تأثير عقار البابافارين على النشاط التقلصي والنشاط الإنزيمي واستهلاك الأوكسجين في العضلات الملساء للفائفي الفأر

خالد حميد محمد سعيد[1]

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v27i1.256

الملخص

النشاط التقصي للعضلات الملساء للفائفي الفأر ظهر على شكل تقلصات ذاتية إيقاعية منتظمة وكان لعقار البابافارين تأثيرات متباينة على النشاط الميكانيكي تبعا لتراكيز العقار المختلفة. فالتراكيز الواطئة (0.001 -0.01) ملي مول لا يكون لها تأثير يذكر في حين وجد أن التراكيز المتوسطة والعالية (0.05-0.2) ملي مول تثبط التقلص الطبيعي ، كما لوحظ أن التأثير المثبط يتناسب مع التراكيز المستعملة فبزيادة التركيز تزداد سرعة الانبساط.بالاضافه إلى ذلك فان التراكيز العالية أدت إلى انبساط تدريجي للعضلة المتقلصة تقلصا مستمرا بواسطة الأستايل كولين ويمنع تطور الجزء ألطوري (Tonic) للتقلص المستمر الذي يسببه الأستايل كولين.أن وجود العقار في المحلول الطبيعي يضعف وبدرجة كبيرة استجابة عضلات أللفائفي للتحفيز بواسطة الأستايل كولين وكذلك أدى وجود العقار في المحلول الخالي من الكالسيوم إلى فشل عودة النشاط الذاتي عند إرجاع الكالسيوم إلية. كما بينت النتائج أن كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل العضلة الكاملة المعاملة بالعقار اكبر مما في العضلة غير المعاملة.أوضحت الدراسة أن هناك علاقة واضحة مترابطة لتأثير التراكيز المختلفة لعقار البابافارين على التقلص الطبيعي واستهلاك الأوكسجين فبوجود العقار يقل التقلص وكذلك كمية استهلاك الأوكسجين المستهلكة.وجد أن لعقار البابافارين تأثير مثبط على النشاط الإنزيمي في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من لفائفي الفأر وأن التأثير يتناسب مع زيادة التركيز. كما وجد أن محلول التفاعل الذي يحتوي على البابافارين يثبط استهلاك الأوكسجين في العضيات المعزولة من لفائفي الفأر ويتناسب التأثير مع التركيز المستعمل.

[1] قسم علم الحيوان، كلية الآداب العلوم، جامعة عمر المختار–درنة–ليبيا.

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

المقدمة

عقار البابافارين من مجموعة (Benzylisoquinoline) شبه القلوية واغلبها مخدرة وتستخرج من مادة الأفيون أو الخشخاش. في العديد من الدراسات التجريبية وجد أن لهذا العقار تأثير مثبط على النشاط الميكانيكي لأنواع مختلفة من العضلات في العديد من الحيوانات Diamondand & Marshall,1969;) Miyamoto,et al.,1974; (Huddart et . Saad, 1980;Gaino, 1984; وقدal.,1983;Trento, (Okamiya ,Y,1991 أظهرت هذه الدراسات أن عقار البابافارين يمتلك فعلا باسطا للعضلات الملساء التي درست. رغم معرفة تأثير العقار المثبط على النشاط العضلي لعدة أنواع من العضلات إلا أن الآلية التي يعمل بها العقار ظلت مثار جدل بين الباحثين. تشير بعض الدراسات الحديثة والعديد من المصادر أن تثبيط الفعالية التقلصية للعضلات الملساء يتم من خلال التغيرات الحاصلة في مستوى النيوكلوتيدات الحلقية مثل cyclic-AMP,GMP وقد أقترح بأن تثبيط الفعالية التقلصية وحدوث الانبساط الذي يتم بواسطة بعض العقاقير مثل مجموعة (methylxanthine) يكون بفعل غير مباشر من خلال تثبيط إنزيم الفوسفوداي أستريز (phosphodiesterase) الذي يؤدي تثبيطه إلى زيادة مستوى (cyclic-AMP) بينما ينتج التقلص من انخفاض مستوى cyclic- AMP أو زيادة- c GMP Bueding et al.,1966; Triner et al., 1971;) Collins et al.,1986; Kuraishi et al.,2006).أن الآلية المقترحة لعمل (c-AMP) تتم من خلال ضخ الكالسيوم إلى مواقع الخزن الداخلية وبالتالي خفض مستوى الكالسيوم الحر Bueding et al., 1966; Andersson,1972;) Nillsson et al.,1978; Kaneda, T, et al.,1998).

وعلى الرغم مما ذكر أعلاه فأن دور (c-AMP) عاملا وسيطا مسببا للانبساط لم تصبح حقيقة مسلما بها بسبب وجود عدة تناقضات بين تثبيط فعالية الفوسفوداي أستريز والفعل الانبساطي لبعض العقاقير شبه القلوية (Diamond,1977 ;Polson et al., 1978). فضلا عن ذلك لا توجد علاقة ثابتة بين مستوى c-AMP وحالة النشاط العضلي (Diamond and Hartile,1974; Diamond,1977). فقد لوحظ أن في بعض عضلات اللبائن الملساء لا توجد علاقة بين مستوى c-AMP وتأثير بعض العقاقير التي تسبب الانبساط فقد وجد في عدد من الدراسات التي استخدم فيها عقار البابافارين والذي يسبب انبساط العضلات الملساء إنه لا توجد علاقة بين تأثيره كعامل باسط ومستوى (c-AMP) إضافة إلى عدم وجود علاقة واضحة بين تثبيط الفوسفوداي أستريز وتأثير البابافارين على العضلات الملساء Kukovetz&Poch,1970;Bauer et al.,1974; Huddart et al., 1984) .

دراسات أخرى تشير نتائجها إلى أن التأثير المثبط للبابا فرين على النشاط الميكانيكي يكون مباشرا من خلال إعاقته لحركة الكالسيوم عبر غشاء الخلية مما يؤدي إلى خفض مستوى الكالسيوم الحر المتوفر للتقلص، ومما يدعم هذا الرأي هو الاختفاء المتزامن للنشاط الميكانيكي والنشاط الكهربائي .(Saad,1980;Huddart,Saad,1981) في العضلة الهيكلية لا يوجد أي شك في مصدر الكالسيوم المستخدم في التقلص والانبساط من أصل خلوي "داخل الخلية"(Sandow, 4; Betra,1976 Isaacson,1967; Huddart,197). وأنالشبكة الساركوبلازمية تمثل مواقع الخزن الأساسي للكالسيوم الداخلي. وعلى العكس مما عليه الحال في العضلات الهيكلية ، فأن مصدر الكالسيوم المنشط غير معروف بشكل دقيق في العضلات الملساء ، لأن كثير من العضلات الملساء تفتقر إلى شبكة ساركوبلازمية نامية بشكل جيد Syson,1973; Huddart) Hunt,1975; Huddart, &Barratt,1979; Barratt,1980). وهذا الوضع أدى إلى الافتراض بأن بعض التراكيب مثل الحويصلات في غشاء الليف العضلي (Sarcolemma) أو تراكيب أخرى مثل الحويصلات تحت الغشاء قد تقوم أو على الأقل تساهم في عملية تنظيم الكالسيوم خلال ربط التهيج – التقلص (Excitation-contraction coupling) Atsmi,1978; Saad,1980; .(Barratt,1980)

من ناحية أخرى لوحظ أن سحب الكالسيوم من المحلول الطبيعي في بعض أنواع العضلات الملساء يؤدي إلى انخفاض في التقلصات الإيقاعية المتناغمة(Saad et al., 1988;Al-Qurashi, 1988;Al-Badran 1989,)وتعود هذه التقلصات إلى طبيعتها عند إعادة الكالسيوم إلى المحلول الطبيعي ، وهذا يشير إلى الدور المهم الذي يلعبه الكالسيوم الخارجي في النشاط الطبيعي لهذه الأنواع من العضلات الملساء. في هذه الدراسة جرت محاولة لمعرفة تأثير عقار البابافارين على النشاط التقلصي على هذا النوع من العضلات والآليات المحتملة لتأثيره المثبط.

