



**FINAL REPORT ON SCIENTIFIC RESEARCH
DEPARTMENT OF RADIOBIOLOGY**

**ACTIVATION OF VASCULAR CHOLINERGIC AND
ADRENERGIC RECEPTORS INDUCED BY GAMMA RAYS**

DR.G. ALYA

AECS - B\ FRSR 195

OCTOBER 1999

**PLEASE BE AWARE THAT
ALL OF THE MISSING PAGES IN THIS DOCUMENT
WERE ORIGINALLY BLANK**



SY0000816



الجمهورية العربية السورية
 هيئة الطاقة الذرية
 دمشق - ص.ب. ٦٠٩١

تقرير نهائي عن بحث علمي
 قسم البيولوجيا

تأثير الأشعة المؤينة غاما على تنشيط المستقبلات الكولينرجية
 والأدرينرجية في العضلات الملساء الوعائية

الدكتور غسان عليا

تشرين أول ١٩٩٩

هـ ط ذ س - ب / ت ن ب ع ١٩٥

الجمهورية العربية السورية
هيئة الطاقة الذرية
قسم البيولوجيا

تأثير الأشعة المؤينة غاما على تنشيط المستقبلات الكولينرجية
والأدرينرجية في العضلات الملساء الوعائية

الدكتور غسان عليا

تشرين أول ١٩٩٩

هـ ط ذ س - ب / ت ن ب ع ١٩٥

حقوق النشر:

يسمح بالنسخ والنقل عن هذه المادة العلمية للاستخدام الشخصي بشرط الإشارة إلى المرجع ،
أما النسخ والنقل لأهداف تجارية فغير مسموح بهما إلا بموافقة خطية مسبقة من إدارة الهيئة.

I - خلاصة:

يسهم تنشيط المستقبلات الأدرينرجية والكولينرجية الوعائية بدور هام في تحديد المقوية العضلية الوعائية من جهة والمقاومة الوعائية المحيطة من جهة أخرى، وهذان العاملان أساسيان في المحافظة على ضغط دموي مستقر.

يهدف البحث إلى إلقاء الضوء على أثر الأشعة المؤينة غاما على تنشيط المستقبلات الأدرينرجية والكولينرجية وتحديد أثر جرعات مختلفة من الأشعة على تنظيم الاستجابة التقلصية للألياف العضلية الوعائية المعزولة من وريد الباب الكبدي للجرذ (تشعيع كامل الجسم باستخدام منبع كوبالت ^{60}Co). أظهرت النتائج أن الحساسية الإشعاعية للمستقبلات الأدرينرجية تفوق بشكل ملحوظ حساسية المستقبلات الكولينرجية، حيث أن كلا من الكلونيدين (منبه للمستقبلات الأدرينرجية $\alpha_1 < \alpha_2$)، والفينيل افرين، وهو أكثر نوعية للمستقبلات من النمط α_1 ، يحرض في الألياف الشاهدة على زيادة الفعالية التقلصية الوعائية اعتباراً من تراكيز منخفضة ويكون التأثير الأعظمي E_{max} بحدود تركيز 10^{-5} M . بينما أشارت التجارب على حيوانات مشعة (بجرعة 1- 3 - 5 غري) إلى انزياح هام لتأثير كل من الكلونيدين والفينيل افرين بحيث يكون التأثير الأعظمي بتركيز 10^{-6} مول عند التشعيع بجرعة 5 غري مثلاً.

وعلى عكس العقاقير الأدرينرجية، يخفض التشعيع ردة فعل الليف العضلي الوعائي التقلصي تجاه تنبيه المستقبلات الكولينرجية (مسكارينية في حالة الليف العضلي الوعائي) ويلاحظ أن

هناك انزياح واضح للتأثير الأعظمي للاستيل كولين بتأثير الجرعة الإشعاعية وفق:

$$E_{\max}1Gy > E_{\max}3Gy > E_{\max}5Gy$$

تظهر نتائج التجارب أن التشعيع يقلل حساسية الألياف العضلية الوعائية تجاه التنبیه الكولينرجي، وهكذا فإن تراكيز الاستيل كولين التي تحرض أكثر من 50% من زيادة القوة النقلية، يكون أثر هذه التراكيز قليلاً بعد التشعيع. تشير هذه النتائج أن حساسية المستقبلات الأدرينرجية الإشعاعية أكبر من تلك للمستقبلات الكولينرجية الوعائية.

II- مقدمة:

من المعروف أن الوظيفة الأساسية للفوسفوليبيدات في الأغشية البيولوجية على اختلافها واختلاف وظائفها، تتركز في تأمين حاجز مائع كاره للماء Fluid Hydrophobic barrier تتغرس فيه الجزيئات البروتينية ومنها طبعاً ما يكون المستقبلات في الغشاء، إضافة لذلك فإن الفوسفوليبيدات تلعب دوراً "وظيفياً" نوعياً في تنظيم تنشيط البروتينات الغشائية وتأثرها مع هذه الفوسفوليبيدات، وتوضحت في السنوات الأخيرة حقيقة أن هذه الفوسفوليبيدات تلعب دوراً طلائعاً precursors لجزيئات فعالة بيولوجياً بعد تنشيط المستقبلات الغشائية المختلفة، وهكذا فإن فعالية أي خلية في الجسم وتنشيطها يخضع لتنظيم دقيق عن طريق عوامل خارجية المنشأ تكون بمثابة إشارات خارج خلوية (نواقل عصبية، هرمونات، منبهات مختلفة، الخ ..) تنقل لداخل الخلية عبر مستقبلات متنوعة في الغشاء الخلوي Wess 1997.

يؤثر الاستيل كولين Acetylcholine على نمطين من المستقبلات المتميزة وهي المستقبلات المسكارينية Muscarinic، والمستقبلات النيكوتينية Nicotinic، ويعتبر الوسيط العصبي الأساسي في النهايات العصبية المحيطية حيث يلعب دوراً فيزيولوجياً أساسياً في النقل

العضلي، سواء تقلص العضلات الهيكلية أو العضلات الملساء إضافة لدوره في تنظيم الإفراز في النسيج الغدية المفرزة المختلة.

Feletou *et al* 1986, Gaulfied 1993, Watson and Arkinstall 1994.

