

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 و ۰/۰۳) 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 اوباتین 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 اتوباتین (۰/۱ میکرومولار) به تنهایی و در حضور بهار نارنج (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 میلی‌ثانیه به ۴۰±۶/۰۸ میلی‌ثانیه و زمان FRP از ۱۴۷±۵/۱ به ۱۶۶/۶±۳/۶ میلی‌ثانیه افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). همچنین نقش حفاظتی بهار نارنج در مقابل اثرات دپرسانت اوباتین 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: ۰۱۷۱-۴۴۲۱۶۵۱

نمابر: ۴۴۲۱۲۸۹

وصول مقاله: ۸۴/۱۲/۹

اصلاح نهایی: ۸۵/۵/۹

پذیرش مقاله: ۸۵/۶/۱۱

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 فیبریلسیون دهلیزی مصرف می‌شود و کنیدین (گیاه گنه‌گنه) در اوایل قرن بیستم توسط Lewis برای درمان فیبریلسیون 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 لینانول (linalool)، ترپینول (terpinol)، ژرانیول (geraniol) و نرول (nerol) و استات آنها نرولیدول (nerolidol)، دی متیل آترانیلات، فنل (phenol) می‌باشد (۵ و ۴). 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 کوچک 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 Na^+/K^+ 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 پرستالتیک 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 ۳۰-۵۰ 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.

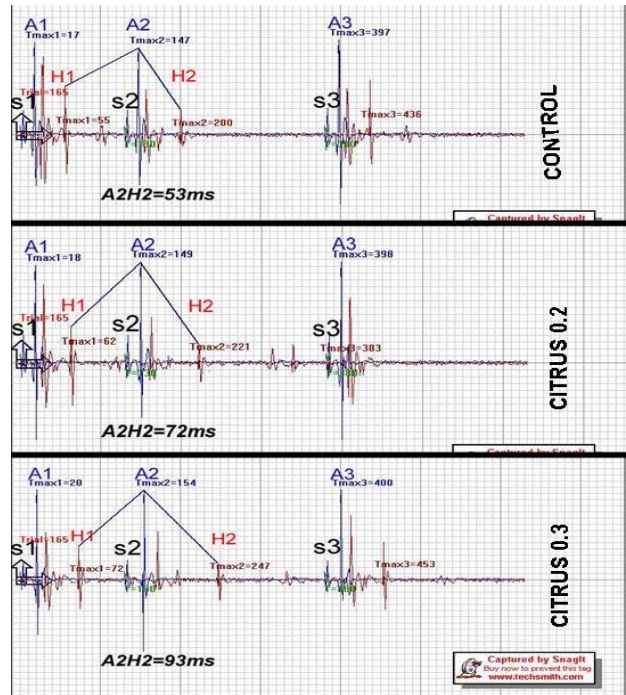
پروتکل ریکاوری (Recovery)

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 ۰/۷) 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 میلی‌متر جیوه 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.

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 موثر) و ثبت از دسته هیس مشاهده نمی شود.



شکل ۱: یک نمونه از سیگنال‌های ثبت شده در حین اجرای پروتکل ریکاوری پس از تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس بهار نارنج (۰/۲ و ۰/۳ ml/l)، همان‌طور که در شکل فوق می‌بینیم با افزایش غلظت اسانس میزان زمان هدایت (AH) از ۵۳ میلی‌ثانیه به ۷۲ میلی‌ثانیه و بعد به ۹۳ میلی‌ثانیه افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده اثرات تضعیف‌کننده اسانس بهار نارنج بر زمان هدایت گره‌ای است.

زمان تحریک ناپذیری مؤثر

(Effective Refractory Period=ERP)

طولانی‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از دهلیزها (A1A2) قبل

از آن که به بلوک دهلیزی - گره‌ای برسیم.

زمان تحریک ناپذیری کارکردی

(Functional refractory period=FRP)

کوتاه‌ترین فاصله دو ثبت متوالی از دسته هیس (H1H2)

که در طی یک پروتکل تحریکی به دست می‌آید.

قبل از شروع آزمایش قلب‌های مورد نظر باید حداقل به

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

- گره‌ای و شاخص و نکباج پایدار شده باشد.

