

تحقیقی

اثرات اسانس گل بهار نارنج (*Citrus aurantium*) روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی خرگوش

چکیده

زمینه و هدف: گزارش‌های متعدد در منابع مختلف در مورد اثرات قلبی و عروقی گیاه بهار نارنج (*Citrus aurantium*) اشاره شده است. در مطالعه حاضر اثرات غلظت‌های مختلف (۰/۳، ۰/۲، ۰/۱) اسانس این گیاه روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی با کمک مدل گره دهلیزی-بطنی ایزوله خرگوش مورد مطالعه قرار گرفت. هدف دوم مطالعه حاضر بررسی نقش حفاظتی اسانس بهار نارنج در اثرات آریتموژن اوبائین بود.

روش بررسی: این مطالعه از نوع نیمه تجربی است. در تمام آزمایش‌ها خرگوش‌های نر نژاد نیوزلندی با استفاده از تکنیک پرفیوژن گره دهلیزی بطنی ایزوله در شرایط مناسب آزمایشگاهی و در ۳ گروه جداگانه انجام شد. در گروه اول به صورت قبل و بعد اسانس بهار نارنج با غلظت‌های ۰/۳ ml/l، ۰/۲ و ۰/۱ روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی خرگوش مورد مطالعه قرار گرفت. کلیه مراحل فوق در سری دوم و سوم برای وراپامیل (۰/۱ میکرومولار) و اتوبائین (۰/۱ میکرومولار) به تنهایی و در حضور بهارنارنج (۰/۳ v/v) تکرار شد. تعداد گروه‌های مورد آزمایش سه گروه و در هر گروه ۶ خرگوش و جمعاً ۱۸ خرگوش مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز آماری و آنالیز منحنی‌های غیرخطی نیز با کمک نرم‌افزار SPSS و روش Marquardt انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق بیانگر تأثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف عصاره گیاه در افزایش پارامترهای الکتروفیزیولوژیک پایه (زمان هدایت دهلیزی-بطنی، ونکباخ، زمان تحریک ناپذیری کارکردی) و رفتارهای وابسته به سرعت (تسهیل و خستگی) گیاه می‌باشد. به طوری که زمان هدایت دهلیزی-گره‌ای در غلظت ۰/۳ ml/l از ۳۲/۶±۳/۶ میلی ثانیه به ۴۰±۶/۰۸ میلی ثانیه و زمان FRP از ۱۴۷±۵/۱ به ۱۶۶/۶±۳/۶ میلی ثانیه افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). همچنین نقش حفاظتی بهار نارنج در مقابل اثرات دپرسانت اوبائین روی گره دهلیزی بطنی دیده شد. اثرات اسانس روی مسیر سریع بیشتر از مسیر آهسته بود. میزان تسهیل و خستگی در غلظت ۰/۳ اسانس به ترتیب ۷/۵±۰/۳ و ۶/۵±۰/۵ افزایش معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق برای اولین بار اثرات دپرسانت بهار نارنج را مطرح می‌کند و می‌تواند نقش بالقوه ضدآریتمی این گیاه را مطرح سازد.

کلید واژه‌ها: بهار نارنج - آریتمی فوق بطنی - مدل گره دهلیزی بطنی ایزوله

دکتر وحید خوری

استادیار گروه فارماکولوژی دانشکده علوم پزشکی گرگان

دکتر محسن نایب پور

دانشیار گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

الناز رخشان

دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

عباس میر عباسی

دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

مهندس مسعود زمانی

کارشناس ارشد مهندسی پزشکی، گروه برق و الکترونیک دانشگاه تربیت مدرس

نویسنده مسؤول: دکتر وحید خوری

پست الکترونیکی: vaph99@yahoo.com

نشانی: گرگان، کیلومتر ۲ جاده گرگان به ساری، دانشگاه علوم

پزشکی گرگان، دانشکده پزشکی (بنیاد فلسفی)

گروه فارماکولوژی

تلفن: ۴۴۲۱۶۵۱-۰۱۷۱

نمابر: ۴۴۲۱۲۸۹

وصول مقاله: ۸۴/۱۲/۹

اصلاح نهایی: ۸۵/۵/۹

پذیرش مقاله: ۸۵/۶/۱

مقدمه

داروهای موجود در درمان آریتمی، خصوصاً آریتمی‌های مزمن به علت اثرات آریتمی‌زا (Proarrhythmic) همواره با خطر عوارض جانبی برای بیمار مطرح هستند (۱). به همین علت درمان‌های غیرفارماکولوژیک (سوزاندن گره) و یا استفاده از گیاهان و ترکیبات طبیعی می‌تواند گزینه مناسبی برای درمان آریتمی‌های فوق بطنی باشد (۲). گیاهان سابقه مصرف طولانی در درمان آریتمی دارند. دیژیتال نزدیک به ۱۰۰ سال است که در میان فیبریلایسیون دهلیزی مصرف می‌شود و کنیدین (گیاه گنه‌گنه) در اوایل قرن بیستم توسط Lewis برای درمان فیبریلایسیون دهلیزی به کار رفت (۳).

