

## تأثیر التهاب مزمن بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک عروقی مفصل زانو در خرگوش

دکتر حمید نجفی پور<sup>۱</sup>، سعید نیازمند<sup>۲</sup>

### خلاصه

مطالعات قبلی حاکی از کاهش تأثیر سیستم عصبی سمپاتیک در تنظیم جریان خون مفصلی در التهاب حاد است. التهاب حاد سبب تغییر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک عروق مفصلی از اکثریت بتا-۱ به تساوی بتا-۱ و بتا-۲ می‌گردد. مطالعه حاضر نقش سیستم عصبی مذکور و روند تغییر گیرنده‌های بتا در التهاب مزمن را بررسی می‌کند. آزمایش بر روی ۲۱ خرگوش نژاد سفید نیوزیلندی تحت بی‌هوشی تیوپنتال سدیم انجام گرفت. التهاب مزمن با حساس کردن حیوان توسط تزریق زیر پوستی مخلوط آلبومین متیله شده گاوی (MBSA) و ادجوانت کامل فروند (FCA) طی یک دوره ۲۱ روزه و پس از آن تزریق داخل مفصلی MBSA انجام گرفت. حیوانات ۲۸ روز بعد از تزریق داخل مفصلی MBSA، مورد آزمایش قرار گرفتند. داروهای بتا آگونیست در حضور و غیاب آنتاگونیست‌های مربوطه، به داخل شریان نزدیک مفصل تزریق شده تا وارد عروق مفصلی شوند. عصب خلفی مفصلی نیز توسط استیمولیتور تحریک گردید. از دستگاه جریان‌سنج لیزری برای اندازه‌گیری جریان خون کپسول مفصلی پستی زانو استفاده شد. تحریک الکتریکی عصب مفصلی خلفی منجر به کاهش  $18/1 \pm 6/2$  درصدی در جریان خون مفصلی شد که با مصرف فنتولامین این اثر معکوس و به افزایش  $8 \pm 2/2$  درصد در جریان خون تبدیل گردید. این گشادشدگی به طور کامل به وسیله پروپرانولول مهار شده و تا حدود ۵۰ درصد نیز به وسیله  $ICI_{118551}$  ( $\beta_2$  آنتاگونیست) کاهش پیدا کرد. تأثیر آتنولول ( $\beta_1$  آنتاگونیست) معنی‌دار نبود. منحنی‌های دوز-پاسخ به تزریق داخل شریانی آگونیست‌های بتا آدرنرژیک ترتیب دوباتامین > سالبوتامول > ایزوپرنالین را از نظر توانمندی نشان داد. منحنی دوز-پاسخ مربوط به ایزوپرنالین به وسیله مصرف آنتاگونیست‌های بتا آدرنرژیک به سمت راست منحرف شد که قدرت این مواد برای این عمل دارای ترتیب آتنولول >  $ICI_{118551}$  > پروپرانولول بود. این پژوهش نشان داد که پاسخ بزرگ‌تر برای بتا-۲ در مقابل بتا-۱ آدرنرژیک در عروق خونی مفصل زانوی خرگوش با التهاب مزمن وجود دارد. به‌طور کلی در مقایسه با پژوهش‌های قبلی انجام شده روی مفصل سالم که پاسخ‌های گیرنده‌های بتا-۱ آدرنرژیک غالب بوده است و در شرایط التهاب حاد که پاسخ مساوی بتا-۱ و بتا-۲ وجود داشته است، در شرایط التهاب مزمن بازگشت قدرت انقباضی سیستم عصبی سمپاتیک به سمت طبیعی همراه با ادامه تغییر گیرنده‌های بتا-۱ به سمت بتا-۲ (غالب شدن اثر بتا-۲) مشاهده می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: التهاب مزمن، گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، عروق خونی، مفصل زانو، خرگوش

۱- استاد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۲- دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی مشترک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان و دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۴/۹ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۳/۶/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۳۸۳/۷/۲۹

## مقدمه

تنظیم جریان خون مفصلی نقش تعیین کننده‌ای در نگهداری یک محیط ثابت و پایدار در داخل مفصل دارد. ارتباط بالایی که بین فشار اکسیژن مایع مفصلی و جریان خون آن، هم در حالت طبیعی و هم در حالت التهاب حاد در مفاصل زانوی خرگوش وجود دارد (۱۷)، اهمیت ساز و کارهای تنظیم کننده جریان خون مفصلی را در تأمین اکسیژن و سایر مواد غذایی به بافت‌های ناحیه مفصلی به خصوص غضروف‌های مفصلی بدون عروق نشان می‌دهد. Dick و همکاران با استفاده از روش پاکسازی  $^{133}\text{Xe}$ ، نشان دادند که هر دو گیرنده آلفا و بتا-آدرنرژیک در تنظیم جریان خون مفصل انسان سالم و بیمار نقش دارند (۳). هم چنین Levine و همکاران نشان دادند که سمپاتکتومی سبب کاهش شدت آسیب مفصلی در آرتریت تجربی می‌گردد (۹). مطالعات قبلی نویسندگان نشان داده که کاهش قابل توجهی در کارایی سیستم عصبی سمپاتیک در تنظیم جریان خون مفصل ملتهب وجود دارد (۱۷) و این خود شاید یک توضیح احتمالی برای بیشتر بودن جریان خون مفصل در شرایط التهاب و در جهت حفاظت از بافت‌های مفصلی از آسیب بیشتر باشد (۹). پژوهش‌های بیشتر آشکار نموده است که اگرچه پروستاگلاندین‌ها نقشی در تنظیم جریان خون پایه مفصل ملتهب دارند، اما به نظر نمی‌رسد که نقش مهمی در کاهش پاسخ تنگ کننده عروقی سمپاتیکی در این شرایط داشته باشند (۱۶). هم چنین به نظر نمی‌رسد که تولید نیتریک اکساید (NO) نیز به وسیله فرآیند التهاب حاد تغییر کند (۱۴). اکنون این سؤال مطرح است که آیا تغییر در نیمرخ (profile) گیرنده‌های آدرنرژیک عروق مفصل مسئول افزایش جریان خون در شرایط التهاب مفصلی می‌باشد. مطالعات قبلی نویسندگان نشان داده‌اند که در مفصل سالم، گیرنده‌های آدرنرژیک آلفا-۲ و بتا-۱ پس سیناپسی دارای نقش غالب بوده و اثرات سیستم عصبی سمپاتیک را بر عروق خونی مفصل واسطه‌گری می‌کنند (۱۳، ۱۵) و مطالعه بعدی نشان داده است که در التهاب حاد تغییری در نیمرخ گیرنده‌های آدرنرژیک از آلفا-۲ به طرف آلفا-۱ و از بتا-۱ به طرف بتا-۲ ایجاد می‌گردد (۱۸). نظر به اینکه شرایط التهاب مزمن مشابهت بسیار بیشتری با شرایط بالینی بیماری‌های التهابی مفاصل

