



Acute direct effects of cyclosporine on extracellular field potential of isolated rabbit AV node during experimental atrial fibrillation

Vahid Khori¹, Sepideh Shariatnezhad¹, Ali Mohammad Alizadeh², Hamidreza Yazdi¹, Mona Pourabouk¹, Fakhri Badaghabadi¹, Maryam Rajaei¹, Hamidreza Moheimani¹, Saeed Saleki¹, Mohsen Nayebpour^{3*}

1. Golestan Cardiovascular Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
2. Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Dept. Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 4 Jul 2011

Accepted: 6 Nov 2011

Abstract

Introduction: Previous studies have indicated a relationship between MPTP pore and AV nodal rate-dependent properties. The aim of present study was to determine acute direct effects of cyclosporine on extracellular field potential of isolated rabbit AV node during experimental atrial fibrillation.

Methods: In one group of male New Zealand rabbits (1.5-2.5 kg) cumulative concentrations of cyclosporine (0.5 – 10 μM) were applied on isolated perfused atrio-nodal preparation (n=7). Extracellular field potential recording was sampled during specific stimulation protocols (recovery, zone of concealment and atrial fibrillation) in the presence of drug on electrophysiological properties of AV-node.

Results: Cyclosporine significantly decreased the ventricular rate (HH mean) from 231.8 ± 5.7 to 277.4 ± 14.6 msec and functional refractory period during AF (AF FRP) from 138.3 ± 7.5 to 161.2 ± 10.31 msec in control and treated groups, respectively. Effective refractory period during AF (AF ERP) was significantly decreased by cyclosporine 10 mM compared to control group ($p < 0.05$).

Conclusion: Cyclosporine-evoked slowing ventricular heart rate during AF was induced by increasing functional refractory period and ZOC. A possible mechanism can be through blocking of MPT pores.

Key words: Atrio-ventricular node, Cyclosporine, mitochondrial permeability transitional pores, atrial fibrillation

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

اثرات حاد مستقیم سیکلوسپورین بر روی ثبت پتانسیل خارج سلولی میدانی گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش در طی فیبریلاسیون دهلیزی آزمایشگاهی

وحید خوری^۱، سپیده شریعت نژاد^۱، علی محمد علیزاده^۲، حمیدرضا یزدی^۱، منا پورابوک^۱، فخری بداع آبادی^۱، مریم رجائی^۱،
حمیدرضا مهیمنی^۱، سعید سالکی^۱، محسن نایب پور^{۳*}

۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان

۲. مرکز تحقیقات کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۳. گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

پذیرش: ۱۵ آبان ۹۰

دریافت: ۱۳ تیر ۹۰

چکیده

مقدمه: مطالعات قبلی نشان داد که خواص وابسته به سرعت گره در ارتباط با منافذ بینابینی نفوذپذیر میتوکندری (MPTP) می باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات حاد مستقیم سیکلوسپورین بر روی ثبت پتانسیل خارج سلولی میدانی گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش در طی فیبریلاسیون دهلیزی آزمایشگاهی می باشد.

روش ها: در یک گروه از خرگوشهای نر نژاد نیوزیلندی (۱/۵-۲/۵ کیلوگرم)، غلظت های تراکمی سیکلوسپورین (۱۰-۰/۵ میکرومولار) به کار برده شد (n=7). ثبت پتانسیل خارج سلولی میدانی در طی پروتکل های تحریکی اختصاصی (ریکاری، ناحیه پنهان و فیبریلاسیون دهلیزی) در حضور دارو بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره ی دهلیزی بطنی انجام شد. تمام نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است.

یافته ها: سیکلوسپورین به صورت معنی دار HHmean (میانگین فاصله بین دو ثبت متوالی از دسته) را از $231/8 \pm 5/7$ به $277/4 \pm 14/6$ میلی ثانیه و زمان تحریک ناپذیری کارکردی (AF FRP) را از $138/3 \pm 7/5$ به $161/2 \pm 10/31$ میلی ثانیه در گروه کنترل و دارو به ترتیب افزایش داد. زمان تحریک ناپذیری موثر (AF ERP) به صورت معنی داری توسط سیکلوسپورین کاهش یافت ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: سیکلوسپورین از طریق افزایش ناحیه ی پنهان و تحریک ناپذیری گرهی سبب کاهش سرعت ضربانات بطنی در طول فیبریلاسیون دهلیزی می شود. مکانیسم احتمالی می تواند از طریق انسداد منافذ MPTP باشد.

واژه های کلیدی: گره دهلیزی -بطنی، منافذ بینابینی نفوذپذیر میتوکندری، سیکلوسپورین، فیبریلاسیون دهلیزی

مقدمه

تاکیکاردی چرخشی دهلیزی-بطنی و فیبریلاسیون دهلیزی است که در بالغین شیوع بیشتری دارد. میزان شیوع فیبریلاسیون دهلیزی ۱/۵-۲٪ در سرتاسر جهان میباشد. مطالعات پایه در (The United States of America) US نشان می دهد که فیبریلاسیون دهلیزی (AF) در بزرگسالان تا سال ۲۰۵۰ به ۳-۲/۵٪ می رسد [۱۰]. مطالعات نشان داده اند