نارنج (*Citrus aurantium*) درختی است به ارتفاع ۴ تا ۵ متر با برگ‌های براق و معطر و طعمی تلخ، گل‌هایی معطر و سرشار از اسانس دارد (۴). اسانس فرار گرفته شده از بهار نارنج (*Essential of neroli*) شامل ترکیباتی چون هیدروکربورهای متفاوت، الکل‌های ترپنیک مانند لینالول (*linalool*)، ترپینول (*terpinol*)، ژرانیول (*geraniol*) و نرول (*nerol*) و استات آنها نرولیدول (*nerolidol*)، دی متیل آترانیلات، فنل (*phenol*) می‌باشد (۴ و ۵). در طب سنتی قسمت‌های مختلف گیاه بهار نارنج در درمان بیماری‌های مختلف از جمله برای رفع تپش قلب به کار رفته و به عنوان تونیک قلبی و دیورتیک استفاده می‌شود (۶-۴).

یکی از ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گرفته شده از گل نارنج فلاونوئید می‌باشد (۵). فلاونوئیدها دارای اثر اینوتروپیک روی میوکارد هستند که این اثر از طریق تسهیل تبدیل آدنوزین تری فسفات (ATP) میتوکندریایی به آدنوزین مونو فسفات حلقوی (Cyclic AMP) است که سبب افزایش جریان کلسیم از غشاء سلول‌های قلبی می‌شود و در نتیجه یون کلسیم داخل سلول را افزایش می‌دهند (۷ و ۸). فلاونوئیدها اثر مهارکنندگی روی پمپ سدیم پتاسیم وابسته به انرژی دارند (۸). عملکرد فلاونوئیدها را در مهار پمپ وابسته به انرژی کلسیم مشابه کوئرستین (*Quercetin*) که یک گلیکوزید است دانسته‌اند (۹). فلاونوئیدها به جایگاه مستقل از محل گلیکوزیدهای قلبی روی آنزیم متصل می‌شوند (۱۰).

تاثیر TFH (*Total Flavones of Hippophues. L*) روی

سلول‌های پریکاردیال قلب خوکیچه ممکن است ناشی از مهار ورود کلسیم و تداخل آن با ذخیره داخل سلول باشد (۱۱). حضور گروه‌های دی متیل آلکیل در فلاونوئیدها به افزایش اثرات اینوتروپیک مثبت و مهارکنندگی آنها کمک می‌کند (۸). در مطالعه حاضر اثرات غلظت‌های متفاوت اسانس بهار نارنج روی خواص الکتروفیزیولوژی پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی در آزمایش‌های جداگانه مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین هدف دوم مطالعه حاضر بررسی نقش پمپ $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ در مکانیسم اثرات بهار نارنج و بررسی احتمال اثرات بهار نارنج در جلوگیری از اثرات آریتموژن اوبائین می‌باشد.

روش بررسی

اسانس بهار نارنج مورد استفاده در این آزمایش، پس از جمع‌آوری شکوفه‌های بهار نارنج در اوایل اردیبهشت سال ۱۳۸۳ در شهر گرگان برای انجام آزمایش با روش تقطیر آماده شد. تعیین گونه گیاه توسط دانشکده داروسازی مازندران انجام شد و کد هرباریومی (1-67-3) به آن تعلق گرفت. بعد از جمع‌آوری شکوفه‌ها به صورت تازه توسط دستگاه اسانس‌گیری و با روش تقطیر با آب به مدت ۴-۵ ساعت اسانس‌گیری انجام و اسانس به دست آمده توسط دستگاه *Clavenger (G.C3800)* آنالیز شد. آنالیز فیتوشیمیایی اسانس بهار نارنج بیانگر وجود ترکیباتی مانند لینالول (۴۲ درصد)، لینالیل استات (۱۱ درصد)، آلفا ترپنیل استات (۹ درصد)، بتا ترپنیل استات (۱۵/۲ درصد) و بتاپنیل می‌باشد (۲).

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر کمیته اخلاق در پزشکی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام گرفت.

این مطالعه از نوع نیمه تجربی بود. طراحی آزمایش شامل مراحل کنترل و دارو در ۳ سری به صورت جداگانه بود. در هر گروه ۶ سر خرگوش نر و کلاً ۱۸ سر خرگوش نر از نژاد نیوزلندی مورد آزمایش قرار گرفت. در مرحله کنترل، پروتکل‌های تحریکی در حضور تیروید انجام گرفت. سپس در سری اول اسانس بهار نارنج به صورت تراکمی با سه غلظت کم به زیاد به صورت تراکمی به مدار اضافه گردید که هر

پروتکل‌های تحریکی را بعد از تطبیق قلب با محیط جدید (حداقل یک ساعت) در عدم حضور و در حضور دارو تکرار کرده و نتایج را با هم مقایسه گردید.

