



## Protective effects of simvastatin on atrioventricular node during simulated experimental atrial fibrillation *in vitro*

Vahid Khorii<sup>1\*</sup>, Fatemeh Alizadeh<sup>1</sup>, Soroosh Aminosharie Najafi<sup>1</sup>, Mona Pourabouk<sup>1</sup>, Mohsen Nayebpour<sup>2</sup>, Aref Salehi<sup>1</sup>, Ahmad Ali Shirafkan<sup>1</sup>, Saeed Saleki<sup>1</sup>, Fakhri Badaghabadi<sup>1</sup>, Ali davariyan<sup>1</sup>, Ali Mohamad Alizadeh<sup>3</sup>

1. Golestan Cardiovascular research center, Golestan university of medical science, Gorgan, Iran.
2. Dept. Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Dept. Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 10 Nov 2009

Accepted: 5 May 2010

### Abstract

**Introduction:** Recent evidence has indicated that statins can reduce the incidence of both supraventricular and ventricular arrhythmias with various mechanisms. The primary goal of the present study was to determine direct protective role of simvastatin in modifying concealed conduction and the zone of concealment in a simulated model of atrial fibrillation (AF) in an isolated atrioventricular (AV) node in rabbits.

**Methods:** Male Newland rabbits (1.5-2 kg) were used in all experiments. Stimulating protocols (recovery, AF, zone of concealment) were used to study electrophysiological properties of the node in one group (N=8). All of the stimulated protocols were repeated in the presence and absence of different doses of simvastatin (0.5-10  $\mu\text{M}$ ). Results were shown as mean  $\pm$  S.E.

**Results:** Significant inhibition of the basic properties of the AV node was observed after the addition of simvastatin. Significant prolongation of Wenckebach index (wbcl) from  $138.7 \pm 5.6$  to  $182.1 \pm 6.9$  and functional refractory period (FRP) from  $157.7 \pm 5.9$  to  $182.1 \pm 6$  msec at the concentration of 10  $\mu\text{M}$  was observed. Maximum efficacy of simvastatin in atrial fibrillation (AF) protocol was observed at the concentration of 3.10  $\mu\text{M}$ , that was accompanied with prolonged HH interval and increased number of concealed beats. Zone of concealment significantly increased at the concentrations of 1.3 and 10  $\mu\text{M}$ .

**Conclusion:** This study shows the protective effect of simvastatin in the prolongation of ventricular beats during atrial fibrillation. The effect of simvastatin in increasing AV-nodal refractory period and zone of concealment are probably the anti-arrhythmic mechanisms of this drug.

**Key words:** AV-node, Atrial fibrillation, Simvastatin, Arrhythmia

\*Corresponding author e-mail: vaph99@yahoo.com  
Available online at www.phypha.ir/ppj

## اثرات سیمواستاتین در تقویت نقش محافظتی گره دهلیزی بطنی در طول فیبریلاسیون دهلیزی شبیه سازی شده در آزمایشگاه

وحید خوری<sup>۱\*</sup>، فاطمه علیزاده<sup>۱</sup>، سروش امین الشریعه نجفی<sup>۱</sup>، منا پورابوک<sup>۱</sup>، محسن نایب پور<sup>۲</sup>، عارف صالحی<sup>۱</sup>، احمدعلی شیرافکن<sup>۱</sup>، سعید سالکی<sup>۱</sup>، فخری بداغ آبادی<sup>۱</sup>، علی داوریان<sup>۱</sup>، علی محمد علیزاده<sup>۳</sup>

۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان
۲. گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

دریافت: ۱۹ آبان ۸۸ پذیرش: ۱۵ اردیبهشت ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** استاتین ها می توانند با مکانیزم های مختلفی وقوع آریتمی بطنی و فوق بطنی را کاهش دهند. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات محافظتی مستقیم سیمواستاتین در تغییر هدایت پنهان و ناحیه پنهان در مدل شبیه سازی شده فیبریلاسیون دهلیزی در گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش می باشد.

**روش ها:** خرگوشهای نیوزلندی نر (۱/۵ تا ۲ کیلوگرم) در تمامی آزمایشات استفاده شدند. پروتکل های تحریکی (ریکاوری، ناحیه پنهان و فیبریلاسیون دهلیزی) جهت مطالعه خواص الکترو فیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی در یک گروه بکار برده شدند (N=۸). پروتکل های تحریکی در حضور و عدم حضور غلظتهای مختلف داروی سیمواستاتین (۱۰-۰/۵ میکرو مولار در لیتر) تکرار گردیدند. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.

**یافته ها:** سیمواستاتین مهار قابل توجهی در خواص پایه گره ایجاد کرد، افزایش معنی دار در نمایه و نکباز از  $138/7 \pm 5/6$  به  $182/1 \pm 6/9$  میلی ثانیه و زمان تحریک ناپذیری کارکردی از  $151/7 \pm 5/9$  به  $182/1 \pm 6/1$  میلی ثانیه در غلظت ۱۰ میکرو مولار در لیتر اندازه گیری شد ( $P < 0/05$ ). سیمواستاتین در غلظتهای ۳ و ۱۰ میکرومولار سبب طولانی شدن فاصله بین دو انقباض متوالی بطن ها و افزایش ضربانات پنهان شد. ناحیه پنهان در غلظتهای ۱۰ و ۳ میکرومولار در لیتر افزایش معنی داری پیدا کرد.

**نتیجه گیری:** این مطالعه اثرات محافظتی سیمواستاتین در طولانی کردن ضربانات بطنی در طی فیبریلاسیون دهلیزی را نشان میدهد. اثرات سیمواستاتین در افزایش زمان تحریک ناپذیری گره ای و ناحیه پنهان، مکانیسم احتمالی آنتی آریتمیک این دارو می باشد.

