



Effect of nitric oxide modulation on the basic and rate-dependent electrophysiological properties of AV-node in the isolated heart of rabbit: The role of adrenergic and cholinergic receptors

Vahid Khori¹, Ali Davarian¹, Mohsen Nayebpour², Saeed Salaki¹, Aref Salehi¹, Ahmad Ali Shirafkan^{1*}, Fakhri Badaghabadi¹, Mona Pourabouk¹, Ali Mohammad Alizadeh³, Shima Changizi¹

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

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

3. Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 9 Dec 2009

Accepted: 3 March 2010

Abstract

Introduction: Recent studies showed that nitrenergic system have specific modulatory effects on electrophysiological properties of atrioventricular (AV) node. The aim of this study was to determine the effects of nitric oxide (NO) on the electrophysiological properties of isolated rabbit AV node and to investigate the role of adrenergic and cholinergic receptors in the mechanism of its action.

Methods: In our laboratory, an experimental model of isolated double-perfused AV-node of rabbits weighing 1.5-2 kg was used. Specific experimental protocols of recovery, Facilitation, Fatigue and Wenckbach were applied in both control and in the presence of the drug. A total number of 35 rabbits were divided randomly into the following groups (n=7): 1) L-Arg (NO donor) (250, 750 and 1000 μmol), 2) L- NAME, a NO synthesis inhibitor (25, 50 and 100 μmol), 3) L-Arg + L- NAME, 4) Nadolol (1 μmol), 5) Atropine (3 μmol). All data were shown as mean \pm SE. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: Our results revealed the depressant effect of L-Arg on the basic and rate-dependent electrophysiological properties of AV-node. L- NAME did not deteriorate the effects of L-Arg on the basic and rate-dependent properties, nevertheless, at high concentration (100 μmol) it had a direct inhibitory effect on the AV-node. Nadolol and atropine could prevent the effects of NO on the basic nodal characteristics and the fatigue phenomenon, respectively.

Conclusion: Nitrenergic system can affect basic and rate-dependent electrophysiological properties of the AV-node through adrenergic and cholinergic receptors.

Keywords: Nitric oxide, Isolated AV-node, Adrenergic, cholinergic

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

نقش تنظیمی نیتریک اکساید بر خواص الکتروفیزیولوژیک پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی - بطنی قلب جدا شده خرگوش: نقش گیرنده های سمپاتیک و پاراسمپاتیک

وحید خوری^۱، علی داوریان^۱، محسن نایب پور^۲، سعید سالکی^۱، عارف صالحی^۱، احمدعلی شیرافکن^{۱*}،
فخری بداغ آبادی^۱، منا پور ابوک^۱، علی محمد علیزاده^۳، شیما چنگیزی^۱
۱. دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان
۲. گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳. مرکز تحقیقات کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
دریافت: ۱۸ آبان ۸۸ پذیرش: ۱۲ اسفند ۸۸

چکیده

مقدمه: مطالعات اخیر نشان داد که سیستم نیتریک اثرات تنظیم کننده بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی دارد. هدف این مطالعه، تعیین اثرات متغیر نیتریک اکساید (NO) بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی جدا شده خرگوش و تحقیق بر روی نقش گیرنده های آدرنژیک و کولینرژیک در مکانیسم اثرات است. **روش ها:** در آزمایشگاه ما، مدل آزمایشگاهی گره دهلیزی - بطنی جدا شده خرگوش (۲-۱/۵ کیلو گرم) استفاده شد. پروتکل های تحرکی اختصاصی ریکآوری، تسهیل، خستگی و ونکباخ در حالت کنترل و دارو استفاده شدند. تعداد ۳۵ خرگوش به طور مساوی و تصادفی به ۵ گروه (n=7) ال-آرژنین (L-Arg)، ۲) مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME)، ۳) ال-آرژنین + ال-نیم (۴) نادلول + ال-آرژنین (انتاگونیست گیرنده های بتا) و ۵) آتروپین + ال-آرژنین (انتاگونیست گیرنده های موسکارینی) تقسیم شدند. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است. سطح معنادار در حد $p < 0.05$ انتخاب گردید. **یافته ها:** نتایج ما اثرات مهارتی ال-آرژنین بر روی خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی - بطنی آشکار کرد. L-NAME نتوانست اثرات ال-آرژنین را بر روی خواص پایه و وابسته به سرعت از بین ببرد معهدا در غلظت بالا (100 میکرو مولار) خود اثر مستقیم مهارتی در گره داشت. نادلول و اتروپین بترتیب توانستند اثرات نیتریک اکساید را بر خواص پایه گره و بر روی پدیده خستگی جلوگیری کنند. **نتیجه گیری:** سیستم نیتریک خواص الکتروفیزیولوژیک پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی - بطنی را از طریق گیرنده های سمپاتیک و پاراسمپاتیک متاثر میکند.

واژه های کلیدی: نیتریک اکساید، مدل گره دهلیزی - بطنی ایزوله، آدرنژیک، کولینرژیک

مقدمه

در هدایت سیگنال ها ظاهر می شود، کنترل ضربانات بطن ها در زمان آریتمی های دهلیزی و گره ای می باشد [۴]. مکانیسم تاخیر در هدایت امواج در طول گره دهلیزی - بطنی هنوز شناخته نشده است [۱۲]. علت این تاخیر در مدل کارکردی (وابسته به سرعت) که با استفاده از معادلات ریاضی اصول آن ثابت شده است [۱۸]، جمع جبری سه پدیده الکتروفیزیولوژی ویژه

یکی از نقش های گره دهلیزی - بطنی که به صورت تاخیر

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

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

نقش سیستم اتونوم در اثرات نیتریک اکساید می باشد. در مطالعات مختلف، ارتباط متقابل بین سیستم نیتروژیک و سیستم اتونوم مورد بررسی قرار گرفته است [۲۰، ۲۱]. شواهد مختلف نشان می دهد که جواب های قلب به تحریک آدرنژیک (اینوتروپ و کرونوتروپ)، تحت تاثیر اثر مهاری سیستم نیتروژیک قرار دارند. نیتریک اکساید، کانال های کلسیم نوع L را مهار می کند. این ماده همچنین اثرات مهاری خود را از طریق پیش سیناپسی و از طریق مهار آزاد شدن نوراپی نفرین از فیبرهای سمپاتیک اعمال می کند [۲۱]. احتمالاً نیتریک اکساید از طریق افزایش cGMP و آزاد کردن مستقیم استیل کولین، اثرات تحریک سیستم پاراسمپاتیک را در بعضی از پستانداران تقویت می کند [۵]. با وجود مطالعات فوق، تاکنون ارتباط بین تاثیر متقابل بین سیستم نیتروژیک و اتونوم در تنظیم خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی-بطنی مشخص نگردیده است.

