فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (۳)، ۲۹۵ – ۳۰۷
پاییز ۱۳۹۰

فیزیولوژی و فارماکولوژی

نقش نیتریک اکساید بر روی خواص الکتروفیزیولوژی گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش توسط پتانسیل عمل میدانی خارج سلولی در طی فیبریلاسیون دهلیزی

وحید خوری[۱]، علی محمد علیزاده[۲]، آمنه نوائیان[۱]، محسن نایب پور[۳]، منا پورابوک[۱]، فخری بداغ آبادی[۱]، شیما چنگیزی[۱]، مریم رجائی[۱]، حمیدرضا مهیمنی[۱]، حمیدرضا یزدی[۱]، سعید سالکی[۱*]

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

دریافت: ۲۲ دی ۸۹ پذیرش: ۱۳ مرداد ۹۰

چکیده

مقدمه: هدف تحقیق حاضر تعیین اثرات مستقیم مدولاسیون نیتریک اکساید بر روی خواص محافظتی الکتروفیزیولوژی گره دهلیزی بطنی در مدل آزمایشگاهی فیبریلاسیون دهلیزی در خرگوش می باشد.

روش ها: گستره های جداشده تغذیه شده گره دهلیزی بطنی خرگوش در دو گروه استفاده شدند. در گروه اول (N=7) ال-نیم (۵۰ میکرومولار) به کار برده شد. در گروه دوم (N= 12) غلظت های مختلف ال-آرژنین (۲۵۰-۵۰۰۰ میکرومولار) به محلول اضافه شد. پروتکل های تحریکی جهت محاسبه زمان هدایت گره دهلیزی بطنی و تحریک ناپذیری و ناحیه پنهان استفاده شدند. فیبریلاسیون دهلیزی، با استفاده از نرم افزار با فواصل تحریکی (۷۵- ۱۲۵ میلی ثانیه) اجرا شد.

یافته ها: ال-نیم اثرات مهاری در خواص پایه گره دهلیزی بطنی داشت. ال-آرژنین اثرات مهاری مستقیم بر روی زمان هدایت گره ای ، ونکباخ و تحریک ناپذیری داشت. افزایش در تعداد ضربانات پنهان در حضور ال-آرژنین (۵۰۰ میکرومولار)مشاهده شد. تعداد ضربانات پنهان از ۳۳/۷ ± ۷۰۰/۷ به ۲۱ ± ۷۶۳ میلی ثانیه افزایش یافت (P< ۰/۰۵). افزایش ناحیه پنهان در یک مدل وابسته به سرعت توسط ال-آرژنین (۲۵۰-۵۰۰۰ میکرومولار) ازبین رفت.

نتیجه گیری: نیتریک اکساید در غلظت های پائین (در حضور ال-نیم) نقش تسهیل کننده بر روی خواص گره دهلیزی بطنی داشت ولی در غلظت های بالا(در حضور ال-آرژنین) نقش محافظتی گره را در طول فیبریلاسیون دهلیزی افزایش داد. نقش دوگانه نیتریک اکساید ممکن است بر رفتار محافظتی گره در طی فیبریلاسیون دهلیزی موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: نیتریک اکساید، گره دهلیزی بطنی، الکتروفیزیولوژی، هدایت پنهان، فیبریلاسیون دهلیزی

مقدمه

یکی از شایعترین انواع تاکی کاردی های فوق بطنی، فیبریلاسیون دهلیزی است که در بالغین شیوع بیشتری دارد [۴]. پیش بینی شده که میزان شیوع فیبریلاسیون دهلیزی تا سال ۲۰۵۰ به ۵٪-۲ جمعیت عمومی می رسد [۵]. فیبریلاسیون دهلیزی نه تنها با افزایش هزینه برای جامعه همراه است بلکه کیفیت زندگی را نیز کاهش داده و می تواند با

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: vaph99@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Archive of SID
www.SID.ir

مرگ و میر ناشی از ترمبو آمبولی، نارسایی قلبی و اختلالات مغزی همراه باشد. فیبریلاسیون دهلیزی اغلب با تاکی کاردی حمله ای فوق بطنی (PSVT) نیز همراه است و وقوع تاکی آریتمی های فوق بطنی نیز احتمال فیبریلاسیون دهلیزی را افزایش می دهد که مکانیسم این پدیده را دوباره الگوسازی الکتریکی دهلیزها و گره دهلیزی بطنی در سرعت بالای تحریک ضربانات پایه در زمان آریتمی می دانند [۲۲].

با این وجود ارتباط بین ترکیبات اندوژن در داخل قلب و الگوسازی دوباره الکتروفیزیولوژیک هنوز مشخص نشده است.

نقش محافظتی گره دهلیزی بطنی در زمان آریتمی های دهلیزی و تاکی آریتمی های فوق بطنی با استفاده از مکانیسم های الکتروفیزیولوژیک ذاتی و تحت تاثیر گیرنده های ترکیبات مختلف داخل قلب مانند گیرنده های آدرنرژیک، کولینرژیک، آدنوزین مدتهاست که شناخته شده است [۱۸،۱۹].

با این وجود نقش تنظیمی نیتریک اکساید در این اثرات در پرده ای از ابهام است. گره دهلیزی- بطنی بعنوان مکان طبیعی ایجاد و کنترل آریتمی های فوق بطنی و آریتمی های بطنی و کنترل ضربانات بطنی در زمان فیبریلاسیون دهلیزی مطرح می باشد. سرعت ضربانات نامنظم بطنها در طی فیبریلاسیون دهلیزی، توسط مکانیسم های حفاظتی الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی مشخص می گردد [۱۵]

دو مکانیسم عمده حفاظتی گره دهلیزی بطنی در کنترل سرعت بطنها توسط پدیده هدایت پنهان و الگوی تحریک ناپذیری در گره دهلیزی بطنی توضیح داده می شود. هدایت پنهان و تحریک ناپذیری به عنوان مهمترین شاخص های حفاظتی الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی در طی فیبریلاسیون دهلیزی و آریتمی های چرخشی مطرح می باشند [۷،۱۴].

با وجود این تا کنون مطالعات اندکی در ارتباط با نقش ترکیبات اندوژن و اگزوژن در تقویت و تضعیف مکانیسم حفاظتی گره در زمان فیبریلاسیون دهلیزی انجام شده است. وجود غلظت بالای نیتریک اکساید در سلول های میوسیت [۲۱،۱۱،۲] و سنتز و متابولیسم آن در گره دهلیزی-بطنی اثبات شده است.

مطالعات زیادی در ارتباط با نقش تنظیمی سیستم نیتررژیک در پدیده های فیزیولوژیک و پاتولوژیک در بخشهای مختلف قلب و عروق انجام گرفته است [۲۰،۱۱،۲]

نقش نیتریک اکساید را در قلب یک نقش اتوکرین و پاراکرین می دانند [۱۲]. نیتریک اکساید به وسیله یک دسته از آنزیم هایی به نام سازنده نیتریک اکساید (NOS[1]) از تبدیل آمینواسید ال- آرژنین به ال- متیونین بدست می آید [۱۶].

