



The role of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in the basic and rate-dependent properties of isolated perfused rabbit Atrioventricular Node

Vahid Khoori¹, Mohsen Nayeypour^{2*}, Mohsen Naseri³, Seyedgholamreza Hoseinkhalehjir⁴, Aref Salehi¹

1. Golestan Cardiovascular Research Center, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

2. Dept. Pharmacology, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Dept. Pharmacology, Shahed University, Tehran, Iran

4. Sciences and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 15 July 2007

Revised: 25 Sep 2007

Accepted: 16 Jan 2008

Abstract

Introduction: Ouabaine is a well-known atrioventricular (AV) node depressant agent, but its effects on functional properties of the AV node have not been cleared. The aim of the present study was to determine how ouabaine administration modifies the rate-dependent properties of the AV node.

Methods: Selective stimulation protocols were used to quantify independently electrophysiological properties of the Node. Ouabaine was added directly to superfusion tyrods in a cumulative model (0.05, 0.1, 0.2, 0.25 μM). The same stimulation protocols were repeated before and after ouabaine addition. Comparisons among multiple groups were made by two-way analysis of variance. $P < 0.05$ was considered significant.

Results: Ouabaine decreased fatigue in low concentration (0.05 μM), whereas at high concentrations increased the magnitude of fatigue. Ouabaine (0.2, 0.25 μM) caused significant increase in basic properties of the AV-Node (AVCT, WBCL, ERP, FRP). WBCL was prolonged by ouabaine (0.25 μM) from 147.5 ± 8.9 to 194 ± 13 msec. Also amount of facilitating decreased by 0.2 μM ouabaine from 43.3 ± 5 to 38.8 ± 5 msec.

Conclusion: The paradoxical effects of ouabaine on the fatigue indicate potential role of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in the protective mechanism of the AV-node.

Keywords: Isolated heart, rabbit AV Nod, Ouabaine, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

* Corresponding Author Email: m_nayeb_2000@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

نقش پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی - بطنی جدا شده خرگوش

وحید خوری^۱، محسن نایب پور^{۲*}، محسن ناصری^۳، سید غلامرضا حسینی خاله جیر^۴، عارف صالحی^۱
۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشکده پزشکی فلسفی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان
۲. گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳. گروه فارماکولوژی دانشگاه شاهد، تهران
۴. واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

دریافت: تیر ۸۶ بازبینی: مهر ۸۶ پذیرش: دی ۸۶

چکیده

مقدمه: اتوباتین به عنوان یک عامل مهارگری گره دهلیزی-بطنی شناخته شده است ولی اثرات آن بر روی خواص وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی تاکنون کشف نشده است. هدف تحقیق حاضر این بود که آیا تجویز اتوباتین میتواند خواص وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی را تغییر دهد.

روش ها: تحریکات با مدل های مختلف به صورت مستقل جهت تعیین خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی-بطنی استفاده شدند. اتوباتین در غلظت های مختلف ۰/۲۵، ۰/۱، ۰/۰۵ (میکرومولار) مستقیماً به تیروید اضافه شد. مدل های تحریکات یکسان قبل و بعد از اضافه کردن اتوباتین تکرار شدند. کلیه داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ گزارش شد و مقایسه بین چند گروه به وسیله تست آنالیز واریانس دو طرفه انجام گرفت. $P < 0.05$ به عنوان شاخص معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتایج تحقیق حاضر نشان میدهد که اتوباتین در غلظت کم ۰/۰۵ میکرومولار سبب کاهش معنی دار خستگی گره گردید ولی با افزایش غلظت سبب افزایش معنی دار میزان خستگی شد. اتوباتین (۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار) سبب یک افزایش در پارامترهای پایه گره (زمان هدایت گره ای، ونکباخ، زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر) شد به طوریکه میزان ونکباخ از 8 ± 147 به 13 ± 194 میلی ثانیه در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار رسید همچنین کاهش معنی دار میزان تسهیل از 5 ± 43 به 8 ± 38 میلی ثانیه در غلظت ۰/۲ میکرومولار از دیگر نتایج تحقیق حاضر است.

نتیجه گیری: رفتار متناقض اتوباتین بر روی خستگی بیانگر نقش بالقوه پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در مکانیزم محافظتی گره دهلیزی بطنی است.

واژه های کلیدی: گره دهلیزی-بطنی ایزوله، اتوباتین، پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز

مقدمه

پزشکان قرار گرفتند. عوامل مهمی مانند pH و غلظت پتاسیم و تغییرات سیستم اتونوم در اثرات گلیکوزیدهای قلبی موثر هستند. به همین دلیل مطالعات اثرات این ترکیبات در بافتهای جدا شده قلبی می تواند بسیار مفید باشد [۹]. کاهش pH، افزایش غلظت پتاسیم خارج سلولی، افزایش تحریک واگ و آزاد شدن استیل کولین سبب افزایش زمان هدایت و افزایش زمان تحریک

از زمان کشف فواید گل انگشتانه توسط ویتروینگ گلیکوزیدهای دیژیتال به عنوان یک گروه دارویی مفید در اختیار

* نویسنده مسئول مکاتبات: m_nayeb_2000@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

ناپذیری گره می شود [۲].

خاصیت کاهش هدایت گره دهلیزی - بطنی میتواند بیانگر نقش حیاتی این داروها در کنترل ضربانات بطنی در حین تاقی آریتمی های فوق بطنی و فلوتر دهلیزی باشد. اثرات گلیکوزیدهای قلبی در کاهش هدایت در گره دهلیزی - بطنی از مدتها قبل شناخته شده بود و به همین دلیل ترکیبات دیژیتال در درمان فیبریلاسیون دهلیزی (AF) مورد استفاده قرار گرفتند. آقای Watanabe و Dreifus نشان دادند که گلیکوزیدهای قلبی هیچ اثری بر روی هدایت دهلیزی و هیس - پورکنز ندارند. سپس این دو، اثرات دروموتروپیک منفی (strophanthidin) را ثابت کردند. در غلظت ۱ تا ۳ میکرومولار استروfantیدین می توانست سبب کاهش سرعت افزایش پیک فاز صفر در سرعت های مختلف تحریک شود [۶].

