاندهنده p<۰/۰۵، ** نشاندهنده p<۰/۰۱ و *** نشاندهنده p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می باشد.

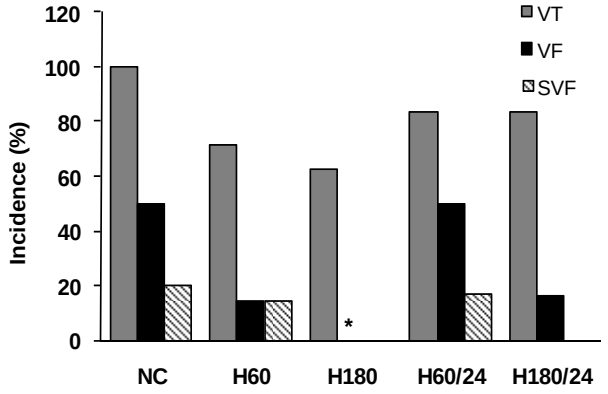
یافته‌ها

جدول ۱ نتایج مربوط به ضربان قلب، فشار داخل بطنی و حاصل ضربان ـ فشار را در دقایق ۲۰ دوره تثبیت، دقیقه ۳۰ ایسکمی کرونری و در دقایق ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ جریان مجدد نشان می دهد. پارامترهای عملکرد قلب در دوره تثبیت تفاوت معنی داری بین گروههای هیپراکسی و گروه کنترل نرمال نشان نمی دهد. در زمان ایسکمی به دلیل انسداد شریان کرونر فعالیت انقباضی بطن چپ کاهش می یابد به طوری که فشار محاسبه شده بطن چپ و حاصل ضربان ـ فشار نسبت به دوره تثبیت کاهش می یابد. در ابتدای جریان مجدد بعد از باز نمودن شریان کرونر فعالیت انقباضی قلب کم کم به حالت قبل از ایسکمی بر می گردد ولی نکته مهم در چنین مواردی حداکثر میزان ریکاوری و همچنین حفظ این وضعیت در طول جریان مجدد می باشد. افزایش نسبی فشار داخل بطن چپ در گروه های هیپراکسی نسبت به گروه کنترل نورموکسی معنی دار نمی باشد ولی هیپراکسی سبب افزایش معنی دار شاخص فعالیت انقباضی قلب که از طریق محاسبه حاصل ضربان ـ فشار بدست می‌آید در گروه HOP180 نسبت به گروه کنترل شده است،

اندازه انفارکتوس بر اساس درصدی از ناحیه در خطر در شکل ۱ نشان داده شده است. در گروه کنترل نورموکسی ۳۹/۵±۳ درصد از ناحیه در خطر در پایان ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن دچار نکروز شده است در حالیکه پیش درمانی با هیپرکسی بلافاصله قبل از ایزوله کردن قلب به مدت ۶۰ (HOP60) و ۱۸۰ (HOP180) دقیقه سایز انفارکتوس را به ترتیب به ۲/۳ ±۲۶/۳ و ۲/۴±۲۰/۴ درصد کاهش می دهد. هیپراکسی به مدت ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه ۲۴ ساعت قبل از ایزوله کردن قلب(HOP60/24 و HOP180/24) نیز به طور معنی داری سایز انفارکتوس را به ترتیب به ۳/۸±۲۵/۸ و ۳/۹±۲۴/۳ درصد کاهش داده است. این نتایج نشاندهنده کارایی هیپراکسی در کاهش سکته قلبی هم در فاز اولیه و هم در فاز تاخیری می‌باشد.

