Archive of SID

نیتریک اکساید به عنوان میانجی سیستم غیر آدرنرژیک غیرکولینرژیک در عروق کرونر گوسفند

دکتر حسینعلی عرب[1]* دکتر فردین حسین زاده[2]

دریافت مقاله: ۲۷ مهر ماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۱۶ اسفند ماه ۱۳۸۲

هـدف: بررسی نقش و جایگاه نیتریک اکساید (NO) در سیستم غیر آدرنرژیک غیر کولینرژیک عروق کرونر بزرگ گوسفند.

طرح: مطالعه آزمایشگاهی.

نمونه ها: تعداد شانزده عدد قلب تازه گوسفند ۱۰-۸ ماه.

روش: بلافاصله بعد از کشتار گوسفند، قلب از بدن حیوان جمع آوری گردید و با قرار دادن آن در محلول کربس و در مجاورت یخ به سرعت به آزمایشگاه منتقل گردید. حلقه های ایزوله به طول ۳- ۲ میلیمتر از عروق کرونر بطن چپ تهیه و سپس در حمام بافت به صورت معلق قرار داده شد تا کشش ایزومتریک عضلانی آن ثبت شود. حمام بافت حاوی محلول کربس ۳۷ درجه سانتیگراد بود که اکسیژن به همراه ۵ درصد گازکربنیک دائماً در آن جریان داشت. در یک گروه آزمایشی استیل کولین به غلظت 5×10^{-5} مولار در محیط حاوی حلقه ایزوله اضافه گردید. برای بررسی نقش نیتریک اکساید در انبساط عروقی ابتدا عضو مورد آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در مجاورت یک مهار کننده تولید نیتریک اکساید، نیترو آرژینین متیل استر (L-NAME)، قرار داده شدو پس از آن استیل کولین با غلظت قبلی به محیط آزمایش اضافه گردید. علاوه بر اینها اثرات اسید آمینه ال- آرژینین (L-arg) به عنوان پیش سازNO بر روی بافتهای تحت درمان با استیل کولین وL-NAME مورد مطالعه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون استیودنت "t".

نتایج: نتایج نشان داد که استیل کولین باعث یک انقباض موقت و گذرا و سپس انبساط طولانی مدت در بافت عضلانی جدار عروق شد. در حالی که استفاده از نیترو آرژینین متیل استر در محیط آزمایش به طور معنی داری ($P<0/02$) سبب افزایش انقباض ناشی از استیل کولین گردید. L-arg نه تنها به طور معنا داری ($P<0/01$)، ۹۳/۴ درصد باعث کاهش اثرات انقباضی استیل کولین گردید، بلکه به طور فزاینده ای ($P<0/05$)، ۵۴/۹ درصد اثرات L-NAMEرا نیز کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق حاکی از آن است که اولاً اندوتلیوم عروق کرونر بزرگ گوسفند حاوی سیستم غیر ادرنرژیک غیر کولینرژیک با واسطه NO می باشند که فعالیت آن سبب انبساط عروقی و افزایش جریان خون در این شریانها می شود. ثانیاً این نتایج می تواند مؤید نظریه ای باشد که اعلام داشته استیل کولین دارای گیرنده های متفاوت در عروق کرونر می باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۲، ۱۱۴-۱۰۹.

واژه های کلیدی: کرونر گوسفند، نیتریک اکساید، غیر آدرنرژیک غیر کولینرژیک.

Nitric oxide mediated non-adrenergic non-cholinergic system in sheep coronary arteries

Arab, H.A.,[1] Hosseinzadeh, F.[2]

[1]*Department of Physiology, Pharmacology & Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.*
[2]*Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

Objective: This study aimed to examine the role of nitric oxide (NO) as mediator of non-adrenergic non-cholinergic (NANC) system in coronary arteries of sheep.

Design: In vitro study.

Samples: Sixteen hearts of sheep aged 8-10 months.

Procedure: *In vitro* experiments were conducted using isolated tissue preparations. The isolated tissues were obtained from the left coronary arteries of hearts collected from lambs aged 8-10 months. They were mounted in organ bath system to record the isometric forces by a physiograph. The tissues were suspended in 37°C Krebs' solution bubbled with 95% oxygen and 5% CO_2. Four experimental groups were prepared and the isolated tissues were treated with 5×10^{-5} M acetyl choline (Ach), an inhibitor of NO synthethase, nitro- L- arginine methyl ester (L-NAME) and L-arginine (L-arg) as precursor for NO.

Statistical analysis: Student t-test.

Results: The tissues treated with Ach contracted for a short time before they were relaxed permanently. The relaxation induced by Ach was dependent on the viability of endothelium. The pretreatment of tissues with L-NAME, not only decreased the relaxation induced by Ach, but also significantly ($P<0.02$) increased the level of tissue contraction. It was also found that L-arg was significantly able to decrease the primary contraction induced by Ach ($P<0.01$) as well as reducing the effects of L-NAME on coronary arteries of sheep and the results of this study further suggest that there are different types of muscarinic receptors in sheep coronary arteries.

