Physiology and Pharmacology, 13 (2), 151 - 159
Summer 2009 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

The role of NO and cGMP in vasodilatory effect of β_2-adrenoceptors in rat skin vessels

Golmohammadi M., Hajizadeh S*., Faghihi S. M., Hosseini M., Rohampour K.

Dept. of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 27 Aug 2008 Revised: 2 May 2009 Accepted: 13 May 2009

Abstract

Introduction: In recent studies, both endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms have been reported for the action of β-adrenoceptors. The aim of this study was to investigate the role of nitric oxide (NO) and cyclic guanosine monophosphate (cGMP) in β_2-adrenoceptors (β_2-AR) mediated vasodilation in rat skin vessels.

Methods: All drugs were injected subcutaneously into the plantar skin of the hind paw. Injection volume was 10 µl (5µl/min). Induction of anesthesia was performed with urethane 1.5 g/kg. Laser Doppler Flowmetery (LDF) technique was used to monitor the skin blood flow (SBF).

Results: The results obtained in this study showed that different doses of salbutamol, a selective β_2-AR agonist (1µM), caused a significant increase of SBF, but effects induced by different doses of salbutamol were not significantly different. Atenolol, a selective β1-adrenoceptor antagonist (10 µM), alone and with salbutamol had no significant effect on SBF. Propranolol, a non selective β-adrenoceptor antagonist (1 µM), did not changed SBF by itself, but significantly reduced the vasodilatory effect of salbutamol. LNNA, a NO inhibitor (10µM) and methylen blue, a cGMP inhibitor (3µM), caused significant decreases in SBF equal to 6.95% and 7.91%, respectively. Salbutamol injection after LNNA and NO raised the SBF to 24.7% and 22.5%, respectively. These values were significantly lower than the value observed for salbutamol (42.73%).

Conclusion: The results indicated that, salbutamol dilates rat skin vessels via β_2- ARs. NO and cGMP are involved in β_2-ARs mediated vasodilation and contributed to the regulation of skin vascular tone. More studies are required to elucidate the exact mechanism of function of β_2-adrenoceptors.

Keywords: ß$_2$-adrenoceptor; skin blood flow; Laser Doppler Flowmetery; Salbutamol; Rat.

* Corresponding author e- mail: hajizads@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۲)، ۱۵۱ - ۱۵۹
تابستان ۱۳۸۸

بررسی نقش نیتریک اکسید وگوانوزین مونوفسفات حلقوی در اثر اتساع عروقی گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک درعروق پوستی موش صحرایی

مجتبی گل‌محمدی، سهراب حاجی‌زاده*، سید محمد فقیهی، مرضیه حسینی، کامبیز روهام‌پور
گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

دریافت: ۵ شهریور ۱۳۸۷ بازبینی: ۱۲ اردیبهشت ۱۳۸۸ پذیرش: ۲۳ اردیبهشت ۱۳۸۸

چکیده

مقدمه: در مطالعات اخیر به اثر اتساع عروقی وابسته به اندوتلیوم و غیروابسته به اندوتلیوم گیرنده بتا-آدرنرژیک اشاره شده است. در این تحقیق نقشNO وcGMP در اثر اتساع عروقی گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک (β_2-AR) در عروق پوستی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: داروهای مورد استفاده با حجم 10µl و با سرعت 5µl/min بصورت زیر جلدی به پوست کف پای حیوان تزریق شد. از اورتان با غلظت ۱.۵g/kg برای بی‌هوش کردن حیوان استفاده می‌شد. ثبت جریان خون پوستی(SBF) با تکنیک جریان سنجی لیزری انجام گردید.

یافته‌ها: سالبوتامول در دوزهای مختلف باعث افزایش SBF گردید ولی اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های متفاوت مشاهده نشد. آتنولول (۱۰µM) به تنهایی و زمانی که همراه سالبوتامول (۱µM) تزریق شد اثری رویSBF نداشت. پروپرانولول (۱µM) هر چند به تنهایی اثری روی SBF نداشت ولی زمانی که همراه سالبوتامول تزریق می‌شد، پاسخ اتساع عروقی سالبوتامول را بطور معنی‌داری کاهش داد. L-NNA (۱µM) و متیلن بلو (۳µM) به ترتیب باعث ۶/۹۵٪ و۷/۹۱٪ کاهش در SBF شدند که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. همچنین تزریق سالبوتامول بعد از هر یک از داروهای فوق به ترتیب باعث ۲۴/۷٪ و ۲۲/۵۷٪ افزایش در SBF گردیده که نسبت به گروهی که فقط سالبوتامول دریافت کرده اند (۴۲/۷۳٪)، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: بررسی این نتایج نشان می‌دهد که سالبوتامول با اثر روی β_2-AR باعث اتساع عروق پوستی موش صحرایی می‌شود. NO و cGMP در مکانیسم اتساع عروقی بواسطه β_2-AR دخیل بوده و در تنظیم تون عروق پوستی مؤثر می‌باشند. به هر حال برای روشن شدن مکانیسم دقیق β_2-AR به تحقیق بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی: گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک، جریان خون پوستی، جریان سنجی لیزری، سالبوتامول، موش صحرایی.