ونشير إلى أن المستقبلات الكولينرجية في الألياف العضلية الملساء الوعائية من الوريد المدروس هي مستقبلات مسكارينية (Alya *et al* 1984) وتم تحديد هذه المستقبلات في السنوات الأخيرة في النسيج المختلفة وهي (Muscarinic M1, M2, M3, M4, M5 receptors) وفي العضلات الملساء يصادف بشكل مميز المستقبل المسكاريني M2 (Watson *et al* 1994). أما الجملة الأدرينرجية فتلعب دورا مميزا في المحيط على مستوى تنظيم التوازن القلبي الوعائي وذلك عبر المستقبلات الأدرينرجية حيث يقود تنشيط المستقبلات الأدرينرجية من النمط ألفا-1 في الخلايا العضلية الملساء الوعائية إلى انقباض وعائي Vasoconstriction وزيادة التدفق الدموي، وبالتالي زيادة الضغط الدموي. وقد تم تحديد توزع المستقبلات الأدرينرجية بأنماطها المختلفة في الخلايا العضلية الملساء بشكل عام والوعائية بشكل خاص وصنفت بناء على دراسات بيولوجية جزيئية وفيزيولوجية وفارماكولوجية إلى مستقبلات $\alpha 1$ ، $\alpha 2$ ، β أدرينرجية. وفي دراسة على وريد الباب الكبدي للجرذ أوضحنا سابقا وجود المستقبلات الأدرينرجية من النمط ألفا-1 $\alpha 1$ -adrenoceptors (Alya *et al* 1984, Alya 1987).

إن أولى الأبحاث التي أجريت على الجملة الوعائية الدموية الدورانية لدراسة تأثير الأشعة المؤينة على الضغط الدموي كانت بمعظمها إحصائية ومورفولوجية، فقد أشار Wykoff منذ عام 1972 إلى أن تشعيع الجرذان بجرعة 700 راد (تشعيع كامل الجسم) يؤدي إلى انخفاض ضغط الدم بعد التشعيع بوقت قصير، وخلص من دراسته إلى أن هذه الظاهرة ربما تكون ناتجة عن أذية إشعاعية تتناول النهايات العصبية والجملة الأدرينرجية بشكل خاص على

مستوى الخلية العضلية الملساء الوعائية، وأشار Wykoff إلى أن الفعاليات التقلصية المرتبطة بالجملة الكولينرجية لم تتأثر بالتشعيع. وهذه نقطة هامة تثير الجدل في النتائج التي خلص إليها هذا الباحث.

نذكر أيضا في هذا المجال دراسات Timmermans ومساعديه عام 1980 على التدفق الدموي عبر الدورة المساريقية بعد التشعيع والتي قادت إلى افتراض أن تشعيع كامل الجسم يؤدي إلى تغيير ملحوظ في ردود الفعل الوعائية على مستوى المستقبلات الفا- الأدرينرجية في الخلية العضلية الملساء الوعائية من الشريان المساريقي، إن هذه الدراسات لم تأخذ بالحسبان الفروق الفارماكولوجية بين المستقبلات الأدرينرجية رغم أنها أوضحت أن تثبيط المستقبلات الفا- الأدرينرجية يلغي الانقباض الوعائي وإن دور التشعيع يتجلى في التخفيف من درجة الانقباض الوعائي.

وفي إطار دراسة الدور المحتمل الذي يمكن أن تلعبه العقاقير الأدرينرجية في الوقاية الإشعاعية نذكر دراسات Kulinsky عام 1986 الذي أوضح أن حقن الجرذان بجرع مختلفة من العقاقير الأدرينرجية يزيد في نسبة البقاء على قيد الحياة (Survival) بعد التشعيع بجرعات هامة من الأشعة المؤينة.

إن آلية الوقاية الإشعاعية من الأثر المميت لأشعة غاما حسب Kulinsky يمكن أن تكون عبر تنشيط المستقبلات α_1 الأدرينرجية رغم أنه لم يوضح آلية خلوية دقيقة، والفروق المحتملة لأثر أشعة غاما على تنشيط المستقبلات الكولينرجية الأدرينرجية، وعلى نفوذية الغشاء الخلوي Permeability، أي بشكل غير مباشر على عمل القنوات الأيونية بأنماطها المختلفة التي تنتشط سواء عن طريق التبدلات التي قد تطرأ على كمون الغشاء الخلوي (Potential Operating Channels (POC)، Sophia et al 1993 أو القنوات الأيونية التي تنتشط بشكل لاحق لتثبيته المستقبلات الغشائية