بنابراین مطالعه حاضر با اهداف زیر طراحی و اجرا گردید:

- ۱) تعیین نقش نیتریک اکساید درون زا و برون زا در تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی (۲) تعیین اثرات گیرنده های آدرنژیک و کولینژیک در اثرات نیتریک اکساید بر گره دهلیزی-بطنی.

مواد و روش ها

آزمایش های فارماکولوژیک: در آزمایش های انجام شده، از ۳۵ سر خرگوش نر نژاد نیولندی (تهیه شده از انیستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی ۲-۱/۵ کیلوگرم استفاده شد. تمام خرگوش ها قبل از آزمایش در خانه حیوانات و در قفس های مخصوص با رعایت چرخه نور-تاریکی (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در زمان اجرای آزمایش، حیوانات با هیپارین (5mg/kg IV) و سدیم پنتوباریتال (35 mg/kg IV) پیش درمانی و بی هوش شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت شد.

بعد از باز کردن قفسه سینه، قلب آن ها جدا شده و گستره بافتی شامل: نواحی از قسمت های بالایی دهلیز راست، گره

گره شامل ریکاوری، تسهیل و خستگی می باشد. این رفتارها تحت تاثیر عوامل خارجی و ذاتی خود گره قرار می گیرند. تاکنون نقش سیستم های آدرنژیک، کولینژیک و نیتروژیک و آنتاگونیست های آن در تغییر خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی تعیین شده است [۱۹، ۲۰، ۱۷]. با این وجود هنوز مکانیسم دقیق سه پدیده ذاتی گره و همچنین نقش عوامل اندوژن داخل بدن در تنظیم آن نا مشخص می باشد.

کشف نیتریک اکساید (NO) به عنوان یک ناقل عصبی-شیمیایی در سیستم قلبی-عروقی، جایزه نوبل را برای "مونکادو" و همکارانش در سال ۱۹۹۸ به ارمغان آورد. از آن زمان تاکنون، مطالعات زیادی در ارتباط با نقش تنظیمی سیستم نیتروژیک در پدیده های فیزیولوژیک و پاتولوژیک در بخشهای مختلف قلب و عروق انجام گرفته است [۲۰، ۲۱].

شواهد زیادی بیانگر ارتباط قاطع نیتریک اکساید و گره دهلیزی-بطنی از جهت آناتومیک و کارکردی می باشد [۲، ۱۲]. وجود غلظت بالای نیتریک اکساید در سلول های میوسیت [۲۲، ۱۰، ۲] و اثبات سنتز و متابولیسم آن در گره دهلیزی-بطنی و توجه به این مسئله که غلظت آن در اختلالات مختلف قلبی مخصوصاً ایسکمی، آریتمی و افزایش ضربانات قلبی افزایش می یابد، [۲۰، ۱۰] همگی تأکیدی بر اهمیت نیتریک اکساید در گره دهلیزی-بطنی می باشند.

آنزیم های سازنده نیتریک اکساید (NOS)، هر دو نوع اندوتلیال (eNOS) و قابل القاء (iNOS)، در گره دهلیزی-بطنی یافت شده است [۸]. نیتریک اکساید قادر است واسطه نقش مهاری آدنوزین بر جریان کلسیم در سلول های β گره دهلیزی-بطنی خرگوش شود [۲۷، ۱۴]. با این وجود، در کمتر مطالعه ای نقش مدولاسیون سیستم نیتروژیک در تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک گره و تعیین مکانیسم آن صورت گرفته است. در مطالعه ای که توسط همین تیم در سال ۱۳۸۴ انجام شد، به کار بردن مهارکننده غیر اختصاصی آنزیم NOS (L-NAME) و ال-آرژنین توانست سبب مهار خواص تونیک و کارکردی گره شود [۱]. تفاوت مطالعه مذکور با مطالعه حاضر در نوع تکنیک مورد استفاده جهت نگهداری قلب (در مطالعه حاضر از تکنیک پرفیوژن سطحی و کرونر با استفاده از جریان ثابت استفاده شده است)، مهارکننده آنزیم NOS متفاوت، استفاده از غلظت های مختلف ال-آرژنین وال-نیم، و تعیین

گروه	AH (msec)	AHmax (msec)	AH min (msec)	WBCL (msec)	ERP (msec)	FRP (msec)
کنترل (n = 7)	62.5±11	155.3±8.6	60.2±11	158.7±2.3	110.8±3.3	166±3.3
L-arginin (500µm) (n = 7)	62.2±11	140.5±9*	61.5±11.2	167.8±7.6	116±2.1	166.4±4.2
L-arginin (750µm) (n = 7)	65.5±10	150.3±10	63±11	170±7.4	117±1.9	174.2±3
L-arginin (1Mm) (n = 7)	73.5±10*	143.8±11	67.5±9.3*	179±7.3*	119±3.7**	178.2±3*

جدول ۱- اثرات غلظت های مختلف ال-آرژنین برخواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی- بطنی. تمامی اعداد بر حسب Mean±SE بیان شده است. AH: زمان هدایت گره دهلیزی بطنی؛ AHmax: حداکثر زمان هدایت گره دهلیزی بطنی؛ AHmin: حداقل زمان هدایت گره دهلیزی بطنی؛ WBCL: زمان شروع بلوک ۱:۲ دهلیزی-بطنی در طول اجرای پروتکل WBCL؛ ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی)؛ FRP: زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی) µM: میکرومولار mM: میلی مولار؛ با توجه به توزیع غیر نرمال داده ها از تست ویلکوکسون جهت مقایسه بین گروه های کنترل و مورد استفاده شد. سطح معناداری * P<0.05؛ ** P<0.01 در نظر گرفته شد.