مواد وطرق البحث

تحضير المحلول الفسيولوجي القياسي : في هذه الدراسة تم استخدام محلول كربس Krebs salineوالذي يتكون من المواد التالية مقدرة بالملي مول (mM) :

كلوريد الصوديوم NaCl(121) ، كلوريد البوتاسيومKCl (5، 9) كلوريد الكالسيوم$CaCl_2$ (5، 2) ،كلوريد المغنيسيوم$MgCl_2$ (1، 2) ، بيكربونات الصوديوم$NaHCO_3$ (5، 15) ، فوسفات الصوديومNaH_2PO_4(1,2) وسكر الجلوكوز (11,5). تذاب المكونات أعلاه في ماء مقطر ويعدل الأس الهيدروجيني للمحلول إلى (7.3) بواسطة حامض HCL ويحفظ المحلول عند

درجة حرارة 37 ° م ويزود المحلول باستمرار بالهواء أثناء التجارب.

تحضير العقاقير والمواد المستخدمة :يؤخذ الوزن المطلوب من العقار ويضاف إلى محلول كربس الطبيعي الخالي من بيكربونات الصوديوم ويستعاض عنها بكلوريد الكولين حيث يتم تحضير محلول قياسي ذو تركيز (2) ملي مول ويعدل الأس الهيدروجيني إلى (7.3) ويخفض في درجة 37 ° م. تحضير المحلول الخالي من الكالسيوم (calcium free saline) : يحضر بنفس طريقة المحلول الطبيعي ما عدا حذف كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$.

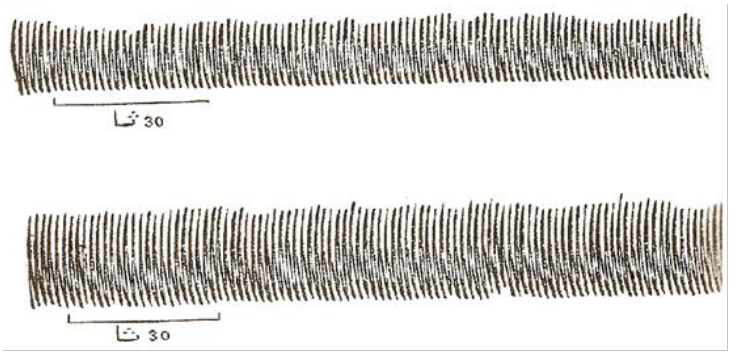
تحضير العضلات : الحيوانات المستخدمة في هذه الدراسة هي الفئران البيضاء المختبرية mus musculus ضرب BALB/c وبأعمار بين (1-3) شهور. يقتل الحيوان بضربة على الرأس ثم تفتح منطقة البطن ويستخرج أللفائفي ويوضع في المحلول الفسيولوجي المشبع بالهواء ويقطع إلى قطع طول الواحدة حوالي 2سم وتنظف القطع من الفضلات والأوعية الدموية وتترك حوالي(20) دقيقة لكي تستقر قبل بدء التجربة ويبدل المحلول كل (10) دقائق (Wali & Huddart et al., 1983 ;Greennid 1986).

تسجيل النشاط التقلصي :تم استخدام جهاز التخطيط العضلي (Oscellograph) لتسجيل النشاط الميكانيكي للعضلات حيث يعلق التحضير العضلي عموديا في حمام عضوي يحتوي على محلول فسيولوجي يتم تهويته باستمرار والحمام العضوي محاط بحمام مائي درجة حرارته (37° م). تربط النهاية العليا للتحضير العضلي بجهاز قياس الشد العضلي (Strain gauge) والذي يربط مباشرة إلى جهاز قياس التخطيط العضلي. في التجارب التي أجريت على عضيات الخلية كالمايتوكوندريا والحويصلات الغشائية والنشاط الإنزيمي وقياس استهلاك الأوكسجين وفقا للطرق التي اتبعت من قبل (Gabela & Raeymaeker ,1976 ; Saad,1980; AL- Badran ,1989).

النتائج و المناقشة

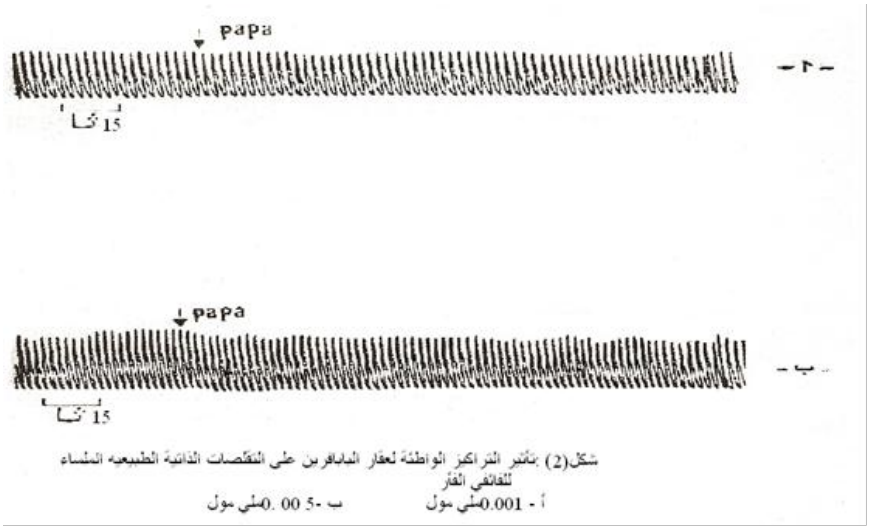
الفعالية الميكانيكية للعضلات الملساء للفائفي الفأر: كما يظهر من الشكل (1) أن النشاط الطبيعي للعضلات الملساء للفائفي الفأر Mus Musculus على شكل تقلصات إيقاعية ومنتظمة Rhythmic spontaneous contraction، وأن هذه الفعالية الإيقاعية الذاتية والمنتظمة تشبه النشاط الميكانيكي لكل من الجرذ الأبيض والهامستر الذهبي (Al-Badran,1989) وقد أظهرت دراسات سابقة بأن فعالية العضلات الملساء تكون مسبوقة بتغييرات كهربائية ، تتألف من موجات منخفضة (Slow wave) وتظهر فوقها قمم جهد الفعل (Spike) (Saad,1980). إن هذا النوع من التقلصات