گره دهلیزی - بطنی به عنوان یک مرکز کنترل سرعت ضربانات بطنها در طی تاقی آریتمی عمل می کند. مکانیسم تاخیر در هدایت امواج در طول گره دهلیزی - بطنی (AV) هنوز شناخته شده نیست. در مدل کارکردی (Functional) علت تاخیر در هدایت امواج نقش اختصاصی سه رفتار الکتروفیزیولوژیک ویژه گره شامل ریکاوری، تسهیل و خستگی می باشد [۲]. سه رفتار ریکاوری، تسهیل و خستگی تحت تاثیر عوامل خارجی و ذاتی گره قرار می گیرند و بنابراین با فهم سازوکار این پدیده ها می توان اثرات ضدآریتمی ترکیبات درون زا و داروها را مشخص کرد [۱۶].

در سرعت های پایه سریع زمان هدایت گره ای در یک مدل وابسته به سرعت و زمان به صورت تجمعی طولانی می شود که این اثر را خستگی گره ای می نامند [۱۵]. میزان خستگی گره ای بستگی به سرعت پایه قلبی دارد و با افزایش سرعت میزان خستگی افزایش می یابد [۱۴ و ۱۶]. ساز و کار خستگی همچنان ناشناخته باقی مانده است، بنظر میرسد روند ایجاد خستگی (Fatigue) یک واکنش چند پارامتری باشد لذا مکانیسم های متعدد در ایجاد این پروسه نقش دارد [۱۱]. برای مثال افزایش غلظت آدنوزین آدنوزن [۸، ۱۴]، افزایش غلظت خارج سلولی K^+ [۱۳] و مهار پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز [۵] از مهمترین مکانیسم های ایجاد این پدیده محسوب می شوند [۱]. مطالعات قبلی ما نشان داد که آزادسازی آدنوزین در زمان افزایش سرعت و در اختلالات متابولیک متعاقب ایسکمی قلبی

می تواند یکی از مکانیسم های ایجاد خستگی باشد [۱۴]. در سرعت های مختلف تحریک در دهلیز راست سگ وابسته به سرعت تحریک و تجمع پتاسیم خارج سلولی می باشد که این تجمع می تواند یک اثر منفی بر روی سرعت هدایت شیب فاز صفر بگذارد که علت بوجود آمدن این تجمع پتاسیم خارج سلولی را، نقش پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز می دانند [۱۳].

سابقه استفاده از گلیکوزیدهای قلبی در شناخت مکانیسم خستگی گره دهلیزی - بطنی وجود ندارد. با توجه به اهمیت مدل کارکردی در کنترل آریتمی های قلبی، ناشناخته بودن مکانیسم دقیق ایجاد ریکاوری، تسهیل و خستگی و با توجه به اهمیت پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در رفتار الکتروفیزیولوژیک گره، به نظر می رسد انجام تحقیقی به منظور بررسی مکانیسم ایجاد ریکاوری، تسهیل و خستگی و ارتباط آن با فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در سلول های قلبی ضروری می باشد. با کمک چنین مطالعه ای (که تا کنون انجام نشده است) می توان تصویر واضحی از چگونگی ارتباط متقابل بین خواص وابسته به سرعت (ریکاوری، تسهیل و خستگی) در تعیین رفتار الکترو فیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی ارائه نمود.

مواد و روش ها

در آزمایش های انجام شده از خرگوش های نر نژاد نیوزلندی در محدوده وزنی ۱/۵-۲ کیلوگرم استفاده شد که با هپارین (mg/kg/IV5) و پنتوباریتال سدیم (mg/kg/IV35) پیش درمانی شده و پس از بیهوش شدن توسط ضربه ای به پشت سر کشته شدند. بعد از باز کردن قفسه سینه و قلب جدا شده، گستره بافتی شامل دهلیز راست، نواحی گره دهلیزی-بطنی و سپتوم بین بطنی را از آن جدا شده و به کمک سوزنهایی بر روی یک توری داخل تیرود در مدار داخلی ثابت گردید. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام گرفت، سپس با استفاده از یک کانول پرفیوژن کرومر با فشار ۷۰-۸۰ میلی لیترجیوه و جریان کرومر ۱۰-۱۲ میلی لیتر در دقیقه بر قرار گردید. توسط الکترو دو قطبی از نواحی گره سینوسی -دهلیزی و دسته هیس

از هدایت موج تحریکی ناتوان شده (زمان تحریک ناپذیری موثر) و ثبت از دسته هیس مشاهده نشود. زمان تحریک ناپذیری مؤثر (ERP = effective refractory period): طولانی ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل از آنکه به بلوک دهلیزی - گره‌ای برسیم. زمان تحریک ناپذیری کارکردی (FRP = functional refractory period): کوتاهترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H2) که در طی یک تحریک متوالی به دست می‌آید. قبل از شروع آزمایش قلب‌های مورد نظر باید حداقل به مدت ۳۰ دقیقه از نظر جریان عروق کرونر، زمان انتقال دهلیزی - گره‌ای و شاخص و نکباج پایدار شده باشد. تعیین خستگی گره‌ای: در این مدل تحریکی نمونه بافتی با سرعتی برابر حداکثر ۳۰ میلی ثانیه سریعتر از زمان بلوک (۲:۱) گره‌ای - دهلیزی به مدت ۵ دقیقه تحریک شده و میزان زمان هدایت گره‌ای (AH) در مقابل تعداد تحریکات در یک منحنی رسم می‌شود.

در صورت تغییر معنی دار در هر یک از پارامترهای فوق قلب مورد نظر کنار گذاشته می‌شد. تحریک و نکباج به عنوان شاخص پایداری الکتروفیزیولوژی قلب در طول آزمایش در نظر گرفته شد، و نکباج قبل و بعد از اضافه کردن دارو و در انتهای آزمایش بعد از شستشوی قلب اجرا شد که میانگین تغییرات حاصل نباید از $2 \pm 7/4$ میلی ثانیه تجاوز می‌کرد.

