

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ TIM MẠCH
CỦA S-PROPARGYL-CYSTEINE TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG
GÂY NHỒI MÁU CƠ TIM CẤP

Trần Bá Hiếu^{1*}, Vũ Tuấn Anh¹, Bùi Thị Thu Hà¹, Lê Văn Minh²

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào cơ tim của S-propargyl-cysteine (SPRC) trên chuột công trắng gây nhồi máu cơ tim cấp (NMCT). **Phương pháp nghiên cứu:** Chuột công trắng được gây mô hình NMCT cấp bằng phương pháp thắt động mạch vành nhánh xuống trước bên trái. Tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC được đánh giá bằng phương pháp nhuộm màu TTC và các chỉ số CK, LDH. Cơ chế chống oxy hóa của SPRC được đánh giá thông qua các chỉ số SOD, CAT và MDA. **Kết quả:** Điều trị dự phòng bằng SPRC giúp làm giảm diện tích nhồi máu, giảm mức độ tổn thương cơ tim. Đồng thời SPRC làm tăng nồng độ SOD, CAT và giảm nồng độ MDA. **Kết luận:** SPRC chứng minh tác dụng bảo vệ tim mạch thông qua cơ chế chống oxy hóa trên mô hình NMCT cấp, tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC tương đương Captoril.

Từ khóa: S-propargyl-cysteine; Bảo vệ tim mạch; Nhồi máu cơ tim.

DETERMINATION OF THE CARDIOPROTECTIVE EFFECTS
OF S-PROPARGYL-CYSTEINE IN RATS INDUCED
ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

Abstract

Objectives: To determine the cardioprotective effects of S-propargyl-cysteine (SPRC) in rats induced acute myocardial infarction. **Methods:** Myocardial infarction (MI) was induced in rats by ligating the left anterior descending coronary artery. The concentrations of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), and TTC (2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride) staining were used to evaluate the cardioprotective effects of SPRC. The levels of superoxide dismutase (SOD),

¹Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

²Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

*Tác giả liên hệ: Trần Bá Hiếu (manhhieu86@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 28/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.468>

catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) were used to determine the antioxidant mechanism of SPRC. **Results:** Preventive treatment with SPRC significantly reduced infarct size, CK, and LDH leakage. SPRC displayed antioxidant properties by preserving SOD and CAT levels while reducing MDA levels. **Conclusion:** SPRC demonstrated protective effects against MI via an antioxidant mechanism, and its cardioprotective impact was comparable to Captoril.

Keywords: S-propargyl-cysteine; Cardioprotective; Myocardial infarction.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Mặc dù gần đây đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, các bệnh tim mạch vẫn là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới; trong đó, NMCT là một trong những bệnh tim thiếu máu cục bộ phổ biến nhất. Nhiều bằng chứng đã chứng minh vai trò quan trọng của mất cân bằng oxy hóa/stress oxy hóa và viêm trong cơ chế bệnh sinh của NMCT. NMCT khởi phát mất cân bằng oxy hóa dẫn đến chết tế bào theo chương trình, hoại tử tế bào, tái cấu trúc tâm thất và rối loạn chức năng tim [1]. Do đó, tác dụng chống oxy hóa là hướng điều trị quan trọng để ngăn ngừa chết tế bào theo chương trình, bảo vệ cơ tim và bảo tồn chức năng tim.

SPRC là một hoạt chất có cấu trúc tương tự S-allylcysteine (SAC) - một trong những hoạt chất chính được chiết xuất từ tỏi. Một nghiên cứu gần đây của Wang và CS đã chứng minh cơ chế bảo vệ tim mạch của SAC trong mô hình chuột bị NMCT thông qua tác dụng chống oxy hóa và chống viêm [2]. Đáng chú ý, nhóm propargyl trong

SPRC có liên kết hóa học mạnh hơn trong cấu trúc cysteine so với nhóm allyl trong SAC nên SPRC cho thấy tiềm năng bảo vệ tim mạch hiệu quả hơn trong mô hình tim chuột thiếu máu cục bộ so với SAC [3]. Do có cấu trúc tương tự với SAC, SPRC cũng có thể có tác dụng bảo vệ tim mạch. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá tác dụng bảo vệ tim mạch thông qua cơ chế chống oxy hóa của SPRC trong mô hình NMCT cấp trên thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar, giống đực, khỏe mạnh, cân nặng 200 ± 20g do Ban chăn nuôi, Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong điều kiện đảm bảo vệ sinh, đầy đủ thức ăn và nước uống.

