

## اثرات کربنوکسولون بعنوان مهارکننده کانال‌های gap junction بر پاسخ‌های انقباضی عضلات صاف احشایی

- دکتر مرجان نصیری اصل
- ♦ دکتر زهرا فاتحی
- \* دکتر محمد فاتحی

در این پژوهش، اثرات کربنوکسولون بعنوان مهارکننده کانال‌های gap junction بر پاسخ‌های انقباضی وازودفران و کولون جدا شده از رت و ایلئوم جدا شده از خوکیچه هندی مورد مطالعه قرار گرفت. هدف اصلی این مطالعه، مشخص نمودن نقش احتمالی کانال‌های gap junction در عملکرد عضله صاف بود. کربنوکسولون ( $200-0/1 \mu\text{M}$ ) پاسخ‌های انقباضی وازودفران و کولون جدا شده از رت را به تحریکات مختلف به صورت وابسته به غلظت کاهش داد. همچنین کربنوکسولون میزان انقباضات و فرکانس فعالیت مکانیکی خودبخودی کولون جدا شده رت را کاهش داد. اثر مهارتی مشابهی از کربنوکسولون ( $200-0/1 \mu\text{M}$ ) بر پاسخ‌های انقباضی ایلئوم جدا شده از خوکیچه هندی به تحریک الکتریکی، استیل کولین و پتاسیم کلراید مشاهده گردید. در حضور کربنوکسولون ( $10 \mu\text{M}$ )، پاسخ‌های انقباضی به L-NAME در کولون جدا شده از رت و ایلئوم جدا شده از خوکیچه هندی به ترتیب در حدود ۶۵ درصد و ۸۰ درصد کاهش یافت. با توجه به نتایج این مطالعه، نقش حیاتی ارتباطات میان سلولی از طریق کانال‌های gap junction در تنظیم تونوسیت عضلات صاف وازودفران و کولون رت و ایلئوم خوکیچه هندی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کربنوکسولون؛ Gap Junctions؛ وازودفران؛ عضله صاف احشایی؛ انقباض.

- استادیار فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
- ♦ استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
- \* دانشیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

## مقدمه

تغییرات بیوشیمیایی یا الکتریکی در یک سلول و سلول‌های مجاور، از طریق ارتباطات بین سلولی، مبادله می‌گردد (۱). امروزه باور بر این است که کانال‌های **gap junction** در مناطق نزدیک به سطح دو غشاء سلولی و در مقابل یکدیگر، به شکل کانال‌های بین سلولی مناطق داخلی سلول‌ها را به یکدیگر متصل می‌کنند (۲).

پاسخ‌های انقباضی عضله صاف پستانداران ممکن است به گسترش تحریک از طریق کانال‌های **gap junction** بستگی داشته باشد. بعنوان مثال، در انقباض نوروزنیک ایجاد شده در وازودفران خوکیه هندی، تنها قسمت کوچکی از سلول‌ها مستقیماً تحت تأثیر آزاد شدن نوروترانسمیتر از اعصاب حرکتی سمپاتیک قرار می‌گیرند که به دو دلیل می‌باشد: (۱) تنها حدود یک پنجم سلول‌ها در تماس نزدیک با واریکوزهای آکسونی (۳) عصب‌گیری می‌شوند. (۲) واریکوزها در پاسخ به هر تحریک که بواسطه پتانسیل عمل اکسونی اعمال می‌گردد، ترانسمیتر آزاد نمی‌کنند چون احتمال تحریک رهایش ترانسمیتر فقط حدود ۰/۰۱ است (۴). بنابراین گسترش تحریک از تعداد کمی از سلول‌هایی که مستقیماً فعال شده‌اند، مستلزم دخالت کانال‌های **gap junction** است (۵).

چنین به نظر می‌آید که شبکه سلول‌های بینایی **ICC** Cajal که از طریق کانال‌های **gap junction** به یکدیگر متصل هستند، نقش مهمی را در تنظیم حرکات روده ایفا می‌کنند (۶).

