

Rate-dependent and antiarrhythmic reentrant tachycardia (AVNRT) effects of simvastatin in isolated rabbit atrioventricular nodal model

Vahid Khor¹, Soroosh Aminosharihe Najafi², Fatemeh Alizadeh², Mona Pourabouk³,
Mohsen Nayeypour⁴, Shima Changizi⁵, Aref Salehi⁶, Fakhri Badaghabadi³, Ali Mohammad Alizadeh⁷

¹ Department of Pharmacology, Heart Research Center, Faculty of Pharmacy, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

² Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

³ Heart Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

⁴ Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵ Hakim Jorjani Hospital, Gorgan, Iran

⁶ Department of Heart, Heart Research Center, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

⁷ Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received February 10, 2010 ; Accepted May 20, 2010)

Abstract

Background and purpose: Several previous studies have shown the direct and indirect effects of statins on supraventricular and ventricular arrhythmia. The purpose of the present study is to determine (1) whether Simvastatin modifies the rate-dependent properties of the AV node, (2) to what extent such changes are related to effect of Simvastatin on the basic properties of AV nodal conduction and refractoriness.

Materials and methods: AV nodal refractoriness (AVERP & AVFRP) and rate dependency protocols Fatigue and Facilitation were used to assess the electrophysiological properties of AV node. We used an isolated perfused rabbit with AV nodal preparation in one group (N=8). The stimulation protocols were carried out during control phase and in the presence of various concentrations of Simvastatin (0.5 , 0.8 , 1, 3 ,10 μ m).

Results: Simvastatin in concentration-dependent manner successfully prolonged effective and functional nodal refractory period (AVERP & AVFRP). Also an increase in Wenckebach cycle length was observed. Simvastatin in high concentration (3,10 μ m) increases the arrhythmia threshold. Various concentrations of simvastatin increased fatigue, but it reached to significant level only at 30 μ M.

Conclusion: Simvastatin has potential anti-AVNRT effects by elevating arrhythmia threshold and prolongation of nodal refractoriness.

Key words: Atrioventricular node, simvastatin, AVNRT

J Mazand Univ Med Sci 2009; 20(76): 78-87 (Persian).

اثرات وابسته به سرعت آنتی آریتمی چرخشی گره دهلیزی- بطنی سیمواستاتین در مدل گره دهلیزی بطنی ایزوله خرگوش

وحید خوری^۱ سروش امین الشریعه نجفی^۲ فاطمه علیزاده^۲ منا پورابوک^۳ محسن نایب پور^۴
شیما چنگیزی^۵ عارف صالحی^۶ فخری بداع آبادی^۳ علی محمد علیزاده^۷

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات گذشته بیانگر اثرات مستقیم و غیرمستقیم استاتین‌ها در تأثیر بر روی آریتمی‌های فوق بطنی و بطنی بوده است. هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر سیمواستاتین در خواص وابسته به سرعت گره و مشخص نمودن اثرات سیمواستاتین در ارتباط با دیگر خواص پایه هدایتی و تحریک‌ناپذیری گرهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از مدل گره دهلیزی- بطنی جدا شده پرفیوز ۸ خرگوش استفاده شد. تحریک‌ناپذیری گرهی (موثر و کارکردی) و پروتکل‌های وابسته به سرعت (ریکاوری و خستگی، تسهیل) جهت ارزیابی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی- بطنی استفاده شدند. پروتکل‌های تحریکی در طی فاز کنترل و همچنین در حضور غلظت‌های مختلف سیمواستاتین به کار برده شدند.

یافته‌ها: سیمواستاتین در غلظت‌های ۰/۵ تا ۱۰ میکرومولار در لیتر دوره تحریک‌ناپذیری کارکردی و موثر گره را به صورت معنی‌داری طولانی کرد و سبب افزایش زمان ونکباخ گردید. آستانه آریتمی توسط سیمواستاتین در غلظت‌های بالا (۳ و ۱۰ میکرومولار) افزایش پیدا کرد. غلظت‌های مختلف سیمواستاتین سبب افزایش خستگی شد که تنها در غلظت ۳۰ میکرومولار معنی‌دار بود.

استنتاج: سیمواستاتین از طریق افزایش آستانه آریتمی و طولانی شدن دوره تحریک‌ناپذیری کارکردی و موثر پتانسیل اثرات ضد آریتمی‌های چرخشی گره‌ای را دارد.

واژه‌های کلیدی: گره دهلیزی- بطنی، سیمواستاتین، آریتمی فوق بطنی

مقدمه

استاتین‌ها از دسته داروهای آنتی هایپرلیپیدمیک هستند و مهارکننده HMG-CoA reductase می‌باشند و مطالعات اخیر بیانگر آن است که استاتین‌ها در درمان آریتمی‌های قلبی نقش دارند (اثرات پلئو تروپیک). این

E-mail: vaph99@yahoo.com

مؤلف مسئول: عارف صالحی- گرگان: دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی فلسفی، مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان

۱. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۲. دانشجوی رشته پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۳. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۴. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵. بیمارستان حکیم جرجانی گلستان

۶. گروه قلب، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۷. مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۸/۱۲/۱۹ تاریخ تصویب: ۸۹/۲/۳۰