**واژه های کلیدی:** گره دهلیزی-بطنی، فیبریلاسیون دهلیزی، سیمواستاتین، آریتمی فوق بطنی

### مقدمه

تاکیکاردی چرخشی دهلیزی بطنی و فیبریلاسیون دهلیزی (AF) است که در بالغین شیوع بیشتری دارد [۳]. تنها در ایالت متحده ی آمریکا حدود ۳/۲ میلیون نفر مبتلا به فیبریلاسیون دهلیزی بوده و سالانه بیش از ۱۶۰۰۰۰ مورد جدید به آن اضافه می شود. فیبریلاسیون دهلیزی خطر سکتة قلبی، نارسایی قلبی احتقانی و مرگ ناشی از گرفتگی عروق قلبی را

یکی از شایعترین انواع تاکیکاردی های فوق بطنی

vaph99@yahoo.com  
www.phypha.ir/ppj

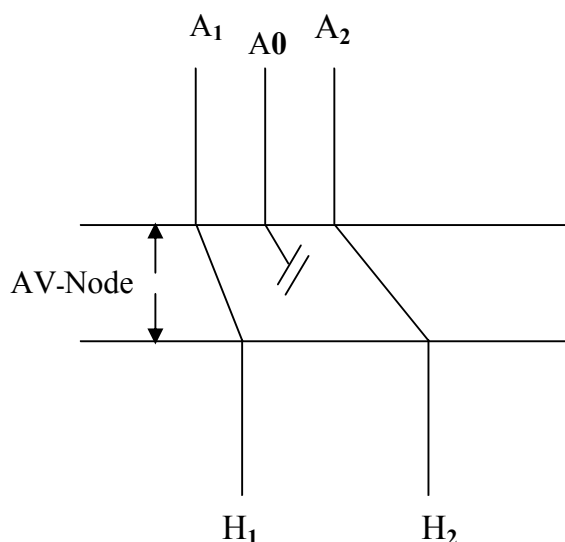
\* نویسنده مسئول مکاتبات:  
وبگاه مجله:

در کنترل آریتمی های بطنی مورد بررسی قرار گرفته است [۱۶]. با استفاده از تعیین اثرات داروهای مختلف بر روی این خواص ذاتی قلب می توان به اهمیت نقش این داروها در کنترل و خاتمه آریتمی های فوق بطنی پی برد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات مستقیم غلظت های مختلف سیمواستاتین بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی و نقش محافظتی این گره در طی فیبریلاسیون دهلیزی شبیه سازی شده آزمایشگاهی انجام گرفت. تعیین مکانیسم اثرات سیمواستاتین در تغییر خواص گره از طریق اندازه گیری اثرات دارو بر روی ناحیه هدایت پنهان در سرعت های مختلف تحریک قلبی از دیگر اهداف تحقیق حاضر می باشد.

## مواد و روشها

در آزمایشهای انجام شده از خرگوشهای نر نژاد نیوزلندی در محدوده وزنی ۱/۵-۲ کیلوگرم استفاده شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام گرفت. بعد از پیش درمانی با هپارین (۵mg/kg/IV) و پنتوباریتال سدیم (۳mg/kg/IV) حیوان بیهوش شده و پس از باز کردن قفسه سینه، قلب جدا شده و گستره بافتی شامل دهلیز راست نواحی گره دهلیزی-بطنی و سپتوم بین بطنی را از آن جدا نموده و به کمک سوزنهایی بر روی یک توری داخل محلول کربس-هنسلیت در مدار داخلی ثابت نمودیم، سپس گره دهلیزی بطنی توسط محلول کربس-هنسلیت به طور پیوسته توسط پمپ پریستالتیک با سرعت ۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه به صورت سطحی تغذیه شد همچون تغذیه کرونری با استفاده از تکنیک پرفیوژن معکوس با فشار ثابت ۶۰-۵۰ میلیمتر جیوه و با استفاده از یک پروب مخصوص و پمپ پریستالتیک ایجاد گردید. سپس توسط الکتروود دو قطبی از نواحی ترانزیشنال زائده خلفی، قدامی و قسمت های بالایی دهلیز و دسته هیس ثبت گرفته شد و سپس به کمک الکتروود تحریکی که درحاشیه گره سینوسی دهلیزی در دهلیز راست قرار گرفت، گستره بافتی را با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربانات قلب تحریک نموده و پروتکل تحریکی ریکآوری اجرا کردیم. محلول کربس-هنسلیت اکسیژنه شده توسط اکسیژن (۹۵٪) و دی اکسید

افزایش می دهد [۴]. با وجود مداخلات متعدد دارویی و غیر دارویی با استفاده از مکانیسم کنترل ریتم و یا سرعت ضربانات، هنوز داروهای موجود نتوانسته اند انتظارات ما را در کنترل انواع آریتمی برآورده سازند. سیمواستاتین یکی از مهار کننده های آنزیم HMG-COA reductase می باشد که میزان کلسترول خون را کاهش می دهد و اثرات آنتی اسکلوئوتیک دارد [۱۸]. استاتین ها توسط اثرات پلئوتروپیک خود می توانند اثرات متعددی در کنترل آریتمی های دهلیزی و بطنی داشته باشند. استاتین ها می توانند با استفاده از مکانیسم های متفاوت به عنوان یک داروی ضد فیبریلاسیون دهلیزی عمل کنند. از مهمترین این مکانیسم ها می توان به اثرات ضد التهابی و کاهش پروتئین های التهابی [۱۵]، تاثیر مستقیم در خواص کانال های یونی مانند فعال کردن کانال های پتاسیم حساس به ATP، کاهش فعالیت کانال های سدیم و مبادله گر سدیم - کلسیم و کاهش فعالیت کانال های کلسیم نوع I اشاره نمود [۷]. مطالعات اثرات آتروواستاتین بر روی کانال های پتاسیم نشان داده اند که این دارو می تواند سبب مهار کانال  $I_{to}$  و  $I_{kur}$  شود. این اثرات در غلظتهای ۱ - ۱۰ میکرو مولار در خارج از بدن ایجاد شده که بیانگر آن است که این داروها در غلظتی که سبب مهار آنزیم کوآرودوکتاز می شود می توانند اثر مهاری بر روی کانال کلسیم نوع I داشته باشند [۱۷]. با وجود این مطالعات گسترده بر روی اثرات استاتین ها بر کانال های یونی در دهلیز و بطن تاکنون کمتر مطالعه ای در ارتباط با اثرات استاتین ها بر روی گره دهلیزی - بطنی و مکانیسم های حفاظتی آن و همچنین نقش استاتین ها در جلوگیری و یا کاهش ضربات آریتمی های فوق بطنی چرخشی (AVNRT) انجام شده است. جواب بطنی نامنظم در طی فیبریلاسیون دهلیزی در سرعتی کمتر از ضربانات الکتریکی تولید شده دهلیزها توسط مکانیزم های حفاظتی گره دهلیزی بطنی مشخص می گردد. دو مکانیزم عمده حفاظتی گره در کنترل سرعت بطنها توسط پدیده هدایت پنهان و الگوی تحریک ناپذیری در گره دهلیزی بطنی توضیح داده می شود. هدایت پنهان و تحریک ناپذیری به عنوان مهمترین شاخص های الکتروفیزیولوژیک گره در طی فیبریلاسیون دهلیزی می باشند [۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۴]. در مطالعات مختلف اثرات داروهای کلسیم بلاکر مانند دیلتیازم و آدنوزین بر روی هدایت پنهان و نقش آن