در انسان دارد، در مطالعه حاضر سعی شد تا تأثیر تحریک اعصاب سمپاتیک بر جریان خون مفصل زانو و نیمرخ گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در عروق خونی مفصل زانوی خرگوش در شرایط التهاب مزمن بررسی گردد.

## مواد و روش‌ها

## روش ایجاد التهاب مزمن:

آزمایش بر روی ۲۱ خرگوش نژاد سفید نیوزلندی (NZW) با محدوده وزنی ۳-۲ کیلوگرم انجام شد. التهاب مزمن با روش آرتریتیس القاء شده با آنتی ژن (Antigen Induced Arthritis=AIA) ایجاد گردید (۲). در این روش ابتدا حیوان به آنتی ژن حساس گردیده سپس آنتی ژن با غلظت کمتر به داخل فضای مفصلی تزریق می‌شود تا طی یک دوره ۲۸ روزه التهاب مزمن مفصلی ایجاد گردد. به این ترتیب که ۱ ml از محلول ۲mg/ml آنتی ژن آلبومین متیله شده گاوی (Methylated Bovine Serum Albumin= MBSA) که به نسبت مساوی حجمی با محلول ادجوانت کامل فروند (Freunds Complete Adjuvant= FCA) مخلوط و هموژنیزه شده است تحت بی‌هوشی موقت با ۳٪ هالوتان در مخلوط گازی ۳۰٪  $\text{O}_2$  و ۶۷٪  $\text{N}_2\text{O}$  به صورت زیرپوستی در پنج نقطه از پوست پشت گردن حیوان که موی آن تراشیده شده است (هر نقطه ۰/۲ml) تزریق می‌گردد. دو هفته بعد عیناً این تزریق تکرار می‌گردد. در روز ۲۱ بعد از اولین تزریق تست حساسیت پوستی به آنتی ژن انجام می‌گیرد یعنی ۰/۲ml از محلول ۰/۲mg/ml MBSA در ناحیه پوست ران حیوان تزریق و ۲۴ ساعت بعد واکنش پوستی بررسی می‌گردد. اگر ناحیه تزریق متورم شده و یک سفتی به قطر حداقل ۱۰mm ایجاد شده باشد حیوان حساس تلقی می‌گردد و وارد مرحله بعدی آزمایش می‌گردد. حیوانات حساس شده مورد تزریق داخل مفصلی ۱ml محلول ۴mg/ml MBSA قرار می‌گیرند به این ترتیب که نوک سوزن سرنگ انسولینی (۱ml) از میان تاندون پاتلا به داخل فضای مفصلی پای راست وارد و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول آنتی ژن در فضای پشتی کپسول (عمق بیشتر) و ۰/۵ میلی‌لیتر از آن در فضای قدامی (عمق کمتر) تزریق می‌گردد.

## روش بررسی تغییرات گیرنده‌های بتا آدرنرژیک

حیوانات ۲۸ روز بعد از تزریق داخل مفصلی MBSA (ایجاد التهاب مزمن) مورد بررسی قرار گرفتند. زمان ۲۸ روز بر اساس یافته‌های هیستولوژیک مبنی بر لازم بودن این مدت جهت ایجاد التهاب مزمن در مفصل انتخاب گردید (۲). این حیوانات در روز ۲۸ ابتدا با تزریق mg/kg ۵۰ تیوپنتال سدیم بی‌هوش گردیدند. بی‌هوشی در طول اعمال جراحی با ترکیب هالوتان ۱٪ در مخلوط گازی ۳۰٪ اکسیژن و ۶۹٪ N<sub>2</sub>O که از طریق تنفسی به حیوان داده می‌شد حفظ گردید. تراشه حیوان کانوله شده تا حیوان به طور خود به خودی در سرتاسر طول آزمایش تنفس کند. عمق بی‌هوشی با اطمینان از فقدان پاسخ عقب کشیدن پا به یک تحریک Pinch که روی پای خلفی حیوان به کار برده می‌شد، کنترل می‌شد. فشار خون شریانی در سرتاسر طول آزمایش با استفاده از یک کانول که به داخل شریان کاروتید چپ فرو رفته بود و به ترانس‌دیوسر فشار دستگاه فیزیوگراف (Beckman, USA) متصل بود ثبت می‌شد. با روش بی‌هوشی فوق، فشارخون در طول آزمایش پایدار و ثابت بود. با یک پروب فیبر نوری با قطر ۰/۹mm که به یک دستگاه جریان سنج لیزری (MBF3D; Moor Instruments Axminster, U.K.) وصل بود، تغییرات نسبی جریان خون در کپسول پشتی، اندازه‌گیری می‌شد. پروب درست بالای سطح خارجی بخش خلفی-میانی کپسول مفصل قرار می‌گرفت. تغییرات در جریان خون (و هم‌چنین فشار خون) به صورت درصد تغییر نسبت به مقادیر شاهد که قبل از هر آزمایش اندازه‌گیری می‌شد، بیان گردید. مقادیر صفر زیستی به صورتی که قبلاً توصیف شده است (۱۷)، اندازه‌گیری شد و از مقادیر جریان، قبل از محاسبه درصد تغییرات جریان خون کسر گردید. فشار متوسط شریانی به وسیله اضافه کردن یک سوم فشار نبض به فشار دیاستول محاسبه شد.