مقدمه

اهمیت حیاتی جریان خون و مکانیسم‌های کنترل کنندهٔ آن بر کسی پوشیده نیست. بطور کلی عوامل تنظیم کننده جریان خون را می‌توان به دو دسته عصبی و هومورال تقسیم‌بندی کرد. برای بررسی مکانیسم‌های تنظیمی جریان خون در عروق خونی مطالعات وسیعی صورت پذیرفته است، که در این میان نقش گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک در تنظیم تون عروقی به طور گسترده‌ای مورد پذیرش قرار گرفته است [2،4،23،29]. تقریباً همه عروق خونی مطالعه شده دارای گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک می‌باشند و تحریک این گیرنده‌ها اتساع عروقی را القاء می‌کنند [25].

بر اساس نتایج آزمایش‌های گذشته، تحریک گیرنده بتا -۲

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: hajizads@modares.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

آدرنرژیک (β_2-AR) باعث فعال شدن آدنیل سیکلاز به واسطهٔ پروتئین G شده که با ساخت Cyclic Adenosine Mono Phosphate (cAMP) در سلول عضله صاف به اتساع عروق ختم می‌شود. و در نتیجه اثرات اتساع عروقی را صرفا به cAMP نسبت می‌دادند [2]. با پیشرفت دانش بشری توجه محققین به اندوتلیوم و نقش احتمالی آن در اتساع عروقی به واسطه β_2-AR معطوف شد و مشاهده شد که با برداشتن اندوتلیوم در شریان‌های کرونر سگ اثر اتساع عروقی بتا- آدرنرژیک کم می‌شود [21،14،11]. علاوه بر این شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد با مهار cGMP توسط متیلن بلو و یا مهار نیتریک اکساید سنتاز اثر اتساع عروقی ایزوپرنالین، آگونیست گیرنده بتا- آدرنرژیک به ترتیب در آئورت و شریان مزانتر موش صحرایی تضعیف می‌شود [10،9]. البته مدارک دیگری وجود دارد که نشان می‌دهد برداشتن اندوتلیوم یا مهار نیتریک اکساید سنتاز تغییری در اتساع عروقی بواسطه گیرنده بتا- آدرنرژیک ایجاد نکرده است [19،8]. با توجه به اینکه اکثر مطالعات در این رابطه روی عروق و شرایین متمرکز شده و نظرات مختلفی نیز ارائه شده است و با توجه به اهمیت تنظیم جریان خون پوست، بافتی که به دلیل تماس مستقیم با محیط خارج، عوامل آلرژیک و التهاب زا همچنین نقشی که در کنترل دمای بدن دارد، در این تحقیق تصمیم گرفته شد که با استفاده از تکنیک لیزر داپلر و اندازه‌گیری درصد تغییرات جریان خون، به بررسی نقش NO وcGMP در اتساع عروقی بواسطه گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک (β_2-AR) در عروق پوستی موش صحرایی پرداخته شود.

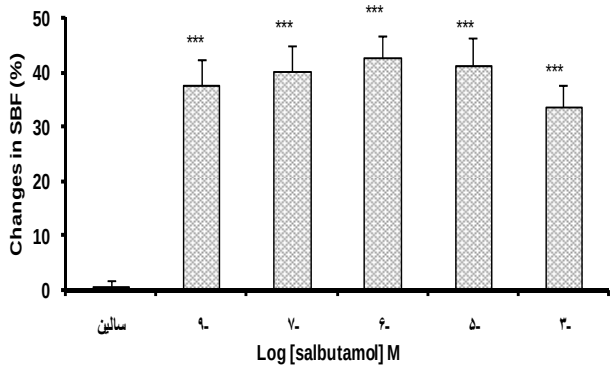
مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۸۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Sprague- Dawley در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم که از موسسه تحقیقاتی سرم سازی رازی تهیه می‌شدند، استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دسترسی آزاد به آب و غذا و درجه حرارت c ۲۲-۲۰ و در قفسهای جداگانه و در گروه‌های ۳ تا ۵ تایی نگهداری می‌شدند. به منظور بی‌هوش نمودن حیوان از تزریق داخل صفاقی اورتان با دوز g/kg ۱/۵ استفاده می‌شد.