بر اساس آزمایش‌های مقدماتی که در طی آن اثرات غلظت‌های مختلف اتوبائین بر روی زمان و نکباج و زمان هدایت گره‌ای و تعداد ضربانات قلب آزمایش شد، غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، و ۰/۲۵ میکرومولار اتوبائین جهت آزمایشات بعدی انتخاب گردید. طراحی آزمایش شامل مراحل کنترل و دارو بود، در مرحله کنترل تحریکات در حضور تیرود انجام گرفت، سپس اتوبائین با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، و ۰/۲۵ میکرو مولار به مدار اضافه گردید که قبل از شروع آزمایش اتوبائین در تیرود حل شده و سپس محلول حاصل در هر مرحله مستقیماً به تیرود اضافه می‌گردید، روش اضافه شدن غلظت‌های مختلف اتوبائین به صورت تراکمی و در هر مرحله به مدت حداقل ۵۰ دقیقه در تماس با قلب بود ($N=9$).

تمام نتایج به صورت میانگین خطای استاندارد نشان داده شده است. جهت مقایسه بین گروه کنترل و دارو در دو گروه از Wilcoxon signed ranks test و در چند گروه (بعد از تست

ثبت گرفته و سرعت ضربانات پایه قلب را مشخص نموده، و سپس به کمک الکتروود تحریکی که در حاشیه گره سینوسی دهلیزی در دهلیز راست قرار دارد، قلب را با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربانات قلب تحریک کرده و مدل‌های مختلف تحریکات را بعد از تطبیق قلب با محیط جدید (حداقل یکساعت) در عدم حضور و در حضور دارو تکرار کرده و نتایج با هم مقایسه شدند. محلول تیرود اکسیژنه شده توسط اکسیژن (۹۵٪) و دی اکسید کربن (۵٪) با درجه حرارت $37 \pm 0/1$ سانتیگراد و $0/1 \pm$ pH ۷/۴ با حجم ۶ لیتر در یک مدار بسته توسط پمپ پرستالتیک بطور پیوسته بافت را از دو طریق سطحی و کرونر با سرعت ثابت تغذیه می‌کرد. محتوای محلول بر حسب میلی مولار (mM/l) شامل: NaCl (128), KCl (4/7), CaCl₂ (۲), MgCl₂ (1), NaHCO₃ (25), NaH₂PO₄ (۲), (Dextrose 1/11).

مفاهیم پایه عبارتند از: طول چرخه (سیکل) پایه (basic cycle length = BCL): بنا به تعریف طولانی ترین فاصله دو تحریک متوالی که در خلال آزمایش به نمونه مورد نظر وارد می‌شود معمولاً ۳۰-۵۰ میلی ثانیه سریع تر از ضربانات خودبخودی قلب مورد آزمایش انتخاب می‌گردد. طول چرخه (سیکل) نارس (premature cycle): عبارت است از ضربانی که وضعیت گره در هر موقعیت نسبت به آن سنجیده می‌شود که می‌تواند از فواصل تحریکی خیلی زیاد ($\text{basic cycle length} =$) تا خیلی کم (AV-ERP) در نوسان باشد. شاخص و نکباج (Wenckbach cycle length): بنا به تعریف به بلوک درجه سوم دهلیزی - گره‌ای ناشی از افزایش در سرعت تحریک دهلیزها اطلاق شده و شروع بلوک به عنوان زمان و نکباج ثبت می‌شود. تعیین ریکاوری (recovery): در طی این تحریکات بعد از ۱۰ تحریک پایه (BCL) یک تحریک نارس (آزمایشی) به بافت اعمال شده و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تأخیری - به صورت فاصله A2H2 (زمان هدایت) در برابر H1A2 (زمان ریکاوری) رسم می‌شود، هنگامی که یک تحریک تأخیری به گره دهلیزی - بطنی وارد می‌شود گره تحریک فوق را حس کرده و به صورت افزایش در زمان هدایت و کاهش در زمان ریکاوری جواب می‌دهد، به تدریج با پیشرفت تحریکات هرچه فرکانس تحریک نارس بیشتر باشد، زمان هدایت طولانی تر شده تا در نهایت گره دهلیزی - بطنی

جدول ۱- اثرات غلظت‌های مختلف اتوبائین (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ و میکرومولار) بر روی پارامترهای پایه گره دهلیزی بطنی در مقایسه با کنترل $P < 0.05$ * $P < 0.01$

WBCL(msec)	FRP(msec)	ERP(msec)	AH(msec)	
۱۴۷/۵±۸/۹	۱۵۶/۲±۷/۵	۹۸/۲ ± ۱۲/۳	۴۶/۲ ± ۴/۲	کنترل
۱۴۲/۵±۱۵/۶	۱۵۹/۷±۷/۸	۹۹/۴±۴	۴۹± ۴/۹	اتوبائین ۰/۰۵ میکرومولار
۱۵۰±۷/۵	۱۵۶/۷±۷	۹۵±۱۴/۵	۴۸/۵±۴/۲*	اتوبائین ۰/۱ میکرومولار
۱۵۹/۷±۷/۹***	۱۵۹/۷±۸/۵	۹۵/۲±۱۱/۲	۵۰/۲±۴/۵***	اتوبائین ۰/۲ میکرومولار
۱۹۴±۱۳***	۱۶۷/۲±۱۷/۵*	۱۱۶/۷±۱۶*	۵۴/۸±۴***	اتوبائین ۰/۲۵ میکرومولار

WBCL: زمان ونکباخ: ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر: FRP: زمان تحریک ناپذیری کارکردی AH: زمان هدایت گره ای

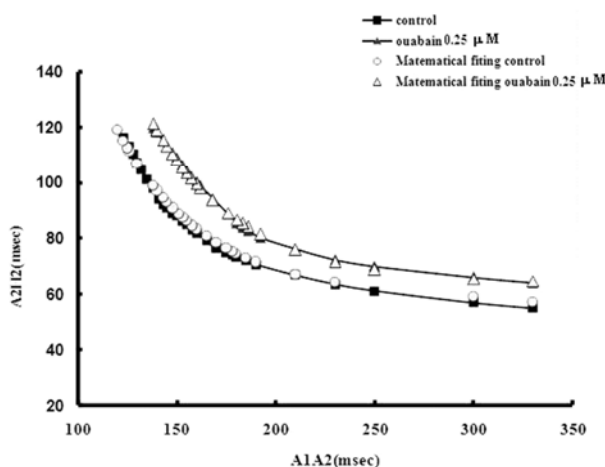
دار منحنی ثابت زمانی ریکاوری (τ) می‌باشد (جدول ۲ و شکل ۲).
 اتوبائین سبب انتقال به سمت بالای منحنی ریکاوری شد (شکل ۱).
 اتوبائین در غلظت ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار سبب افزایش معنی دار WBCL و در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار سبب افزایش معنی دار FRP و ERP گردید (جدول ۱ و شکل ۳).