سپس به کمک الکتروود تحریکی که درحاشیه گره سینوسی دهلیزی در دهلیز راست قرار گرفت، قلب با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربانات قلب تحریک و پروتکل های تحریکی اجرا گردید. محلول کربس-هنسلیت توسط اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد) فوق اشباع شده و با درجه حرارت ۳۷±۰/۱ سانتیگراد، pH= 7.4±0.1 و حجم ۶ لیتر، به طور پیوسته بافت را تغذیه می کرد. محتوای محلول بر حسب میلی مولار در لیتر (اعداد داخل پرانتز) شامل مواد ذیل می باشد که از شرکت MERCK آلمان تهیه شده است:

NaCl (128), KCl (4.7), CaCl₂ (2), MgCl₂ (1)
NaHCO₃ (25), NaH₂PO₄ (0.7), Dextrose (11.1).

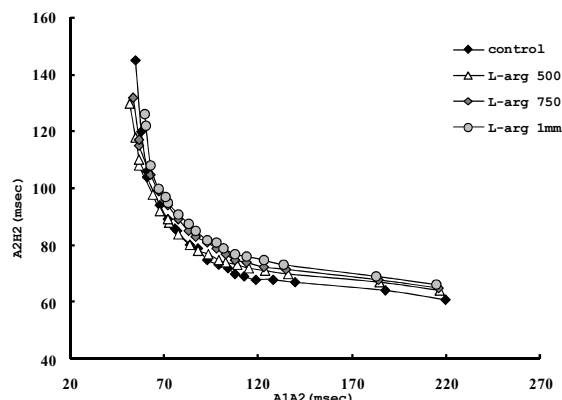
پروتکل های تحریکی: مفاهیم پایه در مقالات چاپ شده گذشته به تفصیل شرح داده شده است [۱۸] که به طور کلی عبارتند از: شاخص ونکباخ (Wenckbach cycle):
length=WBCL) به بلوک درجه سوم دهلیزی - گره ای ناشی از افزایش در سرعت تحریک دهلیزها اطلاق می شود. شروع بلوک به عنوان زمان ونکباخ ثبت می گردد.

پروتکل ریکاوری (Recovery): در طی این پروتکل بعد از ۱۰ تحریک پایه، یک تحریک نارس به بافت اعمال شده و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تأخیری به صورت فاصله A2H2 (زمان هدایت) در برابر A1A2 (زمان ریکاوری) رسم می شود. زمان تحریک ناپذیری موثر:

(Effective Refractory Period =ERP): مطابق با مطالعات گذشته عبارت است از طولانی ترین فاصله دو ثبت

دهلیزی- بطنی و سپتوم بین دهلیزی و بین بطنی جدا شده و به کمک سوزن هایی روی یک توری داخل مخزن حاوی محلول کربس-هنسلیت ثابت گردید. سپس توسط این محلول به طور پیوسته و با سرعت ۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه توسط پمپ پرستالتیک تغذیه شد. همچنین با استفاده از یک کانول، پرفیوژن کرونر به صورت معکوس با استفاده از پمپ پرستالتیک برقرار گردید. فشار لازم برای پرفیوژن کرونر، ۶۰ تا ۸۰ میلی متر جیوه بود که در تمام طول آزمایش ثابت نگه داشته شد.

با استفاده از الکتروود تک قطبی، از نواحی گره سینوسی- دهلیزی، کریستا ترمینالیس، سپتوم بین دهلیزی و دسته هیس ثبت گرفته شد و سرعت ضربانات پایه قلب مشخص گردید.



شکل ۱- اثرات غلظت های مختلف ال- آرژنین بر منحنی ریکاوری. افزایش غلظت نیتریک اکساید سبب انتقال منحنی به سمت بالا می شود که اثرات آن بر روی مسیر سریع گره می باشد. A1A2: مدت زمان بین دو تحریک متوالی، A2H2: مدت زمان هدایت گره ای.

FRP(msec)	ERP(msec)	WBCL (msec)	AH min(msec)	AHmax (msec)	AH (msec)	دارو
162.2±2	107.5±4.4	145.2±2	39.6±0.5	110±4.6	41.4±2.3	کنترل
171.8±5*	114.8±6.7	151.8±4.6*	42.9±3.8	115.1±4.8	43.7±2.90	(n=7) L-Name(100µm)

جدول ۲- اثرات غلظت ۱۰۰ میکرو مولار ال-نیم بر روی متغیر های پایه .

ال-نیم سبب افزایش میزان FRP,ERP,WBCL,AH شده است. تمامی اعداد بر حسب Mean±SE بیان شده است. AH: زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmax: حداکثر زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmin: حداقل زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، WBCL: زمان شروع بلوک ۲ به ۱ دهلیزی-بطنی در طول اجرای پروتکل WBCL، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی)، FRP: زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی)، با توجه به توزیع غیر نرمال داده ها از تست ویلکوکسون جهت مقایسه بین گروه های کنترل و مورد استفاده شد. * سطح معناداری در مقایسه با گروه کنترل (P<0.05).

مشخص شدن غلظت های موثر صرفاً بر شاخص های ریکاوری و ونکباخ در محدوده غلظتی یک میکرومولار تا ۱۰۰۰ میکرومولار برای L-Arg و یک تا ۱۰۰ میکرومولار برای L-NAME انجام گرفت. غلظت نادالول و آتروپین بر اساس مطالعه منابع انتخاب شد. معیار های خروج نمونه ها از مطالعه: کلیه نمونه هایی که زمان هدایت آنها بیشتر از ۷۵±۳ میلی ثانیه و زمان ونکباخ بالاتر از ۷±۱۸۰ میلی ثانیه بود، از مطالعه خارج شدند. شاخص ونکباخ و منحنی ریکاوری به عنوان شاخص پایداری بافت در بازه زمانی به این صورت تعریف شدند که در فاصله زمانی ۲ ساعت از قرار دادن نمونه در محفظه داخلی، زمان ونکباخ نباید بیشتر از ۷±۲ میلی ثانیه نسبت به حالت کنترل تفاوت داشته باشد. همچنین منحنی ریکاوری باید بر روی منحنی کنترل همپوشانی کامل داشته باشد.