عصب مفصلی خلفی (Posterior Articular Nerve, PAN) که حاوی شاخه‌های سمپاتیکی به عروق مفصلی است بعد از برداشتن قلو میانی عضله گاستروکنمیوس آزاد شده و پس از قطع سمت مرکزی آن تحریک شد (۱۷). مشخصات تحریک عبارت بود از: عرض موج ۱ میلی‌ثانیه، ولتاژ ۱۰ ولت، فرکانس ۳۰ هرتز و مدت زمان موج ۳۰

ثانیه. مطالعات قبلی نشان داده که موج تحریک با این مشخصات حداکثر پاسخ عروقی را در مفاصل سالم و ملتهب ایجاد می‌کند (۱۷).

در پایان اعمال جراحی بی‌هوشی گازی قطع و در طول آزمایش از تزریق تیوپنتال سدیم (۳۰ mg/kg در ابتداء و ۱۰ mg/kg/hr دوز نگهدارنده) استفاده شد. علت قطع بی‌هوشی گازی اثرات گشاد کننده عروقی هالوتان است که با اثرات داروها تداخل ایجاد می‌کند. حیوانات به سه گروه تقسیم و به گروه اول بعد از تجویز فنتولامین (جهت بلوک پاسخ‌های آلفا (۱۲) و ظهور پاسخ‌های بتا) پروپرانولول (بتا بلوکر عمومی)، به گروه دوم اتنولول (بتا-۱ بلوکر) و به گروه سوم ICI<sub>118551</sub> (بتا-۲ بلوکر) تزریق گردید.

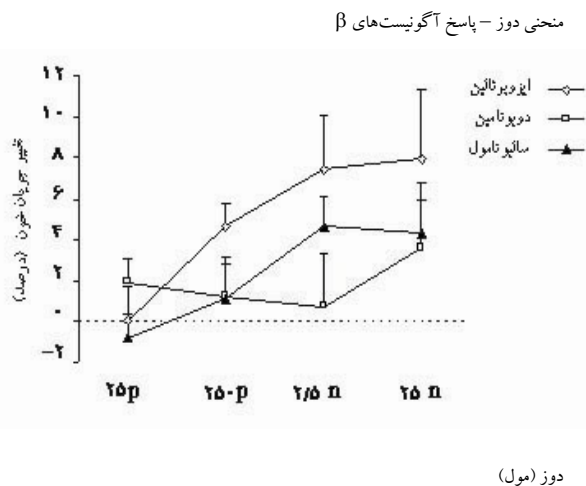
تزریق آگونیست‌های بتا آدرنرژیک به وسیله تزریق داخل شریانی یک بلوس (۰/۲۵ml) از غلظت‌های ۱۰<sup>-۷</sup> تا ۱۰<sup>-۴</sup> (معادل ۲۵ پیکومول تا ۲۵ نانومول دارو) از طریق یک کانول پلی‌اتیلن (Portex 2FG) که به داخل شریان فمورال دمی (۱) فرو می‌رفت، انجام شد. کانول پلی‌اتیلنی آن قدر پیش برده می‌شد تا نوک آن نزدیک به شاخه اصلی (شریان Popliteal) درست قبل از انشعاب شاخه‌های مفصل قرار گیرد. آنتاگونیست‌های بتا - آدرنرژیک به وسیله تزریق آهسته حجمی که حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن حیوان باشد (معمولاً ۱/۵ میلی‌لیتر حداکثر) به داخل ورید ژوگولار تجویز شدند. یک فاصله ۴۵ دقیقه‌ای جهت بلوک کامل گیرنده‌ها قبل از تحریک مجدد PAN یا تجویز مجدد آگونیست‌های بتا آدرنرژیک منظور می‌شد. در مطالعات قبلی نویسندگان نشان داده‌اند که این دوز و مدت زمان برای مهار گیرنده‌های آدرنرژیک مربوطه و هم‌چنین برای تثبیت فشارخون در میزان جدید کافی هستند (۱۵).