**ICC** واقع بین نرون‌های داخل عضلات و سلول‌های عضلانی صاف به عنوان یک سیستم پیس میکر گاستروانتریک، امواج آهسته الکتریکی را تولید می‌کند. اعتقاد بر این است که وجود کانال‌های **gap junction** برای عملکرد **ICC** ضروری است. این کانال‌ها عبور مولکول‌های یونی کوچک را از میان سلول‌ها ممکن می‌سازند و آنها را قادر می‌سازند تا بعنوان یک حساسه (سن سیٹوم) الکتریکی عمل کنند (۷). این ویژگی اجازه می‌دهد که شبکه **ICC** جریان‌های الکتریکی را در طول مسافت‌های طولانی با خود برده و سیگنال‌ها را به سلول‌های عضلانی انتقال دهد. با این وجود اطلاعات اندکی در مورد نقش دقیق کانال‌های **gap junction** در برقراری ارتباط بین سلولی در عضلات روده وجود دارد. بنابراین مقایسه دخالت این کانال‌ها در پاسخ‌های انقباضی وازودفران، کولون جدا شده رت و ایلئوم خوکیه هندی نسبت به تحریکات مختلف، هدف اصلی این پژوهش بود. برای دستیابی به میزان دخالت این کانال‌ها در تولید این پاسخ‌ها، از کربنوکسولون (استرسوکسینیل از گلیسریتینیک اسید) (۸) استفاده گردید که بعنوان مهار کننده کانال‌های **gap junction** مطرح است (۹).

رفلکس پرستالتیک روده‌ای که توسط نرون‌های حرکتی مهاری غیر آدرنژیک - غیر پورینژیک (**NANC**) تنظیم می‌گردد، قسمت مهاری پایین رونده را کنترل می‌کند (۱۰) و نیتریک اکساید بعنوان مهم‌ترین مدیاتور نرون‌های **NANC** مطرح شده است (۱۱). از آنجا که تا به امروز، ارتباط میان کانال‌های **gap junction** و سیستم نیتریک ناشناخته مانده است، در این جا تداخل احتمالی این مدیاتور و کانال‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

## روش پژوهش

مطالعه بر روی رت‌های نژاد ویستار (در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم) و خوکیه‌های هندی (در محدوده وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم) که از انستیتو رازی مشهد تهیه شده بودند، صورت گرفت. رت‌ها با سدیم تیوپتال ( $60\text{mg/kg, i.p}$ ) بیهوش شدند. وازودفران جدا گردید و نوارهایی به طول تقریبی ۱۵ میلی‌متر تهیه گردید. نوارها به صورت عمودی در حمام بافتی ۵۰ میلی‌لیتری برای ثبت ایزومتریک فعالیت مکانیکی قرار داده شدند. کشش اولیه ۰/۵ گرم برای نوارها به کار گرفته شد؛ محلول کربس هر ۱۵ دقیقه تعویض می‌گردید که شامل ترکیبات (برحسب mM) زیر بود:

۱۱۸/۴ NaCl، ۴/۷ KCl، ۱/۴ H<sub>2</sub>O، ۷ MgSO<sub>4</sub>، ۱/۲ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>، ۲/۵ CaCl<sub>2</sub>، ۲۵ NaHCO<sub>3</sub> و ۱۱/۱ Glucose.  
رت‌ها با سدیم تیوپتال (۴۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بیهوش گردیدند. کولون برداشته شد و قطعات  
کولون پروگزیمال (۲cm) تحت کشش اولیه ۱g در حمام بافتی ۵۰ml قرار داده شد؛ محلول کربس هر ۱۵ دقیقه تعویض  
می‌گردید و سپس برای ثبت ایزومتریک فعالیت مکانیکی آماده می‌شد. فعالیت‌های مکانیکی خودبخودی (SMA) بواسطه  
وقوع انقباض‌های فازی ریتمیک (نوع I) یا بواسطه انقباض‌های بزرگ خودبخودی سوار شده بر انقباض‌های ریتمیک کوچک  
(نوع II) مشخص گردید.