یافته ها

نتایج این مطالعه از دو جهت قابل بررسی است:
الف) نقش مدولاسیون سیستم نیتروزیک بر خواص پایه گره دهلیزی-بطنی و تاثیر سیستم اتونوم در مکانیسم اثر آن: اثرات غلظت های مختلف ال-آرژنین بر روی پارامترهای هدایت و تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی بیانگر افزایش معنی دار در زمان هدایت و تحریک ناپذیری موثر و کارکردی گره در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار ال-آرژنین می باشد. زمان وقوع بلوک ۲ به ۱ گره دهلیزی (شاخص ونکباخ) افزایش معنی داری را در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار نشان داد، به طوری که از زمان ۳msec ± ۱۵۸/۷ به ۷/۳ msec ± ۱۷۹ رسید (p < 0.05). مطابق شکل ۱ و جدول ۱، اجرای پروتکل ریکاوری بیانگر

متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل از رسیدن به بلوک دهلیزی-گره ای است.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی:

(Functional Refractory Period = FRP): عبارت است از کوتاه ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H2) که در طی یک پروتکل تحریکی به دست می آید.

خستگی (Fatigue): طولانی شدن وابسته به زمان هدایت

طی تاکی کاردی های پیوسته

تسهیل (Facilitation): عبارت است از کاهش در زمان

هدایت پس از تحریک نارس

تمام نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است. برای مقایسه بین گروه کنترل و دارو، از آزمون Repeated measurment و در چند گروه (غلظت های مختلف در مقایسه با کنترل) از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. سطح معنادار در حد p<0.05 انتخاب گردید.

طراحی آزمایش: تعداد ۳۵ سر خرگوش به صورت مساوی و تصادفی در ۵ گروه (n=7) به شرح زیر تقسیم شدند: (۱) ال-

آرژنین (L-Arg) (۲۵۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار)، (۲) مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME) (۲۵، ۵۰ و

۱۰۰ میکرومولار) (۳) ال-آرژنین+ ال-نیم (۴) نادالول (۱) میکرومولار) و (۵) آتروپین (۳ میکرومولار). طراحی آزمایشات

به صورت قبل و بعد بود. در حالت کنترل، پروتکل های تحریکی در حضور محلول کربس-هنسلیت انجام گرفت و سپس بعد از اضافه کردن دارو، پروتکل ها دوباره تکرار گردید.

مدت زمان تماس دارو با بافت قبل از شروع اجرای پروتکل های تحریکی برای آتروپین، نادالول و L-Arg و L-NAME به ترتیب ۱۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دقیقه بود. غلظت های L-Arg و L-NAME براساس مطالعات ابتدایی بر روی ۳ نمونه جهت

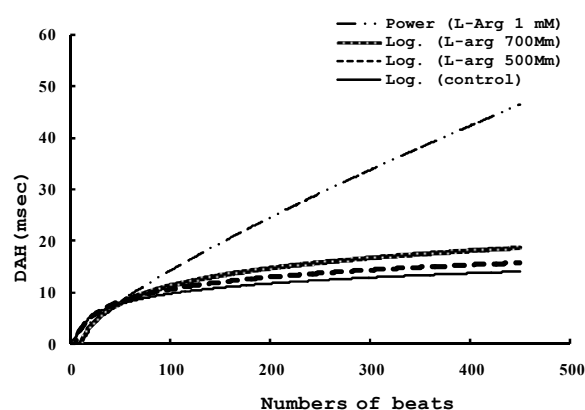
متغیر	AH	AH _{max}	AH _{min}	ERP	FRP	Facilitation	Fatigue	WBCL
کنترل (n= 7)	42±2.3	104±9.2	43.3±3.5	107±6	154±6	18.6±3	7.7±0.8	136.2±4
L-Arg (1mM) (n= 7)	48.2±3.1*	128.2±6.2*	49.5±4.3*	114.8±6*	159±9.4*	22.4±7	11.8±1.3*	155.5±5*
L-NAME (100µM) (n= 7)	49.8±2.3	105±11.7	51.3±5.2	113.7±5	158.2±8	38.3±2**	14.3±103**	153.2±7.2

جدول ۳- اثرات مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (L-Name) (۱۰۰ میکرو مولار) در حضور ال-آرژنین (۱ میلی مولار).

اثرات ال-آرژنین توسط آل-نیم از بین نرفته است. AH: زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmax: حداکثر زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmin: حداقل زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، WBCL: زمان شروع بلوک ۲:۱ دهلیزی-بطنی در طول اجرای پروتکل WBCL، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی)، FRP: زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی) µM: میکرومولار، mM: میلی مولار، *: سطح معناداری بین گروه کنترل و ال-آرژنین (P<0.05). **: سطح معناداری بین گروه ال-آرژنین و ال-نیم (P<0.05).

اثرات وابسته به غلظت ال-آرژنین بر روی قسمت صاف منحنی ریکاوری می باشد. در هر حال شیب به سمت بالا منحنی ریکاوری در غلظت های ۷۵۰ میکرومولار و ۱۰۰۰ میکرومولار بیانگر اثرات بیشتر ال-آرژنین (نیتریک اکساید) بر روی شاخص FRP می باشد.

مطابق جدول ۲، حذف نیتریک اکساید درون زا از طریق استفاده از مهار کننده اختصاصی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (L-NAME) سبب مهار هدایت و تحریک ناپذیری گره ای گردید. به طوری که در غلظت ۱۰۰ µM، این اثرات در مورد شاخص زمان هدایت گره ای و زمان تحریک ناپذیری (WBCL و FRP و ERP) به حد معنی دار رسید (P<0.05).



شکل ۲- اثرات غلظت های مختلف ال-آرژنین در افزایش میزان خستگی بافتی که به صورت لگاریتمی نشان داده شده است. افزایش میزان خستگی بافتی به صورت افزایش شیب منحنی خستگی دیده می شود. محور افقی نشانگر تعداد ضربانات اعمال شده در طول اجرای پروتکل خستگی و محور عمودی نشانگر حداکثر میزان خستگی می باشد.