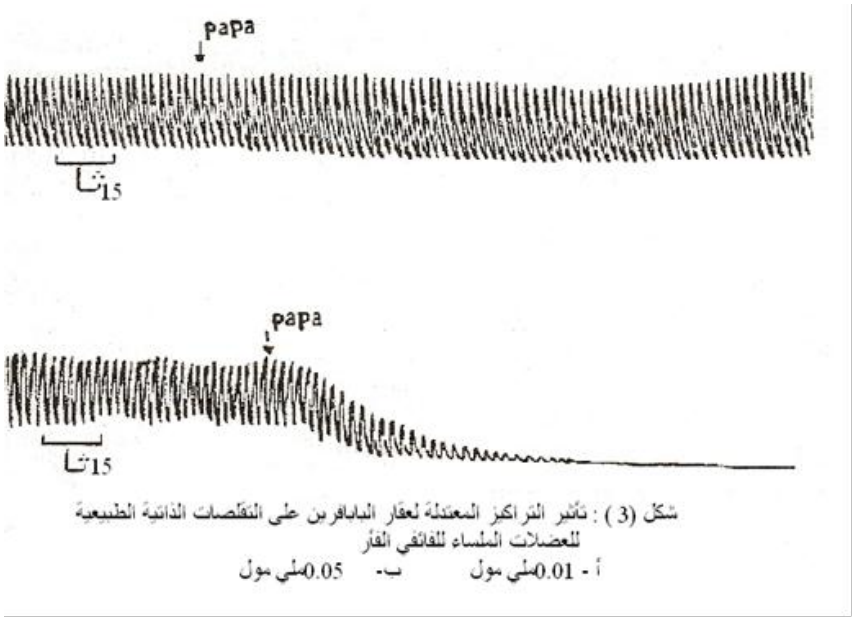
الإيقاعية المنتظمة يدعو إلى الاعتقاد بأنها تعتمد على تغيرات كهربائية إيقاعية منتظمة في غشاء الخلية تسبق التغيرات الميكانيكية.



شكل (1) : التقلصات الإيقاعية الذاتية الطبيعية للعضلات الملساء للفائفي الفأر

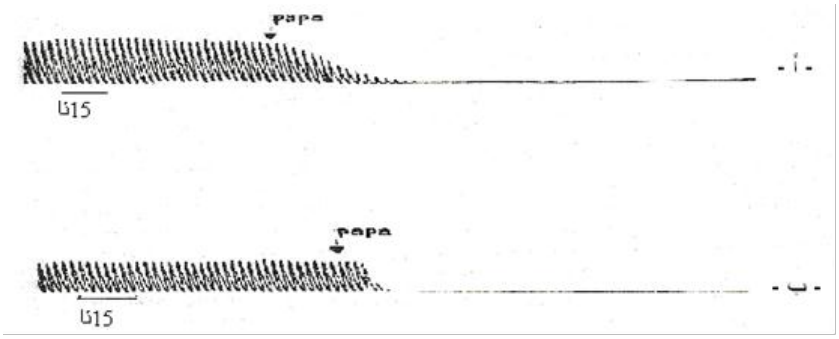
تأثير عقار البابافارين على التقلصات الإيقاعية الذاتية للعضلات الملساء للفائفي الفأر: درس تأثير التراكيز المتدرجة من البابافارين من الواطئة جدا إلى التراكيز العالية وقد وجد أن استجابة هذا النوع من العضلات الملساء للعقار تكون متباينة وتختلف حسب التراكيز المستخدمة ، حيث وجد أن للتراكيز الواطئة جدا (0.001 ، 0.005 ، 0.01) ملي مول من البابافارين لا يكون لها أي تأثير يذكر على الفعالية التقلصية وأن زيادة التركيز من (0.05, 0.2)ملي مول يكون لها تأثير باسط على العضلات الملساء مع انخفاض الشد الأساس (Basic tension) وقد وجد بأن سرعة الانبساط تتناسب مع زيادة تركيز العقار في المحلول كما هو واضح في الأشكال (2 ،3 ،4).





شكل(2) :تأثير التراكيز الواطئة لعقار البابافرين على التقلصات الذاتية الطبيعيه الملساء للفائفي الفأر
أ - 0.001ملي مول ب -5 00 .0ملي مول

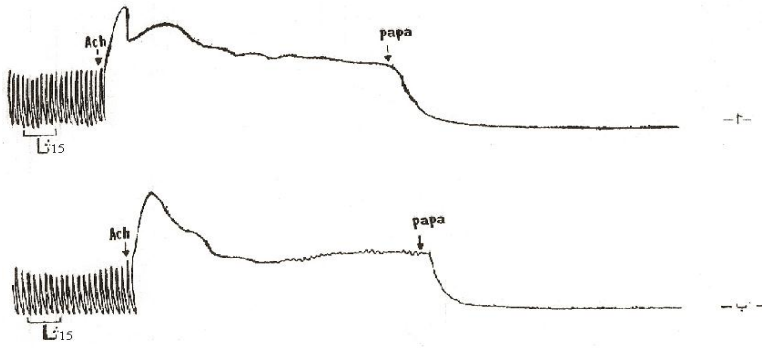
شكل (3) : تأثير التراكيز المعتدلة لعقار البابافرين على التقلصات الذاتية الطبيعية للعضلات الملساء للفائفي الفأر
أ - 0.01ملي مول ب- 0.05ملي مول



شكل (4) : تأثير التراكيز العالية لعقار البابافارين على التقلصات الذاتية لطبيعة العضلات الملساء للفائفي الفأر :

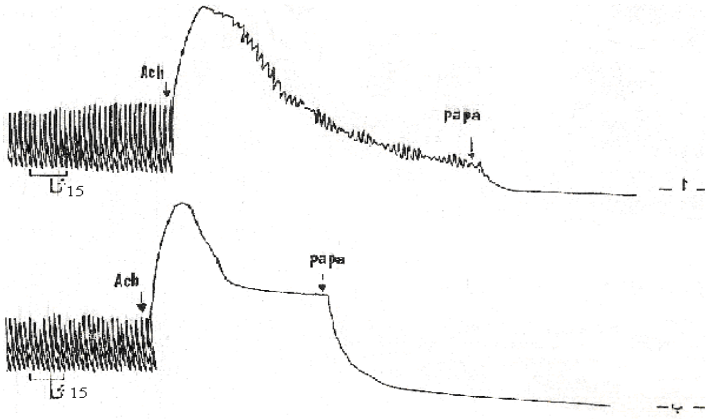
أ – 0.1 ملي مول ب – 0.2 ملي مول

تأثير البابا فرين على نشاط التقلص المستمر الذي يحدثه الأستايل كولين للعضلات الملساء للفائفي الفأر : أن التأثير المثبط للتراكيز العالية من البابافارين على الفعالية التقلصية الذاتية لعضلات للفائفي الملساء ، قد يوحي إلى أن هذا العقار يؤثر على مستوى الكالسيوم الحر داخل الخلية ، أو يتعارض مع حركة الكالسيوم خلال غشاء الخلية ، وللتأكد من هذا الاحتمال أستخدم الأستايل كولين في هذه الدراسة الذي وجد بأنه ذو تأثير مهيج على عضلات الأمعاء الملساء ، ونتائج هذه التجربة موضحة في الشكل (5 ، 6) والتي توضح أن إضافة (0.2) ملي مول من البابافارين إلى التحضير المتقلص تقلصا مستمرا بواسطة تراكيز مختلفة من الأستايل كولين (0.05 ,0,1 , 0.3, 0.6) ملي مول ، يحدث انبساطا سريعا ولاختبار تأثير البابافارين على حركة الكالسيوم الخارجي أعيدت هذه التجربة بإضافة (0.2) ملي مول من العقار إلى المحلول قبل أضافه الأستايل كولين وكما هو واضح في الشكل (7) ، فان وجود العقار أدى إلى عدم حدوث أي استجابة في العضلة للتراكيز المختلفة من الأستايل كولين.

