

مساهمة في دراسة التأثير العصبي الودي وشبه الودي على معدل ضربات قلب الضفدع *Rana Esculenta*

الدكتورة اكتمال علي*

(قبل للنشر في 2004/8/5)

□ الملخص □

تختلف العضلات الهيكلية عن العضلة القلبية بنيوياً ووظيفياً حيث أن العضلة القلبية تعمل ذاتياً بإشراف الجملة العصبية الإعاشية vegetative nervous system الودية وشبه الودية . إن التسرب البطيء لشوارد الصوديوم إلى الوسط داخل الخلوي للألياف القلبية الإستثارية من شأنه أن يجعل عتبة التنبيه كافية لإزالة الاستقطاب وبدء كمون الفعل القلبي المعروف . تهدف هذه الدراسة إلى تأكيد دور الأستيل كولين (شبه ودي) والأدرينالين (ودي) على معدل نبضات قلب الضفدع حيث لاحظنا أن الأستيل كولين يقلل والأدرينالين يزيد تلك النبضات، وذلك باستخدام تراكيز مختلفة (0.001 – 0.1 mg / ml) من تلك المادتين فضلا عن مواد أخرى مشابهة في التأثير.

* مدرسة في قسم علم الحياة الحيوانية_ كلية العلوم _جامعة تشرين_اللاذقية _سوريا.

Contribution to Study of the Sympathetic and Parasympathetic Effect on Heart Rate of Frog *Rana Esculenta*

Dr. Ektemal Ali*

(Accepted 5/8/2004)

□ ABSTRACT □

Cardiac muscle differs from skeletal muscles both structurally and functionally. The most striking feature of its contractility is that it is able to initiate its own rhythmic contractions. This is due to leaky cell membranes, in which calcium and sodium ions slowly leak into the cells. This leaking causes a slow depolarization to the threshold, so that an action potential can be formed and contraction of cardiac muscle is initiated. The object of our study was to emphasize the effect of the role of acetylcholine and adrenaline on the heart beat. Our results demonstrate that acetylcholine decreases heart beat where adrenaline increases it. We used different concentrations of both compounds (0.001 – 0.1 mg / ml), and others that have the same effects.

*Lecturer, Zoology Department, Faculty Of Sciences, Tishreen University, Lattakia- Syria.

مقدمة:

تتلقى العضلة القلبية للفقاريات تعصيباً مضاعفاً Double innervation: ودياً (sympathetic) وشبه ودي (parasympathetic) من ألياف الجهاز العصبي الذاتي Autonomic nervous System. وقد أظهرت الدراسات العديدة الأولى حول تأثير هذا التعصيب في معدل ضربات القلب أن إثارة Stimulation الألياف الودية تسبب ازدياداً في معدل ضربات القلب ، في حين يسبب تحريض الألياف شبه الودية تباطؤاً وربما توقفاً للقلب وذلك بحسب شدة التنبيه ومدته. (Howell 1908, Hutter and Troutwein 1956) ، وقد تبين أن مواداً كيميائية عرفت بالنواقل العصبية Neurotransmitters هي المسؤولة عن هذه التأثيرات للجهاز العصبي الذاتي، إذ يحرر الأدرينالين من النهايات الودية ، بينما يفرز الأستيل كولين من النهايات شبه الودية لألياف العصب المجهول (Dale 1930). تختزن النواقل العصبية في النهايات قبل المشبكية presynaptic vesicles وتفرز بتأثير وصول كمون الفعل action potential إلى هذه النهايات حيث يسبب انفتاح القنوات الشاردية الكالسية لغشاء العنصر قبل المشبكي وتدفق شوارد الكالسيوم نحو الداخل وهذا بدوره يسبب إفراز محتوى الحويصلات في الفالق المشبكي بطريقة القذف الخلوي exocytosis (Hammond et Tritseh 1990) ويرتبط الأستيل كولين إلى مستقبلاته الميوسكارينية (mAChR) muscarinic Receptors على ألياف العضلة القلبية ، بينما يرتبط الأدرينالين بمستقبلاته من النوع 1β لإحداث التأثيرات السابقة الذكر .

إن الآليات الجزيئية الدقيقة التي يعمل وفقها كل من الأستيل كولين والأدرينالين لم تعرف إلا بعد تطور تقانات الكيمياء الحيوية والمواد المشعة واستخدام المساري الدقيقة في الفيزيولوجيا الكهربائية ، إذ أوضحت الدراسات أن التأثير المثبط للأستيل كولين على معدل ضربات القلب يعود إلى تنشيط Stimulation القنوات البوتاسية وتدفق شوارد البوتاسيوم خارج ألياف العضلة القلبية وهذا من شأنه أن يسبب انخفاضاً في الكمون الكهربي (كمون الراحة) لخلايا القلب (Belardetti et al. 1988, Brown et al. 1988) ، أما فيما يخص الأدرينالين فقد أوضحت الدراسات أن دوره المسرّع إنما يعود إلى تنشيط انفتاح قنوات الكالسية وتدفق شوارد الكالسيوم إلى داخل الخلايا القلبية مما يسبب ازدياد تقلصها. (Reuter 1989, Brown 1990, Dolphen 1990) .