* Nguyên liệu hóa chất:

SPRC 96,5% đạt TCCS được cung cấp bởi Đại học Phúc Đán (Trung Quốc). Captoril 95,7% được mua từ công ty Sigma (Mỹ). 2,3,5-Triphenyltetrazolium

chloride (TTC) và các dung môi hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phân tích được mua từ công ty Merck (Đức). Các kit xét nghiệm SOD (CS0009), CAT (CAT100), MDA (MAK085), CK (MAK116), LDH (MAK066) dùng cho động vật được mua từ công ty Sigma (Mỹ).

** Thiết bị:*

Buồng làm ấm động vật thực nghiệm của hãng Ugo - Basille (Italy), máy hỗ trợ hô hấp dùng cho động vật SAR-1000 của công ty CWE (Mỹ). Các thiết bị khác đều đạt tiêu chuẩn ISO/IEC 17025, GLP và được hiệu chuẩn theo quy định.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Phương pháp gây mô hình NMCT cấp:*

Chuột cống trắng, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (Lô chứng sinh lý): Không gây NMCT cấp + uống nước cất.

- Lô 2 (Lô mô hình): Gây NMCT cấp + uống nước cất.

- Lô 3 (Lô tham chiếu): Gây NMCT cấp + uống captoril 30 mg/kg/ngày.

- Lô 4 (Lô nghiên cứu): Gây NMCT cấp + uống SPRC liều 30 mg/kg/ngày.

Chuột được uống thuốc mỗi ngày 1 lần, trong 7 ngày liên tục trước khi gây NMCT cấp theo phương pháp được mô tả bởi Zhu YZ [4], cụ thể như sau: Chuột sau khi được gây mê bằng

Ketamin liều 0,01 mg/kg được cố định trên bàn mổ, đặt nội khí quản và kết nối với máy hỗ trợ hô hấp với tần số 60 lần/phút, dung tích khí 8 - 10mL. Dùng kéo nhỏ mở lồng ngực ở vị trí xương sườn 3 và 4, bộc lộ tâm nhĩ trái, dùng chỉ Prolene 6/0 thắt nhánh xuống động mạch vành bên trái (dưới tâm nhĩ trái 1 - 2mm) để gây mô hình NMCT cấp. Sự thành công của mô hình được xác định bằng phần cơ ở mỏm tim và phía dưới chỗ thắt 1 - 2mm chuyển sang màu trắng và ST chênh lên trên điện tâm đồ. Nhóm chứng sinh lý chỉ luôn kim không thắt. Sau khi thắt chuột được đóng lồng ngực, sát khuẩn, ngắt kết nối với máy hô hấp và được giữ trong buồng ấm 30 phút trước khi thả vào lồng để tiếp tục uống thuốc trong 2 ngày.

Đến ngày thứ 9 số lượng chuột còn lại của các lô lần lượt là lô chứng (n = 10), lô mô hình (n = 8), lô nghiên cứu (n = 9) và lô tham chiếu (n = 9). Sau khi gây mê chuột được lấy máu từ động mạch chủ sống lưng (2mL) để lấy huyết thanh, tim được lấy ra rửa sạch trong nước muối sinh lý lạnh, bọc giấy bạc và bảo quản ở -80°C.