یکی از شایعترین انواع تاکیکاردی های فوق بطنی،

vaph99@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

مواد و روش ها

در آزمایش های انجام شده از خرگوش های نر نژاد نیوزلندی انیستیتو پاستور در محدوده وزنی ۱/۵ تا ۲/۵ کیلوگرم استفاده شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت گردید. نگهداری حیوانات، تغذیه، بیهوشی و جراحی و نحوه جدا کردن و قرار دادن نمونه در محفظه و پرفیوژن نمونه بافتی مطابق آزمایشات قبلی انجام داده شد [۴]. بطور خلاصه بعد از قرار دادن نمونه در محفظه توسط الکتروود تک قطبی از نواحی گره سینوسی - دهلیزی، کریستاتر مینالینس، سپتوم بین دهلیزی و دسته هیس ثبت خارج سلولی پتانسیل میدانی با استفاده از الکتروود نقره پوشش دار تفلونی با قطر ۱۰۰ میکرون و با فیلترهای گذر بالا و پائین (۱/۱۰۰-۱۰۰ KHz) و تقویت تا حد ۱۰۰۰۰ برابر با استفاده از آمپلی فایر ISODAM6 (WPI.Co) و سرعت ضربانات پایه قلب مشخص شد. سپس به کمک الکتروود تحریکی دو قطبی پلاتینیوم-ایریدیوم (AMI.Co) با قطر ۱۰۰ میکرون که در حاشیه گره سینوسی -دهلیزی در دهلیز راست قرار گرفت، قلب با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربانات قلب تحریک و پروتکل های تحریکی اجرا گردید.

سیکلوسپورین مورد استفاده در این طرح از شرکت داروسازی زهراوی تهران تهیه گردید. حلال مورد استفاده جهت حل کردن سیکلوسپورین محلول ۰/۰۱% دی متیل سولفواکساید (DMSO) (تهیه شده از شرکت نمونه واقع ایران) بود. اثرات حلال مورد نظر در آزمایشی جداگانه (N=3) بر روی پارامترهایی مانند تحریک ناپذیری و ونکباخ و فیبریلاسیون دهلیزی و هدایت پنهان بررسی شد و در غلظت مورد نظر هیچ تأثیری بر خواص گره ی دهلیزی-بطنی نداشت. دارو به صورت تازه در روز آزمایش تهیه و به صورت تراکمی به محلول اصلی کربس هنسلیت اضافه می گردید.

پروتکل های تحریکی مورد استفاده در این مطالعه به دو دسته پروتکل های تحریکی پایه شامل شاخص زمان ونکباخ (WBCL)، زمان تحریک ناپذیری موثر (ERP)، تحریک ناپذیری کارکردی (FRP)، پروتکل ریکاوری (Recovery) و پروتکل های تحریکی شامل فیبریلاسیون دهلیزی و هدایت

که افزایش در ریسک فیبریلاسیون دهلیزی همواره با شکل - های متنوعی از تاکی آریتمی های فوق بطنی همراه است [۱۱].

در طی حملات فیبریلاسیون دهلیزی، گره ی دهلیزی بطنی مانند یک فیلتر عمل کرده و از بطن ها محافظت می کند. این تاثیرات از طریق خواص ذاتی وابسته به سرعت گره، هدایت گرهی، تحریک ناپذیری گرهی و هدایت پنهان انجام می شود. هدایت پنهان عبارت است از تأثیر یک ایمپالس بلوک شده در گره دهلیزی بطنی بر روی خصوصیات الکتروفیزیولوژیک ایمپالس بعدی [۵]. با وجود اهمیت هدایت پنهان و نقش گره ی دهلیزی بطنی در کنترل آریتمی های دهلیزی و ایجاد آریتمی های چرخشی گرهی داروی ایده آل و موثر بر گره ی دهلیزی بطنی برای درمان آریتمی های فوق هنوز شناخته نشده است. همچنین مطالعات بسیاری به نقش کانالهای یونی مختلف بر گره دهلیزی بطنی اشاره کرده اند در حالی که تاکنون مطالعه ای در مورد نقش منافذ MPTP بر این گره انجام نشده است. منافذ MPTP، منافذی بر روی غشای داخلی میتوکندری می باشند که سبب می شوند میتوکندری علاوه بر نقش ضروری خود برای بقای سلولها به یک تنظیم کننده ی مرگ سلولی تبدیل شود. این منافذ می توانند مستقیماً از طریق تولید reactive oxygen species (انواع اکسیژن فعال) و افزایش Ca^{2+} (کلسیم) باز شوند. مطالعات مختلفی بیانگر آن است که باز شدن این منافذ باعث تشدید ناحیه انفارکت ناشی از ایسکمی و ریبریوژن و آریتمی های بطنی می شود و انسداد این منافذ توسط سیکلوسپورین می تواند همراه با کاهش موارد فوق باشد [۶،۱۲]. با وجود این مطالعات نقش این دارو و منافذ MPTP در آریتمی های گره ی دهلیزی-بطنی و مخصوصاً فیبریلاسیون دهلیزی تاکنون مطالعه نشده است. با توجه به نامشخص بودن نقش MPTP در عملکرد گره ی دهلیزی بطنی و مشخص نبودن اثرات سیکلوسپورین به عنوان مهار کننده ی آن در خواص کارکردی گره و در افزایش یا کاهش مکانیسم دفاعی گره در زمان آریتمی، تحقیق فوق با هدف بررسی اثرات حاد مستقیم سیکلوسپورین بر روی ثبت پتانسیل خارج سلولی میدانی گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش در طی فیبریلاسیون دهلیزی آزمایشگاهی طراحی شده است.

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.