محلول تیروید اکسیژنه (Modified Kerbs Henselit) شده توسط اکسیژن (۹۵ درصد) و دی‌اکسید کربن (۵ درصد) با درجه حرارت 37 ± 0.1 درجه سانتی‌گراد و 7.4 ± 0.1 PH با حجم ۶ لیتر در یک مدار بسته توسط پمپ پریستالتیک به طور پیوسته بافت را از دو طریق تغذیه می‌کرد.

محتوای محلول برحسب میلی‌مولار شامل (mM/L):

۱ MgCl₂, ۲ CaCl₂, ۴/۷ KCl, ۱۲۸ NaCl

۱۱/۱ Dextrose, ۰/۷ NaH₂PO₄, ۲۵ NaHCO₃

پروتکل‌های تحریکی

مفاهیم پایه عبارتند از:

سیکل پایه (Basic Cycle Length=BCL)

بنا به تعریف طولانی‌ترین فاصله دو تحریک متوالی که در خلال آزمایش به نمونه مورد نظر وارد می‌شود، معمولاً ۵۰-۳۰ ثانیه سریع‌تر از ضربانات خودبخودی قلب مورد آزمایش انتخاب می‌گردد.

سیکل نارس (Premature cycle)

عبارت است از ضربانی که وضعیت گره در هر موقعیت نسبت به آن سنجیده می‌شود و می‌تواند از فواصل تحریکی خیلی زیاد (BCL) تا خیلی کم (AV-ERP) در نوسان باشد.

شاخص ونکباخ (Wenckbach cycle length)

بنا به تعریف بلوک درجه سوم دهلیزی - گره‌ای ناشی از افزایش در سرعت تحریک دهلیزها اطلاق شده و شروع بلوک به عنوان زمان ونکباخ ثبت می‌شود.

پروتکل ریکاوری (Recovery)

در طی این پروتکل بعد از ۱۰ تحریک پایه (BCL) یک تحریک نارس (آزمایشی) به بافت اعمال شده و پاسخ آخرین تحریک پایه نسبت به تحریک تأخیری - به صورت فاصله A2H2 (زمان هدایت) در برابر H1A2 (زمان ریکاوری) رسم می‌شود. هنگامی که یک تحریک تأخیری به گره دهلیزی-بطنی وارد می‌شود. گره تحریک فوق را حس کرده و به صورت افزایش در زمان هدایت و کاهش در زمان ریکاوری جواب می‌دهد (شکل ۱). به تدریج با پیشرفت

غلظت به مدت حداقل ۴۵ دقیقه در تماس با گره بود. کلیه مراحل فوق در سری دوم و سوم برای وراپامیل (۰/۱ میکرومولار) و ائوبائین (۰/۱ میکرومولار) به تنهایی و در حضور بهار نارنج (۰/۳ ۰۷/۷) تکرار گردید. برای رقیق کردن اسانس بهار نارنج از حلال تیروید استفاده شد. براساس آزمایش‌های مقدماتی که در طی آن اثرات عصاره گیاه روی زمان ونکباخ و زمان هدایت گره‌ای و زمان تحریک‌ناپذیری موثر آزمایش شد، غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر اسانس بهار نارنج برای آزمایش‌های بعدی انتخاب گردید.

در آزمایش‌های انجام شده از خرگوش‌های نر در محدوده وزنی ۱/۵-۲ کیلوگرم استفاده شد که با هپارین (۵mg/kg/IV) و پنتوباریتال سدیم (۳۵mg/kg/IV) پیش‌درمانی و پس از بیهوش شدن قلب از قفسه‌سینه جدا شد و گستره بافتی شامل دهلیز راست نواحی گره دهلیزی-بطنی و سپتوم بین بطنی را از آن جدا کرده و به کمک سوزن‌هایی روی یک توری داخلی تیروید در مدار داخلی ثابت کرده و توسط محلول تیروید به طور پیوسته با سرعت ۲۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه آنرا تغذیه کردیم. همچنین با استفاده از یک کانول پرفیوژن کرونر با فشار ۷۰-۸۰ میلی‌مترجیوه و جریان کرونر ۱۰-۱۲ ml/min برقرار گردید. توسط الکتروود دو قطبی از نواحی گره سینوسی - دهلیزی، سپتوم دهلیزی و دسته هیس ثبت گرفته و سرعت ضربانات پایه قلب را مشخص کرده و سپس به کمک الکتروود تحریکی که در گره سینوسی دهلیزی در دهلیز راست قرار می‌گیرد، قلب را با سرعتی بالاتر از سرعت پایه بر ضربانات قلب تحریک کرده و سیگنال‌های ثبت شده بعد از تقویت تا حد ۲-۵ ولت از فیلتر (۰/۳ Hz تا ۱ KHz) گذشته و برای نمایش و محاسبه off-line توسط برد (Analog/ Digital) A/D روی یک نوسان‌نگار حافظه‌دار ذخیره شود. ردیاب‌های سخت‌افزاری روی برد A/D زمان فعال شدن هر موج را براساس قطبیت، شیب، آمپلی تود تشخیص و فاصله آن را تا مبدا مختصات محاسبه و ثبت کردند. دقت محاسبه ± 1 میلی‌ثانیه و فرکانس نمونه‌برداری ۵KHz بود. مقادیر محاسبه شده توسط یک برنامه نرم‌افزاری به صورت جداول قابل چاپ توسط چاپگر تنظیم و در حافظه کامپیوتر ذخیره شد.

