

الله
البر الرحيم
بسم



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی نقش گیرنده آلفا-۷ نیکوتینی در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب در موش های صحرائی اندوتوکسمیک

نگارش

رهام مظلوم

اساتید راهنما

دکتر علیرضا مانی

دکتر سهراب حاجی زاده

استاد مشاور

دکتر احمدرضا دهپور

آذر ماه ۱۳۹۲

آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عنوان پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آیین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **رهام مظلوم** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۸** مقطع **دکتری تخصصی**

دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان‌نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین‌نامه فوق‌الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم.»

رهام مظلوم
مظلوم

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

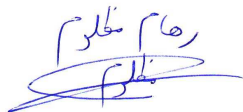
"کتاب حاضر، حاصل **رساله دکتری** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **آقایان دکتر علیرضا مانی و دکتر سهراب حاجی زاده**، مشاوره **آقای دکتر احمدرضا دهپور** از آن دفاع شده است.

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب **رهام مظلوم** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع **دکتری تخصصی** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.





تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای رهام مظلوم رشته فیزیولوژی رساله دکتری خود را با عنوان « بررسی نقش گیرنده آلفا-۷ نیکوتینی در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب در موش های صحرائی اندونوکسمیک » در تاریخ ۱۳۹۲/۹/۶ ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

امضاء	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	دکتر علیرضا مانی	استاد راهنمای اصلی
	دکتر سهراب حاجی زاده	استاد راهنمای دوم
	دکتر احمد رضا دهپور	استاد مشاور
	دکتر یعقوب فتح الهی	استاد ناظر
	دکتر شهریار غریب زاده	استاد ناظر
	دکتر شهرام اجتماعی مهر	استاد ناظر
	دکتر محمد جوان	استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی

تقديم به :

او.....

تشکر و قدردانی

از تمام کسانی که اینجانب را در انجام این رساله یاری نمودند کمال تشکر را دارم.

چکیده

کاهش تغییرات دینامیکی ضربان قلب (HRV) شاخصی برای التهاب عمومی است که با پیش آگهی منفی در اینگونه بیماران همراه می باشد. پژوهش های اخیر نشان داده است که در حین التهاب رفلکسی ضد التهابی روی می دهد که با افزایش فعالیت پاراسمپاتیک همراه است و از طریق فعال شدن گیرنده آلفا هفت نیکوتینی استیل کولین ($\alpha 7nAChR$) موجب کاهش التهاب می شود. با این حال نقش این گیرنده در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب در خلال التهاب عمومی نا مشخص است. علاوه بر این سیستم پاراسمپاتیک دهلیز را عصب دهی می کند ولی نقش آن در پاسخ التهابی دهلیز روشن نیست. لذا نقش $\alpha 7nAChR$ در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب در خلال اندوتوکسمی به کمک مداخلات فارماکولوژیک بررسی شده است. برای القای اندوتوکسمی از لایپوپلی ساکارید (LPS) استفاده گردید. از روش های RT-PCR و ایمونوهیستوشیمی برای بررسی بیان $\alpha 7nAChR$ در دهلیز قلب موش صحرایی و همینطور رده سلولی کاردیومیوسیتی استفاده شد. الکتروکاردیوگرام قلب های ایزوله و موش های صحرایی هوشیار ثبت گردید. برای محاسبه HRV از شاخص های خطی و غیر خطی استفاده شد. mRNA مربوط به $\alpha 7nAChR$ در دهلیز موش صحرایی بیان شد و پروتئین مربوط به آن در لایه اندوتلیالی قرار گرفته بود. علاوه بر این LPS اثرات وابسته به دوزی را بر شاخص های HRV در موش های هوشیار نشان داد. مهار فارماکولوژیک $\alpha 7nAChR$ همراه با کاهش معنادار شاخص های HRV در موش های اندوتوکسمیک بود ولی در قلب های ایزوله بر تغییرات دینامیکی ضربان قلب اثری نداشت. در دهلیز حیوانات اندوتوکسمیک بیان سایتوکاین های پیش برنده التهابی افزایش یافت ولی مهار فارماکولوژیک $\alpha 7nAChR$ در حیوانات اندوتوکسمیک بر بیان سایتوکاین های پیش برنده التهابی اثری نداشت. بر پایه این یافته ها به نظر می رسد $\alpha 7nAChR$ موجود در دهلیز ها بر پاسخ التهابی دهلیز بی اثر است ولی می توان در خلال التهاب عمومی نقش تونیک برای این گیرنده در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب پیشنهاد نمود.