اتوبائین در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت که در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار سبب کاهش میزان تسهیل گردید که این مقدار در غلظت ۰/۲ کاهش معنی دار یافت (جدول ۳ و شکل ۴).
 همچنین اجرای تحریک خستگی در حضور اتوبائین سبب افزایش میزان خستگی گره‌ای گردید، به طوریکه در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار میزان خستگی به بیشترین مقدار خود رسید که از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۳ و شکل ۵-A).
 اتوبائین در غلظت ۰/۰۵ میکرومولار سبب کاهش میزان خستگی گره‌ای شد (شکل ۵-B) به طوریکه با افزایش غلظت میزان خستگی گره‌ای به صورت کاملاً متضاد شروع به افزایش کرد در حالیکه در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار افزایش معنی دار نشان

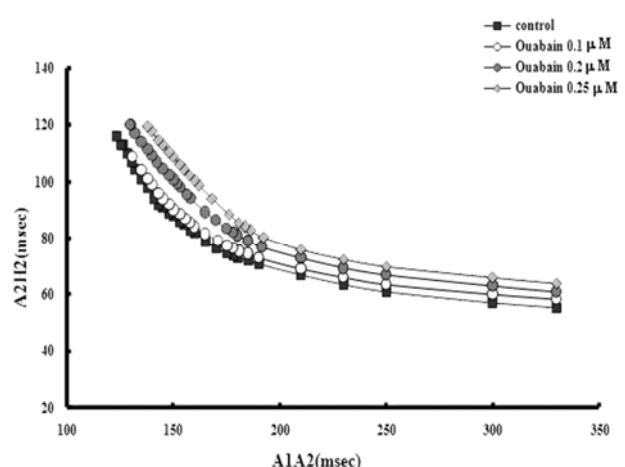
توزیع نرمال و غیرنرمال با استفاده از تست (colmogorov-smirnov) از تست آنالیز واریانس با توزیع غیر نرمال استفاده شد. آنالیز منحنی‌های غیر خطی نیز با کمک نرم افزار Statgraph و تکنیک Marquardt انجام گرفت.

یافته‌ها

اتوبائین در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار سبب مهار پارامترهای پایه و وابسته به سرعت گره گردیده (جدول ۱ و شکل ۱)، همچنین الگوی وابسته به زمان در اثرات اتوبائین دیده شده بدین ترتیب اثرات آن بعد از حدود ۳۵ دقیقه ظاهر و بتدریج در یک محدوده زمانی ۹۰ دقیقه به حداکثر می‌رسد. زمان هدایت حداقل (AHmin) در دوزهای ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$). در صورتیکه زمان هدایت حداکثر (AHmax) افزایش غیر معنی داری نشان داد ($P > 0.05$). همچنین آنالیز منحنی ریکاوری با استفاده از مدل تک توانی (monoexponential) بیانگر افزایش غیر معنی



شکل ۲- روش regression fitting nonlinear با استفاده از تکنیک Marquardt می‌باشد که نشان دهنده دقت داده‌های به دست آمده و تطابق آن با آنالیز ریاضی منحنی ریکاوری است. μM : میکرومولار



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف اتوبائین (۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ و میکرومولار) بر روی منحنی ریکاوری سبب شیفت به سمت بالا ی منحنی ریکاوری شده است. μM : میکرومولار

جدول ۲- اثرات غلظت‌های مختلف اتوبائین (۰/۱، ۰/۲، و ۰/۲۵ میکرومولار) بر روی پارامترهای منحنی ریکواری. در مقایسه با کنترل $P < 0.05$ ، $P < 0.01$

τ_{rec}	AH max(msec)	AH min(msec)	
۳۲/۵±۴/۳	۱۱۶/۵±۹/۱	۴۵/۲±۴/۳	کنترل
۳۷/۹±۶	۱۳۵/۵±۲۰/۳	۴۷/۵±۴/۲	اتوبائین ۰/۱ میکرومولار
۳۲/۴۴±۸/۸	۱۲۶±۱۷/۸	۴۹/۷±۴/۶***	اتوبائین ۰/۲ میکرومولار
۴۱/۲±۸/۲	۹۴/۵±۱۱/۵	۵۳/۲±۲/۵***	اتوبائین ۰/۲۵ میکرومولار

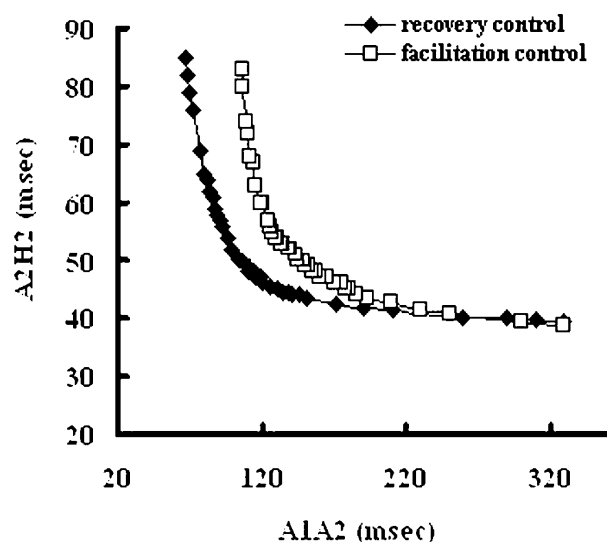
AH min: حداقل میزان هدایت در سرعت‌های آهسته ضربانات قلبی AH max: حداقل میزان هدایت در سرعت‌های سریع ضربانات قلبی τ_{rec} : ثابت زمانی منحنی ریکواری