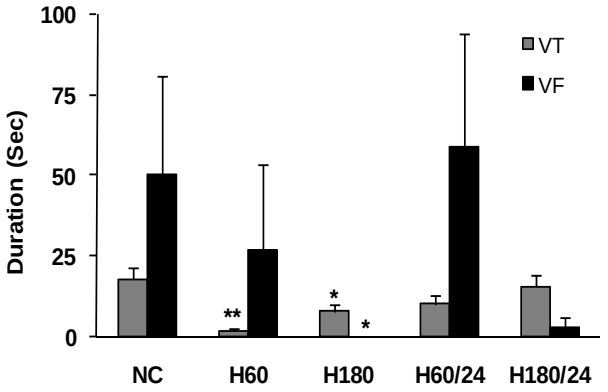
شکل ۲ میزان رهایش آنزیم‌های CK و LDH از قلب در طول ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد به داخل مایع خروجی کرونری را نشان می دهد. در گروه کنترل نورموکسی مقدار CK و LDH آزاد شده به ترتیب ۵±۶۶ و ۷±۱۴۸ واحد در لیتر (U/L) می باشد. پیش درمانی با هیپراکسی به طور قابل ملاحضه ای سبب کاهش رهایش CK و LDH به ۴±۳۷ و ۸±۹۸ U/L در گروه HOP60،(p<۰/۰۱)و ۴±۳۱ و ۶±۸۶ در گروه HOP180، (p<۰/۰۰۱) گردید. پیش درمانی با هیپراکسی ۲۴ ساعت قبل از ایزوله نمودن قلب نیز به طور معنی داری میزان رهایش CK را در دو گروه HOP60/24 و HOP180/24 کاهش داد، (p <۰/۰۵).

شیوع (Incidence) و شدت(Severity) آریتمی‌ها در طول ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد مورد بررسی قرار گرفت. درصد شیوع

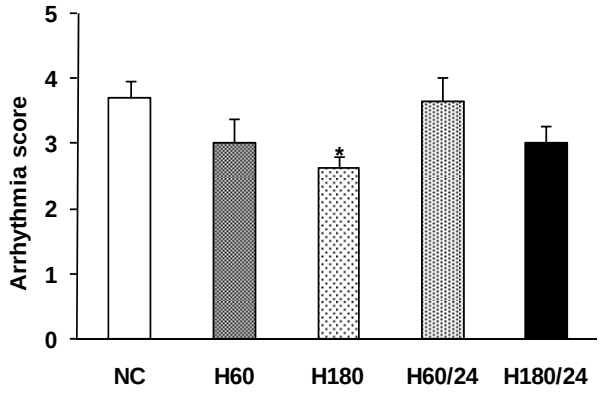


شکل ۳- استعداد ابتلا به آریتمی‌های مختلف در زمان جریان مجدد بر حسب درصد. VT؛ تاکیکاردی بطنی، VF؛ فیبریلاسیون بطنی و SVF؛ فیبریلاسیون بطنی پایدار. * نشاندهنده p <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می‌باشد.

VT و VF و SVF در گروههای مختلف تحت بررسی قرار گرفت. کاهش ایجاد شده در شیوع تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی پایدار (SVF) در گروههای هیپراکسی تفاوت معنی دار آماری در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی ندارد. از طرف دیگر شیوع فیبریلاسیون بطنی در گروه HOP180 کاهش معنی داری نسبت به کنترل نورموکسی نشان می دهد؛ صفر ٪ در مقابل ۵۰ درصد گروه کنترل،(p <۰/۰۵)، (شکل ۳). هیپراکسی طول مدت VT در گروههای HOP60 و HOP180 را به ترتیب به ۱/۵±۰/۷ و ۷/۵±۲/۵ ثانیه نسبت به گروه کنترل، ۱۷/۷±۳/۳ ثانیه کاهش داد،(p <۰/۰۵). طول مدت VF در گروه HOP180 در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان می دهد؛ صفر در مقابل ۵۱±۳۱ ثانیه، (p<۰/۰۵)، (شکل ۴). تعداد PVC، Bigeminy و Salvos در گروههای مختلف به صورت جدا جدا و سپس مجموع کل سه



شکل ۴- طول مدت تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) در زمان جریان مجدد. مقادیر به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. * نشاندهنده p <۰/۰۵ و ** نشاندهنده p <۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می‌باشد.