کلید واژگان: اندوتوکسین، التهاب عمومی، تغییرات دینامیکی ضربان قلب، گیرنده آلفا هفت نیکوتینی استیل کولین.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته.....	۱
۱-۱. مقدمه.....	۲
۲-۱. التهاب، سایتوکاين ها و سندرم پاسخ التهابی عمومی.....	۴
۱-۲-۱. التهاب.....	۴
۲-۲-۱. سایتوکاين ها.....	۴
۳-۲-۱. نشانگان پاسخ التهابی عمومی.....	۵
۱-۳-۲-۱. درمان سندرم پاسخ التهاب عمومی.....	۶
۲-۳-۲-۱. ارتباط التهاب و مشکلات قلبی - عروقی.....	۷
۳-۱. تغییرات دینامیکی ضربان قلب.....	۷
۱-۳-۱. منشأ تغییرات دینامیکی ضربان قلب.....	۸
۲-۳-۱. ساختار تغییرات دینامیکی ضربان قلب.....	۹
۳-۳-۱. سنجش تغییرات دینامیکی ضربان قلب در چیه ای برای ارزیابی سلامت و بیماری.....	۱۰
۴-۱. ارتباط التهاب و سیستم عصبی.....	۱۱
۱-۴-۱. نقش عصب واگ.....	۱۱
۲-۴-۱. احتمال وجود رفلکس التهابی کولینرژیک.....	۱۱
۳-۴-۱. تردید در مورد احتمال وجود رفلکس التهابی کولینرژیک.....	۱۲
۴-۴-۱. ساز و کار افت HRV در اثر سپسیس و التهاب عمومی.....	۱۳
۵-۴-۱. اهمیت افت HRV در سپسیس.....	۱۴
۶-۴-۱. نقش گیرنده خاص نیکوتینی در رفلکس التهابی کولینرژیک احتمالی.....	۱۵
۷-۴-۱. مشخصات عملکردی گیرنده $\alpha 7nAChR$	۱۵
۸-۴-۱. نقش گیرنده های استیل کولینی دیگر در التهاب و رفلکس التهابی کولینرژیک احتمالی.....	۱۶

۵-۱. هدف و سوالات اصلی پژوهش.....۱۶

فصل دوم: مواد و روش‌ها.....۱۹

۱-۲. کلیات مواد و روش‌ها.....۲۰

۱-۱-۲. حیوانات و شرایط نگهداری.....۲۰

۲-۲. گروه‌های آزمایشی.....۲۰

۱-۲-۲. آزمایش اول: بررسی عملکرد $\alpha 7nAChR$ بر شاخص‌های دینامیکی تغییرات ضربان قلب در

حیوان هوشیار اندوتوکسمیک.....۲۰

۱-۲-۲-۱. ثبت فعالیت الکتریکی قلب و دمای بدن به روش تله متری در حیوان هوشیار.....۲۱

۲-۲-۲-۲. شاخص‌های تحلیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب.....۲۲

۲-۲-۱-۲-۲. SDNN.....۲۳

۲-۲-۱-۲-۲. نمایش تصویری پوآنکاره.....۲۳

۲-۲-۱-۲-۲. SampEn.....۲۴

۲-۲-۱-۲-۲. DFA (تحلیل نوسانات بی روند شده).....۲۴

۲-۲-۲. آزمایش دوم: بررسی عملکرد $\alpha 7nAChR$ بر شاخص‌های دینامیکی تغییرات ضربان قلب