بحث

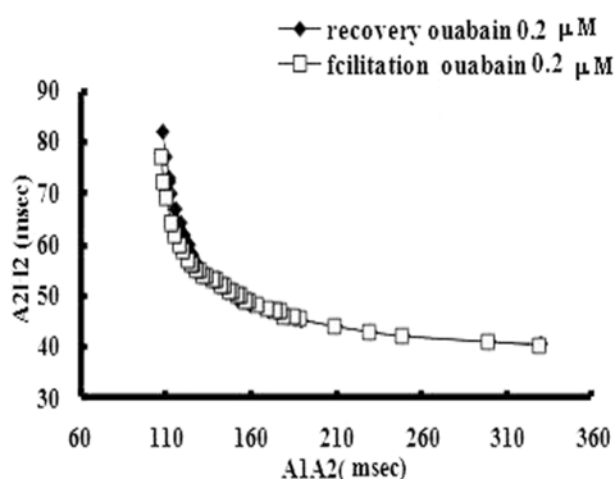
داد (جدول ۳ و شکل ۵-A)

به طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر اثرات مهارى اتوبائین بر روی پمپ سدیم - پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز و تغییر پارامترهای پایه و کارکردی گره دهلیزی بطنی خرگوش میباشد،

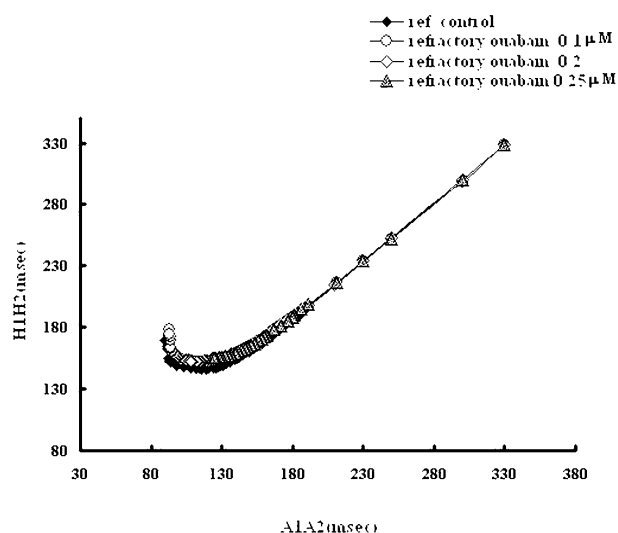
شکل (A)



شکل (B)



اتوبائین توانست رفتار منحنی خستگی را به صورت‌های مختلف مطابق شکل ۶ تحت تاثیر قرار دهد. این تغییرات به صورت یک افزایش همراه با نوسان دیده می‌شود. بررسی اثرات اتوبائین در غلظت‌های مختلف بر روی منحنی خستگی نشان دهنده آن است که اتوبائین در غلظت‌های مختلف می‌تواند توسط الگوهای متفاوت، منحنی خستگی را تغییر دهد. مطابق شکل ۶-B و ۶-C اتوبائین یک رفتار دوگانه بر روی منحنی خستگی نشان می‌دهد، به صورتی که در فاز ابتدایی القای خستگی سبب یک افزایش شدید (شکل ۶-C) و سپس یک کاهش قابل توجه در قسمت صاف منحنی می‌شود. این رفتار در شکل ۶-A و ۶-B در فاز انتهایی خستگی دیده میشود. آنالیز اعداد بدست آمده بین غلظت‌های مختلف اتوبائین (۰/۰۵ تا ۰/۲۵ میکرومولار نتوانست ارتباط معنی داری را بین غلظت‌های مختلف نشان دهد.



شکل ۳- اثرات غلظت‌های مختلف اتوبائین (۰/۱، ۰/۲، و ۰/۲۵ میکرومولار) بر روی منحنی تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی. اتوبائین سبب افزایش در زمان تحریک ناپذیری کارکردی می‌شود. μM : میکرومولار

شکل ۴- اثرات غلظت اتوبائین (۰/۲ میکرومولار) در کاهش تسهیل μM : میکرومولار. شکل (A): منحنی ریکواری کنترل و تسهیل قبل از دارو. شکل (B): منحنی ریکواری کنترل و تسهیل بعد از دارو

جدول ۳- اثرات غلظت های مختلف اتوبائین (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ میکرومولار) بر روی پارامترهای کارکردی (تسهیل و خستگی).

Facilitation (msec)	Fatigue (msec)	
۴۳/۳±۵	۱۳/۵±۳/۲	کنترل
۴۱±۳/۷	۹/۳±۱/۲*	اتوبائین ۰/۰۵ میکرومولار
۳۲/۷±۵/۷	۱۵±۳/۲*	اتوبائین ۰/۱ میکرومولار
۳۸/۸±۵	۲۰/۶±۴**	اتوبائین ۰/۲ میکرومولار
۴۴/۳±۱/۱	۲۳/۵±۲/۵**	اتوبائین ۰/۲۵ میکرومولار