شکل ۵- ارزیابی شدت آریتمی‌ها بر اساس نمره داده شده به آریتمی ها در مدل Lambeth. مقادیر به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. * نشاندهنده p <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می باشد.

تا شمارش و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (جدول ۲). هیپراکسی در فاز اولیه اثر کاهندگی واضحی بر تعداد PVC و Bigeminy اعمال می نماید و در فاز تاخیری این اثر ضعیف تر بوده و فقط در مدت زمان بیشتر (HOP180/24) اثر کاهندگی معنی داری بر تعداد PVC و Bigeminy اعمال می نماید. پیش درمانی با هیپراکسی در فاز اولیه تعداد کل کمپلکس های زودرس بطنی را کاهش می دهد. در مجموع نیز امتیاز آریتمی‌ها در گروه HOP180 کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نورموکسی نشان می دهد؛ ۲/۶±۰/۱۸ در مقابل ۳/۷±۰/۲۶، (p <۰/۰۵)، (شکل ۵).

بحث

نتایج این مطالعه نشان می دهد که اکسیژن درمانی قبل از القاء ایسکمی ناحیه ای قلب سبب کاهش قابل توجه آریتمی های زمان جریان مجدد می گردد که البته این اثر در فاز اولیه پیش آماده سازی با هیپراکسی و همچنین با افزایش طول مدت دریافت اکسیژن(HOP180) قویتر می شود. هیپراکسی همچنین سبب کاهش سایز انفارکتوس در پایان دوره جریان مجدد و کاهش رهایش آنزیم های CK و LDH می شود که این اثرات هم در فاز اولیه و هم در فاز تاخیری دیده می شود. لازم به ذکر است که این کار اولین مطالعه ای است که به طور جامع به اثرات ضد آریتمی درمان با هیپراکسی می پردازد و به دلیل اینکه ۵۰ درصد از مرگ‌های ناگهانی در انسان به دلیل

جدول ۲- تعداد آریتمی‌ها در گروه‌های مختلف در زمان جریان مجدد

گروه ها	نوع آریتمی			
	PVC	Bigeminy	Salvos	Total
NC	۲۷۶±۴۶	۳۷۱±۳۶	۵۴±۱۴	۷۰۱±۸۲
HOP60	۱۱۴±۲۶**	۳۷±۱۳۲**	۲۰±۵	۲۶۷±۶۰**
HOP180	۸۱±۱۱**	۱۲۶±۲۵***	۱۸±۵	۲۲۵±۳۷***
HOP60/24	۱۵۷±۲۶	۲۹۴±۶۷	۳۹±۱۱	۴۹۱±۹۷
HOP180/24	۱۳۸±۳۷*	۱۹۴±۵۳*	۳۳±۷	۳۶۵±۹۴*

کمپلکس‌های زودرس بطنی در طول مدت ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد. PVC: کمپلکس زودرس بطنی منفرد، Bigeminy: کمپلکس زودرس بطنی دوتایی، Salvos: کمپلکس زودرس بطنی سه تایی و Total: مجموع سه تا می‌باشد. مقادیر به صورت Mean ± SEM نشان داده شده‌اند. * نشاندهنده $p<0.05$ و ** نشاندهنده $p<0.01$ و *** نشاندهنده $p<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل نورموکسی می‌باشد.

VF و VT می باشد [۱۴] و درصد آریتمی‌های بعد از اعمال جراحی قلب و عروق کرونری بسیار زیاد می باشد، بنابراین نتایج این تحقیق می تواند از اهمیت کلینیکی بالایی نیز برخوردار باشد.

