



## The role of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in the basic and rate-dependent properties of isolated perfused rabbit Atrioventricular Node

Vahid Khoori<sup>1</sup>, Mohsen Nayebpour<sup>2\*</sup>, Mohsen Naseri<sup>3</sup>, Seyedgholamreza Hoseinkhalehjir<sup>4</sup>, Aref Salehi<sup>1</sup>

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 (0.05μM), 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 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in the protective mechanism of the AV-node.

**Keywords:** Isolated heart, rabbit AV Nod .Ouabaine, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> 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<sup>۱</sup>، محسن نایب‌پور<sup>۲\*</sup>، محسن ناصری<sup>۳</sup>، سید غلامرضا حسینی‌خاله‌جیر<sup>۴</sup>، عارف صالحی<sup>۱</sup>  
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:** انوباتین 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 انوباتین میتواند خواص وابسته به سرعت گره دهلیزی- بطنی را تغییر دهد.  
**روش‌ها:** تحریکات با مدل‌های مختلف به صورت مستقل جهت تعیین خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی- بطنی استفاده شدند. انوباتین در غلظت‌های مختلف ۰/۲۵، ۰/۱، ۰/۰۵ (میکرومولار) مستقیماً به تیروید اضافه شد. مدل‌های تحریکات یکسان قبل و بعد از اضافه کردن انوباتین تکرار شدند. کلیه داده‌ها به صورت  $Mean \pm SE$  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.  
**یافته‌ها:** نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که انوباتین در غلظت کم ۰/۰۵ میکرومولار سبب کاهش معنی دار خستگی گره گردید ولی با افزایش غلظت سبب افزایش معنی دار میزان خستگی شد. انوباتین (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 طوری که میزان ونکباخ از  $8/9 \pm 147/5$  به  $13 \pm 194$  میلی ثانیه در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار رسید همچنین کاهش معنی دار میزان تسهیل از  $5 \pm 43/3$  به  $5 \pm 38/8$  میلی ثانیه در غلظت ۰/۲ میکرومولار از دیگر نتایج تحقیق حاضر است.  
**نتیجه‌گیری:** رفتار متناقض انوباتین بر روی خستگی بیانگر نقش بالقوه پمپ سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفاتاز در مکانیزم محافظتی گره دهلیزی بطنی است.

واژه‌های کلیدی: گره دهلیزی- بطنی ایزوله، انوباتین، 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 می‌تواند 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

www.phypha.ir/ppj

وبگاه مجله:

ناپذیری گره می شود [۲].

خاصیت کاهش هدایت گره دهلیزی - بطنی می تواند بیانگر نقش حیاتی این داروها در کنترل ضربانات بطنی در حین تاکی 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 استروفرانتیدین 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 بطنی در طی تاکی 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 راه، 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 لیتر جیوه 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 پریستالتیک 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), CaCl<sub>2</sub> (25), NaHCO<sub>3</sub> (1), MgCl<sub>2</sub> (1), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2), (۰/۷), (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 (basic cycle length = BCL) 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 ائوبائین (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ 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	ائوبائین ۰/۰۵ میکرومولار
۱۵۰±۷/۵	۱۵۶/۷±۷	۹۵±۱۴/۵	۴۸/۵±۴/۲*	ائوبائین ۰/۱ میکرومولار
۱۵۹/۷±۷/۹**	۱۵۹/۷±۸/۵	۹۵/۲±۱۱/۲	۵۰/۲±۴/۵**	ائوبائین ۰/۲ میکرومولار
۱۹۴±۱۳**	۱۶۷/۲±۱۷/۵*	۱۱۶/۷±۱۶*	۵۴/۸±۴**	ائوبائین ۰/۲۵ میکرومولار