تشير الدراسات الحديثة إلى أن الجهاز العصبي الذاتي ليس الوحيد المسؤول عن تنظيم معدل ضربات القلب ، فقد تبين أن لأكسيد الأزوت الداخلي المنشأ دوراً هاماً في ذلك حيث أن مثبطات أكسيد الأزوت تضعف من استجابة القلب لتنبيه العصب المجهول (Herring et al. 2000) كما أن تأثير الأستيل كولين ومقلداته agonists مثل كارباميل كولين ينعكس بفعل أكسيد الأزوت (Conlon et al. 1990)

و توضح حديثاً دور الأستيل كولين في التقليل من معدل ضربات القلب باستخدام الحاصرات الميوسكارينية. التي تكبح هذا التأثير (Gattuso et al. 1999 Shen et al. 1999)

تهدف الدراسة الحالية إلى توضيح وتأكيّد دور كل من الأستيل كولين والأدرينالين عند الفقاريات الدنيا

ممثلة بالضفدع Rana Esculenta.

الطرائق والمواد:

استخدمت في هذه التجارب ضفادع من نوع *Rana esculenta* بوزن 80-90 غ من بيئة ساحلية وتم حفظها بدرجة 4 مئوية لمدة 72 ساعة قبل اجراء التجارب ثم قمنا بتتخييعها (تخريب الجملة الدماغية الشوكية) بعد ذلك ثبتت في لوح التشريح تمهيداً لإجراء التجارب .
لتحضير القلب نقوم بعمل ما يلي:

نقص الجلد من الملتقى بين الطرف العلوي والجذع، ثم نقص عبر الزنار الكتفي ليظهر القلب مكشوفاً (يكون الضفدع مستلقياً على ظهره) نزيل التامور ونعلق ذروة البطين بملقط معدني مربوط بخيط الى رافعة التسجيل التابعة لجهاز الكيموغراف وهو المخطاط الآلي الموجي.

المواد الكيميائية:

الأستيل كولين 0,1 acetylcholine /مغ/مل (Delta for medicaments)
الأتروبين 10 Atropine /مغ/مل (Delta for medicaments)
الأدرينالين 0,001 Adrenaline /مغ/مل. (Germany –Doctor Mannpharma)
البيلوكاربين 0.02 /مغ/مل (Germany–Doctor Mann pharma)0

تمدد هذه المواد جميعها في سائل رنجر العادي المعروف التركيب كالتالي:
10/1، 100/1، 1000/1 بحيث تمت إضافة عدة قطرات من كل مادة وبالتركيز الثلاث لمدة دقيقتين وسجل الأثر وكان الفاصل الزمني خمس عشرة دقيقة بين حقن كل مادة والتي تليها. ولأفضل تأثير يجري تنقيط هذه المواد باستخدام قطارة على منطقة الجيب الوريدي sinus venosus.
كما أنه لا بد من ترطيب القلب بين كل مادة والمادة التي تليها بسائل رنجر المحتوي على الشوارد الكيميائية الضرورية لعمل القلب.
يتم في كل مرة تسجيل حركات القلب على الكيموغراف (على ورقة مطلية بهياب الفحم مثبتة على اسطوانة) ونجعل سرعة دوران الاسطوانة 7F.

النتائج والمناقشة:

تم تحليل المنحنيات التي حصلنا عليها باستعمال الكيموغراف (رسم النبضة مباشرة) بمساعدة الحاسب الالكتروني وذلك باستخدام برنامج (Autocad – Land Development) وتم بذلك الحصول على الجدول (2) الذي توافقت قيمه المنحنيات المذكورة، والذي يظهر العلاقة بين كمون الفعل القلبي على جانبي الغشاء العضلي القلبي (أي سعة النبضة القلبية) والزمن الذي تحدث خلاله هذه النبضة. توصلنا إلى النتائج التالية:

1. إن مدة النبضة الطبيعية تبلغ 1,6 ثانية أي أن قلب الضفدع ينبض 38 نبضة في الدقيقة تقريباً
[(الشكل 1) والجدول (1) الجدول (2)]
2. إن شدة النقل تساوي 39,95 في اللحظة 1,26 ثانية أما الزمن اللازم لتبدأ العضلة بالنقل أو زمن

الكمون فقد بلغ 0,51 ثانية.

- 3- لوحظ ازدياد في عدد النبضات بمعدل 25 % من خلال استخدام الأدرينالين ولا سيما التركيز 0.1 mg/ml، إذ أن مدة النبضة قد بلغت 1,31 ثانية [(الشكل 2) و(5) والجدول (1) والجدول (2)] أما شدة النقل فقد بلغت 40 باللمحة 0,77 ثانية وقد كان زمن الكمون 0,23 ثانية أي أنه أقل من الطبيعي بنسبة 40% كما أن سعة النقل قد ازدادت بشكل واضح بالتركيز 0.1 mg/ml
- 4- باستخدام الأستيل كولين تناقص عدد النبضات بمعدل 75% وكانت مدة النبضة 2,71 ثانية [(الشكل 3) و(6) والجدول (1) و(2)] شدة النقل بلغت 39,67 باللمحة 1,25 ثانية والزمن الفاصل كان 0,97 ثانية. كما انخفضت سعة النقل القلبي بنسبة تزيد عن 25%
- 5- عند استعمال الأتروبين والأستيل كولين بتركيز 0.1 mg/ml بلغت مدة النقل 1,99 ثانية وكانت السعة العظمى 40 باللمحة 0,95 ثانية أما الزمن الفاصل بين النبضات فقد بلغ 0,75 ثانية. أما السعة فهي قريبة من الطبيعي، بعد ذلك تعود النبضات إلى معدلها الطبيعي نتيجة كبح الأتروبين لتأثير الأستيل كولين [(الجدول 1) والجدول (2) و(الشكل 7) و(4)]
- 6- أما استخدام البيلوكاربين فقد أعطى نتائج مماثلة لنتائج الأستيل كولين.

