

# بررسی اثر آگونیستهای گیرنده‌های دوپامینی بر انقباض عضله طولی ایلئوم مجزای خوکچه هندی و رابطه آن با نیتریک اکساید

دکتر منصور کشاورز، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دکتر سیدمرتضی کریمیان، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دکتر احمدرضا دهبور، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دکتر محسن پرویز، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

## The Effect of Dopamine Receptor Agonists on Twitch Response of Guinea-pig Ileum Longitudinal Muscle and Its Relation to Nitric Oxide ABSTRACT

In this study the effects of bromocriptine and apomorphine (dopamine receptor agonists) on electrical field induced twitch response of longitudinal muscle of guinea-pig ileum was investigated. Bromocriptine and apomorphine dose dependently inhibited ileal contraction. IC<sub>50</sub> for this inhibitory effects were  $6.22 \pm 0.645 \times 10^{-7} M$  and  $5.48 \pm 0.647 \times 10^{-6} M$ , respectively. Sulpiride (a specific D<sub>2</sub> dopamine receptor antagonist) with concentration of  $10^{-5} M$  inhibited the effects of these agonists. Yohimbine (an  $\alpha_2$  adrenergic receptor antagonist) only blocked the inhibitory effect of bromocriptine but failed to block apomorphine inhibitory effects. L-NAME (nitric oxide synthetase inhibitor) with concentration of  $10^{-3} M$  blocked the effects of bromocriptine and apomorphine.

These data suggest that there is inhibitory presynaptic dopamine receptors in cholinergic terminals of guinea - pig ileum and its function is related to formation of nitric oxide.

**Key Words:** Dopamine receptors; Nitric Oxide; Ileum; Guinea-pig;

## چکیده

نیتریک اکساید سنتاز) با غلظت  $10^{-3}$  مولار، موجب وقفه در اثر مهاری بروموکریپتین و آپومورفین شد. این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که در پایانه‌های کولینرژیک ایلئوم خوکچه هندی، گیرنده مهاری پیش‌سیناپسی دوپامینی وجود دارد و عملکرد آن به نیتریک اکساید وابسته است.

کلمات کلیدی: گیرنده دوپامین؛ نیتریک اکساید؛ ایلئوم؛ خوکچه هندی

## مقدمه

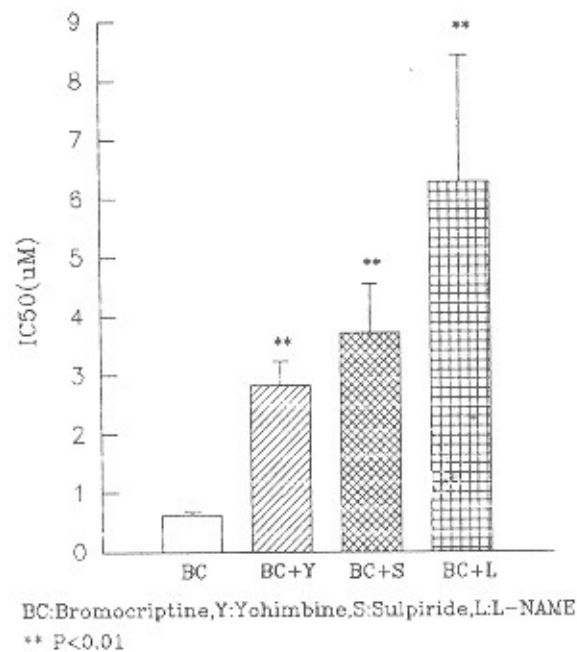
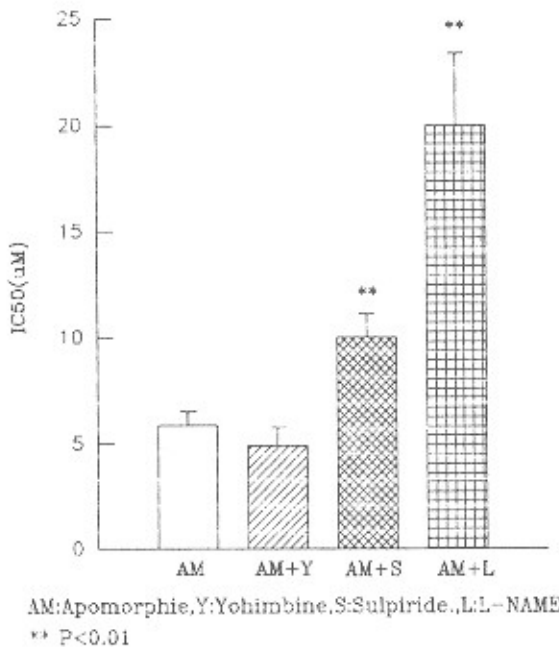
مطالعات بسیاری مؤید مهار پیش‌سیناپسی ره‌ایش