فرآیند با مکانیسم‌های متعددی انجام می‌شود که شامل اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ترمیم نقص عملکرد اندوتلیوم و عملکرد اتونومیک، اثرات آنتی ترومبیک و تنظیم جریان‌های یونی غشاء می‌باشد (۱). در مطالعات متعدد مکانیسم‌های مختلفی برای اثرات محافظتی سیمواستاتین بر روی قلب بیان شده است (۲،۱). یکی از این مکانیسم‌ها، توانایی استاتین‌ها برای کاهش التهاب و سطح پروتئین‌های التهابی (CRP) است که این فرآیند در درمان برخی از آریتمی‌ها مفید است (۳-۵). از دیگر مکانیسم‌های عمل استاتین‌ها کاهش فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین می‌باشد که در درمان فیبریلاسیون دهلیزی کاربرد دارد (۶). این فرآیند با کاهش سطح کلسترول و فعالیت استرس اکسیداتیو انجام می‌شود (۷). استاتین‌ها می‌توانند با تأثیر بر سیستم اتونوم باعث افزایش ضربانات قلبی شوند. این عملکرد در درمان آریتمی‌های بطنی در مدل حیوانی مورد استفاده قرار گرفته است (۸). یکی دیگر از اثرات سیمواستاتین، تنظیم جریان‌های یونی و کانال‌های یونی عضله قلب می‌باشد (۲،۱). استاتین‌ها با کاهش کلسترول غشاهای قلبی می‌توانند جریان یونی را به کمک پروتئین‌های اینتگرال قلبی تنظیم نمایند (۱). به علاوه استاتین‌ها با عملی مستقل از اثرکاهندگی کلسترول عمل جریان‌های یونی و کانال‌های یونی را تنظیم می‌کنند که به این ترتیب بر روی خواص الکتریزیولوژیک قلب تأثیر می‌گذارند (۸). سیمواستاتین مستقیماً سلول‌های عضله صاف عروق بطنی را با مهار جریان ورودی Ca^{2+} بوسیله کانال‌های وابسته به ولتاژ و کاهش آزاد شدن Ca^{2+} به فضای درون سلولی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۹). اخیراً نشان داده شده سیمواستاتین با دوز نانومولار فعالیت کانال کلسیم نوع L را در میوسیت بطنی موش مهار می‌کند (۱۰). به علاوه سیمواستاتین با مهار α subunit v1.2 Ca مانع بروز فیبریلاسیون دهلیزی در سگ می‌شود (۱۱). همچنین استاتین درمانی احتمالاً با تنظیم ترکیب اسیدهای چرب و خصوصیات فیزیوشیمیایی سارکولم که در نهایت باعث تغییر در

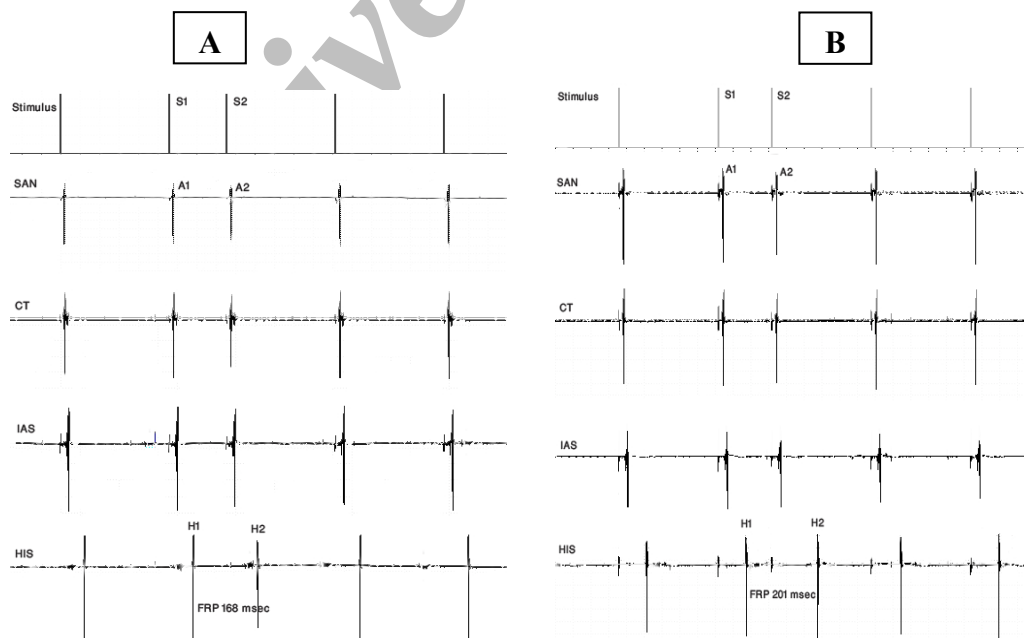
کانال‌های یونی غشا می‌شود، هدایت بطنی و قابلیت تحریریک را تحت تأثیر قرار می‌دهد که در درمان آریتمی بطنی مفید می‌باشد (۱۲). پرواستاتین با فعال کردن فرم اندوتلیال نیتریک اکساید سنتتاز و باز کردن کانال‌های K^{+}_{ATP} می‌تواند نقش کاهش دهنده‌ای در آسیب‌های ناشی از ایسکمی و اندازه انفارکت در قلب داشته باشد (۱۳) مطالعات بالینی نیز فعالیت‌های آنتی‌آریتیمیک سیمواستاتین را تایید کرده تأثیر مهم استاتین‌ها را بر روی کاهش مرگ و میر نشان دادند (۱۴، ۱۵). که از آن جمله می‌توان به تأثیر استاتین در افرادی که تحت جراحی قرار گرفته‌اند اشاره کرد. استاتین‌ها باعث تنظیم سیستم اتونوم و مانع افزایش فعالیت سیستم سمپاتیک می‌شوند، این فرآیند در جلوگیری از بروز فیبریلاسیون دهلیزی مؤثر می‌باشد (۱۶، ۱۷). با وجود مطالعات صورت گرفته بر روی اثر استاتین بر روی آریتمی، تا به حال مطالعه‌ای در مورد مکانیسم عمل استاتین بر روی خصوصیات گره دهلیزی-بطنی در خرگوش ایزوله، انجام نشده است. با توجه به نقش محافظتی گره دهلیزی-بطنی در طی آریتمی لزوم بررسی تأثیرات استاتین‌ها بر روی خواص محافظتی گره دهلیزی-بطنی می‌تواند کاربرد بالینی در درمان آریتمی‌های فوق بطنی و گره‌ای داشته باشد. بنابراین با توجه به گزارشات متعدد در ارتباط با نقش تأثیر استاتین‌ها بر روی کانال‌های یونی در دهلیزها و بطن‌ها و همچنین گزارشات متعدد بالینی در ارتباط با اثرات ضدآریتمی فیبریلاسیون دهلیزی و اثرات ضد ایسکمیک از استاتین‌ها مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد تاکی آریتمی چرخشی گره دهلیزی-بطنی توسط سیمواستاتین در مدل گره دهلیزی-بطنی ایزوله خرگوش طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در آزمایش‌های انجام شده از خرگوش‌های نر نژاد نیوزلندی انیستیتو پاستور در محدوده وزنی ۱/۵ تا ۲