إن الأثر المسرع للأدرينالين في معدل ضربات القلب الملاحظ في دراستنا يتفق مع الأبحاث والدراسات السابقة التي أجريت على الفقاريات (Kanai et al. 1997، Wyeth et al. 1996). وفيما يتعلق بالأستيل كولين فقد جاءت النتائج أيضاً مشابهة للمراجع حيث لاحظنا تأثيراً مبطناً لهذه المادة في ضربات القلب فالأستيل كولين يثبط تشكل كمون الفعل بعد المشبكي ويمنع بالتالي انتقال التنبه (Herring et al. 1993, McMorn 2002). وكان للأتروبين على النقيض من ذلك تأثيراً في استعادة القلب لمعدل ضرباته الطبيعي. وهو ما يتفق مع نتائج الأبحاث المنشورة من قبل (Gattuso et al. 1999) كما أن Shen وزملاءه 1999 أكدوا أن الأتروبين يكبح التنشيط الناجم عن استخدام الكارباميل كولين.

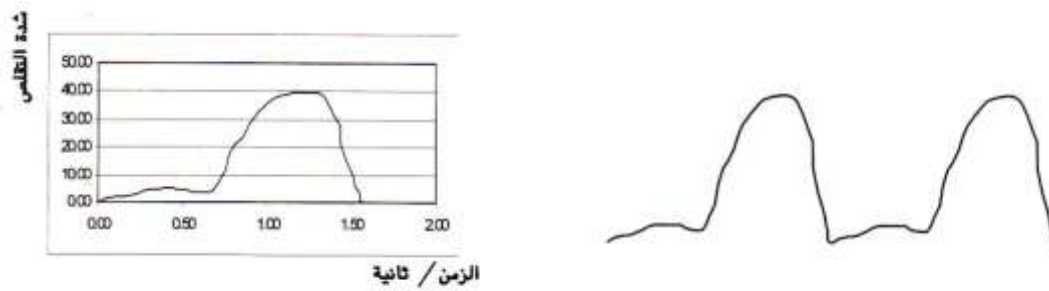
إن التنبيه الودي بالنور إبنيفرين norepinephrine وإبنيفرين epinephrine، يزيد من معدل تقلص العضلة القلبية برفع مستوى شوارد الكالسيوم Ca^{++} في السيترولاسما والتي تخرج من الشبكة السيترولاسمية العضلية وتنبه أيضاً تحرير أكسيد الأزوت (Kanai et al. 1997) إلا أنه على النقيض من ذلك يرى Schwarz أن فعل النور إبنيفرين ينشط باستعمال أكسيد الأزوت الخارجي والداخلي المنشأ (Schwarz et al. 1995) وعندما تكون فعالية الأدرينالين مرتفعة فإن عمله كمنظم لضربات القلب chronotropic يتضاد بارز مع الأستيل كولين ربما يأتي من التقاطع الأدريناليني والكولينيني فقد تبين أن النور إبنيفرين يزيد السعة والتواتر ويزيد قابلية العصب المجهول vagus nerve لتحرير الأستيل كولين الأمر الذي يرفع من تعديل المسالك بعد المشبكية في الخلايا المسؤولة عن تنظيم النبض (Herring et al. 2002). أما Muscholl وFozard فقد درسا آثار العوامل الميوسكارينية المتعددة على أداء وتحرير النور أدرينالين في الأعصاب الودية لقلب الأرنب (1972).

إن إضافة قطرات الأستيل كولين إلى القلب المكشوف يؤدي إلى تباطؤ ضربات القلب وانخفاض تواترها كما يؤدي إلى تناقص في السعة، في حين أن إضافة الأتروبين يعدل من الضربات ويجعلها قريبة من الطبيعية.

إن الأستيل كولين يؤثر في المستقبلات الميوسكارينية ويسبب اتحادها بها كبح أو منع تشكل كمون

الفعل بدرجات متفاوتة بحسب تركيز الجرعة ومدة التأثير وهذا ناجم عن انفتاح القنوات البوتاسية واستمرار خروج شوارد البوتاسيوم المؤدي إلى حدوث فرط استقطاب وإعاقة تشكل أي كمون فعل وبالتالي منع التنبيه من الوصول إلى الألياف العضلية ، ويلعب أكسيد الأزوت دوراً هاماً في تعديل إفراز الأستيل كولين (Herring et al. 2002) حيث يؤدي استعماله إلى بطء في تقلص الخلايا العضلية لجنين الفأر (Nakamura et al. 1993). إن التنظيم الميوسكاريني والأدريناليني لمعدل ضربات القلب يبين أن شدة التقلص وتيار الكالسيوم يقين من عوز تركيب أكسيد الأزوت من الخلايا الظهارية عند الفأر (Vandcasteele et al. 1999) إلا أن مثبطات أكسيد الأزوت تقلل من استجابة القلب لتنبيه العصب المجهول (Herring et al. 2000) ولكن التباطؤ الذي ينجم عن تنبيه العصب المجهول ينقلب لدى استخدام أكسيد الأزوت (Conlon et al. 1999) كما أن نفوذ الغشاء الخلوي لمادة الغوانيل أحادي الفوسفات الحلقي تزداد وبالتالي تحدث استجابة للتنبيه الآتي من العصب المجهول (Sears et al. 1999) ويؤكد Chesnais وزملاؤه (1999) بأن أكسيد الأزوت هو عامل منظم إيجابي للألياف المتقلصة في قلب الضفدع .