ایزوله بر گرفته شده از حیوان اندوتوکسمیک.....۲۶

۱-۲-۲-۲. جراحی و آماده سازی قلب برای قرار گرفتن در دستگاه قلب ایزوله.....۲۷

۲-۲-۲-۲. تحلیل‌های انجام شده در قلب‌های ایزوله.....۲۸

۱-۲-۲-۲-۲. آمار وارون و طول خاطره.....۲۹

۳-۲-۲. آزمایش سوم: بررسی بیان $\alpha 7nAChR$ در بافت قلبی.....۲۹

۱-۳-۲-۲: بررسی کیفی بیان mRNA مربوط به $\alpha 7nAChR$ به کمک RT-PCR در قسمت‌های

مختلف بافت قلب.....۲۹

۲-۳-۲-۲. کشت سلول کاردیومیوسیت جنینی.....۳۱

۳-۳-۲-۲. بررسی جایگاه $\alpha 7nAChR$ در بافت قلب در ناحیه گوشک چپ به کمک روش ایمنووهیستوشیمی.....	۳۱
۴-۲-۲. آزمایش چهارم: بررسی اثر القای اندوتوکسمی بر بیان $\alpha 7nAChR$ در قلب.....	۳۲
۱-۴-۲-۲: بررسی کمی بیان mRNA مربوط به $\alpha 7nAChR$ به کمک QRT-PCR در دهلیز چپ قلب موش صحرایی تحت تیمار با دوز های مختلف LPS.....	۳۲
۵-۲-۲. آزمایش پنجم: بررسی اثر القای اندوتوکسمی و مهارگر $\alpha 7nAChR$ بر شاخص های التهابی موجود در دهلیز.....	۳۴
۳-۲. روش های تحلیل آماری.....	۳۴
فصل سوم: نتایج و یافته‌ها.....	
۱-۳. بررسی دمای بدن و تغییرات دینامیکی ضربان قلب در حیوانات هوشیار.....	۳۶
۲-۳. بررسی تغییرات دینامیکی ضربان قلب های ایزوله.....	۴۴
۳-۳- شناسایی و مکان یابی $\alpha 7nAChR$ در قلب موش صحرایی.....	۴۵
۴-۳. آزمایش چهارم: بررسی اثر اندوتوکسمی بر القای بیان $\alpha 7nAChR$ در قلب.....	۴۷
۵-۳. آزمایش پنجم: بررسی اثر القای اندوتوکسمی و مهارگر $\alpha 7nAChR$ بر شاخص های التهابی موجود در دهلیز.....	۴۷
فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها.....	
۱-۴. بحث.....	۵۰
۲-۴. نتیجه‌گیری.....	۶۲
۳-۴. پیشنهاد ها.....	۶۳
فهرست منابع.....	۶۴
ضمائم.....	۷۵
چکیده انگلیسی.....	۸۷