شواهد مختلفی نشان می دهد که نیتریک اکساید می تواند در قسمتهای مختلف قلب و گره دهلیزی بطنی توسط آنزیم های مختلف سازنده نیتریک اکساید تولید شود. در قلب خرگوش مقادیر نیتریک اکساید در طی دیاستول می تواند در حد ۲/۷ میکرومولار در اندوکارد و ۰/۹۳ میکرومولار در میوکارد برسد، در صورتیکه در طی سیستول به کمترین مقدار خود(حدود ۰/۶۷ و ۰/۲۶ میکرومولار) می رسد [۲۵].

از میان آنزیم های سازنده نیتریک اکساید آنزیم eNOS در سلولهای گره دهلیزی بطنی شناسایی شده است. همچنین در پایانه های عصبی سیستم اتونوم که به گره دهلیزی بطنی می رسد، nNOS وجود دارد که می تواند با استفاده از کلسیم، مقادیر زیادی از نیتریک اکساید در گره دهلیزی بطنی آزاد کند [۱۰]. همچنن توجه به این مسئله که غلظت آن در اختلالات مختلف قلبی مخصوصاً ایسکمی، آریتمی و افزایش ضربانات قلبی افزایش می یابد [۲] همگی تاکیدی بر اهمیت نیتریک اکساید در گره دهلیزی-بطنی می باشند. مطالعات قبلی نشان داد که افزایش و کاهش نیتریک اکساید می تواند رفتار وابسته به سرعت گره دهلیزی – بطنی را تغییر دهد [۱۳] در مطالعه فوق، ال آرژنین اثرات مهاری بر روی خواص پایه و وابسته به سرعت گره داشت که اثرات فوق توسط آنتاگونیست گیرنده های بتا از بین رفت. حذف NO اندوژن اثر مهاری مستقیم بر روی خواص الکتروفیزیولوژی گره داشت. نقش دوگانه نیتریک اکساید در گره بصورت اثرات تحریکی در غلظتهای پایین و اثرات مهاری در غلظتهای بالا، از یافته های فوق بود.

با وجود کلیه مطالعات در ارتباط با نقش نیتریک اکساید بر روی گره دهلیزی بطنی و در الگوسازی دوباره دهلیز ها یا بدتر شدن فیبریلاسیون دهلیزی، و با توجه به اهمیت آریتمی های فوق بطنی و کنترل فارماکولوژیک آنها کمتر مطالعه ای در ارتباط با اثرات تنظیمی نیتریک اکساید در زمان فیبریلاسیون

1. Nitric oxide synthetase

www.SID.ir
Archive of SID

دهلیزی در گره دهلیزی بطنی انجام شده است. لذا انجام تحقیقی به منظور بررسی تاثیر مدولاسیون نیتریک اکساید در گره دهلیزی-بطنی در حین فیبریلاسیون دهلیزی ضروری به نظر می رسد. بنابراین هدف تحقیق حاضر تعیین اثرات مستقیم مدولاسیون نیتریک اکساید بر روی خواص محافظتی الکتروفیزیولوژی گره دهلیزی بطنی در مدل آزمایشگاهی فیبریلاسیون دهلیزی در خرگوش می باشد.

مواد و روش ها

آزمایشات فارماکولوژیک: در آزمایش های انجام شده، از خرگو ش های نر نژاد نیوزلندی (تهیه شده از انیستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی 2-1/5 کیلوگرم استفاده شد. تمام خرگوش ها قبل از آزمایش در خانه حیوانات و در قفس های مخصوص با رعایت چرخه نور- تاریکی (12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در زمان اجرای آزمایش، حیوانات با هپارین (5mg/kg , IV) و سدیم پنتوباربیتال (35 mg/kg, IV) برای جراحی آماده و بیهوش 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 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 محلو ل به طور پیوسته و با سرعت 200 میلی لیتر در دقیقه توسط پمپ پریستالتیک تغذیه شد. همچنین با استفاده از یک کانول، پرفیوژن کرونر به صورت معکوس با استفاده از پمپ پریستالتیک 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 الکترود 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. سپس به کمک الکترود 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 (95 درصد) و دی اکسید کربن (5 درصد) فوق اشباع شده و با درجه حرارت 37± 0/1 سانتیگراد،pH= 7.4 ± 0.1 و حجم 6 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:

NaCl (128), KCl (4.7), CaCl2 (2), MgCl2 (1)
NaHCo3 (25), NaH2Po4 (0.7), Dextrose (11.1)

پروتکل های تحریکی پایه 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): درطی این پروتکل بعد از 10 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 متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل از رسیدن به بلوک دهلیزی-گره ای است.

زمان تحریک نا پذیری کارکردی Functional): (Refractory Period = FRP عبارت است از کوتاه ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H 2) که در طی یک پروتکل تحریکی به دست می آید.

پروتکل های تحریکی: فیبریلاسیون دهلیزی (AF): از پروتکل تحریک تصادفی با سرعت بالا جهت ایجاد فیبریلاسیون دهلیزی توسط رایانه استفاده شد. حداقل و حداکثر فاصله بین تحریکات 75 تا 125 میلی ثانیه و کل زمان اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی 1500 تحریک در بازه زمانی 5 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

Archive of SID
www.SID.ir

بعدی موثر باشد. هدایت پنهان با استفاده از ضربه پنهان تعریف گردید، بدین صورت که بعد از ضربه پنهان تحریکات آزمایشی فرستاده شده و سپس اثرات این ضربانات پنهان بر روی هدایت گره ای به صورت منحنی هدایت پنهان رسم می شود (شکل ۱).

ناحیه پنهان (zone of concealment): ناحیه پنهان دراین تحقیق به دو روش انداز گیری شد:

۱) با استفاده از پروتکل ریکاوری ناحیه پنهان بصورت تفاضل بین زمان تحریک ناپذیری گره‌ای و دهلیزی مشخص گردید. منحنی هدایت پنهان با استفاده از ضربه پنهان به صورت ذیل نشان داده می شود.

۲) استفاده از سرعت های مختلف در پروتکل ریکاوری: 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 شد و در هر بار ناحیه پنهان از طریق تفاضل بین زمان تحریک ناپذیری دهلیزی و زمان تحریک ناپذیری گره ای مشخص گردید.

مقایسه بین دو گروه با تست مقایسه جفتی (Paired t-test two-tail p value) انجام شد. جهت بدست آوردن و آنالیز داده ها از کامپیوتر و نرم افزار استفاده شد و سوگرایی محقق(Bias) در جمع آوری داده ها دخالت نداشت.