خوکچه‌ها به صورت نخاعی کشته شدند؛ ایلئوم خارج گردید؛ قطعات ۲ سانتی متری از ناحیه پروگزیمال ایلئوم، تحت  
کشش اولیه یک گرم در حمام بافتی ۵۰ml قرار داده شد و سپس برای ثبت ایزومتریک فعالیت مکانیکی آماده شد.  
در تمام آزمایشات، منحنی‌های غلظت - پاسخ به کربنوکسولون به کمک پروتکل تجمعی مشخص گردید؛ هر یک از  
نوارهای عضله در معرض چندین غلظت از کربنوکسولون قرار گرفت تا اینکه بیشترین پاسخ حاصل گردد.  
تحریکات الکتریکی (EFS) توسط یک الکتروود حلقه‌ای، هر ۴ ثانیه، به صورت ترین‌های ۳۰ پالس در مدت ۰/۳ ثانیه  
و یک ولتاژ بیشتر از ایجاد یک تونج ماکزیمم ایجاد گردید. EFS توسط تحریک کننده  
Grass S88 فراهم گردید

کربنوکسولون و L - نیترو - آرژنین - متیل - استر (L-NAME) از شرکت سیگما تهیه گردید. استیل کولین از مرک  
خریداری شد. نورآدرنالین (N A) از شرکت  
Abbott Laboratories Ltd. فراهم گردید. سدیم تیوپتال (۱g) از GmbH, Vienna Austria Biochemic تهیه  
گردید. تمام داروها در آب مقطر حل شدند.

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شد. اختلاف میان گروه‌ها به صورت آنالیز یک طرفه  
ANOVA و بدنبال آن آزمون توکی - کرامر مورد مقایسه قرار گرفت. از نظر آماری،  $P < 0/05$  معنی‌دار تلقی شد. EC<sub>50</sub>  
توسط متد (PHARM/PCS Version4) لیچفیلد و ویلکاکسون<sup>۱</sup> محاسبه گردید.  
اثرات کربنوکسولون بر سلول‌های عضله صاف به صورت میانگین درصد مهار انقباض نسبت به کنترل بیان گردید و  
انقباض‌های ایجاد شده به صورت گرم کشش (g) و فرکانس انقباضات نیز بر حسب تعداد انقباضات در دقیقه (cpm) بیان  
گردید.

## یافته‌ها

تحریکات الکتریکی در وازودفران جدا شده رت سبب ایجاد پاسخ انقباضی شد. انکوباسیون بافت با کربنوکسولون  
(۲۰۰-۱۰، مدت تماس ۹۰ دقیقه) به صورت برگشت پذیر، پاسخ انقباضی ایجاد شده توسط تحریکات الکتریکی را  
کاهش می‌دهد [EC<sub>50</sub>: ۱۵/۶۸  $\mu$ M] (نمودار ۱). همچنین کربنوکسولون (۱۰-۰/۱  $\mu$ M) پاسخ‌های انقباضی به نورآدرنالین  
(۱۰  $\mu$ M) را به صورت وابسته به غلظت کاهش می‌دهد [EC<sub>50</sub>: ۰/۳۱۶  $\mu$ M] (جدول ۱).

## 1. Litchfield and Wilcoxon

جدول ۱: پاسخ انقباضی وازودفران به NA در حضور کربنوکسولون

کربنوکسولون (میکرو مول)	درصد مهار پاسخ
۰/۱	۳۷/۵±۵**
۱	۶۲/۵±۶/۴۳**
۱۰	۱۰۰±۵/۶۷***

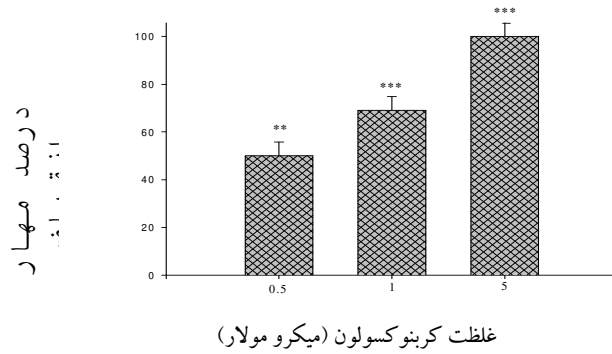
( $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ،  $P < 0.001$ ، آزمون توکی-کرامر)



نمودار ۱: کاهش در انقباض ناشی از تحریکات الکتریکی در وازودفران جدا شده رت توسط کربنوکسولون