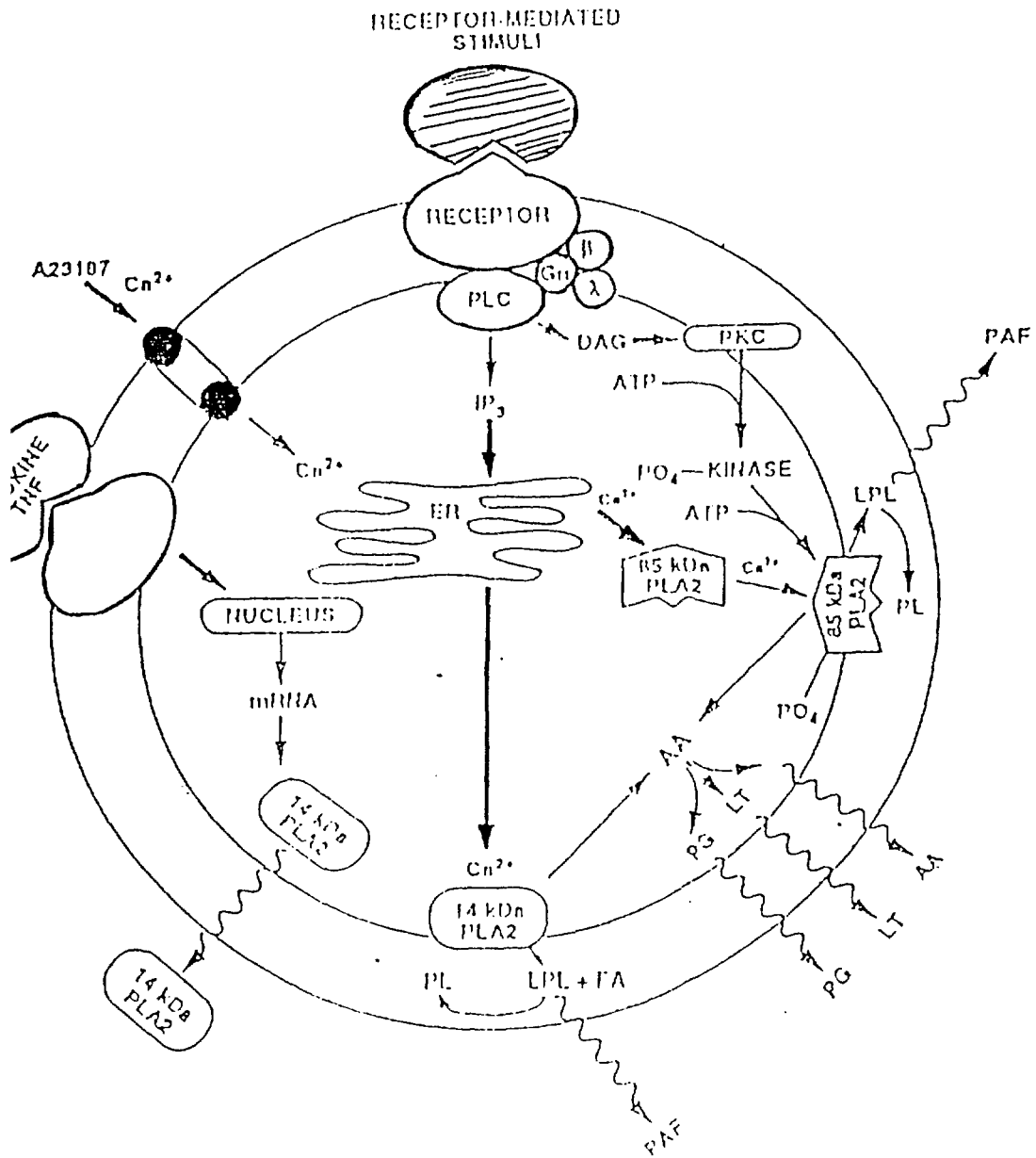
(Receptor Operating Channels (ROC)، فقد أوضحت الدراسات الحديثة في هندسة وآلية نقل الإشارة عبر الغشاء الخلوي أن ارتباط المنبه أو الرابطة Ligand binding إلى مستقبلات غشائية يسبب تغيرات شكلية Conformational changes في البنية الفراغية لبروتين المستقبلات التي تتوسط تأثير هذا المنبه على بروتين معروف باسم G-protein يتوضع في الجهة السيتوبلاسمية للغشاء، وقد تم تحديد بنية هذا الـ G-protein وتبين أنه مكون من ثلاث تحت وحدات Sub-units معروفة بـ α ، β ، γ (الشكل 1).

وأشارت هذه الدراسات أن التفاعل المتمثل بارتباط المنبه بالمستقبل الغشائي ينشط بشكل خاص توسط تحت الوحدة α لإمالة الغوانوزين ثلاثي الفوسفات GTP إلى غوانوزين ثنائي الفوسفات GDP والفوسفات اللاعضوي Pi مما يقود إلى فك ارتباط أني للبروتين G عن المستقبل وإلى انفصال تحت الوحدة α عن المعقد $\beta\gamma$ وهكذا فإن تحرير تحت وحدات البروتين المرتبط بالمستقبل الغشائي والمعروف اصطلاحاً بـ (GPCRs) G-Protein (Coupled Receptors) هذه تحت الوحدات Sub - units تصبح بعدها قادرة على التفاعل مع أنزيمات نوعية وتنشيط قنوات أيونية تقود بالنهاية للاستجابة الفيزيولوجية.

Benham et al (1989), Conklin & Bourne (1993), Alya (1995),

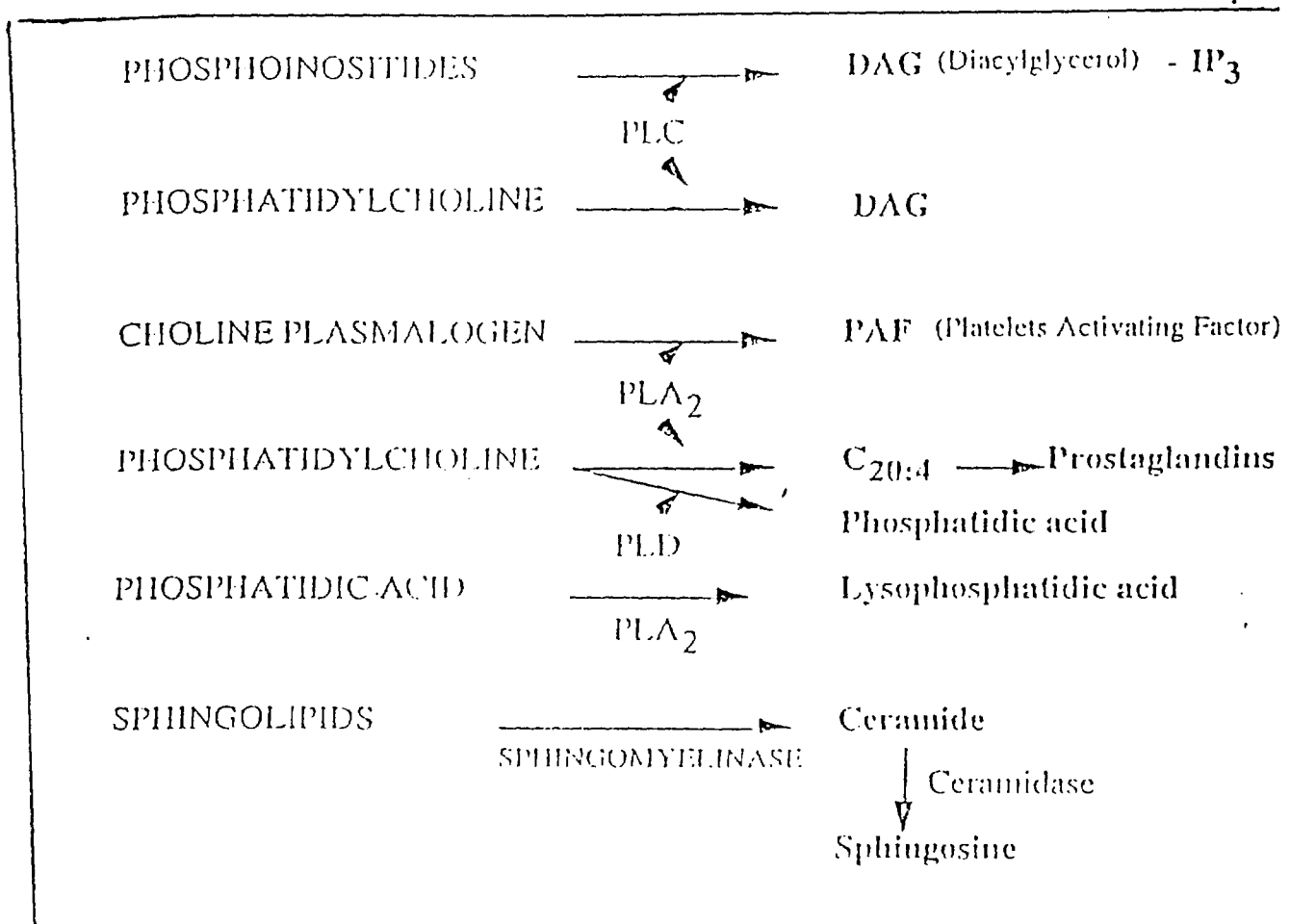
Neer (1995), Wess (1997).