اثر بروموکریپتین و آپومورفین (آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامین) بر انقباض ناشی از تحریک با میدان الکتریکی عضله طولی ایلئوم مجزای خوکچه هندی مورد بررسی قرار گرفت. بروموکریپتین و آپومورفین به صورت وابسته به غلظت، انقباض را مهار کردند. IC<sub>50</sub> برای این اثر مهاری به ترتیب  $6.22 \pm 0.645 \times 10^{-7}$  و  $5.48 \pm 0.647 \times 10^{-6}$  مولار بود. سولپیرید (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های دوپامینی D<sub>2</sub>) با غلظت  $10^{-5}$  مولار اثر مهاری این دو دارو را وقفه داد ولی یوهیمبین (آنتاگونیست گیرنده‌های آدرنرژیک  $\alpha_2$ ) با غلظت  $10^{-6}$  مولار، فقط اثر مهاری بروموکریپتین را وقفه داد و تأثیری بر اثر مهاری آپومورفین نداشت. L-NAME (مهار کننده آنزیم



نمودار ۱- IC50 برای اثر مهاري بروموکریپتین (BC) بر انقباض ایلئوم: مشاهده می‌شود که IC50 در حضور یوهیمبین (BC+Y)، سولپیراید (BC+S) و L-NAME (BC+L) افزایش معنی‌داری (P < ۰/۰۱) نشان می‌دهد.

نمودار ۲- IC50 برای اثر مهاري بروموکریپتین (AM) بر انقباض ایلئوم: مشاهده می‌شود که IC50 در حضور سولپیراید (AM+S) و L-NAME (AM+L) افزایش معنی‌داری (P < ۰/۰۱) نشان می‌دهد.



بروموکریپتین و آپومورفین، باعث مهار اثر این دو دارو شده، منحنی دوز- پاسخ آنها را به طرف راست و پایین منحرف کرد. IC50 بروموکریپتین در حضور سولپیراید به طور معنی‌داری (P < ۰/۰۱) افزایش یافته و به  $3/7 \pm 0/842 \times 10^{-6}$  مولار می‌رسد. همین وضعیت در مورد آپومورفین نیز اتفاق افتاده و IC50 آپومورفین در حضور سولپیراید به  $1 \pm 0/11 \times 10^{-5}$  مولار می‌رسد که نسبت به آپومورفین به تنهایی دارای اختلاف معنی‌دار (P < ۰/۰۱) است.

**اثر یوهیمبین بر مهار ناشی از بروموکریپتین و آپومورفین:** یوهیمبین (آنتاگونیست گیرنده آدرنژیک  $\alpha 2$  پیش‌سیناپسی) با غلظت  $10^{-6}$  مولار تأثیری بر اثر مهاري آپومورفین نداشت، اما اثر مهاري بروموکریپتین را مهار کرد، به طوری که IC50 بروموکریپتین در حضور یوهیمبین به  $2/412 \pm 0/82 \times 10^{-6}$  مولار رسید که افزایش معنی‌داری (P < ۰/۰۱) را نسبت به بروموکریپتین تنها نشان می‌دهد.

**اثر L-NAME بر مهار ناشی از بروموکریپتین و آپومورفین:** تجویز  $10^{-3}$  M از داروی L-NAME (مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز) قبل از این آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامین، باعث مهار اثر آنها می‌شود. L-NAME منحنی دوز- پاسخ بروموکریپتین و آپومورفین را به طرف راست و پایین منحرف کرد و IC50 بروموکریپتین ( $6/27 \pm 0/214 \times 10^{-6}$  M) و آپومورفین ( $2 \pm 0/336 \times 10^{-5}$  M)، افزایش معنی‌داری (P < ۰/۰۱) نسبت به هر یک از این دو دارو به تنهایی نشان می‌دهد.

برای مشخص کردن اینکه اثر مهاري بروموکریپتین و آپومورفین پیش‌سیناپسی است، در یک سری از آزمایشات بدون استفاده از تحریک الکتریکی، با تجویز استیل‌کولین، انقباض ایجاد کردیم و اثر این دو دارو را روی آن مورد بررسی قرار دادیم. غلظت  $10^{-6}$  M استیل‌کولین را (که انقباضی حدود ۸۰-۷۰ درصد انقباض حداکثر ایجاد می‌کرد) انتخاب کردیم. اضافه نمودن بروموکریپتین ( $10^{-6}$  M) و آپومورفین ( $10^{-5}$  M) قبل از استیل‌کولین، تأثیری بر انقباض ناشی از آن نداشت.