سینوسی - دهلیزی در دهلیز راست قرار می گرفت، قلب با سرعتی بالاتر از سرعت پایه ضربانات قلب تحریک می شد و پروتکل های تحریکی اجرا می گردید. محلول کربس هنسلیت اکسیژنه شده توسط اکسیژن (۹۵ درصد) و دی اکسید کربن (۵ درصد) با درجه حرارت 37 ± 0.1 و درجه سانتیگراد و $pH = 7.4 \pm 0.1$ با حجم ۶ لیتر در یک مدار بسته توسط پمپ پرستالتیک بطور پیوسته بافت را تغذیه می کرد. ترکیبات سازنده کربس هنسلیت شامل نمک طعام، پتاسیم کلراید، کلسیم کلراید بدون آب، منیزیم کلراید، سدیم بیکربنات، سدیم هیدروژن فسفات و دکستروز بدون آب بود که از شرکت Sigma تهیه شده بودند. همچنین سیمواستاتین مورد استفاده در این طرح از شرکت داروسازی آریا تهران تهیه گردید. حلال مورد استفاده جهت حل کردن سیمواستاتین محلول کربس هنسلیت بود. دارو به صورت تازه در روز آزمایش تهیه و به صورت تراکمی به محلول اصلی کربس هنسلیت اضافه می گردید.

کیلوگرم استفاده شد که بصورت چرخه نو، ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی در قفس های جداگانه، دسترسی آزاد به آب و غذای پلیت (خوراک دام پارس) داشتند که در زمان اجرای آزمایش حیوانات با هپارین (5 mg/kg/IV) و پنتوباریتال سدیم (35 mg/kg/IV) پیش درمانی شده و پس از بیهوش شدن توسط ضربه ای به پشت سر کشته می شدند و بعد از باز کردن قفسه سینه قلب جدا شده و گستره بافتی شامل دهلیز راست نواحی گره دهلیزی - بطنی و سپتوم بین بطنی را از آن جدا کرده و به کمک سوزن هایی بر روی یک توری داخل کربس هنسلیت در مدار داخلی ثابت کرده و توسط محلول کربس هنسلیت به طور پیوسته با سرعت ۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه عمل تغذیه انجام می گرفت. توسط الکتروود دو قطبی از نواحی گره سینوسی - دهلیزی، کریستا ترمینالیس، سپتوم بین دهلیزی و دسته هیس ثبت گرفته و سرعت ضربانات پایه قلب مشخص می شد (شکل شماره ۱). سپس به کمک الکتروود تحریکی که در حاشیه گره



شکل شماره ۱: توسط الکتروود دو قطبی از نواحی مختلف گره دهلیزی - بطنی ثبت گرفته شد که به ترتیب زیر می باشد :

شکل A: قبل از اضافه کردن دارو (کنترل)
شکل B: بعد از اضافه کردن غلظت ۱۰ میکرومولار سیمواستاتین
SAN: گره سینوسی - دهلیزی
CT: کریستاترمینالیس
IAS: سپتوم بین دهلیزی
PNE: زائده خلفی گره دهلیزی - بطنی
HIS: دسته هیس
AH max: زمان هدایت حداکثر

پروتکل‌های تحریکی مورد استفاده شامل موارد زیر بود (۱۸):

شاخص ونکباخ ($WBCL$): بنا به تعریف به بلوک درجه سوم دهلیزی-گره‌ای ناشی از افزایش در سرعت تحریک دهلیزها اطلاق شده و شروع بلوک به عنوان زمان ونکباخ ثبت شد.

پروتکل ریکاوری ($Recovery$): در طی این پروتکل بعد از ۱۰ تحریک پایه، یک تحریک نارس به بافت اعمال می‌شد و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تأخیری-به صورت فاصله $A2H2$ (زمان هدایت) در برابر $A1A2$ (زمان ریکاوری) رسم شد.

زمان تحریک ناپذیری موثر (ERP): مطابق با مطالعات گذشته عبارت بود از طولانی‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها ($A1A2$)، قبل از آن که به بلوک دهلیزی-گره‌ای برسد.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی (FRP): عبارت بود از کوتاه‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس ($H1H2$) که در طی یک پروتکل تحریکی به دست می‌آمد. تسهیل ($Facilitation$): عبارت بود از کاهش در زمان هدایت پس از تحریک نارس.

FACILITATION

S_1	S_1	S'	S_2
$n = 20$	$n = 1$	$n = 1$	

خستگی ($Fatigue$): به طولانی شدن وابسته به زمان هدایت طی تاکی کاردی‌های پیوسته با زمان VA ثابت اطلاق شد.

FATIGUE 1

S_1	S_1	S_1
5 min	5 min	

ΔAH : حداکثر مقدار خستگی که در یک بافت پس از پروتکل $Fatigue$ (خستگی) ایجاد می‌شد و وابسته به زمان و سرعت تاکی کاردی بود، اطلاق شد.