( $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ، آزمون توکی-کرامر)

همچنین تحریکات الکتریکی منجر به پاسخ انقباضی در کولون جدا شده رت شد. انکوباسیون بافت با کربنوکسولون (مدت تماس ۹۰ دقیقه) به صورت معنی‌دار، پاسخ انقباضی ناشی از تحریکات الکتریکی (نمودار ۲) و استیل کولین ( $0.1 \mu\text{M}$ ) را به صورت وابسته به غلظت [ $EC_{50}: 3.16 \mu\text{M}$ ] کاهش داد (نمودار ۳). همچنین کربنوکسولون ( $0.05-5 \mu\text{M}$ ) به صورت برگشت پذیر حرکات مکانیکی خودبخودی را کاهش داد [ $EC_{50}: 0.164 \mu\text{M}$ ] (جدول ۲).

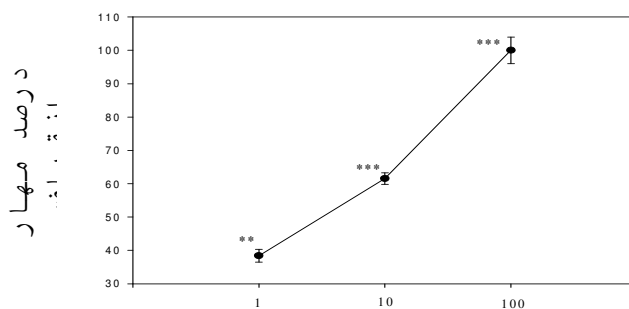


نمودار ۲: کاهش در انقباض ناشی از تحریکات الکتریکی در کولون جدا شده رت توسط کربنوکسولون.  
( $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\*)، آزمون توکی - کرامر)

جدول ۲: اثرات کربنوکسولون ( $0.05-5 \mu M$ ) بر فعالیت مکانیکی خودبخودی کولون پروگزیمال رت

کربنوکسولون (میکرومول)	درصد مهار پاسخ
0.05	$51 \pm 4.09$ **
0.5	$28.85 \pm 6$ **
5	$100 \pm 4.65$ ***

( $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\*)، آزمون توکی - کرامر)



نمودار ۳: اثرات کربنوکسولون ( $1-100 \mu M$ ) بر انقباض ناشی از استیل کولین در کولون رت  
( $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\*)، آزمون توکی - کرامر)

اثرات L-NAME ( $100 \mu\text{M}$ ) در حضور کربنوکسولون ( $10^{-1}-10^{-10} \mu\text{M}$ ) بر حرکات مکانیکی خودبخودی مورد بررسی قرار گرفت. شدت و فرکانس انقباضات ناشی از L-NAME به صورت معنی‌دار در مقایسه با کنترل (در شرایطی که کربنوکسولون در محیط نبود) کاهش یافت. اثر تحریکی L-NAME ( $100 \mu\text{M}$ )، مدت تماس ۳۰ دقیقه) بر حرکات مکانیکی خودبخودی در حضور کربنوکسولون ( $10^{-1}-10^{-10} \mu\text{M}$ ) در جدول ۴ نشان داده شده است.

در مورد ایلنوم جدا شده از خوکیچه هندی، انکوباسیون بافت با کربنوکسولون (زمان تماس ۹۰ دقیقه) انقباض ایجاد شده توسط تحریکات الکتریکی (نمودار ۴) و استیل کولین ( $1 \mu\text{M}$ ) را به صورت وابسته به غلظت [ $EC_{50}: 1/0.1 \mu\text{M}$ ] (نمودار ۵) به صورت معنی‌داری کاهش داد. همچنین کربنوکسولون ( $10^{-1}-10^{-10} \mu\text{M}$ ) حرکات مکانیکی خودبخودی را کاهش داد [ $EC_{50}: 0.12 \mu\text{M}$ ] (جدول ۳).

اثرات L-NAME ( $100 \mu\text{M}$ ) در حضور کربنوکسولون ( $10^{-1}-10^{-10} \mu\text{M}$ ) بر حرکات مکانیکی خود بخودی نیز مورد بررسی قرار گرفت. شدت و فرکانس انقباضات L-NAME توسط کربنوکسولون در مقایسه با گروه کنترل، به صورت معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۴).