Conclusion: The results of this study showed that a NANC system mediated by No is present in sheep coronary arteries and also approved the findings that there are dufferent Achreceptors in these arteries. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 2: 109-114, 2004.***

Key words: Sheep Coronary, Nitric Oxide, Non adrenergic non cholinergic.

Corresponding author email:harab@ut.ac.ir

جریان خون در سیستم کرونر قلب عموماً براساس واکنش رگها به نیازهای تغذیه ای و اکسیژن موضعی عضلات قلب تنظیم می گردد. هر گونه تغییر در غلظت اکسیژن باعث آزاد شدن عوامل مؤثر بر عروق می گردد که این عوامل با اثر بر روی سلولهای عضلانی سبب تغییر جدار عروق و جریان خون می شوند. علاوه برسیستم عصبی و هورمونی عوامل مختلف دیگری که عموماً توسط بافت اندوتلیوم ترشح می شوند در کنترل جریان خون عروق از جمله عروق کرونر قلب نقش دارند. از جمله این مواد می توان به چندین پپتید مانند نوروپپتید Y، (Calcitonin Gene-Related Peptide "CGRP")،

۱) گروه آموزشی فیزیولوژی، فارماکولوژی و سم شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول harab@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

("Vasoactive Intestinal Peptide "VIP) و tackykinins و آدنوزین تری فسفات، آدنوزین دی فسفات، یونهای پتاسیم و هیدروژن، کربن دی اکساید و بعضی از پروستا گلاندین ها اشاره کرد (۴،۵،۲۱). علاوه بر عوامل فوق محققین یک سیستم عصبی غیر ادرنرژیک غیر کولینرژیک با واسطه NO یا ATP را نیز به عنوان یک عامل مهم در کنترل جریان خون عروق کرونر مطرح کرده اند (۲،۳).

نیتریک اکساید گاز ساده ای است که قبلاً به عنوان یک ماده سمی و آلوده کننده به شمار می آمد. لیکن امروزه بر اساس شواهد و مدارک گسترده و معتبر ثابت شده که این ماده در عملکرد روزمره بدن موجودات زنده از جمله پستانداران نقش مهمی ایفا می نماید. NO که از اسید آمینه ال- آرژینین و توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) ساخته می شود در بسیاری از فعالیتهای مختلف بیولوژیک از جمله کنترل فشار خون، انتقال سیتم عصبی و واکنشهای ایمنی نقش اساسی دارد (۵،۱۱،۱۲). تاکنون حداقل دو نوع مشخص از آنزیم NOS شناخته شده است، یک نوع که به صورت ذاتی ودر حالت فیزیولوژیک در بسیاری از بافتها از جمله سلول های اندوتلیوم عروق و پلاکت ها، اعصاب مرکزی و جانبی، دستگاه گوارش و غدد ترشحی یافت می شود، یک آنزیم داخل سلولی و وابسته به کلسیم و نیکوتین آمید دی نوکلئوتید فسفات است و به نام نیتریک اکساید سنتتاز ساختاری (cNOS) خوانده می شود. دومین نوع که بر اثر تحریک یا به دنبال واکنشهای ایمونولوژیک در سلولهای عضلانی، کبد، ماکروفاژها و نوتروفیل ها تولید می شود، آنزیمی است داخل سلولی و غیر وابسته به کلسیم که به نام نیتریک اکساید سنتتاز القائی(iNOS) نامیده شده است (۲،۱۲،۱۹).