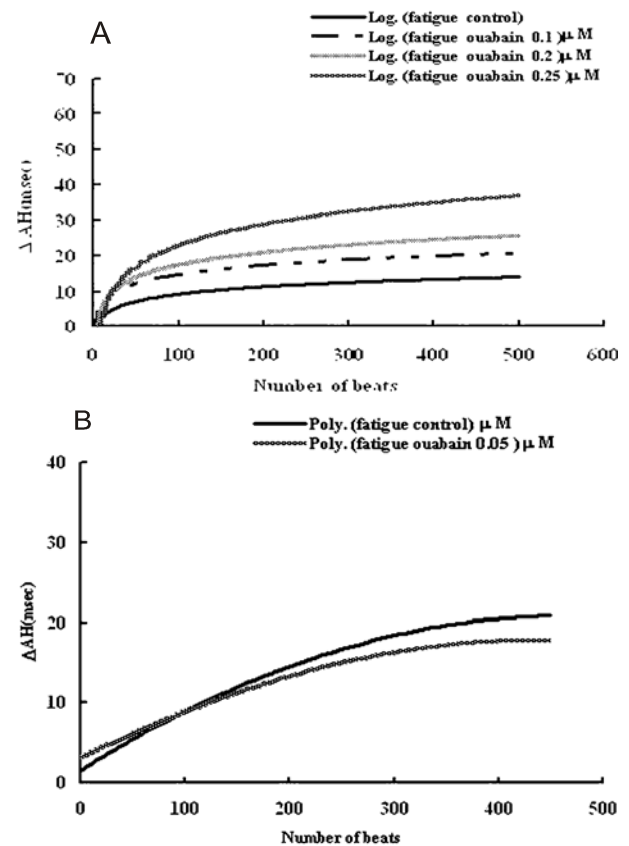
در مقایسه با کنترل $P < 0.05$ * $P < 0.01$ ** Fatigue: میزان خستگی Facilitation: میزان تسهیل بافتی

دیگوکسین بر روی سلولهای پورکنز قلب سگ بر روی متغیر زمان تحریک ناپذیری کارکردی به صورت یک رفتار سه گانه ظاهر می شود. به طوریکه ابتدا یک افزایش مختصر زمان تحریک ناپذیری در ۳۰ دقیقه و سپس یک کاهش شدید در زمان تحریک ناپذیری کارکردی در ۹۰ دقیقه دیده شد کاهش مختصر بعدی ۱۲۰ دقیقه بعد از تماس سلولها با دیگوکسین مشاهده گردید [۹].

آقای مندل طولانی شدن شدید زمان تحریک ناپذیری موثر و کارکردی گره دهلیزی- بطنی را در همین آزمایشات نشان داد [۹]. در مطالعه حاضر نتایج مشابهی بدست آمد بدین صورت که زمان تحریک ناپذیری موثر و ونکباخ در غلظتهای پایین (۰/۱ و ۰/۲) از اتوبائین یک کاهش غیرمعنی دار را نشان داد درحالیکه در غلظت بالا (۰/۲۵ میکرومولار) یک افزایش شدید از خود نمایان ساخت همچنین زمان هدایت یک افزایش تدریجی را در غلظتهای مختلف نمایان ساخت که این یافته با اثر دیگوکسین با غلظت ۰/۱ میکرومولار در مطالعه آقای مندل مطابقت دارد [۹].

مطالعات قبلی نشان دادند که افزایش ضربانات قلب سبب افزایش غلظت پتاسیم خارج سلولی شده و این پدیده مخصوصاً در طول فیبریلاسیون دهلیزی در دهلیزها می تواند سبب تراکم پتاسیم خارج سلولی و دیپولاریزاسیون پتانسیل غشایی گردیده و سرعت افزایش فاز صفر را کاهش دهد. این کاهش سرعت افزایش فاز صفر می تواند به علت غیرفعال شدن کانالهای سدیمی و کاهش ورود سدیم و آهسته شدن روند باز و بسته شدن کانال های کلسیمی نوع L باشد. این تغییرات عمدتاً به علت نقش تضعیف شده پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در هنگام آریتمی می باشد و در ارتباط مستقیم با سرعت ضربانات دهلیزی است [۱۰، ۱۳]. این مطالعه همچنین نشان داد که به مجرد کاهش ضربانات قلب فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز به حالت پایه برگشته و غلظت پتاسیم تعدیل

این اثرات در یک مدل وابسته به سرعت و مسیرهای دوگانه گره و وابسته به غلظت اعمال می گردد. مطالعات قبلی نشان دهنده یک رفتار دوفازی از اتوبائین و ترکیبات دیژیتال بر روی خواص پایه قلبی و اتصالات بین سلولهای قلبی است (Connexin 1,F)). آقای مندل در یک مطالعه نشان داد که اثرات

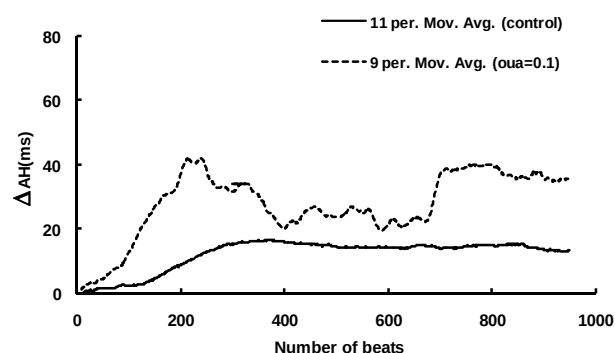
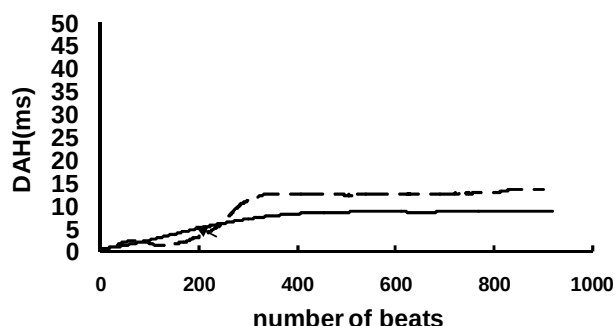
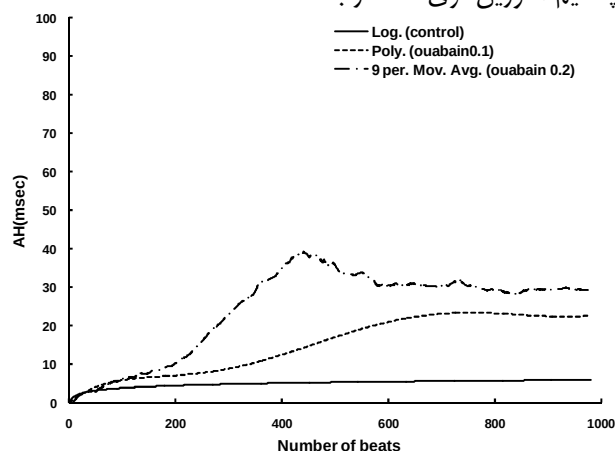


