

نقش آدنوزین در اثرات محافظتی سیمواستاتین بر خواص گره دهلیزی- بطنی در مدل فیبریلاسیون دهلیزی ایجاد شده در قلب ایزوله خرگوش

چکیده

وحید خوری^۱
فاطمه علیزاده^۱
علی محمد علیزاده^{۲*}
اردشیر بنی کریم^۱

۱- مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
۲- مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۸/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۱

زمینه و هدف: مطالعات گذشته نقش حفاظتی سیمواستاتین در تاکی آریتمی‌های بطنی و فوق بطنی را نشان دادند. هدف مطالعه حاضر، نقش آدنوزین در اثرات محافظتی سیمواستاتین بر گره دهلیزی- بطنی در مدل فیبریلاسیون دهلیزی قلب ایزوله خرگوش می‌باشد.

روش بررسی: مطالعه حاضر به صورت تجربی در مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی گلستان از شهریور تا اسفند سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. پروتکل‌های تحریکی ریکاوری و فیبریلاسیون دهلیزی برای بررسی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی- بطنی ایزوله در پنج گروه خرگوش نر نژاد نیوزلندی (۴۰ نمونه) در محدوده وزنی ۱/۸-۲/۵kg استفاده شد. کلیه پروتکل‌های تحریکی در حضور CPX (8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine) به‌عنوان آنتاگونیست و دیپیریدامول به‌عنوان آگونیست گیرنده A₁ آدنوزین به‌همراه سیمواستاتین تکرار گردید.

یافته‌ها: مهار قابل توجهی در خواص پایه گره نظیر افزایش معنی‌دار در ونکه باخ و زمان تحریک ناپذیری گره‌ای با سیمواستاتین مشاهده گردید ($P < 0/05$). اثرات سیمواستاتین در پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی به‌صورت طولانی شدن فاصله بین دو انقباض متوالی بطن‌ها و افزایش ضربان‌های پنهان دیده شده است ($P < 0/05$). تاثیر دیپیریدامول در حضور سیمواستاتین نیز بر پارامترهای محافظتی پایه گره و همچنین فیبریلاسیون دهلیزی و ناحیه پنهان به‌صورت افزایش معنی‌دار بوده است ($P < 0/05$) اما CPX سبب کاهش غیر معنی‌دار در اثرات محافظتی سیمواستاتین گردید.

نتیجه‌گیری: کاربرد آگونیست آدنوزین در مطالعه حاضر توانست خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی- بطنی را در حضور سیمواستاتین تقویت کند ولی آنتاگونیست آن نتوانست مانع از اثرات سیمواستاتین گردد که به احتمال بیان‌گر عدم تاثیر مستقیم سیستم آدنوزین و رسپتورهای آن در مکانیسم حفاظتی سیمواستاتین می‌باشد.

کلمات کلیدی: گره دهلیزی- بطنی، فیبریلاسیون دهلیزی، سیمواستاتین، آدنوزین.

* نویسنده مسئول: تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، انستیتو سرطان ایران، مرکز تحقیقات سرطان
تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۹۲۵۰۱
E-mail: aalizadeh@razi.tums.ac.ir

مقدمه

پاسخ به فرکانس‌های مختلف تحریکی است. این گره ایمپالس‌های دهلیزی را از طریق دسته هیس و در دو مسیر آهسته و سریع هدایت می‌کند.^۱ خواص ذاتی گره تحت تأثیر سه پارامتر ریکاوری، تسهیل و خستگی قرار می‌گیرد. جمع جبری سه پدیده ذاتی وابسته به سرعت گره دهلیزی- بطنی در هر لحظه می‌باشد و در زمان‌های طولانی می‌تواند رفتار الکتروفیزیولوژیک گره را که به‌صورت تأخیر در هدایت امواج ظاهر می‌شود پیش‌گویی کند.^۲ پاسخ بالینی بطن‌ها در

فیبریلاسیون دهلیزی (Atrial fibrillation) به‌عنوان یکی از شایع‌ترین و کشنده‌ترین آریتمی‌های قلبی شناخته شده است. نقش گره دهلیزی- بطنی در مکانیسم ایجاد و در حفاظت بطن‌ها در حین فیبریلاسیون دهلیزی و در تاکی آریتمی‌های چرخشی غیر قابل انکار است. مهم‌ترین وظیفه گره دهلیزی- بطنی کاهش در هدایت امواج در

سیمواستاتین بر گره دهلیزی- بطنی در مدل فیبریلاسیون دهلیزی قلب ایزوله خرگوش می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت تجربی- پژوهشی در مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی گلستان از شهریورماه سال ۱۳۹۰ تا اسفندماه سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. مطالعه بر روی ۴۰ سر خرگوش نر سفید نیوزلندی (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی ۱/۵-۲kg انجام گرفت. تمام خرگوش‌ها قبل از آزمایش، در قفس‌های مخصوص با رعایت چرخه نور/ تاریکی (۱۲/۱۲) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. سیمواستاتین از شرکت داروسازی (Aria Pharmaceutical Co. Tehran, Iran)، 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (CPX) و دیپیریدامول به ترتیب از (Jarf Kherad Co., Ltd., Tehran, Iran) و (Safina-yi Danesh Co., Ltd., Tehran, Iran) تهیه گردیده است. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت شد. کلیه حیوانات با هپارین را به عنوان ضد انعقاد (۵۰۰ UI, IV) و سدیم پنتوباریتال (۳۵ mg/kg, IV) را جهت بیهوشی دریافت نمودند.^{۱۶} بعد از باز کردن قفسه سینه، قلب حیوانات جدا شده و گستره بافتی شامل نواحی از قسمت‌های بالایی دهلیز راست، گره دهلیزی- بطنی، سپتوم بین دهلیزی و بین بطنی جدا شده و داخل مخزن حاوی محلول کربس- هنسلیت با استفاده از پین‌های مناسب ثابت گردید. سپس بافت توسط این محلول به طور پیوسته و با سرعت ۲۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه توسط پمپ پرستالتیک تغذیه می‌گردید. هم‌چنین با استفاده از یک کانول مناسب، پرفیوژن کرونر به صورت معکوس با استفاده از پمپ پرستالتیک برقرار می‌گردید. فشار لازم برای پرفیوژن کرونر ۶۰ تا ۸۰ میلی‌متر جیوه بود که در تمام طول آزمایش ثابت نگه داشته شده است.^{۱۷}