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

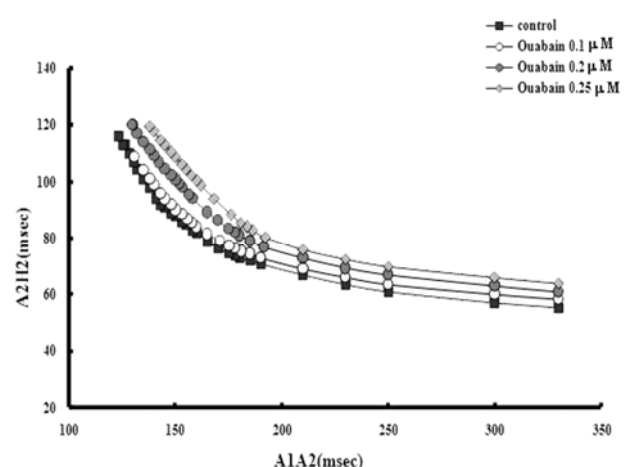
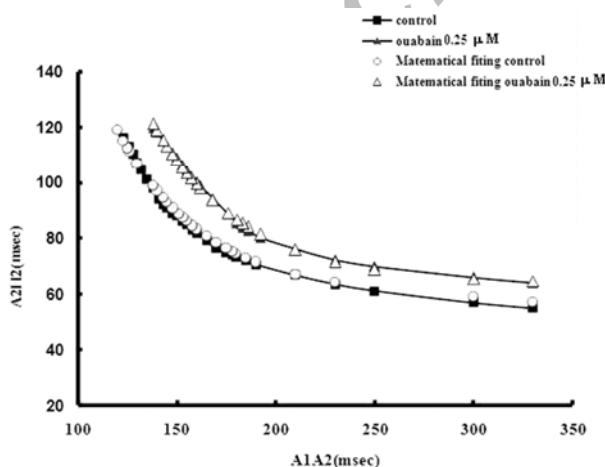
دار منحنی ثابت زمانی ریکاوری (τ) می‌باشد (جدول ۲ و شکل ۲). ائوبائین سبب انتقال به سمت بالای منحنی ریکاوری شد (شکل ۱). ائوبائین در غلظت ۰/۲ و ۰/۲۵ میکرومولار سبب افزایش معنی دار WBCL و در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار سبب افزایش معنی دار FRP و ERP گردید (جدول ۱ و شکل ۳).

ائوبائین در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ و ۰/۲۵ میکرومولار در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت که در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۰۲، ۰/۱، ۰/۲ 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 ائوبائین سبب افزایش میزان خستگی گره‌ای گردید، به طوری که در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار میزان خستگی به بیشترین مقدار خود رسیده که از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۳ و شکل ۵-A). ائوبائین در غلظت ۰/۰۵ میکرومولار سبب کاهش میزان خستگی گره‌ای شد (شکل ۵-B) به طوری که با افزایش غلظت میزان خستگی گره‌ای به صورت کاملاً متضاد شروع به افزایش کرد در حالیکه در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ 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

ائوبائین 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 ائوبائین 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 ۱-** 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.  $\mu\text{M}$ : میکرومولار

**شکل ۲-** اثر غلظت‌های مختلف ائوبائین (۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ میکرومولار) بر روی منحنی ریکاوری سبب شیفت به سمت بالا ی منحنی ریکاوری شده است.  $\mu\text{M}$ : میکرومولار

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

$\tau_{rec}$	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

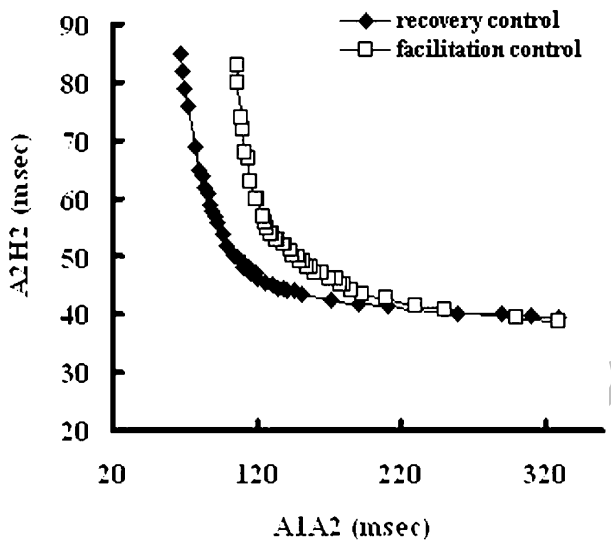
AH min: حداقل میزان هدایت در سرعت‌های آهسته ضربانات قلبی AH max: حداقل میزان هدایت در سرعت‌های سریع ضربانات قلبی  $\tau_{rec}$ : ثابت زمانی منحنی ریکاوری

### بحث

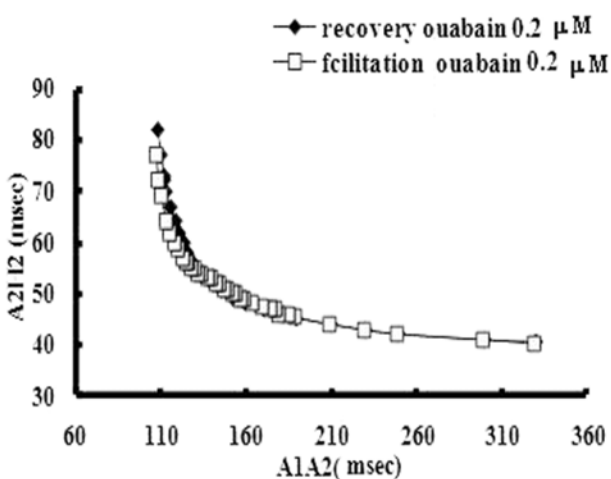
داد (جدول ۳ و شکل ۵-A)