يأتي البحث الحالي مكملاً لأعمالنا السابقة وذلك لدراسة أثر التشعيع على تنشيط المستقبلات الكولينرجية والادرينرجية التي يقود تنبيهها إلى تنشيط هام لأنزيمات الفوسفوليبياز Phospholipases ويأتي في مقدمتها من حيث الأهمية الفوسفوليبياز - C الذي يتوسط إمالة الفوسفواينوزيتيدات Phosphoinositides والفوسفاتيديل كولين Phosphatidylcholine، هذه الإمالة تحرر بدءاً من فوسفوليبيدات بنائية جزيئات ليبيدية رسول كالإينوزيتول ثلاثي فوسفات IP_3 Inositoltriphosphat، وثنائي اسيل الغليسرول DAG Diacylglycerol



الشكل 1: إن ارتباط المستقبل بالمنبه النوعي يقود لتنشيط توسط تحت الوحدة $G \alpha$ لاماها الغوانوزين ثلاثي الفوسفات وتنشيط الانزيم الحيوي الفوسفوليپاز وخصوصا "منها الفوسفوليپاز-C وهذا بدوره يرفع تراكيز الاينوزيتول ثلاثي الفوسفات المعتبر كمرسال ثاني قادر على تنبيه إغشية الشبكة السيتوبلاسمية الداخلي لتحرير الكالسيوم الايوني الذي يتوسط تفاعلات متعددة.

فوسفات IP_3 Inositoltriphosphat، وثنائي اسيل الغليسرول DAG Diacylglycerol



إن الاينوزيتول ثلاثي الفوسفات IP_3 يلعب دور المرسل الثاني Second messenger ضمن

الخلية حيث يقوم بتنبيه الشبكة السيتوبلاسمية الداخلية (ER) Endoplasmic Reticulum ويحرر الكالسيوم منها مما يؤدي بالمحصلة لرفع تركيز الكالسيوم الخلوي الداخلي

(انظر الشكل 1). وهذا يقود لزيادة الفعالية الخلوية [Nishizuka 1992 Ca^{2+}]

على اختلاف أنماط وتموضع هذه الخلايا سواء كانت خلايا عضلية، أو خلايا مفرزة الخ ..

III - المواد والطرائق والقياسات:

III-1- المواد وتحضير المحاليل:

استخدمنا في تحضير المحاليل الفيزيولوجية الأملاح المعدنية التالية وجميعها من شركة

Merk-ألمانيا :

NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂.6H₂O, NaH₂PO₄.2H₂O, (NaOH, HCl)

D+ Glucose ,NaHCO₃,Hepes, N-[Hydroxy Ethyl] Piperazine- N-[2-

Ethane Sulfonic acid] (Sigma).

إضافة للأملاح المستخدمة في تحضير المحاليل الفيزيولوجية استخدمت المواد الفارماكولوجية

التالية وجميعها من شركة سيغما SIGMA الأمريكية:

الكлонيدين Clonidine، الاستيل كولين Acetylcholine، الفنيل افرين Phenylephrine،

البروبرانولول Propranolol، الاتروبين Atropine، البرازوزين Prazozine.

يحضر من هذه المواد محاليل أم بتركيز 10^{-2} مول / ليتر في الماء ثنائي التقطير، وتوضع في

عبوات مغلقة بنايلون أسود تحفظ في البراد بدرجة C +4 ، وتحضر المحاليل الفيزيولوجية

في ظروف إضاءة مخففة، وذلك بدءاً من المحلول الأم حيث يحضر تركيزين أوليين من

المحلول الفيزيولوجي 10^{-4} M و $3 \cdot 10^{-4}$ M وبطريقة التمديد تحضر التراكيز 10^{-5} M و

$3 \cdot 10^{-5}$ M التي تستخدم بتحضير تراكيز أدنى، وهكذا للحصول على التراكيز الضعيفة

10^{-8} M و $3 \cdot 10^{-8}$ M. وتوضع جميع هذه المحاليل بعد تحضيرها في الحمام المائي بحرارة

37 C لحين الاستخدام.

من أجل قياس تقلصات الألياف العضلية المعزولة تم استخدام:

■ الجهاز الأساسي في العمل هو جهاز العمل على أعضاء معزولة Isolated Organ

ISO System طراز Dei Lierre (Electroique) / فرنسا.

ويتضمن الجهاز 4 أحواض تجريبية، 4 نواقل، وحدة تغذية تكبير 4 مخارج، راسمة طراز (

Linesis (L 6512 B . الشكل (2).

■ حوض حمام مائي مع ترموستات طراز Bioblock (Polystal 86602) / فرنسا.

