



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 μ l (5 μ l/min). Induction of anesthesia was performed with urethane 1.5 g/kg. Laser Doppler Flowmetry (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 (1 μ M), caused a significant increase of SBF, but effects induced by different doses of salbutamol were not significantly different. Atenolol, a selective β_1 -adrenoceptor antagonist (10 μ M), alone and with salbutamol had no significant effect on SBF. Propranolol, a non selective β -adrenoceptor antagonist (1 μ M), did not changed SBF by itself, but significantly reduced the vasodilatory effect of salbutamol. LNNA, a NO inhibitor (10 μ M) and methylen blue, a cGMP inhibitor (3 μ M), 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: β_2 -adrenoceptor; skin blood flow; Laser Doppler Flowmetry; Salbutamol; Rat.

* Corresponding author e- mail: hajizads@modares.ac.ir

Available online @: www.phypha.ir/ppj

بررسی نقش نیتریک اکسید و گوانوزین مونوفسفات حلقوی

در اثر اتساع عروقی گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک در عروق پوستی موش صحرائی

مجتبی گل محمدی، سهراب حاجی زاده*، سید محمد فقیهی، مرضیه حسینی، کامبیز روهم پور
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 نقش NO و cGMP در اثر اتساع عروقی گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک (β₂-AR) در عروق پوستی موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: داروهای مورد استفاده با حجم 10 μl و با سرعت 5 μl/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: سالیوتامول در دوزهای مختلف باعث افزایش SBF گردید ولی اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های متفاوت مشاهده نشد. آنتولول (۱۰ μM) به تنهایی و زمانی که همراه سالیوتامول (۱ μM) تزریق شد اثری روی SBF نداشت. پروپرانولول (۱ μM) هر چند به تنهایی اثری روی SBF نداشت ولی زمانی که همراه سالیوتامول تزریق می‌شد، پاسخ اتساع عروقی سالیوتامول را بطور معنی‌داری کاهش داد. L-NNA (۱ μM) و متیلن بلو (۳ μM) به ترتیب باعث ۶/۹۵٪ و ۷/۹۱٪ کاهش در SBF شدند که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. همچنین تزریق سالیوتامول 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 سالیوتامول دریافت کرده اند (۴۲/۷۳٪)، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: بررسی این نتایج نشان می‌دهد که سالیوتامول با اثر روی β₂-AR باعث اتساع عروق پوستی موش صحرائی می‌شود. NO و cGMP در مکانیسم اتساع عروقی بواسطه β₂-AR دخیل بوده و در تنظیم تون عروق پوستی مؤثر می‌باشند. به هر حال برای روشن شدن مکانیسم دقیق β₂-AR به تحقیق بیشتری نیاز است.

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

مقدمه

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, 23, 24, 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

اهمیت حیاتی جریان خون و مکانیسم‌های کنترل کننده آن بر کسی پوشیده نیست. بطور کلی عوامل تنظیم کننده جریان خون را می‌توان به دو دسته عصبی و هومورال تقسیم‌بندی کرد.

hajizads@modares.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

در این تحقیق از داروی سالبوتامول سولفات، آگونیست انتخابی گیرنده بتا ۲- آدرنژیک از شرکت Neuland- هند، آنتولول، آتاگونیست انتخابی گیرنده بتا ۱- آدرنژیک از شرکت Neuland - هند، پروپرانولول، آتاگونیست عمومی گیرنده بتا آدرنژیک از شرکت Sigma- آمریکا، (Arginine) L-NNA- Nitro-L-N 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.

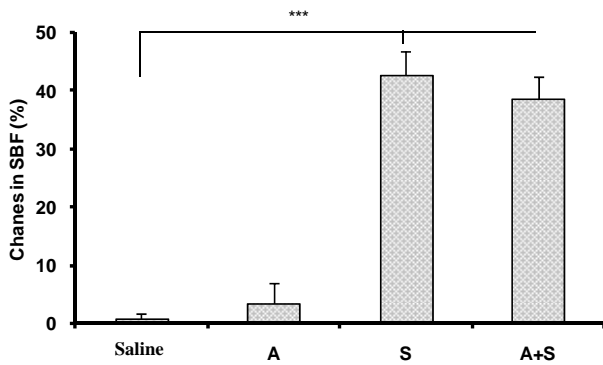
برای تزریق دارو و حلال‌ها از یک سر سوزن G ۳۰ استفاده می‌شد که توسط یک کانول به سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتری وصل شده و خود سرنگ نیز تحت کنترل پمپ تزریق قرار می‌گرفت. حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر با سرعت 5 μl/min و با زاویه حدود ۱۰-۱۵ درجه وارد پوست کف پای حیوان می‌شد. سرنگ و کانول دارو تا لحظه قبل از تزریق در 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 ۳۷ C حفظ می‌شد که با استفاده از واحد کنترل دما این کار صورت می‌گرفت و درجه حرارت محیط آزمایشگاه ۲۲-۲۰ C حفظ می‌شد.