نیتریک اکساید به عنوان یکی از عوامل مهم در کنترل جریان خون محسوب می گردد. این عامل از طریق سیستم Non-adrenergic non-cholinergic (NANC) باعث شل شدگی عضلات صاف جدار عروق و در نتیجه افزایش جریان خون در داخل آنها می شود. تولید NO با مکانیزم های مختلف از جمله shear stress ناشی از عبور جریان خون و اثر ترکیباتی چون استیل کولین، برادی کینین، ماده P، اکسی توسین، هیستامین، سروتونین، آلفا ۲- آگونیست ها، ATP, ADP، انژیوتانسین و پپتید وابسته به کلسیتونین بر روی اندوتلیوم و با واسطه cNOS آزاد می شود (۱۲،۱۶). نیتریک اکساید آزاد شده به داخل سلول های عضلانی نفوذ می نماید ودر آنجا با فعال کردن آنزیم گوآنیلیل سیکلاز سبب بالارفتن گوآنیدین فسفات حلقوی (cGMP) در بافت عضلانی می گردد. cGMP با فعال کردن آنزیم های پروتئین کیناز باعث توقف فعالیت فسفوریلاسیون وسپس شل شدگی عضلات صاف در جدار عروق می شود. حضور سیستمNANC با وسطه NO به عنوان عامل مهم تنظیم کننده تونوسیته عروقی، آنتی ترومبوز، ممانعت از تجمع پلاکتی و مهار اتصال لوکوسیت ها به جدار داخلی عروق، در بسیاری از بافتها و اندامهای بدن از جمله شریانهای کرونر قلب به اثبات رسیده است (۱،۱۴،۱۷). نیتریک اکساید هرچند در سیستم عمومی گردش خون به عنوان یک عامل وازودیلاتور مطرح می باشد، لیکن در خصوص عروق کرونر گزارشات مختلف و متضادی ارائه شده است. در حالی که نتایج حاصل از بعضی تحقیقات حاکی از آن است که یک سیستم NANC با واسطه NOباعث شل شدگی عروق کرونر در سگ، موش رت و خرگوش می شود (۱۸). مطالعات دیگر نشان می دهد که فعالیت این سیستم در حیواناتی چون خوکچه هندی و گربه اثرات انقباضی در جدار عروق مورد اشاره را به دنبال دارد (۱۰،۱۷). اندک مطالعاتی که بر روی عروق کرونر کوچک گوسفند انجام گردیده نتایج مبهم و متناقضی در خصوص نقش NO در این حیوان ارائه کرده است (۱۶،۱۷) لذا مطالعه حاضر در پی آن بود تا با استفاده از سیستم عضو مجزا و به صورت in vitro نحوه فعالیت این ماده را در عروق کرونر بزرگ گوسفند مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش کار

جمع آوری قلب گوسفند: حیوانات مورد استفاده که قلبهای مورد آزمایش از آنها تهیه می شد، بره های نر در سنین ۱۰-۸ ما ه بودند. در روزهای انجام آزمایش به یکی از نزدیکترین کشتارگاه مراجعه و گوسفندان مورد نظر انتخاب و به طور اختصاصی و خارج از ریل کشتارگاه ها ذبح می گردیدند. بلافاصله و در حداقل زمان ممکن بعد از بریده شدن سر (حدود ۵ دقیقه)، قلب از سینه حیوان جمع آوری و در محلول کربس قرار داده می شد و دراسرع وقت و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل می گردید.

آماده سازی حلقه های ایزوله کرونر و قرار دادن آنها در حمام بافت: پس از انتقال قلب به آزمایشگاه در حالیکه هنوز در داخل محلول کربس قرار داشت و هوای مورد نیاز به طور دائم در آن جریان داشت، قطعه ابتدایی سرخرگ کرونر چپ به طور سریع از بافتهای اطراف جدا گردید. از این قطعه چند حلقه ایزوله به طول ۳ -۲ میلیمتر تهیه می شد و حلقه هایی برای آزمایش مورد استفاده قرار می گرفتند که دارای اندوتلیوم سالم و دست نخورده بودند. حلقه آماده شده سالم در داخل حمام بافت به نحوی قرار داده می شد که یک طرف آن به وسیله یک پایه شیشه ای به قسمت پایین محفظه و طرف بالای آن توسط سیم استیل نازک به دستگاه انتقال دهنده حرکات متصل می گردید. حمام بافت با ظرفیت ۲۰ میلی لیتر حاوی محلول کربس ۳۷ درجه سانتیگراد با فرمول ۰/۲۸ گرم در لیتر $Cacl_2$، ۰/۱۴ گرم در لیتر $M_gSO_4.7H_2O$، ۰/۴ گرم در لیتر Kcl، ۶/۸۶ گرم در لیتر Nacl، ۲/۱ گرم در لیتر $NaHCO_3$، ۰/۱۴ گرم در لیتر NaH_2PO_4 و ۲ گرم در لیتر glucose بود و اکسیژن به همراه ۵ درصد گاز کربنیک دائماً در آن جریان داشت. کشش وارده به بافت در داخل حمام بافت حدود ۱ گرم بود و تغییرات ایزومتریک ناشی از انقباض یا انبساط جدار عضلانی از طریق انتقال دهنده به دستگاه فیزیوگراف منتقل و بر روی کاغذ مخصوص ثبت می شد.

انجام آزمایشات بر روی بافتهای ایزوله: مدت ۶۰-۴۵ دقیقه جهت سازگاری حلقه های متصل شده با محیط جدید در نظر گرفته می شد و سپس حرکات ایزو متریک آنها پس از مجاورت با ترکیبات مختلف مورد مطالعه قرار می گرفتند. باتوجه به ترکیبات مورد استفاده چهار گروه آزمایشی به شرح زیر تهیه گردیده بود.

گروه اول: این گروه تحت عنوان شاهد به منظور نشان دادن اثرات استیل

www.SID.ir

Archive of SID

کولین تنها، بر روی عضلات صاف عروق کرونر گوسفند مورد آزمایش قرار گرفتند. در انجام آزمایشات این گروه پس از سازگاری بافتها با محیط ایزوله و ۳ـ۲ بار شستشو، مقدار 5×10^{-5} مولار استیل کولین به محیط آزمایش اضافه شد و اثرات ناشی از آن توسط فیزیوگراف ثبت گردید.