مواد استفاده شده در این پژوهش، فنتولامین هیدروکلراید، ایزوپرنالین هیدروکلراید، سالبتامول، پروپرانولول هیدروکلراید، اتنولول (همگی از Sigma)، ICI<sub>118551</sub> (pharmaceuticals UK) و دوبوتامین هیدروکلراید (Dobutrex, Eli Lilly, UK) بودند. در پایان آزمایش در زیر بی‌هوشی به زندگی حیوان توسط تزریق داخل وریدی کلرور پتاسیم یک مولار خاتمه داده می‌شد. داده‌ها در شکل‌ها و جدول به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

خون به میزان  $18/1 \pm 6/2$  درصد شد، که این اثر با مصرف فنتولامین به یک اثر گشاد کننده عروقی تبدیل شد ( $n=21$ ,  $P<0/001$ ). تجویز متعاقب پروپرانولول (آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده بتا-آدرنرژیک) در یک گروه از حیوانات به طور کامل این پاسخ گشاد کننده عروقی را مهار و به یک پاسخ تنگ کننده عروقی کوچک تر تبدیل نمود ( $n=7$ ,  $P<0/01$ ). مصرف متعاقب آتنولول و ICI، آنتاگونیست‌های انتخابی گیرنده بتا-1 و بتا-2 آدرنرژیک در دو گروه دیگر، پاسخ‌های گشاد کننده عروقی بعد از فنتولامین را در مورد ICI به طور معنی دار ( $P<0/05$ ) و در مورد اتنولول به طور غیرمعنی دار کاهش داد ( $n=7$  در هر گروه).

ب- اثر داروهای بتا-آگونیست بر جریان خون مفصلی قبل و بعد از داروهای بتا-آنتاگونیست

شکل ۲، منحنی‌های دوز-پاسخ عروق خونی مفصل را برای آگونیست‌های مختلف گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک نشان می‌دهد. ایزوپرنالین (آگونیست غیرانتخابی گیرنده بتا) گشاد شدگی عروقی وابسته به دوز ایجاد کرد که در



شکل ۲: افزایش جریان خون (درصد افزایش از کنترل) در کپسول خلفی مفصل (زانوی التهابی مزمن) در پاسخ به دوزهای مختلف ایزوپرنالین، سالبوتامول و دوبوتامین

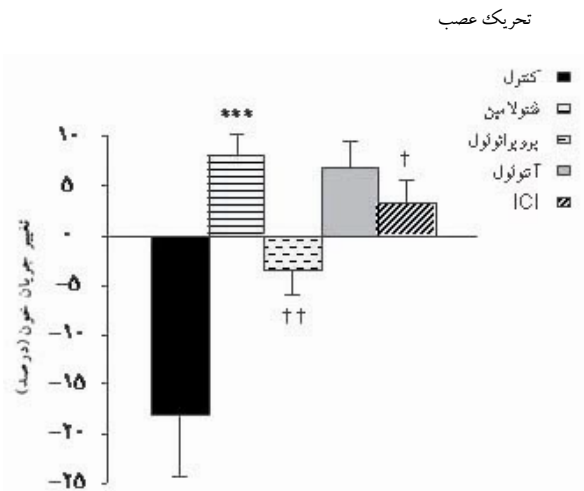
ایزوپرنالین و سالبوتامول گشاد شدن عروقی وابسته به دوز ایجاد کردند که اثر ایزوپرنالین قوی تر بود. نانومول  $n=7$ ، پیکومول  $P=$  و دوز داروهای بتا-آگونیست برای همه حیوانات هر گروه یکسان است. ( $n=21$  در هر گروه)

داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) هنگامی که پاسخ به تحریک عصبی بعد از تجویز آنتاگونیست‌های آلفا و بتا-آدرنرژیک با پاسخ کنترل مقایسه می‌شد (شکل ۱) و به دنبال آن با استفاده از آزمون Tukey Post hoc تجزیه و تحلیل شدند. علاوه بر این، مقایسه بین منحنی‌های دوز - پاسخ مربوط به آگونیست‌ها با هم و منحنی‌های دوز - پاسخ آگونیست‌ها قبل و بعد از آنتاگونیست‌های بتا آدرنرژیک با استفاده از تست Repeated measure ANOVA و به دنبال آن استفاده از آزمون Tukey انجام شد.  $P<0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

بررسی نیم رخ گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک:

الف - اثر تحریک الکتریکی عصب پشتی مفصلی بر جریان خون



شکل ۱: تغییرات جریان خون مفصلی دارای التهاب مزمن

(Mean±SEM) ناشی از تحریک عصب خلفی مفصل

( $10V$ ,  $30\text{ Hz}$ ,  $1\text{ms}$ ,  $30S$ ) در شرایط کنترل و ۴۵ دقیقه بعد از

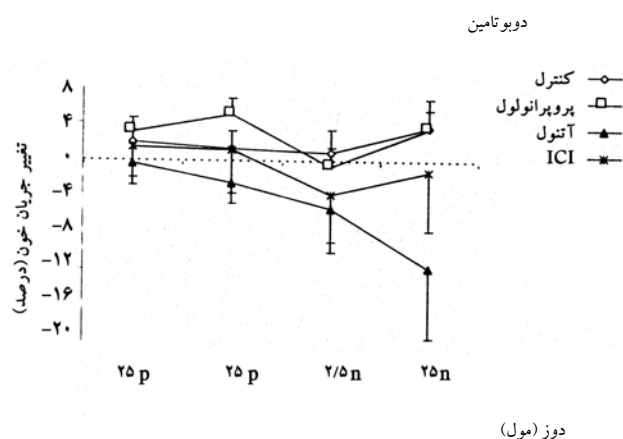
فنتولامین یا ۴۵ دقیقه بعد از تجویز بعدی پروپرانولول، آتنولول یا

ICI در سه گروه خرگوش

( $n=7$  برای شاهد و فنتولامین و  $n=7$  برای هر کدام از آنتاگونیست‌های بتا). ( $P<0/001$ :\*\*\*، در مقایسه با شاهد،  $P<0/01$ :†† و  $P<0/05$ :† در مقایسه با فنتولامین).