در صورت تغییر معنی‌دار در هر یک از پارامترهای فوق قلب مورد نظر کنار گذاشته می‌شود. پروتکل و نکباج 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 می‌شود و میانگین تغییرات حاصل نباید از $5/4 \pm 0/4$ میلی‌ثانیه تجاوز کند.

تمام نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است. برای مشخص کردن توزیع طبیعی و غیر طبیعی داده‌ها، از آزمون بارتلت و نرم‌افزار 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 معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد. آنالیز منحنی‌های غیرخطی نیز با کمک نرم‌افزار Statgraph و روش Marquardt انجام گرفت.

یافته‌ها

غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر اسانس بهار نارنج سبب افزایش زمان هدایت دهلیزی - گره‌ای (جدول یک)، زمان تحریک ناپذیری کارکردی و ونکباج می‌شود (شکل ۱). آنالیز ریاضی منحنی ریکاوری در دو غلظت به کار رفته بیانگر افزایش غیرمعنی‌دار 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 می‌دهد که قسمت سطح منحنی ریکاوری (مسیر سریع) و قسمت شیب‌دار (مسیر آهسته) تحت تاثیر گیاه به سمت بالا و راست متمایل شده که بیانگر اثرات دپرسیون گیاه روی هر دو مسیر گره دهلیزی - بطنی می‌باشد. همچنین رفتار گیاه در تغییر خواص هدایتی گره به صورت غیروابسته به سرعت می‌باشد (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 معنی‌داری در شاخص‌های زمان هدایت دهلیزی - بطنی، زمان تحریک ناپذیری مؤثر، زمان تحریک پذیری کارکردی و ونکباج گردید.

بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت توانست اثرات

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

کنترل	بهارنارنج ۰/۱ ml/l	بهارنارنج ۰/۲ ml/l	بهارنارنج ۰/۳ ml/l	دلتا وراپامیل ۰/۱ μm
۱۳۱/۶۶±۱/۶	۱۳۵±۱/۷*	۱۳۹±۰/۵**	۱۴۷±۳/۹*	۱۸ درصد
۱۰۴/۳۳±۳/۶	۱۱۰±۶/۴	۱۱۳±۹/۲	۱۱۲/۶۶±۷/۶	۱۹/۵ درصد
۱۴۷±۵/۱	۱۵۳±۴/۰۴*	۱۵۹±۲/۳**	۱۶۶/۶±۳/۶*	۴۲ درصد

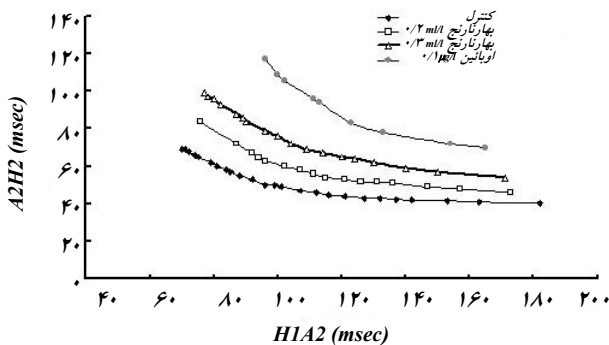
WBCL: زمان ونکباخ، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر، FRP: زمان تحریک ناپذیری کارکردی دلتا وراپامیل: اختلاف اثرات وراپامیل با غلظت ۰/۳ بهارنارنج برحسب درصد در مقایسه با کنترل
 $P < 0.01$ **, $P < 0.05$ *
 آزمون‌های آماری مورد استفاده ANOVA می‌باشد.

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

کنترل بهارنارنج	بهارنارنج ۰/۳ ml/l	اوبائین ۰/۱ میکرومولار + بهارنارنج	کنترل اوبائین	اوبائین ۰/۱ میکرومولار
۳۲/۶±۳/۹	۴۰±۶/۰۸*	۴۶±۱۰/۲*	۴۴/۳±۳/۲	۵۱/۴±۳/۲###
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

WBCL: زمان ونکباخ، ERP: زمان تحریک ناپذیری موثر، FRP: زمان تحریک ناپذیری کارکردی، AH: زمان هدایت
 $P < 0.01$ **, $P < 0.05$ *
 ANOVA در مقایسه با کنترل با استفاده از آزمون ANOVA
 $P < 0.01$ ##، $P < 0.05$ #
 Paired-t test در مقایسه با کنترل با استفاده از

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



شکل ۲: اثرات غلظت‌های مختلف بهارنارنج (حجمی/حجمی) و اوبائین روی منحنی ریکاوری بهارنارنج 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 معنی داری 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 معنی دار بود (شکل ۳).