مطالعات قبلی نشان داده است که پیش درمانی با هیپراکسی مانند پیش آماده سازی ایسکمیک میتواند از قلب [۵، ۱۵]، مغز[۸، ۹، ۱۶]، نخاع [۷]، کبد [۱۰] و کلیه [۱۱، ۱۷] در مقابل آسیب های ناشی از ایسکمی- جریان مجدد محافظت نماید. در این مطالعه هیپراکسی به مدت ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه بلافاصله قبل از ایزوله نمودن قلب سبب کاهش قابل توجه سایز انفارکتوس و عملکرد قلب گردید. بعلاوه بعضی از اثرات محافظتی هیپراکسی تا ۲۴ ساعت بعد از درمان ادامه یافته است که نشان دهنده وجود فاز تاخیری پیش آماده سازی با هیپراکسی می باشد. نکته قابل توجه همخوانی کاهش سایزانفارکتوس با کاهش رهایش آنزیم های بافتی می باشد. قویترین اثرات محافظتی هیپراکسی در گروه HOP180 دیده می شود.

همچنین شیوع، شدت، تعداد و طول مدت آریتمی‌های زمان جریان مجدد مورد بررسی قرار گرفت. ۱۸۰ دقیقه درمان با هیپراکسی بلافاصله قبل از جدا سازی قلب شیوع VF را به صفر رساند. شدت آریتمی‌ها نیز تحت تاثیر درمان با هیپراکسی قرار گرفت به طوری که کاهش معنی‌داری در امتیاز آریتمی‌ها در گروه HOP180 در مقایسه با گروه کنترل دیده می شود. همچنین تعداد انقباضات زودرس بطنیPVC و کمپلکس‌های دوتاییBigeminy در گروه‌های هیپراکسی کاهش معنی‌داری نشان داد.

یکی از موارد تعیین کننده در ایجاد آریتمی‌ها در مدل‌های ایسکمی ناحیه‌ای سایز ناحیه در خطر می‌باشد [۱۸] ولی به دلیل اینکه ناحیه در خطر در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با هم ندارند، این عامل رد می‌شود. هنوز تحقیقی در زمینه مکانیسم های درگیر در باره اثرات ضد آریتمی هیپراکسی وجود ندارد تا بتوان نتایج بدست آمده در این تحقیق را به خوبی تفسیر نمود ولی با توجه به تحقیقات صورت گرفته درباره سایر اثرات مفید هیپراکسی [۱۹، ۲۰] می توان مکانیسمهای زیر را در این مسئله دخیل دانست. مطالعات متعددی اثرات سودمند نیتریک اکساید در کاهش آسیب های ناشی از ایسکمی- جریان مجدد را نشان داده است [۲۱، ۲۲، ۲۳]. نیتریک اکسید با استفاده از یکسری مکانیسم های وابسته و غیر وابسته به cGMP تحمل به ایسکمی در بافت قلب را افزایش می دهد [۲۴]. اثر ضد آریتمی نیتریک اکساید در پیش آماده سازی ایسکمیک به خوبی مشخص شده است [۲۵]. علاوه بر این همچنین نشان داده شده است که نیتریک اکساید واسطه‌گر اثر تاخیری ضد آریتمی ورزش در سگ‌ها می باشد [۲۶]. شواهد نشان می‌دهد که نیتریک اکساید ممکن است در اثرات محافظتی ناشی از هیپراکسی در قلب نیز نقش داشته باشد. در مطالعه ای یک ساعت درمان با هیپراکسی هیپرباریک (۲ اتمسفر- ۱۰۰ درصد) سبب افزایش بیان NOS3 شد که منجر به افزایش سطح نیتریک اکساید در قلب موش صحرایی گردید [۱۹]. Valen و همکاران متوجه شدند که موشهای سوری فاقد ژن iNOS قادر به بروز اثرات سودمند پیش آماده سازی بوسیله هیپراکسی نمی باشند [۲۷]. در مطالعه ای دیگر تجویز L-NAME قبل از پیش