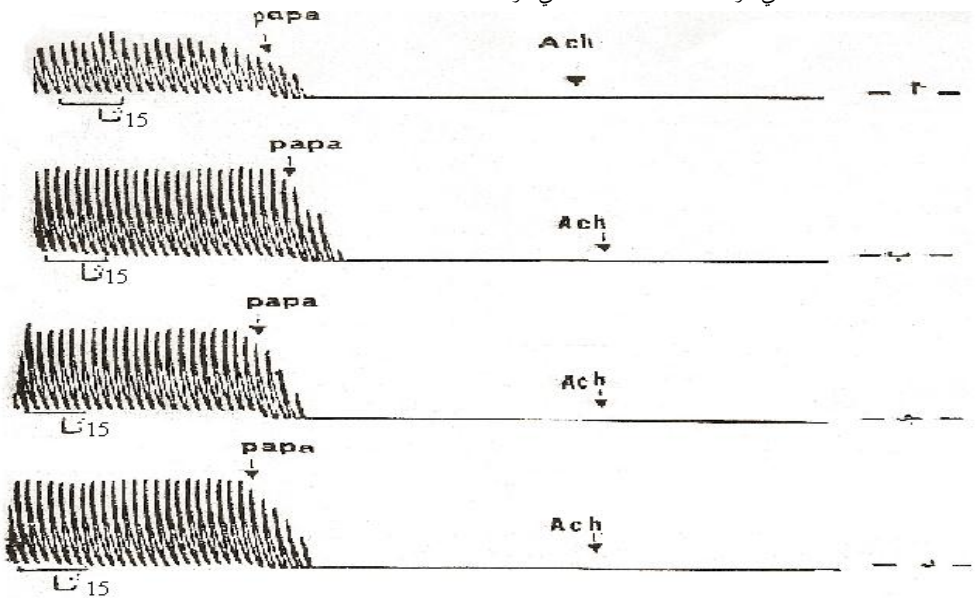


شكل (5) : تأثير عقار البابافارين (0.2) ملي مول على التقلص المستمر الذي يسببه الأستايل كولين :

أ – 0.05 ملي مول ب – 0.1 ملي مول

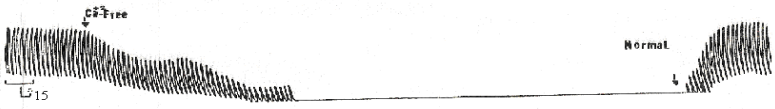


شكل (6) تأثير عقار البابافارين (0.2) ملي مول على التقلص المستمر الذي يسببه الأستايل كولين
أ – 0.3 ملي مول ب – 0.6 ملي مول

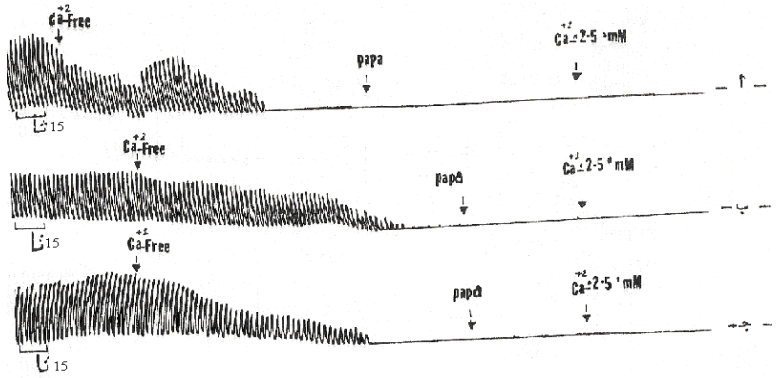


شكل (7) :تأثير عقار البابافارين (0.2) ملي مول على التقلصات العضلية الذاتية
وعلى الإستجابة للأستايل كولين بالتراكيز التالية : أ – 0.05 ملي مول ب – 0.1 ملي مول
ج – 0.3 ملي مول د- 0.6 ملي مول

تأثير عقار البابافارين على النشاط التقلصي للعضلات الملساء للفائفي الفار في المحلول الفسيولوجي الخالي من الكالسيوم Ca^{++} free– : للربط بين تأثير العقار على الفعالية التقلصية الذاتية للفائفي الفار ومصدر ايون الكالسيوم الحر تم دراسة تأثير تراكيز العقار التي تؤدي إلى انبساط العضلة في المحلول الخالي من الكالسيوم وتأثيره على إعادة الكالسيوم (2.5) ملي مول وقد وجد أن التراكيز التي تؤدي إلى الانبساط كانت تسبب في فشل عودة الفعالية الذاتية عند إرجاع الكالسيوم (2.5) ملي مول إلى التحضير الموجود في المحلول الخالي من الكالسيوم حيث أن الفعالية التقلصية الذاتية للفائفي تختفي تدريجيا بعد حذف الكالسيوم من المحلول الطبيعي ثم يحدث الانبساط التام وعند إعادة الكالسيوم إلى المحلول تظهر الفعالية التقلصية مرة أخرى كما في شكل (8) ، وعند إعادة التجربة وبوجود البابافارين في المحلول الفسيولوجي بتراكيز (0.05 ، 0.1 ،0.2) ملي مول فأن إرجاع الكالسيوم إلى المحلول لم يؤدي إلى ظهور النشاط الطبيعي ثانية كما في شكل (9).



شكل (8) : تأثير إعادة الكالسيوم إلى المحلول الطبيعي الخالي من الكالسيوم على النشاط الذاتي للعضلات الملساء للفائفي الفأر.

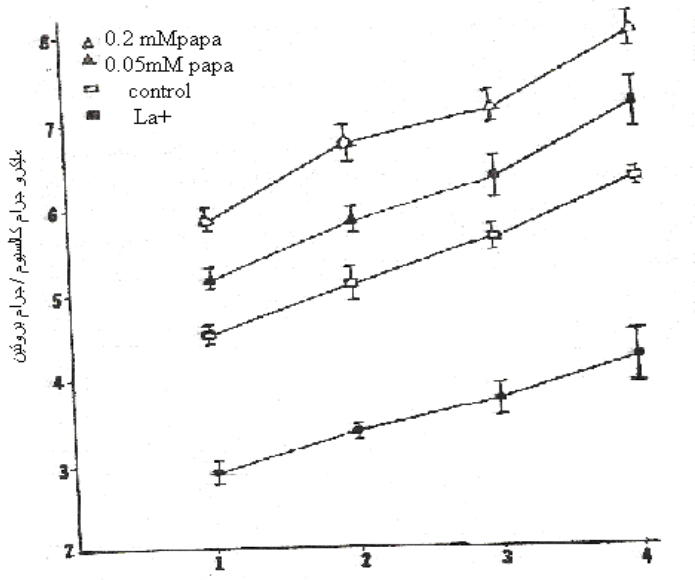


شكل (9) تأثير عقار البابافارين على إستجابة العضلات الملساء للفائفي الفأر لإعادة الكالسيوم (2.5) ملي مول في محلول خالي من الكالسيوم بالتراكيز

أ – 0.05 ملي مول ب – 0.1 ملي مول ج – 0.2 ملي مول

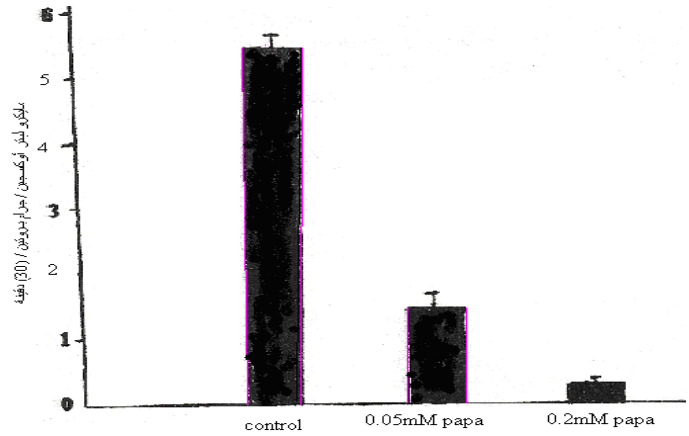
حركة الكالسيوم Ca^{++} - movement :