Các chỉ số tổn thương cơ tim và tác dụng chống oxy hóa gồm CK, LDH và SOD; CAT, MDA được đo trong huyết thanh bằng phương pháp phân tích colorimetric trên máy Infinite M200 (hãng Tecan, Mỹ), sử dụng các bộ kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

* Phương pháp nhuộm TTC và xác định tỷ lệ diện tích cơ tim nhồi máu:

Tim lấy ra khỏi tủ lạnh được cắt đều theo chiều ngang từ mỏm tim đến cuống tim thành 6 lát mỗi lát dày khoảng 2mm. Ngâm các lát tim trong dung dịch TTC bọc kín bằng giấy bạc ở 37°C trong 30 phút. Sau 30 phút rửa sạch các lát cắt bằng nước muối sinh lý, sau đó cố định bằng dung dịch Paraformaldehyde trong 30 phút. Sau 30 phút dùng giấy thấm hút khô rồi đặt các lát cắt theo thứ tự thống nhất trên mảnh thủy tinh để tiến hành chụp ảnh. Phần cơ tim nhồi máu có màu trắng, trong khi khu vực bình thường có màu hồng. Nghiên cứu viên sẽ dùng phần mềm ImageJ để đo diện tích khu vực nhồi máu và diện tích tâm thất trái. Tỷ lệ phần trăm nhồi máu được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ phần trăm nhồi máu} = 100\% \times \frac{\text{diện tích nhồi máu}}{\text{diện tích tâm thất trái}}$$

* Xử lý số liệu:

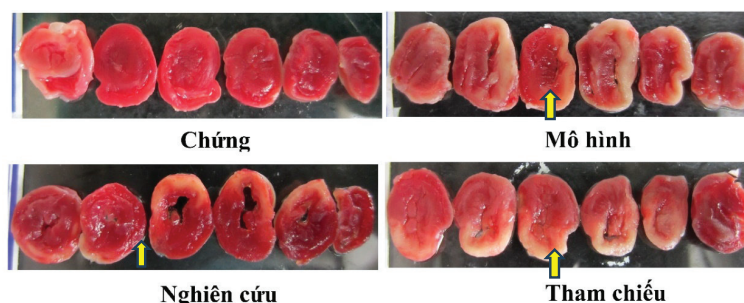
Số liệu thu được trong nghiên cứu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$ và xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 16.0. Giá trị trung bình được kiểm định bằng student T-test, tỷ lệ (%) bằng kiểm định χ^2 Test. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

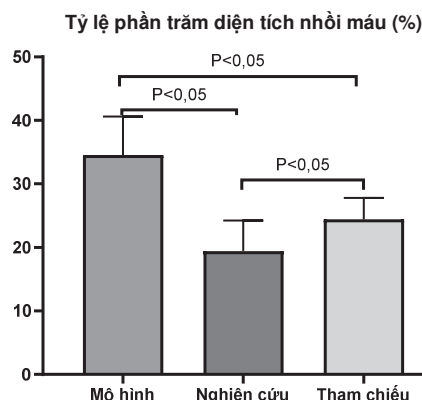
Nghiên cứu được tiến hành tại Ban chăn nuôi và Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y. Động vật thí nghiệm luôn được chăm sóc trong điều kiện vệ sinh sạch sẽ, cung cấp đầy đủ thức ăn và nước uống. Các quy trình, thao tác được thực hiện theo đúng quy định chung cho động vật thí nghiệm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Diện tích nhồi máu



Hình 1. Hình ảnh lát cắt tim chuột nhuộm màu bằng TTC. Phần cơ tim nhồi máu có màu trắng (mũi tên vàng), phần cơ tim bình thường có màu hồng.

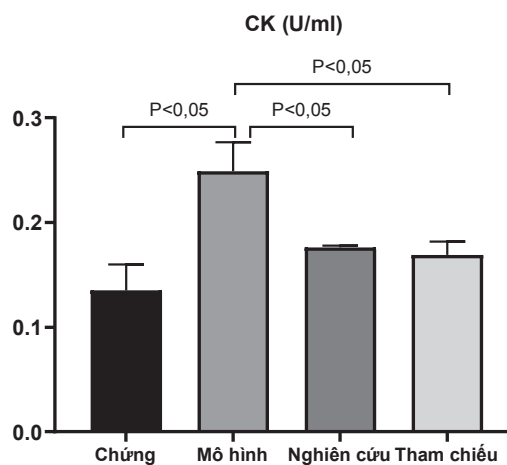


Hình 2. Biểu đồ phần trăm diện tích nhồi máu của các nhóm chuột thí nghiệm.