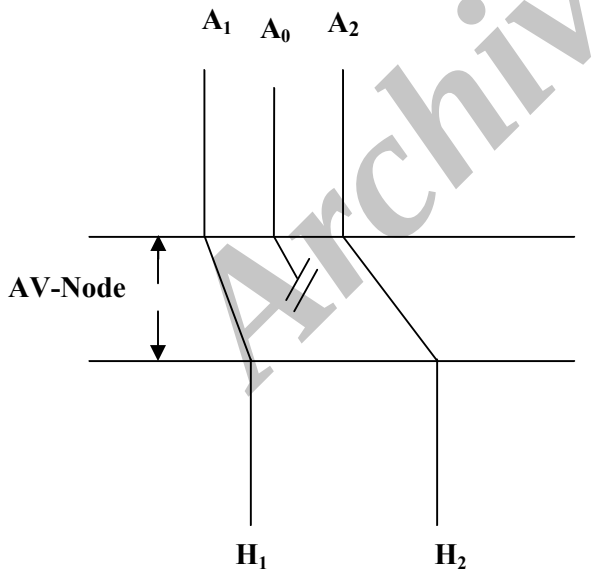
تمام نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است و $p<۰/۰۵$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد. نرم افزار استفاده شده جهت قسمتهای آماری Graph pad prism 5 بود.

کلیه مواد تشکیل دهنده محلول از شرکت MERCK آلمان، هپارین و سدیم تیوپنتال از شرکت ROTEXMEDICA،L-NAME (ω-Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride) و L-Arginine از Sigma فراهم شد.

طراحی آزمایش: کلیه آزمایشات در۲ گروه، در گروه اول از ۷ نمونه و در گروه دوم بین ۷-۱۲ نمونه انجام شد. پروتکلهای تحریکی قبل و بعد از افزودن دارو روی نمونه اجرا می شد. مدت زمان تماس دارو با بافت قبل از شروع اجرای پروتکلهای تحریکی برای L-NAME و L-Arginine بیست دقیقه بود. غلظتهای L-Arginine بر اساس مطالعات قبلی [۱۳] غلظتهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰و ۵۰۰۰ میکرومولار L-Arginine و غلظت موثر۵۰ میکرومولار L-NAME جهت انجام آزمایشات درنظر گرفته شد. کلیه آزمایشات به صورت کنترل (اجرای پروتکل های تحریکی در حضور محلول کربس- هنسلیت) دارو (تکرار پروتکل های تحریکی در حضور دارو) انجام گرفت. زمان پایداری بافت قبل از اجرای پروتکل های تحریکی ۲۰ الی ۳۰ دقیقه بود که غلظت های دارو در محلول کربس هنسلیت در روز آزمایش تهیه شد. شاخص های حذف نمونه شامل ناپایداری بافت در طول اجرای آزمایش که به صورت افزایش معنی دار زمان هدایت تحریک ناپذیری و یا شاخص ونکباخ در بازه زمانی ۳۰ دقیقه ابتدای آزمایش بود.

یافته ها

اثر حذف نیتریک اکساید درون زا از طریق استفاده از مهار کننده غیر اختصاصی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (L-NAME) بر روی پارامترهای هدایت و تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی بیانگر افزایش معنی دار زمان ونکباخ و زمان تحریک ناپذیری کارکردی می باشد. زمان ونکباخ با افزایش

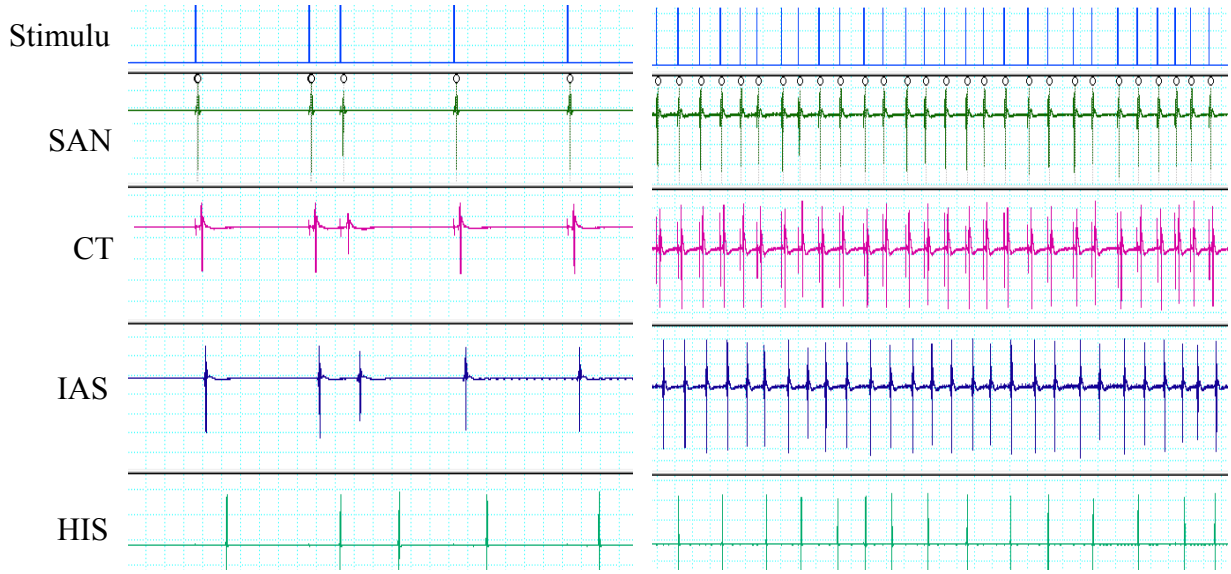


شکل ۱- نمای شماتیک پروتکل اختصاصی ضربه پنهان به کار رفته در این مطالعه. بعد از ۱۵ ضربه پایه (A_1) یک تحریک پنهان انجام شده و سپس اثرات این تحریک پنهان (A_0) بر روی ضربات آزمایشی (A_2) به صورت منحنی پنهان نشان داده می شود. A_1 :آخرین ضربه پایه (۱۵ ضربه)، A_0: ضربه پنهان (یک ضربه)، A_2: ضربه آزمایشی، H_1: ثبت سیگنال هیس بعد از A_1 ، H_2: ثبت سیگنال هیس بعد از تحریک A_2

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- اثرات غلظت ۵۰ میکرو مولار L-NAME بر روی متغیر های فیبریلاسیون دهلیزی. L-NAME تغییری در شاخص هـای فیبریلاسـیون دهلیـزی ایجـاد نکرد.کلیه اعداد به صورت میانگین± خطای استاندارد محاسبه شده اند. H-H max: طولانی ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس، H-H mean: میانگین فاصـله دو ثبت متوالی از دسته هیس، (CC): تعداد بلاک دو ثبت متوالی از دسته هیس، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی)، FRP: زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی)

FRP (msec)	ERP (msec)	CC (msec)	H-H mean (msec)	H-H max (msec)	
78± 1.5	125± 7.5	716.5± 34	197.6± 7.7	401.6±19.4	**Control**
76.2 ±3.2	140± 3.5	741.5± 24	203.4± 6.6	246.6±17.8	**L-NAME (50µm) (n=5)**