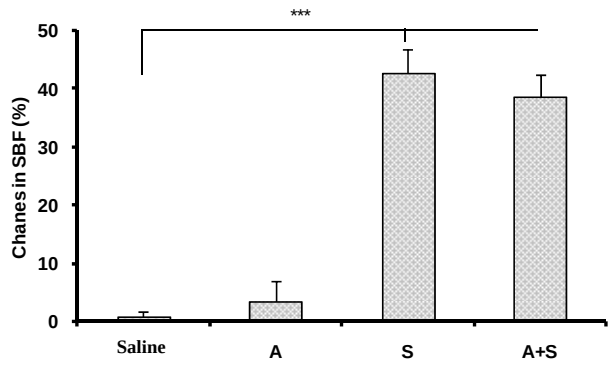
در این تحقیق از داروی سالبوتامول سولفات، آگونیست انتخابی گیرنده بتا ۲- آدرنرژیک از شرکت Neuland- هند، آتنولول، آنتاگونیست انتخابی گیرنده بتا ۱- آدرنرژیک از شرکت Neuland – هند، پروپرانولول، آنتاگونیست عمومی گیرنده بتا آدرنرژیک از شرکت Sigma- آمریکا، L-NNA (Arginine- N –Nitro-L)، مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز جهت بررسی نقش نیتریک اکساید (NO) درون زاد از شرکت Sigma- آمریکا، متیلن بلو، مهار کننده cGMP از شرکت Sigma – آمریکا و اورتان از شرکت merck- آلمان استفاده شد.

برای تزریق دارو و حلال‌ها از یک سر سوزن G ۳۰ استفاده می‌شد که توسط یک کانول به سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتری وصل شده و خود سرنگ نیز تحت کنترل پمپ تزریق قرار می‌گرفت. حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر با سرعت 5µl/min و با زاویه حدود ۱۰-۱۵ درجه وارد پوست کف پای حیوان می‌شد. سرنگ و کانول دارو تا لحظه قبل از تزریق در دستگاه انکوباتور به منظور حفظ دمای مطلوب نگهداری می‌شدند. برای ثبت SBF از دستگاه جریان سنج لیزری استفاده شد (MBF.ZD.Moor instrument, Axminster, UK). برای این منظور پس از ثابت نمودن سوزن در محل تزریق در پوست کف پای حیوان، کاوند دستگاه را روی پوست کف پای حیوان در فاصله حدود ۲ تا ۳ میلی متری نوک سوزن به آرامی تثبیت می‌شد. پس از ثبت جریان خون پوستی (SBF) مدت ۲۰-۱۵ دقیقه و تثبیت SBF، تزریق دارو انجام می‌شد و در طی تزریق و حدود ۴۰ دقیقه بعد از آن ثبت جریان خون ادامه داشت. و سپس حیوان با KCL اشباع کشته شده و جریان خون ثبت شده به عنوان صفر زیستی در جریان سنج لیزری ثبت می‌شد. مقادیر صفر زیستی از مقادیر جریان خون ثبت شده قبلی کسر شده، سپس درصد تغییرات جریان خون محاسبه می‌شد. در تمامی طول مدت ثبت جریان خون با استفاده از دستگاه اکسی متر که توسط رابطی به دم حیوان وصل می‌شد ضربان قلب و میزان اشباع اکسیژن خون حیوان ثبت می‌گردید. درجه حرارت بدن حیوان در حدود C ۳۷ حفظ می‌شد که با استفاده از واحد کنترل دما این کار صورت می‌گرفت و درجه حرارت محیط آزمایشگاه C ۲۲-۲۰ حفظ می‌شد.

در این تحقیق از گروه‌های مختلف برای آزمایش استفاده شد ۱- گروه کنترل که از سالین استفاده گردید. ۲- گروه‌های



شکل۱- اثر تزریق داخل جلدی سالبوتامول با غلظت‌های $۱۰^{-۹}$، $۱۰^{-۷}$، $۱۰^{-۶}$، $۱۰^{-۵}$ و $۱۰^{-۳}$ مول بر SBF. مقادیر به صورت Mean ± SEM می‌باشند (n=۷). *** P<0.001 نسبت به گروه کنترل سنجیده شده است.



شکل۲- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که آتنولول (A) (۱۰μM)، را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا آتنولول سپس سالبوتامول(S) (۱μM) به آنها تزریق شد (A+S). مقادیر به صورت Mean ± SEM می‌باشند (n=۷). ***P<0.001 نسبت به کنترل سنجیده شده است.

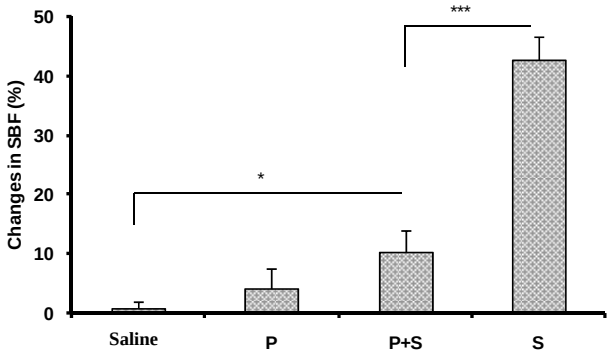
آزمایشی برای بررسی اثر سالبوتامول. ۳- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر آتنولول با غلظت ۱۰ میکرومول ۴- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر آتنولول و سالبوتامول. ۵- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر پروپرانولول با غلظت ۱ میکرومول. ۶- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر پروپرانولول و سالبوتامول. ۷- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر L-NNA با غلظت ۱۰μM. ۸- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر L-NNA و سالبوتامول. ۹- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر متیلن بلو با غلظت ۳μM. ۱۰- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر متیلن بلو و سالبوتامول. برای مقایسه تغییرات جریان خون پوستی در هر گروه ازStudent’s paired t-test، برای مقایسه در گروههای مختلف از Student’s unpaired t-test و در برخی مقایسه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. در همه نمودارها اطلاعات بصورت میانگین ± خطای معیار (SEM ± Mean) ارائه شده اند. به منظور ارزیابی توزیع نرمال داده‌ها از تست Klomogorov- Smirnov (K-S) استفاده شد. سطح معنی‌دار در مقایسه‌ها p<0.05 در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