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)

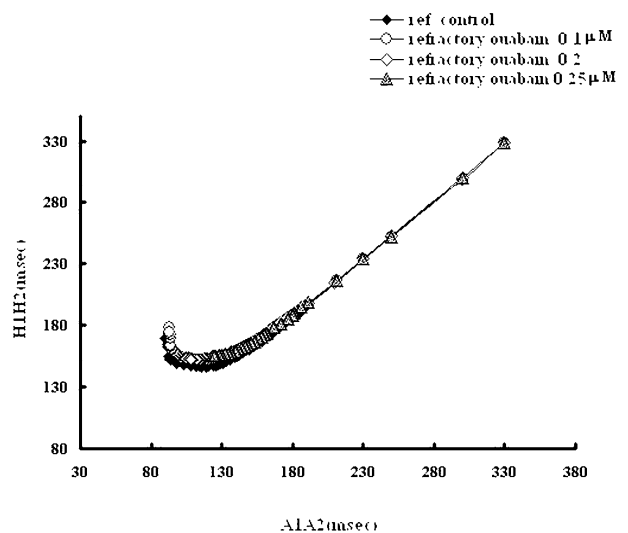


شکل (B)



**شکل ۴-** اثرات غلظت اتوبائین (۰/۲ میکرومولار) در کاهش تسهیل  $\mu\text{M}$ : میکرومولار. شکل (A): منحنی ریکاوری کنترل و تسهیل قبل از دارو. شکل (B): منحنی ریکاوری کنترل و تسهیل بعد از دارو

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.  $\mu\text{M}$ : میکرومولار

جدول ۳- اثرات غلظت های مختلف ائوبائین ( 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*	ائوبائین ۰/۰۵ میکرومولار
۳۲/۷±۵/۷	۱۵±۳/۲*	ائوبائین ۰/۱ میکرومولار
۲۸/۸±۵	۲۰/۶±۴**	ائوبائین ۰/۲ میکرومولار
۴۴/۳±۱/۱	۲۳/۵±۲/۵**	ائوبائین ۰/۲۵ میکرومولار

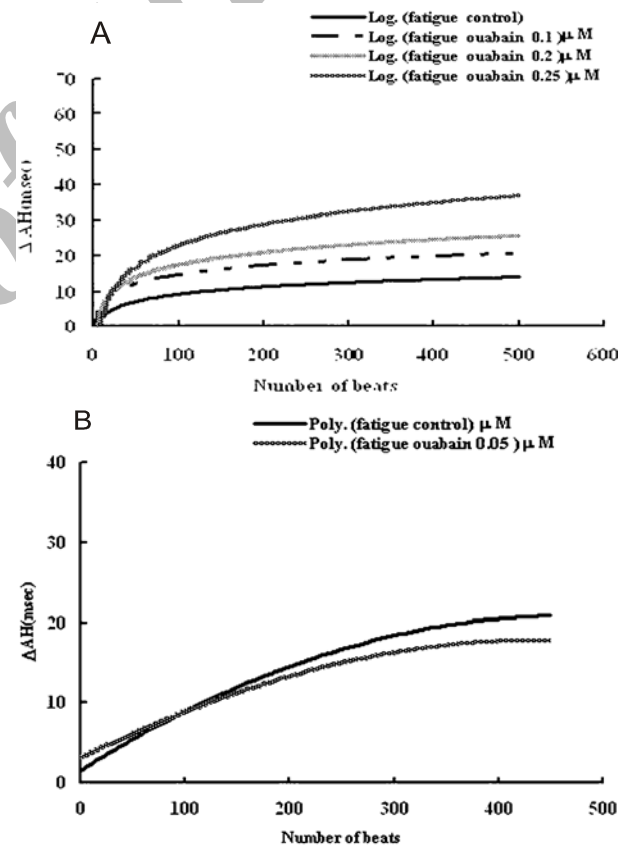
در مقایسه با کنترل  $P < 0.05$  \*  $P < 0.01$  \*\* Fatigue: میزان خستگی Facilitation: میزان تسهیل بافتی