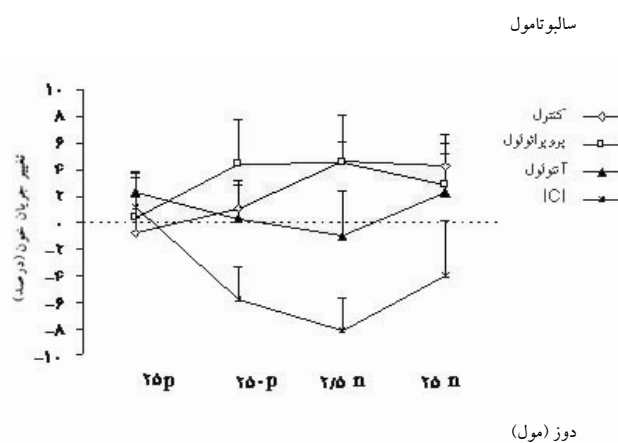
$n=21$  برای شاهد و فنتولامین و  $n=7$  برای هر کدام از آنتاگونیست‌های بتا)

شکل ۱ اثر تحریک PAN را روی جریان خون کپسول خلفی نشان می‌دهد. تحریک عصب موجب کاهش جریان



**شکل ۴:** منحنی‌های دوز - پاسخ عروقی کپسول خلفی مفصل زانوی التهابی مزمن در پاسخ به تزریق داخل شریانی دوزهای مختلف دوبوتامین در شرایط کنترل و بعد از تجویز پروپرانولول، آتنولول یا ICI در سه گروه مختلف خرگوش

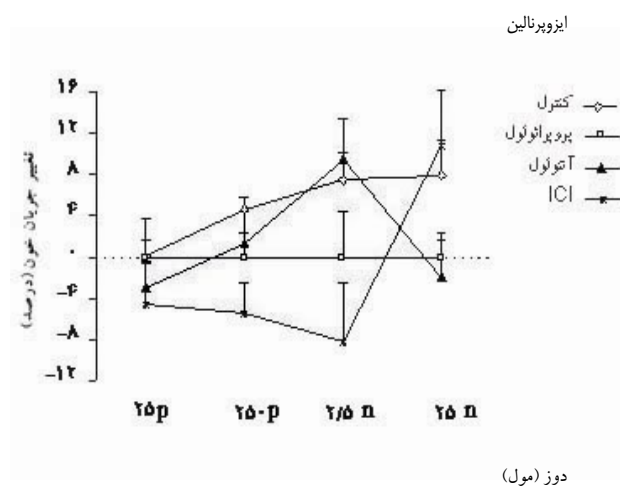
آتنولول منحنی دوز - پاسخ دوبوتامین را به سمت راست منحرف نمود ( $P < 0.05$ ). پروپرانولول و ICI در این مورد اثر معنی‌داری نداشتند. ( $n = 21$  برای کنترل و  $n = 7$  برای هر آنتاگونیست)



**شکل ۵:** افزایش جریان خون در کپسول خلفی زانوی التهابی مزمن در پاسخ به دوزهای مختلف سالبوتامول در شرایط کنترل و بعد از تجویز پروپرانولول، آتنولول و یا ICI در سه گروه ICI انحراف معنی‌دار به سمت راست را در منحنی دوز-پاسخ ایجاد کرد ( $P < 0.05$ ), اما آتنولول و پروپرانولول اثر معنی‌داری نداشتند. ( $n = 21$  برای کنترل و  $n = 7$  برای هر آنتاگونیست)

دوز حداکثر  $25 \text{ nmol}$  به میزان  $8 \pm 4/3$  درصد افزایش جریان خون مفصلی را سبب شد. دوبوتامین (آگونیست انتخابی گیرنده بتا-۱) و سالبوتامول (آگونیست انتخابی گیرنده بتا-۲) با توان کمتری موجب گشاد شدن عروقی شدند. پاسخ به دوبوتامین از دو آگونیست دیگر ضعیف‌تر بود زیرا در سه دوز اول تقریباً بی‌تأثیر بود در حالی که سالبوتامول مانند ایزوپرنالین روند پاسخ وابسته به دوز نشان می‌دهد.

منحنی دوز - پاسخ مربوط به ایزوپرنالین به وسیله پروپرانولول و ICI در مقایسه با آنتاگونیست گیرنده بتا-۱ آدرنرژیک (اتنولول) به میزان بیشتری به سمت راست منحرف شد (شکل ۳). این پاسخ گشادکنندگی، تقریباً به طور کامل توسط پروپرانولول در همه دوزهای مصرفی و در سه دوز اول توسط ICI مهار شد ( $P < 0.05$ ).



**شکل ۳:** منحنی‌های دوز - پاسخ عروقی کپسول خلفی مفصل زانوی التهابی مزمن در پاسخ به دوزهای مختلف ایزوپرنالین در شرایط کنترل و بعد از تجویز پروپرانولول، آتنولول یا ICI

اثر دو آنتاگونیست ICI و پروپرانولول بر منحنی دوز-پاسخ ایزوپرنالین معنی‌دار است ( $P < 0.05$ , ANOVA). ( $n = 21$  برای کنترل و  $n = 7$  برای هر آنتاگونیست).

منحنی دوز - پاسخ دوبوتامین به وسیله آتنولول به سمت راست منحرف شد. اثرات دو آنتاگونیست دیگر غیرمعنی‌دار بود (شکل ۴).