غلظت‌های $۱۰^{-۹}$، $۱۰^{-۷}$، $۱۰^{-۶}$، $۱۰^{-۵}$ و $۱۰^{-۳}$ مول سالبوتامول بصورت داخل جلدی تزریق شد. به ترتیب باعث ۳۷/۷۵، ۴۰/۳۶، ۴۲/۷۳، ۴۱/۴۱ و۳۳/۶۲ درصد افزایش در SBF کف پای حیوان می‌شود. که از نظر آماری معنی دار می‌باشد (P<0.001). بین پاسخ غلظت‌های فوق اختلاف معنی داری وجود ندارد (شکل۱).

در ادامه تحقیق ازغلظت $۱۰^{-۶}$ مول سالبوتامول که اثر بخشی بیشتری داشت استفاده شد. با توجه به مدارکی مبنی بر وجود گیرنده بتا -۲ در اپیدرم پوست موش صحرایی [30،3] برای اطمینان از وجود این نوع گیرنده در پوست کف پای موش صحرایی سالبوتامول (۱μM) بصورت داخل جلدی تزریق شد و افزایش جریان خون مشاهده شد. زمانی که از داروی آتنولول (۱۰μM)، آنتاگونیست انتخابی β_1-AR استفاده شد [1] و سپس با فاصله زمانی معین سالبوتامول با غلظتی که اثر بخشی بهتری داشت تزریق گردید، تغییر معنی‌داری نسبت به گروه سالبوتامول مشاهده نشد (شکل۲). ولی با تزریق پروپرانولول (۱μM)، آنتاگونیست عمومی گیرنده بتا [۲] و سپس تزریق سالبوتامول شاهد کاهش کاملا معنی دار جریان خون پوستی نسبت به گروه سالبوتامول بودیم (P<0.001) (شکل۳). در ضمن استفاده داروی آتنولول و یا پروپرانولول اثر معنی‌داری روی SBF موش صحرایی نسبت به گروه سالین نداشتند (شکل‌های۲و ۳). دراین تحقیق سعی بر این شد که اثر NO را بعنوان یک فاکتور متسع کننده مشتق از اندوتلیوم بر تغییرات SBF بواسطه β_2-AR در موش صحرایی مورد آزمایش قرار دهیم.

برای بررسی اثر NO از L-NNA مهار کننده NOS با غلظت ۱۰ میکرو مول استفاده شد [29،27]. تزریق داخل جلدی L-NNA با غلظت (۱۰μM) موجب۶/۹۵٪ کاهش SBF شد که از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد (P<0.05) و تزریق سالبوتامول (۱μM)، پس از تزریق L-NNA باعث ۲۴/۷٪ افزایش در جریان خون پوست می‌شد که از نظر آماری اثرمعنی داری برSBF نسبت به گروه کنترل

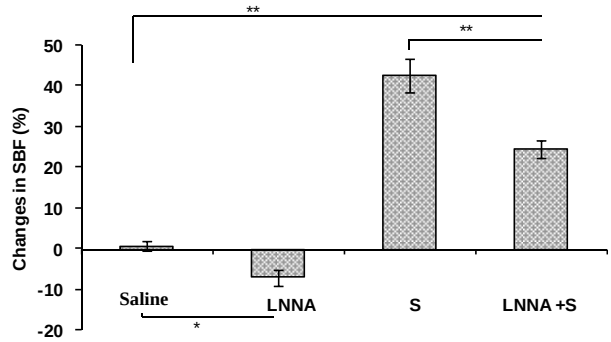


شکل۳- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که پروپرانولول (P) (۱μM)، را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا پروپرانولول سپس سالبوتامول (S) (۱μM) (P+S) به آنها تزریق شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM می‌باشند (n=۷) *P<0.05 نسبت به گروه کنترل و ***P<0.001 نسبت به گروه سالبوتامول سنجیده شده‌است.