با استفاده از الکتروکاردیوگرافی، از نواحی گره سینوسی- دهلیزی، کریستا ترمینالیس، سپتوم بین دهلیزی و دسته هیس، ثبت گرفته شد و سرعت ضربان‌های پایه قلب مشخص گردید. سپس به کمک الکتروکاردیوگرافی که در حاشیه گره سینوسی دهلیزی در دهلیز راست قرار گرفت، قلب با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربان‌های قلب تحریک

فیبریلاسیون دهلیزی به طور مشخص به صورت فواصل نامنظم بطنی ظاهر می‌شود. اگر چه دلیل اصلی این آشوب مشخص نیست ولی دو مکانیسم الف- پدیده هدایت پنهان و ناحیه پنهان در گره دهلیزی- بطنی و ب- زمان تحریک ناپذیری گره‌ای در ایجاد آن موثر است.^۳ افزایش در هدایت پنهان و ناحیه پنهان می‌تواند سبب افزایش تحریک ناپذیری و آهسته شدن سرعت ضربان‌های بطن‌ها در هنگام آریتمی شود.^{۴،۵} مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که هدایت پنهان به عنوان مهم‌ترین شاخص رفتار بطن‌ها در طی فیبریلاسیون دهلیزی و یکی از مکانیسم‌های محافظتی گره در طول فیبریلاسیون دهلیزی می‌باشد.^{۴،۵} اثرات داروهای مختلف نظیر دیلتیازم، استاتین، اکسی‌توسین و آدنوزین در افزایش ناحیه پنهان و تحریک ناپذیری گره‌ای و ارتباط آن با کاهش ضربان‌های بطن در درمان آریتمی‌های بطنی در مطالعات مختلفی بررسی شده است.^{۶-۹}

در مطالعات مختلف از استاتین‌ها به عنوان کاهنده سطح کلسترول، استرس اکسیداتیو و فعالیت سیستم رنین- آنژیوتانسین نام برده شده است.^{۱۰،۱۱} اثرات محافظتی استاتین بر کانال‌های یونی در طی فیبریلاسیون دهلیزی، با کاهش فعالیت پمپ سدیمی، کاهش فعالیت کانال‌های کلسیم نوع L و افزایش فعالیت کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP نشان داده شده است.^{۱۲} هم‌چنین نقش استاتین‌ها در افزایش غلظت آدنوزین سلول‌های قلبی و تقویت اثرات آن در کاهش حجم ناحیه انفارکتوس در موش صحرائی نشان داده شده است.^{۱۳}

در مطالعه فوق دیپیریدامول به عنوان مهار کننده آنزیم آدنوزین دامیناز بافتی توانست با افزایش غلظت آدنوزین اثرات محافظتی آتورواستاتین را تقویت کند.^{۱۳} آدنوزین یک نوکلئوزید درون‌زاد می‌باشد که تاثیرات الکتروفیزیولوژیک و آنتی آریتمی دارد. این اثرات به صورت دروموتروپیک منفی بر روی گره دهلیزی- بطنی از طریق یک مجموعه گیرنده- عمل کننده که به رسپتور A₁ آدنوزین اتصال می‌یابد، اعمال می‌کند. فعالیت دروموتروپیک منفی آدنوزین از طریق طولانی کردن AH interval و PR interval تا بلوک کامل گره دهلیزی- بطنی اعمال می‌شود.^{۱۴}

با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات گذشته ما، اثرات آنتی آریتمی و محافظتی سیمواستاتین در طولانی کردن ضربان‌های بطنی در طی فیبریلاسیون دهلیزی،^{۱۵} هدف مطالعه حاضر بررسی نقش آگونیست و آنتاگونیست گیرنده A₁ آدنوزین در اثرات محافظتی

فیبریلاسیون دهلیزی: از پروتکل تحریک تصادفی با سرعت بالا جهت ایجاد فیبریلاسیون دهلیزی توسط رایانه استفاده گردید. حداقل و حداکثر فاصله بین تحریکات ۷۵ تا ۱۲۵ میلی ثانیه و کل زمان اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی ۱۵۰۰ تحریک در دوره زمانی پنج دقیقه بوده است.^{۲۳}

هدایت پنهان: عبارت است از نفوذ نسبی یک ایمپالس به سیستم هدایتی گره دهلیزی- بطنی که می‌تواند بر روی هدایت و یا تشکیل ضربه بعدی موثر باشد.