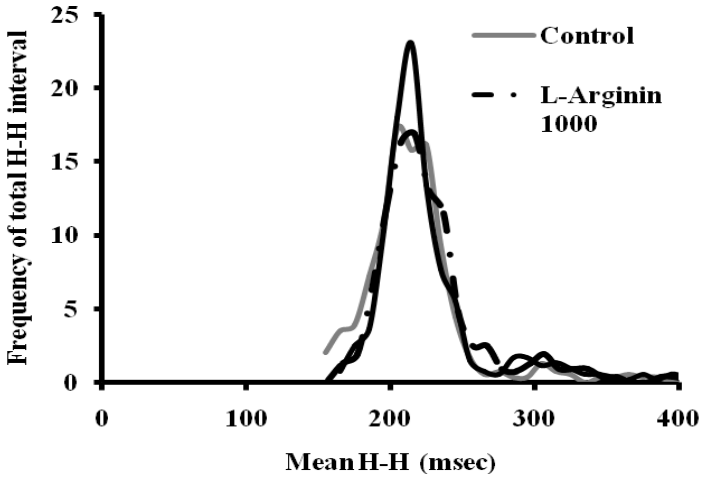


شکل ۲- توسط الکترود تک قطبی از نواحی مختلف گره دهلیزی- بطنی ثبت گرفته شد که به ترتیب زیر مشخص می گردد. شکل A: ثبت سیگنالها در فواصـل مـنظم توسـط تحریکات ریکاوری، شکل B: پروتکل آزمایشی فیبریلاسیون دهلیزی، Stimulus: تحریک، SAN: گره سینوسی دهلیزی، CT: کریستاترمینالیس، IAS: سپتوم بـین دهلیـزی، HIS: دسته هیس

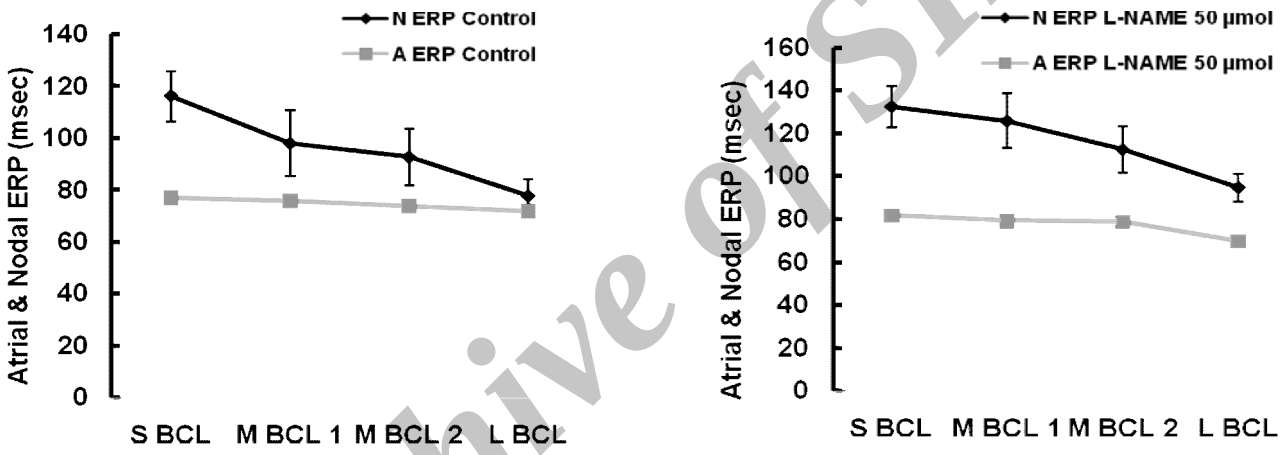
جدول ۲- اثر غلظتهای مختلف L-Arginine بر متغییرهای مختلف پروتکل تحریکی فیبریلاسیون دهلیزی. بعد از افزودن غلظت های مختلف L-Arginine فقـط ای در غلظت ۵۰۰ میکرومولار تعداد حذف گره ای افزایش معنی داری داشته است. کلیه اعداد به صورت میانگین± خطای استاندارد محاسبه شـده انـد.H-H max : طـولانی ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس، میانگین فاصله H-H: میانگین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس، تعداد حذف گره ای (CC): تعداد بلاک دو ثبـت متـوالی از دسته هیس، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی)،FRP: زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی) ، * سطح معناداری در مقایسه با گروه کنترل (P<0.05).

FRP (msec)	ERP (msec)	CC (msec)	H-H mean (msec)	H-H max (msec)	
138.6± 11	75± 2.7	688± 43	219.5± 11.5	472.5± 27	**Control**
137± 12.4	76± 1.8	739± 61	242± 17.5	529± 70	**L-Arg 250 (n=6)**
135± 9	77±2.2	700.7± 33.7	219± 9	475.5± 19	**Control**
138.4± 12.7	75.4± 2.2	*763± 21	251.7±15.7	580.5±50.5	**L-Arg 500 (n=7)**
139.5± 6.4	73± 2.5	709± 38	228.7± 8	485± 19	**Control**
141.7± 9	71.5± 2.5	741± 31	257± 12	573±40	**L-Arg 1000 (n=12)**
140±8.5	71.4±4	724± 60	235± 10.7	494± 27	**Control**
143± 8.7	75.5±4.5	707.7± 40	225± 16	487.7±16	**L-Arg 5000 (n=7)**

www.SID.ir



شکل ۳- منحنی توزیع پراکندگی ثبتهای متوالی دسته هیس قبل و بعد از افزودن دوزهای مختلف ال-آرژنین در حین اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی. این توزیع بعد از افزودن ال-آرژنین در یک مدل غیر وابسته به غلظت، انتقال خفیف به سمت راست داشته است. میانگین فاصله H-H: میانگین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس.