إن استخدام الأتروبين يمنع هذا التأثير لذا يمكن مقارنة أثره بالأثر الودي كونه يعاكس أثر الأستيل كولين (شبه الودي). (Gattuso et al. 1999). كما أنه يكبح التثبيط الناجم عن استخدام كاربا ميل كولين (Shen et al. 1999). إلا أن بعض الدراسات تشير إلى نتائج مناقضة بحيث يزيد الكارباميل كولين والأستيل كولين القدرة على التقلص في الثدييات (Levy and pappano 1994). ويزيد الكارباميل Carbachol التقلصات وكذلك شوارد الكالسيوم الداخلية في خنزير غينيا .(Protas et al.1998) وقد ذكر Mc Morn وزملاؤه في دراسة لهم التأثير السلبي المباشر للأستيل كولين في خلايا عضلية من بطين قلب الجرذ .(1993).. أما بالنسبة لتحديد الآثار الإيجابية والسلبية للأستيل كولين في العضلة القلبية للإنسان فقد جاءت في عمل لفريق بحث Du وزملائه .(Du et al, 1995). و نخلص إلى القول أن النتائج الواردة في دراستنا الحالية والتي أجريت على الفقاريات الدنيا ، تتفق مع ما توصلت إليه الدراسات على الفقاريات العليا (Herring et al. 2002,Shen et al. 1999 ,Du et al. 1995 ,Fozard etal. 1972)

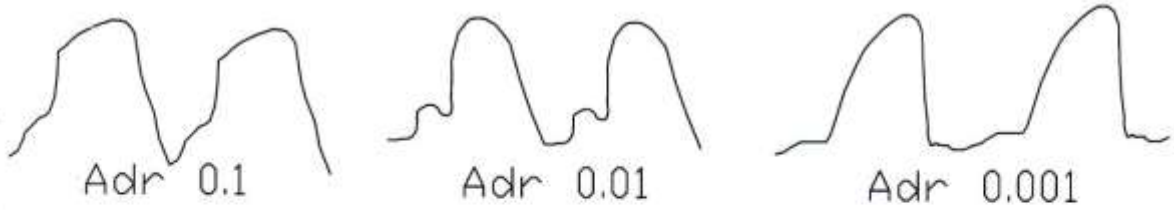


الشكل (1) النبضة الطبيعية لقلب الضفدع

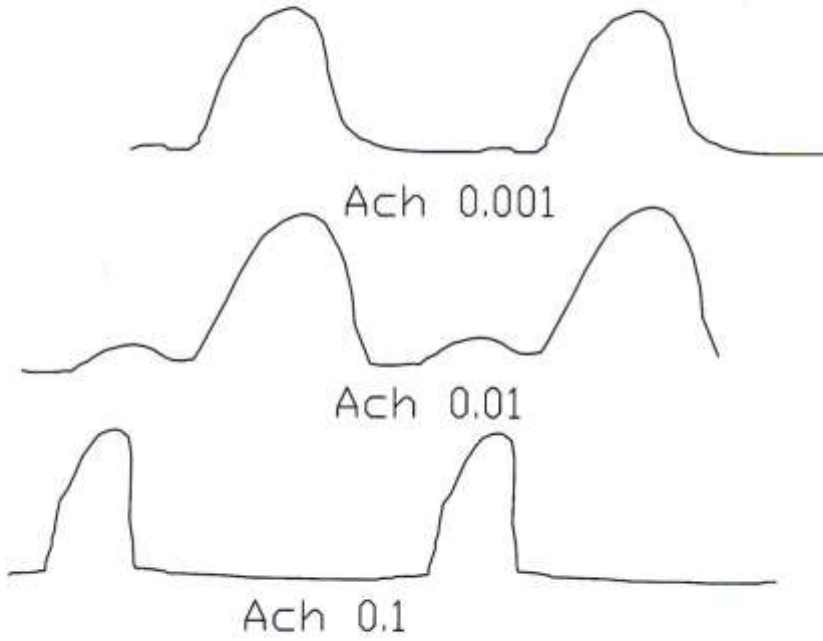
الجدول (1) العلاقة بين تراكيز المواد المستخدمة وعدد نبضات قلب الضفدع في الدقيقة :

اسم المادة	التركيز	مدة النبضة بالثواني	عدد النبضات في الدقيقة
------------	---------	---------------------	------------------------