اضافه نمودن ال-آرژنین (۱۰۰۰ میکرومولار) بعد از ال-نیم (۱۰۰ میکرومولار) نتوانست اثرات مهارکنندگی ال-نیم بر پارامترهای پایه (WBCL, FRP, ERP, AH) را از بین ببرد. در یکسری آزمایش جداگانه (n=7) اثرات ال-نیم بعد از اضافه نمودن ال-آرژنین مورد بررسی قرار گرفت. هدف از انجام این آزمایش جواب به این سوال بود که آیا اثرات ال-نیم به علت تاثیر ذاتی آن در خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی-بطنی است یا حذف نیتریک اکساید درون زا؟ مطابق جدول ۳، ال-نیم نتوانست اثرات ال-آرژنین بر پارامترهای پایه هدایت و تحریک ناپذیری گره را از بین ببرد. همچنین اثرات مهارکننده ال-نیم نیز در حضور ال-آرژنین در غلظت بالا از بین رفت. اضافه کردن نادلول (۱ µM) سبب حذف اثرات ال-آرژنین بر روی پارامترهای پایه گره دهلیزی بطنی گردید. به طوری که زمان هدایت گره ای و زمان تحریک ناپذیری موثر و کارکردی، افزایش معنی داری را نشان نداد. ولی زمان هدایت حداکثر گره ای، افزایش معنی داری را نشان داد و از 90.3±5 به 127±8.6 میلی ثانیه رسید (p<0.05). اضافه کردن آتروپین (۳ µM) نتوانست جلوی تاثیرات ال-آرژنین (۱۰۰۰ µM) را بر روی زمان تحریک ناپذیری گره ای موثر بگیرد. در صورتی که اثرات ال-آرژنین بر روی هدایت گره ای در حضور آتروپین از بین رفت (جدول ۴).

ب) نقش مدولاسیون سیستم نیتروژیک بر خواص وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی و تاثیر سیستم اتونوم در مکانیسم اثر آن: آرژنین نتوانست با افزایش غلظت، تاثیر معنی

Fatigue	WBCL (msec)	FRP(msec)	ERP (msec)	AH min(msec)	AHmax (msec)	AH (msec)	دارو
8.7±1	148.5±4	158.8±3.3	102.3±3.2	39.3±2.2	116±5.7	38.7±2	کنترل (n= 7)
11.2±3	* 155.8±6	* 166.8±4.2	* 119.7±4.1	42.8 ±2.1	* 121±12.5	42.3±2	L-Argenin (n= 7)(1Mm)

جدول ۴- اثرات آل-آرژنین در حضور آتروپین (۱ میلی مولار) بر روی پارامترهای پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی. تمامی اعداد بر حسب Mean±SE بیان شده است. AH: زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmax: حداکثر زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، AHmin: حداقل زمان هدایت گره دهلیزی بطنی، WBCL: زمان شروع بلوک ۱:۲ دهلیزی-بطنی در طول اجرای پروتکل WBCL، ERP: زمان تحریکناپذیری موثر (دهلیزی)، FRP: زمان تحریکناپذیری عملکردی (بطنی)، با توجه به توزیع غیر نرمال داده ها از تست ویلکوکسون جهت مقایسه بین گروه های کنترل و مورد استفاده شد. * سطح معناداری در مقایسه با گروه کنترل (P<0.05).

نیترترژیک بر خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی می باشد. افزایش نیتریک اکساید درون زا سبب مهار خواص پایه و وابسته به سرعت قلبی گردید.

اثرات فوق تحت تاثیر مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از بین نرفت. همچنین مهار کننده سنتز نیتریک اکساید توانست اثرات مستقیم در مهار خواص پایه و وابسته به سرعت گره اعمال کند.

مطالعات قلبی نشان داده اند که نیتریک اکساید می تواند به صورت وابسته به غلظت، اثرات متفاوتی را بر روی گره دهلیزی-بطنی داشته باشد و همچنین آنزیم های مختلف سازنده آن در گره دهلیزی-بطنی مشخص شده اند [۸، ۱۰ و ۲۱].

اثرات نیتریک اکساید در بافت های قلبی عمدتاً در یک مدل دوگانه اعمال می شود. به این صورت که در غلظت کم، سبب افزایش نیروی انقباضی و ضربانات قلبی می گردد؛ در صورتی که در غلظت بالا نقش منفی اعمال می کند [۲۲ و ۱۵]. در مطالعه حاضر نیز رفتار دوگانه در اثرات آل-آرژنین بر مسیرهای سریع و آهسته گره دهلیزی-بطنی مشاهده شد. بدین ترتیب که دو مسیر فوق در غلظت های مختلف حساسیتهای متفاوتی را نسبت به افزایش غلظت نیتریک اکساید نشان دادند.

تحقیقی مشابه توسط نویسندگان این مقاله نشان داد که آل-آرژنین اثر مهاری یکسانی در خواص پایه و وابسته به سرعت گره داشته و این اثرات توسط مهارکننده غیر اختصاصی آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (L-NA) از بین می رود. همچنین L-NA اثرات مهاری مستقیم بر خواص گره مشابه تحقیق حاضر داشت [۱].

داری بر روی حداکثر میزان تسهیل داشته باشد. در حالی که در یک مدل وابسته به غلظت، سبب افزایش معنی دار میزان خستگی گره ای از 15.6 ± 2 میلی ثانیه به 19.5 ± 3.2 و 27.8 ± 3.2 میلی ثانیه در غلظت های $750 \mu\text{M}$ و $750 \mu\text{M}$ گردید ($P < 0.05$). مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME) توانست سبب کاهش تسهیل و افزایش خستگی گره ای شود. در غلظت 50 میکرومولار، میزان تسهیل از 14.6 ± 7 به 15.6 ± 7 میلی ثانیه و در غلظت 100 میکرومولار از 8.9 ± 5 به 12.4 ± 2 میلی ثانیه رسید ($P < 0.05$) (شکل ۴). همچنین میزان خستگی در کنترل 7.9 ± 4 و 8.3 ± 2 میلی ثانیه بود که در غلظت های 50 و 100 میکرومولار به ترتیب به 15.2 ± 4 و 16.4 ± 3 میلی ثانیه افزایش یافت که افزایش فوق در غلظت 100 میکرومولار معنی دار بود. داروهای بلوکر سیستم اتونوم جهت مشخص شدن مکانیسم اثرات وابسته به سرعت نیتریک اکساید در گروه جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. نادللول ($1 \mu\text{M}$) نتوانست اثرات مهاری آل-آرژنین ($1000 \mu\text{M}$) در افزایش خستگی گره ای را از بین ببرد و میزان خستگی از حدود 6.9 ± 0.7 در کنترل به 10.3 ± 1.0 به صورت معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در حالی که مطابق جدول ۴، آتروپین توانست افزایش میزان خستگی ناشی از آل-آرژنین را از بین ببرد. نکته جالب آن بود که میزان تسهیل گره ای در حضور آتروپین و آل-آرژنین از 6.5 ± 1 به 8.4 ± 1.6 میلی ثانیه افزایش یافت ($p < 0.05$).