شکل ۱- پروتکل هدایت پنهان که در حضور ضربه پنهان قبل از ضربه تست اجرا می شود، سپس منحنی پنهان از طریق رسم هدایت ضربه بعد از بیت پنهان در مقابل ریکاوری ضربه قبل از ضربه پنهان رسم شد. شکل شماتیک پروتکل اختصاصی ضربه پنهان به کار رفته در این مطالعه. بعد از ۱۵ ضربه پایه (A<sub>1</sub>) یک تحریک پنهان انجام شده و سپس اثرات این تحریک پنهان (A<sub>0</sub>) بر روی ضربانات آزمایشی (A<sub>2</sub>) به صورت منحنی پنهان نشان داده می شود.

A<sub>1</sub>: آخرین ضربه پایه (۱۵ ضربه)

A<sub>0</sub>: ضربه پنهان (۱ ضربه)

A<sub>2</sub>: ضربه آزمایشی

H<sub>1</sub>: ثبت سیگنال هیس بعد از A<sub>1</sub>

H<sub>2</sub>: ثبت سیگنال هیس بعد از تحریک A<sub>2</sub>

جداگانه به این ترتیب بررسی شد که پروتکل ریکاوری با چند سرعت پایه متفاوت انجام شده و در هر بار ناحیه پنهان از طریق تفاضل بین زمان تحریک ناپذیری دهلیزی و زمان تحریک ناپذیری گره ای مشخص گردید.

قبل از شروع آزمایش قلب های مورد نظر باید حداقل به مدت ۶۰ دقیقه از نظر جریان عروق کرونر، زمان انتقال دهلیزی - گره ای و شاخص ونکباخ پایدار شده باشد. طراحی آزمایش شامل مراحل کنترل و دارو در یک گروه و با ۸ نمونه انجام گرفت. (۱) کنترل: انجام پروتکل های تحریکی در حضور تیروید (۲) دارو (سیمواستاتین): اضافه کردن غلظت های مختلف سیمواستاتین ( ۰/۵ ، ۰/۸ ، ۱ ، ۳ ، ۱۰ میکرومولار) به محلول کربس -هنسلیت به صورت مستقیم و تراکمی از غلظت کم به زیاد و سپری شدن ۲۵ الی ۳۰ دقیقه و تکرار پروتکل های تحریکی.

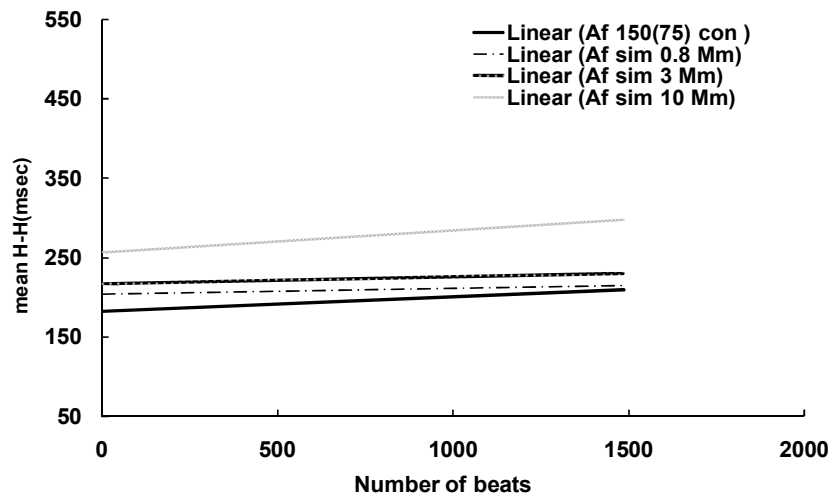
نرمال بودن داده ها توسط تست KS (کروموگروف- اسپیرونوف) انجام شد و سپس مقایسه بین چند گروه با تست

کربن (۵٪) با درجه حرارت  $37 \pm 0.1$  درجه سانتیگراد و  $\pm 0.1$  pH= ۷/۴ با حجم ۶ لیتر در یک مدار بسته توسط پمپ پرستالتیک بطور پیوسته بافت را تغذیه می کرد. سیمواستاتین مورد استفاده در این طرح از شرکت داروسازی آریا تهران و مواد مورد استفاده در تهیه محلول کربس -هنسلیت از شرکت میرک آلمان تهیه گردید. محتوای محلول کربس-هنسلیت بر حسب میلی مولار شامل سدیم کلراید (۱۲۸)، پتاسیم کلراید (۴/۷)، کلسیم کلراید (۲)، منیزیم کلراید (۱)، سدیم بیکربنات (۲۵)، سدیم هیدروژن فسفات (۰/۷)، و دکستروز (۱۱/۱) بدون آب (Fluka) بود.

پروتکل های تحریکی: پروتکل های مورد استفاده در این مطالعه به دو دسته پروتکل های تحریکی پایه شامل شاخص ونکباخ (WBCL)، زمان تحریک ناپذیری موثر (ERP)، زمان تحریک ناپذیری کارکردی (FRP)، پروتکل ریکاوری (Recovery) و پروتکل های تحریکی شامل فیبریلاسیون دهلیزی و هدایت پنهان تقسیم شدند. مفاهیم پایه در مقاله چاپ شده گذشته به تفصیل شرح داده شده است [۹]. فیبریلاسیون دهلیزی (AF): از پروتکل تحریک تصادفی با سرعت بالا جهت ایجاد فیبریلاسیون دهلیزی توسط رایانه استفاده شد. حداقل و حداکثر فاصله بین تحریکات ۷۵ تا ۱۲۵ میلی ثانیه و کل زمان اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی ۱۵۰۰ تحریک در بازه زمانی ۵ دقیقه بود.