Kết quả nhuộm TTC cho thấy SPRC và Captopril làm giảm đáng kể kích thước ổ nhồi máu trong tâm thất trái so với nhóm mô hình dùng nước cất ($19,43 \pm 4,79\%$ và $24,43 \pm 3,34\%$ so với $32,69 \pm 4,99\%$; $p < 0,05$). Kích thước ổ nhồi máu ở nhóm dùng SPRC nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng Captopril.

2. Mức độ tổn thương cơ tim

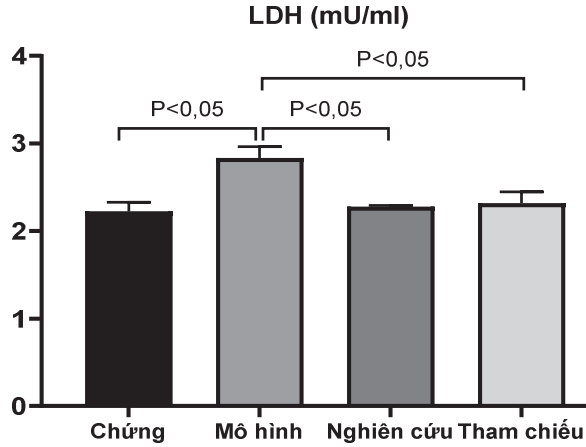
* *Chỉ số CK:*



Hình 3. Biểu đồ nồng độ CK trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ CK trong huyết tương chuột ở nhóm mô hình gây NMCT cấp tăng có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, chuột được uống dự phòng bằng SPRC và Captopril giúp làm giảm đáng kể nồng độ CK trong huyết tương chuột bị NMCT cấp so với nhóm sử dụng nước cất.

* Chỉ số LDH:

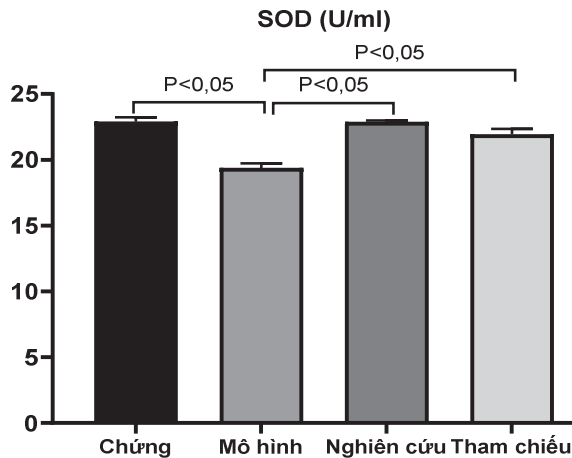


Hình 4. Biểu đồ nồng độ LDH trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

Chuột gây NMCT cấp làm tăng đáng kể nồng độ LDH so với nhóm chứng sinh lý. Sử dụng SPRC và Captopril dự phòng giúp ngăn ngừa hiệu quả sự tăng nồng độ LDH khi gây NMCT cấp ở nhóm nghiên cứu và nhóm tham chiếu.

3. Tác dụng chống oxy hóa

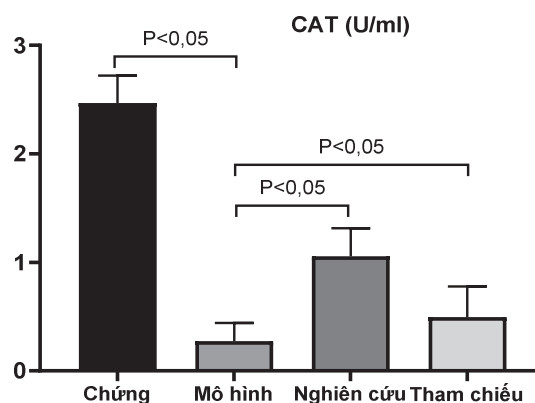
* Chỉ số SOD:



Hình 5. Biểu đồ nồng độ SOD trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ SOD trong huyết tương chuột giảm đáng kể khi gây NMCT cấp. Tuy nhiên, điều trị dự phòng bằng SPRC và Captopril làm tăng đáng kể nồng độ SOD so với nhóm mô hình dự phòng bằng nước cất ($p < 0,05$).