بحث

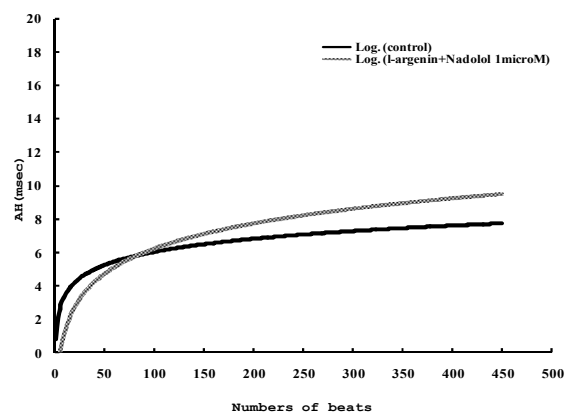
نتایج این تحقیق بیانگر اثرات متناقض تنظیم سیستم

الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی گردد. این تاثیر را می توان به دو صورت توجیه کرد: اثرات مستقیم ذاتی و اثرات مهارکننده آنزیم NOS.

مطالعات مختلفی نشان داده اند که مهارکننده غیر اختصاصی آنزیم NOS (L-NA) در غلظت بالا در سگ، موش صحرایی و خرگوش، سبب مهار سلول های گره دهلیزی- بطنی می شود [۵، ۶ و ۱۶]. اثرات مستقیم ال- نیم احتمالاً به دلیل اثرات مستقیم این مهارکننده بر روی کانال- های یونی و مخصوصاً پمپ سدیم- پتاسیم وابسته به انرژی می باشد [۷]. این نتایج در تأیید یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که اثرات مستقیم مهارکننده آنزیم سبب افزایش خواص پایه و وابسته به سرعت گره گردید. نتایج مشابهی با استفاده از مهارکننده غیر اختصاصی آنزیم NOS (L-NA) در مطالعات قبلی در سلول های گره ای مشاهده شد [۱].

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه کردن ال- آرژنین و افزایش نیتریک اکساید گره ای، سبب مهار خواص گره می شود. اثرات مثبت افزایش نیتریک اکساید سلول های قلبی در تحریک پمپ سدیم-پتاسیم وابسته به انرژی در مطالعات قبلی ثابت شده است [۷]. در این صورت مهارکننده تولید نیتریک اکساید باید نقش تحریکی در خواص گره اعمال کند. از طرفی، اضافه کردن ال- نیم بعد از اثرات ال- آرژنین در مهار خواص گره، نتوانست سبب تاثیر معنی دار در خواص گره گردد که بیانگر آن است که حداقل قسمتی از اثرات این مهارکننده، وابسته به نیتریک اکساید داخل سلول های گره ای می باشد. بنابراین می توان این طور نتیجه گیری کرد که مهارکننده سنتز نیتریک اکساید می تواند با مکانیسم دوگانه (اثرات مستقیم، اثرات وابسته به نیتریک اکساید درون زا) وابسته به غلظت، سبب تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک گره گردد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثرات ال- آرژنین و نیتریک اکساید بر سلول های گره AV، عمدتاً با واسطه سیستم آدرنرژیک القاء می شود. این یافته بدین معناست که سیستم نیتریک به عنوان یک سیستم زمینه ای می تواند مسئول اعمال اثرات افزایش تون سمپاتیک بر سلول های گره ای باشد. نیتریک اکساید می تواند به عنوان یک ماده حد واسطه، نقش مهمی در تداخل اثرات گیرنده های آدرنرژیک و کولینرژیک بر خواص قلبی داشته باشد [۲۱، ۹ و ۱۱].



شکل ۳- اثرات ال- آرژنین در حضور نادولول بر منحنی خستگی بافتی. اثرات ال- آرژنین در حضور نادولول ۱ میکرومولار بر روی منحنی خستگی بافتی در یکی از نمونه های بافتی آزمایش شده. افزایش خستگی گره ای در حضور اتاناکونیسست رستپورهای b دیده نشد.

نقش مسیر های آهسته و سریع گره ای در تشکیل قسمت با شیب تند و مسطح منحنی ریکاوری در مطالعات گذشته نشان داده شده است [۲۴].

نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که افزایش غلظت نیتریک اکساید درون زا می تواند از طریق اثرات مهاری در قسمت صاف منحنی ریکاوری (مسیر سریع)، سبب افزایش زمان هدایت گره ای حداقل شود. در صورتی که تاثیر آن بر روی مسیر آهسته (قسمت با شیب تند منحنی ریکاوری) کمتر بوده، اگرچه در غلظت های بالا سبب دپرفرن میزبان ERP به عنوان شاخص فعالیت مسیر آهسته می شود. با توجه به نقش مسیرهای آهسته و سریع در وقوع آریتمی های چرخشی در گره دهلیزی بطنی [۱۳ و ۲۵] اثرات فوق می تواند احتمال نقش نیتریک اکساید را در ایجاد آریتمی در مواقع پاتولوژیک مطرح کند. افزایش زمان تحریک ناپذیری و شاخص ونکباخ و خستگی گره ای تحت تاثیر ال- آرژنین نشان می دهد که تاثیر نیتریک اکساید عمدتاً بر سلول های فشرده گره ای (کامپاکت نود) اعمال می شود (افزایش FRP، ونکباخ و خستگی)، اگرچه افزایش ERP و زمان هدایت گره ای بیانگر تاثیر آن بر روی مسیر آهسته می باشد. عدم افزایش تسهیل و زمان هدایت ماکزیمم (AH_{max}) گویای آن است که تاثیر نیتریک اکساید عمدتاً در قسمت دیستال گره متمرکز شده و سلول های ترانزیشنال قسمت های پروگزیمال گره کمتر تحت تاثیر نیتریک اکساید قرار می گیرد. مهارکننده اختصاصی آنزیم NOS (L-NAME) نتوانست سبب مهار خواص