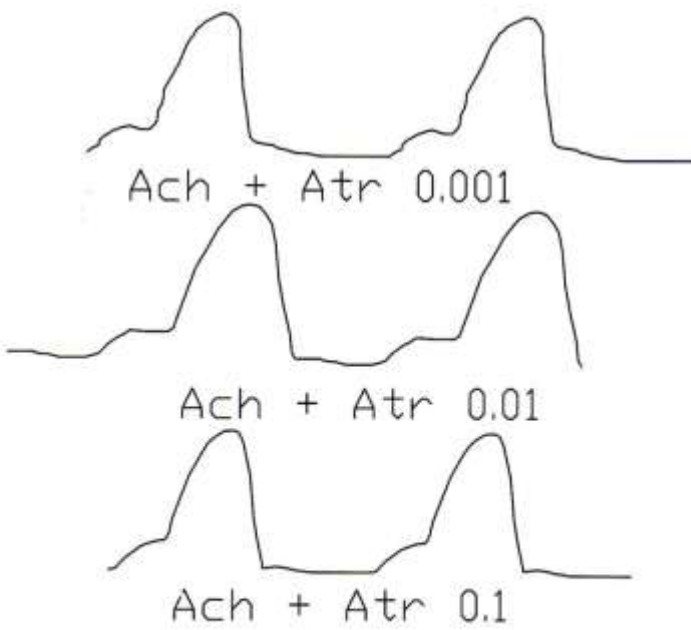
47	1.27	0.1	الأدرينالين
46	1.31	0.01	
39	1.54	0.001	
20	3.00	0.1	الأستيل كولين
20	3.07	0.01	
22	2.71	0.001	
25	2.44	0.001	الأثروبين
28	2.11	0.01	
30	1.99	0.1	
38	1.6	-	الحالة الطبيعية



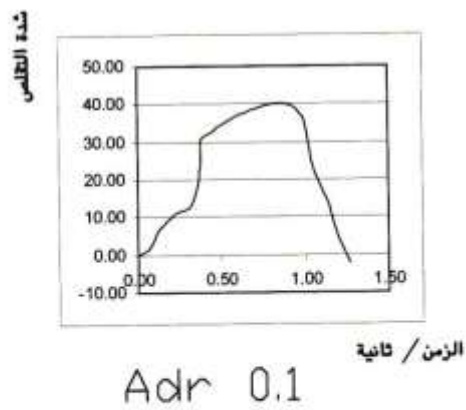
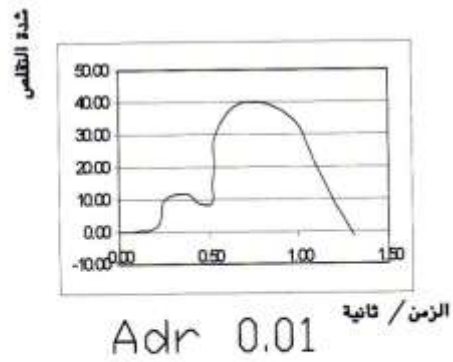
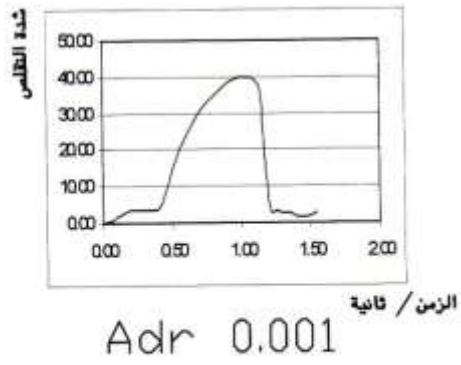
الشكل 2 تأثير الادرينالين على معدل ضربات قلب الضفدع



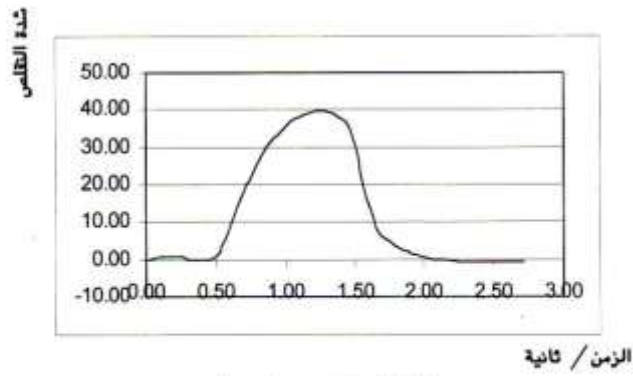
الشكل 3 تأثير الاستيل كولين على معدل ضربات القلب



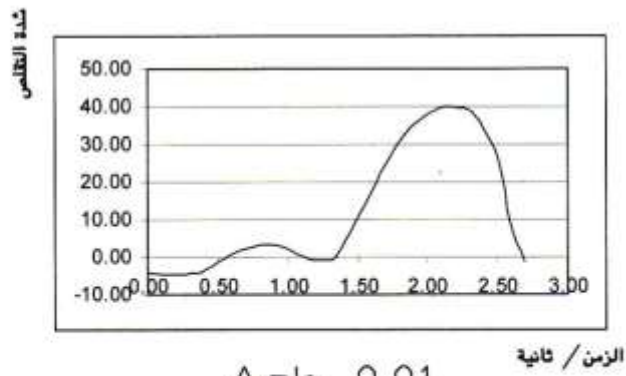
الشكل 4 تأثير الاستيل كولين + الاتروبين على معدل ضربات قلب الضفدع