فهرست نمودارها

- نمودار ۱-۲. نمونه ای از نمایش تصویری پوآنکاره.....۲۴
- نمودار ۲-۲. نمونه ای از نمودار تحلیل نوسانات بی روند شده به همراه معادله خط فرضی آن.....۲۶
- نمودار ۱-۳. اثر وابسته به زمان LPS بر ضربان قلب و دمای بدن در موش های صحرائی هوشیار.....۳۶
- نمودار ۲-۳. اثر وابسته به زمان LPS بر SDNN، SD1، SampEn و شیب خط α در موش های صحرائی هوشیار.....۳۸
- نمودار ۳-۳. اثر وابسته به زمان آنتاگونیست $\alpha 7nAChR$ (MLA) بر ضربان قلب و دمای بدن در موش های صحرائی هوشیار که سالین یا $(0/1 \text{ mg/kg})$ LPS دریافت کرده اند.....۳۹
- نمودار ۴-۳. اثر وابسته به زمان آنتاگونیست $\alpha 7nAChR$ (MLA) بر SDNN، SD1، SampEn و شیب خط α در موش های صحرائی هوشیار که سالین یا $(0/1 \text{ mg/kg})$ LPS دریافت کرده اند.....۴۱
- نمودار ۵-۳. اثر وابسته به زمان آگونیست $\alpha 7nAChR$ (PHA) بر ضربان قلب و دمای بدن در موش های صحرائی هوشیار که سالین یا (1 mg/kg) LPS دریافت کرده اند.....۴۲
- نمودار ۶-۳. اثر وابسته به زمان آگونیست $\alpha 7nAChR$ (PHA) بر SDNN، SD1، SampEn و شیب خط α در موش های صحرائی هوشیار که سالین یا (1 mg/kg) LPS دریافت کرده اند.....۴۳
- نمودار ۷-۳. بررسی بیان 18S و $\alpha 7nAChR$ با روش QRT-PCR در دهلیز چپ قلب موش صحرائی ۳ ساعت پس از تزریق سالین یا LPS در دو دوز $0/1 \text{ mg/kg}$ و 1 mg/kg۴۷
- نمودار ۸-۳. اثرات پیش درمانی با MLA بر مقدار mRNA برای IL-1 (الف) و MCP-1 (ب) در دهلیز قلب موش های صحرائی کنترل و اندوتوکسمیک $(LPS 0/1 \text{ mg/kg})$۴۸
- نمودار ج-۱. بررسی سایتوکاین های پیش برنده التهابی ($TNF-\alpha$ ، MCP-1 و IL-1) و ضد التهابی ($TGF-\beta$ و IL-10) با استفاده از روش QRT-PCR در سلول های H9c2.....۷۹

نمودار د-۱. نمودار جذب نوری (طول موج ۴۵۰ نانومتر) برای IL-6 در غلظت های

استاندارد.....۸۰

نمودار و-۱. احتمال توزیع زمان خروج (τ) مورد نیاز برای مشاهده یک رویداد نادر در قلب های ایزوله

موش های صحرائی سالم و اندوتوکسمیک که 3σ و 2σ و $\rho = \sigma$ ثانیه آهسته تر از یک زمان داده شده

(t) در یک سری زمانی فواصل P-P است.....۸۵

نمودار و-۲. مقایسه بین طول خاطره (τ_m) برای مشاهده رویداد کند شونده با مقادیر مختلف ρ (از

0.25σ تا 3σ) در قلب های ایزوله گروه های عادی و اندوتوکسمیک به همراه تحریک یا مهار گیرنده

$\alpha 7nAChR$۸۶

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۳. بررسی بیان β -actin و $\alpha 7nAChR$ با روش RT-PCR در گوشک چپ، دهلیز (ناحیه گره ای)، بطن چپ قلب موش صحرائی و سلول های کشت شده H9c2.....۴۵
- شکل ۲-۳. بررسی ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی بر ضد $\alpha 7nAChR$ در گوشک چپ قلب موش صحرائی.....۴۶
- شکل ب-۱. بررسی بیان $\alpha 7nAChR$ در سلول های H9c2 در سطح mRNA با روش PCR در حالت عادی و پیش درمان شده با LPS.....۷۷
- شکل ج-۱. دمای Annealing برای سایتوکاین های پیش برنده التهابی ($TNF-\alpha$ ، MCP-1 و IL-1) و ضد التهابی ($TGF-\beta$ و IL-10) به همراه اندازه و شماره مرجع ژنی.....۷۸