گروه دوم: در این گروه آزمایشی بافتهای آماده شده پس از سازگاری با محیط آزمایش، با یک ماده مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز یعنی L-NAME به میزان 5×10^{-5} مولار تحت درمان قرار گرفتند.

گروه سوم: این گروه آزمایشی به منظور بررسی اثرات پیش ساز نیتریک اکساید یعنی اسید آمینه L-arg روی عروق کرونر در نظر گرفته شده بود. پس از آماده شدن بافتهای ایزوله، ابتدا میزان 5×10^{-5} مول L-arg به محیط آزمایش اضافه گردید و پس از ۱۰ دقیقه، مشابه گروه اول، بافتهای مورد آزمایش تحت اثر استیل کولین قرار گرفتند.

گروه چهارم: آزمایشات بر روی این گروه به منظور نشان دادن اثرات L-NAME و L-arg بر روی بافتهایی که تحت درمان با استیل کولین قرار داده شده بودند، انجام گردید. پس از آماده شدن سیستم بافت ایزوله، ابتدا میزان 5×10^{-5} مول L-NAME در مجاورت بافتها قرار گرفت. سپس این بافتها تحت درمان 5×10^{-5} مول استیل کولین قرار داده شدند. پس از اینکه اثرات ناشی از افزایش استیل کولین و L-NAME در روی بافتها ظاهر گردید و به حالت کفه (platue) رسید، میزان 5×10^{-5} مول از L-arg به محیط آزمایش ا ضافه شد و اثرات آن بر روی بافتهایی که قبلاً در مجاورت با داروهای فوق الذکر قرار داده شده بودند، مطالعه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: اثرات ناشی از فشار ایزومتریک بر عضله صاف جدار عروق که به دنبال انقباض یا انبساط بوجود می آمد با جابه جایی قلم فیزیوگراف ثبت می گردید. میزان جابه جایی بر روی کاغذ بر حسب میلیمتر و به صورت درصد محاسبه گردیده است. اختلاف حرکات بافتها در گروههای مورد آزمایش به روش Student t-test مقایسه گردیده است.

نتایج

نتایج حاصله حاکی از آن است که استیل کولین بر روی کرونر گوسفند ابتدا یک انقباض زودگذر و سپس انبساط طولانی مدت در عضله صاف جدار عروق ایجاد می کند. تصویر۱ آثار ثبت شده یکی از ۴ آزمایش گروه اول را نشان می دهد. همان طوری که این تصویر حاکی است، زمان انقباض در بافت عضلانی بسیار کوتاه است و سپس شل شدگی طولانی مدت و با دوام در بافت مورد آزمایش را مشاهده می شود. میانگین به دست آمده از نتایج چهار آزمایش نشان داد که شل شدگی عضلانی به میزان ۴/۶ ±۸۸/۵ درصد بوده که از نظر آماری معنی دار می باشد ($P<0/02$). نتایج آزمایشات در گروه دوم نشان داد که کاربرد L-NAME نه تنها مانع از انبساط و شل شدگی عروق بافتهای مورد آزمایش می شود، بلکه سبب افزایش و طولانی شدن مدت انقباض عضلات نیز می گردد. در تصویر۲ نمونه ای از نمودار مربوط به آزمایشات گروه دوم به نمایش گذاشته شده است. محاسبات آماری در این گروه حاکی از آن است که میانگین درصد افزایش انقباضات نسبت به گروه کنترل به میزان ۲۰/۶ ±۹۳/۴ در صد بوده که این افزایش بسیار معنی دار بوده است ($n=4,\ P<0/02$).

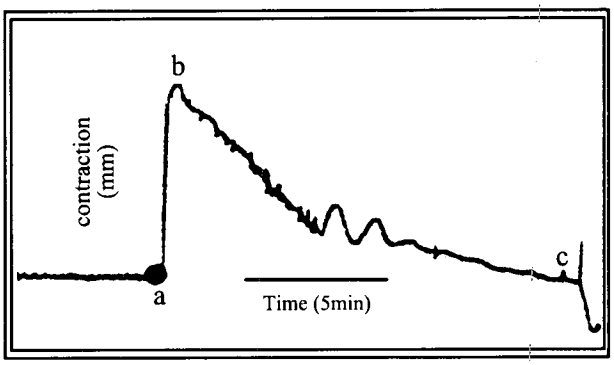
در بافتهایی که قبلاً در مجاورت L-arg قرار گرفته بودند(گروه سوم) انقباض ناشی از استیل کولین به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت. تصویر ۳ نمونه ای از کاهش قدرت انقباضی استیل کولین را پس از افزایش L-arg به محیط آزمایش نشان می دهد. مقایسه میانگین انقباض در گروه شاهد با گروهی که در مجاورت آرژینین قرار گرفته بودند حاکی از آن است که مجاورت بافتهای ایزوله با L-arg به میزان۵/۵ ±۶۰/۳ درصد و به طور معنی داری ($P<0/01$) باعث کاهش انقباض در بافتهای تحت آزمایش گردیده است. نتایج گروه چهارم که بافتهای ایزوله به طور توأمان در مجاورت L-NAME و L-arge قرار داده شده بودند، نشان داد که کاربرد اسیدآمینه ال- آرژینین به طور معنی داری ($P<0/05$) باعث کاهش انقباض در بافتهایی می شود که بر اثر استیل کولین و L-NAME ایجاد شده بود. تصویر۴ نمونه ای از آزمایشات انجام شده در این گروه را نشان می دهدکه توسط فیزیوگراف بر روی کاغذ مخصوص ثبت گردیده است. همان طوری که این تصویر نشان می دهدکاربرد L-NAME سبب انقباض مداوم و طولانی مدت در عروق ایزوله مورد آزمایش می گردد. لیکن افزایش آرژینین کاهش