در صورت تغییر معنی دار در هر یک از پارامترهای فوق قلب مورد نظر کنار گذاشته می شد. پروتکل ونکباخ به عنوان شاخص پایداری الکتروفیزیولوژی قلب در طول آزمایش در نظر گرفته شده، این پروتکل قبل و بعد از اضافه کردن دارو و در انتهای آزمایش بعد از شستشو قلب اجرا می شد و میانگین تغییرات حاصل نباید از 4 ± 0.5 میلی ثانیه تجاوز کند.

تمام نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد نشان داده شده است. برای مشخص کردن توزیع طبیعی و غیر طبیعی داده ها، از آزمون بارتلت و نرم افزار SPSS استفاده شد. برای مقایسه بین گروه کنترل و دارو، از t test - paired و به منظور مقایسه بین چندین گروه از آزمون آنالیز واریانس استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان حد معنی دار بودن در نظر گرفته شد. آنالیز منحنی های غیر خطی نیز با کمک نرم افزار Statgraph و روش Marquardt انجام گرفت.

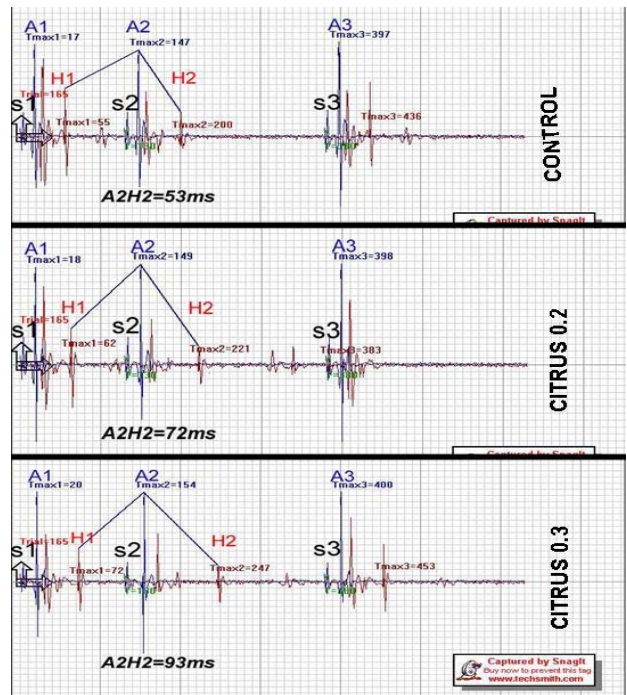
یافته ها

غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی لیتر دلیتر اسانس بهار نارنج سبب افزایش زمان هدایت دهلیزی - گره ای (جدول یک)، زمان تحریک ناپذیری کارکردی و ونکباخ می شود (شکل ۱). آنالیز ریاضی منحنی ریکاوری در دو غلظت به کار رفته بیانگر افزایش غیر معنی دار در ثابت زمان ریکاوری و شیب منحنی ریکاوری گردید (شکل ۲). اثرات اسانس بهار نارنج در دو غلظت به کار رفته با توجه به شکل یک نشان می دهد که قسمت سطح منحنی ریکاوری (مسیر سریع) و قسمت شیب دار (مسیر آهسته) تحت تاثیر گیاه به سمت بالا و راست متمایل شده که بیانگر اثرات دپرسیون گیاه روی هر دو مسیر گره دهلیزی - بطنی می باشد. همچنین رفتار گیاه در تغییر خواص هدایتی گره به صورت غیر وابسته به سرعت می باشد (شکل ۲، جدول ۲).