هدایت پنهان (Concealed conduction): هدایت پنهان عبارت است از نفوذ نسبی یک ایمپالس به سیستم هدایتی گره دهلیزی بطنی که می تواند بر روی هدایت و یا تشکیل ضربه بعدی موثر باشد. هدایت پنهان با استفاده از ضربه پنهان تعریف گردید، بدین صورت که بعد از ضربه پنهان تحریکات آزمایشی فرستاده شده و سپس اثرات این ضربانات پنهان بر روی هدایت گره ای به صورت منحنی هدایت پنهان رسم می شود (شکل ۱).

ناحیه پنهان (Zone of concealment): این پروتکل به دو طریق اندازه گیری می شود: (۱) با استفاده از پروتکل ریکاوری ناحیه پنهان بصورت تفاضل بین زمان تحریک ناپذیری گره ای و دهلیزی مشخص گردید. (۲) استفاده از سرعت های مختلف در پروتکل محاسبه ناحیه پنهان: اثرات ضربانات شرطی بر روی ناحیه پنهان توسط یک پروتکل



شکل ۲- یک نمونه از منحنی میانگین تعداد ضربانات بطن ها (حداقل فاصله بین دو ثبت متوالی از His) در طول اجرای پروتکل های فیبریلاسیون دهلیزی با استفاده از ۱۵۰۰ تحریک تصادفی متوالی، همان طور که در شکل فوق می بینیم با افزایش غلظت سیمواستاتین میانگین فاصله HH افزایش یافته و این افزایش در غلظت ۱۰ میکرو مولار به حداکثر می رسد. افزایش فاصله میانگین HH بیانگر افزایش تعداد ضربانات پنهان تحت تاثیر سیمواستاتین می باشد.

از آنالیز واریانس دو طرفه و تست تکمیلی همسنجی شفه انجام شد. مقایسه بین دو گروه با تست Paired t-test انجام گرفت. کلیه داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شد.  $P < 0.05$  به عنوان شاخص معنی دار در نظر گرفته شد. نرم افزار استفاده شده جهت آنالیز آماری 5 Statgraph Prism استفاده شده است. نتایج تحقیق نشان داد که سیمواستاتین در یک مدل وابسته به غلظت سبب انتقال به راست منحنی توزیع فراوانی انقباضات از دسته هیس و کاهش معنی دار تعداد ضربانات بطن ها می شود. این اثرات در غلظتهای ۳ و ۱۰ میکرومولار معنی دار شد. (جدول ۱ و شکل ۲). همچنین تعداد ضربانات پنهان در یک روند صعودی همزمان با افزایش غلظت سیمواستاتین افزایش می یابد. جالب آنجاست که این اثرات دیده شده از سیمواستاتین همزمان با افزایش زمان تحریک

آنالیز واریانس دو طرفه و تست تکمیلی همسنجی شفه انجام شد. مقایسه بین دو گروه با تست Paired t-test انجام گرفت. کلیه داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شد.  $P < 0.05$  به عنوان شاخص معنی دار در نظر گرفته شد. نرم افزار استفاده شده جهت آنالیز آماری 5 Statgraph Prism استفاده شده است. نتایج تحقیق نشان داد که سیمواستاتین در یک مدل وابسته به غلظت سبب انتقال به راست منحنی توزیع فراوانی انقباضات از دسته هیس و کاهش معنی دار تعداد ضربانات بطن ها می شود. این اثرات در غلظتهای ۳ و ۱۰ میکرومولار معنی دار شد. (جدول ۱ و شکل ۲). همچنین تعداد ضربانات پنهان در یک روند صعودی همزمان با افزایش غلظت سیمواستاتین افزایش می یابد. جالب آنجاست که این اثرات دیده شده از سیمواستاتین همزمان با افزایش زمان تحریک

## یافته ها

دامنه غلظتهای انتخاب شده جهت تحقیق حاضر از آزمایشات اولیه بر روی ۳ نمونه از گستره های بافتی گره دهلیزی - بطنی انتخاب گردید. بدین ترتیب که حدود غلظت بین ۱۰ - ۰/۱ میکرومولار بر روی نمونه های فوق آزمایش شد و با توجه به اثرات مشاهده شده بر روی زمان تحریک ناپذیری و ونکباخ محدوده غلظت بین ۰/۵ - ۱۰ میکرو مولار از سیمواستاتین جهت انجام آزمایشات انتخاب گردید. اثرات سیمواستاتین بر روی زمان هدایت گره ای بسیار اندک و به صورت طولانی کردن تدریجی زمان هدایت بود. در غلظت ۰/۵ میکرو مولار زمان هدایت از  $53/3 \pm 2/4$  به  $56 \pm 2/9$  و در غلظت ۱۰ به  $59/8 \pm 2/5$  افزایش معنی دار نشان داد. از غلظت بالاتر از ۰/۵ میکرو مولار اثرات پیشرونده مهارى این دارو بر روی زمان تحریک ناپذیری گره ای و ونکباخ آغاز شده و در غلظت ۱۰ میکرو مولار به حداکثر رسید. زمان ونکباخ

جدول ۱- اثرات غلظتهای مختلف سیمواستاتین بر روی پارامترهای به دست آمده از خواص محافظتی گره در طول اجرای یک پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی. در مقایسه با کنترل  $P < 0.05$ \*