جدول ۱: فشار متوسط شریانی و میزان جریان خون پایه مفصلی در شرایط کنترل و بعد از تجویز آنتاگونیست‌های مختلف آلفا و بتا آدرنژیک

آنتاگونیست بتا			فتنولامین (n=۲۱)	شاهد (n=۲۱)	گروه عامل
ICI (n=۷)	آتنولول (n=۷)	پروپرانولول (n=۷)			
۹۶/۲±۵/۸	۷۸/۲±۶	۸۳/۳±۵/۱	۶۴/۱/۳±۳/۴	۸۸/۱±۴/۳	فشار متوسط شریانی (mmHg)
۱۸۰±۱۱/۴	۱۵۵±۱۶/۴	۱۹۳±۳۸	۱۱۱/۸±۱۶	۲۰۱/۹±۲۱	جریان خون مفصل (واحدهای اختیاری)

شکل ۵، منحنی‌های دوز-پاسخ سالیوتامول را در شرایط کنترل و در حضور پروپرانولول، آتنولول و ICI نشان می‌دهد. ICI انحراف معنی‌دار به سمت راست را در منحنی دوز-پاسخ ایجاد کرد. دو آنتاگونیست دیگر تأثیر غیر معنی‌داری بر منحنی دوز-پاسخ سالیوتامول داشتند. آنتاگونیست‌های بتا-آدرنژیک به دنبال فنتول‌آمین بعضی اثرات اضافی بر روی فشار خون سیستمیک و جریان خون پایه مفصل داشتند (جدول ۱). فنتولامین فشار متوسط شریانی را بیش از ۲۵ درصد کاهش داد ( $P < 0.01$ ). تجویز پروپرانولول اثر اندکی داشت، اما آتنولول کاهش حدود ۱۵ درصدی را در فشار خون حیوانات مورد مطالعه موجب شد ( $P < 0.05$ ). ICI حدود ۱۰٪ فشار خون را افزایش داد. تغییرات در جریان خون پایه مفصل، کم و بیش منعکس کننده تغییرات در فشار خون است (جدول ۱) که در مورد فنتولامین و آتنولول کاهش جریان خون به ترتیب با  $P < 0.01$  و  $P < 0.05$  معنی‌دار است.

### بحث

افزایش جریان خون در مفاصل ملتهب می‌تواند ناشی از کاهش در تون سمپاتیکی عروق، یا ناشی از رهائش میانجی‌های شل‌کننده عروقی موضعی از یاخته‌های ملتهب یا انتهای اعصاب حسی باشد. مطالعات قبلی، نقش سیستم عصبی سمپاتیکی را در تنظیم جریان خون مفصل طبیعی خرگوش نشان داده‌اند (۱۷، ۱۵، ۱۳، ۴). در مطالعه حاضر، تحریک عصب مفصلی خلفی، جریان خون مفصل دارای التهاب مزمن را به میزان  $18/1 \pm 6/5$  درصد در مقایسه با

۹/۹±۲/۳ درصد در مفصل دارای التهاب حاد (۱۶) و ۳۶/۵±۴ درصد در مفصل طبیعی (۴) کاهش داد. بنابراین پاسخ تنگ‌شدگی عروقی ناشی از تحریک سمپاتیکی که تحت شرایط التهاب حاد به میزان معنی‌داری کاهش می‌یابد، با مزمن شدن التهاب به میزان زیادی جبران گردیده و به میزان پاسخ طبیعی نزدیک می‌شود. معکوس شدن تنگ شدن عروقی به گشاد شدن عروقی به وسیله فنتولامین (شکل ۱)، نشان‌دهنده نقش گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک در این پاسخ تنگ کننده عروقی و حضور گیرنده‌های بتا آدرنژیک که موجب گشاد شدن عروق می‌شوند می‌باشد. کاهش اثر انقباضی سمپاتیکی در اثر التهاب می‌تواند به دلیل کاهش تعداد فیبرهای سمپاتیکی مفصلی (۱۰) یا افزایش آزاد شدن نوروپپتیدهای متسع کننده عروقی در موضع التهاب باشد (۸، ۷). مهار کامل پاسخ گشاد کننده عروقی ایجاد شده توسط فنتولامین با مصرف پروپرانولول (شکل ۱) نیز دخالت گیرنده‌های بتا آدرنژیک را در این گشاد شدگی عروقی تایید می‌کند. حدود ۵۰ درصد این پاسخ به وسیله آنتاگونیست انتخابی گیرنده بتا-۲ آدرنژیک یعنی ICI مهار شد، در حالی که آنتاگونیست گیرنده‌های بتا-۱ یعنی آتنولول بر این پاسخ گشادشدگی بی‌تأثیر بود (شکل ۱). این امر احتمالاً نشان دهنده این است که در مفاصل دارای التهاب مزمن اکثریت گیرنده‌های بتا از نوع بتا-۲ هستند. پاسخ قوی تر عروق مفصلی دارای التهاب مزمن به داروی انتخابی بتا-۲ آگونیست سالیوتامول در مقایسه با پاسخ ضعیف تر به داروی انتخابی بتا-۱ آگونیست دوباتامین نیز یافته مذکور را تأیید می‌کند (شکل ۲). اثر دوباتامین از

گردیده است (۱۸)، پاسخ قوی تر بتا-۲ در مطالعه حاضر معرفی این است که روند تبدیل گیرنده‌های بتا-۱ به بتا-۲ که توسط التهاب حاد شروع گردیده با ادامه التهاب و مزمن شدن آن همچنان ادامه می یابد.