جدول ۳: اثرات کربنوکسولون بر فعالیت مکانیکی خودبخودی ایلنوم خوکیچه هندی

کربنوکسولون (میکرومول)	درصد مهار پاسخ
۰/۱	$52/92 \pm 6^*$
۱	$60/9 \pm 7^{**}$
۱۰	$100 \pm 6/78^{***}$

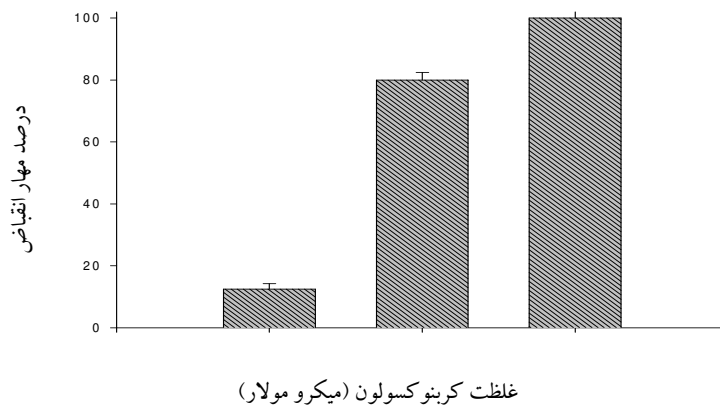
( $P < 0/05$ ،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$ ، آزمون توکی - کرامر)

جدول ۴: اثرات L-NAME ( $100 \mu\text{M}$ ) بر فعالیت مکانیکی خودبخودی کولون رت و ایلنوم خوکیچه هندی (B)

در حضور کربنوکسولون ( $10^{-1}-10^{-10} \mu\text{M}$ )

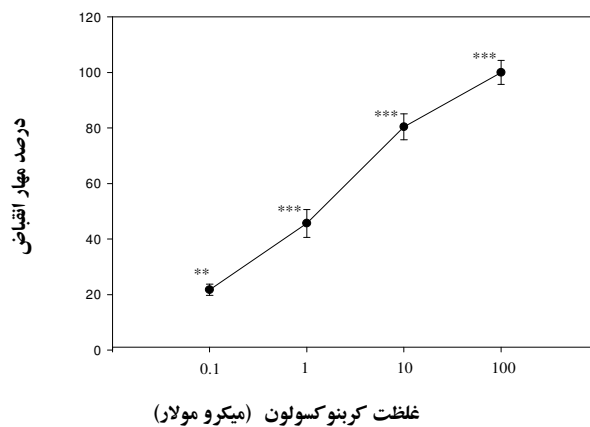
فعالیت مکانیکی دارو	شدت انقباضات (بر حسب گرم کشش)		فرکانس (تعداد انقباضات در دقیقه)	
	کولون	ایلنوم	کولون	ایلنوم
L-NAME	$0/81 \pm 0/08$	$0/332 \pm 0/032$	$3/15 \pm 0/04$	$13 \pm 0/12$
L-NAME + CBX ( $0/1 \mu\text{M}$ )	$0/76 \pm 0/08$	$0/265 \pm 0/041$	$2/55 \pm 0/15^*$	$12/5 \pm 0/2^*$
L-NAME + CBX ( $1 \mu\text{M}$ )	$0/38 \pm 0/09$	$0/22 \pm 0/1^*$	$1 \pm 0/2^{***}$	$4 \pm 0/3^{***}$
L-NAME + CBX ( $10 \mu\text{M}$ )	**	**	***	***

( $P < 0/05$ ،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$  و آزمون توکی - کرامر)



نمودار ۴: کاهش در انقباض ایجاد شده توسط تحریکات الکتریکی در ایلنوم جدا شده کوچک هندی توسط کربنوکسولون.