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

آدرنژیک (β_2 -AR) باعث فعال شدن آدنیل سیکلاز به واسطه 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 صرفاً 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- آدرنژیک کم می‌شود [11,14,21]. 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- آدرنژیک به ترتیب در آئورت و شریان مزانتر موش صحرایی تضعیف می‌شود [9,10]. البته مدارک دیگری وجود دارد که نشان می‌دهد برداشتن اندوتلیوم یا مهار نیتریک اکساید سنتاز تغییری در اتساع عروقی بواسطه گیرنده بتا- آدرنژیک ایجاد نکرده است [8,19]. 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 التهاب‌زا 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 و cGMP در اتساع عروقی بواسطه گیرنده بتا-۲ آدرنژیک (β_2 -AR) در عروق پوستی موش صحرایی پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

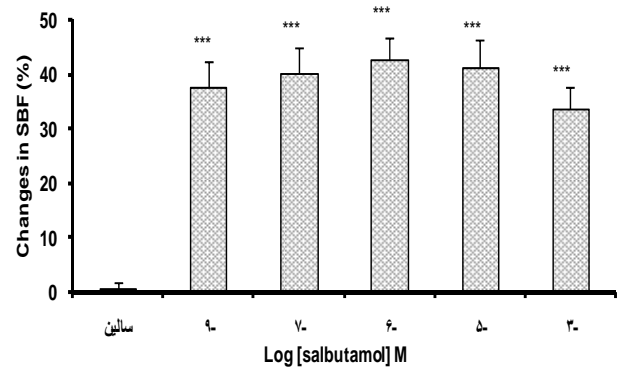
در این تحقیق از ۸۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Sprague- Dawley در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۵۰ گرم که از موسسه تحقیقاتی سرم سازی رازی تهیه می‌شدند، استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دسترسی آزاد به آب و غذا و درجه حرارت ۲۲-۲۰ C و در قفسهای جداگانه و در گروه‌های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



شکل ۲- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که آنتولول (A) (۱۰ μ M)، را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا آنتولول سپس سالبوتامول (S) (۱ μ M) به آنها تزریق شد (A+S). مقادیر به صورت Mean \pm SEM می‌باشند (n=7). ***P<0.001 نسبت به کنترل سنجیده شده است.

در ادامه تحقیق از غلظت 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 صحرائی [30,3] برای اطمینان از وجود این نوع گیرنده در پوست کف پای موش صحرائی سالبوتامول (۱ μ M) بصورت داخل جلدی تزریق شد و افزایش جریان خون مشاهده شد. زمانی که از داروی آنتولول (۱۰ μ M)، 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 (شکل ۲). ولی با تزریق پروپرانولول (۱ μ M)، آنتاگونیست عمومی گیرنده بتا [۲] و سپس تزریق سالبوتامول شاهد کاهش کاملاً معنی‌دار جریان خون پوستی نسبت به گروه سالبوتامول بودیم (P<0.001) (شکل ۳). در ضمن استفاده داروی آنتولول و یا پروپرانولول اثر معنی‌داری روی SBF موش صحرائی نسبت به گروه سالین نداشتند (شکل‌های ۲ و ۳). در این تحقیق سعی بر این شد که اثر NO را بعنوان یک فاکتور متسع‌کننده مشتق از اندوتلیوم بر تغییرات SBF بواسطه β_2 -AR در موش صحرائی مورد آزمایش قرار دهیم.