نتایج حاصل از اضافه کردن وراپامیل با غلظت ۰/۱ میکرومولار بیانگر این نکته است که وراپامیل در غلظت به کار رفته سبب افزایش معنی داری در شاخص های زمان هدایت دهلیزی - بطنی، زمان تحریک ناپذیری مؤثر، زمان تحریک پذیری کارکردی و ونکباخ گردید.

بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت توانست اثرات

پروتکل هرچه فرکانس تحریک نارس بیشتر باشد، زمان هدایت طولانی تر شده تا در نهایت گره دهلیزی - بطنی از هدایت موج تحریکی ناتوان شده (زمان تحریک ناپذیری مؤثر) و ثبت از دسته هیس مشاهده نمی شود.



شکل ۱: یک نمونه از سیگنال های ثبت شده در حین اجرای پروتکل ریکاوری پس از تاثیر غلظت های مختلف اسانس بهار نارنج (۰/۳ و ۰/۲)، همان طور که در شکل فوق می بینیم با افزایش غلظت اسانس میزان زمان هدایت (AH) از ۵۳ میلی ثانیه به ۷۲ میلی ثانیه و بعد به ۹۳ میلی ثانیه افزایش می یابد که نشان دهنده اثرات تضعیف کننده اسانس بهار نارنج بر زمان هدایت گره ای است.

زمان تحریک ناپذیری مؤثر

(Effective Refractory Period=ERP)

طولانی ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل

از آن که به بلوک دهلیزی - گره ای برسیم.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی

(Functional refractory period=FRP)

کوتاه ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H2)

که در طی یک پروتکل تحریکی به دست می آید.

قبل از شروع آزمایش قلب های مورد نظر باید حداقل به

مدت ۳۰ دقیقه از نظر جریان عروق کرونر، زمان انتقال دهلیزی

- گره ای و شاخص ونکباخ پایدار شده باشد.

جدول ۱: اثرات غلظت‌های مختلف عصاره بهار نارنج (حجمی/حجمی) روی شاخص‌های تحریک ناپذیری گره دهلیزی-بطنی بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش WBCL، FRP شده است.

کنترل	بهار نارنج ۰/۱ ml/l	بهار نارنج ۰/۲ ml/l	بهار نارنج ۰/۳ ml/l	دلتا وراپامیل ۰/۱ μ m
WBCL (میلی ثانیه)	۱۳۱/۶۶±۱/۶	۱۳۵±۱/۷*	۱۳۹±۰/۵**	۱۴۷±۳/۹*
ERP (میلی ثانیه)	۱۰۴/۳۳±۳/۶	۱۱۰±۶/۴	۱۱۳±۹/۲	۱۱۲/۶۶±۷/۶
FRP (میلی ثانیه)	۱۴۷±۵/۱	۱۵۳±۴/۰۴*	۱۵۹±۲/۳**	۱۶۶/۶۳±۳/۶*

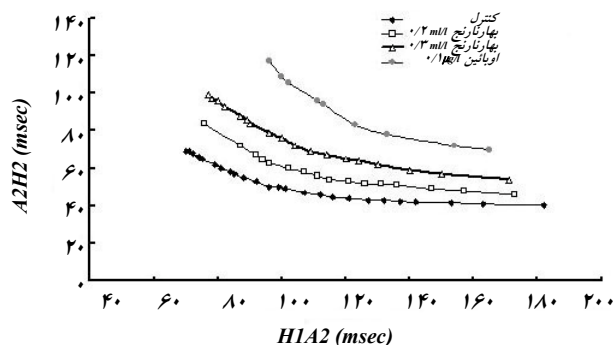
WBCL: زمان ونکباخ، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر، FRP: زمان تحریک ناپذیری کارکردی
دلتا وراپامیل: اختلاف اثرات وراپامیل با غلظت ۰/۳ بهار نارنج بر حسب درصد در مقایسه با کنترل
ANOVA می‌باشد. $P < ۰/۰۱$ **, $P < ۰/۰۵$ *

جدول ۲: مقایسه اثرات بهار نارنج و اتوبائین به تنهایی و در حضور یکدیگر روی شاخص‌های پایه گره دهلیزی بطنی

کنترل بهار نارنج	بهار نارنج ۰/۳ ml/l	اوبائین ۰/۱ میکرومولار + بهار نارنج	کنترل اوبائین	اوبائین ۰/۱ میکرومولار
۳۲/۶±۳/۹	۴۰±۶/۰۸*	۴۶±۱۰/۳*	۴۴/۳±۳/۲	۵۱/۴±۳/۳##
۱۳۱/۶۶±۱/۶	۱۴۷±۳/۹*	۱۵۴/۳±۵/۳**	۱۴۰/۱±۶/۸	۱۶۰/۸±۱۱/۵#
۱۰۴/۳۳±۳/۶	۱۱۲/۶۶±۷/۶	۱۲۴/۶±۱۸/۶*	۱۰۲/۴±۳/۸	۱۲۸/۶±۱۱/۸#
۱۴۷±۵/۱	۱۶۶/۶±۳/۶*	۱۷۹/۶±۱۳/۳**	۱۶۰/۷±۵/۴	۱۷۳±۸/۷
FRP (میلی ثانیه)	ERP (میلی ثانیه)	WBCL (میلی ثانیه)	AH (میلی ثانیه)	