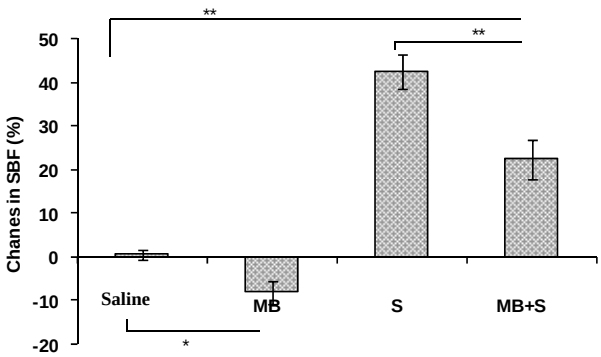
دارد (P<0.01). همچنین مقایسه نتایج حاصل از این گروه با گروهی از حیوانات که فقط سالبوتامول (۱μM) دریافت کرده‌اند، اختلاف معنی‌داری بین درصد افزایش خون ایجاد شده توسط سالبوتامول در دو گروه نشان می‌دهد (P<0.01) (شکل۴).

برای بررسی اثر cGMP روی جریان خون پایه و همچنین نقش آن در اتساع عروق بواسطه سالبوتامول از متیلن بلو، مهار کننده cGMP با غلظت ۳ میکرومول استفاده گردید [36].

تزریق داخل جلدی متیلن بلو با غلظت (۳μM) در کف پای حیوان موجب ۷/۹۱٪ کاهش SBF شد که از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد (P<0.01) و تزریق سالبوتامول (۱μM)، پس از تزریق متیلن بلو باعث ۲۲/۵۷٪ افزایش در SBF می‌شود که از نظر آماری اثر معنی‌داری بر SBF نسبت به گروه کنترل دارد (P<0.01). همچنین مقایسه نتایج حاصل از



شکل۴- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که L-NNA (۱۰μM) را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا L-NNA سپس سالبوتامول (S) (۱μM) (LNNA+S) به آنها تزریق شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM می‌باشند (n=۶). *P<0.05 نسبت به کنترل و **P<0.01 نسبت به کنترل و سالبوتامول سنجیده شده‌است.



شکل۵- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که متیلن بلو (۳μM) (MB) را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا متیلن بلو سپس سالبوتامول (S) (۱μM) (MB+S) به آنها تزریق شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM می‌باشند (n=۶). *P<0.05 نسبت به کنترل و **P<0.01 نسبت به کنترل و سالبوتامول سنجیده شده‌است.

این گروه با گروهی از حیوانات که فقط سالبوتامول (۱μM) دریافت کرده اند، اختلاف معنی‌داری بین درصد افزایش خون ایجاد شده توسط سالبوتامول در دو گروه نشان می‌دهد (P<0.01) (شکل۵). اثر موضعی داروها در هنگام ثبت جریان خون، تاثیری بر تعداد ضربان قلب و درصد اشباع اکسیژن خون حیوانات نداشت.

بحث

در مطالعات اخیر به اثر اتساع عروقی وابسته به اندوتلیوم و غیر وابسته به اندوتلیوم گیرنده بتا-آدرنرژیک اشاره شده است [32]. در این تحقیق برای روشن نمودن مکانسیم اتساع عروقی β_2-AR در عروق پوستی موش صحرایی ابتدا وجود گیرنده بتا - ۲ در کف پای موش صحرایی را تایید، سپس به بررسی نقش NO و cGMP در اتساع عروقی سالبوتامول در پوست موش صحرایی پرداخته شد. نتایج ما نشان داد غلظت یک میکرومولار سالبوتامول پاسخ اتساع عروقی بیشتری دارد. در غلظت‌های بالاتر از یک میکرومولار پاسخ اتساع عروقی و یا افزایش جریان خون کمتری مشاهده شده است. که احتمالا بدلیل اثر سالبوتامول روی سایر گیرنده‌های آدر نرژیک از جمله گیرنده آلفا- آدرنرژیک می‌باشد. همچنین مشخص شد که گیرنده بتا - ۲ آدر نرژیک در پوست کف پای موش صحرایی وجود دارد و سالبوتا مول با اثر روی گیرنده فوق باعث افزایش جریان خون می‌شود. نتایج فوق با نتایج دیگر محققان همگون می‌باشد

[30،3،1].

