نقش جریان پتاسیمی اصلاحی، تنظیمی سریع(Ikr) بر فعالیت خود به خودی(تنظیمی) گره سینوسی-دهلیزی ودهلیزی-بطنی قلب موش

محمد رضا نیکمرام*

* دانشیار فیزیولوژی، دانشکده علوم توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی ایران

تاریخ دریافت:**86/2/3** تاریخ پذیرش:**87/3/5**

چکیده

مقدمه: در سلولهای قلبی جریان پتاسیمی اصلاحی تاخیری سریع(Ikr) یکی از جریانهای مطرح در مرحله بالقوه عمل قطبی کردن پتانسیل عمل می باشد. مقایسه اثر مسدود کنندگی E-۴۰۳۱ بر فعالیت تنظیم ضربان گره سینوسی- دهلیزی و دهلیزی- بطنی دست نخورده و سالم موش هدف این بررسی بوده است.

مواد و روش ها: فعالیت خود به خودی هر دو گره جدا شده از هم با میکرو الکترودهای فلزی جداگانه که با سطح آندوتلیومی هر گره تماس داشت قبل و هنگام مصرف 1 میکرومولار E-۴۰۳۱ ثبت گردید و طول دوره یا Cycle length اندازه گیری شد.

یافته ها: مصرف 1 میکرو مولار E-۴۰۳۱ باعث افزایش طول دوره قلبی در نمونه های گره سینوسی-دهلیزی 12/5± 67/6 درصد و در نمونه های گره دهلیزی- بطنی 3/5±28درصد شد. در هر دو گره این تغییرات معنی دار بودند.

بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده می توان بیان کرد که :1) جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع در هر دو گره موجود بود.2) اثر E-۴۰۳۱ بر طول دوره قلبی بر هر دو گره متفاوت بود.

واژه های کلیدی: گره سینوسی-دهلیزی، گره دهلیزی-بطنی، جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع، E-۴۰۳۱

***نویسنده مسئول:** دانشیار فیزیولوژی، دانشکده علوم توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی ایران

Email: mrnikmaram@yahoo.co.uk

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

مقدمه

تا کنون جریانهای مختلفی شناسایی شده اند که در دپولاریزاسیون و رپولاریزاسیون پتانسیل عمل غشای سلولی ایفای نقش می کنند. از جمله سه نوع جریان تنظیم کننده جبرانی تاخیری سریع (delayed rectifier K+current) در سلولهای گره سینوسی-دهلیزی در تحقیقات علمی گزارش گردیده و اثبات شده است. که نقش عمده ای در توان بالقوه عمل قطبی کردن مجدد دارند. جریان پتاسیمی جبرانی تنظیم گر فوق العاده سریع (ultrarapid delayed) rectifier K+current (Ikur)(1-5) جریان پتاسیمی تنظیم گر تاخیری سریع (6-9) rapid delayed rectifier)(K+current (Ikr) و جریان پتاسیمی تنظیم گر تاخیری آهسته (Iks) (10-11)(slow rectifier K+current)

Verheijck و همکاران نشان دادند که غلظت 2/. تا 1 میکرو مولار E-٤٠٣١ که یک مسدود کننده انتخابی برای جریان Ikr است، تاثیرات شگرفی بر فاکتورهای تعیین کننده شکل پتانسیل و از جمله طول دوره (cycle length) داشته و موجب افزایش طول دوره می گردد(13). مشابه همین اثرات توسط دیگران نیز گزارش شده است(13).

اگر چه مدارکی در خصوص نقش Ikr در سلولهای گره سینوسی–دهلیزی قلب موش تا سال 2004 گزارش شده بود، اطلاعات جزیی تر در خصوص نقش فیزیولوژیکی آن معلوم نبود تا اینکه در این سال Clark و همکاران به جزییات بیشتری از این جریان اشاره کردند(14). اما همان طور که در گزارشات می خوانیم نقش این جریان در سلولهای گره دهلیزی-بطنی کمتر مورد توجه بوده است. بر این اساس و در راستای شناخت و مقایسه جریان های مختلف سازنده فاز رپولاریزه کننده در هر دو گره مهم قلب، بررسی حاضر با مسدود کردن جریان مذکور در هر دو گره انجام شد.