جدول۱- خلاصه ای از نتایج آماری در گروههای مختلف تحت آزمایش که میانگین ± خطای استاندارد از چهار آزمایش انجام شده در هر گروه محاسبه شده است.

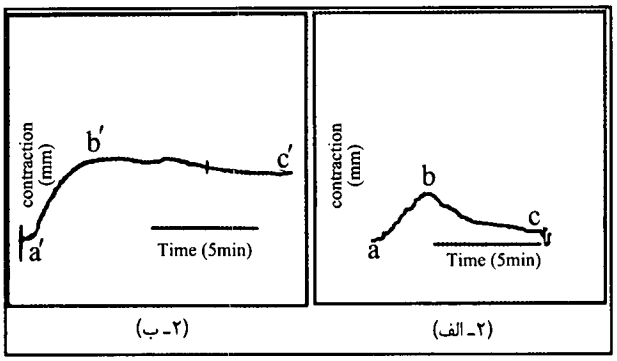
گروههای آزمایشی	نتایج		
گروه اول	میزان انقباض (میلیمتر)	میزان انبساط (میلیمتر)	درصد انبساط
	۱۳/۵ ± ۲/۶	۱۲/۱ ± ۲/۶	۸۸/۵ ± ۴/۶
گروه دوم	میزان انقباض قبل از افزایش L-NAME (میلیمتر)	میزان انقباض بعد از افزایش L-NAME (میلیمتر)	درصد افزایش انقباض
	۸/۲ ± ۰/۸	۲۲/۷ ± ۲/۸	۹۳/۴ ± ۲۰/۶
گروه سوم	میزان انقباض بدون حضور آرژنین (میلیمتر)	میزان انقباض در حضور آرژنین (میلیمتر)	درصد کاهش انقباض
	۲۶/۷ ± ۵/۷	۱/۲ ± ۳/۲	۶۰/۳ ± ۵/۵
گروه چهارم	میزان انقباض در گروه کنترل (میلیمتر)	درصد افزایش انقباض در حضور L-NAME	درصد انبساط ناشی از آرژینین
	۱۴/۷ ± ۱/۱	۶۳/۶۳۰ ± ۴/۹	۳۶/۷ ± ۷/۴

www.SID.ir

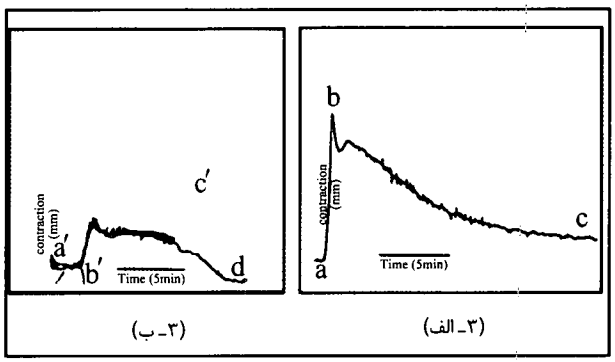
Archive of SID



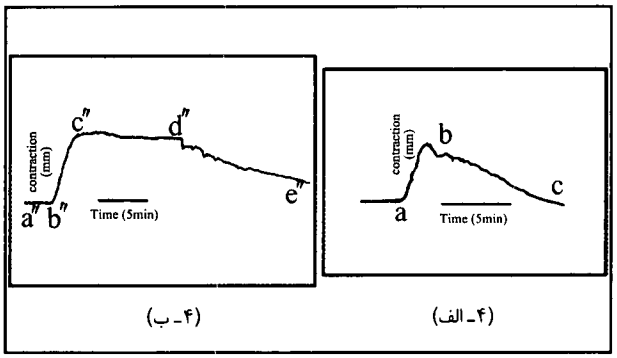
تصویر۱- نموداری از اثرات آزمایشات گروه اول به دنبال تجویز استیل کولین که بافت مورد آزمایش پس از یک انقباض گذرا دچار انبساط با دوام شده است.