دیگوکسین بر روی سلولهای پورکنز قلب سگ بر روی متغیر زمان تحریک ناپذیری کارکردی به صورت یک رفتار سه‌گانه ظاهر می‌شود. به‌طوریکه 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 ائوبائین یک کاهش غیرمعنی‌دار 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 می‌تواند سبب تراکم پتاسیم خارج سلولی و دپولاریزاسیون پتانسیل غشایی گردیده و سرعت افزایش فاز صفر را کاهش دهد. این کاهش سرعت افزایش فاز صفر می‌تواند به علت غیرفعال شدن کانالهای سدیمی و کاهش ورود سدیم و آهسته‌شدن 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 می‌باشد 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 می‌گردد. مطالعات قبلی نشان دهنده یک رفتار دوفازی از ائوبائین و ترکیبات دیریتال بر روی خواص پایه قلبی و اتصالات بین سلولهای قلبی است (Connexin (1,F)). آقای مندل در یک مطالعه نشان داد که اثرات

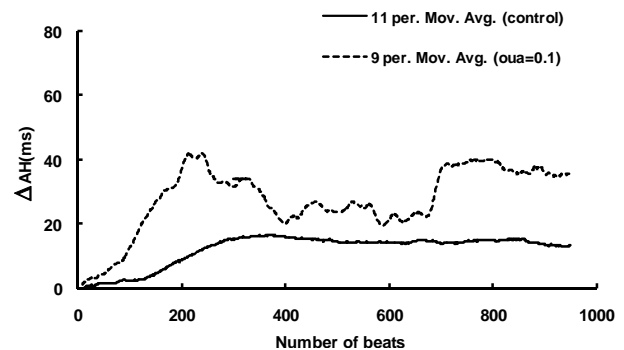
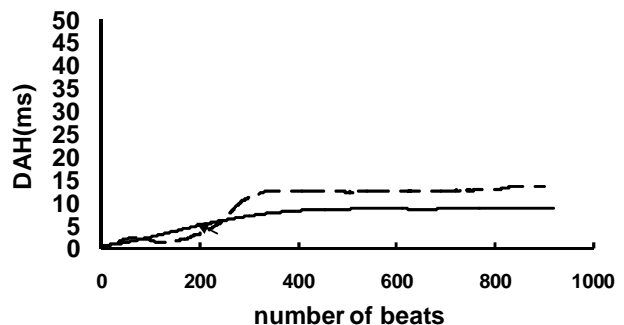
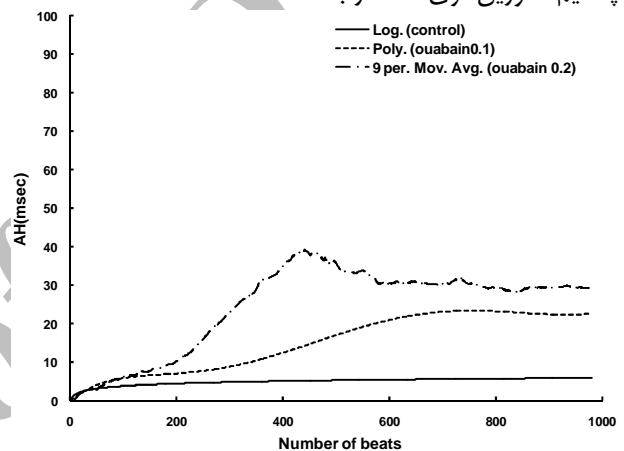


شکل ۵- A: اثرات غلظت های مختلف ائوبائین (۰/۱، ۰/۲، ۰/۲۵ میکرومولار) در افزایش خستگی (AH)، ائوبائین سبب افزایش خستگی میشود. Number of beat: تعداد ضربانات اعمال شده در طول اجرای پروتکل خستگی.  $\Delta AH$ : حداکثر میزان خستگی.  $\mu M$ : میکرومولار. B- اثرات غلظت ۰/۰۵ میکرومولار ائوبائین بر روی منحنی خستگی. ائوبائین 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.  $\Delta AH$ : حداکثر میزان خستگی  $\mu M$ : 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 ائوبائین 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 جریان رو به داخل می‌داند این جریان رو به داخل در گره دهلیزی-بطنی در فیبرهای پورکنژ و ماهیچه‌های بطنی سبب ایجاد پتانسیل عملهای تاخیری و آریتمی می‌شوند [۱۷]. جالب آنجاست که در مطالعه حاضر ائوبائین در غلظت ۰/۰۵ میکرومولار توانست به صورت متناقض میزان خستگی را کاهش دهد. در توجیه مکانیزم این یافته می‌توان به نقش متناقض ائوبائین 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 ائوبائین 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 ائوبائین را می‌توان تا حدودی به علت نقش متفاوت ائوبائین در مسیرهای آهسته و سریع گره دهلیزی-بطنی دانست. آقای هگبوم نشان داد که اثرات ائوبائین بیشتر بر روی مسیر آهسته ظاهر می‌شود [۷]. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد ائوبائین 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 ائوبائین 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 ائوبائین 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 ائوبائین (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, Heldal 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 ۶-۱) 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 دروموتروپیک 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<sup>+</sup>]<sub>o</sub> 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