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 سرعتهای مختلف. در پروتکل محاسبه ناحیه پنهان: اثرات ضربانات شرطی بر روی ناحیه پنهان توسط یک پروتکل 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 حداقل به مدت ۶۰ دقیقه از نظر جریان عروق کرونر، زمان انتقال دهلیزی - گره ای و شاخص و نکباج پایدار می شد. طراحی آزمایش شامل مراحل کنترل و سیکلوسپورین

پنهان تقسیم شدند. مفاهیم پایه در مقالات گذشته به تفصیل شرح داده شده است [۳،۴]. ولی به طور کلی عبارتند از (شکل ۱):

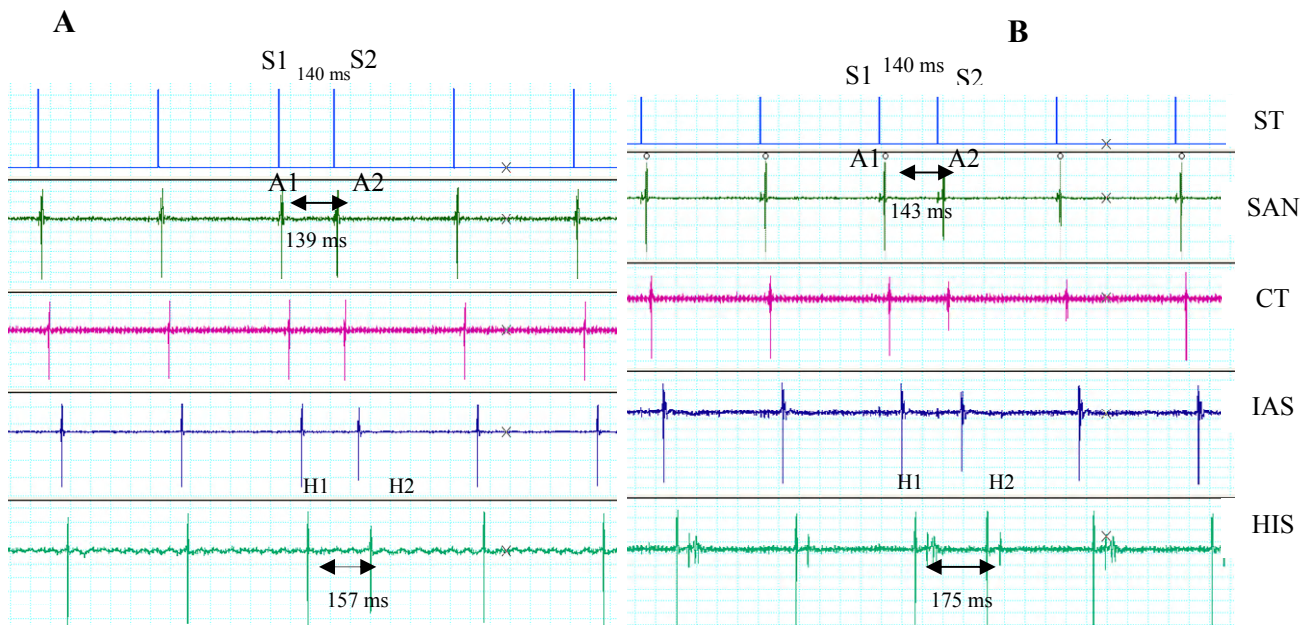
شاخص و نکباج (WBCL): افزایش در سرعت تحریک دهلیزها سبب بلاک درجه سوم دهلیزی - گره ای می شود و شروع بلاک به عنوان زمان و نکباج ثبت شد.

زمان تحریک ناپذیری موثر (ERP): طولانی ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل از آن که به بلوک دهلیزی - گره ای برسد.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی (FRP): کوتاه ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H2) که در طی یک پروتکل تحریکی ریکاوری به دست می آمد.

پروتکل ریکاوری (Recovery): افزایش هدایت گره های در طی تحریکات متوالی و با سرعت زیاد تحریک دهلیزی. در طی این پروتکل بعد از ۱۰ تحریک پایه، یک تحریک نارس به بافت اعمال می شد و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تأخیری به صورت فاصله A2H2 (زمان هدایت) در برابر A1A2 (زمان ریکاوری) رسم شد.

فیبریلاسیون دهلیزی (AF): از پروتکل تحریک تصادفی با سرعت بالا جهت ایجاد فیبریلاسیون دهلیزی توسط رایانه



شکل ۱- توسط الکترود دو قطبی از نواحی مختلف گره دهلیزی - بطنی ثبت گرفته شد که به ترتیب زیر مشخص می گردد. شکل A: ریکاوری کنترل، شکل B: بعد از اضافه کردن غلظت ۱۰ میکرومولار سیکلوسپورین، ST: تحریک، SAN: گره سینوسی دهلیزی، CT: کریستاترینالیس، IAS: سپتوم بین دهلیزی، HIS: دسته هیس، A1A2: زمان تحریک، H1H2: زمان هدایت کارکردی

جدول ۱- اثرات غلظت‌های مختلف سیکلوسپورین بر روی پارامترهای به دست آمده از خواص محافظتی گره در طول اجرای یک پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی. در مقایسه با کنترل $P < 0.05$ * (n=7).