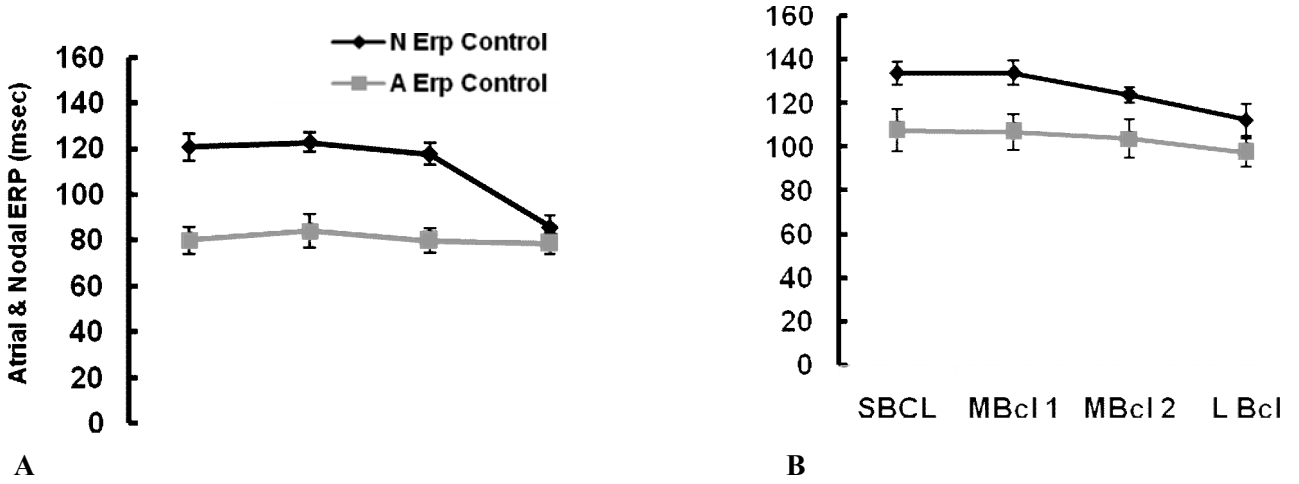
شکل ٤- منحنی ناحیه پنهان قبل و بعد از اضافه کردن ال-نیم (۵۰ میکرومولار) در سرعتهای مختلف تحریک پایه.افزایش ناحیه پنهان عمدتا به علت اثرات حذف نیتریک اکساید بر روی تحریک ناپذیری گره ای ایجاد شده است.SBCL= تحریک پایه کوتاه، MBCL1= تحریک پایه متوسط، MBCL2= تحریک پایه متوسط ۲، LBCL = تحریک پایه طولانی، A ERP= تحریک پذیری دهلیزی، N ERP= تحریک پذیری گره ای

غلظتهای ال-آرژنین افزایش معنی دار داشته است. زمان ونکباخ از ۳ ± ۱۴۶/۵ در کنترل به ۶ ± ۱۶۱/۵ در غلظت ۵۰۰۰ میکرومولار افزایش معنی دار نشان داد (p< ۰/۰۵) و زمان تحریک ناپذیری کارکردی از ۲/۵ ± ۱۵۸/۵ در کنترل به ۴ ± ۱۷۲ در غلظت ۵۰۰۰ میکرومولار افزایش معنی دار داشت (p< ۰/۰۵). در صورتیکه زمان هدایت و ERP تغییر معنی داری نداشت.

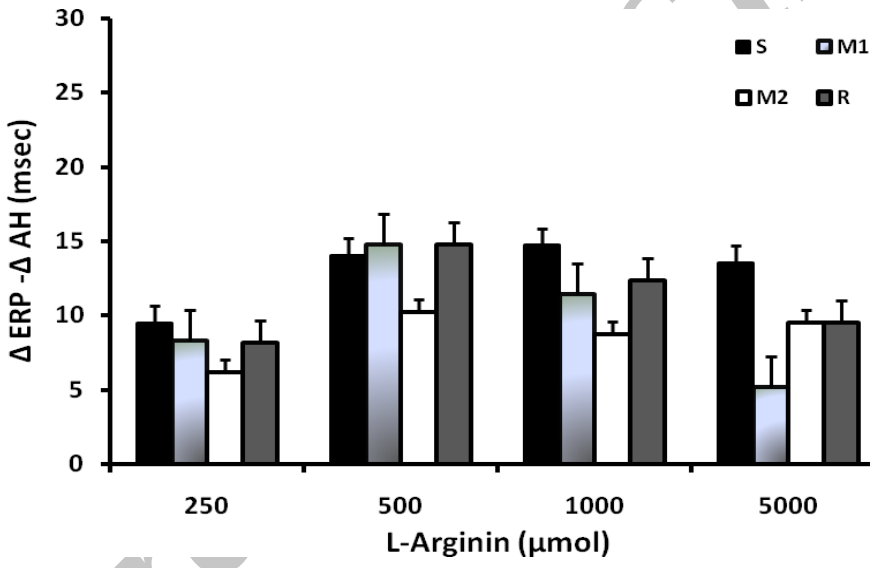
اثرات غلظتهای مختلف L-Arginine بر روی پارامترهای هدایت و تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی بیانگر افزایش معنی دار در زمان وقوع بلوک ۲ به ۱ گره دهلیزی (شاخص ونکباخ) و تحریک ناپذیری موثر و کارکردی گره دهلیزی بطنی در غلظتهای مختلف می باشد (p<۰/۰۵).

اثرات L-NAME در تغییر رفتار گره دهلیزی بطنی در حین اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی در جدول ۱ خلاصه شده است. همانطورکه در جدول ۱ مشاهده می شود، تغییر معنی داری در پارامترهای گره ای در زمان اجرای فیبریلاسیون دهلیزی مشاهده نشد. اثر دوزهای مختلف ال-آرژنین در تغییر رفتار گره دهلیزی بطنی در حین اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی در جدول ۲ خلاصه شده است. همانطورکه در این جدول مشاهده می شود، فقط تعداد حذف گره ای در دوز ۵۰۰

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۵- اثرات غلظتهای مختلف ال آرژنین (۲۵۰، ۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکرومولار) بر روی ناحیه پنهان در سرعتهای مختلف تحریکات پایه. SBCL=تحریک پایه کوتاه، MBCL1= تحریک پایه متوسط، MBCL2= تحریک پایه متوسط ۲، LBCL = تحریک پایه طولانی، A ERP= تحریک پذیری دهلیزی، N ERP= تحریک پذیری گره ای، A= کنترل، B= غلظت ۵۰۰۰ میکرومولار ال-آرژنین



شکل ٦- اثرات ال-آرژنین در تغییر ایندکس تحریک پذیری گره. E.G.I= ایندکس تحریک پذیری که برابر است با اختلاف بین تغییرات تحریک ناپذیری موثر و تغییرات زمان هدایت، *S*= آهسته، M1= متوسط، M2= متوسط ۲، R = سریع

میکرومولار افزایش معنی داری داشته است و سایر پارامترها تغییر معنی داری نداشته اند. توزیع تک قله ای پراکندگی ثبتهای متوالی بیانگر هدایت ضربانات قلبی در طول فیبریلاسیون دهلیزی می باشد. این توزیع بعد از افزودن ال-آرژنین در یک مدل غیر وابسته به غلظت، انتقال خفیف به سمت راست داشته است (شکل ۳).

جهت مشخص کردن ارتباط بین اثرات حذف نیتریک اکساید بافتی بر روی ناحیه پنهان و تعیین آنکه آیا این اثرات عمدتا به علت کاهش تحریک ناپذیری دهلیزی و یا افزایش تحریک ناپذیری گره ای می باشد و همچنین جواب به این سئوال که آیا تاثیر L-NAME وابسته به سرعت آریتمی است یا خیر پروتکل هدایت پنهان در سرعت های مختلف تحریکات پایه انجام گرفت (شکل ۴) اجرای پروتکل هدایت پنهان در سرعت های مختلف بیانگر افزایش غیر معنی دار ناحیه پنهان بعد از حذف نیتریک اکساید گره ای می باشد (شکل ۴).