برای بررسی اثر NO از L-NNA مهارکننده NOS با غلظت ۱۰ میکرومول استفاده شد [27,29]. تزریق داخل جلدی L-NNA با غلظت (۱۰ μ M) موجب ۶/۹۵٪ کاهش SBF شد که از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد (P<0.05) و تزریق سالبوتامول (۱ μ M)، پس از تزریق L-NNA باعث ۲۴/۷٪ افزایش در جریان خون پوست می‌شد که از نظر آماری اثر معنی‌داری بر SBF نسبت به گروه کنترل

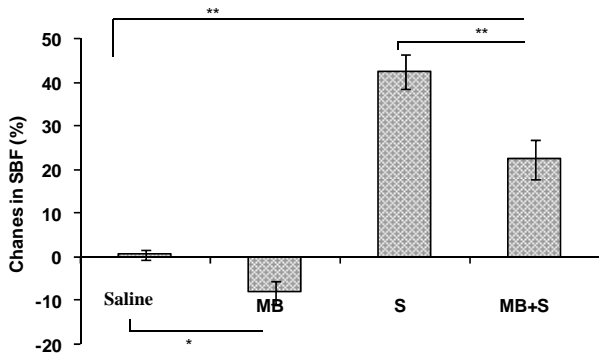


شکل ۱- اثر تزریق داخل جلدی سالبوتامول با غلظت‌های ۱۰^{-۶}، ۱۰^{-۷}، ۱۰^{-۵}، ۱۰^{-۴} و ۱۰^{-۳} مول بر SBF. مقادیر به صورت Mean \pm SEM می‌باشند (n=7). *** P<0.001 نسبت به گروه کنترل سنجیده شده است.

آزمایشی برای بررسی اثر سالبوتامول. ۳- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر آنتولول با غلظت ۱۰ میکرومول ۴- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر آنتولول 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 ۱۰ μ M. ۸- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر L-NNA و سالبوتامول. ۹- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر متیلن بلو با غلظت ۳ μ M. ۱۰- گروه‌های آزمایشی برای بررسی اثر متیلن بلو و سالبوتامول. برای مقایسه تغییرات جریان خون پوستی در هر گروه از Student'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 \pm خطای معیار (SEM \pm Mean) ارائه شده‌اند. 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^{-۶}، ۱۰^{-۷}، ۱۰^{-۵}، ۱۰^{-۴} و ۱۰^{-۳} مول سالبوتامول بصورت داخل جلدی تزریق شد. به ترتیب باعث ۴۰/۳۶، ۳۷/۷۵، ۴۲/۷۳، ۴۱/۴۱ و ۳۳/۶۲ درصد افزایش در SBF کف پای حیوان می‌شود. که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (P<0.001). بین پاسخ غلظت‌های فوق اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۱).

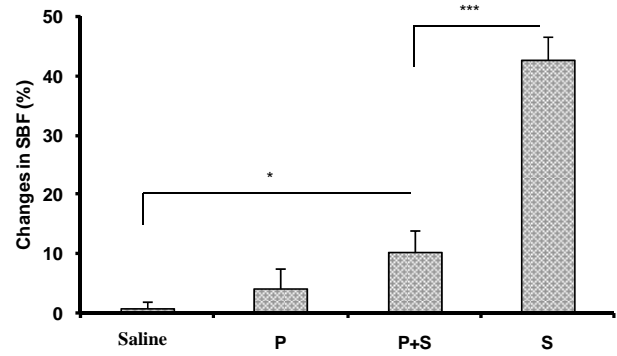


شکل ۵- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که متیلن بلو (۳μM) (MB) را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا متیلن بلو سپس سالبوتامول (۱μM) (S) به آنها تزریق شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM می باشند (n=۶). *P<0.05 نسبت به کنترل و **P<0.01 نسبت به کنترل و سالبوتامول سنجیده شده است.

این گروه با گروهی از حیوانات که فقط سالبوتامول (۱μM) دریافت کرده اند، اختلاف معنی داری بین درصد افزایش خون ایجاد شده توسط سالبوتامول در دو گروه نشان می دهد (P<0.01) (شکل ۵). 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 β₂-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 غلظت های بالاتر از یک میکرومولار پاسخ اتساع عروقی و یا افزایش جریان خون کمتری مشاهده شده است. که احتمالاً بدلیل اثر سالبوتامول روی سایر گیرنده های آدرنرژیک از جمله گیرنده آلفا- آدرنرژیک می باشد. همچنین مشخص شد که گیرنده بتا - ۲ آدرنرژیک در پوست کف پای موش صحرایی وجود دارد و سالبوتامول با اثر روی گیرنده فوق باعث افزایش جریان خون می شود. نتایج فوق با نتایج دیگر محققان همگون می باشد