تصویر۲- نمونه ای از اثرات ثبت شده آزمایشات گروه دوم: ۲- الف، قبل از افزایش L-NAME (کنترل) و ۲- ب پس از افزایش L-NAME را نشان می دهد.



تصویر۳- نمونه ای از آثار ثبت شده گروه سوم در رابطه با اثرات L-arg که ۳- الف مربوط به قبل از افزایش آرژینین و به دنبال تجویز استیل کولین می باشد و ۳- ب اثرات آرژینین بر روی انقباض ناشی از استیل کولین را نشان می دهد.



تصویر۴- نمونه ای از آثار ثبت شده در آزمایشات گروه چهارم که اثرات L-NAME و L-arg را بر روی انقباض عضلانی نشان می دهد نمودار ۴- الف مربوط به قبل از تجویز این داروها است و درنمودار ۴- ب، "b-"c-"d انقباض ایجاد شده بر اثر L-NAME و"c-"d بعد از افزایش L-arg را نشان می دهد.

انقباض را به دنبال داشته است. میانگین به دست آمده از نتایج چهار آزمایش نشان داد که افزایش انقباض ناشی از L-NAME به میزان ۴/۹±۶۳ درصد بوده و میانگین شل شدگی ناشی از افزایش L-arg در بافتهای ایزوله ۷/۴±۳۶/۷ درصد بوده است. در جدول ۱ کلیه نتایج آماری تمامی گروههای تحت آزمایش به طور خلاصه بیان شده است.

بحث

وجود سیستم غیر آدرنرژیک غیر کولینرژیک با واسطه نیتریک اکساید در بسیاری از بافتها از جمله اندوتلیوم عروق حیوانات مختلف به اثبات رسیده است. ترشح NO توسط سلول های اندوتلیال عروق و نفوذ آن به داخل عضلات صاف جدار خارجی، باعث انبساط رگها و افزایش جریان خون در عروق می گردد. تولید نیتریک اکساید به صورت in vivo و in vitro به واسطه عوامل مختلف فیزیولوژیک و ترکیباتی چون استیل کولین، برادی کینین، ماده P، ATP، اکسی توسین، هیستامین، ADP، سروتونین، آنژیوتانسین و پپتید وابسته به کلسیتونین در مطالعات مختلف نشان داده شده است (۴،۵،۲۱). از طرفی افزایش خونرسانی به قلب در مواردی چون با لا رفتن فعالیتهای بدنی و یا در حالتهای پاتولوژیک مثل ایسکمی قلبی و آترواسکلروزیس انکارناپذیر می باشد. لذا بررسی عوامل منبسط کننده عروقی که باعث افزایش جریان خون می شوند، از جمله نقش سیستم NANC با واسطه NO در عروق کرونر حیوانات مختلف به طور اختصاصی و آشکار ساختن تفاوتهای ویژه در پاسخ به یکی از عوامل محرک این سیستم یعنی استیل کولین، می تواند در درمان عوارض قلبی عروقی کمک شایانی باشد.

عروق کرونر در قلب گوسفند شامل شریانهای کرونر چپ و راست می باشند. کرونر چپ از سینوس چپ آئورت منشأ گرفته، تنه آن کوتاه و به دو شاخه چپ و پاراکونال بین بطنی تقسیم می شود. متابولیسم موضعی از جمله نیاز عضله قلب به اکسیژن عامل اصلی در کنترل جریان خون شریانهای کرونر محسوب می شود. کنترل جریان خون توسط سیستم عصبی به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم انجام می پذیرد. در حالت مستقیم این کنترل به واسطه توزیع فیبرهای عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک و ترشح میانجی های عصبی و گیرنده هایی چون α (عامل تنگ کننده) و β (عامل گشاد کننده) صورت می گیرد. لیکن در شکل غیر مستقیم به صورت افزایش فعالیتهای قلبی و فعال شدن مکانیزم های تنظیم کننده موضعی انجام می شود، که به دنبال آن مواد مختلفی ترشح می شوند که سبب تغییر جریان خون می شود. یکی از عواملی که باعث فعال شدن مکانیزم های موضعی از جمله تولید NO از اندو تلیوم عروق می شود،

www.SID.ir

Archive of SID

استیل‌کولین است. نتایج حاصل از اثر استیل کولین در عروق کرونر بعضی از حیوانات از جمله موش رت، خرگوش، سگ، گربه و خوکچه هندی حاکی از آن است که این ماده می تواند هم اثرات انقباضی و هم انبساطی را بر روی عروق ایجاد نماید (۶،۷،۸،۱۰،۱۸).