WBCL: زمان ونکباخ، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر، FRP: زمان تحریک ناپذیری کارکردی، AH: زمان هدایت
ANOVA در مقایسه با کنترل با استفاده از آزمون $P < ۰/۰۱$ **, $P < ۰/۰۵$ *
Paired-t test در مقایسه با کنترل با استفاده از $P < ۰/۰۱$ ##, $P < ۰/۰۵$ #

در پارامترهای زمان هدایت و زمان تحریک ناپذیری کارکردی اوبائین نسبت به اسانس بهار نارنج می‌باشد (جدول ۲).

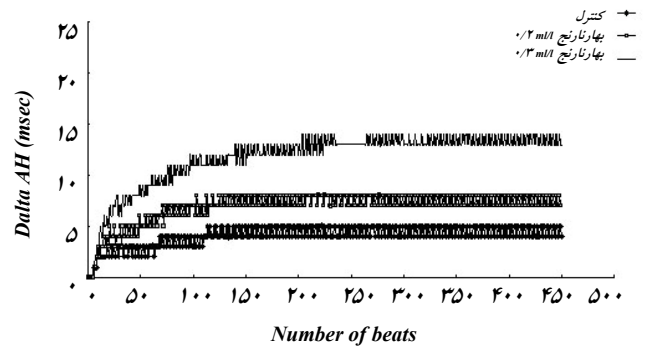


شکل ۲: اثرات غلظت‌های مختلف بهار نارنج (حجمی/حجمی) و اوبائین روی منحنی ریکاوری بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت سبب شیفت به سمت بالا و راست منحنی ریکاوری شده است.

نتایج ناشی از تاثیر اثرات غلظت‌های مختلف اسانس بهار نارنج نشان می‌دهد که میزان تسهیل (ΔAV-FRP) به صورت معنی‌داری افزایش یافت. به صورتی که در حضور غلظت ۰/۳ اسانس بهار نارنج ۷/۵±۰/۹ میلی ثانیه افزایش در میزان تسهیل حاصل شد. همین طور میزان خستگی ۶/۵±۰/۵ میلی ثانیه در غلظت ۰/۳ از اسانس بهار نارنج افزایش نشان داد که مقادیر فوق از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۳).

مهاری قابل توجه در مقایسه با وراپامیل ایجاد کند (جدول ۱) به عنوان مثال اثرات دپرسانت بهار نارنج (غلظت ۰/۳ حجمی/حجمی) روی پارامتر زمان هدایت دهلیزی - گره‌ای، ۳۲ درصد وراپامیل می‌باشد. مقایسه اثرات بهار نارنج با وراپامیل بیانگر آن است که این گیاه در ارتباط با زمان هدایت دهلیزی - بطنی، ونکباخ، زمان تحریک ناپذیری موثر و کارکردی یک رابطه وابسته به غلظت داشته است. بدین معنی که با افزایش غلظت بهار نارنج اثرات دپرسانت گیاه در مقایسه با غلظت ۰/۱ میکرومولار وراپامیل افزایش می‌یابد (جدول ۱).
اوبائین در غلظت ۰/۱ میکرومولار به صورت جداگانه در یک مدل وابسته به زمان سبب دپرسن زمان هدایت - ونکباخ - زمان تحریک ناپذیری موثر و کارکردی گردید. (شکل ۲) به عنوان مثال زمان هدایت از ۴۴ به ۵۱ افزایش معنی‌داری یافت و ونکباخ از ۱۴۰ به ۱۶۰ افزایش معنی‌داری یافت (جدول ۲)، که این افزایش در غلظت ۰/۲ میکرومولار همراه با تاکی آریتمی چرخشی بود.

نتایج تحقیق نشان‌دهنده افزایش معنی‌داری در پارامترهای ونکباخ و زمان تحریک ناپذیری موثر و افزایش غیر معنی‌داری



شکل ۳: اثرات غلظت‌های مختلف بهار نارنج (حجمی/حجمی) روی شاخص *Figue* گره دهلیزی - بطنی بهار نارنج در یک مدل وابسته به سرعت سبب افزایش معنی‌دار زمان خستگی شده است.