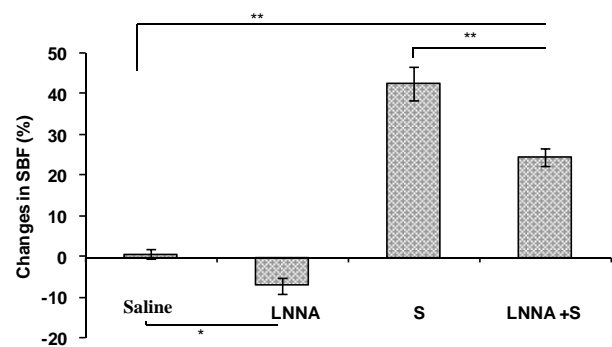


شکل ۳- مقایسه تغییرات SBF در گروهی که پروپرانولول (P) (۱μM)، را به تنهایی دریافت کردند با گروهی که ابتدا پروپرانولول سپس سالبوتامول (S) (۱μM) (P+S) به آنها تزریق شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM می باشند (n=۷) *P<0.05 نسبت به گروه کنترل و ***P<0.001 نسبت به گروه سالبوتامول سنجیده شده است.

دارد (P<0.01). همچنین مقایسه نتایج حاصل از این گروه با گروهی از حیوانات که فقط سالبوتامول (۱μM) دریافت کرده اند، اختلاف معنی داری بین درصد افزایش خون ایجاد شده توسط سالبوتامول در دو گروه نشان می دهد (P<0.01) (شکل ۴).

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 معنی دار می باشد (P<0.01) و تزریق سالبوتامول (۱μM)، پس از تزریق متیلن بلو باعث ۲۲/۵۷٪ افزایش در SBF می شود که از نظر آماری اثر معنی داری بر SBF نسبت به گروه کنترل دارد (P<0.01). همچنین مقایسه نتایج حاصل از



شکل ۴- 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 می باشند (n=۶). *P<0.05 نسبت به کنترل و **P<0.01 نسبت به کنترل و سالبوتامول سنجیده شده است.

[30,3,1]

فعال می‌کند و باعث خروج پتاسیم و استراحت سلول عضله صاف می‌شود [34]. بنا براین با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان پیشنهاد نمود که NO در اتساع عروق پوستی بواسطه سالبوتامول شرکت می‌کند.

در این تحقیق بدنبال تزریق متیلن بلو و مهار cGMP جریان خون پوستی نسبت به گروه سالیین کاهش معنی‌داری پیدا کرد (شکل ۵). عمده‌ترین محرک تولید اندوژن cGMP در عضله صاف، NO می‌باشد [20] و به دنبال افزایش cGMP فعالیت پروتئین کیناز G افزایش می‌یابد و این آنزیم با فسفریله کردن مولکول‌های مختلف باعث انبساط عروق می‌شود [35]. برخی نیز معتقدند که PKG با فعال کردن آدنیل سیکلاز و افزایش cAMP در عضله صاف موجب انبساط عروق می‌شود [12]. و برخی دیگر بر این باورند که cGMP با کاهش غلظت کلسیم داخل سلولی باعث انبساط عضله صاف می‌شود [37]. حال انتظار نیز می‌رود که با حذف cGMP تون عروقی افزایش یافته و میزان جریان خون کاهش یابد. لذا از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که مانند NO، cGMP نیز در تنظیم تون عروق پوستی موش صحرایی بی‌هوش موثر می‌باشد.

با حذف cGMP اثر اتساع عروقی سالبوتامول بطور معنی‌داری کم گردید (شکل ۵). نتیجه این آزمایش با آزمایش‌هایی که دیگر محققین روی شرائین و وریدها در حیوانات مختلف انجام دادند کاملاً همسو می‌باشد [5, 11]. مطالعات نشان داده است که برداشتن اندوتلیوم آئورت موش صحرایی نه تنها باعث کاهش cGMP پایه شده بلکه مقدار cGMP که به دنبال تزریق ایزوپرنالین افزایش می‌یافت نیز کم می‌شود که دلیلی بر تولید وابسته به اندوتلیوم cGMP می‌باشد [24, 31]. البته محتوی cGMP بدون دخالت اندوتلیوم نیز می‌تواند افزایش یابد از آنجائیکه cAMP اثر مهاری روی فسفودی استراز III دارد، با افزایش cAMP به دنبال تحریک گیرنده بتا ۲-آدرنرژیک از تجزیه cGMP جلوگیری می‌شود. لذا میزان cGMP افزایش می‌یابد و همچنین cAMP قادر است با تحریک NOS و تولید NO میزان cGMP را افزایش دهد [5, 39]. بنا براین از نتایج این آزمایش و مواردی که در این قسمت بحث ذکر شد می‌توان پیشنهاد نمود که cGMP در اتساع عروق پوستی موش صحرایی بواسطه گیرنده بتا ۲-آدرنرژیک شرکت می‌کند. لازم است به این نکته اشاره شود که