فصل اول

مقدمه و

مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. مقدمه

التهاب پاسخ اولیه فیزیولوژیک به پاتوژن های مهاجم و صدمه بافتی است. در خلال روند التهاب، سلول های سیستم ایمنی موادی به نام سایتوکاین آزاد می کنند که خود به دو نوع پیش برنده التهابی و ضد التهابی تقسیم می شوند. فعالیت شدید یا مداوم ماکروفاژها منجر به تولید بیش از حد سایتوکاین ها می گردد که موجب فرار از کنترل موضعی و ورود به سیستم گردش خون می شود که این مسأله به طور گسترده باعث فعال شدن فرآیند التهابی و نشانگان پاسخ التهابی عمومی می گردد. نشانگان پاسخ التهابی عمومی در صورت عدم درمان منجر به نشانگان عدم کارکرد اندام های متعدد می شود [۱]. اندوتوکسین باکتری ها می توانند موجب نارسایی قلبی و تنفسی و حتی مرگ شوند. پاسخ های بدن به مهاجمان خارجی وابسته به مقدار ورودی، حفاظت ایمونولوژیکی را برای محدود کردن آن آغاز می کند که ایجاد سایتوکاین های پیش برنده التهابی مهمترین آن هاست که ممکن است موجب صدمه اندام یا حتی مرگ شوند. تلاش های فراوانی برای فرو نشاندن هایپرسایتوکینمی یا پاسخ های التهابی شدید انجام گرفت که در کاهش مرگ و میر موثر نبود [۲-۴]. شایان ذکر است که نیمی از مرگ و میر ناشی از نشانگان پاسخ التهابی عمومی و نشانگان عدم کارکرد اندام های متعدد به علت اختلال قلبی- عروقی است [۵]. در نشانگان عدم کارکرد اندام های متعدد اختلالات قلبی با تظاهرات بالینی از جمله عملکرد کرونوتروپیک منفی و عملکرد اینوتروپیک منفی همراه است که نشان دهنده مشکلات عمده قلبی می باشد [۶].

یکی از تغییرات کرونوتروپیک قلبی تغییرات دینامیکی ضربان قلب است. تغییرات دینامیکی ضربان قلب تغییرات ضربه به ضربه ضربان قلب است که به صورت فیزیولوژیک وجود دارد و نمادی از

خروجی پیچیده کنترل کننده قلب می باشد [۷]. قلب بیشتر تحت کنترل مهار تونیک ناشی از واگ قرار دارد. تغییرات دینامیکی ضربان قلب در افرادی که پیوند قلب شده اند نیز ملاحظه می شود و چون اعصاب خودمختار قلبی در این افراد قطع می باشد میزان تغییرات کمتر است [۸]. این مطالعات نشان می دهد که به جز سیستم عصبی خودمختار، خود گره سینوسی - دهلیزی قلب نیز در این تغییرات دخالت دارد.

بر خلاف پیش بینی های مفهوم کلاسیک هموستاز، خروجی انواع سیستم های فیزیولوژیک مانند ضربان قلب جزئی از سیستم های پیچیده است و حتی در شرایط استراحت نیز نوسان هایی دارد [۷]. تغییرات شدید نوسانات دینامیکی ضربان قلب در حالت های عدم سلامتی دیده می شود. افزایش بیش از حد معمول تغییرات دینامیکی ضربان قلب که با افزایش آنتروپی و کاهش نظم همراه است، در حالت های پاتولوژیکی مانند فیبریلاسیون بطنی مشاهده می شود. کاهش شدید تغییرات دینامیکی ضربان قلب که با کاهش آنتروپی و افزایش نظم همراه است، در بیماری های دیگر از جمله سپسیس مشاهده می گردد. کاهش تغییرات دینامیکی ضربان قلب یکی از علائم مهم در بسیاری از بیماری هاست که همراه با سندرم پاسخ التهاب عمومی و افزایش تولید سایتوکاین های پیش برنده التهابی است و با افزایش ریسک مرگ و میر همراه می باشد ولی دلیل این کاهش تغییرات دینامیکی ضربان قلب هنوز ناشناخته است [۹ و ۱۰]. از سوی دیگر یافته های اخیر نشان می دهند که کاهش تغییرات دینامیکی ضربان قلب ممکن است به دلیل اشکال در خود قلب باشد [۱۱ و ۱۲].