أن التأثير المثبط للتراكيز المختلفة من البابافارين (0.05 ، 0.2) ملي مول على الفعالية التقلصية الذاتية للفائفي التي تؤدي إلى حدوث الانبساط قد يوحي بأن البابافارين تأثير على مستوى الكالسيوم الحر المتوفر للتقلص والنشاط الطبيعي الناتج بوساطة العوامل المهيجة ، ولتحقيق هذا الغرض فقد درس تأثير العقار على الكالسيوم المأخوذ من قبل الخلايا العضلية وعلى حركة الكالسيوم ضمن غشاء الخلية. وكما هو واضح في الشكل (10) فأن نتائج التجربة تشير إلى أن كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل العضلة بوجود عقار البابافارين أعلى بكثير من كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل التحضيرات العضلية غير المعاملة. وقد استخدمت تجربة سيطرة ثانية وهو استخدام عنصر اللانثنوم La^{+++} حيث أن لهذا العنصر تأثير مثبط على الفعالية التقلصية لعدة من أنواع لعضلات الملساء ومعيق لدخول الكالسيوم الخارجي(Huddart and saad 1977) وتوضح نتائج التجربة إنه سبب انخفاضا حادا في كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل عضلة لفائفي الفار مقارنة مع كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل العضلة غير المعاملة.



شكل (10) : كمية الكالسيوم المأخوذة uptake - Ca^{++} من قبل العضلات الملساء للفائفي الفأر بوجود تراكيز مختلفة من البابافارين وتركيز (1) ملي مول من كلوريد اللانثنوم. (العمود يبين الخطأ القياسي S.E ±).

تأثير البابافارين على استهلاك الأوكسجين Oxygen consumption في العضلة الكاملة : لقد صممت تجربة لقياس كمية الأوكسجين التي تستهلكها العضلات الملساء للفائفي الفأر بوجود تراكيز مختلفة من البابافارين. تشير نتائج هذه التجربة إلى أن كمية الأوكسجين المستهلكة من قبل التحضيرات العضلية تقل مع وجود عقار البابافارين في المحلول وقد وجد بأن التراكيز من العقار التي تؤدي إلى تثبيط التقلص (0.05 ، 0,2) ملي مول تؤدي إلى خفض استهلاك الأوكسجين وقد لوحظ بأن شدة تأثير العقار على استهلاك الأوكسجين يتناسب مع زيادة التركيز والشكل (11) يبين ذلك.

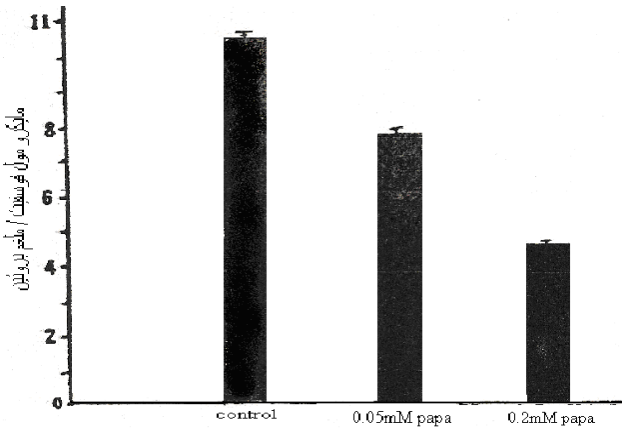


شكل (11) كمية الأوكسجين المستهلكة من قبل العضلات الملساء للفائفي الفأر بوجود تراكيز مختلفة من عقار البابافارين

تأثير عقار البابافارين على النشاط الإنزيمي في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر : لقد درس تأثير عقار البابافارين على النشاط الإنزيمي في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر وقد تم دراسة تأثير تركيزين من العقار وهما (0.05 ، 0,2) ملي مول. وكما نرى في الشكلين (12 ، 13) فأن تأثير

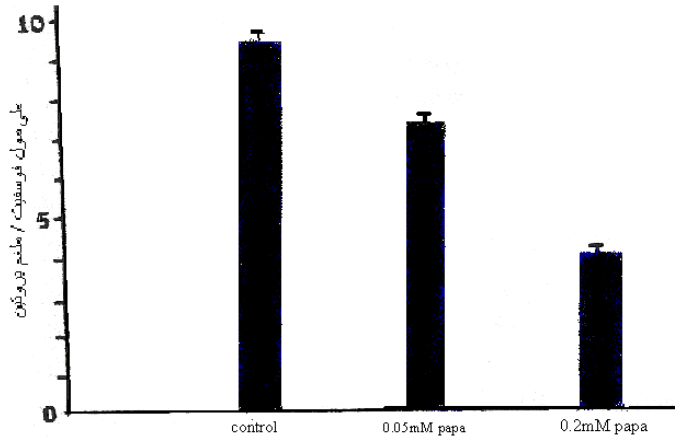
العقار في كلا التركيزين يؤدي إلى خفض النشاط الإنزيمي وحسب التدرج في التركيز أي أن التركيز (0.05) ملي مول أقل تأثيرا من (0.2) ملي مول وكان تأثير العقار على النشاط الإنزيمي في الحويصلات الغشائية أعلى من المايتوكوندريا.

تأثير البابا فارين على استهلاك الأوكسجين Oxygen consumption في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر: لقد أجريت هذه التجربة لمعرفة كمية الأوكسجين التي تستهلكها المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر ومعرفة تأثير عقار البابافارين على كمية الأوكسجين المستهلكة. وكما يلاحظ في الشكلين (14 ،15) فأن كمية الأوكسجين المستهلكة في المايتوكوندريا أكثر من الحويصلات الغشائية وكان تأثير العقار واضحا على كمية الأوكسجين المستهلكة حيث أدى إلى انخفاض كمية الأوكسجين المستهلكة ويتناسب الانخفاض مع زيادة التركيز (0,05 ، 0.2) ملي مول.



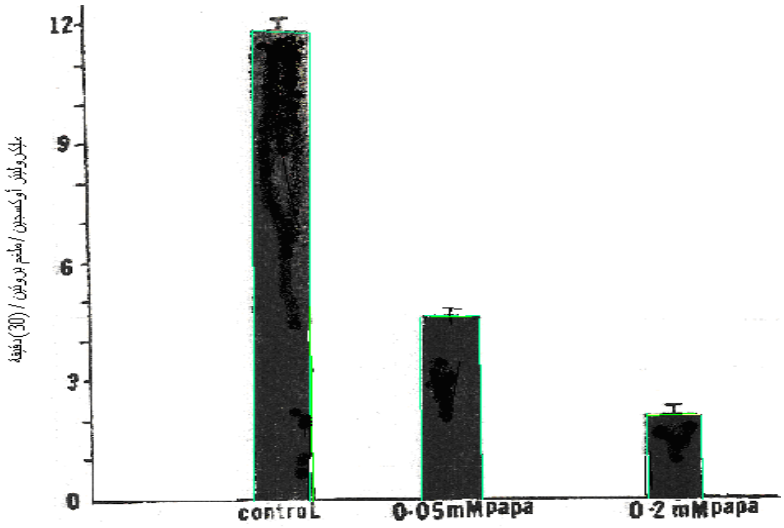
شكل (12) : تأثير تراكيز مختلفة من عقار البابافارين على النشاط الإنزيمي في المايتوكوندريا المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر.

(العمود يبين الخطأ القياسي ± S. E.)