## بحث

مطالعات متعددی اثر دوپامین و آگونیستهای گیرنده‌های دوپامین را بر قسمت‌های مختلف لوله گوارش سنجیده و اثرات مهاري آنها را روی حرکات لوله گوارش نشان داده‌اند (۱، ۲، ۱۱، ۱۳، ۱۶). در اکثر این مطالعات مشخص شده که این اثر مهاري از طریق مهار پیش‌سیناپسی ره‌ایش استیل‌کولین از پایانه‌های کولینرژیک صورت می‌گیرد (۲، ۱۰، ۱۳). اما در مورد اینکه این اثر مهاري از طریق چه گیرنده‌ای اعمال می‌شود، بین محققین اختلاف نظر وجود دارد (۱۶). با توجه به اینکه این اثرات مهاري به وسیله آنتاگونیستهای گیرنده دوپامینی مهار می‌شوند، گروهی معتقدند که در غشای پیش‌سیناپسی، گیرنده دوپامینی حضور دارد و تحریک آن باعث مهار ره‌ایش استیل‌کولین از پایانه عصبی و در نتیجه مهار انقباض می‌شود (۲، ۱۰، ۱۳). گروه مقابل با بیان این نکته که بیشتر آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های دوپامینی که

با دوپامین را در سیستم عصبی مرکزی مطرح کرده‌اند (۱۲،۱۰،۷،۳،۲،۱). در سیستم عصبی محیطی نیز، نیتریک اکساید و دوپامین به عنوان میانجی عصبی مطرح شده‌اند و مطالعات مختلف، نقشهایی را برای آنها در سیستم عصبی محیطی و بویژه در سیستم عصبی روده (Enteric Nervous System) مطرح نموده‌اند (۱۱،۹،۸،۶،۵،۴). با توجه به شباهتی که بین عملکرد این دو ماده بر رهایش استیل کولین از پایانه‌های کولینرژیک روده وجود دارد و هر دو باعث مهار پیش‌سیناپسی رهایش استیل کولین می‌شوند، چنین به نظر می‌رسد که در سیستم عصبی محیطی نیز همانند سیستم عصبی مرکزی، عملکرد این دو ماده با یکدیگر ارتباط داشته باشد. برای یافتن این رابطه، در این تحقیق از L-NAME (که یک مهار کننده تولید نیتریک اکساید است) استفاده شد. مشاهده شد که L-NAME اثر مهاری بـرومـوکریپتین و آپومورفین را بلوک کرد. از این مشاهده می‌توان نتیجه گرفت که تحریک گیرنده دوپامینی احتمالاً با واسطه نیتریک اکساید، اثر مهاری خود را اعمال می‌کند. مطالعاتی که مهار پیش‌سیناپسی نیتریک اکساید روی انتقال کولینرژیک را مطرح کرده‌اند، مؤید نتیجه‌گیری فوق است (۱۴،۵).

به طور خلاصه این مطالعه نشان داد که در پایانه‌های کولینرژیک ایلئوم کوچک هندی، گیرنده‌های پیش‌سیناپسی دوپامینی وجود دارند و این گیرنده‌ها احتمالاً با واسطه نیتریک اکساید باعث مهار انقباض ناشی از تحریک الکتریکی می‌شوند.

در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفته‌اند به طور غیراختصاصی عمل می‌کنند، اثرات مهاری دوپامین و آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی را به تداخل یا گیرنده آدرنرژیک پیش‌سیناپسی نسبت می‌دهند (۱۶).

در این مطالعه بروموکریپتین و آپومورفین (آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی)، انقباض ناشی از تحریک الکتریکی را مهار کردند، ولی بر انقباض ناشی از تجویز استیل کولین تأثیری نداشتند. بنابراین، داروهای فوق به صورت پیش‌سیناپسی عمل کرده، رهایش استیل کولین از پایانه عصبی در اثر تحریک الکتریکی را مهار می‌کنند (۱۳،۱۰،۲).

سولپیراید که یک آنتاگونیست اختصاصی گیرنده دوپامینی D2 می‌باشد، مهار ناشی از دو داروی فوق را بلوک کرد، در حالی که یوهیمین که یک آنتاگونیست ترجیحی گیرنده آدرنرژیک  $\alpha_2$  است، فقط اثر بروموکریپتین را بلوک کرد و روی اثر مهاری آپومورفین تأثیری نداشت. بر اساس این مشاهدات می‌توان چنین نتیجه گرفت که در غشای پیش‌سیناپسی پایانه عصبی کولینرژیک شبکه میانرژیک ایلئوم کوچک هندی، هم گیرنده‌های دوپامینی D2 و هم آدرنرژیک  $\alpha_2$  وجود دارند. بروموکریپتین با هر دو گیرنده واکنش نشان داده و اثر مهاری خود را اعمال می‌کند، ولی اثر مهاری آپومورفین از طریق گیرنده دوپامینی D2 اعمال می‌شود. به این ترتیب در این مطالعه وجود گیرنده دوپامینی پیش‌سیناپسی تأیید شد.