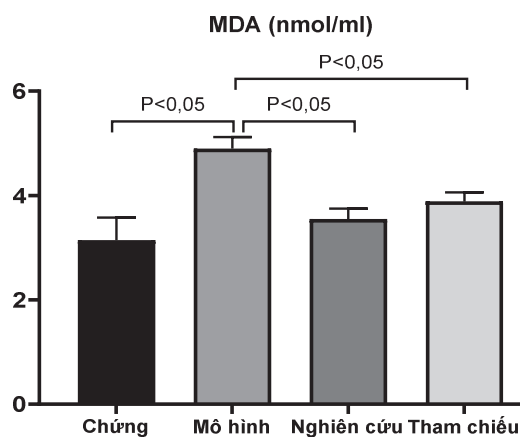
* *Chỉ số CAT:*



Hình 6. Biểu đồ nồng độ CAT trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

Nồng độ CAT trong huyết tương chuột ở nhóm gây mô hình NMCT cấp giảm hơn 9 lần so với nhóm chứng sinh lý. Trong khi đó sử dụng SPRC và Captopril điều trị dự phòng giúp tăng nồng độ CAT lần lượt là 3,9 và 1,8 lần so với nhóm điều trị dự phòng bằng nước cất.

* *Chỉ số MDA:*



Hình 7. Biểu đồ nồng độ MDA trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ MDA trong huyết tương chuột ở nhóm mô hình tăng có ý nghĩa thống kê. So với nhóm mô hình, các nhóm điều trị dự phòng bằng thuốc nghiên cứu và thuốc tham chiếu làm giảm đáng kể nồng độ MDA trong huyết tương chuột gây NMCT cấp.

BÀN LUẬN

Nhồi máu cơ tim là một tổn thương bệnh lý rất nghiêm trọng đối với cơ tim. NMCT thường khởi phát cấp tính trong thời gian ngắn; do đó, các phương pháp điều trị thường không kịp thời để có thể phát huy tác dụng tối ưu dẫn đến những tổn thương và di chứng nghiêm trọng hoặc tử vong. Vì vậy, trên lâm sàng, điều trị dự phòng cho những bệnh nhân (BN) có nguy cơ khởi phát giúp làm giảm sự xuất hiện của bệnh hoặc giảm tổn thương và di chứng của NMCT. BN điều trị dự phòng NMCT thường phải sử dụng thuốc trong thời gian dài. Việc chọn lựa loại thuốc thích hợp cho từng BN là điều rất quan trọng, góp phần quyết định sự thành công trong việc dự phòng NMCT. Nhiều loại thuốc đang được sử dụng trong điều trị dự phòng NMCT như thuốc chống ngưng kết tiểu cầu, thuốc chống đông... Các thuốc này tiềm ẩn nhiều tác dụng không mong muốn làm phát sinh thêm các vấn đề về sức khỏe [5]. Do đó, việc nghiên cứu các loại thuốc mới đang được quan tâm nhằm hỗ trợ cho việc điều trị dự phòng NMCT trên tiêu chí giảm tối đa tỷ lệ mắc phải hoặc tái phát trên BN có nguy cơ và đảm bảo sử dụng an toàn trong thời gian dài, ít gây tác dụng không mong muốn. SPRC là một chất điều biến mới của hydro

sunfua nội sinh, được phát triển để giải quyết vấn đề của việc sử dụng hydro sunfua. Không giống như bản thân khí và nguồn cung cấp hydro sunfua ngoại sinh, SPRC được thiết kế để tác động thông qua việc thúc đẩy hoạt động của cystathionine- γ -lyase (CSE), một loại enzyme chuyển hóa có thể tạo ra hydro sunfua nội sinh có vai trò trong việc điều trị các bệnh tim mạch như tăng huyết áp, xơ vữa động mạch và thiếu máu cơ tim cấp tính [6].