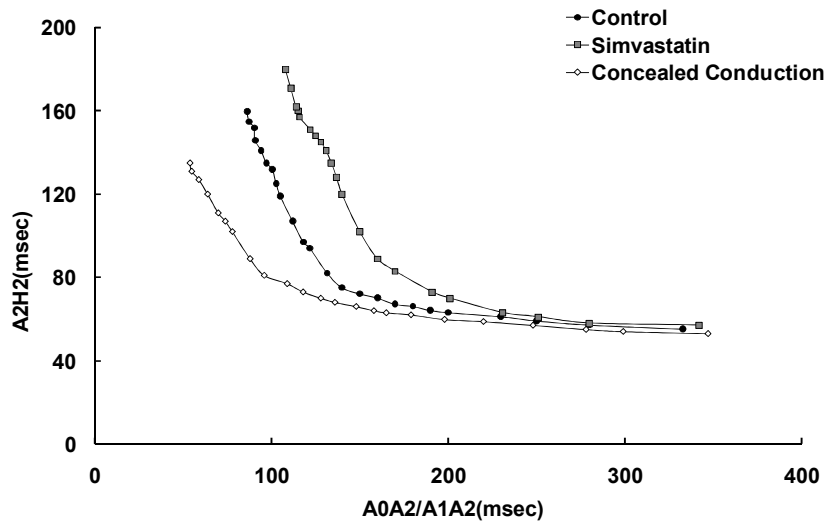
غلظت (میکرو مولار)	HH max(msec)	HH mean(msec)	AF FRP(msec)	AF ERP(msec)
کنترل	۴۳۱/۲±۲۴/۱	۲۰۰/۱±۱۲/۸	۱۲۶/۸±۸/۸	۷۴/۶±۳/۳
سیمواستاتین ۰/۵	۴۵۵/۷±۳۶/۱	۲۱۰/۴±۱۴/۱	۱۳۲/۵±۷/۹	۷۴/۵±۳/۴
سیمواستاتین ۰/۸	۴۷۲/۵±۵۰	۲۱۳/۲±۱۳/۲	۱۲۹/۴±۸/۹	۷۶±۲/۹
سیمواستاتین ۱	۴۵۰/۱±۳۴/۷	۲۱۰/۸±۱۱/۳	۱۲۸±۹/۶	۷۸/۱±۲/۵
سیمواستاتین ۳	۵۷۳±۶۴/۳*	۲۳۸/۸±۱۱/۲*	۱۵۶/۵±۷/۵*	۷۶/۵±۴/۶
سیمواستاتین ۱۰	۵۹۹±۶۸/۳*	۲۷۴/۸±۱۱/۳*	۲۰۹/۵±۳۳/۹*	۷۰/۳±۶/۷

HH max: حداکثر فاصله بین دو ضربه متوالی از دسته His

HH mean: میانگین فاصله بین دو ضرب متوالی از دسته His

AF FRP: حداقل فاصله بین دو ضربه متوالی His در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی

AF ERP: حداقل فاصله بین دو ضربه متوالی دهلیزی در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی



شکل ۳- اثرات غلظت ۳ میکرومولار سیمواستاتین بر روی هدایت پنهان و منحنی پنهان. همان طور که در شکل می بینیم ضربه پنهان توانست منحنی هدایت گره ای را نسبت به کنترل به سمت پایین و چپ منتقل کند.

جدول ۲- اثرات سیمواستاتین در سرعت پایه ضربانات قلبی در افزایش ناحیه پنهان. در مقایسه با کنترل  $P < 0.05$ \*

غلظت (میکرو مولار)	ZOC(H <sub>ERP</sub> -A <sub>ERP</sub> ) میلی ثانیه
کنترل	۸/۷±۴/۷
سیمواستاتین ۰/۵	۶/۴±۶/۴
سیمواستاتین ۰/۸	۲۸/۵±۹/۶*
سیمواستاتین ۱	۲۵±۹/۲
سیمواستاتین ۳	۲۰/۷±۶*
سیمواستاتین ۱۰	۲۹/۱±۱۰/۲*

ZOC (H<sub>ERP</sub>-A<sub>ERP</sub>): اختلاف بین زمان تحریک ناپذیری گره ای و زمان تحریک ناپذیری دهلیزی.

دهلیزی نیست و میزان تحریک ناپذیری کارکردی در حین فیبریلاسیون دهلیزی تنها در غلظت ۳ و ۱۰ میکرو مولار به صورت معنی دار افزایش می یابد. جهت بررسی آنکه تاثیر سیمواستاتین در کاهش ضربانات بطن ها به علت پدیده هدایت پنهان در گره دهلیزی - بطنی است پروتکل هدایت پنهان و ناحیه پنهان به صورت اختصاصی تعریف و قبل و بعد از اضافه کردن سیمواستاتین با یکدیگر مقایسه شد. نتایج تحقیق نشان می دهد که ناحیه پنهان در حالت کنترل با استفاده از ضربه پنهان حدود ۸/۷±۴/۷ میلی ثانیه بوده و این مقدار تحت تاثیر غلظتهای بالاتر از ۰/۵ میکرو مولار سیمواستاتین به صورت معنی دار افزایش می یابد و بیشترین مقدار دیده شده (جدول ۲

ناپذیری کارکردی و موثر در حین اجرای پروتکل فیبریلاسیون

**جدول ۳-** اثرات غلظتهای مختلف سیمواستاتین در افزایش ناحیه پنهان ( اختلاف بین زمان تحریک نا پذیرگی گره ای و دهلیزی ) در طول اجرای تحریکات با سرعت های مختلف پایه. بیشترین افزایش ناحیه پنهان در سرعتهای بالا و در غلظت های بالا سیمواستاتین دیده میشود. در مقایسه با کنترل  $P < 0.05^*$

Zone of recovery(msec) CL Short (180-160)	Zone of recovery(msec) CL Intermediate (230-200)	Zone of recovery(msec) CL Long (300-280)	غلظت ( میکرو مولار )
۴۵±۱۰/۸	۳۳/۱±۱۰/۱	۲۴/۶±۷/۶	کنترل
۵۰/۷±۱۴/۴	۳۷/۱±۱۲/۱	۲۴/۴±۸/۸	سیمواستاتین ۰/۵
۵۲/۱±۱۰/۶	۳۷/۸±۱۰/۷	۲۵±۹/۳	سیمواستاتین ۰/۸
۶۵±۱۱/۲*	۵۰/۸±۹/۸*	۳۱/۵±۹/۵	سیمواستاتین ۱
۷۲/۴±۱۱/۷*	۵۴/۸±۹/۲*	۴۱/۸±۹/۵*	سیمواستاتین ۳
۷۹/۱±۱۴/۵*	۶۹/۳±۱۷/۴*	۴۶/۱ ± ۱۱/۲*	سیمواستاتین ۱۰

Zone of recovery: اندازه فاصله بلاک ثبت از دسته دهلیزها (AA) و بلاک زمان هدایت گره ای (AH)

Cycle Length: CL Long

تمامی اعداد بر حسب Mean ±SE بیان شده است.