پنجره تحریک پذیری ($Excitable Gap$): آستانه آریتمی و به صورت اختلاف بین زمان تحریک ناپذیری موثر گره تقسیم بر اختلاف بین زمان هدایت گره‌ای ($\Delta ERP - \Delta AH$) قبل و بعد از تأثیر دارو محاسبه گردید. قبل از شروع آزمایش، قلب‌های مورد نظر حداقل به مدت ۶۰ دقیقه از نظر جریان عروق کرونر، زمان انتقال دهلیزی-گره‌ای و شاخص ونکباخ پایدار می‌شد. طراحی آزمایش شامل مراحل کنترل و سیمواستاتین بود. (۱) کنترل: انجام پروتکل‌های تحریکی در حضور تیروید (۲) سیمواستاتین: اضافه کردن غلظت‌های مختلف سیمواستاتین ($0.5, 1, 3, 10$ میکرومولار در لیتر) به صورت تراکمی در مدار داخلی و سپری شدن ۲۵ الی ۳۰ دقیقه برای هر غلظت و تکرار پروتکل‌های تحریکی. تعداد کل نمونه‌های مورد بررسی و آنالیز ۸ نمونه بود.

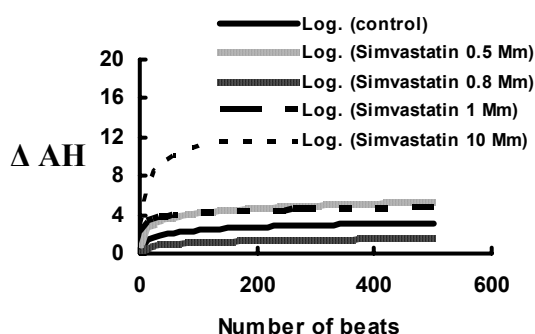
کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت گردید.

مقایسه بین میانگین دو گروه با تست تی زوج ($Paired t-test$) انجام شد و مقایسه بین چند گروه با تست آنالیز واریانس دوطرفه انجام گرفت ($p < 0.05$). به عنوان حد معنی‌دار و کلیه آزمون‌ها به صورت دوطرفه ارزیابی گردید. نرم‌افزار استفاده شده Graph pad prism 5 بود. آنالیز منحنی‌های تک توانی غیر خطی با استفاده از نرم‌افزار Graph pad prism 5 و روش Marquardt انجام شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار ($Mean \pm SE$) گزارش شد.

یافته‌ها

مطابق با آزمایشاتی که بر روی نمونه‌ها انجام شد داروی سیمواستاتین، در یک مدل وابسته به غلظت ($0.5, 1, 3, 10$ میکرومولار در لیتر) سبب افزایش پارامترهای پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی-بطنی گردید. بیشترین اثرات داروی سیمواستاتین در

β و α که در این منحنی $AH_t = a+b*EXP(-AA/c)$ ضرایب ثابت منحنی و τ ثابت زمانی القاء پدیده ریکاوری می باشد. آنالیز غیرخطی نشان داد که ضرایب فوق در حضور غلظت های مختلف سیمواستاتین افزایش یافته ولی هیچگاه به حد معنی دار نرسید (جدول شماره ۳).



نمودار شماره ۱: اثرات غلظت های مختلف سیمواستاتین بر روی خستگی گره ای که به صورت تابع نمائی لگاریتمی نشان داده شده است

جدول شماره ۲: اثرات غلظت های سیمواستاتین بر روی پارامترهای وابسته سرعت شامل خستگی و تسهیل و (n=8).

Facilitation (msec)	Fatigue (msec)	
۱۰±۲/۴	۱۷/۶±۴/۳	کنترل
۱۰/۴±۲	۲۲/۴±۵/۷	سیمواستاتین ۰/۵ میکرو مولار در لیتر
۸/۳±۲/۶	۱۸/۳±۵/۳	سیمواستاتین ۰/۸ میکرو مولار در لیتر
۱۱±۳/۲	۱۸/۳±۵/۵	سیمواستاتین ۱ میکرو مولار در لیتر
۸/۸±۲	۲۱/۶±۵/۷	سیمواستاتین ۳ میکرو مولار در لیتر
۵/۴±۱/۷	۲۵/۷±۵/۱ ^{***}	سیمواستاتین ۱۰ میکرو مولار در لیتر

در مقایسه با کنترل $p < 0.001$

جدول شماره ۳: نتایج مربوط به تحلیل ریاضی منحنی ریکاوری در ارتباط با ۸ نمونه بکار برده شده در غلظت های مختلف سیمواستاتین

τ_{rec} (msec)	β (msec)	α (msec)	R	
۳۷±۳/۶	۱۲۹۹±۳۲۲	۵۴/۹±۲/۳	۹۸/۷±۰/۱	کنترل
۴۰/۵±۴	۱۴۳۷±۵۱۳	۵۵±۴/۲	۹۸/۳±۰/۳	سیمواستاتین ۰/۵ میکرو مولار در لیتر
۳۷/۴±۴/۳	۱۹۸۳±۷۵۵	۵۶/۷±۱/۹	۹۷/۶±۰/۷	سیمواستاتین ۰/۸ میکرو مولار در لیتر
۳۵±۲/۶	۲۸۳۳±۱۰۴	۵۶/۸±۰/۲	۹۸/۴±۰/۲	سیمواستاتین ۱ میکرو مولار در لیتر
۳۳/۴±۲/۷	۳۶۱۰±۱۱۸	۵۵/۹±۱/۹	۹۷±۱/۱	سیمواستاتین ۳ میکرو مولار در لیتر
۳۶/۹±۶/۱	۴۶۲۲±۱۱۷	۵۸/۶±۲/۲	۹۰/۸±۷/۳	سیمواستاتین ۱۰ میکرو مولار در لیتر

فرمول بکار رفته جهت محاسبه ریاضی منحنی ریکاوری عبارت است از

$$AH_t = a+b*EXP(-AA/c)$$

α : ضریب ثابت محل تقاطع منحنی ریکاوری با محور افقی

β : ضریب ثابت حاصل از تقاطع منحنی ریکاوری با محور عمودی

R: ضریب همبستگی

τ_{rec} : ثابت زمانی القاء ریکاوری

غلظت های ۱، ۳ و ۱۰ میکرومولار در لیتر مشاهده شد بدین ترتیب که اثرات آن بعد از ۱۰ دقیقه ظاهر و بتدریج در یک محدوده زمانی ۳۰ دقیقه ای به میزان حداکثر خود رسید. سیمواستاتین توانست در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش معنی دار زمان تحریک ناپذیری موثر و زمان تحریک ناپذیری کارکردی گردید که این اثرات در غلظت های ۱، ۳ و ۱۰ میکرومولار در لیتر بیش از سایر غلظت ها بود ($p < 0.001$). زمان ونکباخ به عنوان شاخص تحریک ناپذیری کل گره، روند افزایشی را در تمام غلظت ها از خود نشان داد که این اثرات در غلظت ۱۰ میکرومولار در لیتر نسبت به سایر غلظت ها بیشتر بود ($P < 0.001$) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: اثرات غلظت های مختلف سیمواستاتین بر روی پارامترهای الکتروفیزیولوژیک پایه گره دهلیزی - بطنی (n=8).