در مجموع، نتایج این مطالعه تغییر در پاسخ‌های بتا در عروق مفصل زانوی خرگوش را در مدت ۲۸ روز التهاب مزمن ناشی از تزریق آنتی ژن نشان داد که این ممکن است ناشی از تغییر مشابهی در تراکم گیرنده‌های آدرنرژیک مذکور باشد. به نظر می‌رسد با مزمن شدن التهاب که در آن از شدت اولیه تولید فاکتورهای گشادکننده عروقی مانند CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide) و ماده P ناشی از التهاب حاد کاسته می‌گردد (۶) سیستم عصبی سمپاتیک نقش تضعیف شده خود را باز یافته ولی روند تبدیل گیرنده‌های بتا-۱ به طرف بتا-۲ همچنان ادامه می‌یابد. اهمیت و هدف از این تغییر گیرنده‌ها از بتا-۱ به بتا-۲ در روند التهاب حاد و مزمن هنوز دقیقاً مشخص نیست ولی این احتمال وجود دارد که با کاهش تعداد فیبرهای سمپاتیکی ناشی از التهاب مزمن (۱۰) سیستم سعی نماید هم‌زمان با افزایش تولید نوراپی نفرین از منابع دیگر با افزایش تعداد گیرنده‌های بتا-۲ که واسطه گشادشدگی عروقی هستند جریان خون کافی برای مفصل تأمین نماید. احتمال مطرح دیگر این است که سیستم تمایل دارد با افزایش پاسخ  $\beta_2$  از سرعت پیشرفت بیماری بکاهد و یا عوارض آن را کاهش دهد (۱۱، ۵).

### تشکر و قدردانی

هزینه انجام این طرح تحقیقاتی به وسیله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان تأمین شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی و شورای پژوهشی دانشگاه تشکر به عمل می‌آید. نویسندگان هم‌چنین بر خود لازم می‌دانند که از خانم فرزانه اسمعیلی به دلیل کمک در کارهای آزمایشگاهی و از آقای دکتر عباس بهرام‌پور برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها قدردانی و تشکر نمایند.

منحنی دوز - پاسخ تبعیت نکرده و تست آماری نیز تأثیر آن را غیرمعنی‌دار نشان داده است در حالی که اثر سالب‌تامول از منحنی مذکور تبعیت کرده است و بنابراین از طریق گیرنده‌های خود (بتا-۲) عمل نموده است. در این مورد منحنی دوز - پاسخ ایزوپرنالین نیز توسط ICI به راست منحرف گشته و تحت تأثیر اتنولول قرار نگرفته است (شکل ۳). منحنی دوز - پاسخ دوبوتامین به وسیله اتنولول به سمت راست منحرف شد (شکل ۴)، ولی اتنولول چنین تأثیری بر منحنی سالب‌تامول نداشت (شکل ۵)، که این معرف انتخابی عمل کردن دوبوتامین برای گیرنده‌های بتا-۱ و عدم تأثیر آن بر گیرنده‌های بتا-۲ است. منحنی دوز-پاسخ سالب‌تامول نیز تحت تأثیر ICI به راست منحرف گردید (شکل ۵)، ولی ICI تأثیری بر منحنی دوبوتامین نداشت (شکل ۴) و این نشانگر این است که ICI نیز در دوز مصرفی در این مطالعه، فقط گیرنده‌های بتا-۲ را مهار کرده است. اینکه به نظر می‌رسد پروپرانولول در بلوک گیرنده‌های بتا-۲ و بتا-۱ به ترتیب ضعیف‌تر از ICI و اتنولول عمل کرده باشد می‌تواند ناشی از اختلاف توانایی (potency) این داروها در بلوک گیرنده‌ها باشد زیرا که در مورد همه آنتاگونیست‌ها دوز مساوی (بر حسب وزن بدن حیوان) استفاده شده و در نتیجه سطح پلاسمایی یکسانی برای سه دارو ایجاد گردیده است. بنابراین با سطح پلاسمایی یکسان تفاوت اثر می‌تواند به دلیل potency متفاوت باشد. به هر حال موضوع مذکور در نتیجه گیری تحقیق تفاوتی ایجاد نمی‌کند زیرا با توجه به شکل ۱ که یافته اصلی تحقیق است و در آن هیچ آنتاگونیستی به کار نرفته و صرفاً تحریک عصب سمپاتیک صورت گرفته اکثریت گیرنده‌ها از نوع بتا-۲ می‌باشند. بنابراین، در مقایسه با مطالعات قبلی نویسندگان بر روی مفاصل سالم، که پاسخ گیرنده‌های بتا-۱ آدرنرژیک غالب بوده است (۱۵)، و در مفاصل دارای التهاب حاد که تساوی پاسخ‌های بتا-۱ و بتا-۲ مشاهده