( $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ، آزمون توکی - کرامر)



نمودار ۵: اثرات کربنوکسولون ( $1-100 \mu M$ ) بر انقباض ناشی از Ach در ایلنوم کوچک هندی

( $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ، آزمون توکی - کرامر)

## بحث

به منظور مشخص شدن این که هر گونه اثر احتمالی کربنوکسولون بر روی انقباض عضله صاف وابسته به بافت یا گونه حیوانی است، بافت‌های مختلفی از جمله وازودفران و کولون جدا شده رت و ایلنوم جدا شده کوچک هندی مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعه حاضر نشان داده شد که پاسخ‌های انقباضی وازودفران رت نسبت به تحریکات الکتریکی و نورآدرنالین آگزوزن، تحت تأثیر کربنوکسولون کاهش یافته است. همچنین پاسخ‌های انقباضی کولون رت و ایلنوم کوچک هندی برانگیخته شده توسط تحریکات الکتریکی به صورت معنی‌داری توسط کربنوکسولون در این بافت‌ها کاهش یافت. کربنوکسولون فعالیت مکانیکی خودبخودی (SMA) را در کولون رت و ایلنوم کوچک هندی نیز کاهش داد. این

مشاهدات از نقطه نظر این‌که با چه مکانیسمی اثرات مهارتی کربنوکسولون ایجاد شده است، قابل بحث و بررسی می‌باشد. اصولاً انقباضات وازودفران در پاسخ به تحریکات الکتریکی به واسطه رهایش مجموعه‌ای از کوترانسپتورهای نورآدرنالین (NA) و آدنوزین تری فسفات (ATP) از اعصاب سمپاتیک است (۱۲). پاسخ‌های انقباضی ناشی از EFS در وازودفران دو فازی بوده و در ابتدا به صورت یک انقباض سریع ناشی از اثر ATP آغاز می‌شود و بدنال آن با یک فاز تونیک آرام‌تر به واسطه نور آدرنالین گسترش می‌یابد. فاز پورینرژیک از طریق فعال شدن گیرنده‌های P2x، که سبب ایجاد پتانسیل‌های تماسی تحریکی (EJPs) می‌گردد، منجر به ایجاد پتانسیل‌های عمل پیش‌رونده در عضله، همراه با ورود کلسیم به داخل سلول می‌گردد. فاز آدرنرژیک با افزایش کلسیم داخل سلولی، بدنال فعال شدن آدرنوسپتورهای  $\alpha 1$  و پیامبر ثانویه اینوزیتول تری فسفات (IP3) پدید می‌آید.

بنابراین، کاهش پاسخ‌های انقباضی وازودفران رت به تحریکات الکتریکی توسط کربنوکسولون احتمالاً به واسطه اثر مهارتی این دارو بر دو فاز پورینرژیک و آدرنرژیک است (۵). این‌که آیا اثر مهارتی مزبور، یک اثر پیش‌سیناپسی است یا پس‌سیناپسی، با توجه به کاهش مشاهده شده در پاسخ‌ها به نورآدرنالین و ATP آگزوژن افزوده شده به محلول فیزیولوژیک حمام بافت، می‌توان پیشنهاد کرد که کاهش حساسیت گیرنده‌های آدرنرژیک و پورینرژیک پس از تماس با کربنوکسولون در ایجاد این اثر مهارتی دخالت داشته است. به عبارت دیگر نمی‌توان مکانیسم‌های پس‌سیناپسی را در بروز اثر مهارتی کربنوکسولون نادیده گرفت. با این وجود، امروزه مشخص شده است که در عضله صاف بسیاری از بافت‌ها از جمله وازودفران، انقباض مربوط به NA، تنها به دلیل فعال شدن مستقیم الکتریکی ناشی از پتانسیل تحریکی نبوده، بلکه از طریق مسیرهای بیوشیمیایی مستقیمی است که شامل پیامبرهای ثانویه نظیر اینوزیتول تری فسفات (IP3) و کلسیم است (۱۳).

از طرفی به دلیل وجود اشکالی از فعالیت‌های نرونی که در مقدمه مقاله به آن اشاره شد، نورآدرنالین بخش کوچکی از سلول‌ها را به صورت مستقیم فعال می‌سازد. فعالیت انقباضی در سلول‌های عصب‌گیری نشده می‌تواند وابسته به دیفیوژن احتمالی کلسیم از طریق کانال‌های gap junction باشد (۴). در این صورت کربنوکسولون، در صورت مهار کانال‌های gap junction، به وضوح تعداد سلول‌های مورد نیاز برای انقباض را کاهش داده و در نتیجه، پاسخ مهار می‌گردد.