اثرات غلظتهای مختلف ال-آرژنین بر روی زمان تحریک ناپذیری گره ای و دهلیزی در سرعتهای مختلف تحریکات پایه در (شکل ۵) نشان داده شده است. ناحیه پنهان همزمان با

www.SID.ir

افزایش غلظت ال-آرژنین کاهش می یابد و منحنی ناحیه پنهان به سمت بالا منتقل می شود. بیشترین کاهش در ناحیه پنهان در غلظتهای ۲۵۰ و ۵۰۰۰ میکرومولار دیده شد و افزایش غیر معنی دار در غلظت ۵۰۰ میکرومولار دیده شد.

ایندکس تحریک پذیری گره دهلیزی بطنی از اختلاف بین زمان تحریک ناپذیری موثر و زمان هدایت گره ای در هر غلظت به دست می آید. اثرات غلظت های مختلف ال-آرژنین در تغییر ایندکس تحریک پذیری گره در (شکل ۶) نشان داده شده است. همانطور که در این منحنی می بینید، بیشترین اثرات ال-آرژنین در غلظت ۵۰۰ میکرومولار مشاهده شد.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که نیتریک اکساید نقش دوگانه و متناقضی در تنظیم خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی داشته است. بدین صورت که در غلظتهای کم نقش تحریکی (دورموتروپیک مثبت) و در غلظتهای بالا نقش مهاری (دورموتروپیک منفی) ظاهر می شود. در واقع پیشساز سنتز نیتریک اکساید توانست فاکتورهای محافظتی گره دهلیزی بطنی را در زمان فیبریلاسیون دهلیزی تقویت کند و مهار سنتز نیتریک اکساید اندوژن توانست شاخص های الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی را در زمان فیبریلاسیون دهلیزی تضعیف کند و سبب افزایش ناحیه پنهان، کاهش ضربانات بطن ها و افزایش تعداد ضربانات پنهان در زمان فیبریلاسیون دهلیزی شود.

شواهد مختلفی نشان می دهد که نیتریک اکساید می تواند در قسمتهای مختلف قلب و گره دهلیزی بطنی توسط آنزیم های مختلف سازنده نیتریک اکساید تولید شود. در قلب خرگوش مقادیر نیتریک اکساید در طی دیاستول می تواند در حد ۲/۷ میکرومولار در اندوکارد و ۰/۹۳ میکرومولار در میوکارد برسد، در صورتیکه در طی سیستول به کمترین مقدار خود (حدود ۰/۶۷ و ۰/۲۶ میکرومولار) می رسد. غلظتهای نیتریک اکساید در قلب موش صحرایی، ۱۵٪ کمتر از غلظتهای نیتریک اکساید در قلب خرگوش است [۲۵]. یافته های فوق با اثبات وجود سیستم نیتررژیک در گره دهلیزی بطنی، تایید کننده نقش احتمالی این ماده ناقل عصبی شیمیایی در تنظیم فعالیت گره دهلیزی بطنی می باشد. مطالعات قبلی نشان داده اند که نیتریک اکساید می تواند به صورت وابسته به غلظت، اثرات متفاوتی را بر روی گره دهلیزی-بطنی داشته باشد [۲۰،۹]

نیتریک اکساید اثرات ضدونقیض و دوفازی روی کانالهای Ica اعمال می کند. در غلظت کم با استفاده از آزاد کننده های نیتریک اکساید، Ica تحریک شده در صورتیکه در غلظتهای بالاتر از یک میکرومولار اثرات مهاری بر روی کانال فوق دارد و جالب است بدانیم که Ica مهمترین جریان دپلاریزاسیون در سلولهای گره ای می باشد [۲۵].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کاهش نیتریک اکساید بافتی سبب کاهش اثرات تسهیلی آن در هدایت و تحریک ناپذیری گره ای می شود. تحقیق قبلی توسط این آزمایشگاه نشان داد که ال-آرژنین اثر مهاری یکسانی در خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی 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 دهلیزی بطنی مشابه تحقیق حاضر داشت [۱].

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 [۶،۱۷]. اثرات مستقیم ال – نیم احتمالا به دلیل اثرات مستقیم این مهارکننده بر روی کانال های یونی و مخصوصاً پمپ سدیم-پتاسیم وابسته به انرژی می باشد [۸].

این نتایج در تایید یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که حداقل قسمتی از اثرات مستقیم مهارکننده آنزیم NOS (L-NAME) سبب افزایش خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی گردید. بنابراین مهارکننده سنتز نیتریک اکساید (L-NAME) می تواند احتمالا با مکانیسم دوگانه (اثرات مستقیم، اثرات وابسته به نیتریک اکساید درون زا) اثرات وابسته به غلظت، سبب تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی گردد. بنابراین مطالعه حاضر نشان داد که کاهش نیتریک اکساید گره ای می تواند اثرات مهاری در خواص پایه الکتروفیزیولوژیک وابسته به سرعت گره ایجاد کند. سئوال اصلی اینجاست که آیا این تغییر الگوی الکتروفیزیولوژیک می تواند سبب تغییر رفتار دفاعی گره دهلیزی بطنی در زمان آریتمی دهلیزی شود؟ نتایج اثرات مهارکننده و تحریک کننده

Archive of SID
www.SID.ir

نیتریک اکساید، در زمان فیبریلاسیون دهلیزی نشان دهنده اثرات وابسته به غلظت نیتریک اکساید بر روی ناحیه پنهان و هدایت پنهان و تحریک ناپذیری گره ای می باشد، به صورتیکه ناحیه پنهان در شرایط کاهش نیتریک اکساید بافتی و افزایش بیش از حد آن، افزایش پیدا کرد و همچنین تعداد ضربانات بطنها در طی فیبریلاسیون دهلیزی کاهش پیدا کرد.

در ارتباط با نقش نیتریک اکساید در زمان فیبریلاسیون دهلیزی مطالعات مختلفی انجام شده است. در مدلهای حیوانی تحریک پیوسته دهلیزها سبب کاهش تحریک ناپذیری دهلیزی و ایجاد فیبریلاسیون دهلیزی می شود. در همان زمان بیان ژن eNOS در سلولهای اندوکارد کاهش یافته و تولید نیتریک اکساید و در دسترس بودنش در دهلیز چپ (ولی نه در دهلیز راست و آئورت) کاهش پیدا می کند. علاوه بر آن، iNOS ایجاد رادیکالهای آزاد اکسیژن کرده که سبب آسیب اکسیداتیو دهلیزی و دوباره الگوسازی الکتروفیزیولوژیک دهلیزها می شود [۲۴]. کاهش غلظت نیتریک اکساید در دهلیز ها در زمان فیبریلاسیون دهلیزی، سبب کوتاه شدن کفه و پتانسیل عمل و ایجاد دوباره الگوسازی آریتمی و استمرار آریتمی می شود [۲۴]. تمامی این یافته ها بیانگر نقش نیتریک اکساید در دوباره الگوسازی دهلیزها در زمان فیبریلاسیون دهلیزی است ولی تحقیق حاضر به دنبال یافتن اثرات تنظیمات نیتریک اکساید در دوباره الگوسازی گره ای در زمان فیبریلاسیون دهلیزی می باشد. ال-آرژنین در تحقیق حاضر توانست در یک مدل وابسته به غلظت، سبب افزایش تحریک ناپذیری گره ای گردد ولی حتی در غلظتهای بالا سبب افزایش هدایت گره ای نشد. همچنین ال-آرژنین توانست با افزایش زمان تحریک ناپذیری دهلیزی ایندکس تحریک پذیری گره ای را افزایش دهد. کاهش غیر معنی دار سرعت بطنها همراه با افزایش ناحیه پنهان و تحریک ناپذیری گره ای در هنگام وقوع فیبریلاسیون دهلیزی توسط ال-آرژنین بیانگر نقش احتمالی ضعیف ضد آریتمی ال-آرژنین در کاهش و یا خاتمه آریتمی های گره دهلیزی بطنی می باشد، که این افزایش در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بیشتر از سایر غلظتها بود با این حال دوباره الگوسازی متفاوت وابسته به غلظت گره ای در مطالعه حاضر نشان داده شد.