مطالعه حاضر که بر روی قسمت ابتدایی کرونر چپ گوسفند انجام گردید، نشان می دهد که هرچند استیل کولین در ابتدا باعث انقباض موقت و گذرا در عروق مورد آزمایش گردید، لیکن اثر عمده آن انبساط عضلانی می باشد که به صورت برجسته و طولانی مدت ظاهر شد. این مطالعه در چهار گروه مختلف انجام گردیده که هر گروه مکمل گروه های دیگر در جهت نشان دادن سیستم تولید نیتریک اکساید در جدار اندو تلیوم عروق بزرگ کرونر گوسفند بوده است. نتایج این مطالعه اولاً می تواند تأیید کننده گزارشات Simonsen و همکارانش باشد که اعلام کردند عروق کرونر گوسفند دارای دو نوع گیرنده های M_1 و M_3 می باشند (۱۸). ثانیاً مستنداتی دال بر حضور سیستم غیر آدرنرژیک غیر کولینرژیک را با واسطه NO در عروق کرونر گوسفند فراهم آورد. تحریک این سیستم از طریق گیرنده های M_1 موجود در اندوتلیوم جدار داخلی عروق کرونر باعث ترشح NO از سلول های اندوتلیال می شود. نیتریک اکساید تولید شده در بافت عضلانی جدار عروق نفوذ کرده وبا فعال کردن آنزیم گوآنیلیل سیکلاز موجود در بافت باعث شل شدگی و مهار انقباض عروقی ناشی از اثر استیل کولین بر روی گیرنده های موسکارینی M_3 می گردد. انقباض اولیه و زود گذر بافتهای تحت آزمایش پس از افزایش استیل کولین احتمالاً به علت تماس سر یعتر این دارو با گیرنده های M_3 موجود در بافت عضلانی می باشد. ترکیب قویتر و با ثبات ولی با کمی تأخیر استیل کولین، با گیرنده های موسکارینی موجود در جدار داخلی عروق کرونر باعث فعال شدن مسیر تولید NO می شود که منجر به شل شدگی تدریجی و فائق آمدن بر اثرات انقباضی اولیه می شود. نتایج این مطالعه به روشنی نشان داد که متوقف کردن فعالیت آنزیم NOS توسط L-NAME باعث توقف اثرات انبساطی و تداوم انقباض در بافت عضلانی می گردد.

این یافته ها با دیگرنتایج مطالعات انجام شده در بعضی از گونه های حیوانی همخوانی دارد، از جمله اینکه انفوزیون استیل کولین به داخل جریان خون عروق کرونر به صورت in vivo اثرات دو گانه ای را بر جای گذاشته است. بدین صورت که در غلظت پایین باعث انبساط عروق کرونر و در غلظت بالا انقباض عروقی را در بابون، گاو و انسان به دنبال داشته است (۶،۹،۲۰). در حالیکه این ماده در سگ انبساط عروقی (۹،۲۰) و در خوک انقباض کرونر را باعث گردیده است (۷). از طرفی در مطالعات in vitro که بافتهای عروق کرونر به صورت ایزوله و بدون دخالت جریان اکسیژن و متابولیت های تنظیم کننده جریان خون در مجاورت استیل کولین قرار گرفته بودند، اثراتی مشابه محیط in vivo از خود به نمایش گذاشتند. از جمله اینکه استیل کولین سبب شل شدگی و کاهش مقاومت عروق کرونر از قبل منقبض شده در موش رت، خرگوش و سگ گردید (۱،۱۴،۱۶)، در حالی که در خوک کاربرد استیل کولین در عروق ایزوله کرونر منجر به انقباض حساس به آترو پین شده است (۱،۱۳). تحقیقات اندکی که بر روی عروق کوچک کرونر بره انجام گردیده، گزارشات متفاوتی ارائه شده است. در مطالعه ای که Simonsen و همکارانش در سال ۱۹۹۷ بر روی عروق کوچک کرونر بره منقبض شده توسط پتاسیم انجام دادند، گزارش کرده اند که اندو تلیوم عروق در پاسخ به استیل کولین و چند عامل دیگر از جمله Ca^{2+}-ionophore باعث شل شدگی عروق تحت آزمایش از طریق فعال کردن مسیر تولید NO می گردد (۱۷). در حالی که همین گروه در گزارش دیگری ضمن اذعان به وجود سیستم NANC در عروق کرونرکوچک بره ها، شل شدگی ناشی از فعال شدن این سیستم را به علت تولید NO ندانسته اند (۱۶).

به طور خلاصه، مطالعه حاضر که بر روی قسمت ابتدایی عروق کرونربزرگ قلب چپ گوسفند به صورت in vitro و با استفاده از سیستم عضو مجزا انجام شد، حکایت از حضور سیستم غیرآدرنرژیک و غیر کولینرژیک در کرونر قلب حیوان مورد آزمایش دارد. این سیستم می تواند از طریق ترشح NO باعث تعدیل انقباض عضلانی عروق کرونر و افزایش جریان خون در گوسفند گردد.