AF _{ERP}	AF _{FRP}	AF _{CC}	HHmax	HHmean	پارامترها (Msec) سیکلوسپورین (میکرومولار)
64.6±7.7	138.3±7.5	777±19.05	535±37.87	231.8±5.7	کنترل
53.6±4.9	133.8±9.6	778.8±35.19	568±67.1	234±12.67	0.5
60.8±5.4	129.8±11.3	802.4±31.5	568.8±22.8	241.2±10.5	1
55±3.8	153.3±17.39	859.8±38.9	629.8±45.19	271±20.21	5
50.4±7.4	161.2±10.31	891.2±33.43*	644.6±49.6	277.4±14.6*	10

HHmean: میانگین فاصله بین دو ثبت متوالی از دسته His، HHmax: حداکثر فاصله بین دو ضربه متوالی از دسته His، AF_{FRP}: دوره تحریک ناپذیری گره در زمان فیبریلاسیون دهلیزی، AF_{CC}: تعداد بیت پنهان در طول اجرای فیبریلاسیون دهلیزی، AF_{ERP}: حداقل فاصله بین دو ضربه متوالی دهلیزی در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی

بود:

میلی ثانیه در غلظت ۱۰ میکرومولار افزایش یافت، همچنین تغییرات زمان تحریک ناپذیری گره ای و ونکباخ به صورت افزایشی بود که در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار معنی دار شد.

اجرای پروتکل‌های آزمایشگاهی فیبریلاسیون دهلیزی و آنالیز یافته‌های آن بر اساس دو پارامتر اصلی یعنی تعداد ضربانات بطن‌ها (میانگین دو ثبت متوالی از هیس) و تعداد ضربانات پنهان در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی اندازه‌گیری شد. حداقل فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس و دهلیزها در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی به ترتیب به عنوان زمان تحریک ناپذیری کارکردی (AF_{FRP}) و زمان تحریک ناپذیری موثر (AF_{ERP}) در طول فیبریلاسیون دهلیزی اندازه‌گیری شد. نتایج تحقیق نشان داد که سیکلوسپورین در یک مدل غیروابسته به غلظت سبب انتقال به راست منحنی توزیع فراوانی ثبت‌های متوالی از دسته ی هیس (توزیع فراوانی ضربانات بطن‌ها) و کاهش در تعداد ضربانات در دقیقه بطن‌ها و افزایش در تعداد ضربانات پنهان می‌شود. این اثرات در غلظت ۱۰ میکرومولار معنی دار شد (جدول ۱ و شکل ۲).

جهت مشخص کردن ارتباط بین اثرات سیکلوسپورین بر روی ناحیه پنهان و تعیین آنکه آیا این اثرات عمدتاً به علت کاهش تحریک ناپذیری دهلیزی و یا افزایش تحریک ناپذیری

(۱) کنترل: انجام پروتکل‌های تحریکی در حضور تیروید

(۲) سیکلوسپورین: اضافه کردن غلظت‌های مختلف ۰/۵، ۱، ۵،

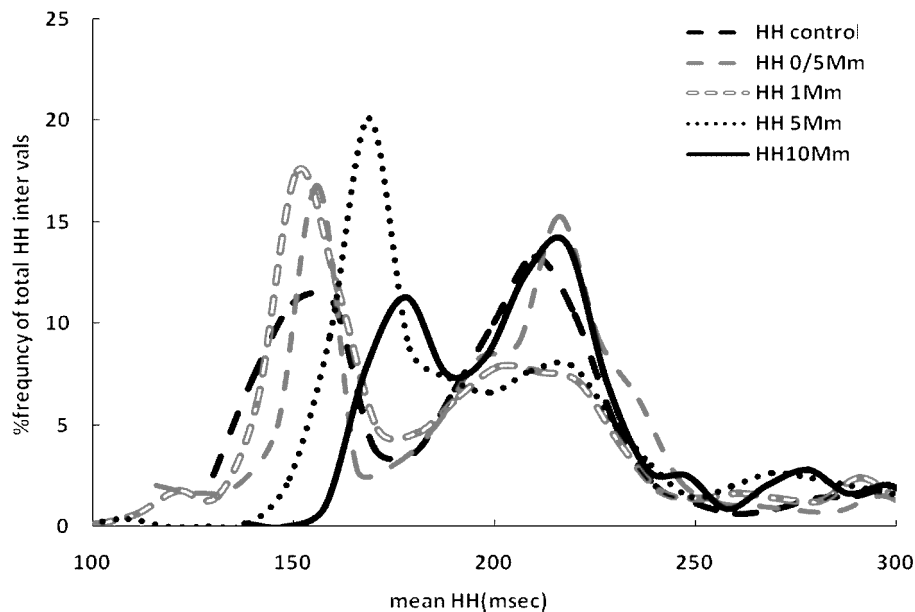
۱۰ میکرومولار به صورت تراکمی در مدار داخلی و سپری شدن ۳۰ دقیقه برای هر غلظت و تکرار پروتکل‌های تحریکی.

تعداد کل نمونه‌های مورد بررسی و آنالیز ۷ نمونه بود.

بعد از تعیین توزیع نرمال و غیر نرمال داده، مقایسه بین میانگین دو گروه با توزیع نرمال با تست تی زوج (Paired t-test) و توزیع غیر نرمال با تست آنالیز واریانس دو طرفه و تست تکمیلی همسنجی شفه انجام شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار (Mean ± SEM) گزارش شد. سطح معنادار در حد $p < 0.05$ انتخاب گردید. نرم افزار استفاده شده Graph pad prism 5 بود.