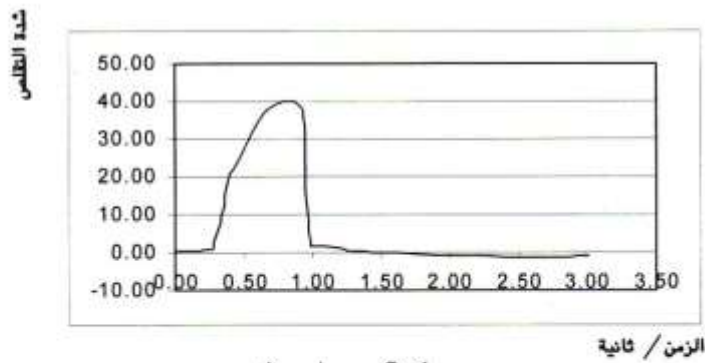
الشكل 5 تأثير الادريينالين على سعة و شدة تقلص قلب الضفدع



Ach 0.001

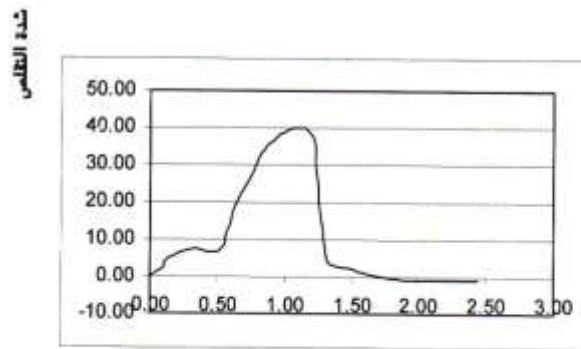


Ach 0.01

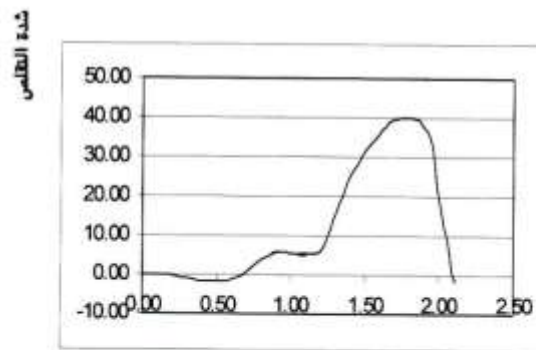


Ach 0.1

الشكل 6 تأثير الاستيل كولين على سعة وشدة تقلص قلب الضفدع

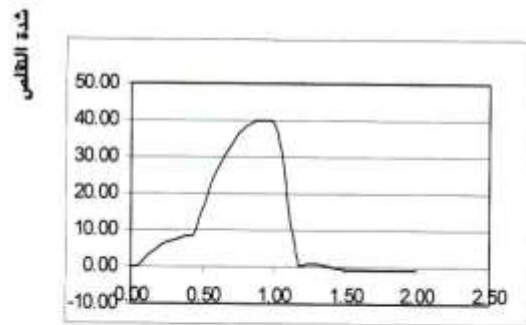


Ach + Atr 0.001



الزمن / ثانية

Ach + Atr 0.01



الزمن / ثانية

Ach + Atr 0.1

الشكل 7 تأثير الاستيل كولين + الاتروبين على سعة وشدة تقلص قلب الضفدع

الجدول 2 العلاقة بين شدة التقلص ومدة النبضة القلبية

Ach 0.001		Ach 0.1		Adr 0.001		Ach + Atr 0.001		Ach+Atr 0.1	
Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.06	0.49	0.01	0.34	0.07	0.87	0.09	2.17	0.05	0.61
0.10	0.67	0.03	0.44	0.12	2.01	0.12	4.04	0.09	1.79
0.17	0.63	0.08	0.48	0.16	2.79	0.24	6.73	0.09	1.79
0.23	0.63	0.08	0.48	0.19	3.47	0.32	7.30	0.13	3.15
0.29	0.42	0.26	0.82	0.23	3.67	0.45	6.61	0.17	4.77
0.32	0.03	0.27	1.66	0.38	3.70	0.50	6.83	0.20	5.90
0.36	-0.11	0.30	3.97	0.41	4.07	0.54	8.49	0.25	6.56
0.44	-0.07	0.32	6.83	0.44	6.04	0.56	10.36	0.32	7.52
0.48	0.25	0.35	11.01	0.47	10.36	0.59	13.65	0.38	8.16
0.52	1.60	0.39	19.24	0.53	17.07	0.61	17.53	0.43	8.72
0.54	3.15	0.46	24.40	0.59	22.79	0.67	21.92	0.46	11.89
0.57	5.60	0.53	29.78	0.66	27.85	0.74	26.26	0.49	15.23
0.61	10.31	0.62	35.05	0.71	30.65	0.80	30.92	0.57	24.18
0.66	14.73	0.69	38.16	0.77	33.56	0.84	33.33	0.67	31.11
0.71	18.48	0.73	39.05	0.83	36.04	0.91	36.20	0.75	36.62
0.75	21.14	0.76	39.51	0.91	38.59	0.95	37.59	0.80	38.49
0.79	24.86	0.77	39.79	0.96	39.51	1.01	38.94	0.88	39.90
0.83	27.94	0.80	40.00	0.99	39.85	1.07	39.83	0.95	40.00
0.87	30.71	0.83	39.98	1.01	39.98	1.10	40.00	0.99	39.39
0.93	32.83	0.87	39.88	1.05	40.00	1.14	39.87	1.03	36.12
0.97	34.28	0.88	39.68	1.07	39.85	1.16	39.42	1.08	24.86
1.06	37.20	0.89	39.25	1.09	39.54	1.19	38.89	1.11	15.26
1.10	37.93	0.92	38.36	1.12	38.48	1.22	36.98	1.16	2.97
1.14	38.68	0.95	33.10	1.14	36.11	1.25	27.13	1.16	0.90
1.18	39.45	0.94	27.11	1.15	29.95	1.28	14.68	1.17	0.62
1.22	39.65	0.94	19.99	1.17	18.32	1.30	8.18	1.23	0.91
1.25	39.67	0.97	5.19	1.21	3.28	1.35	3.28	1.29	0.86
1.29	39.58	0.98	1.90	1.25	3.13	1.51	2.05	1.34	0.41
1.31	39.39	0.99	1.63	1.29	3.00	1.61	0.85	1.46	-0.44
1.36	38.63	1.09	1.78	1.34	2.62	1.75	-0.05	1.52	-0.91
1.40	37.97	1.18	1.11	1.36	2.37	1.96	-0.89	1.70	-0.89
1.44	36.78	1.29	0.47	1.38	1.94	2.44	-0.95	1.91	-0.94
1.49	33.13	1.48	-0.06	1.43	1.74			1.99	-0.76
1.53	26.81	2.09	-0.82	1.47	1.72				
1.57	19.51	2.71	-1.06	1.50	2.04				
1.62	13.17	3.00	-0.99	1.54	2.87				
1.66	8.15								
1.70	5.90								
1.75	5.09								
1.84	2.85								
1.88	2.08								
1.92	1.45								