جواب بالینی بطن ها در فیبریلاسیون دهلیزی مشخصا به صورت فواصل نامنظم بطنی ظاهر می شود اگر چه دلیل اصلی این آشوب مشخص نیست ولی دو مکانیسم در ایجاد آن موثر است:

۱- پدیده هدایت پنهان و ناحیه پنهان درگره دهلیزی -بطنی
۲- زمان تحریک ناپذیری گره ای.

بر اساس تئوری هدایت پنهان، گره دهلیزی بطنی مانند محل گذری است که بسته به خاصیت تحریک ناپذیری گره و نحوه ورود امواج به صورت تصادفی اجازه عبور امواج را به بطن ها می دهد [۳]. با نگاهی به نتایج تحقیق متوجه می شویم که ال-آرژنین از طریق تاثیر بر روی شاخص تحریک ناپذیری گره ای سبب کاهش ضربانات بطن ها و تقویت نقش محافظتی گره دهلیزی بطنی در هنگام وقوع فیبریلاسیون دهلیزی می شود.

از طرفی نتایج تحقیقات قبلی نشان داد که داروهای بلوک کننده کانال کلسیم مانند دلتیازم می تواند از طریق تاثیر بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی سبب کاهش ضربانات بطنها و افزایش ناحیه پنهان در گره دهلیزی بطنی شود [۲۳]. مطالعات بیشتر با استفاده از تکنیک های سوزاندن گره ای و ثبت داخل گره ای جهت تعیین اثرات ال-آرژنین بر روی گره دهلیزی بطنی جهت مشخص شدن مکانیسم دقیق اثرات ضد آریتمی این دارو نیاز می باشد. در ارتباط با نقش هدایت پنهان و اهمیت آن در کنترل تعداد ضربانات بطن ها در طول آریتمی در انسان، مطالعات مختلفی از چهل سال قبل آغاز شده است [۱۴]. افزایش در هدایت پنهان و ناحیه پنهان می تواند سبب افزایش تحریک ناپذیری و آهسته شدن سرعت ضربانات بطن ها در هنگام آریتمی شود. در مطالعه حاضر تقویت نقش حفاظتی گره دهلیزی بطنی توسط ال-آرژنین در ارتباط با افزایش ناحیه پنهان در یک مدل وابسته به غلظت و سرعت بود و هدایت پنهان تحت تاثیر ال-آرژنین با غلظت ۵۰۰ میکرومولار افزایش پیدا کرد در حالی که در سایر غلظتها اگرچه زمان تحریک ناپذیری گره ای و دهلیزی بعد از دوزهای مختلف ال-آرژنین افزایش پیدا کرد ولی ناحیه پنهان تغییر چندانی را نشان نداد و حتی در غلظتهای ۲۵۰ و ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ میکرومولار کاهش پیدا کرد. این رفتار متناقض ال-آرژنین در تغییر ناحیه پنهان در غلظتهای ۵۰۰ میکرومولار که سبب کاهش غیر معنی دار سرعت ضربانات بطنها و افزایش معنی دار تعداد ضربانات پنهان گردید، نشان دهنده آن است که در

www.SID.ir
Archive of SID

غلظت ۵۰۰ میکرومولار افزایش ناحیه پنهان می تواند احتمالا مکانیسم اصلی ضد آریتمی ال-آرژنین می باشد.

ال آرژنین اثرات مهاری بر روی خواص پایه و وابسته به سرعت گره داشت که اثرات فوق توسط آنتاگونیست گیرنده های بتا از بین رفت. حذف NO اندوژن اثر مهاری مستقیم بر روی خواص الکتروفیزیولوژی گره داشت. نقش دوگانه نیتریک اکساید در گره بصورت اثرات تحریکی در غلظتهای پایین و اثرات مهاری در غلظتهای بالا، از یافته های فوق بود [۱۳]. نتایج تحقیق حاضر مطابق با یافته های قبلی، نقش دوگانه تحریکی و مهاری نیتریک اکساید را در گره دهلیزی –بطنی نشان داد .در مطالعه قبلی اثرات نیتریک اکساید در مدل فیبریلاسیون دهلیزی مطالعه شده بود. در صورتیکه اندازه گیری ایندکس تحریک پذیری در مطالعه حاضر بیانگر اثرات غلظتهای بالای نیتریک اکساید (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) در افزایش ایندکس تحریک پذیری در گره دهلیزی بطنی است و تایید کننده آن است که بیشترین اثر محافظتی نیتریک اکساید بر روی گره دهلیزی بطنی در غلظتهای فوق دیده می شود.

آستانه تحریک پذیری یا اختلاف بین زمان تحریک ناپذیری موثر و زمان هدایت گره ای به عنوان شاخص ضد آریتمیک داروهای بلوک کننده کانال کلسیمی محسوب می شود. داروهای افزایش دهنده این ایندکس می توانند سبب خاتمه تاکی آریتمی های فوق بطنی شوند. در مطالعه آقای تالاجیک[1] و همکارانش نشان داده شده است که داروهایی که می توانند سبب افزایش زمان هدایت شوند، سرعت آریتمی چرخشی گره دهلیزی بطنی (AVNRT) را کم کنند و داروهایی که سبب افزایش تحریک ناپذیری موثر شوند، می توانند آریتمی فوق را خاتمه دهند [۲۳]. همچنین داروهایی که آستانه ایندکس تحریک پذیری را در یک مدل وابسته به سرعت افزایش دهند، می توانند به عنوان داروهای موثر در خاتمه AVNRT مطرح باشند [۱۸]. در تحقیق حاضر، غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ال–آرژنین توانست آستانه تحریک پذیری گره ای را افزایش دهد، هر چه آستانه تحریک پذیری گره ای بالاتر از یک باشد، می تواند بیانگر اثرات ضد آریتمی چرخشی (AVNRT) ال–آرژنین باشد. بنابراین نیتریک اکساید در غلظت بالا علاوه بر تاثیری که بر روی دهلیزها یا بطنها در جلوگیری از آریتمی های دهلیزی ویا بطنی می تواند داشته باشد، در درمان آریتمی های چرخشی گره ای (AVNRT) نیز می تواند کاربرد داشته باشد [۲۳].