WBCL (msec)	FRP (msec)	ERP (msec)	AH (msec)	
۱۳۸/۷±۵/۶	۱۵۱/۷±۵/۹	۸۷/۲±۸/۲	۵۳/۳±۲/۴	کنترل
۱۴۶/۱±۶/۵ [*]	۱۷۵/۷±۶/۵ ^{**}	۹۶/۸±۸/۱ [*]	۵۳/۷±۶/۲	سیمواستاتین ۰/۵ میکرو مولار در لیتر
۱۴۸/۸±۶ ^{**}	۱۶۱/۷±۶ ^{**}	۹۸/۷±۷/۹ [*]	۵۶±۲/۹	سیمواستاتین ۰/۸ میکرو مولار در لیتر
۱۵۱/۴±۶/۴ ^{**}	۱۶۳/۲±۶/۹ [*]	۱۰۱/۷±۹/۳ ^{***}	۵۵/۱±۲/۷	سیمواستاتین ۱ میکرو مولار در لیتر
۱۵۹/۷±۶ ^{**}	۱۷۵/۸±۵/۵ ^{**}	۱۱۷/۴±۸/۹ [*]	۵۵/۷±۲/۳	سیمواستاتین ۳ میکرو مولار در لیتر
۱۸۲/۱±۶/۹ ^{***}	۱۹۴/۱±۶/۱ ^{***}	۱۴۱/۶±۵/۴ ^{**}	۵۹/۸±۲/۵	سیمواستاتین ۱۰ میکرو مولار در لیتر

در مقایسه با کنترل $p < 0.001$ ، $p < 0.001$ ، $p < 0.05$

تمامی اعداد بر حسب Mean ± SE بیان شده است.

اثرات وابسته به غلظت های مختلف سیمواستاتین بر روی پارامترهای وابسته به سرعت گره دهلیزی - بطنی نشان دهنده افزایش خستگی گره ای در تمام غلظت ها بود که این افزایش در غلظت ۱۰ میکرومولار در لیتر از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.001$) (جدول شماره ۱ و منحنی شماره ۱). همچنین سیمواستاتین در تمام غلظت ها سبب کاهش غیر معنی دار میزان تسهیل گردید (جدول شماره ۲). به علاوه سیمواستاتین با افزایش زمان هدایت و تحریک ناپذیری موثر سبب افزایش آستانه بروز آریتمی و ایندکس تحریک پذیری گره ای شد. آنالیز ریاضی منحنی های ریکاوری از طریق همگرایی غیرخطی تک توانی با استفاده از این فرمول انجام شد:

بحث

نتایج کلی این تحقیق بیانگر آن است که استاتین می‌تواند در یک مدل وابسته به غلظت در محدوده غلظت‌های دارویی که جهت پایین آوردن کلسترول پلاسما استفاده می‌شود ($0.5/10$ ، $0.8/10$ میکرومولار) و در غلظت‌های بالا (3 و 10 میکرومولار) سبب تغییر خواص الکتروفیزیولوژیک پایه و وابسته به سرعت گره شود و همچنین آستانه وقوع و ادامه آریتمی چرخشی گرهی را توسط اثرات افتراقی بیشتر بر روی زمان تحریک ناپذیری گره‌ای نسبت به زمان هدایت افزایش دهد. نتایج تحقیقات حاضر نشان داد که استاتین در الگوی وابسته به غلظت می‌تواند سبب افزایش تحریک‌ناپذیری کارکردی و موثر و همچنین در غلظت بالا سبب افزایش زمان هدایت گردد. در مطالعه Talajic (۱۹) نشان داده شد، داروهایی که سبب افزایش زمان هدایت شوند می‌توانند سرعت آریتمی چرخشی گرهی (AVNRT) را کم کنند ولی سبب خاتمه آن نمی‌شوند و داروهایی که سبب افزایش تحریک‌ناپذیری موثر شوند می‌توانند آریتمی فوق را خاتمه دهند همچنین داروهایی که پنجره تحریک‌پذیری یا تحریک‌ناپذیری را در یک مدل وابسته به سرعت کاهش دهند می‌توانند به عنوان داروهای موثر در خاتمه AVNRT مطرح باشند.

بیشتر اثرات پلوتروپیک سیمواستاتین و آترواستاتین در آزمایشگاه در غلظت‌های 10 و 10 میکرومولار دیده می‌شود در حالی که بعد از مصرف 20 تا 80 میلی گرم آترواستاتین و 40 میلی گرم سیمواستاتین به ترتیب غلظت‌های پلاسمایی $0.8/12$ تا $0.8/6$ نانومولار و $10/6$ نانومولار در پلاسما به صورت داروی آزاد ایجاد می‌شود (۱۰). بنابراین غلظت‌های سیمواستاتین استفاده شده در تحقیق فوق اگرچه نسبت به غلظت پلاسمایی آزاد دارو بیشتر می‌باشد ولی با توجه به میزان پروتئین بایندینگ می‌تواند به عنوان غلظت‌های زیر حد درمانی در نظر گرفته شود. داروی سیمواستاتین می‌تواند در غلظت‌های زیر حد درمانی سبب افزایش ایندکس تحریک‌پذیری در یک

مدل وابسته به سرعت و وابسته به غلظت شود بنابراین استاتین می‌تواند علاوه بر تاثیری که بر روی دهلیزها و بطن‌ها در جلوگیری یا خاتمه آریتمی‌های دهلیزی و بطنی داشته باشد (۲۰)، می‌تواند با کاهش پنجره تحریک‌پذیری در درمان آریتمی‌های چرخشی گره‌ای هم مورد استفاده قرار گیرد.