از کاهش پاسخ به تحریکات الکتریکی توسط کربنوکسولون، در کولون رت و ایلئوم کوچک هندی، چنین استنباط می‌شود که مهار انقباضات ناشی از تحریک مسیرهای پورینرژیک می‌تواند نظیر مکانیسم‌های مشابه یاد شده در قسمت وازودفران باشد. بنابراین کربنوکسولون، احتمالاً از طریق قطع ارتباط میان سلول‌ها، دیفیوژن کلسیم از طریق کانال‌های gap junction را مهار می‌کند؛ در نتیجه پاسخ‌های انقباضی کاهش می‌یابند. همچنین کربنوکسولون، حرکات مکانیکی خودبخودی (SMA) در کولون جدا شده رت و ایلئوم جدا شده کوچک هندی را کاهش داد. به لحاظ آن که (SMA) در نتیجه تحریک‌پذیری خودبخودی تعدادی از نرون‌های پورینرژیک است و این حرکات در نتیجه یک الگوی استرئوتایپ حرکتی، به صورت انقباضها و اتساع‌های پی‌درپی لایه‌های عضلانی صاف روده‌ای هستند، می‌توان دو احتمال زیر را پیشنهاد نمود:

۱ - کربنوکسولون پاسخ به تحریکات الکتریکی را از طریق فعال شدن کانال‌های Post junctional gap junction (واقع در میان سلول‌های عضله صاف) مهار می‌کند.

۲ - کربنوکسولون ممکن است انتقال سیگنال‌های پی‌س‌میکری الکتریکی از ICC را به سلول‌های عضله صاف در کولون رت و ایلئوم کوچک هندی مهار کند.

در شلی عضلات صاف کولون پروگزیمال، نقش مهم سیگنال‌های وابسته به مسیر cGMP مشخص گردیده است و در چندین مطالعه از وجود NOS نرونی موجود در روده کوچک سگ (۱۵) و کولون و روده کوچک رت گزارش شده است.



(۱۶). cGMP اثرات مهاری بر افزایش کلسیم دارد (۵). با توجه به آزمایشات انجام شده به نظر می‌آید که کوپلینگ کانال‌های gap junction در تنظیم پاسخ‌های نرون‌های حرکتی مهار می‌کند. در نتیجه بستن این کانال‌ها توسط کربنوکسولون (در غلظت‌های پایین‌تر) L-NAME نتوانست اثرات تحریکی بر مسیر مهار NANC اعمال کند. این احتمال وجود دارد که در حضور L-NAME که NOS مهار می‌گردد، کربنوکسولون از دیفیوژن کلسیم از طریق کانال gap junction جلوگیری می‌کند و در نتیجه پیام‌های شل‌کنندگی میان سلول‌های عضله صاف کولون و ایلیوم منتشر می‌گردد. بعنوان نتیجه گیری نهایی، احتمالاً می‌توان پیشنهاد کرد که کانال‌های gap junction، انقباضات بافتی و شدت اثر آگونیست‌ها را به دنبال فعال شدن گیرنده‌های آدرنرژیک و پورینرژیک در وازودفران و کولون رت و ایلیوم کوچک‌هندی تنظیم می‌کند. در عین حال، مطالعات الکتروفیزیولوژی و مولکولی بیشتری برای تأیید مکانیسم‌های تنظیمی پاسخ‌های انقباضی توسط کانال‌های gap junction در بافت‌های اشاره شده، ضرورت دارد.