مواد و روش ها

موش های بالغ سیاه BL٦/J C٥٧ نر با وزن 20 تا30 گرم، پس از اینکه با ضربه بر سر بیهوش می شدند سینه و پریکاردیوم فوراً شکافته شده و قلب در حال تپش سریعاً در محلول تایروید قرار داده می شد. کار جداسازی قطعات بافتی تا باقی ماندن و جداسازی گره سینوسی-دهلیزی و گره دهلیزی-بطنی و اطراف آن ادامه یافت. نمونه های آماده شده جهت ثبت فعالیتهای الکتریکی، در حمام بافتی فیکس شده و توسط محلول تایروید تغذیه می گردیدند. ثبت فعالیت الکتریکی گره به صورت خارج سلولی انجام و نمونه به مدت 15 تا 20 دقیقه در معرض 1 میکرو مولار E-٤٠٣١ قرار می گرفت و مجدداً ثبت فعالیت الکتریکی صورت می گرفت. میکروالکترودها به یک آمپلی فایر وصل می شدند. بر روی صفحه مانیتور کامپیوتر، خروجی ها قابل مشاهده بوده و در کامپیوتر ذخیره می گردید. دستگاه Power Lab مدل ٤/sp که تبدیل کننده آنالوگ به دیجیتال می باشد هم در مسیر قرار داده شد.

بر اساس تجارب قبلی درجه حرارت ˚32 بر درجه حرارت ˚37 سانتیگراد ترجیح داده شد(15). مایع یا محلول تایروید قبل از ورود به حمام بافتی گرم شده و درجه حرارت توسط یک termistor کوچک که قسمت حساس آن در داخل حمام بافتی قرارداشت وارسی می گردید.

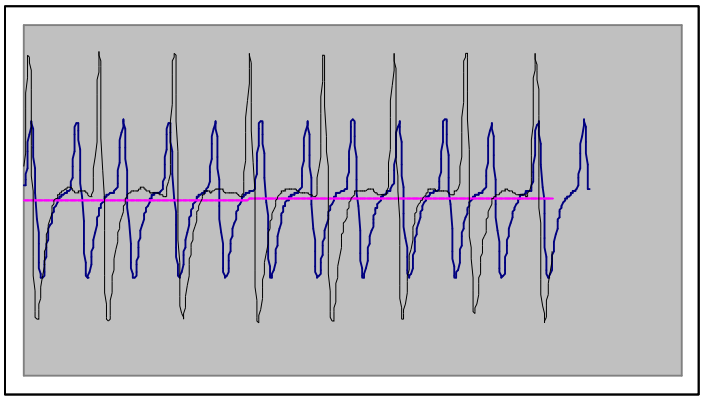
محلول تایروید شامل 93 میلی مولار NaCl،0 2 میلی مولار NaHCO٣، 1میلی مولار Na٢HPO٤، 5 میلی مولار KCl، 2 میلی مولار CaCl٢، 1 میلی مولار MgSO٤، 20 میلی مولار سدیم استات و 10 میلی لیتر گلوکز به اضافه 5 واحد بود. به منظور داشتن pH مناسب، محلول مورد بحث به مدت 20 دقیقه با مخلوط گازی 5 درصد CO٢ و 95 درصد O٢ به صورت حباب و از طریق لوله رابط سیلندر گاز تزریق می شد. سپس pH توسط pH متر اندازه گیری می گردید. در طول مدت آزمایش عمل گاز رسانی ادامه می یافت.

طول دوره عبارت است از طول یک دوره پتانسیل عمل که شامل فاصله زمانی بین دو پتانسیل عمل می باشد که در قله های هر دو پتانسیل عمل اندازه گیری می شود. میانگین و خطای معیار میانگین ها (SEMs) توسط نرم افزار Sigma stat اندازه گیری و شکل ها توسط Excell رسم و از تست T جفت شده و مستقل (بنا به ضرورت) به منظور بررسی تفاوتها استفاده شده است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

یافته ها

نمونه ای از کنترل و حضور دارو در شکل 1 برای گره سینوسی-دهلیزی نشان داده شده است. ثبت های خارج سلولی پتانسیل عمل کوتاهتر مربوط به حالت کنترل و ثبت های خارج سلولی پتانسیل عمل بلندتر مربوط به مصرف E-۴۰۳۱ می باشد. از این شکل مشخص می شود که طول دوره پتانسیل عمل در حضور 1 میکرو مولار E-۴۰۳۱ نسبت به حالت کنترل افزایش آشکاری دارد.