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد NO به عنوان یک متسع کننده عروقی اندوژن نقش مهمی در تنظیم تون عروقی دارد [6, 19]. نتایج تحقیق ما نشان می‌دهد که با تزریق داخل جلدی L-NNA جریان خون نسبت به گروه سالیین کاهش معنی‌داری پیدا کرده است (شکل ۴). که دلیلی بر وجود NO درون زاد می‌باشد و با نتایج تحقیقات دیگری که در پوست موش صحرایی صورت گرفته است [14, 18, 28]، همگون بوده و بیان کننده نقش NO در تنظیم تون عروق پوستی موش صحرایی بی‌هوش می‌باشد. علت کاهش جریان خون پوستی به دنبال تزریق L-NNA بطور مستقیم مربوط به مهار تولید NO سپس کاهش میزان cGMP می‌باشد. همچنین از آنجائیکه NO بعنوان تسهیل کننده رهایش CGRP محسوب می‌شود [13, 14]، می‌توان استنباط نمود که با حذف NO، عامل اتساع 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 برداشته، رهایش نوراپی نفرین بیشتر می‌شود و تون عروقی افزایش می‌یابد [6, 33]. در ادامه مشخص شد که با مهار NO اثر اتساع عروقی سالبوتامول بطور معنی‌داری کم می‌شود (شکل ۴). مشاهداتی که در آئورت موش صحرایی و شریان کرونر سگ صورت گرفته است NO را در اتساع عروقی بواسطه گیرنده بتا-۲ مرتبط دانسته‌اند [7, 16, 19]. مواردی نیز گزارش شده است که نشان دهنده عدم دخالت NO در پاسخ عروقی β_2 -AR می‌باشد [19, 22]، که نتایج تحقیق ما با آنها همسو نمی‌باشد. Yao و همکاران به این نتیجه رسیدند که گیرنده بتا-آدرنرژیک از طریق افزایش فسفریلاسیون سرین فعالیت NOS اندوتلیالی را زیاد می‌کند [38]. نتایج برخی محققین نشان می‌دهد که به دنبال تحریک β_2 -AR و افزایش cAMP، NOS فعال شده و با تولید NO باعث اتساع عروق می‌شود [26, 31, 39] Gray و همکاران نیز معتقدند که فورسکولین باعث افزایش NO و cGMP شده و با L-NNA و یا برداشتن اندوتلیوم، اثر اتساع عروقی فورسکولین تضعیف می‌شود [11, 27]. برخی مطالعات دیگر نیز معتقدند β_2 -AR با فعال کردن مسیر سیگنالینگ PI₂P در سلولهای اندوتلیالی باعث رهایش NO می‌شود [15]. همچنین NO بطور مستقیم کانال‌های K_{Ca} را در عضله صاف عروق

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.

هیچکدام از داروهای مورد استفاده در این تحقیق اثر معنی‌داری روی تعداد ضربان قلب و درصد 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-

References

- [1] Abedini Gholam Reza, Hajizadeh Sohrab, Fathollahi Yaghoob. *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 vasodilator 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, Chowienzyk PJ, Ritter JM, Effect of inhibition of the L- arginin/nitric oxide pathway on vasodilation 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 Isoprenaline- 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 kinase 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 human umbilical 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 transduction 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 inflammation 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 Pharmacol* 260 (1994) 89-93.
- [14] Holzer P, Jovic M, Cutaneous vasodilation induced 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, Phosphatidylinositol 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 Zyppe 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, Endothelial nitric oxide synthase control mechanisms in the cutaneous vasculature 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] Menecier P, Simonet S, Vereuren TJ, Effect of vasodilators, including nitric 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 Natl Acad Sci USA* 88 (1991) 2166-2170.
- [23] Nakashima M, Vanhoutte PM, Isoproterenol causes hyperpolarization through opening of ATP-sensitive potassium 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-adrenoceptor-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 Cardiovasc 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, Grossmann 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, Involvement 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- adrenoceptor stimulation on endothelial nitric oxide synthase phosphorylation 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.