ناحیه پنهان: اجرای چند پروتکل ریکاوری در سرعت پایه متفاوت که در هر بار ناحیه پنهان از طریق تفاضل بین زمان تحریک ناپذیری دهلیزی و زمان تحریک ناپذیری گره‌ای مشخص می‌گردد.^{۲۴} کلیه آزمایشات در پنج گروه (n=۴۰) شامل: ۱- سیمواستاتین (۱۰ میکرومولار در لیتر)، ۲- CPX (یک میکرومولار در لیتر، به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده A₁ آدنوزین)، ۳- دیپیریدامول (پنج میکرومولار در لیتر، به‌عنوان آگونیست آدنوزین) و نیز سیمواستاتین به‌همراه ۴- CPX و ۵- دیپیریدامول انجام گردید. زمان لازم برای اجرای تمامی پروتکل‌ها در هر دوره ۳۰ تا ۵۰ دقیقه و کل زمان آزمایش کم‌تر از ۱۸۰ دقیقه بوده است. زمان پایداری بافت قبل از اجرای پروتکل‌های تحریکی ۲۰ الی ۳۰ دقیقه بوده که غلظت‌های دارو در محلول کربس- هنسلیت در روز آزمایش تهیه گردیدند. جهت آنالیز آماری داده‌ها از SPSS ویراست ۱۶ استفاده گردید. مقایسه بین دو گروه با Paired t-test و مقایسه بین یک متغیر در چند گروه با تست واریانس اندازه‌گیری مکرر انجام گردید. تمام نتایج به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است و P<۰/۰۵ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. نرم‌افزار استفاده شده جهت قسمت‌های آماری GraphPad Prism Ver.5 بوده است.

یافته‌ها

نقش سیمواستاتین، دیپیریدامول و CPX بر پارامترهای الکتروفیزیولوژیک پایه گره دهلیزی- بطنی: سیمواستاتین توانست افزایش معنی‌داری بر زمان تحریک ناپذیری موثر و کارکردی و نیز پدیده ونکه باخ گره‌ای داشته باشد (P<۰/۰۵). دیپیریدامول به‌تنهایی فقط سبب افزایش معنی‌داری در پدیده ونکه باخ گره‌ای گردید

و پروتکل‌های تحریکی اجرا گردید. محلول کربس- هنسلیت توسط اکسیژن (۹۵٪) و دی اکسید کربن (۵٪) فوق اشباع شده و با درجه حرارت ۳۷±۱ سانتی‌گراد، pH=۷/۴ و حجم شش لیتر به‌طور پیوسته بافت را تغذیه می‌نمود.^{۱۸} محتوای محلول بر حسب میلی‌مولار در لیتر شامل مواد ذیل می‌باشد:

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

پروتکل‌های تحریکی: پروتکل‌های تحریکی پایه در مطالعه حاضر شامل شاخص‌های ونکه باخ، ریکاوری، زمان تحریک ناپذیری مؤثر و زمان تحریک ناپذیری کارکردی می‌باشند.^{۱۹}

پروتکل ونکه باخ: جهت پایداری بافت به‌طور مرتب در طول آزمایش این پروتکل تکرار می‌شد و نوسانات پنج میلی‌ثانیه کم‌تر یا بیش‌تر طبیعی تلقی شده و در صورت نوسانات بیش‌تر، نمونه از مطالعه حذف می‌گردید. هم‌چنین نمونه‌های با ونکه باخ بالاتر از ۱۷۰ و هدایت گره دهلیزی- بطنی بزرگ‌تر از ۸۰ میلی‌ثانیه غیرقابل قبول در نظر گرفته شد. جهت پایداری بافت بعد از اجرای هر پروتکل، حداقل سه دقیقه (ریکاوری) و حداکثر هفت دقیقه (خستگی) بافت در شرایط ضربان‌های پایه برای حداقل ۳۰ دقیقه تحریک می‌گردید.^{۲۰} ریکاوری: در طی این پروتکل بعد از ۱۰ تحریک پایه، یک تحریک تاخیری (Premature) به بافت اعمال شده و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تاخیری به‌صورت فاصله زمان هدایت علیه زمان ریکاوری رسم می‌شود. هنگامی که یک تحریک تاخیری به گره دهلیزی- بطنی وارد می‌شود، گره دهلیزی بطنی تحریک فوق را حس کرده و به‌صورت افزایش در زمان هدایت و کاهش در زمان ریکاوری جواب می‌دهد. به‌تدریج با پیشرفت پروتکل و کاهش هر چه بیش‌تر در فرکانس تحریک تاخیری، زمان هدایت طولانی‌تر شده تا در نهایت گره دهلیزی- بطنی از هدایت موج تحریکی ناتوان شده و متعاقب تحریک دهلیزی، ثبت از هیس مشاهده نمی‌شود. مطابق تعریف فوق شاخص‌های تحریک ناپذیری موثر و کارکردی از پروتکل ریکاوری قابل استخراج می‌باشد. تحریک ناپذیری موثر عبارتند از طولانی‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها قبل از آن‌که به بلوک دهلیزی- گره‌ای برسیم و تحریک ناپذیری کارکردی عبارتند از کوتاه‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از هیس که در طی یک پروتکل تحریکی به‌دست می‌آید.^{۲۱،۲۲}

نقش سیمواستاتین، دیپیریدامول و CPX بر فیبریلاسیون دهلیزی و ناحیه پنهان: سیمواستاتین سبب انتقال به راست منحنی توزیع فراوانی انقباضات از دسته هیس و کاهش معنی دار تعداد ضربان‌های بطن‌ها گردید. تعداد ضربان‌های پنهان در یک روند صعودی هم‌زمان با افزایش غلظت سیمواستاتین افزایش یافت (جدول ۲، شکل ۱). دیپیریدامول به تنهایی، تاثیر معنی داری بر پارامترهای فیبریلاسیون دهلیزی نداشت به جز افزایش معنی دار در تحریک ناپذیری گره‌ای دهلیزی ($P < 0.05$). آن هم چنین ناحیه پنهان را افزایش داد که این افزایش در سرعت‌های بالا و سریع معنی دار گردید ($P < 0.05$) (جدول ۲).