از سوی دیگر، مطالعات متعددی اثرات متقابل نیتریک اکساید

## منابع

- Calignano A, Persico P., Mancuso F., Sorrentino L. Endogenous nitric oxide modulates morphine - induced changes in locomotion and food intake in mice. *Eur.J. Pharmacol.* 1993. 231(3): 415-419.
- Das M., Chauhan S.P.S., Ganguly D.K. Possible existence of dopaminergic receptors on cholinergic nerve terminals in guinea-pig auerbach's plexus. *Life Sciences.* 1991. 48: 1395-1399.
- Drew G.M., Hilditch A. Prejunctional dopamine receptors modulate twitch responses to parasympathetic nerve stimulation in the rabbit isolated rectococcygeus muscle. *Br. J.Pharmac.* 1984. 83: 871-881.
- Holzer P., Lippe I. Th., Tarizi A.L., LenardL., Bartho L. Dual excitatory and inhibitory effect of nitric oxide on persistalsis in the guinea-pig intestine. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 1997. 280: 154-161.
- Hryhorenko L.M., Woskowaska Z., Fox-Threlkeld J.A. Nitric oxide (NO) inhibits release of acetylcholine from nerves of isolated circular muscle of the canine ileum: relationship to motility and release of nitric oxide. *J.Pharmacol. Exp. The.* 1994. 271(2): 918-926.
- Kim H.S., Park W.K. Nitric Oxide mediation of cocaine - induced dopaminergic behaviors: ambulation-accelerating activity, reverse tolerance and conditioned place preference in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 1995. 275(2): 551-557.
- LI Y.F., weisbrodt N.W., Lodato R.F., Moody F.G. Nitric oxide is involved in muscle relaxation but not in changes in short circuit current in rat ileum. *Am.J. Physiol.* 1994. 266(4Pt 1): G554-559.
- Lin A.M., Kao I.S., Chai C.Y. Involvement of nitric oxide in dopaminergic transmission in rat striatum: an in vivo electrochemical study. *J. Neurochem.* 1995. 65(5): 2043-2049.
- Liu Y. nitric oxide influences dopaminergic processes. *Adv. neuroimmunol.* 1996. 6(3): 259-64.
- Samini M., Dehpour A.R., Yousefnejad S. The effects of dopaminergic and adrenergic drugs on twitch response of guinea-pig common bile duct. *Gen. Pharm.* 1997. 29(3): 469-471.
- Seno N., Nakazato Y., Ohga A., Presynaptic inhibitory effects of catecholamines on cholinergic transmission in the smooth muscle of the chick stomach. *Eur. J. Pharmacol.* 1978. 51: 229-237.
- Suzuki N., Mizuno K., Gomi Y. Role od nitric oxide in the persistalsis in the isolated guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.* 1994 251(2-3): 221-227.
- Tayo F.M. Prejunctional inhibitory  $\alpha$ - adrenoceptors and the guinea-pig dopaminoceptors of the rat vas deferens and the guinea-pig

- ileum in-vitro. *Eur. J.Pharmacol.* 1979. 58: 189-195.
- 14- Wiklund C.U., Olgart C., Wiklund N.P., Gustafsson L.E. Modulation of cholinergic and substance P-like neurotransmission by nitric oxide in the guinea pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 1993. 110(2): 833-839.
- 15- Wiklund C.U., Wiklund N.P., Gustafsson L.E. Modulation of neuroeffector transmission by endogenous nitric oxide: a role for acetylcholine receptor - activated nitric oxide formations, as indicated by measurements of nitric oxide/nitric release. *Eur. J. Pharmacol.* 1993. 240(2-3): 235-242.
- 16- Willems J.L., Buylaert W.A., Lefebvre R.A., Bogart M.G. Neuronal dopamine receptors on autonomic ganglia sympathetic nerves and dopamine receptors in the gastrointestinal system. *Pharmacol. Rev.* 1985. 37(2): 165-216.
- 17- Young H.M., McConalogue K., Funes J. B., De-Vente J. Nitric Oxide (NO) inhibits release of acetylcholine from nerves of isolated circular muscle of the canine ileum: relationship to motility and release of nitric oxide. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 1994 271(2): 918-926.