یافته‌ها

با توجه به اینکه سیکلوسپورین در غلظت ۰/۲ میکرومولار می‌تواند سبب انسداد منافذ افزایش‌دهنده نفوذپذیری میتوکندری شود، در این آزمایش از غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار سیکلوسپورین استفاده شد. بیشترین اثرات سیکلوسپورین در غلظت ۱۰ میکرومولار مشاهده گردید. زمان هدایت در این آزمایش از $57/25 \pm 3/4$ در کنترل به $68/6 \pm 3/2$



شکل ۲- تعداد ضربانات بطن ها (میانگین دو ثبت متوالی از هیس). سیکلوسپورین در یک مدل غیروابسته به غلظت سبب انتقال به راست منحنی HH و افزایش در تعداد ضربانات در دقیقه بطن ها می شود. این اثرات در غلظت ۱۰ میکرو مولار معنی دار شد Mean H-H (msec): میانگین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس، Frequency: (% of total HH interval) درصد فراوانی Mm: میکرومولار

جدول ۲- اثرات غلظتهای مختلف سیکلوسپورین در افزایش ناحیه پنهان (اختلاف بین زمان تحریک تا 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 سیکلوسپورین دیده می شود. در مقایسه با کنترل $P < 0.05$ * (n=7)

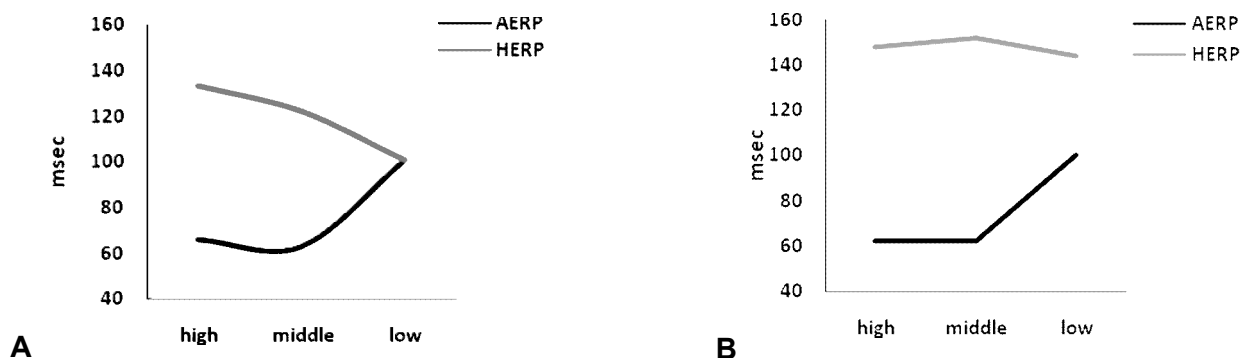
Zone of recovery CL Short (180-160)	Zone of recovery CL Intermediate (230-200)	Zone of recovery CL Long (300- 280)	پارامترها (msec) سیکلوسپورین (میکرومولار)
66.4±23	53±20	31.83±15.55	کنترل
66.4±18.3	89.2±10.3	20.8±14.83	0.5
80±21.4	84.6±22.2	21.4±9.8	1
108.3±12.6	116.5±14.89	30±20.75	5
71.6±12.2	69.33±4.9	12.67±9.8	10

Zone of recovery: اندازه فاصله بلاک ثبت از دسته دهلیز ها (AA) و بلاک زمان هدایت گره ای (AH)، CL: Cycle Length

پنهان) اندازه گیری شد. نتایج تحقیق نشان می دهد که هر چه سرعت تحریکات پایه بیشتر باشد اثرات سیکلوسپورین در افزایش ناحیه پنهان بالاتر است به صورتی که مطابق شکل ۲ و جدول ۲ در سرعت های تحریکی ۱۶۰ میلی ثانیه از غلظتهای بیشتر از ۱ میکرومولار ناحیه پنهان به صورت غیرمعنی دار افزایش یافته و در غلظت ۵ میکرو مولار به حداکثر می رسد و سپس در غلظت ۱۰ میکرو مولار کاهش یافت. در صورتی که

گره ای می باشد و همچنین جواب به این سوال که آیا تاثیر سیکلوسپورین وابسته به سرعت آریتمی است یا خیر پروتکل هدایت پنهان در سرعت های مختلف تحریکات پایه انجام گرفت (جدول ۲).

در این پروتکل با سرعت های پایه مختلف نمونه تحریک شده و سپس با استفاده از تکانه های آزمایشی در هر سرعت زمان تحریک تا پذیرگی گره ای و دهلیزی و اختلاف آن (ناحیه

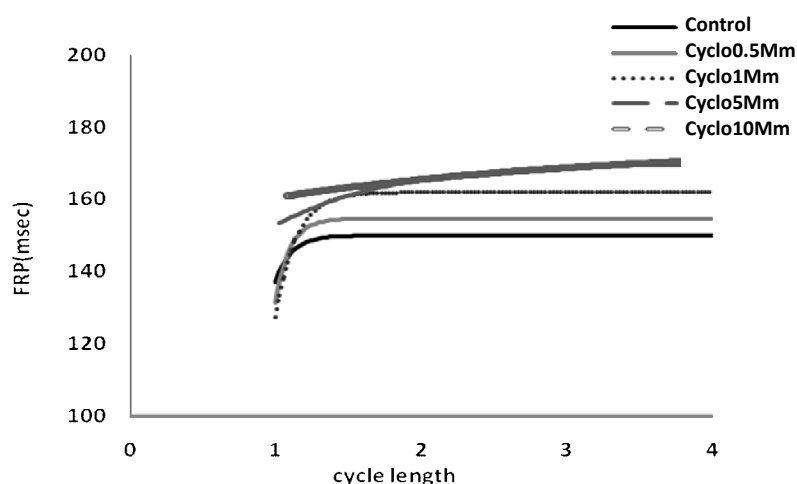


شکل ۳- اثرات سیکلوسپورین (۵ میکرومولار) در افزایش زمان تحریک ناپذیری گره ای و دهلیزی و اختلاف آن در سرعت های مختلف تحریکات پایه. (A): کنترل، (B): سیکلوسپورین (۵ میکرومولار)، AERP: تحریک ناپذیری دهلیزی، HERP: تحریک ناپذیری گره ای، High, middle, low: سرعت