درمانی با هیپراکسی اثرات محافظتی قلبی هیپراکسی در مرحله ایسکمی- جریان مجدد را بلوک می نماید [۲۰]. این نتایج پیشنهاد کننده نقش نیتریک اکساید در اثرات محافظتی قلبی هیپراکسی علیه آسیب ایسکمی- جریان مجدد می باشد. از طرف دیگر کانال های پتاسیمی وابسته به ATP (KATP channels) نیز یکی دیگر از میانجیگر های مهم محافظت در مقابل آسیب ایسکمی- جریان مجدد و آریتمی‌ها در قلب می باشند [۲۸، ۲۹] که توسط افزایش سطح نیتریک اکساید فعال می شوند [۳۰]. فعال شدن این کانالها مدت زمان پتانسیل عمل را کاهش داده و با کاستن از مدت زمان دپلاریزاسیون سبب جلوگیری از اوورلود کلسیم در داخل سلول و آریتمیهای متعاقب آن می شود [۳۱]. در مطالعه حاضر هیپراکسی آریتمیهای بطنی زمان جریان مجدد را کاهش داد، بنابراین این احتمال می رود که هیپراکسی از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید سبب باز شدن کانال های KATP غشای سلول و نهایتا باعث تقلیل آریتمی های زمان جریان مجدد شود. افزایش سطح نیتریک اکساید ممکن است همچنین کانال های KATP غشای میتوکندری‌ها را باز نموده و از این طریق سبب حفظ ATP شده و از اوورلود کلسیم داخل سلول بکاهد. کاهش کلسیم داخل سلولی باعث کاهش اسپایک های کلسیمی داخل سلول در اوایل جریان مجدد و در نتیجه سبب کاهش آریتمی شود [۳۲]. بنابراین با توجه به این شواهد نیتریک اکساید را می توان یکی از مدیاتورهای اثرات محافظتی هیپراکسی نامید.

البته این توضیحات به این معنی نیست که نیتریک اکساید تنها مدیاتور دخیل در اثرات ضد آریتمی هیپراکسی می باشد. هیپراکسی همچنین روش بسیار مناسبی جهت القاء استرس اکسیداتیو زیر کشنده (Sublethal) از طریق تولید ROS در Vivo می باشد [۵]. از آنجاییکه اثرات ضد آریتمی مقادیر زیر کشنده ROS در زمان جریان مجدد به اثبات رسیده است [۳۳]، این احتمال می رود که اثرات هیپراکسی در کاهش شدت آریتمی‌ها به دلیل تولیدROS باشد. بنابراین به نظر می رسد که هیپراکسی از طریق این مکانیسمها می تواند سبب روشن شدن مکانیسم های ذاتی محافظتی بافت شود و از این طریق از قلب در مقابل آسیب ایسکمی جریان مجدد محافظت به عمل می‌آورد.

مهمترین مزیت پیش درمانی با هیپراکسی به عنوان یک مدل پیش آماده سازی در مقایسه با سایر متدها ارزان بودن، سادگی و آسان بودن استفاده از آن در کلینیک می‌باشد. علاوه بر این افزایش فشار اکسیژن در خون بر سایر ارگان‌ها در بدن نیز اثر نموده و یک حالت پیش آماده سازی در کل بدن (Whole body preconditioning) را ایجاد می نماید که می تواند در بسیاری از جراحی‌ها بسیار سودمند باشد. البته مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان به طور کامل به اثرات سودمند پیش درمانی با هیپراکسی در کلینیک پی برد.

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه می توان اینگونه استنباط کرد که، پیش درمانی با هیپراکسی نورموباریک از شدت آریتمی‌ها در زمان جریان مجدد درقلب ایزوله می کاهد و این اثر بیشتر در مدل اولیه درمان با هیپراکسی دیده می شود. بعلاوه هیپراکسی پارامتر های عملکرد قلب را بهبود بخشیده، سایز انفارکتوس را کاهش داده و رهایش آنزیمهای قلبی را کم می نماید.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از خانم اعظم افشار نادری که در اندازه گیری آنزیم‌های قلبی نهایت همکاری را داشتند، تقدیر و تشکر بعمل می آورند.