اثرات نیتریک اکساید در غلظت کم بیانگر تغییر یا دوباره الگو سازی گره دهلیزی بطنی در جهت اثرات پیش زمینه ای آریتمی می باشد. بدین صورت که حذف نیتریک اکساید توسط آنزیم غیر اختصاصی NOS، سبب افزایش ناحیه پنهان و کاهش غیر معنی دار سرعت بطنها گردید. در تایید مطالعات مختلف قبلی در نقش دوگانه و متناقض نیتریک اکساید بر روی کانالهای کلسیم و بر روی ضربانات گره سینوسی دهلیزی، نتایج این تحقیق نیز بیانگر اثرات تضعیف کننده ضد آریتمی گره دهلیزی بطنی در غلظت کم نیتریک اکساید بافتی است.

از جمله مهمترین محدودیتهای مطالعه فوق میتوان به عدم اندازه گیری NO بافتی و حذف نکردن تاثیرات مستقیم سیستم اتونوم با استفاده از آنتاگونیستهای رسپتور سمپاتیک و کلی نرژیک اشاره کرد. مانند سایر اثرات نیتریک اکساید در بطنها و دهلیزها، نقش دوفازی نیتریک اکساید در دوباره الگوسازی الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی در تحقیق حاضر مشخص شد. بدین صورت که در غلظت کم نیتریک اکساید نقش افزایش تحریک پذیری در خواص گره دهلیزی بطنی اعمال نموده و این اثرات در غلظت بالا به صورت اثرات محافظتی در کاهش سرعت ضربانات بطنها در زمان فیبریلاسیون دهلیزی ظاهر شد.

سپاسگزاری

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

1. Talajic

www.SID.ir
Archive of SID

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. ***J Physiol Pharmacol*** 1(2005) 1-7.

[2] Balligand JL, Cannon P J, Nitric oxide synthesis and cardiac muscle, Autocrine and paracrine influences arteriosclerosis. ***Arterioscler Thromb VascBiol*** 17 (1997) 1846-58.

[3] 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*** 91 (1995) 1086-94.

[4] Blurton DJ, Dubin AM, Chiesa NA, Van Hare GF, Collins KK, Characterizing dual atrioventricular nodal physiology in pediatric patients with atrioventricular nodal reentrant tachycardia. ***J Cardiovasc Electrophysiol*** 17 (2006) 638-44.

[5] Camm AJ, Savelieva I, New antiarrhythmic drugs for atrial fibrillation: focus on dronedarone and vernakalant. ***J Interv Card Electrophysiol*** 23 (2008) 7-14.

[6] Chowdhary S, Townend JN, Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. ***Clin Sci (Lond)*** 97 (1999) 5-17.

[7] Garrigue SX, Mazgalev TN, Role of the AV Nodal inputs for Modulation of the ventricular Rate during atrial fibrillation. In: Mazgalev TN, Tchou PJ. ***Atrial-AV Nodal Electrophysiology: A view from the Millennium***, NY: Futur a publishing company Armonk, 2000, p. 269-73.

[8] 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*** 266(1994) H2146-51.

[9] Han X, Kobzik L, Balligand JL, Kelly RA, Smith TW. Nitric oxide synthase (NOS3)-mediated cholinergic modulation of Ca2+ current in adult rabbitatrioventricular nodal cells. ***Circ Res*** 78(1996) 998-1008.

[10] Han X, Kobzik L, Zhao YY, Opel DJ, Liu WD, Kelly RA, Smith TW. Nitric oxide regulation of atrioventricular node excitability. ***Can J Cardiol*** 13(1997)1191-201.

[11] Jansen JA, van Veen TA, de Bakker JM, van Rijen HV, Cardiac connexins and impulse propagation. ***J Mol Cell Cardiol*** 48(2010) 76-82.

[12] Kelly RA, Balligand JL, Smith TW, Nitric oxide and cardiac function. ***Circ Res*** 79 (1996) 363-80.

[13] Khori Vahid, Davarian Ali, Nayebpour Mohsen, Saleki Saeed, Salehi Aref, Shirafkan Ahmadali, Effect of nitric oxide modulation on the basic and rate-dependent lectrophysiological properties of AV-node in the isolated heart of rabbit: The role of adrenergic and cholinergic receptors. ***J Physiol Pharmacol*** 14 (2010) 12-22.

[14] Liu S, Olsson SB, Yang Y, Hertervig E, Kongstad O, Yuan S, Concealed conduction and dual pathway physiology of the atrioventricular node. ***J Cardiovasc Electrophysiol*** 15 (2004) 144-9.

[15] Lee KW, Badhwar N, Scheinman MM, Supraventricular Tachycardia-part I.***Curr probl Cardiol*** 33 (2008) 467-546.

[16] Martynyuk AE, Kane KA, Cobbe SM, Rankin AC, Role of nitric oxide, cyclic GMP and superoxide in inhibition by adenosine of calcium current in rabbit atrioventricular nodal cells. ***Cardiovasc Res*** 34 (1997) 360-7.

[17] 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*** 15 (2000) 311-20.

[18] Nayebpour M, Talajic M, Nattel S. Effects of beta-adrenergic receptor stimulation and blockade on rate-dependent atrioventricular nodal properties. ***Circ Res*** 70(992) 902-11.

[19] Nayebpour M, Talajic M, Villemaire C, Nattel S. Vagal modulation of the rate-dependent properties of the atrioventricular node. ***Circ Res*** 67(1990) 1152-66.

[20] Paterson DJ. Nitric oxide and the autonomic regulation of cardiac excitability. ***Exp Physiol*** 86(2001) 1-12.

[21] Pinsky DJ, Patton S, Mesaros S, Brovkovych V, Kubaszewski E, Grunfeld S,Malinski T, Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart. ***Circ Res*** 81(1997) 372-9.

[22] Shiroshita A, Mitamura H, Ogawa S, Nattel S. Rate-dependence of atrial tachycardia effects on atrial refractoriness and atrial fibrillation maintenance. ***Cardiovasc Res*** 81 (2009) 90-97.

Archive of SID

www.SID.ir

[23] Talajic M, Lemery R, Roy D, Villemaire C, Cartier R, Coutu B, Rate-dependent effects of diltiazem on human atrioventricular nodal properties. ***Circulation*** 86 (1992) 870-7.

[24] Talajic M, Nayebpour M, Jing W, Nattel S, Frequency-dependent effects of diltiazem on the atrioventricular node during experimental atrial fibrillation. ***Circulation*** 80 (1989) 380-9.

[25] Tamargo J,Caballero R, Gomes R,Depon E. Cardiac electrophysiological effects of nitric oxide. ***Cardiovasc Res*** 87 (2010) 593-600.

Archive of SID

www.SID.ir