جدول ۳- اثرات سیکلوسپورین در سرعت پایه ضربانات قلبی در افزایش ناحیه پنهان در مقایسه با گروه کنترل. N=7

ZOC	AA	AH	پارامتر (msec) سیکلوسپورین (میکرومولار)
10.57±7.5	60.71±13.65	69.86±15.92	Control
0	59.8±18	59.8±18	0.5
3.2±3.2	46.2±11	49.4±10.74	1
15.57±8.9	69.29±15.93	83.43±20	5

ZOC (HERP-AERP): اختلاف بین زمان تحریک ناپذیری گره ای و زمان تحریک ناپذیری دهلیزی.



شکل ۴- زمان تحریک ناپذیری کارکردی گره در سرعت های مختلف تحریکی (بالا، متوسط و پایین) و در زمان فیبریلاسیون دهلیزی که به صورت حداقل فاصله ی دو ثبت متوالی از دسته ی هیس اندازه گیری شده است. Cyclo: سیکلوسپورین، Mm: میکرومولار، length Cycle: سرعت تحریکات قلبی، ۱: FRP AF، ۲: FRP سرعت بالا، ۳: FRP سرعت متوسط، ۴: FRP سرعت پایین

این دو عامل، جواب متغیر بطن ها را سبب می شود. در تحقیق حاضر اثرات مفید سیکلوسپورین در زمان فیبریلاسیون دهلیزی به علت تغییرات وابسته به سرعت در تحریک ناپذیری گرهی و در همان هنگام در هدایت پنهان و ناحیه ی پنهان اتفاق افتاد. افزایش اثرات سیکلوسپورین در سرعت های بالا در تعیین ناحیه ی پنهان (ZOC) بیانگر خواص وابسته به سرعت این دارو می باشد. تحریکات وارده از طرف دهلیزها می تواند از طریق تغییر سرعت هدایت و تحریک ناپذیری دهلیزی بر روی ناحیه ی پنهان تاثیر بگذارد.

در مطالعه ی حاضر سیکلوسپورین در غلظت ۵ میکرومولار تغییر مشخصی در تحریک ناپذیری دهلیزی ایجاد نکرد. بنابراین افزایش ناحیه ی پنهان عمدتاً به دلیل اثرات دارو در افزایش تحریک ناپذیری گرهی می باشد. این در حالی است که در غلظت ۱۰ میکرومولار، تحریک ناپذیری گرهی به شدت افزایش و در همان زمان تحریک ناپذیری دهلیزی نیز افزایش پیدا کرد، که منجر به عدم افزایش ناحیه ی پنهان نسبت به گروه کنترل شد.

تغییرات وابسته به سرعت در تحریک ناپذیری گرهی در حالت کنترل و بعد از غلظت های مختلف سیکلوسپورین دیده شد. در حالی که تنها در غلظت $10 \mu\text{m}$ افزایش وابسته به سرعت تحریک ناپذیری گرهی توسط سیکلوسپورین دیده شد. بنابراین کاهش ضربانات بطن ها توسط سیکلوسپورین در یک مدل وابسته به غلظت و سرعت، به علت تأثیرات این دارو در افزایش ناحیه ی پنهان و تحریک ناپذیری گرهی می باشد، به صورتی که در غلظت $5 \mu\text{m}$ افزایش ناحیه ی پنهان و در غلظت $10 \mu\text{m}$ افزایش تحریک ناپذیری گرهی سبب کاهش سرعت ضربانات بطن ها گردید.

علت این جواب مختلف می تواند به دلیل تأثیر دارو در کانالهای یونی و خواص غیر فعال غشاء باشد که احتیاج به مطالعات بیشتری در این زمینه دارد.

مطالعه ی قبلی نشان داد که سیکلوسپورین می تواند در یک مدل وابسته به غلظت با تأثیر غیر یکنواخت بر روی مسیر آهسته و سریع سبب افزایش زمان هدایت و تحریک ناپذیری گرهی شود [۴]. با توجه به مطالعات قبلی در ارتباط با اثرات دارو های کلسیم بلاکر و سوزاندن مسیر آهسته در افزایش ناحیه ی پنهان و همچنین با توجه به اثرات اختصاصی دارو در

در سرعت های آهسته ضربانات دهلیزی (280 میلی ثانیه) با افزایش در غلظت سیکلوسپورین میزان ناحیه ی پنهان به طور غیر معنی دار کاهش یافت (جدول ۲ و شکل ۳). نتایج مشابه از اثرات سیکلوسپورین در پروتکل تحریکی هدایت پنهان با وارد کردن یک تحریک پنهان مطابق با جدول ۳ بدست آمد.