بحث

نتایج کلی این تحقیق نشان داد که اسانس بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت و زمان و غیروابسته به سرعت سبب مهار خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی گردید. نتایج این مطالعه با نتایج به دست آمده توسط گیاه دیژیتال (۲) مشابه می‌باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که منحنی هدایت گره دهلیزی بطنی از دو قسمت کاملاً مجزا تشکیل شده است. قسمت صاف منحنی در ضربانات آهسته دهلیزی بیانگر هدایت در مسیر سریع و قسمت با شیب تند منحنی در ضربانات سریع دهلیزی بیانگر هدایت در مسیر آهسته می‌باشد (۱۲). با توجه به شکل یک اثرات گیاه بیانگر تاثیر دپرسانت بیشتر اسانس روی مسیر سریع (قسمت ابتدای منحنی) نسبت به مسیر آهسته (شیب تند منحنی) می‌باشد. تاثیر اسانس بهار نارنج روی افزایش غیرمعنی‌دار مقدار هدایت حداقل (AHmin) منعکس کننده اثرات گیاه روی مسیر سریع (سلول‌های ترانزیشنال قسمت قدامی کامپکت نود) است. در حالی که که افزایش معنی‌دار زمان هدایت حداکثر (AHmax) و عدم افزایش معنی‌دار ERP بیانگر اثرات آنتی‌آریتمیک وابسته به سرعت این گیاه در سرعت‌های بالای ضربانات قلبی روی سلول‌های کامپکت نود می‌باشد. عدم تاثیر اسانس بهار نارنج در افزایش معنی‌دار زمان ثابت ریکاوری بیانگر تاثیر غیروابسته به سرعت بهار نارنج می‌باشد. در هر حال انتقال به سمت بالا و راست منحنی ریکاوری در یک مدل وابسته به غلظت بیانگر تاثیر اسانس بهار نارنج روی هر دو مسیر آهسته و سریع می‌باشد.

مقایسه قدرت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس بهار نارنج با وراپامیل بیانگر کارایی نه چندان زیاد این اسانس در تاثیر بر پارامترهای الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی بطنی می‌باشد. به صورتی که اثرات گیاه در مقایسه با وراپامیل در افزایش زمان ونکباخ و تحریک ناپذیری کارکردی تا حدود ۱۸ و ۴۲ درصد می‌رسد.

مطابق جدول ۲ و شکل یک اثرباشی در غلظت ۰/۱ میکرومولار سبب افزایش پارامترهای پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی گردید. بهار نارنج توانست اثرات ممانعتی در برابر اثرباشی روی پارامترهای زمان هدایت و ونکباخ و زمان تحریک ناپذیری موثر اعمال می‌کند که بیانگر اثرات بهار نارنج روی مسیر آهسته و سریع می‌باشد.

اضافه نمودن اسانس بهار نارنج سبب کاهش اثرات دپرسانت اثرباشی گره دهلیزی بطنی شد. با توجه به آن که اثرباشی سبب مهار پمپ سدیم پتاسیم وابسته به انرژی می‌شود (۱۳)، جلوگیری از اثرات اثرباشی توسط اسانس بهار نارنج می‌تواند بیانگر مکانیسم یکسان این گیاه در سلول‌های گره دهلیزی بطنی باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بهار نارنج سبب مهار پمپ سدیم - پتاسیم وابسته به انرژی و مهار پمپ کلسیم می‌شود (۸ و ۱۱). بنابراین می‌توان حدس زد که احتمالاً بهار نارنج در محل مشترک روی آنزیم $Na^{+}-K^{+}-ATPase$ رقابت و اثرات آن را از بین می‌برد.

افزایش معنی‌دار تسهیل و خستگی بیانگر رفتار وابسته به سرعت اسانس این گیاه می‌باشد. با توجه به آن که مطالعات قبلی بیانگر نقش سلول‌های ترانزیشنال قسمت پروگزیمال گره در مکانیسم ایجاد تسهیل می‌باشد (۱۴)، می‌توان احتمال تاثیر اسانس را در قسمت پروگزیمال یا ابتدایی گره را مطرح نمود. در حالی که خستگی را به علت زمان تحریک ناپذیری طولانی سلول‌های کامپکت نود در قسمت دیستال گره دهلیزی - بطنی می‌دانند (۱۵). افزایش خستگی بیانگر تاثیر بهار نارنج در قسمت دیستال و بر روی سلول‌های گره‌ای (N) در قسمت کامپکت نود می‌باشد، مهار پمپ سدیم - پتاسیم وابسته به انرژی را نیز به عنوان مکانیسم محتمل خستگی مطرح می‌کنند. بنابراین ممکن است بهار نارنج با مهار این پمپ سبب افزایش خستگی شده باشد. مکانیسم ایجاد تحریک ناپذیری