($P < 0.05$). در حضور سیمواستاتین، اثرات مهارى دیپیریدامول بر پارامترهای تحریک ناپذیری کارکردی و موثر و نیز پدیده ونکه باخ تشدید شده است و از لحاظ آماری معنی دار بوده است ($P < 0.05$) (جدول ۱). هم چنین CPX به تنهایی توانست زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر و نیز پدیده ونکه باخ را نسبت به کنترل به مقدار ناچیزی کاهش دهد که از لحاظ آماری معنی دار نبودند. در حضور سیمواستاتین، CPX افزایش معنی داری در زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر و نیز پدیده ونکه باخ گره‌ای نسبت به گروه کنترل ایجاد کرده است ($P < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱: اثرات دیپیریدامول و CPX در حضور سیمواستاتین بر پارامترهای محافظتی پایه گره دهلیزی - بطنی

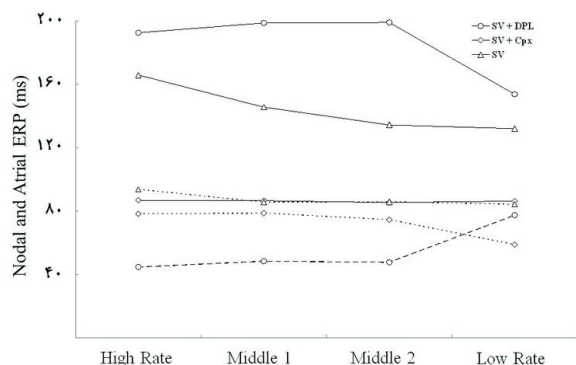
گروه‌ها	شاخص	AH (ms)	ERP (ms)	FRP (ms)	WBCL (ms)
کنترل		53/3±2/4	87/2±8/2	151/7±5/9	138/7±5/6
سیمواستاتین		59/8±2/5	*141/6±5/4	*194/1±6/7	*188/1±6/9
دیپیریدامول		55/5±3/3	94/6±6/1	158/4±2/1	*148/0±3/0
سیمواستاتین + دیپیریدامول		*62/2±3/1	*155/8±11/3	*199/3±11/8	*182/9±5/6
CPX		51/6±3/8	84/6±8/8	152/7±3/8	139/3±5/2
سیمواستاتین + CPX		*60/9±3/5	*132/3±7/0	*183/9±3/6	*170/6±5/0

اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد محاسبه شده‌اند. تعداد هشت نمونه در گروه می‌باشد. زمان هدایت گره دهلیزی - بطنی (AH, Atrial-His conduction time)، زمان تحریک ناپذیری موثر (دهلیزی) (Effective Refractory Period, ERP)، زمان تحریک ناپذیری عملکردی (بطنی) (Functional Refractory Period, FRP)، زمان شروع بلوک ۱:۲ دهلیزی - بطنی در طول اجرای پروتکل ونکه باخ (Wenckebach Cycle Length, WBCL)، CPX: 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine * $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل معنی دار در نظر گرفته شده است. اعداد در گروه کنترل در زمان اجرای پروتکل‌ها قبل از اضافه شدن داروی سیمواستاتین به دست آمده است.

جدول ۲: اثرات دیپیریدامول و CPX در حضور سیمواستاتین بر شاخص‌های محافظتی گره دهلیزی - بطنی در فیبریلاسیون دهلیزی

گروه‌ها	شاخص	AF-ERP (ms)	AF-FRP (ms)	HH mean (ms)	ZOC (ms)	Concealed beat (n)
کنترل		74/3±3/0	126/8±4/4	201±11/2	87±4/7	621/5±8/2
سیمواستاتین		70/6±3/7	*209±5/5	*274/8±9	10/2±6/1	*848/6±9/6
دیپیریدامول		74/7±2/3	*141/8±4/6	209±8/8	*16/4±1/6	601/5±23/1
سیمواستاتین + دیپیریدامول		76/5±1/9	*171/9±9/6	*266/3±10/1	*55/9±12/1	*817/8±19/6
CPX		75/2±1/7	129/3±4/1	192/5±11/8	*29/9±7/9	591/5±18/8
سیمواستاتین + CPX		77/8±2/7	*155/1±5/5	*240/5±11/5	9/1±6/7	*728/8±25/2

اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد محاسبه شده‌اند. تعداد هشت نمونه در گروه می‌باشد. CPX: 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. AF-ERP: Atrial Fibrillation-Effective Refractory Period, AF-FRP: Atrial Fibrillation-Functional Refractory Period, Mean HH: Mean His-His interval, ZOC: Zone Of Concealment. Concealed beat. تعداد ضربان‌های پنهان دیده شده در طول اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی، * $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل و # $P < 0.05$ در مقایسه با گروه سیمواستاتین معنی دار در نظر گرفته شده است. اعداد در گروه کنترل در زمان اجرای پروتکل‌ها قبل از اضافه شدن داروی سیمواستاتین به دست آمده است.



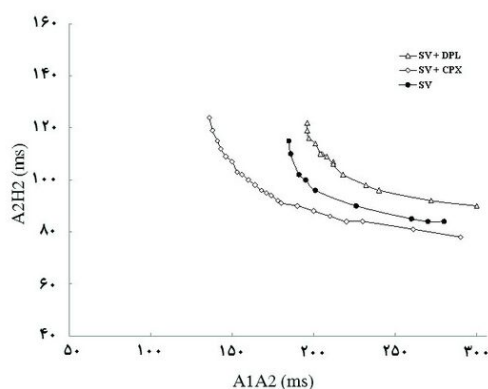
شکل ۳: اثرات دیپریدامول و CPX در حضور سیمواستاتین بر ناحیه پنهان در سرعت‌های مختلف

Nodal-ERP (---): حداکثر تحریکات دهلیزی که از گره دهلیزی-بطنی نمی‌تواند عبور کند، Atrial-ERP (-): حداقل پاسخ دهلیزی در طول پروتکل تحریکی.