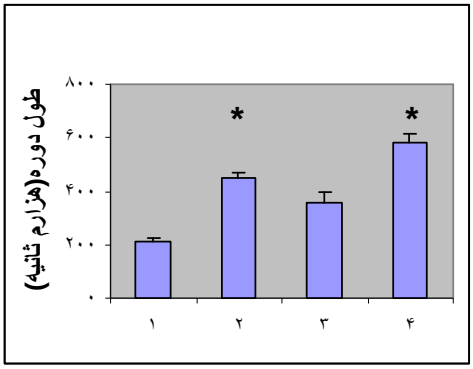


شکل 1. تاثیر 1میکرو مولار 4031-E بر فعالیت خود به خودی یک دوره قلبی گره سینوسی-دهلیزی. ثبت های خارج سلولی پتانسیل عمل کوتاهتر مربوط به حالت کنترل و ثبت های خارج سلولی پتانسیل عمل بلندتر مربوط به مصرف 4031-E می باشد. واحد اندازه گیری در محور عمودی (بلندی پتانسیل عمل) هزارم ولت و در محور افقی (زمان)هزارم ثانیه است.

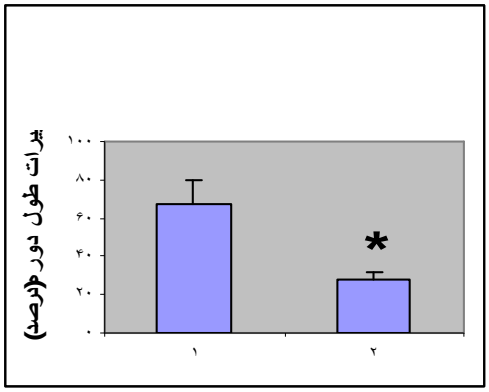
در شکل 2 میانگین و خطای معیار میانگین ها برای طول دوره در حالت کنترل و مصرف دارو در گره سینوسی-دهلیزی و گره دهلیزی-بطنی به ترتیب در 6 و 6 نمونه رسم شده است. طول دوره در کلیه نمونه های هر دو گره نسبت به کنترل و با مصرف E-۴۰۳۱ به طور معنی داری (p< ۰،۰۵) افزایش پیدا کرد. طول دوره در حالت کنترل، در گره سینوسی-دهلیزی(ستون 1) 12 ± 214/8 هزارم ثانیه و در گره دهلیزی-بطنی(ستون 2) 25±451/4 هزارم ثانیه است که در گره دهلیزی-بطنی به طور معنی داری (p< ۰،۰۵) بزرگتر از گره سینوسی-دهلیزی است.

در حضور E-۴۰۳۱ طول دوره در گره سینوسی-دهلیزی(ستون 3) 33/75 ± 360هزارم ثانیه و طول دوره در گره دهلیزی-بطنی(ستون4) 35/75 ±579/5 هزارم ثانیه است که طول دوره در گره دهلیزی-بطنی به طور معنی داری (p< ۰،۰۵) بزرگتر از طول دوره در گره سینوسی-دهلیزی است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]



شکل 2 . مقایسه فعـــالیت خود به خودی دوره گره سینوسی-دهلیزی و دهلیزی-بطنی در حالت کنترل و مصرف 1 میکرو مولار E-4031. ستون 1 و 2 به ترتیب مربوط به حالت کنترل گره سینوسی-دهلیزی و دهلیزی-بطنی، ستون 3 و 4 به ترتیب مربوط به مصرف دارو در گره سینوسی-دهلیزی و دهلیزی-بطنی است.
***= تفاوت معنی دار ($p< 0,05$) با گره سینوسی- دهلیزی.**



شکل 3 . مقایسه اثر E-4031 بر فعالیت خود به خودی بر طول دوره گره سینوسی-دهلیزی(ستون 1) و دهلیزی-بطنی(ستون 2) بر حسب درصد. میانگین و ± خطای معیار میانگین (6 و6 =n) نشان داده شده است.
***= تفاوت معنی دار ($p< 0,05$) با گره سینوسی-دهلیزی.**

شکل 3 تغییرات طول دوره را در هر دو گره و با حضور دارو بر حسب در صد نشان می دهد. درصد تغییرات در گره سینوسی-دهلیزی(ستون1) 12± 67/65 و در گره دهلیزی-بطنی (ستون2) کمتر از نصف یعنی 28±3/50 می باشد. تفاوت اثر معنی دار بوده و نشان می دهد که احتمالا دانسیته جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع در گره دهلیزی-بطنی کمتر از گره سینوسی-دهلیزی می باشد.