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد NO بـه عنـوان یـک متسـع کننـده عروقـی انـدوژن نقـش مهمـی در تنظـیم تـون عروقی‌دارد [19،6]. نتایج تحقیق ما نشان می‌دهد که بـا تزریـق داخل جلدی L-NNA جریـان خـون نسـبت بـه گـروه سـالین کاهش معنی داری پیدا کرده است (شکل۴). که دلیلی بر وجـود NO درون زاد می‌باشد و با نتایج تحقیقات دیگری که در پوست موش صحرایی صورت گرفته است [18،28،14]، همگون بوده و بیان کننـده نقـش NO در تنظـیم تـون عـروق پوسـتی مـوش صحرایی بی هوش می‌باشد. علت کاهش جریان خون پوستی به دنبال تزریق L-NNA بطور مستقیم مربوط به مهار تولیـد NO سپس کاهش میزان cGMP مـی‌باشـد. همچنـین از آنجائیکـه NO بعنوان تسهیل کننده رهـایشCGRP محسـوب مـی‌شـود [13،14]، می‌توان استنباط نمود که با حـذفNO، عامـل اتسـاع کننده CGRP نیز کاهش می‌یابد و جریان خون کم می‌شود. در ضمن NO اثر مهاری روی فعالیت اعصاب آدرنرژیک داشته و با حذف NO اثر مهاری برداشـته، رهـایش نـوراپی نفـرین بیشـتر می‌شود و تون عروقی افزایش می‌یابد [33،6]. در ادامه مشخص شد که با مهار NO اثر اتساع عروقـی سـالبوتامول بطـور معنـی داری کم می‌شـود (شـکل۴). مشـاهداتی کـه در آئـورت مـوش صحرایی و شریان کرونر سگ صـورت گرفتـه اسـت NO را در اتسـاع عروقـی بواسـطه گیرنـده بتـا-۲ مـرتبط دانسـته‌انـد [19،16،17،7]. مواردی نیز گزارش شده است که نشـان دهنـده عدم دخالت NO در پاسخ عروقی β_2-AR مـی‌باشـد [22،19]، که نتایج تحقیق ما با آنها همسو نمی‌باشد. Yao و همکاران بـه این نتیجه رسیدند که گیرنده بتا-آدرنرژیـک از طریـق افـزایش فسفریلاسـیون سـرین فعالیـت NOS انـدوتلیالی را زیـاد می‌کند[38]. نتایج برخی محققین نشان می‌دهـد کـه بـه دنبـال تحریک β_2-AR و افزایش cAMP، NOS فعال شده و با تولید NO باعث اتساع عروق می‌شود [39،31،26] Gray و همکاران نیز معتقدند که فورسکولین باعث افزایش NO و cGMP شده و بـا L-NNA و یـا برداشـتن انـدوتلیوم، اثـر اتسـاع عروقـی فورسکولین تضعیف می‌شود [27،11]. برخی مطالعات دیگر نیـز معتقدنـد β_2-AR بـا فعـال کـردن مسـیر سـیگنالینگ PI_2P در سلولهای اندوتلیایی باعث رهایش NO می‌شود [15]. همچنـین NO بطور مستقیم کانال‌هـای K_{Ca} را در عضـله صـاف عـروق فعال می‌کند و باعث خـروج پتاسـیم و اسـتراحت سـلول عضـله صاف می‌شود [34]. بنا براین با توجه بـه نتـایج حاصـل از ایـن آزمایش می‌توان پیشنهاد نمود که NO در اتساع عـروق پوسـتی بواسطه سالبوتامول شرکت می‌کند.

در این تحقیـق بـدنبال تزریـق متـیلن بلـو و مهـار cGMP جریان خون پوستی نسبت به گروه سالین کاهش معنی‌داری پیدا کرد (شکل۵). عمده‌ترین محرک تولید اندوژن cGMP در عضله صاف، NO می‌باشد [20] و به دنبـال افـزایش cGMP فعالیـت پروتئین کیناز G افزایش می‌یابد و این آنزیم با فسـفریله کـردن مولکول‌های مختلف باعث انبساط عروق می‌شـود [35]. برخـی نیز معتقدند که PKG با فعال کردن آدنیـل سـیکلاز و افـزایش cAMP در عضله صاف موجب انبساط عروق مـی‌شـود [12]. و برخی دیگر بر این باورند که cGMP با کاهش غلظـت کلسـیم داخل سلولی باعث انبساط عضله صاف می‌شود[37]. حال انتظار نیز می‌رود که با حـذف cGMP تـون عروقـی افـزایش یافتـه و میزان جریان خون کاهش یابد. لذا از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که مانند NO، cGMP نیز در تنظیم تون عروق پوسـتی موش صحرایی بی‌هوش موثر می‌باشد.

بـا حـذف cGMP اثـر اتسـاع عروقـی سـالبوتامول بطـور معنـی‌داری کـم گردیـد (شـکل۵). نتیجـه ایـن آزمـایش بـا آزمـایش‌هـایی کـه دیگـر محققـین روی شـرائین و وریـدها در حیوانات مختلف انجـام دادنـد کـاملا همسـو مـی‌باشـد [11،5]. مطالعات نشان داده است که برداشـتن انـدوتلیوم آئـورت مـوش صحرایی نه تنها باعث کاهش cGMP پایـه شـده بلکـه مقـدار cGMP که به دنبال تزریق ایزوپرنالین افزایش می‌یافت نیز کم می‌شود که دلیلی بر تولید وابسته به اندوتلیوم cGMP می‌باشـد [31،24]. البتـه محتـوی cGMP بـدون دخالـت انـدوتلیوم نیـز می‌توانـد افـزایش یابـد از آنجائیکـه cAMP اثـر مهـاری روی فسفودی استراز III دارد، با افزایش cAMP به دنبـال تحریـک گیرنده بتا ۲-آدرنرژیک از تجزیه cGMP جلوگیری می‌شود. لذا میزان cGMP افزایش می‌یابد و همچنین cAMP قادر است بـا تحریـک NOS و تولیـد NO میـزان cGMP را افـزایش دهـد [39،5]. بنا براین از نتایج ایـن آزمـایش و مـواردی کـه در ایـن قسمت بحث ذکر شد مـی‌تـوان پیشـنهاد نمـود کـه cGMP در اتساع عروق پوسـتی مـوش صـحرایی بواسـطه گیرنـده بتـا ۲-آدرنرژیک شرکت می‌کند. لازم است به این نکته اشاره شود کـه