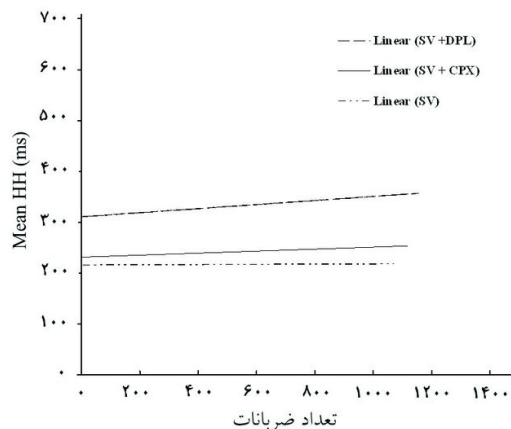
موثر، نیز هدایت پنهان در زمان اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی گردید (جدول ۲). CPX در حضور سیمواستاتین، توانست زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر در حین فیبریلاسیون دهلیزی را به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد ($P < 0.05$) اما تاثیری بر هدایت پنهان نداشت (جدول ۲).

بحث

نتایج تحقیق حاضر بیانگر اثرات واضح محافظتی گره‌ای سیمواستاتین می‌باشد که به‌صورت افزایش فاصله انقباضات متوالی بطن‌ها و افزایش زمان تحریک ناپذیری کارکردی و زمان ونکه باخ ظاهر شده است. کاهش سرعت بطن‌ها در هنگام وقوع فیبریلاسیون دهلیزی توسط سیمواستاتین بیانگر نقش ضد آریتمی سیمواستاتین در کاهش و یا خاتمه آریتمی‌های گره‌ای می‌باشد. هم‌چنین سیمواستاتین توانست با افزایش زمان تحریک ناپذیری دهلیزی آستانه گسترش فیبریلاسیون دهلیزی را افزایش دهد. عدم تغییر جواب کارکردی سیمواستاتین در حضور دیپریدامول به‌عنوان آگونیست و CPX به‌عنوان آنتاگونیست رسپتور A_1 آدنوزین بیانگر رد فرضیه دخالت سیستم آدنوزین در مکانیسم حفاظتی سیمواستاتین می‌باشد. اثرات مفید سیمواستاتین در طول فیبریلاسیون دهلیزی به‌علت افزایش



شکل ۱: اثرات دیپریدامول و CPX در حضور سیمواستاتین بر منحنی ریکاوری A1A2: فاصله‌ی بین دو ثبت متوالی از دهلیز (زمان ریکاوری)، A2H2: (زمان هدایت گره‌ای).



شکل ۲: یک نمونه از منحنی میانگین تعداد ضربان‌های بطن‌ها (حداقل فاصله بین دو ثبت متوالی از His) در طول اجرای پروتکل‌های فیبریلاسیون دهلیزی. افزایش فاصله میانگین HH بیانگر افزایش تعداد ضربان‌های پنهان تحت تاثیر دیپریدامول و سیمواستاتین می‌باشد.

دی‌پریدامول در حضور سیمواستاتین، زمان تحریک ناپذیری کارکردی و موثر در زمان اجرای پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی را افزایش داده که این افزایش در مورد زمان تحریک ناپذیری کارکردی از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (جدول ۲، شکل ۲). ناحیه پنهان نیز افزایش پیدا کرد که این افزایش در غلظت ۱۰ میکرومولار سیمواستاتین معنی‌دار ($P < 0.05$) گردید (شکل ۳). CPX به‌تنهایی، موجب افزایش غیر معنی‌دار در زمان تحریک ناپذیری کارکردی و

آدنوزین می‌باشد.^{۱۴} تاثیر دیپیریدامول با افزایش معنی‌دار در ناحیه پنهان نشان داد که به‌طور عمده تاثیر دارو در ارتباط با افزایش تحریک ناپذیری گره‌ای بود. افزایش در هدایت پنهان و ناحیه پنهان می‌تواند سبب افزایش تحریک ناپذیری و آهسته شدن سرعت ضربان‌های بطن‌ها در هنگام آریتمی شود.^{۲۸} مطالعاتی که توسط Belardinelli در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ انجام شد، منجر به معرفی آدنوزین در سال ۱۹۸۹ به‌عنوان یک داروی موثر و ایمن در خاتمه دادن به آریتمی‌های فوق بطنی گردید. دلیل اصلی استفاده از آدنوزین به‌عنوان یک داروی آنتی آریتمی، توانایی آدنوزین در مهار هدایت در گره دهلیزی-بطنی می‌باشد.^{۲۹}

هم‌چنین در مطالعه Nayeypour، آدنوزین موجب تغییر پارامترهای الکتروفیزیولوژیک پایه گره دهلیزی-بطنی خرگوش نظیر شیفت به سمت بالا منحنی ریکاوری، کاهش انتقال به چپ منحنی تسهیل شده است.^۷ نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر هم‌سو با نتایج مطالعات گذشته و در تائید اثرات محافظتی دیپیریدامول به‌عنوان آگونیست آدنوزین بر گره دهلیزی-بطنی می‌باشد. در مطالعه حاضر تاثیر دیپیریدامول در حضور سیمواستاتین موجب افزایش معنی‌دار پارامترهای پایه گره دهلیزی-بطنی نظیر تحریک ناپذیری کارکردی و موثر و ونکه باخ و نیز ناحیه پنهان در حین پروتکل فیبریلاسیون دهلیزی شده است. عدم تغییر پاسخ کارکردی سیمواستاتین در حضور دیپیریدامول، بیان‌گر رد فرضیه دخالت سیستم آدنوزین در مکانیسم حفاظتی سیمواستاتین می‌باشد. استاتین‌ها، AKT و فسفاتیدیل کیناز-۳ را فعال می‌کنند که موجب تولید آدنوزین می‌شوند.^{۱۳} در مطالعه Ye نشان داده شد که سایز ناحیه انفارکتوس در حضور اتورواستاتین و دیپیریدامول به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. اتورواستاتین و دیپیریدامول به‌تنهایی افزایش اندکی در سطح آدنوزین داشتند این در حالی بود که سطح آدنوزین در گروه اتورواستاتین-دیپیریدامول افزایش قابل توجه و معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل داشته است که بیان‌گر نقش سیستم آدنوزین در اثرات محافظتی سیمواستاتین در شرایط ایسکمی و هیپوکسی می‌باشد.^{۱۴}