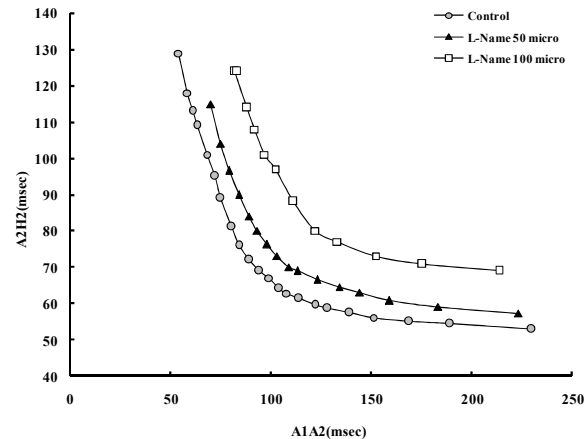
نتیجه تحقیق حاصل نشان داد که خستگی بافتی به عنوان یک عامل مهم در خواص ذاتی گره تحت کنترل سیستم کولی نرژیک است و رسیپتورهای موسکارینیک احتمالاً در مکانیسم ایجاد خستگی گره‌ای نقش دارند.

مطالعات قبلی نشان داده که تحریک عصب واگ و آزاد شدن استیل کولین می‌تواند سبب افزایش خستگی گره‌ای شود [۲۰]. همچنین مطالعات اخیر بیانگر آن است که نیتریک اکساید می‌تواند سبب فعال شدن کانال پتاسیم وابسته به ATP و اعمال اثرات مهاری در سلولهای قلبی شود [۹ و ۱۱]. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً اثر استیل کولین در افزایش خستگی گره‌ای به علت نقش مهاری نیتریک اکساید در سلول های قسمت دیستال گره دهلیزی - بطنی می‌باشد.

پروتکل خستگی گره ای می‌تواند به عنوان یک مدل آریتمی چرخشی (AVRT) مورد استفاده قرار گیرد [۲۶]. نتایج این تحقیق نشان داد که سیستم نیتریک می‌تواند از طریق گیرنده های کولینرژیک در آریتمی های چرخشی، نقش تنظیم کنندگی ایفا کند. افزایش خستگی و تحریک پذیری گره ای توسط ال-آرژنین، بیانگر اثرات ضد آریتمی این ترکیب است.

آستانه تحریک پذیری به عنوان شاخص ضد آریتمیک داروهای بلوک کننده کانال کلسیمی محسوب می‌شود [۲۶]. در تحقیق حاضر، غلظت 1000 میکرو مولار ال-آرژنین توانست آستانه تحریک پذیری گره ای را به 2.8 - میلی ثانیه برساند، در صورتی که در غلظت 500 میکرو مولار، آستانه تحریک پذیری برابر 5/5 میلی ثانیه بود. هرچه آستانه تحریک پذیری گره ای بالاتر از یک باشد، می‌تواند بیانگر اثرات ضد آریتمی چرخشی (AVRT) آن ترکیب باشد.

بنابراین حداقل در غلظت بالا، نیتریک اکساید به عنوان یک ترکیب آریتمی زا و در غلظت پایین به عنوان ترکیبی ضد آریتمی مطرح می‌باشد. مطالعات قبلی نقش متضاد نیتریک اکساید را در افزایش و کاهش ضربانات قلب با غلظت های کم و زیاد نشان داده اند. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که افزایش غلظت نیتریک اکساید بافتی، نقش مهاری در غلظت بالا در گره دهلیزی-بطنی اعمال می‌کند. در صورتی که استفاده از مهار کننده آنزیم NOS و کاهش نیتریک اکساید بافتی، سبب اثرات مهاری بر گره گردید که می‌توان چنین نتیجه گرفت که در غلظت های پایین، نیتریک اکساید نقش تحریکی در گره



شکل ۴- اثرات غلظت های مختلف L-NAME در انتقال به سمت بالا و راست منحنی ریکاوری.

کاهش فعالیت سلول های گره تحت تاثیر ال- آرژنین نشان می‌دهد که سیستم نیتریک اثرات مهاری پایه‌ای در سلول های گره اعمال می‌کند. دخالت گیرنده های آدرنرژیک در اثرات نیتریک اکساید، می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که اثرات تحریکی سیستم سمپاتیک توسط اثرات مهاری سیستم نیتریک تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مطالعات قبلی بیانگر اثرات مهاری نیتریک اکساید بر کانال های کلسیم (نوع L) و مهار آزاد شدن نوراپی نفرین از فیبرهای سمپاتیک بوده‌اند [۲۱].

در هر حال عدم تاثیر نادلول در از بین بردن میزان خستگی گره‌ای، حداقل بیانگر آن است که مکانیزم خستگی گره‌ای در ارتباط با سیستم آدرنرژیک نمی‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که مکانیزم خستگی گره‌ای می‌تواند از طریق مهار پمپ سدیم- پتاسیم وابسته به انرژی باشد [۳]. در این صورت افزایش خستگی گره ای می‌تواند وابسته به اثرات تحریکی نیتریک اکساید در افزایش فعالیت پمپ سدیم- پتاسیم وابسته به انرژی باشد.

سیستم کولینرژیک جهت واسطه‌شدن اثرات نیتریک اکساید در سلول های گره‌ای، نقش متوسطی را بازی می‌کند بدین صورت که آتروپین توانست اثرات نیتریک اکساید را در زمان هدایت گره‌ای از بین ببرد و همچنین از افزایش خستگی گره‌ای توسط نیتریک اکساید جلوگیری کرد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اثرات نیتریک اکساید و سیستم پاراسمپاتیک به صورت موازی می‌باشند. بدین صورت که تحریک سیستم نیتریک، اثرات سیستم پاراسمپاتیک را در سلول های قلبی تقویت می‌کند [۹].