نتیجه گیری

اسانس بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت و غیر وابسته به سرعت سبب دپرفشن مسیر آهسته و سریع گره دهلیزی بطنی و سلول های کامپکت نود شد که اثرات گیاه روی مسیر سریع بیشتر از آهسته می باشد. این رفتار نشان دهنده اثرات ضد آریتمی این گیاه می باشد که در مقایسه با وراپامیل قابل توجه است. همچنین بهار نارنج توانست با تاثیر بر هر دو مسیر سریع و آهسته نقش محافظتی در برابر اثرات اتوبائین داشته باشد. تحقیقات بیشتری با روش های ثبت از کانال های یونی و ثبت داخل سلولی برای تعیین مکانیسم دقیق تاثیر این اسانس روی سلول های گره دهلیزی بطنی لازم است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به خاطر تقبل هزینه طرح و نیز از آقای دکتر سلیمانی برای جمع آوری گیاه و تهیه اسانس از بهار نارنج سپاسگزاری می شود.

References

- Guerra PG, Talajic M, Roy D, Dubuc M, Thibault B, Nattel S. *Is there a future for antiarrhythmic drug therapy?* Drugs. 1998; 56(5):767-81.
- Dhein S, Tudyka T. *Therapeutic potential of antiarrhythmic peptides. Cellular coupling as a new antiarrhythmic target.* Drugs. 1995; 49(6):851-5.
- Lewis T, Drury AN, Wedd AM. *Observations upon the action of certain drugs. Fibrillation of the auricles.* Heart. 1922; 9:207-67.
- زرگری ع، گیاهان دارویی. جلد اول. چاپ هفتم. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۶. صفحات ۴۷۸ تا ۴۸۵.
- Fleming T. *PDR for herbal medicines. Citrus aurantium.* Second Ed. 2001; pp: 86-87
- Joshi SG. *Medicinal plant.* Oxford & IBN publishing co first Ed. New Dehli. 2003; pp: 342-3.
- Takeya K, Itoigawa M, Furukawa H. *Triphasic inotropic response of guinea-pig papillary muscle to murrayaquinone-A isolated from Rutaceae.* Eur J Pharmacol. 1989; 169(1):137-45.
- Umarova FT, Khushbactova ZA, Batirov EH, Mekler VM. *Inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase by flavonoids and their inotropic effect. Investigation of the structure-activity relationship.* Membr Cell Biol. 1998;12(1):27-40.
- Shoshan V, MacLennan DH. *Quercetin interaction with the (Ca²⁺ + Mg²⁺)-ATPase of sarcoplasmic reticulum.* J Biol Chem. 1981; 256(2):887-92.
- Hirano T, Oka K, Akiba M. *Effects of synthetic and naturally*

در سلول های گره دهلیزی بطنی همچنان ناشناخته باقی مانده است (۱۶). نقش جریان های کلسیم و سدیم و پتاسیم در ایجاد تحریک ناپذیری در سلول های گره دهلیزی بطنی مطرح می باشد (۱۷). افزایش زمان تحریک ناپذیری کارکردی و زمان ونکباخ بیانگر نقش قاطع اسانس بهار نارنج روی سلول های گره ای (N) در قسمت کامپکت نود گره می باشد. همچنین افزایش غیر معنی دار زمان تحریک ناپذیری موثر بیانگر تاثیر نسبی کم بهار نارنج روی مسیر آهسته گره دهلیزی - بطنی می باشد که بیانگر اثرات کم گیاه روی مکانیسم های حفاظتی گره در قسمت ابتدایی خلفی گره دهلیزی - بطنی می باشد. از طرفی افزایش ونکباخ به عنوان شاخص زمان تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی بیانگر افزایش نقش حفاظتی گیاه بهار نارنج در جلوگیری از آریتمی های فوق بطنی می باشد.

occurring flavonoids on Na⁺,K⁺-ATPase: aspects of the structure-activity relationship and action mechanism. Life Sci. 1989; 45(12):1111-7.

11) Wu J, Yu XJ, Ma X, Li XG, Liu D. *Electrophysiologic effects of total flavones of Hippophae rhamnoides L on guinea pig papillary muscles and cultured rat myocardial cells.* Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1994; 15(4):341-3.

12) 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.

13) Glitsch HG. *Electrophysiology of the sodium-potassium-ATPase in cardiac cells.* Physiol Rev. 2001;81(4):1791-826.

14) 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):H1658-68.

15) Billette J, Metayer R, St-Vincent M. *Selective functional characteristics of rate-induced fatigue in rabbit atrioventricular node.* Circ Res. 1988; 62(4):790-9.

16) Billette J, Shrier A. *Atrioventricular nodal activation and functional properties.* In: Zipes DP, Jalife J, eds: Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside. Philadelphia. WB Saunders. 1995; pp: 216-228.

17) Hoshino K, Anumonwo J, Delmar M, Jalife J. *Wenckebach periodicity in single atrioventricular nodal cells from the rabbit heart.* Circulation. 1990;82(6):2201-16.