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

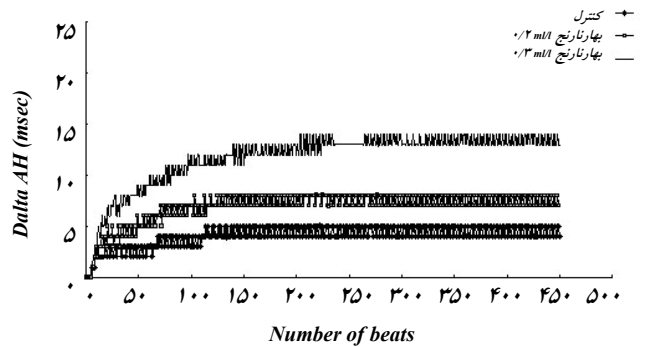
نتایج تحقیق نشان‌دهنده افزایش معنی داری در پارامترهای ونکباخ و زمان تحریک ناپذیری موثر و افزایش غیر معنی داری

مقایسه قدرت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس بهار نارنج با وراپامیل بیانگر کارائی 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 ائوبائین در غلظت ۰/۱ میکرومولار سبب افزایش پارامترهای پایه و وابسته به سرعت گره دهلیزی بطنی گردید. بهار نارنج توانست اثرات ممانعتی در برابر اوبائین 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 اوبائین گره دهلیزی بطنی شد. با توجه به آن که اوبائین سبب مهار پمپ سدیم پتاسیم وابسته به انرژی می‌شود (۱۳)، جلوگیری از اثرات ائوبائین 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 (۱۱و۸). 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



شکل ۳: اثرات غلظت‌های مختلف بهار نارنج (حجمی/حجمی) روی شاخص *Ftigue* 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 غیر معنی‌دار 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 آنتی آریتمیک 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.

نتیجه گیری

اسانس بهار نارنج در یک مدل وابسته به غلظت و غیروابسته به سرعت سبب دپرفشن مسیر آهسته و سریع گره دهلیزی بطنی و سلول‌های کامپکت نود شد که اثرات گیاه روی مسیر سریع بیشتر از آهسته می‌باشد. این رفتار نشان‌دهنده اثرات ضدآریتمی این گیاه می‌باشد 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 روش‌های ثبت از کانال‌های یونی و ثبت داخل سلولی برای تعیین مکانیسم دقیق تاثیر این اسانس روی سلول‌های 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 جمع‌آوری گیاه و تهیه اسانس از بهار نارنج سپاسگزاری می‌شود.

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 سلول‌های گره دهلیزی بطنی همچنان ناشناخته باقی مانده است (۱۶). نقش جریان‌های کلسیم و سدیم و پتاسیم در ایجاد تحریک ناپذیری در سلول‌های گره دهلیزی بطنی مطرح می‌باشد (۱۷). افزایش زمان تحریک ناپذیری کارکردی و زمان ونکباخ بیانگر نقش قاطع اسانس بهار نارنج روی سلول‌های گره‌ای (N) در قسمت کامپکت نود گره می‌باشد. همچنین افزایش غیرمعنی دار زمان تحریک ناپذیری موثر بیانگر تاثیر نسبی کم بهار نارنج روی مسیر آهسته گره دهلیزی-بطنی می‌باشد که بیانگر اثرات کم گیاه روی مکانیسم‌های حفاظتی گره در قسمت ابتدایی خلفی گره دهلیزی-بطنی می‌باشد. از طرفی افزایش ونکباخ به عنوان شاخص زمان تحریک ناپذیری گره دهلیزی بطنی بیانگر افزایش نقش حفاظتی گیاه بهار نارنج در جلوگیری از آریتمی‌های فوق بطنی می‌باشد.

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.