سوال اصلی این است که از نظر کارکردی سیمواستاتین با چه مکانیسمی می‌تواند به عنوان داروی ضد آریتمی‌های چرخشی عمل کند؟ مطالعه حاضر نشان داد که داروی سیمواستاتین می‌تواند ERP، FRP و WBCL را که شاخص‌های تحریک‌ناپذیری گره‌ای می‌باشند، افزایش دهد. تحریک‌ناپذیری به عنوان یکی از مهمترین مشخصات گره دهلیزی-بطنی بوده که به سلول‌های گره توانایی ایجاد پدیده تحریک‌ناپذیری بعد از رپولاریزاسیون را می‌دهد و توسط این پدیده است که گره دهلیزی بطنی می‌تواند همزمان با افزایش ضربانات ورودی از سمت دهلیزها ممانعت بیشتری در جلوگیری از ورود این ضربانات به بطن‌ها اعمال کند و تعداد ضربانات را محدود سازد (۲۰). اگرچه سیمواستاتین توانست در غلظت‌های بالا سبب افزایش معنی‌دار زمان هدایت و تحریک‌ناپذیری گردد ولی در غلظت‌های پایین و متوسط تاثیر عمده‌ای بر روی تحریک‌ناپذیری ایجاد کرد و بنابراین به علت این اثرات افتراقی بر روی هدایت و تحریک‌ناپذیری گرهی، می‌تواند به عنوان داروی مناسبی جهت آریتمی‌های چرخشی گره‌ای مطرح شود این اثرات ضد آریتمی انتظار می‌رود بیشتر در غلظت‌های پایین و متوسط ایجاد شود. از دیگر اثرات قابل توجه سیمواستاتین اثرات وابسته به سرعت آن در افزایش آستانه یا پنجره تحریک‌پذیری می‌باشد بطوری که با افزایش سرعت ضربانات پایه اثرات سیمواستاتین در افزایش این پنجره بیشتر شده و بنابراین کارایی دارو در کنترل ضربانات بطن‌ها و پایان آریتمی‌های چرخشی بیشتر می‌شود. مشابه الگوی فوق در داروهای

بلوک کننده کانال کلسیم، در درمان آریتمی‌های دهلیزی و بطنی قبلاً گزارش شده است (۲۱،۱۹).

با توجه به موارد متعدد کارآزمایی بالینی جدید در ارتباط با اثرات استاتین‌ها در جلوگیری و درمان آریتمی‌های دهلیزی و بطنی و مخصوصاً فیبریلاسیون دهلیزی و بطنی با مکانیسم‌های مختلف (۲،۱۴،۱۷،۲۲) و همچنین با توجه به چندگانگی اثرات استاتین مخصوصاً اثرات مستقیم آن بر روی کانال‌های یونی (۱۳-۸) نتایج تحقیق حاضر در تایید یافته‌های قبلی می‌تواند برای اولین بار استاتین را به عنوان یک داروی موثر جهت کنترل آریتمی‌های فوق بطنی مطرح کند. اثرات مستقیم سیمواستاتین بر روی کانال‌های یونی در گره دهلیزی-بطنی احتمالاً مسئول کارایی این دارو می‌باشد. مطالعات گسترده‌تر با استفاده از تکنیک‌های ثبت تک کانالی جهت مشخص شدن مکانیسم دقیق سلولی سیمواستاتین مورد نیاز می‌باشد.

با توجه به اثرات دیده شده در مورد خواص وابسته به سرعت سیمواستاتین تصمیم گرفته شد که با استفاده از پروتکل‌های تحریکی وابسته به سرعت نقش سیمواستاتین را بر روی مدل کارکردی با استفاده از پروتکل‌های ریکاوری، تسهیل و خستگی مورد بررسی قرار دهیم. نتایج این تحقیق نشان داد که سیمواستاتین سبب افزایش T_{rec} یا ضریب ثابت شیب منحنی ریکاوری می‌گردد. مطالعات قبلی نشان داده است که این ضریب ثابت منحنی ریکاوری به کینتیک آهسته کانال‌های کلسیمی I_{Ca} و یا پتاسیم I_{K} وابسته می‌باشد (۲۳،۲۴) و در واقع داروهایی که سبب مهار کانال‌های کلسیمی می‌شوند سبب افزایش شیب یا افزایش T_{rec} می‌شوند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آدنوزین، دیلتیازم و داروهای بتا بلاکر و آجمالین (۲۹-۲۵) با افزایش این ضریب ثابت می‌توانند به عنوان داروی ضد آریتمی مخصوصاً در سرعت‌های بالای تحریکات پایه عمل کنند. شباهت یافته‌های فوق به نتایج اثرات سیمواستاتین و همچنین توجه به مطالعات قبلی در ارتباط با نقش

مستقیم این دارو بر روی کانال‌های یونی می‌تواند نشانگر این نکته باشد که سیمواستاتین در الگویی مشابه با داروهای فوق‌الذکر در یک روند وابسته به سرعت می‌تواند به عنوان یک داروی ضد آریتمی مطرح باشد.