Thất động mạch vành nhánh xuống trước bên trái để tạo mô hình NMCT cấp là mô hình lần đầu tiên được áp dụng tại Việt Nam. Trước đây, trong nước thường sử dụng Isoproterenol để gây mô hình NMCT cấp [7]. Phương pháp này mặc dù thao tác đơn giản, nhưng có một số nhược điểm, đó là mô hình không đồng đều, tỷ lệ thành công thấp và khác biệt giữa các cá thể lớn do đáp ứng thuốc khác nhau. Ngoài ra, thời gian gây nhồi máu ngắn; do đó, đặc điểm bệnh lý của mô hình có nhiều khác biệt so với thực tế lâm sàng. Vì vậy, mô hình NMCT cấp bằng Isoproterenol ít có giá trị trong nghiên cứu bệnh lý và đánh giá tác dụng dược lý của thuốc. Động mạch vành nhánh xuống trước trái là động mạch chính cung cấp máu cho tim trái, nếu bị thất có thể gây NMCT ở vách liên thất và tâm thất trái. Mô hình này có tỷ lệ

thành công và độ đồng đều cao, có nhiều đặc điểm bệnh lý giống với thực tế trên lâm sàng; do đó, được áp dụng phổ biến để nghiên cứu cơ chế bệnh lý cũng như đánh giá tác dụng dược lý của thuốc trên động vật.

Các chỉ số men cơ tim có độ nhạy, độ đặc hiệu tốt, có thể định lượng được, đã được sử dụng và phát triển rộng rãi trong nghiên cứu và ứng dụng lâm sàng trong bệnh thiếu máu cơ tim. Nồng độ các chỉ số men có quan hệ mật thiết với lượng cơ tim hoại tử, giúp chẩn đoán mức độ tổn thương tế bào cơ tim [8]. Tình trạng thiếu oxy gây rối loạn chuyển hóa oxy hóa tế bào làm phát sinh quá nhiều gốc tự do. Khi thiếu oxy sẽ làm mất cân bằng giữa quá trình thanh thải gốc tự do và quá trình sản sinh gốc tự do trong cơ thể. Quá trình thanh thải gốc tự do giảm hoặc quá trình sản sinh gốc tự do tăng sẽ gây tổn thương các mô, cơ quan [9]. Thông qua chuỗi phản ứng oxy hóa của các axit béo không bão hòa trong màng tế bào và màng bào quan, làm sản sinh peroxy hóa lipid, cản trở tính lưu động và tính thấm của màng và tạo ra các chất chuyển hóa [10]. CK là một loại enzyme cần thiết để duy trì sự trao đổi chất và hoạt động chức năng trong các tế bào cơ tim bình thường. Khi các tế bào cơ tim bị kích thích bởi tình trạng thiếu oxy, tính toàn vẹn của

màng tế bào bị phá hủy do sự tấn công của các gốc oxy tự do và các chất nội bào giải phóng vào hệ thống tuần hoàn, hàm lượng của các enzym này trong huyết tương tăng lên rất nhiều. Vì vậy, nó có thể được sử dụng như một trong những chỉ tiêu để đánh giá tổn thương tổ chức hoặc tế bào cơ tim [8].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện sau khi thắt động mạch vành trái trước nhánh xuống ở chuột, hàm lượng CK và LDH trong huyết tương tăng lên đáng kể, chứng tỏ màng tế bào cơ tim đã bị tổn thương, làm cho các enzym này giải phóng vào tuần hoàn máu. Sự gia tăng rõ rệt hàm lượng MDA trong huyết tương phản ánh rằng cơ tim bị tổn thương do thiếu oxy và tích tụ các sản phẩm peroxy hóa lipid. SPRC giúp làm giảm kích thước vùng nhồi máu, giảm hàm lượng CK và LDH giải phóng từ tế bào cơ tim và giảm nồng độ MDA trong huyết tương. Những kết quả này cho thấy SPRC có tác dụng bảo vệ rõ ràng đối với tổn thương do thiếu máu cục bộ cơ tim ở chuột. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy SPRC có tác dụng bảo vệ tim mạch tương đương Captopril.