## Summary

### The Effect of Chronic Inflammation on Knee Joint Vascular $\beta$ -adrenoceptors in Rabbit

Najafipour H, PhD.<sup>1</sup> and Niyazmand S, MSc.<sup>2</sup>

1. Professor of Physiology, Medical School and Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. PhD. Student of Physiology; Joint Program of Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran and Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*It has been shown that inflammation reduces the effectiveness of sympathetic nerves in the regulation of knee joint blood flow, and the joint vascular- $\beta$  adrenoceptors are changed due to acute inflammation from a majority of  $\beta$ -1 to an equality of  $\beta$ -1 and  $\beta$ -2 receptors.. To investigate the role of sympathetic nerves in nerve induced vasoconstriction and changes in joint vascular  $\beta$ -adrenoceptors due to chronic inflammation, in 21 NZW rabbits, chronic inflammation of the knee joint was induced by Antigen induced arthritis method. In experiment day animals were anesthetized and the caudal femoral artery, a branch of tibial artery, was cannulated to inject the  $\beta$ -agonists intra-arterially close to the joint. Posterior articular nerve (PAN) was dissected free for electrical stimulation. Electrical stimulation of PAN resulted in  $18.1 \pm 6.2\%$  reduction of blood flow measured by laser Doppler flowmetry technique. Phentolamine completely blocked the constrictor response and reversed it to vasodilation ( $+8 \pm 2.2\%$ ). Propranolol (nonselective  $\beta$ -adrenoceptor antagonist) completely blocked this vasodilation response and reverse it to a vasoconstriction. Atenolol ( $\beta$ 1 antagonist) nonsignificantly reduced the dilator response but ICI 118551 ( $\beta$ 2 antagonist) reduced 50% of this response. Close intra-arterial injection of different doses of  $\beta$ -agonists, Isoprenaline (nonselective  $\beta$  agonist), Dobutamine ( $\beta$ 1 agonist) and Salbutamol ( $\beta$ 2 agonist) increased the joint blood flow by the potency rank order of "Isoprenaline > Salbutamole > Dobutamine". The isoprenaline dose response curve was shifted to the right by  $\beta$  adrenoceptor antagonists by the potency rank order of propranolol > ICI > atenolol. Overall this study showed that  $\beta$ 2-adrenoceptor response is stronger and suggested that the shift from  $\beta$ 1- to  $\beta$ 2-adrenoceptor subtype started by acute inflammation continued in chronic inflammation and the sympathetic vasoconstrictor response was nearly recovered toward normal compared to acute inflammation.*

**Key Words:** Chronic inflammation,  $\beta$ -adrenoceptors, Blood vessels, knee joint, Rabbit

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2004; 11(4):197-205

## References

1. Barone R, Pavaux C, Bli PC and Cuq P: Atlas of Rabbit Anatomy. Masson and Co. Paris 1973;.
2. Dawson J, Engelhardt P, Kastelic T, Cheneval D. and MacKenzie A. Effects of soluble interleukin-1 typeII receptor on rabbit anigen-induced arthritis:clinical, biochemical and histological assessment. *Rheumatology* 1999; 38(5): 401-406
3. Dick WC, Jubb R, Buchanan WW, Williamson J, Whaley K and Porter BB. Studies on the sympathetic control of normal and diseased synovial blood vessels: The effect of  $\alpha$  and  $\beta$  receptor stimulation and inhibition monitored by  $^{133}\text{Xe}$  non clearance technique. *Clin Sci.* 1971; 40(2): 197-209.
4. Ferrell WR and Najafipour H. Changes in synovial  $\text{Po}_2$  and blood flow in the rabbit knee joint due to stimulation of the posterior articular nerve. *J Physiol* 1992; 449: 607-617.
5. Guirao, X, Kumar A, Katz J, et al. Catecholamines increase monocyte TNF receptors and inhibit TNF through  $\beta$ 2 adrenoceptor activation. *Am J Physiol* 1997; 273(6 pt1): E1203-E1208.



6. Janig W, Levine JD and Michaelis M. Interactions of sympathetic and primary afferent neurons following nerve injury and tissue trauma. *Prog Brain Res* 1996; 113: 161-84.
7. Lam FY and Ferrell WR. CGRP modulates nerve mediated vasoconstriction of rat knee joint blood vessels. *Ann N Yo Acad Sci* 1992; 657: 519-21.
8. Lam FY and Ferrell WR. Acute inflammation of the rat knee joint attenuates sympathetic vasoconstriction but enhances neuropeptide-mediated vasodilatation assessed by laser Doppler perfusion imaging. *Neuroscience*. 1993; 52(2): 443-448.
9. Levine JD, Dardick SJ, Roizen MF, Helms C and Basbaum AI. Contribution of sensory afferents and sympathetic efferents to joint injury in experimental arthritis. *J Neurosci* 1986; 6(12): 3423-3429.
10. Miller L.E, Justen H.P, Scholmerich J and Straub R.H. The loss of sympathetic nerve fibers in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis is accompanied by increased norepinephrine release from synovial macrophages. *FASEB J* 2000; 14(13): 2097-2107.
11. Malfait AM, Malik AS, Marinova-Mutafchieva L, Butler DM, Maini RN and Feldmann, M. The  $\beta_2$ -adrenergic agonist salbutamol is a potent suppressor of established collagen-induced arthritis: mechanisms of action. *J Immunol* 1999; 162(10): 6278-6283.
12. McGrath JC, Brown CM and Wilson VG. Alpha-adrenoceptors: a critical review. *Med Res Rev* 1989; 9(4): 407-533.
13. Najafipour H and Ferrell WR. Sympathetic innervation and  $\alpha$ -adrenoceptor profile of blood vessels in the posterior region of the rabbit knee joint. *Br J Pharmacol*. 1993; 108(1): 79-84.
14. Najafipour H and Ferrell WR. Nitric oxide modulates sympathetic vasoconstriction and basal blood flow in normal and acutely inflamed rabbit knee joints. *Exp Physiol* 1993; 78(5): 615-24.
15. Najafipour H and Ferrell WR. Sympathetic innervation and  $\beta$ -adrenoceptor profile of blood vessels in the posterior region of the rabbit knee joints. *Exp Physiol* 1993; 78(5): 625-37.
16. Najafipour H and Ferrell WR. Role of prostaglandins in regulation of blood flow and modulation of sympathetic vasoconstriction in normal and acutely inflamed rabbit knee joints *Exp Physiol* 1994; 79(1): 93-101.
17. Najafipour H and Ferrell WR. Comparison of synovial  $P_{O_2}$  and sympathetic vasoconstriction responses in normal and acutely inflamed rabbit knee joints. *Exp Physiol* 1995; 80(2): 209-220.
18. Najafipour H. Alteration in  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoceptor profile of rabbit knee joint blood vessels due to acute inflammation. *Exp Physiol* 2000, 85 (3): 267-273.