همچنین میزان 50 درصد غلظت موثر (EC50) برای زمان تحریک ناپذیری موثر $7-10 \times 10^{-6}$ و برای زمان تحریک ناپذیری کارکردی 10×10^{-6} و برای حداکثر فاصله بین دو ضربه متوالی از دسته هیس 10×10^{-6} به دست آمد.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی گره در سرعت های مختلف تحریکی و در زمان فیبریلاسیون دهلیزی به صورت حداقل فاصله ی دو ثبت متوالی از دسته ی هیس اندازه گیری شده است که با افزایش دوز افزایش یافت (شکل ۴).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سیکلوسپورین در یک مدل وابسته به غلظت سبب اثرات درموتروپیک منفی و کاهش ضربانات بطن ها با مکانیسم افزایش تحریک ناپذیری گره ای و افزایش هدایت پنهان و ناحیه ی پنهان در یک مدل وابسته به سرعت می شود. سرعت ضربانات بطن ها در هنگام تاکی آریتمی های فوق بطنی و فیبریلاسیون دهلیزی نامنظم بوده و تابع دو خصوصیت ویژه ی گره ی دهلیزی- بطنی (تحریک ناپذیری گرهی و ناحیه ی پنهان) می باشد [۱]. در تحقیق حاضر، سیکلوسپورین توانست علاوه بر آهسته کردن سرعت ضربانات بطن ها، الگوی پراکندگی توزیع فراوانی بطن ها را تغییر دهد. مطالعات اثرات سایر دارو ها نشان داده است که داروهای بلاک کننده ی کانال کلسیم و پتاسیم می توانند ضمن کاهش سرعت ضربانات بطن ها سبب تغییر الگوی پراکندگی توزیع فراوانی بطن ها شوند [۱۳]. همچنین سوزاندن مسیر آهسته می تواند سبب زیاد شدن ناحیه ی پنهان و کاهش سرعت ضربانات بطن ها شود [۳]. الگوی دو مسیری در گره ی دهلیزی- بطنی و در مکانیسم ایجاد آریتمی بیشتر از سه دهه ی قبل مشخص شده است که نقش مسیر سریع در مکانیسم پیدایش زمان هدایت و نقش مسیر آهسته به عنوان سوبسترای محل ایجاد تحریک ناپذیری گرهی می باشد [۳]. تعادل بین

مطالعات قبلی نشان داده اند که سیکلوسپورین با وجود کاهش حجم ناحیه ی انفارکت در مدل قلب جدا شده ی موش صحرایی سبب کاهش آریتمی های بطنی ناشی از ایسکمی نمی شود. مطالعات اخیر نشان داده اند که توزیع غیریکنواخت کانکسین ۴۰ و ۴۳ و ۴۵ در نواحی مختلف گره مسئول خواص الکتروفیزیولوژیک منحصر به فرد آن و مرتبط با مکانیسم ایجاد آریتمی های چرخشی گرهی می باشد. کانکسین ۴۳ در نواحی مسیرهای قدامی و خلفی گره ی دهلیزی - بطنی در انسان یافت شده است و توزیع غیر یکنواخت آن در مسیرهای آهسته و سریع بیانگر تفاوت های الکتروفیزیولوژیک در هدایت و تحریک ناپذیری در مسیرهای فوق می باشد [۸، ۲]. همچنین مطالعات مختلفی نشان داده اند که کانکسین ۴۰ و ۴۳ در میتوکندری و غشای سلولی در پاتوفیزیولوژی ایسکمی و ریپرفیوژن قلبی نقش دارند. منافذ میتوکندریایی به عنوان یکی از مراحل داخل سلولی ارتباط بین ایسکمی و کانکسین مطرح می باشد [۹]. بنابراین در مطالعه حاضر سیکلوسپورین می تواند احتمالاً از طریق تنظیمات کانکسین ها بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره ی دهلیزی - بطنی تاثیر داشته باشد. مطالعات بیشتر جهت مشخص شدن مکانیسم دقیق دارو لازم است.

تحقیق حاضر برای اولین بار توانست نقش سیکلوسپورین را در تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک وابسته به سرعت گره در یک مدل وابسته به غلظت در طول فیبریلاسیون دهلیزی نشان دهد. اثرات افتراقی سیکلوسپورین بر روی مسیر آهسته و سریع منجر به افزایش ناحیه ی پنهان و تحریک ناپذیری گره ای در غلظت های متفاوت گردید و اثرات آنتی آریتمی سیکلوسپورین در غلظت بالا (۱۰ μm) مشاهده شد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت تصویب و در اختیار گذاشتن اعتبار جهت انجام طرح تشکر و قدردانی می گردد.

افزایش بیشتر تحریک ناپذیری گرهی نسبت به هدایت گرهی می توان نتیجه گیری کرد که اثرات دارو در افزایش ناحیه ی پنهان عمدتاً به دلیل تاثیر سیکلوسپورین به صورت افتراقی، بیشتر بر روی مسیر آهسته می باشد. مطالعات قبلی نشان داده اند که مسیر آهسته ی گرهی تشکیل دهنده ی قسمت با شیب تند منحنی ریکاوری بوده و از سوبسترای آناتومیک زائده ی خلفی گره (PNE) استفاده می کنند. در صورتی که مسیر سریع تشکیل دهنده ی قسمت صاف منحنی بوده و در قسمت فوقانی گره ی دهلیزی - بطنی تشکیل می شود [۳].

بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که تاثیر دارو در مسیر آهسته یا زائده ی خلفی گره می تواند سبب اثرات اختصاصی دارو در افزایش تحریک ناپذیری و آهسته شدن تعداد ضربانات بطن ها در مطالعه ی حاضر شود. همچنین تاثیر سیکلوسپورین بر منحنی توزیع پراکندگی رفتار بطن ها در طول فیبریلاسیون دهلیزی نشان دهنده ی تغییر الگوی پراکندگی در جهت تاثیر افتراقی سیکلوسپورین بر مسیر آهسته می باشد.

مطالعات قبلی نشان داده اند که در منحنی توزیع پراکندگی قله ی ابتدایی هدایت از مسیر آهسته و قله ی ثانویه هدایت امواج در مسیر سریع را نشان می دهد. بعد از تاثیر سیکلوسپورین منحنی توزیع پراکندگی به سمت راست متمایل شده و در غلظت ۱۰ μm قله ی اول کاهش یافته که بیانگر تاثیر اختصاصی دارو در مسیر آهسته است.

بنابراین به صورت کلی می توان نتیجه گیری کرد که در مطالعه ی حاضر سیکلوسپورین در یک مدل وابسته به غلظت در غلظت های بالا (۱۰ μm) سبب طولانی شدن ضربانات بطن ها و اثرات ضد آریتمی در یک مدل وابسته به سرعت می شود.

مکانیسم اثرات سیکلوسپورین را در ارتباط با مهار کلسینورین فسفاتاز و مهار آنژیوتنز مهار آنزیم سیکلواکسیژناز نوع II می دانند [۷]. با توجه به آنکه در تحقیق حاضر اثرات حاد دارو در نظر گرفته شد و همچنین فقدان لکوسیت ها در نمونه ی قلب جدا شده، می توان نتیجه گیری کرد که اثرات سیکلوسپورین در مهار منافذ mptp و یا مهار آنزیم مکانیسم مؤثر دارو بر روی گره ی دهلیزی بطنی می باشد.

References

- [1] 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*. (1995) 15 91 (4) 1086-94.
- [2] Halina Dobrzynski, Oliver Monfredi, Ian D. Greener, Andrew Atkinson, Shin Inada, Mary-Anne Taube, Joseph Yanni, Olga Fedorenko, Peter Molenaar and Robert H. Anderson, et al. Molecular Basis of the Electrical Activity of the Atrioventricular Junction and Purkinje Fibres. *Heart Rate and Rhythm*. (2011) 3 211-230.
- [3] Khorri V, Alizadeh F, Aminosharie Najafi S, Pourabouk M, Nayebpour M, Salehi A, Shirafkan AA, Saleki S, Badaghabadi F, Davariyan A, Alizadeh AM. Protective effects of simvastatin on atrioventricular node during simulated experimental atrial fibrillation in vitro. *J Physiol Pharmacol*. (2010) 14 (2); 127 -136.
- [4] Khorri V, Shariatnejad S, Alizadeh AM, Yazdi HR, Pourabouk M, Badaghabadi F, Moheimani HR, Changizi SH, rajee M, nayebpour M. Protective role of cyclosporine on the model simulated the rotational nodal arrhythmia (AVNRT) by using extracellular field potential recordings of isolated atrioventricular-node of rabbit. *J physiol pharmacol*. (2011) 15 (2); 249-259.
- [5] M. Rubart and D.P. Zipes, Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest*. (2005) 115; 2305-2315
- [6] Niemann CU, Saeed M, Akbari H, Jacobsen W, Benet LZ, Christians U, Serkova N. Close association between the reduction in myocardial energy metabolism and infarct size: dose-response assessment of cyclosporine. *J Pharmacol Exp Ther*. (2002) 302 (3) 1123-8.
- [7] Rafiee P, Heidemann J, Ogawa H, Johnson NA, Fisher PJ, Li MS, Otterson MF, Johnson CP, Binion DG. Cyclosporin A differentially inhibits multiple steps in VEGF induced angiogenesis in human microvascular endothelial cells through altered intracellular signaling. *Cell Commun Signal*. 2004;2;2(1):3.
- [8] Rottlaender D, Boengler K, Wolny M, Michels G, Endres-Becker J, Motloch LJ, Schwaiger A, Buechert A, Schulz R, Heusch G, Hoppe UC. Connexin 43 acts as a cytoprotective mediator of signal transduction by stimulating mitochondrial KATP channels in mouse cardiomyocytes. *J Clin Invest*. (2010) 120 (5) 1441-53.
- [9] Ruiz-Meana M, Rodríguez-Sinovas A, Cabestrero A, Boengler K, Heusch G, Garcia-Dorado D. Mitochondrial connexin43 as a new player in the pathophysiology of myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. (2008) 77 (2) 325-33.
- [10] Savelieva I, Camm J. Statins and polyunsaturated fatty acids for treatment of atrial fibrillation. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. (2008) 5 (1) 30-41.
- [11] Shiroshita-Takeshita A, Mitamura H, Ogawa S, Nattel S. Rate-dependence of atrial tachycardia effects on atrial refractoriness and atrial fibrillation maintenance. *Cardiovasc Res*. (2009) 81 (1) 90-7.
- [12] Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Saitta A, Campo GM, Arlotta M, Quartarone C, Ferlito M, Caputi AP. Cyclosporin-A reduces leukocyte accumulation and protects against myocardial ischaemia reperfusion injury in rats. *Eur J Pharmacol*. (1999) 364 (2-3) 159-68.
- [13] Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Halperin J, Calkins H, Reddy VY. Rhythm control for management of patients with atrial fibrillation: balancing the use of antiarrhythmic drugs and catheter ablation. *Clin Cardiol*. (2011) 34 (1) 23-9.