Để quan sát tiếp tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC có liên quan đến cơ chế chống oxy hóa hay không, nghiên cứu đã tiến hành đánh giá tác dụng của SPRC với các chất chống oxy hóa

chính, như SOD, CAT. SOD là một loại enzyme chống oxy hóa có trong tất cả các tế bào sống trong cơ thể. SOD giúp ngăn chặn quá trình oxy hóa bằng cách chuyển đổi gốc siêu muối superoxide thành oxy và hydro peroxide (H_2O_2). Hydrogen peroxide sau đó sẽ được loại bỏ bằng cách hoạt động của các enzyme khác như peroxidase và CAT thành nước không có tác động tiêu cực đến cơ thể. Đồng thời, SOD còn có khả năng kích hoạt các hệ thống chống oxy hóa khác trong cơ thể, như glutathione peroxidase và glutathione reductase. Nhờ đó, SOD giúp cân bằng môi trường nội bào và giảm thiểu tác động gây tác hại từ gốc tự do. CAT là enzyme quan trọng trong quá trình phân hủy hydrogen peroxide thành oxy và nước. CAT sẽ tăng cường tốc độ phản ứng phân hủy hydrogen peroxide và giúp chất này được loại bỏ ra khỏi cơ thể từ đó ngăn chặn sự hình thành các chất oxy hóa tự do gây hại. Ngoài ra, CAT còn bảo vệ tế bào chống lại các tác động của gốc tự do và chất oxy hóa khác. Với vai trò chống oxy hóa, CAT sẽ giúp cơ thể duy trì cân bằng và bảo vệ tế bào tránh các tác nhân gây hại. Trong nghiên cứu này, chuột thí nghiệm được cho uống SPRC hoặc Captopril một tuần trước khi thắt động mạch vành gây NMCT cấp. Kết quả cho thấy SPRC giúp cải thiện hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa

trong mô cơ tim sau tổn thương do thiếu máu cục bộ. Cụ thể SPRC làm tăng nồng độ SOD và CAT trong huyết tương từ đó ức chế sản sinh các sản phẩm peroxy hóa lipid nâng cao khả năng thanh thải gốc oxy tự do của cơ thể, hạn chế mức độ tổn thương cơ tim.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chứng minh được SPRC có tác dụng bảo vệ tế bào cơ tim trên mô hình NMCT cấp ở chuột, thể hiện qua việc làm giảm enzym CK, LDH và tăng hoạt tính enzym chống oxy hóa SOD, CAT. Tác dụng của SPRC tương đương với Captopril.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Frangiannis NG, Smith CW and Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2002; 53:31-47.
2. Rose P, Whiteman M, Moore PK, Zhu YZ. Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: The chemistry of potential therapeutic agents. *Nat Prod Rep.* 2005; 22:351-368.
3. Chuah SC, Moore PK, Zhu YZ. S-allylcysteine mediates cardioprotection in an acute myocardial infarction rat model via a hydrogen sulfidemediated pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 293:H2629-H2630.

4. Zhu YZ, Wang ZJ, Ho P, et al. Hydrogen sulfide and its cardioprotective effects in myocardial ischemia in experimental rats. *J Appl Physiol.* 2007; 102(1):261-268.
5. Đào Văn Phan. *Dược lý học lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học - Hà Nội. 2020.
6. Pipaliya H, Vaghasiya J. Cardio protective effect of vitamin A against isoproterenol-induced myocardial infarction. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2012; 58:402-407.
7. Kan J, Guo W, Huang C, et al. S-propargyl-cysteine, a novel water-soluble modulator of endogenous hydrogen sulfide, promotes angiogenesis through activation of signal transducer and activator of transcription 3. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20(15): 2303-2316.
8. Capraz M, Dilek M, Akpolat T. Galic hypertension and patient education. *J Cardiology.* 2006; 121:130-131.
9. Filippo CD, Cuzzocrea S, Rossi F, et al. Oxidative stress as the leading cause of acute myocardial infarction in diabetics. *Cardiovasc. Drug Rev.* 2006; 24:77-87.
10. Davis ME, Seshadri G, Dikalov S, et al. Delivery of SOD with polyketal particles protects rats from acute myocardial infarction. *Circulation.* 2009; 120:S747.