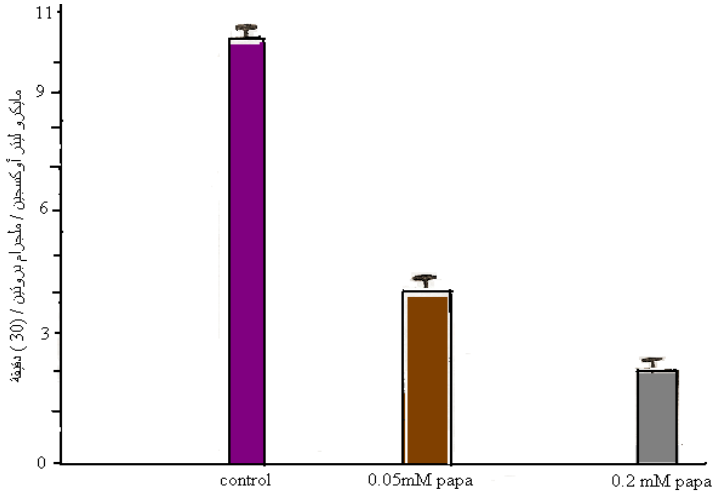


شكل (13) : تأثير تراكيز مختلفة من عقار البابافارين على النشاط الإنزيمي في الحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر.

(العمود يبين الخطأ القياسي ± S. E.).



شكل (14) كمية الأوكسجين المستهلكة من قبل المايتوكوندريا المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر بوجود تراكيز مختلفة من عقار البابافارين (العمود يبين الخطأ القياسي ± S.E).



شكل (15) : كمية الأوكسجين المستهلكة من قبل الحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر بوجود تراكيز مختلفة من عقار البابافارين. (العمود يبين الخطأ القياسي ± .S.E).

المناقشة

لقد أوضحت هذه الدراسة أن الفعالية الميكانيكية للعضلات الملساء للفائفي الفأر تكون على شكل تقلصات إيقاعية ذاتية متناغمة Rhythmic spontaneous contraction وهذه الفعالية تشبه إلى حد كبير فعالية العضلات الملساء للفائفي الجرذ الأبيض (Saad,(1980 وعضلات لفائفي الأرنب (Saad et al., 1988) وعضلات لفائفي الهامستر الذهبي (Al-Badran,(1989. كما أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن أيون الكالسيوم الخارجي يلعب دورا حاسما في النشاط الطبيعي الإيقاعي للعضلات الملساء للفائفي الفأر وهذا يشير إلى أن أيون الكالسيوم الخارجي ربما يكون حامل لجهد الفعل مثلما هو الحال في العضلات الملساء للفائفي الجرذ (Saad,(1980. والهامستر الذهبي (Al-Badran, (1989 , Han,D,et al (2007). أن الكالسيوم الداخل والمسئول عن التغيرات الكهربائية عبر غشاء الخلية قد يؤدي إلى تحرير الكالسيوم المرتبط بالمواقع السطحية للغشاء أو من المخازن الداخلية إن وجدت ، وربما تكون مشابهة لما يعمله جهد الفعل في العضلات الهيكلية(Tomiyama et al.,1973 ; Devine et al., 1973; Huddart&

Saad,1977 ; Barratt, 1980; Iguchi, et al., 2006) .من العقاقير الطبيعية المهيجة لعضلات لفائفي اللبائن الملساء ، التي درست سابقا هو الأستايل كولين ، وفي دراستنا الحالية وجد أن له تأثير مهيج على عضلات لفائفي الفأر ويتميز بحدوث تقلص مستمر تعتمد قوته على التركيز المستخدم من عقار الأستايل كولين وينتج بسبب زيادة مستوى الكالسيوم الحر عن طريق زيادة نضو حية غشاء الخلية لأيون الكالسيوم الذي ربما يؤدي إلى تحرير الكالسيوم المرتبط بالمواقع الداخلية إن وجدت. وما يعزز هذا الرأي هو أن حذف الكالسيوم من المحلول الفسيولوجي أدى إلى انخفاض كبير في استجابة عضلات لفائفي الفأر إلى الأستايل كولين وهذا يشير إلى أن مصدر الكالسيوم المستخدم في التقلص الذي يحدثه الأستايل كولين قد يكون خارجي وربما يلعب الكالسيوم المرتبط بالمواقع السطحية للغشاء دورا في ذلك.أوضحت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود النشاط الإنزيمي لإنزيم Ca-ATpase (Mg-) في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية (Mitochonderia and membrane vesicles) المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر يعتمد بالدرجة الأساس على أيوني الكالسيوم والمغنسيوم وهذا الإنزيم معروف بأنه المسئول عن تنظيم حركة الكالسيو م في العضلات وهذا يتفق مع ما وجده(Saad, 1980; Al-Badran, 1989) في أنواع أخرى من العضلات الملساء. حيث وجد أن النشاط الإنزيمي ينخفض انخفاضا حادا في حالة غياب الكالسيوم والمغنسيوم كذلك فأن نتائج هذه الدراسة تتفق مع ما وجد من نشاط إنزيمي في الحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الهيكلية والقلبية والتي تعتمد على أيوني الكالسيوم والمغنسيوم (Hasselbach, 1964; Weber,1966; Williams,1976). ومما يجدر ملاحظته من نتائج هذه الدراسة هو قدرة الحويصلات الغشائية على أخذ كمية من الكالسيوم أكبر من قدرة المايتوكوندريا على أخذ الكالسيوم وهذا قد يوحي بأن غشاء الخلية والتراكيب الحويصلية تحت الغشاء ربما تلعب دورا أكبر في التنظيم الأيوني وخاصة أيون الكالسيوم في هذا النوع من العضلات الملساء وربما تمثل مواقع خزن في توازن بين المحيط الداخلي للخلية وخارجها ، أن هذا الرأي يتفق مع وجهة نظر باحثين آخرين(Batra,1973; Malmstrom, and Carafoli, 1977; Saad,2006).أن ما أفرزته نتائج الدراسة الحالية من تأثير مثبط لعقار البابافارين على النشاط الميكانيكي الطبيعي للعضلات الملساء للفائفي الفأر وعلى التقلصات المنتجة بواسطة المحفزات الطبيعية كالأستايل كولين ، يتفق مع ما أشارت إليه دراسات أخرى على أنواع من العضلات الملساء Santi et al., 1964; Urano et) al.,1974; Huddart et al.,1984;Shimizu, K, 2000). وكذلك على التقلصات الإيقاعية للقلب (Reinhardt et al., 1977).تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن الفعل المثبط للتراكيز المتوسطة