بحث و نتیجه گیری

براساس یافته های تحقیقاتی دیگران غلظت 1 میکرو مولار E-۴۰۳۱ یک مسدود کننده انتخابی برای جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع است(13،14) و E-۴۰۳۱ با غلظت به کار رفته تاثیری بر سایر جریانهای یونی دپولاریزه و رپولاریزه کننده از قبیل INa IK۱, ICa و If ندارد(18-16). از طرفی مشخص شده که جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع (Ikr) در سلولهای گره سینوسی-دهلیزی قلب موش وجود دارد(9). بنابراین می توان مطمئن بود که E-۴۰۳۱ صرفاً بر جریان مذکور، در گره سینوسی-دهلیزی اثر داشته و آنچه که مشاهده شده مربوط به مسدود شدن این جریان است. تاثیر دارو بر افزایش طول دوره در گره دهلیزی-بطنی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

هم تاییدی بر وجود جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع(Ikr) در این گره می باشد که برای اولین بار به صورت مقایسه ای با گره سینوسی-دهلیزی گزارش می شود.

نتایج این تحقیق نشان داد که بین اثر 1 میکرو مولار E-۴۰۳۱ بر طول دوره در گره سینوسی-دهلیزی و دهلیزی-بطنی تفاوت معنی داری وجود دارد. یعنی اینکه اثر دارو بر جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع(Ikr) در هر دو گره سینوسی-دهلیزی و دهلیزی-بطنی یکی نیست، بلکه اثر دارو در گره دهلیزی-بطنی کمتر از گره سینوسی-دهلیزی می باشد. این مطلب به خوبی ثابت شده است که در هر دو گره سلولهای متفاوتی از نقطه نظر اندازه، نحوه اثر دارو، تعداد، شکل سلول و شکل پتانسیل عمل وجود دارد(16) که تحقیق حاضر متضمن تعیین اثر دارو بر نوع سلول یا سلولهای موجود در گره دهلیزی-بطنی نیست. ولی احتمالاً می توان به طور کلی بیان داشت که بین دانسیته جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع(Ikr) و اثر دارو رابطه ای برقرار است، ولی به تحقیقات بیشتر و با روش مطمئن تر از قبیل روش confocal و به خصوص استفاده از سلولهای متنوع هر دو گره جهت مقایسه نیاز می باشد. به عنوان نمونه در مطالعات ایمونوهیستوکمیکال مشاهده شد که توزیع پروتئین ERG (Ether-a-go-go-Related Gene) که مسئول کانال Ikr است، در تمام نواحی کریستاترمینالیس قلب Ferret یکسان نیست(20).

Kodama و همکاران(6) اثرات غلظتهای کم(2/.) و زیاد (1 میکرو مولار) E-۴۰۳۱ را در توپهای کوچک بافتی از گره سینوسی-دهلیزی خرگوش آزمودند. در غلظت کم جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع یا Ikr به طور نسبی مسدود شده و فعالیت پیس میکری ادامه پیداکرد. اثر مهار نسبی بر فعالیت خود به خودی در توپهای مرکزی بیشتر از توپهای محیطی بود. اما غلظت 1 میکرو مولار تقریبا به طور کامل جریان پتاسیمی جبرانی تاخیری سریع یا Ikr را در تمام نمونه هایی که از مرکز و محیط گره بودند مسدود کرده و فعالیت تنظیم کننده خود به خودی را متوقف نمود. این در حالی است که در بررسی حاضر همان غلظت از دارو یعنی 1 میکرو مولار تنها 68 در صد موجب کاهش در فعالیت خود به خودی گره سینوسی-دهلیزی موش شد. علت این تفاوت در نتایج می تواند مربوط به روش آزمایش باشد، زیرا Kodama و همکاران(6) از گره سینوسی-دهلیزی دست نخورده و سالم استفاده نکرده، بلکه از قطعات بافتی توپ مانند کوچک استفاده نموده که حاوی بافت دهلیز نبوده است. به عبارت دیگر Verheijck و همکاران(9) از گره سینوسی-دهلیزی دست نخورده و سالم و مرتبط با دهلیز استفاده کرده و دارو را با همان غلظت 1 میکرو مولار مصرف نموده و مشاهده کردند که E-۴۰۳۱ موجب توقف فعالیت خود به خودی گره سینوسی-دهلیزی نشد، ولی زمانی که ماهیچه دهلیزی را قطع کردند دارو باعث متوقف شدن فعالیت خود به خودی گره گردید. این آزمایش نشان داد زمانی که گره سینوسی-دهلیزی به ماهیچه دهلیزی وصل است جریانهای یونی هایپرپولاریزه کننده از ماهیچه دهلیزی به گره، حتی اگر قسمت عمده ای از جریانهای یونی گره سینوسی-دهلیزی مسدود شوند، موجب تداوم فعالیت خود به خودی گره می گردند و بنابراین اگر چه جریان مهم Ikr هم مسدود شود، فعالیت خود به خودی گره متوقف نمی گردد.