1.97	0.68								
2.11	-0.02								
2.39	-0.72								
2.70	-0.71								
2.71	-0.63								

تابع الجدول 2 العلاقة بين شدة التقلص ومدة النبضة القلبية

Act +Atr 0.01		Act 0.01		Adr 0.01		Adr 0.1		الحالة الطبيعية	
Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp	Time Sec	Amp
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.08	0.05	0.12	-1.03	0.06	0.14	0.06	1.63	0.02	0.38
0.16	-0.05	0.25	-2.10	0.11	0.27	0.10	4.41	0.03	0.76
0.21	-0.42	0.31	-3.05	0.18	0.68	0.13	6.71	0.05	1.39
0.26	-0.79	0.37	-4.11	0.23	3.44	0.19	9.29	0.08	1.72
0.34	-1.35	0.56	-4.50	0.24	8.53	0.24	11.30	0.12	1.91
0.43	-1.54	0.64	-4.50	0.26	10.02	0.31	12.74	0.16	2.21
0.53	-1.49	0.71	-4.33	0.29	11.38	0.35	16.75	0.20	2.73
0.60	-1.35	0.74	-4.05	0.34	11.74	0.38	24.31	0.24	3.32
0.66	-0.56	0.92	-0.61	0.38	11.56	0.38	30.78	0.27	3.93
0.74	1.64	1.02	1.81	0.41	10.61	0.45	32.92	0.32	4.66
0.80	3.60	1.18	3.37	0.43	9.25	0.50	34.58	0.35	4.75
0.85	4.67	1.31	3.04	0.48	8.39	0.61	37.10	0.42	5.01
0.91	5.79	1.47	0.48	0.51	8.53	0.74	39.32	0.46	4.85
0.87	5.28	1.54	-0.85	0.52	10.29	0.81	39.99	0.51	4.73
0.96	5.84	1.59	-1.02	0.52	13.28	0.87	39.99	0.54	4.10
1.01	5.56	1.64	-0.98	0.53	21.43	0.92	39.82	0.58	3.56
1.11	5.14	1.68	-0.69	0.52	27.54	0.95	38.82	0.64	3.37
1.06	5.28	1.73	0.67	0.56	33.36	1.01	34.93	0.68	4.14
1.17	5.33	1.78	4.68	0.64	38.31	1.04	24.95	0.71	6.76
1.21	6.40	1.92	13.87	0.71	39.83	1.14	14.03	0.75	10.62
1.22	7.56	2.01	20.59	0.77	40.00	1.19	4.65	0.77	15.23
1.25	9.15	2.12	28.45	0.81	39.77	1.27	-2.12	0.80	20.04
1.28	12.26	2.21	32.55	0.84	39.27			0.86	24.29
1.30	15.49	2.31	36.12	0.92	36.89			0.90	28.74
1.35	20.07	2.39	38.37	1.01	32.00			0.95	32.72
1.39	23.97	2.46	39.70	1.07	24.66			1.00	35.79
1.46	28.20	2.54	40.00	1.13	17.48			1.04	37.50
1.52	32.05	2.61	39.74	1.23	5.93			1.08	38.52
1.56	34.67	2.68	38.60	1.31	-1.05			1.13	39.25
1.61	37.24	2.77	34.65					1.17	39.73
1.64	38.12	2.88	25.28					1.26	39.95
1.68	39.02	2.96	9.16					1.30	39.51
1.71	39.70	3.07	-1.30					1.33	38.52

1.74	39.92							1.36	36.01
1.77	40.00							1.39	31.60
1.81	40.00							1.43	27.71
1.85	39.70							1.43	21.49
1.87	39.20							1.47	15.00
1.90	37.49							1.51	9.92
1.94	34.96							1.52	5.85
1.96	28.98							1.55	3.40
1.99	21.88							1.55	0.48
2.03	14.07							1.60	0.04
2.07	5.55								
2.09	0.12								
2.11	-1.46								

.....