شکل ۵- A: اثرات غلظت های مختلف اتوبائین (۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ میکرومولار) در افزایش خستگی (AH)، اتوبائین سبب افزایش خستگی میشود. Number of beat: تعداد ضربانات اعمال شده در طول اجرای پروتکل خستگی. ΔAH: حداکثر میزان خستگی. μM: میکرومولار. B- اثرات غلظت ۰/۰۵ میکرومولار اتوبائین بر روی منحنی خستگی. اتوبائین در غلظت ۰/۰۵ سبب انتقال به سمت پائین منحنی خستگی شده است. Number of beat: تعداد ضربانات اعمال شده در طول اجرای پروتکل خستگی. ΔAH: حداکثر میزان خستگی μM: میکرومولار

مطالعه آقای واتانابه نشان داد که اثرات گلیکوزوئیدهای قلبی بر روی گره دهلیزی-بطنی به دو صورت است: ۱- اثرات مستقیم در کاهش آمپلیتود و فاز صفر پتانسیل عمل و القاء یک جریان رو به خارج موقتی (ISI) مخصوصاً هنگامی که گره دهلیزی-بطنی توسط ضربانات متعدد در طول فیبریلاسیون دهلیزی قرار گرفته و دیپولاریزه شود. این دو تاثیر می‌تواند بصورت افزایش مقاومت داخل سلولی و متعاقب آن افزایش زمان هدایت در ناحیه سلولهای فشرده در ناحیه گره دهلیزی-بطنی ظاهر شود [۱۷]. بنابراین مکانیزم افزایش خستگی بافتی می‌تواند نقش مشابه اتوبائین در کاهش جریان کلسیم به علت مهار پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز و همچنین اثرات مستقیم این ترکیبات در بلاک کانال کلسیم نوع L دانست [۵]. این یافته آقای واتانابه دقیقاً مکانیزم افزایش میزان خستگی را در مطالعه حاضر توضیح می‌دهد زیرا از جمله مهمترین مکانیزم‌های ایجاد خستگی می‌تواند افزایش مقاومت سلولی به علت افزایش ورود کلسیم داخل سلولی باشد. ۲- همچنین آقای واتانابه افزایش ضربانات قلبی را به علت اثرات گلیکوزیدهای دیژیتال در افزایش جریان‌ها رو به داخل می‌داند این جریان‌ها رو به داخل در گره دهلیزی-بطنی در فیبرهای پورکنز و ماهیچه‌های بطنی سبب ایجاد پتانسیل عملهای تاخیری و آریتمی می‌شوند [۱۷]. جالب آنجاست که در مطالعه حاضر اتوبائین در غلظت ۰/۰۵ میکرومولار توانست به صورت متناقض میزان خستگی را کاهش دهد. در توجیه مکانیزم این یافته می‌توان به نقش متناقض اتوبائین یا به نقش متناقض گلیکوزیدهای دیژیتال در کاهش تحریک ناپذیری کارکردی، کاهش دوره پتانسیل عمل اشاره کرد که می‌تواند به علت تاثیر متفاوت گلیکوزیدهای دیژیتال در افزایش و کاهش ورود کلسیم به داخل سلولهای گره دهلیزی-بطنی باشد.

در تحقیق حاضر اتوبائین توانست میزان تسهیل گره‌ای را کم کند که این اثرات متناسب با غلظت بکار رفته نبود. مکانیزم تسهیل گره‌ای هنوز شناخته شده نیست نقش مسیر آهسته در چگونگی پیدایش تسهیل مطرح می‌باشد [۱۶]. بر این اساس کاهش تسهیل توسط اتوبائین را می‌توان تا حدودی به علت نقش متفاوت اتوبائین در مسیرهای آهسته و سریع گره دهلیزی-بطنی دانست. آقای هگبوم نشان داد که اثرات اتوبائین بیشتر بر روی مسیر آهسته ظاهر می‌شود [۷]. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد اتوبائین به علت اثرات متفاوت بر روی مسیر سریع و آهسته می‌تواند ایجاد کاهش در میزان تسهیل بکند. همچنین مطابق شکل

می‌شود. در مطالعه حاضر نشان داده شد که اتوبائین می‌تواند رفتار وابسته به سرعت گره را تحت تاثیر قرار دهد. بدین صورت که افزایش در مقدار حداکثر میزان خستگی بافتی در یک رابطه وابسته به غلظت در نمونه‌های بکار رفته دیده شد (جدول ۳) (شکل ۵ و ۶) با توجه به آنکه تحریک خستگی گره‌ای در واقع نوعی آریتمی مشابه با فلوتر دهلیزی است که در طی آن قلب با سرعت یکسان و در مدت طولانی تحریک می‌شود بنابراین افزایش میزان خستگی می‌تواند نشان دهنده تاثیر یکسان اتوبائین در افزایش پتاسیم خارج سلولی و مهار پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز باشد.



شکل ۶- رفتار متفاوت منحنی خستگی گره ای بعد از تاثیر غلظت های متفاوت اتوبائین (۰/۱ و ۰/۲ میکرو مولار) در طول اجرای پروتکل خستگی گره‌ای. محور افقی تعداد کل تحریکات در طول اجرای پروتکل خستگی.

تشکر و قدردانی

مجریان تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و گلستان جهت تصویب طرح و در اختیار گذاشتن اعتبار جهت انجام آن می‌نماید.