ویژگیهای بیوفیزیکی جریان یونی Ikr در گره سینوسی-دهلیزی موش بالغ از قبیل وابستگی فعال شدن آن به ولتاژ(voltage dependent of activation) و نقش جبران کنندگی به سمت داخل(inward rectification) آن همانند سایر پستانداران از قبیل خوکچه هندی و خرگوش است، در حالی که غیر فعال شدن (deactivation) این جریان در موش بسیار سریع تر از پستانداران بزرگتر رخ می دهد. این موضوع احتمالاً نقش جریان Ikr را در فعالیت پیس میکری در قلب حیوانات با میزان بالا -مثل موش که بین 600-500 زنش در دقیقه است- را توجیه نماید.

تقدیر و تشکر

بر خود لازم می داند تا از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

جهت اعزام به فرصت مطالعاتی و همین طور از پروفسر مارک بویت(Mark Boyett) و دکتر مینگ لی (Ming Lei) اعضای هیات علمی دانشگاه منچستر که نهایت همکاری را با در اختیار گذاشتن وسایل و امکانات آزمایشگاهی داشته اند تشکر و قدردانی نماید.

References

1-Lagrutta A,Wang J, Fermini B, et al. Novel, Potent Inhibitors of Human Kv**1,5** K+ Channels and Ultrarapidly Activating Delayed Rectifier Potassium Current. *JPET* **2006**; **317:1054-1063**.

2-Wettwer E, Hála O, Christ T. Role of IKur in Controlling Action Potential Shape and Contractility in the Human Atrium Influence of Chronic Atrial Fibrillation. ***Circ.*** **2004**;**110:2299-2306**.

3-Choi BH, Park JA, Kim KR, et al. Direct block of cloned hKv**1,5** channel by cytochalasins, actin-disrupting agents.*Am.J.Physiol. Cell Physiol,***289**, **2005**; C**425**-C**436**.

4-Fedida D, Eldstrom J, Hesketh JC, et al. Kv**1,5** is an important component of repolarizing K+ current in canine atrial myocytes. *Circ Res,***2003**; **93**: **744**–**751**.

5-Dobrzynski H**,** Stephen M, Rothery DDR. Presence of the Kv**1,5** K+ Channel in the Sinoatrial Node. *J Histochem Cytochem,* **2000**; **48**: **769-780**.

6-Kodama I, Boyett MR, Nikmaram MR, Yamamoto M, Hojo H, and Niwa H. Regional differences in effects of E-**4031** within the sinoatrial node. *Am J Physiol Heart Circ Physiol,* **1999**; **276**: H**793**–H**802**.

7-Ono K & Ito H. Role of rapidly activating delayed rectifier K+ current in sinoatrial node pacemaker activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* ,**1995**;**269**: H**453**–H**462**.

8-Robert B, Clark, Matteo E, Mangoni, Andreas Lueger, Brigitte Couette, Joel Nargeot, and Wayne R. Giles A rapidly activating delayed rectifier K+ current regulates pacemaker activity in adult mouse sinoatrial node cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol,* **2004**;**286**: H**1757**-H**1766**.

9-E Etienne Verheijck, Ronald Wilders, and Lennart N. Bauman. Atrio-Sinus Interaction Demonstrated by Blockade of the Rapid Delayed Rectifier Current .*Circulation* **2002**; **105**: **880** – **885**.