ناحیه پنهان به صورت معنی دار افزایش یافته و در غلظت ۱۰ میکرو مولار به حداکثر می رسد ( ناحیه پنهان ۳۴/۱ میلی ثانیه افزایش یافت). در صورتی که در سرعت های آهسته ضربانات دهلیزی (۲۸۰ میلی ثانیه ) تنها در غلظتهای بالا اثرات سیمواستاتین به حد معنی دار رسیده و حداکثر این اثرات در غلظت ۱۰ میکرومولار به ۲۲/۵ میلی ثانیه می رسد که بیانگر آن است که تاثیر سیمواستاتین وابسته به سرعت بوده و در سرعتهای بالا و در غلظتهای نزدیک به ۱۰ میکرو مولار در لیتر به حداکثر می رسد (جدول ۳ و شکل ۴). همچنین اندازه گیری زمان تحریک نا پذیرگی دهلیزی نشان داد که سیمواستاتین می تواند در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش غیر معنی دار زمان تحریک نا پذیرگی دهلیزی گردید (جدول ۴).

### بحث

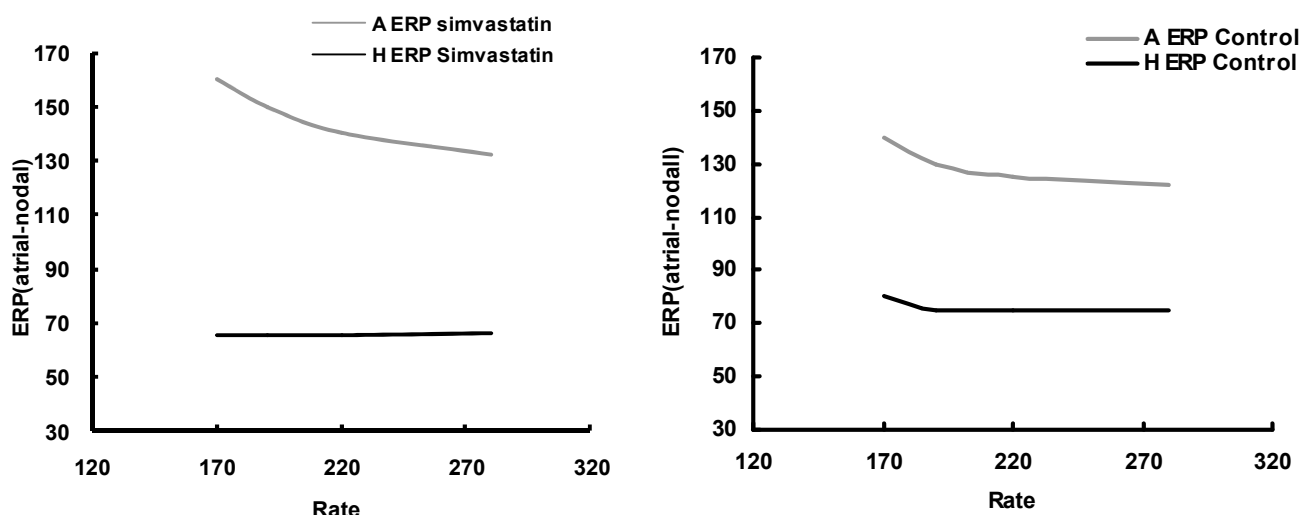
نتایج تحقیق حاضر بیانگر اثرات واضح محافظتی گره ای سیمواستاتین در غلظت های بالا (۳ و ۱۰ میکرومولار) بوده که این اثرات به صورت افزایش فاصله انقباضات متوالی بطنها و افزایش زمان تحریک نا پذیرگی کارکردی و زمان ونکباخ ظاهر می شود. کاهش سرعت بطنها در هنگام وقوع فیبریلاسیون دهلیزی توسط سیمواستاتین بیانگر نقش ضد آریتمی سیمواستاتین در کاهش و یا خاتمه آریتمی های گره ای می باشد. همچنین سیمواستاتین توانست در یک مدل وابسته به

و شکل ۳) در غلظت ۱۰ میکرو مولار می باشد. جهت مشخص کردن ارتباط بین اثرات سیمواستاتین بر روی ناحیه پنهان و تعیین آنکه آیا این اثرات عمدتاً به علت کاهش تحریک نا پذیرگی دهلیزی و یا افزایش تحریک نا پذیرگی گره ای می باشد و همچنین جواب به این سوال که آیا تاثیر سیمواستاتین وابسته به سرعت آریتمی است یا خیر پروتکل هدایت پنهان در سرعت های مختلف تحریکات پایه انجام گرفت (جدول ۳). در این پروتکل با سرعت های پایه مختلف نمونه تحریک شده و سپس با استفاده از سیگنال های آزمایشی در هر سرعت زمان تحریک نا پذیرگی گره ای و دهلیزی و اختلاف آن (ناحیه پنهان) اندازه گیری شد. نتایج تحقیق نشان می دهد که هر چه سرعت تحریکات پایه بیشتر باشد اثرات سیمواستاتین در افزایش ناحیه پنهان بالاتر است. به صورتی که مطابق شکل چهار و جدول سه در سرعت های تحریکی ۱۵۰ میلی ثانیه از غلظتهای بیشتر از ۰/۵ میکرومولار سیمواستاتین

**جدول ۴-** اثرات وابسته به سرعت سیمواستاتین بر روی زمان تحریک نا پذیرگی دهلیزی در سرعت ضربانات پایه (۱۵۰ میلی ثانیه)

غلظت (میکرو مولار)	AERP(msec)
کنترل	۶۷/۵ ± ۵/۶
سیمواستاتین ۰/۵	۷۴/۲ ± ۶/۳
سیمواستاتین ۰/۸	۷۷/۱ ± ۷/۱
سیمواستاتین ۱	۷۰/۷ ± ۴/۱
سیمواستاتین ۳	۷۳/۵ ± ۳/۴
سیمواستاتین ۱۰	۹۳/۷ ± ۱۴/۳

AERP: زمان تحریک نا پذیرگی دهلیزی



شکل ۴- اثرات سیمواستاتین ۳ میکرومولار در افزایش زمان تحریک ناپذیری گره ای و دهلیزی و اختلاف آن در سرعت های مختلف تحریکات پایه.