■ حمام مائي طراز Memmert (6L - 12 L) مع ترموستات / (ألمانيا).

■ مكبرة مجسمة طراز Warszawa (PZO 25997) مزودة بوحدة تغذية Power

ZM Supply (50) بولونيا، ومنبع نور بارد (KL 1500 Electronic) / فرنسا.

■ مجموعة أدوات تشريح مجهرية (خاصة بالجرحة العينية) من شركة Moria فرنسا،

الملاقط طراز 7850 C، المقصات (2164 D).

■ ملاقط حمل شبكية (Cie, Switzerland Dumont) / سويسرا،

■ مقصات وملاقط جراحية عادية (محلي).

■ مقياس الحموضة PH-meter طراز (HANNA Instrumments 8417).

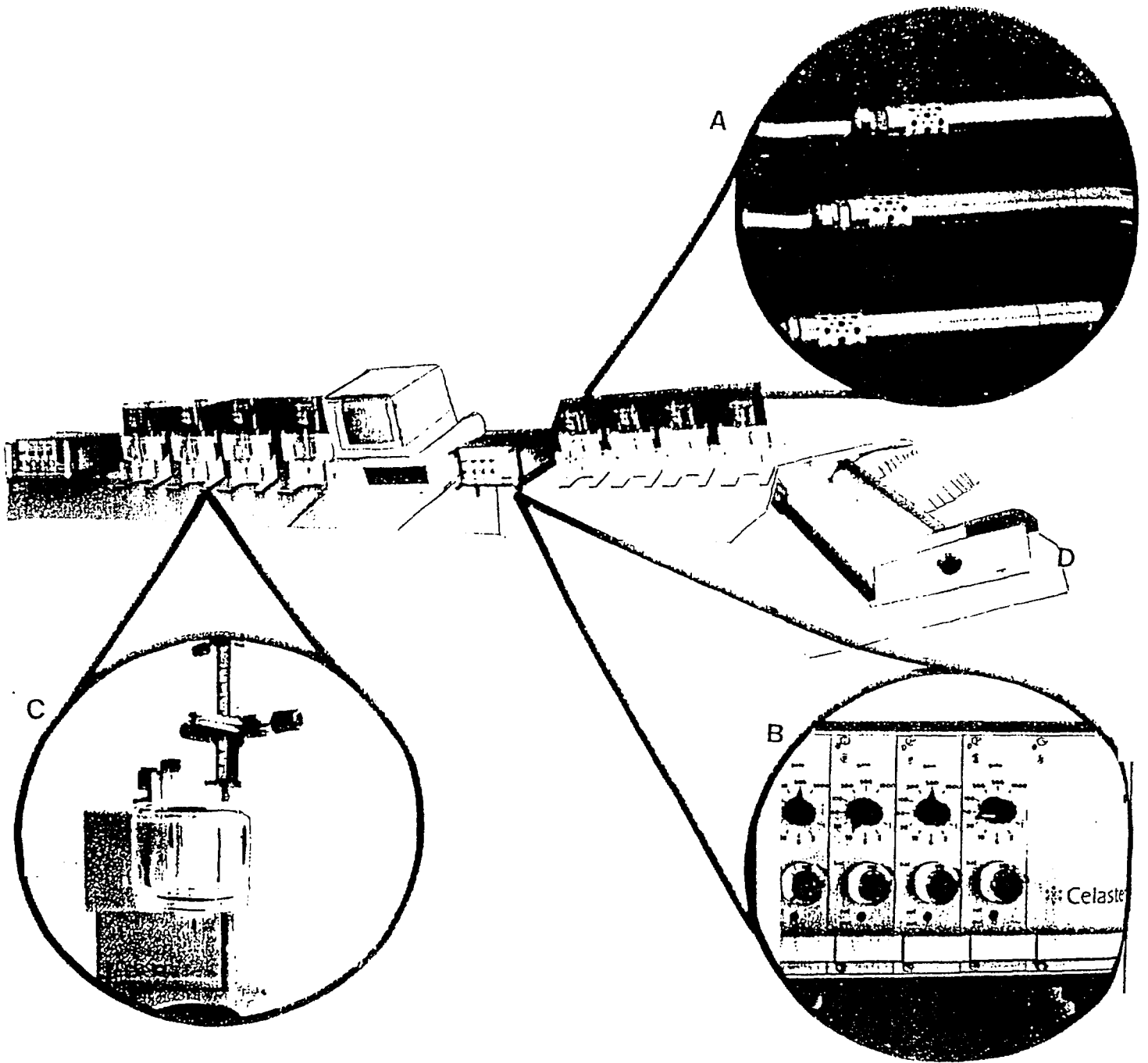
■ مجموعة ماصات عادية + مجموعة ميكروبييت BRAND / ألمانيا.

■ مجموعة ترشيح وفلتر Sigma / أمريكا.

■ خلاط مع سخان طراز (Jouan, Ciramec 2) / فرنسا.

■ رجاج Bioblock (Mix, 24323 Heidolph) فرنسا.

■ منظمات تيار طراز Do- Power (DP 2000 NS) / تاوان.