منابع

[1] Davani EY, Brumme Z, Singhera GK, Cote HC, Harrigan PR, Dorscheid DR, Insulin-like growth factor-1 protects ischemic murine myocardium from ischemia/reperfusion associated injury. ***Crit Care*** 7 (2003) R176-183.

[2] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA, Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. ***Circulation*** 74 (1986) 1124-1136.

[3] Li YW, Whittaker P, Kloner RA, The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. ***Am heart J*** 123 (1992) 346-353.

[4] Tahepold P, Elfstrom P, Eha I, Kals J, Taal G, Talonpoika A, , Valen G, Vaage J, Starkopf J, Exposure of rats to hyperoxia enhances relaxation of isolated aortic rings and reduces infarct size of isolated hearts. ***Acta Physiol Scand*** 175 (2002) 271-277.

[5] Choi H, Kim SH, Chun YS, Cho YS, Park JW, Kim MS,

In vivo hyperoxic preconditioning prevents myocardial infarction by expressing bcl-2. ***Exp Biol Med*** 231 (2006) 463-472.

[6] Sterling DL, Thornton JD, Swafford A, Gottlieb SF, Bishop SP, Stanley AW, Downey JM, Hyperbaric oxygen limits infarct size in ischemic rabbit myocardium in vivo. ***Circulation*** 88 (1993) 1931-1936.

[7] Dong H, Xiong L, Zhu Z, Chen S, Hou L, Sakabe T, Preconditioning with hyperbaric oxygen and hyperoxia induces tolerance against spinal cord ischemia in rabbits. ***Anesthesiology*** 96 (2002) 907-912.

[8] Zhang X, Xiong L, Hu W, Zheng Y, Zhu Z, Liu Y, Chen S, Wang X, Preconditioning with prolonged oxygen exposure induces ischemic tolerance in the brain via oxygen free radical formation. ***Can J Anaesth*** 51 (2004) 258-263.

[9] Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Rasulian B, Heidarianpour A, Khoshbaten A, Prolonged and intermittent normobaric hyperoxia induce different degrees of ischemic tolerance in rat brain tissue. ***Brain Res*** 1152 (2007) 228-233.

[10] Yu SY, Chiu JH, Yang SD, Yu HY, Hsieh CC, Chen PJ, Lui WY, Wu CW, Preconditioned hyperbaric oxygenation protects the liver against ischemia-reperfusion injury in rats. ***J Surg Res*** 128 (2005) 28-36.

[11] Rasoulian B, Mohammadhosseniakbari H, Kadkhodaee M, Mofid M, Baqeri GR, Bigdeli MR, Ghasemi A, , Mohebbi HA, Asgari A, Khoshbaten A, Preconditioning with Oxygen Attenuates Rat Renal Ischemia-Reperfusion Injury. ***J Surg Res*** 146 (2) (2008) 282-288.

[12] Sakamoto J, Miura T, Tsuchida A, Fukuma T, Hasegawa T, Shimamoto K, Reperfusion arrhythmias in the murine heart: their characteristics and alteration after ischemic preconditioning. ***Basic Res Cardiol*** 94 (1999) 489-495.

[13] Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, Cobbe SM, Coker SJ, Harness JB, Harron DW, et al., The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. ***Cardiovasc Res*** 22 (1988) 447-455.

[14] Janse M, Electrophysiological changes in heart failure and their relationship to arrhythmogenesis. ***Cardiovasc Res*** 61 (2004) 20 217-18.

[15] Tahepold P, Valen G, Starkopf J, Kairane C, Zilmer M, Vaage J, Pretreating rats with hyperoxia attenuates ischemia-reperfusion injury of the heart. ***Life Sci*** 68 (2001) 1629-1640.

[16] Yang ZJ, Camporesi C, Yang X, Wang J, Bosco G, Lok J, Gorji R, Schelper RL, Camporesi EM, Hyperbaric oxygenation mitigates focal cerebral injury and reduces striatal dopamine release in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. ***Eur J Appl Physiol*** 87 (2002) 101-107.