- 1-Belardetti, F.,Siegelbaum,S.A.,(1988) Up and down modulation of SignaleK[⊕] chanel function by distinct second messengers.Trends Neurosci.11:232-280
- 2- Brown, D.A.,Currents, M.(1988) In: Narahashi T ,ed. Ionic chanel. New york-london: plenum publishing corporation,1:55-94.
- 3- Brown, D.A.(1990) G protein and potassium currents in neurouns.Ann.Rev. physiol.52,215-242
- 4-Chesnais ,J.M. ,Fischmeister,R. and Pierre Francois Merry (1999) peroxyntirite is apositive inotropic agent in aterial and ventricular fibres of the Frog heart.The Journal of physiology. 521. 2 pp.375-388.
- 5- Conlon. and Kidd•C(1999)Neuranal nitric oxide facilitate vagal chronotropic and dromotropic action on the heart. J. Auton.Nerv. Syst.75:136-146.
- 6- Dolphen,A.C.(1990) G protein modulation of calcium currents in neurons Ann.Rev. physiol.52:243-255
- 7-Du,XY.,Schoemaker RG.,Bos E and Saxena (1995) Characterization of the positive and the negative inotropic effects of acetyl choline in the human myo cardium. Eur. J. Pharmacol. 284:119-127
- 8-Gattuso,A.,Mazza,R.,Daniela Pellegrino and Bruno Tota (1999) Endocardial endothelium mediates luminal Ach-NO signaling in isolated Frog heart.Am. J .physiol .Heart circ. Physiol. 276:H633- H641
- 9- hammond,C.,Tritseh ,D.(1990) In neurobiologie cellulaire Doin Editeurs.Paris .505-580.
- 10-Herring ,N.,Edward J F.Danson and David J.Paterson(2002) cholinergic control of Heart Rate by Nitric Oxide is site specific. News in physiological Sciences ,Vol.17NO.5,202-206.
- 11-Herring ,N.Golding ,S. and Paterson ,D.J.(2000) pre- synaptic NO-c GMP pathway modulates Vagal Control of heart rate in isolated adult guinea Pig arteria.J.Mol.Cell Cardiol.32:1795-1804
- 12-Kanai,A.J.,Stephan Mesaras, Mitchell.S. Finkel, Carmine V. Oddis,Lor.A.Birder, and Tadeusz Malinski (1997) β -Adrenergic Regulation of constitutive nitric oxide synthase in Cardiac myocytes.Am. Jphysiol. cell physiol.273:C1371-1377.
- 13-Levy M,N.,and Pappano A.J.(1994) Vagal control of myocardial contractility in vagal control of the Heart Experimental Basis and clinical Implications (Levy M

N and Schwarcz PJ eds) pp 241-259 Futura publishing co., Armonk ,NY.

- 14-MC Morn ,S O., YuJ ,Harrison SM ,Boyett MR and Zang WJ (1993) A direct negative inotropic effect of acetylcholine on rat ventricular myocytes Am. J. physiol .265:H1393-1400
- 15-Muscholl ,E. and Fozard, J.R. (1972) Effect of several muscarine agonist on cardiac performance and release of nor adrenaline from sympathetic nerves of the perfused rabbit heart. Br. J. pharmacol. 45: 616-629.
- 16- Nakamura, T.Y.,Goda. K.,Okamoto ,T.,Kishi, T., Nakamura,T and Goshims, K .(1993). Contractile and morphological impairment of cultured fetal mousemyocytes induced by oxygen radicals and oxidants.Circulation Research,73:758-770
- 17-Protas.,L., Shen J.B., and Pappano A.J. (1998) Carbachol increas contractions and intracellular Ca²⁺ transient in guinea pig. J. pharmacol. Epther 284 :66-74
- 18-Reuter,H.,Kokubun ,S.,Prodhom, B .(1989), Properties and modulation of cardiac calcium chanel. J .Exp.Biol., 124:191-201.
- 19-Sears,C.E.,Choate ,J.K. and Paterson ,D.J.(1999) NO c-GMP pathway accentuates the decrease in heart rate caused by cardiac vagal nerve Stimulation.J.Appl. physiol. 86:510-516.
- 20- Schwarz, P., Diem,R.,Dun ,N.G.and Forstermann ,U.(1995). Endogenous and exogenous nitric oxide inhibits norepinphrine release from rat heart sympathetic nerves.Circulation Research77,841-848.
- 21-Shen,J.B., Bin Jiang and Achilles J.Pappano (1999) Lack of effect of MCN_A343 on membrane current and contraction in guinea pig ventricular Myocytes Pharmacology Vol.290_Issue2 641-648 .
- 22- Vandcasteele G, Eschenhagen T., Scholz H, Stein B, Verde I,and Fischmeister R. (1999)Muscarinic and beta-adrenergic regulation of heart rate,force of contraction and calcium current is preserved in mice lacking endothelial nitric oxide synthase.Nature Med .5:331-334.
- 23-Wyeth R.P., Temma, K., Seifen ,E. and Kennedy, R.H.(1996).Negative inotropic actions of nitric oxide requirehigh doses in rat cardiac muscles.Pfluegers Arshive 432,664.