مطالعات قبلی نشان داده است که امواج در قسمت صاف منحنی ریکاوری از بستر سلول‌های قسمت قدامی گره و در سرعت‌های بالای تحریکی در شیب تند منحنی ریکاوری از سلول‌های قسمت خلفی گره استفاده می‌کنند (۲۸،۲۷). نتایج تحقیقات حاصل نشان داد که در غلظت‌های پایین و متوسط، اثرات استاتین عمدتاً بر روی قسمت با شیب تند منحنی ریکاوری می‌باشد در حالی که در غلظت‌های بالا می‌تواند بر روی شاخص زمان هدایت حداقل یا قسمت صاف منحنی اثرات مهاری اعمال کند. بنابراین می‌توانیم نتیجه‌گیری کنیم که اثرات استاتین بیشتر در قسمت خلفی و دیستال سلول‌های ترانزیشنال گره دهلیزی-بطنی اعمال می‌شود (۳۰). اثرات سیمواستاتین بر روی گره دهلیزی-بطنی بیانگر انتقال به سمت بالا و راست منحنی ریکاوری است که سبب افزایش ERP و WBCL شده و بنابراین احتمالاً می‌تواند با اثرات مهاری مستقیم بر روی گره، تعداد ضربانات بطن‌ها را در زمان آریتمی کاهش دهد. مطالعات حیوانی بیشتر در ارتباط با به کار بردن استاتین در زمان تاکی آریتمی‌های فوق بطنی و چرخشی گره‌ای می‌تواند به فهم بیشتر مکانیسم اثرات استاتین در طول آریتمی منجر شود. نتایج این تحقیق نشان داد که سیمواستاتین می‌تواند در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش خستگی بافتی شود که این اثرات وابسته به سرعت تحریکات پایه قلب، متفاوت بود. خستگی گره‌ای می‌تواند به عنوان مدل آریتمی چرخشی گره‌ای محسوب شود. در این پروتکل قلب با سرعت‌های مختلف تحریک شده و تاثیر این تحریکات در میزان هدایت و تحریک ناپذیری محاسبه می‌گردد (۲۶).

داروهای افزایش دهنده خستگی بافتی، بتا بلاکرها، آگونیست‌های کولینرژیک، تحریک عصب واگ و

اثرات سیمواستاتین بر روی سه پدیده وابسته به سرعت (ریکاوری، تسهیل و خستگی گره‌ای) و ارتباط آنها با سلول‌های نواحی مختلف گره می‌توان به این نکته پی برد که استاتین تاثیر یکسانی در سلول‌های گره دهلیزی بطنی نداشته و اثرات آن به صورت اختصاصی و افتراقی و وابسته به غلظت اعمال می‌شود.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که تحقیق حاضر توانست با استفاده از مدل کارکردی، اثرات وابسته به غلظت و سرعت سیمواستاتین را نشان دهد. این اثرات به صورت مهار خواص پایه (هدایت و تحریک‌ناپذیری) گره دهلیزی- بطنی ظاهر شد. همچنین سیمواستاتین توانست رفتار وابسته به سرعت از خود نشان داده و پدیده‌های ذاتی وابسته به سرعت گره را تحت تاثیر قرار دهد که از مهمترین آن می‌توان به افزایش خستگی تحت تاثیر این دارو اشاره نمود. بنابراین داروی سیمواستاتین احتمالاً می‌تواند با مهار خواص پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی- بطنی در یک مدل وابسته به غلظت اثرات آنتی‌آریتیک مخصوصاً آریتمی‌های چرخشی گره‌ای داشته باشد. مکانیسم سلولی این اثرات و نقش محافظتی سیمواستاتین در حین آریتمی در مطالعات حیوانی و انسان نیاز به مطالعات گسترده‌تر دارد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت تصویب و در اختیار گذاشتن اعتبار و شرکت داروسازی آریا تهران جهت در اختیار قرار دادن داروی مورد استفاده در طرح فوق تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Ludman A, Venugopal V, Yellon DM, Hausenloy DJ. Statins and cardioprotection--more than just lipid lowering? Pharmacol Ther 2009; 122(1): 30-43.
2. Kostapanos MS, Liberopoulos EN, Goudevenos JA, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Do statins have an antiarrhythmic activity? Cardiovasc Res 2007; 75(1): 10-20.

آدنوزین، آجمالین می‌توانند به عنوان داروهای موثر در درمان آریتمی چرخشی گرهی محسوب گردند (۳۱،۲۷،۲۶،۲۵) بنابراین نتایج تحقیق حاضر در مورد اثرات وابسته به غلظت سیمواستاتین بر روی پدیده خستگی می‌تواند بیانگر اثرات ضد آریتمی چرخشی این دارو باشد (۲۲). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که خستگی بافی عمدتاً در سلول‌های ترانزیشنال ناحیه دیستال گره ایجاد می‌شوند. بنابراین احتمالاً سیمواستاتین اثرات افتراقی در مهار سلول‌های دیستال گره دارد. مکانیزم دقیق خستگی بافی هنوز مشخص شده نیست. افزایش کلسیم داخل سلولی، پتاسیم خارج سلولی و پدیده مهار ناشی از تحریکات متوالی را به عنوان مکانیزم‌های احتمالی خستگی بافی بیان می‌کنند (۳۲). با توجه به اثرات مستقیم سیمواستاتین بر روی مهار کانال کلسیم و پتاسیم در سلول‌های بطنی و دهلیزی، احتمالاً این اثرات می‌تواند بیانگر تاثیر دارو در افزایش خستگی باشد. تحقیقات سلولی با استفاده از روش ثبت تک کانالی (ثبت از غشاء دو لایه) جهت اثبات این فرضیه پیشنهاد می‌شود. همچنین استاتین در تحقیق حاضر باعث کاهش در پدیده تسهیل گره‌ای شد. مکانیسم پدیده تسهیل کاملاً مشخص نیست (۳۱) و همچنین اهمیت بالینی آن ناشناخته است. این پدیده تنها در سرعت‌های بالای تحریکات پایه ظاهر می‌شود و می‌تواند زمان هدایت گره‌ای را کاهش دهد. تنها یافته در ارتباط با ماهیت این پدیده نقش سلول‌های پروگزیمال قسمت قدامی سلول‌های فشرده در ایجاد پدیده فوق می‌باشد (۲۲) و بنابراین کاهش پدیده تسهیل توسط سیمواستاتین می‌تواند بیانگر نقش جزئی این دارو در مهار عملکرد بخش پروگزیمال سلولهای فشرده شود. در هر حال از مقایسه