مطالعه ما نشان داد که در حضور دیپیریدامول با افزایش غلظت آدنوزین، اثرات سیمواستاتین تقویت شده که می‌تواند بیان‌گر آن باشد که آدنوزین و سیمواستاتین احتمالاً از جهات متفاوت سبب اثرات مستقیم یا غیرمستقیم در گره دهلیزی-بطنی می‌گردند. در هر حال

وابسته به سرعت تحریک ناپذیری کارکردی همراه با افزایش در ناحیه پنهان و افزایش تعداد ضربات پنهان شد. افزایش اثرات سیمواستاتین در زمان تحریکات سریع دهلیزی می‌تواند بیان‌گر اثرات افزایش‌دهنده این دارو در تاکی آریتمی‌ها و در فیبریلاسیون دهلیزی باشد. تعادل بین تحریک ناپذیری گره‌ای و هدایت گره‌ای در زمان فیبریلاسیون دهلیزی می‌تواند ناحیه پنهان را مشخص سازد. در تحقیق حاضر سیمواستاتین نتوانست تحریک ناپذیری دهلیزی را تغییر دهد ولی از طریق افزایش تحریک ناپذیری گره‌ای سبب افزایش ناحیه پنهان به‌خصوص در سرعت‌های بالای تحریکی گردید. این نتایج بیان‌گر اثرات گره‌ای و نقش محافظتی سیمواستاتین در کاهش سرعت ضربان‌های بطن‌ها در زمان آریتمی‌های دهلیزی است. مطالعه گذشته نشان داد که سیمواستاتین می‌تواند از طریق جلوگیری از کاهش تحریک ناپذیری موثر در دهلیزها نقش محافظتی در جلوگیری از دوباره الگوسازی الکتریکی در قلب سگ با تاکی کاردی دهلیزی ایجاد کند.^{۲۵} کاهش سرعت ضربان‌های بطن‌ها در طی آریتمی‌های دهلیزی بستگی به خاصیت هدایت پنهان در ناحیه پنهان دارد که این دو خاصیت خود به خواص الکتروفیزیولوژیک مسیر آهسته در گره دهلیزی-بطنی وابسته است.^{۲۶}

در مطالعه حاضر سیمواستاتین ناحیه پنهان را افزایش داد و سبب کاهش هدایت در مسیر آهسته گردید که تظاهرات آن به‌صورت انتقال به راست و بالای منحنی ریکاوری مشخص گردید. ثابت شده است که مسیر سریع قسمت مسطح منحنی ریکاوری و مسیر آهسته قسمت با شیب تند منحنی ریکاوری را تشکیل می‌دهد.^{۲۷} بنابراین اثرات سیمواستاتین در افزایش تحریک ناپذیری موثر با حداقل اثرات بر روی زمان هدایت می‌تواند ضمن جدایی دو مسیر داخل گره‌ای قسمت بالای منحنی ریکاوری در شیب تند را از بین برده و شکاف بین مسیر آهسته و سریع در منحنی ریکاوری را ناپدید سازد که بیان‌گر اثرات اختصاصی و وابسته به سرعت سیمواستاتین در گره دهلیزی-بطنی می‌باشد.

در تحقیق حاضر تاثیر دیپیریدامول (به‌عنوان آگونیست گیرنده آدنوزین) در افزایش تحریک ناپذیری گره‌ای کارکردی و ونکه باخ نشان‌دهنده اثرات محافظتی گره‌ای دیپیریدامول می‌باشد. دیپیریدامول بازجذب سلولی آدنوزین را بلوک کرده، غلظت آدنوزین را افزایش می‌دهد که اثرات آن بر گره دهلیزی-بطنی از طریق رسپتور A₁

می‌باشد.^{۲۹} نتایج تحقیق حاضر در تائید اثرات دیپیریدامول نشان داد که در حضور CPX اثرات محافظتی سیمواستاتین کاهش غیر معنی‌دار یافته است. این بدان معنی است که رسپتور آدنوزین حداقل در ارتباط با سیمواستاتین نقش چندانی در اثرات ضد آریتمی آن نشان نمی‌دهد. بنابراین مطالعات بیش‌تری لازم است تا از احتمال تاثیر سیمواستاتین در افزایش غلظت آدنوزین اندوژن مطمئن شویم.

در مطالعه حاضر کاربرد آگونیست آدنوزین توانست خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی-بطنی را در حضور سیمواستاتین تقویت کند ولی آنتاگونیست آن نتوانست مانع از تاثیر سیمواستاتین گردد که به احتمال بیان‌گر عدم تاثیر مستقیم سیستم آدنوزین و رسپتورهای آن در مکانیسم حفاظتی سیمواستاتین می‌باشد.

سپاسگزار: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی نقش دیپیریدامول و آنتاگونیست رسپتور A1 آدنوزین (CPX) در اثرات محافظتی سیمواستاتین بر روی خواص گره دهلیزی-بطنی در مدل فیبریلاسیون دهلیزی ایجاد شده در قلب ایزوله خرگوش" در مقطع دکترای عمومی در سال ۱۳۸۹ و کد ۵۳۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی گلستان اجرا شده است.