AERP: تحریک ناپذیری دهلیزی

H ERP: تحریک ناپذیری گره ای

در حالت کنترل با افزایش سرعت ضربانات پایه زمان تحریک ناپذیری افزایش یافته و این تاثیر در سرعت ضربانات ۱۷۰ میلی ثانیه به حداکثر می رسد. سیمواستاتین توانست در سرعت ۱۷۰ میلی ثانیه فاصله بین تحریک ناپذیری دهلیزی و گره ای (هدایت پنهان) را به صورت معنی دار افزایش دهد.

کاهش ضربانات بطن ها و تقویت نقش محافظتی گره دهلیزی - بطنی در هنگام وقوع فیبریلاسیون دهلیزی می شود. مطالعات قبلی نشان دادند که مسیر آهسته می تواند به عنوان خاستگاه آناتومیکی پیدایش تحریک ناپذیری گره ای مطرح شود. آقای رید و خلیفه نشان دادند که بعد از سوزاندن دقیق و اختصاصی مسیر آهسته در خرگوش زمان تحریک ناپذیری کارکردی افزایش معنی دار پیدا می کند [۸،۱۴]. بنا براین با توجه به اثرات قاطع وابسته به غلظت بر روی افزایش زمان تحریک ناپذیری و همچنین با توجه به اثرات سیمواستاتین در افزایش زمان هدایت گره ای حداکثر (AH max) به عنوان یک شاخص هدایت در مسیر آهسته می توان نتیجه گیری کرد که سیمواستاتین احتمالاً با تاثیر بر روی مسیر آهسته سبب آهسته کردن ضربانات بطن ها در طول آریتمی می شود. همچنین طولانی شدن فاصله دو انقباض بطنی با سوزاندن اختصاصی مسیر آهسته در انسان بیانگر نقش مسیر آهسته در جواب بطن ها در طول فیبریلاسیون دهلیزی است. مطالعات مختلفی در انسان نشان داده است که مسیر آهسته، مسیر غالب در کنترل ضربانات بطنی در طول فیبریلاسیون دهلیزی است. در صورتیکه سوزاندن مسیر سریع در انسان بندرت منجر به کنترل ضربانات بطن ها می گردد [۴،۵] از طرفی داروهای بلوکه کننده کانال کلسیم مانند دلتیازم می تواند از طریق تاثیر

سرعت سبب افزایش تحریک ناپذیری گره ها گردد ولی فقط در غلظتهای بالا سبب افزایش هدایت گره ای شد. همچنین سیمواستاتین توانست با افزایش زمان تحریک ناپذیری دهلیزی آستانه گسترش فیبریلاسیون دهلیزی را افزایش دهد. جواب بالینی بطن ها در فیبریلاسیون دهلیزی مشخصاً به صورت فواصل نامنظم بطنی ظاهر می شود اگر چه دلیل اصلی این آشوب مشخص نیست ولی دو مکانیسم در ایجاد آن موثر است: ۱- پدیده هدایت پنهان و ناحیه پنهان در گره دهلیزی-بطنی ۲- زمان تحریک ناپذیری گره ای. بر اساس تئوری هدایت پنهان گره دهلیزی بطنی مانند محل گذری است که بسته به خاصیت تحریک ناپذیری گره ونحوه ورود امواج بصورت تصادفی اجازه عبور امواج را به بطن ها می دهد [۲]. سوال اساسی این است که سیمواستاتین با تاثیر بر روی کدامیک از دو پارامتر فوق توانسته است سبب کاهش ضربانات بطن ها در هنگام فیبریلاسیون دهلیزی در آزمایش حاضر باشد. با نگاهی به نتایج تحقیق متوجه می شویم که سیمواستاتین توانست در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر و زمان ونکباز گردد که هر سه پارامتر فوق به عنوان شاخص تحریک ناپذیری گره ای شناخته می شوند [۱]. بنا بر این می توان این نظریه را مطرح کرد که سیمواستاتین از طریق تاثیر بر روی شاخص تحریک ناپذیری گره ای سبب



مدل وابسته به سرعت با افزایش ناحیه پنهان سبب کاهش ضربانات بطن ها در هنگام تاکی آریتمی فوق بطنی شود در صورتیکه سیمواستاتین نتوانست الگوی هدایت پنهان را تغییر دهد (شکل ۴). بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که سیمواستاتین در یک مدل وابسته به سرعت آریتمی عمل می کند یعنی می تواند در سرعت های بالای تحریک اثرات بیشتری در کاهش ضربانات بطن ها و کنترل آریتمی داشته باشد. این الگوی الکتروفیزیولوژیک شبیه اثرات بلاک کننده های کانال کلسیم و آجمالین [۹،۱۶] در جلوگیری و خاتمه آریتمی های فوق بطنی است.

این تحقیق برای اولین بار توانست نقش محافظتی سیمواستاتین را در یک مدل وابسته به غلظت و سرعت در زمان فیبریلاسیون دهلیزی ثابت کند. مکانیسم اثرات سیمواستاتین از نظر الکتروفیزیولوژیک تاثیر مستقیم بر روی دهلیزها در زمان تحریک ناپذیری دهلیزی داشت. مطالعات بیشتر با استفاده از مدل های ریاضی جهت تعیین اثرات این دارو در زمان تاکی آریتمی های فوق بطنی و همچنین در جهت مکانیسم سلولی آن بر روی گره دهلیزی - بطنی لازم می باشد.

#### سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری و دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت تصویب و در اختیار گذاشتن اعتبار، آزمایشگاه تحقیقاتی الکتروفیزیولوژی مرکز تحقیقات قلب و عروق جهت انجام آزمایشات و شرکت داروسازی آریا تهران جهت در اختیار قرار دادن سیمواستاتین مورد استفاده در طرح فوق تشکر و قدر دانی می گردد.

بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک مسیر آهسته سبب کاهش ضربانات بطنها و افزایش ناحیه پنهان در گره شود [۱۶]، بنابراین از کلیه این یافته ها میتوان مکانیسم اثرات سیمواستاتین را از طریق نقش مهاری آن در سلول های ناحیه ترانزیشنال خلفی گره و یا مسیر آهسته نسبت داد. مطالعات بیشتر با استفاده از تکنیک های سوزاندن گره ای و ثبت داخل گره ای جهت تعیین اثرات سیمواستاتین بر روی گره دهلیزی - بطنی جهت مشخص شدن مکانیسم دقیق اثرات این دارو نیاز می باشد [۱۶]. در ارتباط با نقش هدایت پنهان و اهمیت آن در کنترل تعداد ضربانات بطن ها در طول آریتمی در انسان مطالعات مختلفی از چهل سال قبل آغاز شده است [۱۰]. افزایش در هدایت پنهان و ناحیه پنهان می تواند سبب افزایش تحریک ناپذیری و آهسته شدن سرعت ضربانات بطن ها در هنگام آریتمی شود. سوزاندن مسیر آهسته می تواند منجر به پهن شدن ناحیه پنهان و کاهش ضربانات بطن ها شود. نقش مسیر سریع در مکانیسم ایجاد هدایت پنهان ناشناخته باقی مانده است [۱۱،۱۹]. در مطالعه حاضر تقویت نقش حفاظتی گره در ارتباط با افزایش ناحیه پنهان در یک مدل وابسته به غلظت و سرعت بود و هدایت پنهان تحت تاثیر سیمواستاتین تغییر چندانی نکرد. با استفاده از سرعت های مختلف پایه ناحیه پنهان در گره مشخص گردید. نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش سرعت تحریکات پایه ناحیه پنهان افزایش یافته و همچنین سیمواستاتین می تواند تاثیر بیشتری در افزایش ناحیه پنهان در یک مدل وابسته به غلظت ایجاد کند (شکل ۴). نتایج یکسانی با استفاده از دیتلیازم در انسان به دست آمده است [۱۶] بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که سیمواستاتین نیز می تواند در غلظت های بالا (۱۰-۱ میکرو مولار) در یک

## References

- [1] Billette J, Nattel S. Dynamic behavior of the atrioventricular node: a functional model of interaction between recovery, facilitation, and fatigue. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1 (1994)90-102.
- [2] Blanck Z, Dhala AA, Sra J, Deshpande SS, Anderson AJ, Akhtar M, Jazayeri MR. Characterization of

atrioventricular nodal behavior and ventricular response during atrial fibrillation before and after a selective slow-pathway ablation. *Circulation* 4 (1995)1086-94.

- [3] Blurton DJ, Dubin AM, Chiesa NA, Van Hare GF, Collins KK. Characterizing dual atrioventricular nodal physiology in pediatric patients with atrioventricular nodal reentrant tachycardia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 6 (2006) 638-44.

- [4] Chen SA, Chiang CE, Tai CT, Lee SH, Chiou CW, Ueng KC, Wen ZC, Chang MS. Transient complete atrioventricular block during radiofrequency ablation of slow pathway for atrioventricular nodal reentrant tachycardia. *Am J Cardiol* 77 (1996) 1367- 70.
- [5] Feld GK, Fujimura O, Fleck PR, Bahnson TD, Prothro DL, Boyce K, Henjum SC. Radiofrequency catheter ablation of the AV node for control of rapid ventricular response to atrial fibrillation. *Circulation* 88 (1993) (suppl I): I-584.
- [6] Garrigue S.X, Mazgalev. T.N. Role of the AV Nodal inputs for Modulation of the ventricular Rate during atrial fibrillation. In: Atrial-AV Nodal Electrophysiology: A view from the Millennium. Mazgalev T.N, Tchou. P.J. *Futura publishing company Armonk*. NY (2000) PP: 269-273.
- [7] Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Lipid-lowering therapy with statins, a new approach to antiarrhythmic therapy. *Pharmacol Ther* 114(1) (2007) 107-126.
- [8] Khalife K, Billette J, Medkour D, Martel K, Tremblay M, Wang J, Lin LJ. Role of the compact node and its posterior extension in normal atrioventricular nodal conduction, refractory and dual pathway properties. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 11 (1999) 1439-51.
- [9] Khor V, Nayebpour M, Rakhshan E, Mirabbasi A. The Role of Nitric Oxide synthase enzyme inhibitor on antiarrhythmic effects of Crocus Sativuse on isolated rabbit atrioventricular Node. *J of Guilan university of medical sciences* 16 (2007) 1-10.
- [10] Langendorf R, Pick A, Edelist A, Katz LN. Experimental demonstration of concealed AV conduction in the human heart. *Circulation* 3 (1965)386-93.
- [11] Liu S, Olsson SB, Yang Y, Hertervig E, Kongstad O, Yuan S. Concealed conduction and dual pathway physiology of the atrioventricular node. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2 (2004)144-9.
- [12] Moe GK, Rheinboldt W. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J* 67(1964) 200-22.
- [13] Moore EN: Microelectrode studies on concealment of multiple premature atrial responses. *Circ Res* 18 (1966) 660-672.
- [14] Reid MC, Billette J, Khalife K, Tadros R. Role of compact node and posterior extension in direction-dependent changes in atrioventricular nodal function in rabbit. *J Cardiovasc Electrophysiol* 12 (2003)1342-50.
- [15] Rosenson RS. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 1 (2004) 1-12.
- [16] Talajic M, Nayebpour M, Jing W, Nattel S. Frequency-dependent effects of diltiazem on the atrioventricular node during experimental atrial fibrillation. *Circulation* 2 (1989) 380-9.
- [17] Vaquero M, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Tamargo J, Delpón E. Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. *J Mol Cell Cardiol* 45 (2007) 931-45.
- [18] Xia Zheng, Shen-Jiang Hu. Effects of simvastatin on cardiodynamic responses to ischemia reperfusion in isolated rat hearts. *Heart vessels*. 21 (2006) 116-123.
- [19] Xu B, Billette J, Lavallée M. Concealed conduction in nodal dual pathways: depressed conduction, prolonged refractoriness, or reset excitability cycle? *Heart Rhythm* 2 (2006) 212-21.