هیچکدام از داروهای مورد استفاده در این تحقیق اثر معنی‌داری روی تعداد ضربان قلب ودرصد اشباع اکسیژن خون حیوان نداشتند. پس تغییرات، حاصل نتیجه پاسخدهی موضعی عروق و اثر داروهای مورد استفاده است نه تغییرات ناشی از کاهش یا افزایش فعالیت قلب. در یک بررسی کلی از نتایج این تحقیق می‌توان پیشنهاد کرد که سالبوتامول با اثر روی گیرنده بتا ۲- آدرنرژیک به صورت وابسته به غلظت باعث اتساع عروق پوستی موش صحرایی می‌شود. بخشی از این پاسخ به علت ترکیباتی چون NO و cGMP اعمال می‌شود. با توجه به اینکه پاسخ اتساع عروقی کاملاً به وسیله این دو ترکیب مهار نمی‌شود، دخالت ترکیبات و عوامل دیگری نیز مطرح می‌شود که نیاز به بررسی و تحقیق بیشتری برای روشن شدن دارد.

References

[1] Abedini Gholam Reza, Hajizadeh Sohrab, Fathollahi Yaghoub. ***Effect of beta-2 adrenoceptors activation on rat knee joint blood flow changes in acute inflammation.*** Tarbiat Modares University Master of Sciences Thesis, 1385, 68-69.

[2] Cardillo C, Kilcoyne CM, Qiuumi AA, Cannon RO, Panza JA, Decreased vaasodilatir response to isoproterenol during nitric oxide inhibition in humans. ***Hypertension*** 30 (1997) 918- 21.

[3] Crandell CG, Etzel RA, Johnson JM, Evidence of functional beta-adrenoceptors in the cutaneous vasculature. ***Am J Physiol*** 273 (1997) h1038-1043.

[4] Dawes M, Chowienezyk PJ, Ritter JM, Effect of inhibitioin of the L- arginin/nitric oxide pathway on vasidilation caused by beta- adrenergic agonists in human forearm. ***Circ J*** 95 (1997) 2293-2297.

[5] Delpy E, Coste H, Gourille AC, Effect of cyclic GMP elevation on lsopernalin– induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle. ***J Cardiovasc Pharmacol*** 32 (1996) 543-551.

[6] Durand S, Davis SL, Crandall CG, Exogenous nitric oxide inhibits. Sympathetically mediated vasoconstriction in human skin. ***J Physiol*** 562 (2004) 629-634.

[7] Ferro A, Coash M, Yamamoto T, Rob J, Ji Y, Queen L, Nitric oxide-dependent beta2-adrenergic dilatation of rat aorta is mediated through activation of both protein kinas A and Akt **.** ***Br J Pharmacol*** 143 (2004) 297-403.

[8] Ferro A, Queen LR, Priest RM, Poston L, Activation of nitric oxide synthase by beta 2- adrenoceptors in humsn ambilical vein endothelium in vitro. ***Br J Pharmacol*** 126 (1999) 1872- 1880.

[9] Grace GC, Mac Donald PS, Dusting GJ, Cyclic nucleotide interactions involved in endothelium-dependent dilations in rat aortic rings. ***Eur J Pharmacol*** 148 (1998) 17-24.

[10] Graves J, Poston L, β-adrenoceptor agonist mediated relaxation of rat isolated resistance arteries: a role for the endothelium and nitric oxide. ***Br J Pharmacol*** 108 (1993) 631-637.

[11] Gray DW, Marshall I, Novel signal tronsduction pathway mediating endothelium-dependent beta- adrenoceptor vasorelaxation in rat thoracic aorta. ***Br J Pharmacol*** 107 (1992) 684- 690.

[12] Gray E, Ferrell WR, Acute joint in flammation alters the adrenoceptor profile of synovial blood vessels in the knee joint of rabbits. ***Ann Rheum Dis*** 51 (1992) 1129-1133.

[13] Herbert MK, Holzer P, Nitric oxide mediates the amplification by interleukin-1B of neurogenic vasodilation in the rat skin. ***Eur J Pharmcol*** 260 (1994) 89-93.

[14] Holzer P, Jocic M, Cutaneus vasodilation indused by Nitric oxide-evoked stimulation of afferent nerves in the rat. ***Br J Pharmacol*** 112 (1994) 1181-1187.

[15] Isenovic E, Walsh MF, Muniyappa R, Sowers JR, Phosphatidyl inositol 3-kinase may mediate isoproterenol –induced vascular relaxation in part through nitric oxide production. ***Metabolism*** 51 (2002) 380-386.