مطالعه حاضر بر خلاف مطالعه Ye، ارتباط سیگنالی متوالی سیمواستاتین و آدنوزین را در یک مسیر مشترک رد کرده و احتمالاً مکانیسم‌های مختلف دیگری در این ارتباط مطرح می‌باشند. مطالعات بیش‌تر از طریق اندازه‌گیری آدنوزین در بافت قلبی لازم است تا نقش آدنوزین در مکانیسم‌های محافظتی سیمواستاتین در گره دهلیزی-بطنی به اثبات برسد. در مطالعه حاضر تاثیر CPX بر روی پارامترهای پایه محافظتی گره دهلیزی-بطنی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. در واقع CPX به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده آدنوزین نتوانست اثرات محافظتی دروموتروپیک منفی ایجاد شده توسط آدنوزین بر گره دهلیزی-بطنی را برگرداند. در مطالعه Brandts در مدل قلب ایزوله لانگندروف، CPX در غلظت ۲۰ میکرومولار مانع افزایش طول دوره (Cycle length) توسط دیپیریدامول شده است.^{۳۰} در مطالعه Wu، CPX در غلظت ۵۰ نانومولار، مانع افزایش HS interval شده است.^{۳۱} در مطالعه حاضر عدم تاثیر CPX در تغییر پارامترهای گره دهلیزی-بطنی در حضور سیمواستاتین، بیان‌گر عدم تاثیر مستقیم این ترکیب در گره دهلیزی-بطنی و مطابق با مطالعه Reid بیان‌گر عدم تاثیر آدنوزین در رفتار وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی

References

1. 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* 2006;17(6):638-44.
2. 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.
3. Blanck Z, Dhala AA, Sra J, Deshpande SS, Anderson AJ, Akhtar M, et al. Characterization of atrioventricular nodal behavior and ventricular response during atrial fibrillation before and after a selective slow-pathway ablation. *Circulation* 1995;91(4):1086-94.
4. 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* 2004;15(2):144-9.
5. Xu B, Billette J, Lavallée M. Concealed conduction in nodal dual pathways: depressed conduction, prolonged refractoriness, or reset excitability cycle? *Heart Rhythm* 2006;3(2):212-21.
6. Khori V, Azadbakht M, Nayeypour M, Alizadeh AM, Pourabouk M, Badaghabadi F, et al. Rate-dependent electrophysiological effects of Crocus sativus on extracellular field potential of isolated rabbit heart in-vitro. *J Med Plants* 2010;9(36):48-56.
7. Nayeypour M, Billette J, Amellal F, Nattel S. Effects of adenosine on rate-dependent atrioventricular nodal function. Potential roles in tachycardia termination and physiological regulation. *Circulation* 1993;88(6):2632-45.
8. Faghihi M, Alizadeh AM, Khori V, Latifpour M, Khodayari S. The role of nitric oxide, reactive oxygen species, and protein kinase C in oxytocin-induced cardioprotection in ischemic rat heart. *Peptides* 2012;37(2):314-9.
9. Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, Mohammad Ghasemi F, et al. Role of endogenous oxytocin in cardiac ischemic preconditioning. *Regul Pept* 2011;167(1):86-90.
10. Ong HT. The statin studies: from targeting hypercholesterolaemia to targeting the high-risk patient. *QJM* 2005;98(8):599-614.
11. Rosenson RS. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004;173(1):1-12.
12. Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Lipid-lowering therapy with statins, a new approach to antiarrhythmic therapy. *Pharmacol Ther* 2007;114(1):107-26.
13. Mustafa SJ, Morrison RR, Teng B, Pelleg A. Adenosine receptors and the heart: role in regulation of coronary blood flow and cardiac electrophysiology. *Handb Exp Pharmacol* 2009;(193):161-88.
14. Ye Y, Lin Y, Perez-Polo R, Huang MH, Hughes MG, McAdoo DJ, et al. Enhanced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury with a dipyrindamole and low-dose atorvastatin combination. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293(1):813-8.