والعالية من البابافارين يوحي بأنها تضعف حركة الكالسيوم عبر غشاء الخلية أو خفض تركيزه عن طريق زيادة ضخه إلى مواقع ربط قد تكون داخلية أو غشاء الخلية أو الاثنين معا وكما هو واضح من الشكل (10) حيث تشير نتائج التجربة إلى أن كمية الكالسيوم المأخوذة من قبل العضلات المعاملة بالعقار اكبر من كمية الكالسيوم في العضلة غير المعاملة بالعقار وهذه النتيجة تتعارض مع الفعل المثبط للتراكيز المتوسطة والعالية من العقار على النشاط الميكانيكي ، أن التفسير المقبول لحالة الزيادة الكبيرة في كمية الكالسيوم المأخوذة في التحضيرات المعاملة بالعقار ، هو أن الكالسيوم في العضلات المعاملة مرتبط وليس حر أي الكالسيوم غير متوفر لعملية التقلص.هذا يتوافق مع دراسات أخرى Goodford,1967; Joiner, 1972 ; Wali & ، (; Bonev et al., 1988 Greenid,1986) حيث تشير إلى وجود علاقة بين تنشيط الفعالية التقلصية الذاتية للعضلات الملساء وحركة الكالسيوم الداخلية ، وأن أي فعل أو عامل يتعارض مع حركة الكالسيوم عند المواقع السطحية لغشاء الخلية أو يعيق حركة الكالسيوم الداخلية يؤدي إلى إيقاف التقلص. وما يعزز هذا الرأي بأن الكالسيوم غير متوفر للتقلص هو فشل الأستايل كولين على إحداث استجابة تقلصيه واضحة عند وجود العقار في المحلول الفسيولوجي. وعليه يمكن الاستنتاج أن أحدى آليات الفعل المثبط للعقار على النشاط الطبيعي للعضلات الملساء للفائفي الفأر يكون من خلال زيادة ضخ الكالسيوم الداخلي الحر إلى مواقع ارتباطه عن طريق تنشيط ما يسمى مضخة الكالسيوم (Ca-pump) بشكل غير مباشر وبتأثير مركبات أخرى. أن هذا الرأي يتفق مع عدد من الدراسات التي تقترح بأن الفعل المثبط لعقار البابافارين يكون غير مباشر من خلال ما يطلق عليه بالرسول الثاني (second messenger) والآلية المقترحة هو أن عقار البابافارين يؤدي إلى تثبيط الفوسفوداي أستريز (phosphodiesterase) وهذا يؤدي إلى زيادة مستوى (c-AMP) في الخلية(Koutsoviti, M et al.,2008; Iguchi, M et al.,2006). أما الجانب الآخر من نتائج الدراسة والذي يتناول تأثير العقار على النشاط الإنزيمي لإنزيم (Ca-Mg ATpase) في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر والذي يبين بوضوح التأثير المثبط للعقار على النشاط الإنزيمي ويزداد التأثير مع زيادة التركيز ، وهذا التأثير يتماشى مع تأثير العقار على النشاط الميكانيكي. أن تأثير العقار على النشاط الإنزيمي لإنزيم (Ca-Mg ATPase) قد يعني التأثير على مصادر الطاقة الضرورية للتقلص والناتجة من تحلل المركبات الفوسفاتية إضافة إلى تثبيط دور هذا الإنزيم في عمليات التنظيم الأيوني لبعض الأيونات والتي تلعب دورا حاسما في دورة التقلص والانبساط.

أن انخفاض النشاط الإنزيمي بوجود عقار البابافارين قد يكون ناشئا بسبب تأثير العقار على حركة الكالسيوم عبر غشاء الخلية أو المخازن الداخلية إن وجدت. كما أظهرت النتائج إن للعقار تأثير واضح على كمية الأوكسجين المستهلكة في المايتوكوندريا والحويصلات الغشائية المعزولة من العضلات الملساء للفائفي الفأر فوجد أن كمية الأوكسجين المستهلكة تتناسب تناسبا عكسيا مع زيادة تراكيز العقار وقد يعود السبب في ذلك إلى انخفاض مستوى الكالسيوم الحر الضروري للنشاطات الإنزيمية بسبب تأثير العقار على غشاء الخلية وبالتالي التأثير على الفعاليات الخلوية وهذه النتائج تتفق مع أفرزته نتائج دراسات أخرى على أنواع أخرى من العضلات الملساء (Huddart and Saad, 1981 ; Shimizu, K, et al., 2000 ; Shibata, M, et al., 2005). والتي أظهرتتأثير العقار على استهلاك الأوكسجين في المايتوكوندريا وفي العضلات الكاملة وهذا قد يشير إلى أهمية الأوكسجين في الحصول على الطاقة المباشرة الضرورية للتقلص سواء للبروتينات التقلصية أو التنظيم ألايوني أثناء عمليات التقلص ويتضح من ذلك بأن العقار يؤثر على أكثر من فعالية فسيولوجية للخلية العضلية، هذا من ناحية ، ومن الناحية الثانية فأن النتائج تشير إلى أن لعقار البابافارين تأثيرات متعددة على النشاطات الحيوية وعلى أكثر من عضي من عضيات الخلية العضلية.

The effect of papavarine on contractile and enzyme Activity and on Oxygen consumption of ileal smooth muscle of laboratory mice

Khalid H. M. Saad[1]

Abstract

Ileal smooth muscle of the laboratory mice exhibits regular spontaneous rhythmic contractions. The Different concentrations of papavarine exert different effect on ileal smooth muscle of the laboratory mice. Its found that low concentrations (0.001-0.01)Mm where with effect while the moderate and high concentrations (0.05-02) mM caused instant relaxation of normal activity ,the inhibitory effect of the drug was dose dependent.Also the high concentration of papaverine that caused instant relaxation of normal activity caused gradual decline of acetylcholine – induced tonic contracture of laboratory mice smooth muscle.

The presence of the drug in the normal saline reduces largely the response of the muscle to acetylcholine. It has been found that muscle incubated in a Ca^{+2} – free physiological solution failed to restore normal spontaneous activity to the re-introduction of calcium.also it has been found that the Ca^{++} taken by muscle in the presence of the drug was much higher than in un treated muscle.

This study showed a clear relationship between the inhibitory effect of the drug on the muscle contractions activity and on its effect on oxygen consumption.The presence of papaverine in the incubation medium inhibits the enzyme activity in isolated mitochondria and membrane vesicles from ileal smooth muscle of laboratory mice and the effect was dose dependent as well as Inhibition of oxygen consumption in these fraction.

[1]*Zoology* **Department** *Faculty of Sci* **- Omar El-Mokhtar University –** *Derna* **Libya.**

المراجع

Al-Badran, I , A.(1989) The effect of Quinine on the mechanical activity 1- Al-Badran, I , A and oxygen consumption of ileal smooth muscle of Golden Hamester and Laboratory Mice.Msc. Salahaddin, Univ.

Altura, B, M ,and Altura, B, T, (1974). Influence of magnesium on drug-induced contraction on ion content in rabbit aorta. Am. J. physiol.(London), 220:938-944.

Andersson, R, G ,(1972).cyclic-AMP and Ca+2 in relaxation in intestinal smooth muscle. Nature New,Biol.,238,119-122.

Atsumi, A, (1978). Sarcoplasmic Reticulum and intracellular calcium Localization at rest and during contraction in mytilus smooth muscle. Arch.Hist.Jap.,41,No.3,239-258.

Barratt, L ,(1980),Spontaneous activity and related calcium movement of Fish intestinal smooth muscle. ph. D. Thesis, Lancaster Univ.

Barratt, L, and Huddart, H ,(1979). Sponaneous activity and related Ca+2 movement of Fish intestinal smooth muscle, the effect of depolarization, Caffeine and Lanthanum. Gen. pharmac. ,10,21-30.

Batra, S, (1973).The role of mitochonderia calcium uptake in contraction and relaxation of myometerium Biochem. Bio phy.Acta.,305,428-432.

Bauer, V, Kadlec ,D, and Seferna, L,(1974).Antinecotinic action of papaverine on intestine, Pharmac. Res. Comm..vol.6, 35-46.

Bonev, A, Boev, K, and Spassov, G,(1988).Photo-induced removal of Nifedipine Blocked of Ca+2 entry in different phases of gastric plateau action. Meth. and Find Exp. Pharmacal., 10(2): 111 – 115.

Bueding, E, Butcher, R, W, Hawkins, J, and Sutherland, E, E, (1966).The effect of epinephrine on cyclic 3,5-AMP and hexose. Phosphate in intestinal smooth muscle. Biochem. Biophys. Acta. ,115, 173-178.