منابع

- [1] Billette J, Metayer R, St-Vincent M, Selective functional characteristics of rate-induced fatigue in rabbit atrioventricular node. *Circ Res* 62 (1988) 790-9.
- [2] Billette J, Nattle S, Dynamic behavior of the atrioventricular node: a functional model of in interaction between recovery, facilitation and fatigue. *J cardiovasc Electr* 5 (1994) 90-102.
- [3] Chae SW, Wang DY, Gong QY, Lee CO, Effect of norepinephrine on Na-K pump and Na influx in sheep cardiac Purkinje fibers. *Am J Physiol* 258 (1990) C713-C722.
- [4] Diacono J, Dietrich J, Lajoix H, Opposite effects of adrenaline and ouabain on the resting potential of rat atrial cells. *Life sci* 39 (1986) 2541-2550.
- [5] Glttsch HG, Electrophysiology of the sodium-potassium-ATPase in cardiac cells. *Physiol Rev* 814 (2001) 1791-1826.
- [6] Hata T, Watanabe Y: Cellular pharmacology of AV nodal conduction and automaticity. In: Mazgalev TN, Tchou PJ (eds): *Atrial-AV Nodal Electrophysiology. A view from the Millennium*. Armonk: Futura Publishing Co: 2000.121-131.
- [7] Hegbom F, Orning OM, Haldal M, Gjesdal K, Effects of ablation, digitalis, and beta-blocker on dual atrioventricular nodal pathways and conduction during atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 15 (10) (2004) 1141-1146.
- [8] Jenkis JR, Belardinelli L, Atrioventricular nodal accommodation in isolated guinea pig hearts: Physiological significance and role of adenosine. *Circ Res* 63 (1988) 97-116.
- [9] Mandel WJ, Bigger JT, Butler VP Jr, The electrophysiologic effects of low and high digoxin concentrations on isolated mammalian cardiac tissue: reversal by digoxin-specific antibody. *J Clin Invest*

۶ ائوبائین توانست رفتار منحنی خستگی را به صورت‌های مختلف تحت تاثیر قرار دهد این تغییرات می‌تواند تا حدودی بیانگر اثرات متفاوت ائوبائین بر روی نواحی مختلف گره دهلیزی-بطنی باشد. بررسی اثرات ائوبائین در غلظت‌های مختلف بر روی منحنی خستگی نشان دهنده آن است که ائوبائین در غلظت‌های مختلف می‌تواند توسط الگوهای متفاوت، منحنی خستگی را تغییر دهد. به این ترتیب با توجه به اینکه مطالعات قبلی [۱۵] نشان داده‌اند که منحنی خستگی در قسمت صاف منحنی بیانگر هدایت در مسیر آهسته می‌باشد، لذا اثرات ائوبائین عمدتاً بر روی مسیر آهسته صورت می‌گیرد (شکل ۶-۱). مطالعات قبلی نیز بیانگر تاثیر آنالوگ‌های دیژیتال بر روی مسیر آهسته دهلیزی-بطنی بوده‌اند. در شکل فوق افزایش غلظت ائوبائین سبب انتقال منحنی در قسمت صاف (مسیر آهسته) به قسمت بالا و سمت چپ گردیده است. در صورتیکه مطابق شکل ۵-۱ و ۵-۲ ائوبائین یک رفتار دوگانه بر روی منحنی خستگی نشان می‌دهد، به صورتی که در فاز ابتدایی القای خستگی سبب یک افزایش شدید (شکل ۶-۲) و سپس یک کاهش قابل توجه در قسمت صاف منحنی می‌شود. این رفتار در شکل ۵-۱ در فاز انتهایی خستگی دیده می‌شود. چنین تفاوت‌های رفتاری می‌تواند ناشی از تاثیر دوگانه ائوبائین بر مسیرهای مختلف گره‌ای (مسیر آهسته و سریع) و یا به علت افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی در سلول‌های گره دهلیزی-بطنی باشد. این رفتار دوگانه ائوبائین در ایجاد آریتمی‌های بطنی قبلاً نیز دیده شده است [۷].

گلیکوزیدهای دیژیتال در یک مدل وابسته به غلظت می‌توانند از طریق مهار پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز و سایر مکانیزم‌ها، خواص وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی را تغییر دهند این تغییرات به صورت خواص درموتروپیک منفی در گره دهلیزی-بطنی ظاهر می‌شود. اثرات متناقض و وابسته به غلظت ائوبائین در افزایش خستگی می‌تواند نقش مهم پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز را در مکانیزم خستگی گره‌ای مشخص سازد. همچنین تاثیر ائوبائین در کاهش تسهیل گره‌ای می‌تواند رفتار متفاوت ائوبائین را در مسیرهای سریع و آهسته گره‌ای نشان دهد. بهتر است در یک تحقیق جداگانه اثرات ائوبائین در حضور سوزاندن مسیرهای مختلف گره‌ای بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی-بطنی انجام شود با انجام چنین تحقیقی اثرات خالص ائوبائین بر روی مسیرهای مختلف گره دهلیزی-بطنی آشکار می‌گردد.

- adenosine on rate- dependent atrioventricular nodal function. *circulation* 88 (1993) 2632-2645 .
- [15] 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* 14(12) (2003) 1342-1350.
- [16] Tadros R, Lavallee M, Billette J, Unified rate-dependent atrioventricular nodal function: consistent recovery and fatigue properties revealed with S1S2S3 protocols and different recovery indexes. *Heart Rhythm* 3 (8) (2006) 959-966.
- [17] Watanabe Y, Noda T, Habuchi Y, Effects of cardiac glycosides on AV nodal impulse formation and conduction. *Prog Clin Biol Res* 275(1988) 111-131.
- 51(6) (1972) 1378-1387.
- [10] Martin PE, Hill NS, Kristensen B, Errington RJ, Griffith TM. Ouabain exerts biphasic effects on connexin functionality and expression in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 141 (2004) 374-384.
- [11] Merideth J, Mendez C, Mueller WJ, Moe GK, Electrical excitability of atrioventricular nodal cells. *Circ Res* 23 (1968) 69-85.
- [12] Merjler F, Janse M, Morphology and electrophysiology of mammalian A-V node. *Physiol Rev* 68 (1998) 608-639.
- [13] Miyata A, Dowell JD, Zipes DP, Rubart M, Rate-dependent [K⁺]_o accumulation in canine right atria in vivo: electrophysiological consequences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283 (2) (2002) H506-517.
- [14] Nayeypour M, Billette J, Amella F, Nattel S, Effects of