[17] Solmazgul E, Uzun G, Cermik H, Atasoyu EM, Aydinoz S, Yildiz S, Hyperbaric oxygen therapy attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats. ***Urol Int*** 78 (2007) 82-85.

[18] Curtis MJ, Characterisation, utilisation and clinical relevance of isolated perfused heart models of ischaemia-induced ventricular fibrillation. ***Cardiovasc Res*** 39 (1998) 194-215.

[19] Cabigas BP, Su J, Hutchins W, Shi Y, Schaefer RB, Recinos RF, Nilakantan V, Kindwall E, Niezgoda JA, Baker JE, Hyperoxic and hyperbaric-induced cardioprotection: Role of nitric oxide synthase 3. ***Cardiovasc Res*** 72 (2006) 143-151.

[20] Ruusalepp A, Czibik G, Flatebo T, Vaage J, Valen G, Myocardial protection evoked by hyperoxic exposure involves signaling through nitric oxide and mitogen activated protein kinases. ***Basic Res Cardiol*** 102 (2007) 118-126.

[21] Andelova E, Bartekova M, Pancza D, Styk J, Ravingerova T, The role of NO in ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart. ***Gen Physiol Biophys*** 24 (2005) 411-426.

[22] Hoshida S, Yamashita N, Igarashi J, Nishida M, Hori M, Kamada T, Kuzuya T, Tada M, Nitric oxide synthase protects the heart against ischemia- reperfusion injury in rabbits. ***J Pharmacol Exp Ther*** 274 (1995) 413-418.

[23] Jones SP, Bolli R, The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection. ***J Mol Cell Cardiol*** 40 (2006) 16-23.

[24] Ferdinandy P, Schulz R, Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. ***Brit J Pharmacol*** 138 (2003) 532-543

[25] Vegh A, Szekeres L, Parratt J, Preconditioning of the ischaemic myocardium; involvement of the L-arginine nitric oxide pathway. ***Brit J Pharmacol*** 107 (1992) 648-652.

[26] Hajnal A, Nagy O, Litvai A, Papp J, Parratt JR, Vegh A, Nitric oxide involvement in the delayed antiarrhythmic effect of treadmill exercise in dogs. ***Life sci*** 77 (2005) 1960-1971.

[27] Valen G, Tahepold P, Starkopf J, Ruusalepp A, JV, Adaptation to ischemia by hyperoxia-signaling through

mitogen activated protein kinases and nuclear factor kappa B. **Signal Transduction and Cardiac hypertrophy** (2003) 461–477.

[28] Gross GJ, Peart JN, KATP channels and myocardial preconditioning: an update. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 285 (2003) H921-930.

[29] Rajesh KG, Sasaguri S, Suzuki R, Xing Y, Maeda H, Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels. ***Int J Cardiol*** 96 (2004) 41-49.

[30] Baker JE, Contney SJ, Singh R, Kalyaraman B, Gross GJ, Bosnjak ZJ, Nitric oxide activates the sarcolemmal K(ATP) channel in normoxic and chronically hypoxic hearts by a cyclic GMP-dependent mechanism. ***J Mol Cell Cardiol*** 33 (2001) 331-341.

[31] Noma A, ATP-regulated K+ channels in cardiac muscle. ***Nature*** 305 (1983) 147–148.

[32] Zhao T, Xi L, Chelliah J, Levasseur JE, Kukreja RC, Inducible nitric oxide synthase mediates delayed myocardial protection induced by activation of adenosine A(1) receptors: evidence from gene-knockout mice. ***Circulation*** 102 (2000) 902-907.

[33] Szarszoi O, Asemu G, Ostadal B, Kolar F, The role of reactive oxygen species and nitric oxide in ischemia/reperfusion injury of chronically hypoxic rat heart. ***Eur J Heart Fail*** 1 (2003) 53.