3. Sánchez-Quñones J, Marín F, Roldán V, Lip GY. The impact of statin use on atrial fibrillation. *QJM* 2008; 101(11): 845-861.
4. Rosenson R.S. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004; 173(1): 1-12.
5. Plenge J.K, Hernandez T.L, Weil K.M, Poirier P, Grunwald G.K, Marcovina S.M, et al. Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction. *Circulation* 2002; (106): 1447-1452.
6. Lozano H.F, Conde C.A, Florin T, Lamas G.A. Treatment and prevention of atrial fibrillation with nonantiarrhythmic pharmacologic therapy. *Heart Rhythm* 2005; 2(9): 1000-1007.
7. Adameová A, Kuzelová M, Faberová V, Svec P. Protective effect of simvastatin and VULM 1457 in ischaemic-reperfused myocardium of the diabetic-hypercholesterolemic rats. *Pharmazie* 2006; 61(9): 807-808.
8. Liu YB, Lee YT, Pak HN, Lin SF, Fishbein MC, Chen LS, et al. Effects of simvastatin on cardiac neural and electrophysiologic remodeling in rabbits with hypercholesterolemia. *Heart Rhythm* 2009; 6(1): 69-75.
9. Tesfamariam B, Frohlich BH, Gregg RE. Differential effects of pravastatin, simvastatin, and atorvastatin on Ca²⁺ release and vascular reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34(1): 95-101.
10. Vaquero M, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Tamargo J, Delpón E. Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42(5): 931-945.
11. Shiroshta-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): 2313-2319.
12. Pound EM, Kang JX, Leaf A. Partitioning of polyunsaturated fatty acids, which prevent cardiac arrhythmias, into phospholipid cell membranes. *J Lipid Res* 2001; 42(3): 346-351.
13. Thuc LC, Teshima Y, Takahashi N, Nagano-Torigoe Y, Ezaki K, Yufu K, et al. Mitochondrial KATP channels-derived reactive oxygen species activate pro-survival pathway in pravastatin-induced cardioprotection. *Apoptosis* 2010; 15(6): 669-678.
14. Kuhn EW, Liakopoulos OJ, Borys MJ, Haldenwang PL, Strauch JT, Madershahian N, et al. Statins improve surgical ablation outcomes for atrial fibrillation in patients undergoing concomitant cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010; 8.
15. Mital S, Zhang X, Zhao G, Bernstein RD, Smith CJ, Fulton DL, et al. Simvastatin upregulates coronary vascular endothelial nitric oxide production in conscious dogs. *Am J Physiol heart circ Physiol* 2000; 279: H2649-H2657.
16. Liu T, Li GP. Statins may prevent postoperative atrial fibrillation through autonomic modulation. *Am J Cardiol* 2006; 97(8): 1266.
17. Sánchez-Quñones J, Marín F, Roldán V, Lip GY. The impact of statin use on atrial fibrillation. *QJM* 2008; 101(11): 845-861.
18. Khor V, Nayeypour M, Rakhshan E, Mirabbasi A. The Role of Nitric Oxide syntase enzyme inhibitor on antiarrhythmic effects of Crocus Sativuse on isolated rabbit atrioventricular Node. *Journal of Guilan University of Medical Sciences* 2007; 16: 1-10 (Persian).
19. Talajic M, Lemery R, Roy D, Villemare C, Cartier R, Coutu B, et al. Rate-dependent effects of diltiazem on human atrioventricular nodal properties. *Circulation* 1992; 86(3): 870-877.

20. 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): 2632-2645.
21. Savelieva I, Camm J. Statins and polyunsaturated fatty acids for treatment of atrial fibrillation. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5(1): 30-41.
22. Tadros R, Billette J. Rate-dependent AV nodal refractoriness: a new functional framework based on concurrent effects of basic and pretest cycle length. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297(6): H2136-2143.
23. Talajic M, Papadatos D, Villemaire C, Nayeypour M, Nattel S. Antiarrhythmic actions of diltiazem during experimental atrioventricular reentrant tachycardias. Importance of use-dependent calcium channel-blocking properties. *Circulation* 1990; 81(1): 334-342.
24. Nayeypour M, Talajic M, Nattel S. Effects of beta-adrenergic receptor stimulation and blockade on rate-dependent atrioventricular nodal properties. *Circ Res* 1992; 70(5): 902-911.
25. Nayeypour M, Talajic M, Villemaire C, Nattel S. Vagal modulation of the rate-dependent properties of the atrioventricular node. *Circ Res* 1990; 67(5): 1152-1166.
26. Nayeypour M, Naseri M, Khori V. Effects of ajmaline on rate-dependent atrioventricular node properties. Potential role in experimental atrioventricular re-entrant tachycardia. *Eur J Pharmacol* 2001; 412(1): 77-89.
27. 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): 1342-1350.
28. Zhang Y, Mazgalev TN. Ventricular rate control during atrial fibrillation and AV node modifications: past, present, and future. *Pacing Clin Electrophysiol* 2004; 27: 382-393.
29. Medkour D, Becker AE, Khalife K, Billette J. Anatomic and functional characteristics of a slow posterior AV nodal pathway: Role in dual-pathway physiology and reentry. *Circulation* 1998; 98(2): 164-174.
30. Khalife K, Billette J, Medkour D, Martel K, Tremblay M, Wang J, et al. Role of the compact node and its posterior extension in normal atrioventricular nodal conduction, refractory, and dual pathway properties. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10(11): 1439-1451.
31. Mazgalev T, Mowrey K, Efimov I, Fahy GJ, Van Wagoner D, Cheng Y, et al. Mechanism of atrioventricular nodal facilitation in rabbit heart: role of proximal AV node. *Am J Physiol* 1997; 273(4 Pt 2): H1658-1668.
32. Billette J, Métayer R, St-Vincent M. Selective functional characteristics of rate-induced fatigue in rabbit atrioventricular node. *Circ Res* 1988; 62(4): 790-799.