تحقیقات پیشین نشان داده است که وجود التهاب توسط اوران های واگ حس و به ناحیه بصل النخاع در ساقه مغز مخابره می شود که تحت تاثیر مراکز بالاتر از جمله هیپوتالاموس قرار می گیرد و از هسته حرکتی پشتی توسط وبران های واگ یک "مسیر ضد التهابی واگی" ایجاد می کند که با رهایش نهایی استیل کولین همراه است که به "رفلکس التهابی کولینرژیک" موسوم است [۱۳]. اندوتوکسین با اثر بر خانواده TLRs که در غشاء سلول ها قرار دارند، موجب رهایش واسطه های التهابی از سلول های سازنده سایتوکاین ها از جمله ماکروفاژها می شوند. ولی تحریک وبران واگ با

رهایش استیل کولین و اثر بر گیرنده آلفا هفت نیکوتینی استیل کولین در این سلول ها موجب مهار واسطه های التهابی می گردد [۱۴].

با توجه به بحث های فوق اگر رفلکس التهابی واگی وجود داشته باشد توقع داریم که با تحریک گیرنده های آلفا هفت نیکوتینی استیل کولین میزان پاسخ التهابی تعدیل شده و به دنبال آن تغییرات دینامیکی ضربان قلب افزایش یابد. سیستم پاراسمپاتیک دهلیز را عصب دهی می کند ولی در مورد بیان گیرنده های آلفا هفت نیکوتینی استیل کولین و نقش آن در پاسخ التهابی دهلیز اطلاعاتی در دست نیست. در این رساله به بررسی نقش گیرنده آلفا-۷ نیکوتینی در تعدیل تغییرات دینامیکی ضربان قلب در موش های صحرایی اندوتوکسمیک پرداختیم.

۲-۱. التهاب، سایتوکاین ها و سندرم پاسخ التهابی عمومی

۱-۲-۱. التهاب

التهاب پاسخ اولیه فیزیولوژیک به پاتوژن های مهاجم و صدمه بافتی است که با علائم بالینی تورم، درد، قرمزی و گرما تظاهر می کند. در خلال روند التهاب، سلول های سیستم ایمنی موادی به نام سایتوکاین^۱ آزاد می کنند [۱۵].

۲-۲-۱. سایتوکاین ها

سایتوکاین ها پروتئین هایی با وزن مولکولی پایین هستند که شکل ذخیره نداشته و در خلال فرآیند التهابی ساخته و رها می شوند. کار اصلی این مواد راهنمایی پاسخ التهابی به محل عفونت و صدمه، و افزایش بهبود زخم هاست. سایتوکاین ها به دو گروه کلی تقسیم می شوند: گروه اول سایتوکاین های پیش برنده التهابی^۲، از جمله $TNF-\alpha$ ^۳، $IL-1$ ^۴، $IL-6$ و $IL-8$ که موجب پاسخ التهابی

^۱ . Cytokine

^۲ . Pro-inflammatory cytokines

^۳ . Tumor Necrosis factor- α

^۴ . Interleukin-1

می شوند؛ و گروه دوم سایتوکاین های ضد التهابی^۱، از جمله آنتاگونیست گیرنده IL-1، IL-10، IL-13، TNF-bp1^۲ و TGF-β^۳ که از رهائش سایتوکاین های پیش برنده التهابی جلوگیری می کنند [۱]، ۱۳ و ۱۶-۲۰]. در حالت عادی تعادلی بین سایتوکاین های پیش برنده التهابی و سایتوکاین های ضد التهابی وجود دارد. سایتوکاین های پیش برنده التهابی به دلیل عمر کوتاه، مهار توسط سایتوکاین های ضد التهابی و غشاء های موجود در بدن به صورت موضعی و محدود عمل می نمایند ولی در صورت تولید مقادیر انبوه سایتوکاین های پیش برنده التهابی و فرار از کنترل موضعی، پاسخ های عمومی را در بدن ایجاد می کنند [۱۷].