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت تصویب و در اختیار گذاشتن اعتبار مالی مورد نیاز، کارشناسان و آزمایشگاه الکتروفیزیولوژی مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان جهت همکاری در انجام آزمایشات صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

دهلیزی- بطنی اعمال می کند. اثرات متضاد غلظت های مختلف نیتریک اکساید در سلول های گره به صورت اثرات تحریکی در غلظت پایین و اثرات مهارری در غلظت بالا دیده شد. گیرنده های آدرنرژیک و کولینرژیک می توانند تا حدودی واسطه اثرات نیتریک اکساید در سلول های گره ای شوند.

References

- [1] Alizadeh AM, Naseri M, Haji Zadeh S, NayebPour M, Khoori V. The role of Nitric Oxide in functional and tonic characteristics of rabbit AV-node. *Physiology & Pharmacology journal* 1(9) (2005) 1-7.
- [2] Balligand JL, Cannon P J. Nitric oxide synthesis and cardiac muscle, Autocrine and paracrine influences arteriosclerosis. *Thrombosis and vascular biology*. 17 (1997) 1846-1858.
- [3] Billette J, Amellal F. Functional properties of the AV node: Characterization and role in cardiac rhythms. In Mazgalev TN, Tchou PJ, Eds: Atrial-AV Nodal Electrophysiology: A View from the Millennium. Futura Publishing Co., Armonk, NY, (2000) 155-173.
- [4] Billette J, Nattel S. Dynamic behavior of the atrioventricular node: a functional model of interaction between recovery, facilitation, and fatigue. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1994; 5(1):90-102.
- [5] Chowdnary S., Townend N. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. *clinical science*. 1999; 97: 5-17.
- [6] Elvan A, Rubart M, Zipes DP. NO modulates autonomic effects on sinus discharge rate and AV nodal conduction in open-chest dogs. *Am J Physiol*. 1997; 272 (1 Pt 2): H263-71.
- [7] Gupta S, McArthur C, Grady C, Ruderman NB. Stimulation of vascular Na (+)-K (+)-ATPase activity by nitric oxide: a cGMP-independent effect. *Am J Physiol*. 1994;266(5 Pt 2):H2146-51.
- [8] Han X, Kobzik L, Balligand J L, Kelly R A, Smith T W, Michel T. Nitric Oxide Synthase (NOS3) Mediated Cholinergic Modulation of Ca Current in Adult rabbit Atrioventricular Nodal Cells. *Circ Res*. 1996; 78: 998-1008.
- [9] Harvey RD, Belevych AE. Muscarinic regulation of cardiac ion channels. *Br J Pharmacol*. 2003; 139(6):1074-84.
- [10] Jansen JA, van Veen TA, de Bakker JM, van Rijen HV. Cardiac connexins and Impulse propagation. *J Mol Cell Cardiol*. 2010; 48(1):76-82.
- [11] Kelly RA., Balligand JL., Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res*. 1996; 79:363-380.
- [12] Khori V., Nayebpour M., Rakhshan E., Mirabbasi A. The effect of essence of Citrus aurantium on the rabbit AV-node. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2006; 8(2): 1-7.
- [13] Krahn AD, Klein GJ, Yee R, Basta MN, Lee JK. Progressive anterior ablation in the coronary sinus region: evidence to support the presence of a 'slow pathway' input in normal patients? *Circulation*. 1997, 18; 96(10):3477-83.
- [14] Martynyuk A E, Kane K A, Cobbe S M, Rankin A C. Role of nitric Oxide, Cyclic GMP and Superoxide in Inhibition by Adenosine of Calcium Current in Rabbit Atrioventricular Nodal Cells. *Cardiovascular Research*. 1997; 34(2):360-367.
- [15] Massion PB, Feron O, Dessy C, Balligand JL. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing. *Circ Res*. 2003; 5; 93(5):388-98.
- [16] Müller-Strahl G, Kottenberg K, Zimmer HG, Noack E, Kojda G. Inhibition of nitric oxide synthase augments the positive inotropic effect of nitric oxide donors in the rat heart. *J Physiol*. 2000, 15; 522 Pt 2:311-20.
- [17] Nayebpour M, Billette J, Amella F, Nattel S. Effects of adenosine on rate – dependent atrioventricular nodal function. *Circulation*. 1993; 88:2632-2645.
- [18] Nayebpour M, Talajic M, Nattel S. Quantitation of dynamic AV nodal properties and application to predict rate-dependent AV conduction. *Am J Physiol*. 1991; 261(2) - 2):H292-300.

- [19] Nayebpour M, Talajic M, Nattel S. Effects of beta-adrenergic receptor stimulation and blockade on rate-dependent atrioventricular nodal properties. *Circ Res*.1992; 70(5):902-11.
- [20] Nayebpour M, Talajic M, Villemaire C, Nattel S. Vagal modulation of the rate-dependent properties of the atrioventricular node. *Circ Res*.1990; 67(5):1152-66.
- [21] Paterson D, J. Nitric oxide and the autonomic regulation of cardiac excitability. *Exp Physiol*. 2001; 86(1):1-12.
- [22] Pinsky DJ, Patton S, Mesaros S, Brovkovich V, Kubaszewski E, Grunfeld S, Malinski T. Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart. *Circ Res*. 1997; 81(3):372-9.
- [23] Rakhit RD, Marber MS. Nitric oxide: an emerging role in cardioprotection? *Heart*. 2001; 86(4):368-72.
- [24] 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*. 2003; 14(12):1342-50.
- [25] Strickberger SA, Daoud E, Niebauer M, Williamson BD, Man KC, Hummel JD, Morady F. Effects of partial and complete ablation of the slow pathway on fast pathway properties in patients with atrioventricular nodal reentrant tachycardia. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1994; 5(8):645-9.
- [26] Talajic M, Nayebpour M, Jing W, Nattel S. Frequency-dependent effects of diltiazem on the atrioventricular node during experimental atrial fibrillation. *Circulation*. 1989; 80(2):380-9.
- [27] Zima A, Martynyuk AE, Seubert CN, Morey TE, Summers C, Cucchiara RF, Dennis DM. Antagonism of the Positive Dromotropic effect of Isoproterenol by Adenosine: role of Nitric Oxide, cGMP-Dependent cAMP-Phosphodiesterase and protein kinase G. *J Mol Cell Cardiol*. 2000; 32(9):1609-19.