[16] Kamata K, Miyata N, Kasuya Y, Involvement of endothelial cells in relaxation and contraction response to isoproterenol in naive and streptozotocin-induced diabetic rats. ***J Pharmacol Exp Ther*** 249 (1989) 890-894.

[17] Kang KB, van der Zypp A, Majewski H, Endogenous nitric oxide attenuate beta- adrenoceptor –mediated relaxation in rat aorta. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 2007 Jan-Feb; 34(1-2):95-101

[18] Kellogg DL, Zhao JL, Wu Y, Endotelial nitric oxide synthase control mechanisms in the cutaneous vasculator of humans in vivo. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 295 (2008) H123-129.

[19] Konishi M, Su C, Role of the endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. ***Hypertension*** 5 (1983) 881-886.

[20] Mennecier P, Simonet S, Vereuren TJ, Effect of vasodilators, including nitrice oxide, on the release of cGMP and cAMP in the isolated perfused rat kidney. ***Eur J Pharmacol*** 220 (1992) 161-171.

[21] Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA, Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. ***Pharmacol Rev*** 43 (1991)109-142.

[22] Moncada S, Rees DD, Schultz R, Palmer RMA, Development and mechanisms of a specific supersensitivity to nitro-vasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthase in vivo. ***Proc Natz Acad Sci USA*** 88 (1991) 2166-2170.

[23] Nakashima M, Vanhoutte PM, Isoproternol causes hyperpolarization through opening of ATP-sensitive potasium channels in vascular smooth muscle of the

canine saphenous vein. ***J Pharmacol Exp Ther*** 272 (1995) 379- 84.

[24] Ritter JM, Nebivolol: endothelium-mediated vasodilating effect ***J Cardiovasc Pharmacol*** 38 (2001) S13-16.

[25] Robert R, Ruffolo JR, Beta- adrenoceptors, Molecular Biology, Biochemistry and Pharmacology. ***Karger Press*** 75 (1991) 177- 180.

[26] Queen LR, Ji Y, Xu B, Young L, Yao K, Wyatt AW, Rowlands DJ, Siow RC, Mann GE, Ferro A, Mechanisms underlying beta2-adrnoceptor-mediated nitric oxide generation by human umbilical vein endothelial cells. ***J Physiol*** 15 (2006) 585-594.

[27] Rubanyi G, Vanhoutte PM, Endothelium removal decreases relaxations of canine coronary arteries caused by beta- adrenergic agonists and adenosin. ***J Cardiavasc Pharmacol*** 7 (1985) 139- 144.

[28] Safari F, Hajizadeh S, Fathollahi Y. Skin blood flow changes due to morphine and the role of nitric oxide. ***Physiology and Pharmacology*** 9 (1384): 35-40

[29] Shindler Ch, Dobrev D, Grossmonn M, Francke K, Mechanisms of β- adrenergic receptor- mediated venodilation in humans. ***Clin Pharmacol Ther*** 75 (2004) 49- 59.

[30] Solanki V, Murray AW, Beta-adrenergic receptor of new born mouse skin. ***J Invest Dermatol*** 71 (1978) 344-346.

[31] Toyoshima H, Nasa Y, Hashizume Y, Takeo S, Modulation of cAMP- mediated vasorelaxation by endothelial nitric oxide and basal cGMP in vascular smooth muscle. ***J Cardiovasc Pharmacol*** 32 (1998) 543-551.

[32] Uchida H, Shishido K, Nomiya M, Yamaguchi O, Involvment of cyclic AMP-dependent mechanisms in the relaxation of rat detrusor muscle via beta-adrenoceptors. ***Eur J Pharmacol*** 518 (2005) 195-202.

[33] Vials AJ, Crow R, Burnstock G, Neuromodulatory role for neuronal nitric oxide in the rabbit renal artery. ***Br J Pharmacol*** 121 (1997) 213-220.

[34] Victoria M, Soheil N, Richard A, Nitric oxide directly activates calcium dependent potassium channels in vascular smooth muscle. ***Nature*** 368 (1994) 850-853.

[35] Vineent SR, Nitric oxide: a radical neurotransmission in the CNS. ***Neurobiol*** 42 (1994) 129-160.

[36] Wai-kei Ch, Xiaoxiang Y, Hung Y, Nitric oxide mediated endothelium – dependent relaxation induced by glibenclamide in rat isolated aorta. ***Cardiovas Resarch*** 46 (2000) 180-187.

[37] Waldman SA, Murad F, Cyclic GMP synthesis and function. ***Pharmacol Rev*** 39 (1987) 163–196.

[38] Yao K, Xu B, Liu YP, Ferro A, Effect of beta-drenoceptor stimulation on endothelial nitric oxide synthase phosphorilation of human umbilical vein endothelial cells. ***Acta Pharmacol Sin*** 24 (2003) 219-224.

[39] Yao X, Hung Y, Endothelium- dependent relaxation by tetraoctylammonium ion in rat isolated aortic rings. ***Life Sci*** 66 (2000) 13-19.