۱-۲-۳. نشانگان پاسخ التهابی عمومی

فعالیت شدید یا مداوم ماکروفاژها و نوتروفیل ها منجر به تولید بیش از حد سایتوکاین ها می گردد که موجب فرار از کنترل موضعی و ورود به سیستم گردش خون می شود که این مسأله به طور گسترده باعث فعال شدن تسلسل التهابی و نشانگان پاسخ التهابی عمومی^۴ (SIRS) می گردد. SIRS از رویداد های شناخته شده در بسیاری از بیماری های عفونی (مانند پاسخ التهابی سیستمیک به عفونت شدید^۵) و غیر عفونی (مانند تروما، ایسکمی-جریان مجدد، جراحی و سوختگی ها) است که در صورت عدم درمان منجر به نشانگان عدم کارکرد اندام های متعدد^۶ (MODS) می شود که خود، افزایش رهائش سایتوکاین های التهابی را در پی خواهد داشت [۱، ۱۶، ۱۹ و ۲۱]. سموم^۷ باکتری ها می تواند موجب نارسایی قلبی و تنفسی و حتی مرگ در خلال ۲۴-۴۸ ساعت پس از عفونت شود. پاسخ های بدن به مهاجمان خارجی وابسته به مقدار ورودی، حفاظت ایمنولوژیکی را برای محدود کردن آن آغاز می کند. ایجاد سایتوکاین های پیش برنده التهابی از جمله TNF که مهمترین آن هاست و در

^۱ . Anti-inflammatory cytokines

^۲ . TNF-binding proteins 1

^۳ . Transforming growth factor-β

^۴ . Systemic Inflammatory Response Syndrom

^۵ . Sepsis

^۶ . Multiple Organ Dysfunction Syndrom

^۷ . Toxins

طول اندوتوکسمی تولید می شوند ممکن است موجب صدمه اندام یا حتی مرگ شوند [۲۲ و ۲۳]. با این حال وجود TNF برای بهبودی صدمات حاصل از عفونت در مراحل اولیه پاسخ های التهابی لازم است [۲۴ و ۲۵]. التهاب عمومی را می توان به طور تجربی به وسیله تزریق لایپو پلی ساکارید^۱ (LPS) که ترکیبی فعال در غشاء خارجی باکتری های گرم منفی است و به طور آزمایشگاهی فعال کننده پاسخ ایمنی می باشد القا نمود [۲۶]. LPS با اثر بر خانواده TLRs^۲ که در غشاء سلول ها قرار دارند، به خصوص TLR2 و TLR4 [۲۷]، موجب رهایش واسطه های التهابی از سلول های سازنده سایتوکاین ها از جمله ماکروفاژها می شوند.

۱-۲-۳-۱. درمان سندرم پاسخ التهاب عمومی

با وجود پیشرفت های اخیر در اکتشاف آنتی بیوتیک ها و مراقبت های ویژه هنوز سپسیس شدید از عوامل اصلی مرگ به حساب می آید [۲۸]. از سویی چون تولید و رهایش میانجی های التهابی از جمله سایتوکاین ها را عامل اصلی پاسخ التهابی عمومی می دانستند تلاش هایی برای فرو نشاندن هایپرسایتوکاینمی یا پاسخ های التهابی شدید انجام گرفت. از جمله این تلاش ها ایمونوتراپی ضد سایتوکاین ها، استفاده از دارو های مختلف از جمله استروئید ها و تصفیه خون^۳ بود. با این حال، هیچ یک از این روش ها کارایی لازم برای اثرات درمان یا پیشگیری از هایپرسایتوکاینمی و مرگ را نشان نداد [۲-۴].

سپسیس، SIRS و MODS سهم قابل توجهی از سیستم های مراقبتی سلامت را به خود اختصاص می دهند. به طور حدودی از هر سه نفری که در بخش مراقبت های ویژه در اروپا بستری می شود یک نفر از سپسیس رنج می برد [۲۹].

^۱ . Lipopolysaccharide

^۲ . Toll-like receptors

^۳ . Hemofiltration