References

1. Angus, J.A., Cock, T.M., McPherson, G.A. and Broughton, A. (1991): The acethylcholine paradox: a constrictor of human small coronary arteries even in presence of endothelium. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 18: 33-36.
2. Burnett, A.L., Lowestein, C.J., Bredt., D.S., Snyder, S.H. and Stone, R.A. (1992): Nitric oxide: A physiological mediator of penile erection. Sci. 257, 401-403.
3. Burnstock, G. (1990): Noradrenaline and ATP as co-transmitters in sympathetic nerves. Neurochem. Int., 17, 357-368.
4. Franco-Cereceda, A. (1988): Calcitonin gene-related peptide and tachykinins in relation to local sensory control of cardiac contractility and coronary vascular tone, Acta. Physiol. Scand., 133 (Suppl. 569), 1-69.
5. Gulbenkian, S., Opgaard, O.S., Ekmaan, N. R., Andrade, N.C., Wharton, J., Polak., J.M., Quiros, E., Melo, J. and Edvinson, L. (1993): Peptidergic innervations of human epicardial coronary arteries. Circ. Res. 73: 579-588.
6. Hodgson, J. and Marshall, J.J. (1989): Direct vasoconstriction and endothelium-dependent vasodilation. Mechanisms of acethylcholine effects on coronary flow and arterial diameter in patients with non-stenotic coronary arteries. Circulation, 79, 1043-1051.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Kawamura, A., Fugiwara, H., Onoderea, T., Wu, D.G., Matsuda, M., Ishida, M., Takemura, G., Fujiwara, Y. and Kawai, C. (1989): Response of large and small coronary arteries of pigs to intercoronary injection of acethylcholine: angiographic and histologic analysis. Int. J. Cardiol. 25: 289-302.
8. Kerwin, J.F., Heller, J.R. and Micheal, R.S. (1994): The arginine-nitric oxide pathway: A target for new drugs. Med. Res. Review. 14: 23-27.
9. Knight, D.R., Shen, Y.T., Young, M.A. and Vatner, S.F. (1991): Abcufykcgojgoe induced coronary vasoconstriction and vasodilatation in tranquilized baboons. Circ. Res. 69: 706-713.
10. Krassoi, I., Pataricza, I., Torday, L.L., Kun, A. and Papp, J. GY. (2000): Improvement by phosphoramidon of damaged endothelial function in porcine coronary artery. The Annals of Thoracic Surgery. 70: 878-882.
11. Moncada, S., Palmer, R. and Higgs, E.A. (1989): Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. Biochem. Pharmacol. 38: 1709-1715.
12. Moncada, S., Palmer, R. and Higgs, E.A. (1989): The biological significance of nitric oxide formation from L-arginine. Biochemical Society Transactions. 17: 6642-644.
13. Nakayama, K., Osol, G. and Halpern,W. (1988): Reactivity of isolated porcine coronary arteries to cholinergic and adrenergic drugs and transmural pressure changes. Circ. Res. 62: 741-748.
14. Nyborg, N.C.B. (1990): Action of noradrenaline on isolated rat proximal and distal coronary arteries: selective release of endothelium-derived relaxing factor in proximal arteries. Br. J. Pharmacol. 100: 552-556.
15. Radomski, M.W., Palmer, R. M. and Moncada, S. (1987): The antiaggregating properties of vascular endothelium interaction between prostacyclin and NO. British. J. Pharmacol. 22: 639-646.
16. Simonsen, U., Preito, D., Mulvany, M.J., Ehrenrooth, E., Korsgaard, N. and Nyborg, N.C.B. (1992): Effects of induced hypercholesterolemia in rabbits on functional responses of isolated large proximal and small distal coronary arteries. Arterioscl. Thromb. 12: 380-389.
17. Simonsen, U., Preito, D., Saens De Tejada, I. and Garcia-Sacristan, A. (1997): Involvemment of nitric oxide in the non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission of horse deep penile arteries: role of charybdotoxin-sensitive K+ -channels. Br. J. Pharmacol. 116: 2582-2590.
18. Simonsen, U., Prieto, D., Rivera, L., Hernands, M., Mulvany, M.J. and Garcia-Sacristan, A (1993): Heterogeneity of muscarinic receptors in lamb isolated coronary resistance arteries. J. Pharmacol. 109: 998-1007.
19. Toda, N. and Okamura, T. (1992): Regulation by nitroxidergic nerve of arterial tone. News Physiol. Sci. 7: 148-152.
20. Van Winkle, D. M. and Feigl, E.O. (1989): Acethylcholine causes coronary vasodilation in dogs and baboons. Circ. Res. 65: 1580-1593
21. Yoita, H., Sato, E., Kawaguchi, M., Saito, T., Meahara, K. and Maruyama, Y. (1994): Nonadrenergic noncholinergic nerves regulate basal coronary flow via release of capsaicin-sensitive neuropeptides in the rat heart. Circ. Res. 75: 780-788.

www.SID.ir