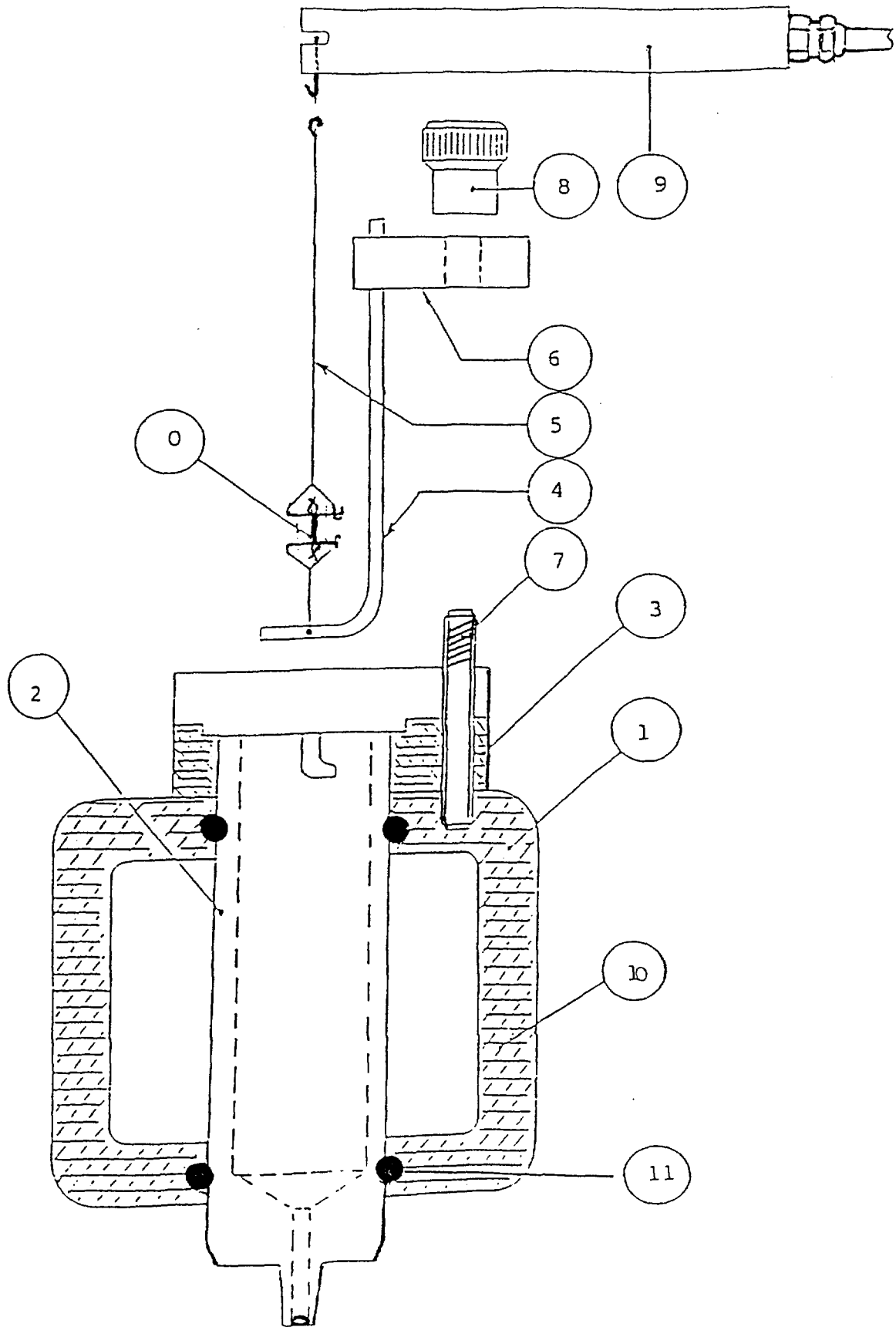
الشكل 2: مجموعة تجهيزات العمل على الأعضاء المعزولة Isolated Organ System وتتضمن A- الحساسات Transducers

B- وحدة التغذية والتكبير Signal Input and Amplification تتغذى بـ 9

فولت، نسبة التكبير G من 1 - 1000.

C- الحوض التجريبي مع التجهيزات الملحقة.

- منظمات تيار طراز Do- Power (DP 2000 NS) / تايوان.
 - مخلية هواء طراز Vacuubrand (GMBH - Co) / ألمانيا.
 - ميزان حساس طراز METLER (0.0) (BD - 1201) / ألمانيا.
 - ميزان حساس طراز Sartorius (0.000) (BC - 1201) / ألمانيا.
 - راسمة إضافية طراز Recorder company. من شركة CP / أمريكا.
 - علب بترى يصب في قعرها السيليكون الحراري وتوضع في الفرن بحرارة 70 C لمدة 24 ساعة لمنع تكون الفقاعات.
 - دبابيس تشريح دقيقة تنغستين / النمسا.
 - خيوط قطنية دقيقة تستخدم في تثبيت المحضر (محلي).
 - اسطوانات أكسجين (محلي).
- الأحواض التجريبية في الجهاز عددها 4 وهي ذات حجم داخلي ثابت 20 mL ومصمم بحيث تبقى حرارة السائل الداخلي في حجرة التجريب ثابتة (الشكل 3). حيث يستقر بداخلها محضر الألياف العضلية المعزولة. الحرارة الثابتة يؤمنها ضخ المياه الساخنة 38 C عز طريق مضخة السخان المزود بترموستات وذلك ضمن البطانة المسخنة.



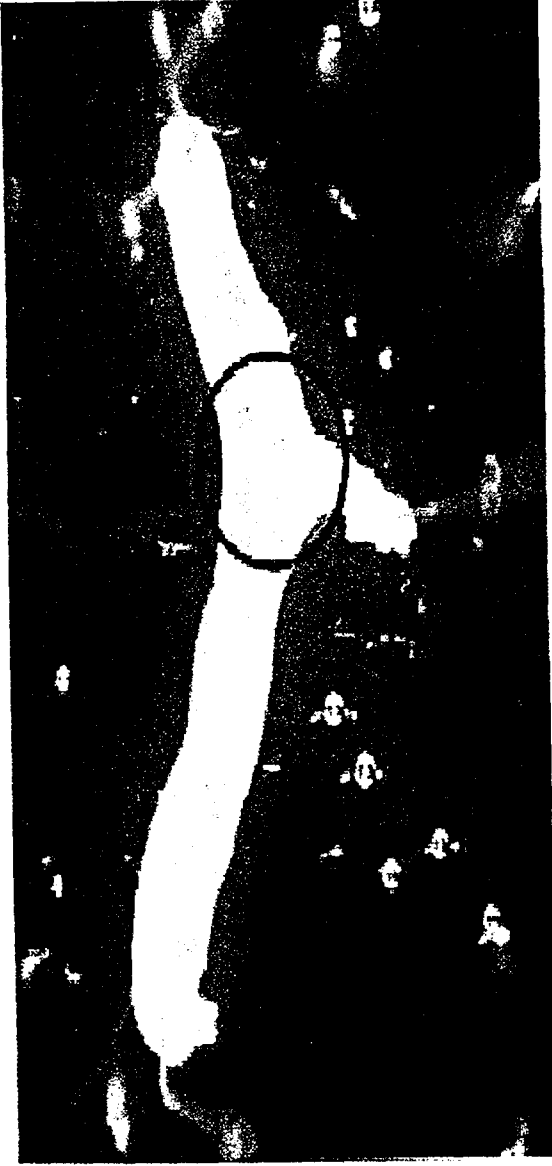
III-3-1- تحضير عينات الألياف العضلية:

استخدمنا في تجاربنا ألياف عضلية وعائية طولانية معزولة من وريد الباب الكبدي (جرذان ذكور من سلالة ويستار Wistar) بوزن وسطي 250 غرام. يقتل الحيوان بضربة على الرأس، يقطع المذبح ويترك الحيوان لينزف معظم الدم الدوراني ثم يفتح التجويف البطني ويستأصل وريد الباب الكبدي (اسم طولاً "وسطياً" باتجاه الكبد) ويوضع في علبة بتري تحوي سائل فيزيولوجي مبرد ومؤكسج مسبقاً. تتم تحت المكبرة عملية تنظيف الوريد من النسج الضامة والنسج الشحمية ثم بعناية شديدة يعزل القميص الضام (Adventice) ويفتح بعدها الوريد طولياً وبذلك تظهر ألياف العضلية بوضوح. يتم طولياً قص حزم الألياف العضلية (طول 5 ملم، قطر 500 ميكرون ووسطياً) . (أنظر الشكل 4) .

يتم تحت المجهر وباستخدام خيوط دقيقة قطنية ربط أحد الألياف من نهايته وتصنع حلقتان من الخيط الدقيق. يفصل الليف العضلي من الوريد ويصبح جاهزاً للتثبيت في الجزء المتحرك من الحوض التجريبي (أنظر الشكل 3) .

يثبت القسم المتحرك على الحوض ويربط بخطاف موصول مع الناقل (رقم 9 في الشكل 3) الذي ينقل بدوره التقلصات بعد تكبير إشارة الخرج إلى الراسمة.

يؤكسج السائل الفيزيولوجي في الحوض التجريبي باستخدام صمامات الأوكسجين في الحوض الذي يعطي فقاعات دقيقة Microbubling. بعد تثبيت الليف العضلي في مكانه في الحوض التجريبي، يطبق عليه قوة شدة أساسية بواسطة مناقل مجهري Micromanipulator بحدود



A



B

شكل 4: A- الوريد البابي الكبدي معزولا من الحيوان بطول 1 - 1.5 سم والفعالية
التقلصية هامة جدا" في منطقة الدائرة السوداء قرب الفرع المعدي Gastric branche
تعزل النسيج الضامة والقميمض الضامة على الوريد كاملا" قبل فتحه طوليا".
B- الوريد البابي الكبدي مفتوحا" والألياف العضلية الطولانية مفصولة بواسطة مقص
جراحة إلى حزم وبطول وسطي 5-7 ملم، تربط الألياف العضلية المعزولة بخيوط
قطنية دقيقة تمهيدا" لنقلها للحوض التجريبي بالجهاز IOS (الجزء C في الشكل 2)

0.5 غرام وأحيانا" أكثر ويترك ليتقلص لمدة 30 - 60 دقيقة قبل بدء التجربة حتى تستقر التقلصات الذاتية.

III - 3-2 - السائل الفيزيولوجي المستخدم:

استخدمنا في تجاربنا سائل كريبس المعدل Modified Krebs الذي له التركيب الأيوني التالي بالملي مول / ليتر:

NaHCO₃: 1mM/L, NaH₂PO₄: 1.2 mM/L, Mg²⁺: 1.2mM/L,

Ca²⁺: 2.5 mM/L, K⁺ 5.9 mM/L, Hepes: 5mM/L, Na⁺:120.8 mM/L,

Glucose: 11.5mM/ L (2Gr / L).

يعاير PH المحلول على درجة 7.4 (باستخدام HCl 35% NaOH) وتضبط الحرارة على 37C درجة مئوية في الحمامات المائية التي توضع بها سوائل التغذية والتجريب.

III - 3-3 - قياس قوة التقلص العضلي:

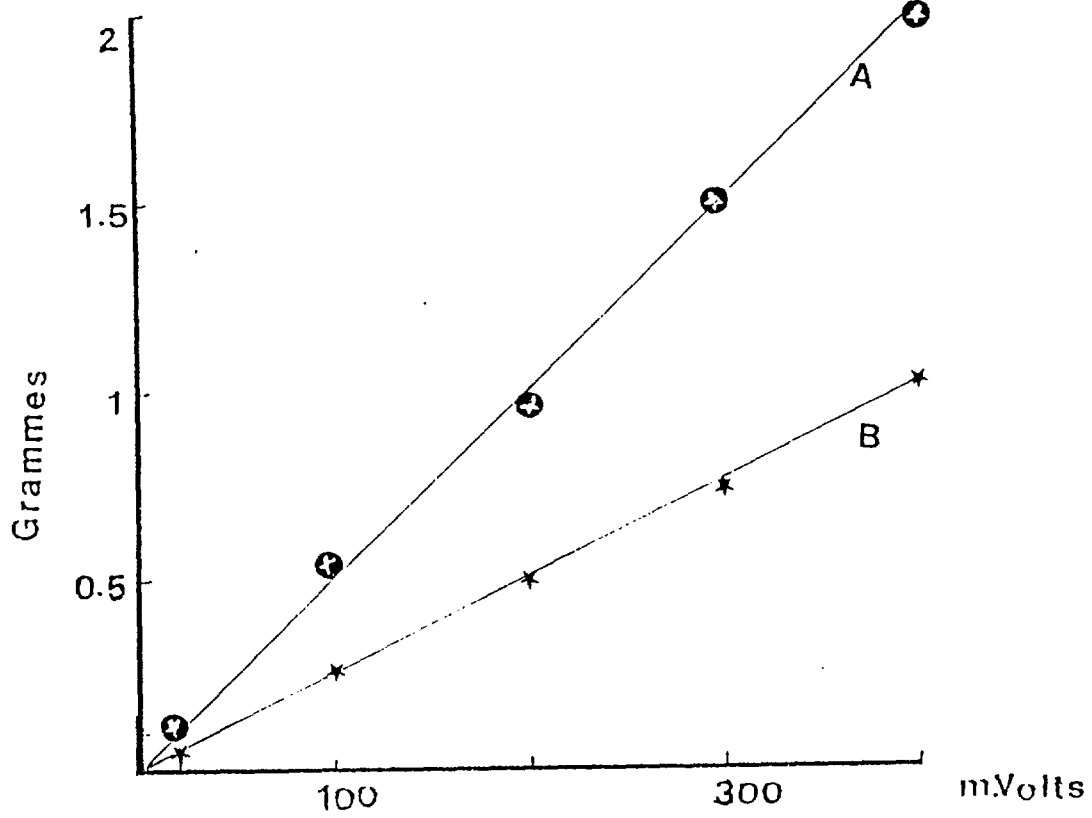
بعد وضع الليف العضلي في الحوض التجريبي تطبق عليه قوة شد بدائية بواسطة المناقل المجهري Micromanipulator المثبت على جسم الحوض والحاملة للحساس الناقل Transducer بحيث نحصل على قوة التقلص العظمى (الشدة العظمى للتقلصات الذاتية). وتطبق عمليا" قوة شد بحدود (200 - 500 ملغ) حسب قطر الألياف العضلية المستخدمة ويترك الألياف تتقلص 30 - 60 دقيقة قبل البدء بالتجربة. وتكون قيمة الشد العضلي الأساسي Muscle Tone صفرا" ومن ثم تحسب شدة التقلص بأخذ متوسط 20 آخر تقلص