Devine ,C, E, Somlyo, A, V, and Somlyo, A,P,(1973).Sarcoplasmic reticulm and mitochondria as action accumulation sites in smooth muscle-phil. Trans. R. Soc. Lond. ,B. , 265 : 17-23.

Diamond , J,(1977). Evidence for dissociation between cyclic Nucleotide levels and tension in smooth muscle in : The Biochemistry of smooth muscle. Edited by N. L. Stephens. Pp. 343-360.Univ. part press, Baltimore, London.

Diamond , J, and Marshal, J, M, (1969). Smooth muscle relaxation dissociation between resting membrane potential and resting tension in rat myometrium. J. Pharmac. Exp. Ther. ,168: 13 -20.

Gabella , G, and Raeymaeker , L, (1976). Effect of Collagenase on mechanical activity and fine structure of an intestinal smooth muscle.cell. Tiss. Res. 173, 29 – 44.

Gaino , R, M, and Trento, M, (1984). Prostacyclin induced contraction of Guinea – Pig ileum ; influence of drugs affecting calcium flux in the smooth muscle. European. J. Pharmc. , 102 , 529 -533.

Goodford, P, J, (1967). The calcium content of the smooth muscle of Guinea-pig taenia coli. J. Physiol (London) , 192 : 145 -147.

Hasselbach, W, (1964).Relaxation and the sarcotubular pump. Fendn. Proc. 23 , 909 - 912.

Han, dong Han , Geun, K, Y, Kim, &Jin, C, (2007). The effect of papaverine on ion basilar smooth muscle cells. Neurological Research.
vol. 29. No. 6.pp 544 – 550(7).

Huddart , H, Bayton, E, and Shanklin, J, (1983). Influence of some common methylzanthines on contractile response and calcium mobilization of ileal , Vas deferens and bladder smooth muscle. J. Exp. Biol., 107 : 73 -93.

Huddart, H, and Hunt , S, (1975) , Visceral muscle – its structure and Function. Blackie, Glasgow.

Huddart , H, Hunt, S, and Oates , K,(1977). Calcium movement during contraction in mollscan smooth muscle and the loci of calcium binding and release. J. Exp. Biol. ,68 : 45- 46.

Huddart , H, Langton , P, D, and Saad, K, H, M, (1984). Inhabitation by papaverine of calcium movement and tension in the smooth muscle of rate Vas deferens and urinary bladder. J. Physiol., 49 : 183 -194.

Huddart , H, and Saad, K,H, M, (1977). Qunine and lanthenium effect on contractility and calcium movement of rat ileal smooth muscle. Gen. Pharmac; 8 , 341 – 347.

Iguchi, M, Nakajima, T, Hisasda, T, Sugimoto, T, and Kurachi, Y,(2006). On the mechanism of papaverine inhibition of the voltage-dependent Ca+2 current in isolated smooth muscle cells from the guinea pig trachea.J. of Ethnophamacology.vol. 105, Issue 3.

Kaneda, T, Shimizu, K, Nakajyo, S, & Urakawa, N, (1998).The difference in the inhibitory mechanisms of papaverine on vascular and smooth muscles.European J. of Pharmc. Vol. 355, 3 ,

Koutsoviti, M, Papadopoulou,T, A, Psarra & Batzias, G,(2008).Milrinone and the Ophylline act as lower esophageal sphincter relaxing agents : a comparative pharmacodynamic study in the rabbit. J. of Veterinary Pharmac. And Therapentics. Vol. 32 Issue 2- page 177-181.

Kuraishi, Y, Morota, T, Asano, T, & Tani , T, (2006) Glycycoumarin from Glycyyrrhizae radix acts as a potent antispasmodic through inhibition of phsphodiesterase J. of Ethnophamacology.vol. 105, Issue 3.

Okamyiya, Y, Kishimoto, T, & Komiko, A, (1991). Effect of TC-81, a new dihydropyridine, on K+- induced contraction in rat aorta.
European J. of Pharmc. Vol. 205.

Malmstrom, K, and Carafoli, E, (1977). The interaction of Ca+2 with mitochondria from human mitochondria.Arch. Biochem. Biophys.
.666 – 657 ،182

Miyamoto , M, Takayanagi, L, Ohkubo, H, and Takayi , K, (1976). Actionof papaverine on intestinal smooth muscle and it's inhibition of cyclic –AMP and cyclic-GMP phosphodiesterase Jap. J. Pharmac. 26, 114 – 117.

Nilsson , K, B, Andersson, R,G, Mohme-Iudhom, E, and Lundholm, L,(1978). Some prperties of Ca+2 – binding subfraction isolated from rabbit colon muscle. Acta. Pharmac. Toxical. 42 , 185 -193.

Reinhadrt , D, Roggenboch, W, Brodde, D,E, and Schumann, H, J, (1977).Influence of papaverine and isoprenaline on contractility and cyclic AMP level of left Guinea –pig artia at different rates of beat. Nauyn – Schmiedebergs Arch. Pharmac. 229 , 2 -15.

Saad , K, H, M, (1980). Calcium regulation during Excitation – contraction coupling of mammalian smooth muscle.Ph. D. Thesis ,Univ. of Lancaster.

Saad, k, H, M,(2006).The effect of Procaine on the mechanical and enzyme activity of ileum smooth muscle of the rat. In the press.

Saad , K, H, M, Ibrahem, S, S, and Shawkat, S,S,(1988).The effect of quinine on spontaneous rhythmic contraction of rabbit ileal smooth muscle.
Iraq, J. Agricu. scien.,6 (1),7-16.

Santi, R, Ferrari, M, and contessa, A, R, (1964).On the mechanism of spasmolytic effect of papaverine and certain derivatives, Biochem. 13 , 153 – 158

Shibata, N, Ichioka, S, & Kamiya, A, (2005).Estimating oxygen consumption rates of arteriolar walls under Physiological condition in rat skeletal muscle. Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol 289 : H295-H300.

Shimizu, K, Ichikawa, T, Urakawa, N, & Nakajyo, S, (2000). Inhibitory mechanism of papaverine on the smooth muscle of Guinea pig Urinary bladder. The Japanese J. Of Pharmc. Vol. 83: No. 2.

Shimizu, K, Yoshihara, E, Takahashi, M, Gotoh, K, Orita, S, Urakawa, N, & Nakajyo, S,(2000). Mechanism of relaxant response to papaverine on the smooth muscle of Non-pregnant rat Uterus.J. Of smooth muscle Research. Vol. 36 No. 3.

Tomiyama , A, Takayamai, L, and Takagi, K, (1973). Relaxation of intestinal smooth muscle and calcium movement. J. Pharmac. 25, 65 – 68.

Triner , L, Nahas , G, G, Vulliemoz, Y, Overwec, N, I, A, Verosky, M, Habif , D, V, and Nagi, S, H,(1971). Cyclic-AMP and smooth muscle function. Ann. N. Y. Acad. Sci. 185, 458 – 476.

Urnno , T, Takayanagi, L, Tokunaga, M, Kubota, K, and Takagi, K,(1974). Action of papaverine aspaminol and bile salts on intracellular cyclic-AMP level Jap. J. Pharmac. 24, 681 – 686.

Wali F, A, and Greenid, E, (1986). Effect of calcium antagonists on vascular responses of bovine coronary artery to acetylcholine , noradrenaline, and 5-hydroxytryptamine. Jap. J. Physiol. , 36, 807 – 813.

Weber, A, M, (1966). Energized calcium transport and relaxation factor in Current to pieces in Bioenergetics. L. 203 – 254.

William, A, J, (1976).The effect of Quinine on calcium transport in rat cardiac muscle. Ph.D. Thesis, Lancaster, Univ.