10-Lei M, Cooper P, Camelliti P & Kohl P. Role of the **293**b-sensitive, slowly activating delayed rectifier potassium current, i(Ks), in pacemaker activity of rabbit isolated sino-atrial node cells. *Cardiovas Res,***2002**; **53**: **68**–**79**.

11-London B, Trudeau MC, Newton KP, Beyer AK, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Satler CA, and Robertson GA. Two isoforms of the mouse ether-a-go-go-related gene coassemble to form channels with properties similar to the rapidly activating component of the cardiac delayed rectifier K+ current. *Circ Res,***1997**; **81**: **870**–**878**.

12-Matsuura H, Ehara T, Ding WG, Omatsu-Kanbe M, and Isono T. Rapidly and slowly activating components of delayed rectifier K+ current in guinea-pig sino-atrial node pacemaker cells. *J Physiol,* **2002**;**540**: **815**–**830**.

13-Verheijck EE, van Ginneken AC, Bourier J, and Bouman LN. Effects of delayed rectifier current blockade by E-**4031** on impulse generation in single sinoatrial nodal myocytes of the rabbit. *Circ Res,***1995**; **76**: **607**–**615**.

14-Clark RB, Mangoni ME, Lueger A, Couette B, Nargeot J & Giles WR.. A rapidly activating delayed rectifier K+ current regulates pacemaker activity in

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

adult mouse sinoatrial node cells. *Am J Physiol,* **2004**;**286**: H**1757**-H**1766**.

15-Kodama I, Boyett MR. Regional differences in the electrical activity of the rabbit sinus node. *Pflugers Archiv - Eu. J. of Physiol,* **1985**; **404**: **214-226**.

16-Boyett MR, Honjo H & Kodama I. The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker structure. *Cardiovasc Res,* **2000**; **47**: **658-687**.

17-Maier SK, Westenbroek RE, Yamanushi TT, Dobrzynski H, Boyett MR, Catterall WA & Scheuer T. An unexpected requirement for brain-type sodium channels for control of heart rate in the mouse sinoatrial node. *Proc Natl Acad Sci U S A,* **2003**; **100**,:**3507-3512**.

18-Lei M, Cooper P, Camelliti P & Kohl P. Contribution of the fast sodium inward current, iNa, to murine sino-atrial node pacemaking. *Biophys J,* **2002**; **82**: **605**.

19-London B, Guo W, Pan X, Lee JS, Shusterman V, Rocco CJ, Logothetis DA, Nerbonne JM, Hill JA. Targetted replacement of KV۱،۵ in the mouse leads to loss of the **4**-aminopyridine-sensitive component of IKslow and resistance to drug-induced QT prolongation. *Circ Res,* **2001**; **88**: **940-946**.

20-Brahmajothi MV, Morales MJ, Reimer KA, and Strauss HC. Regional Localization of ERG, the Channel Protein Responsible for the Rapid Component of the Delayed Rectifier, K+ Current in the Ferret Heart .*Circ Res,* **1997**; **81**:**128 - 135**.

The Role of Rapid Delayed Rectifier K+Current on Pacemaker Activity of Mouse Sinoatrial And Atrioventricular Node

*Nikmaram M**

(Received: 23 Apr, 2007 Accepted: 25 May, 2008)

Abstract

Introduction: In the heart cells, rapid delayed rectifier K+current is one of the important currents for action potential repolarization phase. Rapid delayed rectifier K+current is blocked by low concentration of E-4031. The aim of this research was to compare the effect of E-4031 blocker on pacemaker activity of sinoatrial node (SAN) and atrioventricular node (AVN) of mouse heart.

Materials & methodes: The pacemaker activity of distinct intact SAN and AVN by two separate metal microelectrodes that contact the endothelial surface of nodes, was recorded before and during 1μM E-4031 and cycle length (CL) was measured.

Findings: **1** μM E-4031 increased CL on SAN preparations by 67,6 ±**12,5** % and on AVN preparations by ۲۸□۳,۵ %. These changes were significants in two nodes.

Conclusion: It is passible to conclude that **1**) the rapid delayed rectifier K+current was present in two nodes **2**) the effect of E-4031 on CL of two nodes was different.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

Key words: sinoatrial node (SAN), atrioventricular node(AVN), cycle length(CL), rapid delayed rectifier K+current, E-4031

Aassociate Prof., Rehabilitation School, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Scieutific J of Ilam Med University

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]