15. Khorri V, Najafi SA, Alizadeh AM, Moheimani HR, Shakiba D, Alizadeh F, et al. Protective role of simvastatin on isolated rabbit atrioventricular node during experimental atrial fibrillation model: role in rate control of ventricular beats. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2012;385(7):697-706.
16. Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, Mohammad Ghasemi F, Imani A, Houshmand F, et al. Oxytocin protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via pathway involving mitochondrial ATP-dependent potassium channel. *Peptides* 2010;31(7):1341-5.
17. Imani A, Faghihi M, Sadr SS, Niaraki SS, Alizadeh AM. Noradrenaline protects in vivo rat heart against infarction and ventricular arrhythmias via nitric oxide and reactive oxygen species. *J Surg Res* 2011;169(1):9-15.
18. Saygili E, Rana OR, Günzel C, Rackauskas G, Saygili E, Noor-Ebad F, et al. Rate and irregularity of electrical activation during atrial fibrillation affect myocardial NGF expression via different signalling routes. *Cell Signal* 2012;24(1):99-105.
19. Alizadeh AM, Faghihi M, Khorri V, Sohanaki H, Pourkhalili K, Mohammadghasemi F, et al. Oxytocin protects cardiomyocytes from apoptosis induced by ischemia-reperfusion in rat heart: role of mitochondrial ATP-dependent potassium channel and permeability transition pore. *Peptides* 2012;36(1):71-7.
20. Zhao J, Ma HJ, Teng X, Wang QS. Electrophysiological effects of nitric oxide on spontaneous activity of rabbit atrioventricular node cells. *Sheng Li Xue Bao* 2004;56(3):369-73.
21. Frommeyer G, Schmidt M, Clauß C, Kaese S, Stypmann J, Pott C, et al. Further insights into the underlying electrophysiological mechanisms for reduction of atrial fibrillation by ranolazine in an experimental model of chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2012;14(12):1322-31.
22. Khorri V, Alizadeh AM, Yazdi H, Rakhshan E, Mirabbasi A, Changizi S, Mazandarani M, Nayeypour M. Frequency-dependent electrophysiological remodeling of the AV node by hydroalcohol extract of *Crocus sativus* L. (saffron) during experimental atrial fibrillation: The role of endogenous nitric oxide. *Phytother Res* 2012;26(6):826-32.
23. Alizadeh AM, Faghihi M, Khorri V, Mohseniki M. Effect of pre-treatment with oxytocin on cardiac enzymes in regional ischemia-reperfusion injury induced in the rat heart. *Physiol Pharmacol* 2012;15(4):572-582.
24. Khorri V, Najafi SA, Alizadeh F, Pourabouk M, Nayeypour M, Changizi S, Salehi A, Badaghabadi F, Alizadeh AM. Rate-dependent and antiarrhythmic reentrant tachycardia (AVNRT) effects of simvastatin in isolated rabbit atrioventricular nodal model. *J Mazandaran Univ Med Sci (JMUMS)* 2010;20(76):78-87.
25. Shiroshita-Takeshita A, Schram G, Lavoie J, Nattel S. Effect of simvastatin and antioxidant vitamins on atrial fibrillation promotion by atrial-tachycardia remodeling in dogs. *Circulation* 2004;110(16):2313-9.
26. 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.
27. Efimov IR, Nikolski VP, Rothenberg F, Greener ID, Li J, Dobrzynski H, Boyett M. Structure-function relationship in the AV junction. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004;280(2):952-65.
28. Khorri V, Nayeypour M, Mansourian AR, Davarian A, Naseri M, Salehi A, Alizadeh A-M. Altered levels of nodal excitability by rate-dependent inhibitory effects of essential oil of *Citrus aurantium* on the electrophysiological properties of isolated perfused rabbit AV-Node. Protective role in the prevention of ouabain toxicity. *Int J Morphol* 2010;28(2):445-451.
29. Belardinelli L, Shryock JC, Snowdy S, Zhang Y, Monopoli A, Lozza G, Ongini E, Olsson RA, Dennis DM. The A2A adenosine receptor mediates coronary vasodilation. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284:1066-73.
30. Brandts B, Borchard R, Dirkmann D, Wickenbrock I, Sievers B, van Bracht M, Prull MW, Trappe HJ. Diadenosine-5-phosphate exerts A1-receptor-mediated proarrhythmic effects in rabbit atrial myocardium. *Br J Pharmacol* 2003;139(7):1265-72.
31. Wu L, Belardinelli L, Zablocki JA, Palle V, Shryock JC. A partial agonist of the A(1)-adenosine receptor selectively slows AV conduction in guinea pig hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(1):H334-43.

Role of adenosine on simvastatin protective effects in atrioventricular nodal properties in isolated atrial fibrillation model of rabbit heart

Abstract

Received: October 22, 2012 Accepted: December 31, 2012

Vahid Khorī Ph.D.¹
Fatemeh Alizadeh M.D.¹
Ali Mohammad Alizadeh
Ph.D.^{2*}
Ardešir Banikarimi M.D.¹

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

2- Cancer Research Center, Tehran
University of Medical Sciences,
Tehran, Iran.

Background: The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors (statins) have revolutionized the treatment of hypercholesterolemia. Some evidence indicated the role of nodal refractoriness and concealed conduction in anticipating the ventricular rate during atrial fibrillation. Recent evidence has indicated that statins can reduce the incidence of both supraventricular and ventricular arrhythmias. The aim of the present study is to investigate adenosine A1 receptor role on simvastatin protective effects on atrioventricular nodal properties in isolated atrial fibrillation model of rabbit heart.

Methods: The present study was performed in cardiovascular research center of Golestan University of Medical Sciences in 2012. Recovery and atrial fibrillation protocols were used to study electrophysiological properties of atrioventricular node in 5 groups of male Newland rabbits (n=40). Extracellular recording was carried out from transitional cells of posterior and anterior extension of AV-node and upper part of atrium and its bundle. All stimuli protocols repeated in the presence of adenosine A1 receptor agonist and antagonist (dipridamole and CPX) alone or with simvastatin on isolated perfused atrio-nodal preparation. Extracellular field potential recording was sampled during specific stimulation protocols.

Results: Significant inhibition was observed in basic node properties such as wenckebach prolongation, functional refractory period, effective refractory period and atrioventricular node conduction time with simvastatin ($P<0.05$). Simvastatin prolonged His-His interval and increased number of concealed beat in atrial fibrillation protocol ($P<0.05$). The simvastatin protective effects on atrioventricular nodal properties were intensified by dipridamole as an adenosine A1 receptor agonist ($P<0.05$), but CPX as an adenosine A1 receptor antagonist could only dampen them ($P>0.05$).

Conclusion: Our results showed that the use of adenosine agonist increased simvastatin effects on electrophysiological properties of atrioventricular node, but its antagonist could not prevent these effects. This may indicate simvastatin protective mechanism on atrioventricular node electrophysiological properties without adenosine direct involvement.

Keywords: Adenosine, atrial fibrillation, atrioventricular node, simvastatin.

* Corresponding author: Cancer
Research Center, Cancer Institute of Iran,
Imam Khomeini Hospital, Keshavarz
Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98-21-61192501
E-mail: aalizadeh@razi.tums.ac.ir