## Abstract

### *The Effects of Carbenoxolone (a gap junction uncoupler) on the Contractile Responses of the Isolated Rat vas Deferens.*

*Dr. Marjan Nasiri Asl . Pharmacologist , Mashad University of Medical Science.*

*Dr. Zahra Fatehi . Assistant Professor of Physiology , Mashad University.*

*Dr. Muhammad Fatehi . Associate Professor of Pharmacology , mashad university of medical science.*

the isolated rat colon and the isolated guinea pig ileum were studied. The main purpose of this study was to elucidate the possible involvement of gap junction channels (GJCs) in smooth muscle function. Carbenoxolone (0.1-200  $\mu$ M) decreased contractile responses of the isolated rat vas deferens and colon to various stimuli in a concentration-dependent manner. Carbenoxolone also reduced both amplitude and frequency of the spontaneous mechanical activity of the isolated rat colon. A similar inhibitory effect of carbenoxolone (0.1-200  $\mu$ M) was observed on contractile responses of the isolated guinea pig ileum to electrical field stimulation, acetylcholine and KCl. In the presence of carbenoxolone (10  $\mu$ M), contractile responses to L-NAME were reduced by about 65% and 80% of control in the isolated rat colon and the isolated guinea pig ileum, respectively. The present data, therefore, suggest an important role for modulation of intercellular communication via GJCs in regulating the tone of smooth muscles of rat vas deferens, rat colon and guinea pig ileum.

**Key Words:** Carbenoxolone ; Gap junctions ; Vas deferens ; Colon ; Ileum ; Contraction

## منابع

1. Christ G.J, Spray D.C, El-Sabban M, Moore L.K, Brink P.R. Gap junctions in vascular tissues: evaluating the role of intercellular communication in the modulation of vasomotor tone. *Circ Res* 1996; Vol. 79, PP.631-646.
2. Lowenstein W. Junctional intercellular communication. The cell-to-cell membrane channel. *Physiol Rev* 1981; Vol.61, PP.829-913.
3. Bennet M.R. Structure and electrical properties of the autonomic neuromuscular junction. *Philo Trans Roy Soc (Lond) B* 1973; Vol.265, PP.25-34.
4. Brock J.A, Cunnane T.C. Electrical activity at the sympathetic neuroeffector junction in the guinea-pig vas deferens *J Physio* 1988; Vol. 399, PP. 607-632.
5. Venkateswarlu K, Dange S.Y, Manchanda R. Effects of heptanol on the neurogenic and myogenic contractions of the guinea-pig vas deferens. *Br J Pharmacol* 1999; Vol.126, PP.227-234.
6. Faraway L, Ball A.K, Huizinga J.D. Intercellular metabolic coupling in canine colon musculature. *Am J Physiol* 1995; Vol. 268, PP.1492-1502.
7. Sanders K.M. A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterol* 1996; Vol.111, PP.492-515.
8. Jellinck P.H, Monder C, McEwen B.S, Sakai R.R. Differential inhibition of 11-beta-hydroxy steroid dehydrogenase by carbenoxolone in rat brain regions and peripheral tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; Vol. 46, PP.209-213.
9. Davidson J.S, Baumgarte I.M. Glycyrrhetic acid derivatives: A novel class of inhibitors of gap junctional intercellular communication. Structure-activity relationships. *J Pharmacol Exp Ther*, 1988; Vol. 246, PP.4-7.
10. Christensen J. Motility of the colon. In: Johnson RL . *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 2ed, Raven Press, New York 1987; PP. 665-693.
11. Bult H, Boeckxstaens G.E, Pelckmans P A: Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic, non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 1990; Vol. 345, PP. 346-347.
12. Hoyle C.H.V, Burnstock G. ATP receptors and their physiological roles. In: Stone TW(ed). *Adenosine in the Nervous System*, London, Academic Press, 1ed, 1991; PP.43-76.
13. Somylo A.V, Somylo A.P. Electromechanical and Pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle.G.J, Moreno A.P, Melman A, Spray D.C: Gap junction mediated intercellular diffusion of  $Ca^{+2}$  in culture human corporal smooth muscle cells, *Am J Physiol*, 1992; Vol.263, PP.373-383.
14. Berezin I, Syder S.H, Bredt D.S, Daniel E.E. Ultrastructural localization of nitric oxide synthase in canine small intestine and colon. *Am J Physiol* 1994; Vol.266, PP.981- 989.
15. Matini P, Faussonne-Pellegrini M S. Ultrastructural localization of neuronal nitric oxide synthase-immunoreactivity in the rat ileum. *Neurosci Lett* 1997; Vol. 229, PP.45-48.