قبل البدء بالتجربة أو الانتقال لمحلول أو الغسيل بمحلول عادي. وتجري التجارب باختبار تراكيز تراكمية من العقاقير المختلفة وبحسب التأثير بعد استقرار شدة النقل في المحلول المختبر.

تحتسب النقاط التجريبية منسوبة للتركيز الاعظمي 100% الذي نحصل عليه، ويعتمد $S_m +$ ($S_m =$) تتم معايرة الحساسات قبل التجربة ويتم التأكد من خطية القياس ويعتمد بعدها تقدير شدة النقل بالملغ حيث يتم التحويل من ميلي فولت إلى ملغ (شكل 5).

III - 4-3 - عمليات التشعيع:

يشع الحيوان بعد وضعه صحاحيا" دون تخدير في علبة من الزجاج العضوي Plexiglass مناسبة لحجم الحيوان ويتم التشعيع بأشعة غاما الصادرة عن منبع كوبالت Co^{60} ذات الطاقة المتوسطة 1.24 Mev الصادر عن جهاز المعالجة الطبية المتوفر في قسم الوقاية في الهيئة (Theratron - 80) ويتم التشعيع بمعدل جرعة قريبة من 70 راد/ دقيقة 70 Rad. min^{-1} .



الشكل 5: منحنى معايرة الحساسات يظهر خطية الحساس الضروري لصحة تقدير النتائج

$$(G = 200, S = 200 \text{ mV}) - A$$

$$(G = 100, S = 200 \text{ mV}) - B$$

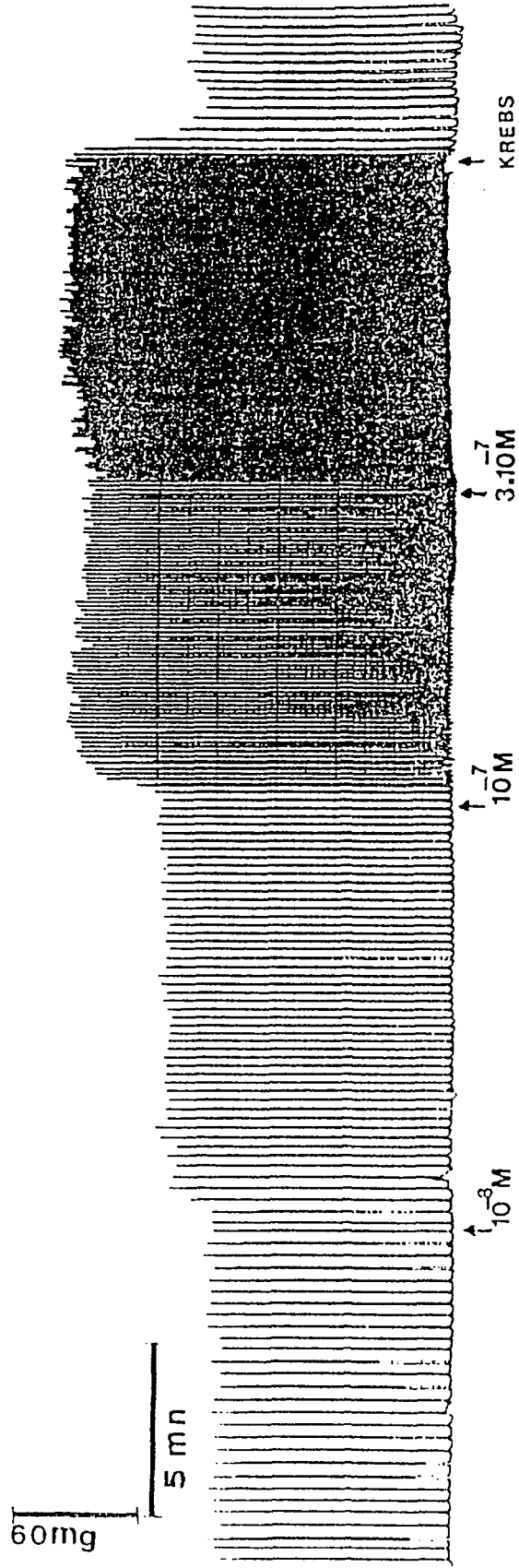
يتم التحويل إلى ميلي فولت m.Volt بدلالة الوزن المستخدم في المعايرة عن طريق تقدير تدريجات الراسمة التي يحققها تعليق أوزان متدرجة على خطاف الحساس بدلاً من الألياف العضلية.

IV - النتائج:

تتمتع الألياف العضلية الملساء الوعائية من وريد الباب الكبدي للجرذ بفعالية تقلصية عضلية ذاتية Myogenic نموذجية، واستجابة هذه الألياف سريعة في الثواني التي تلي وضع التركيز المعين من المادة المدروسة وتكون هذه الزيادة طردية مع زيادة تركيز المادة إلى حدود تراكيز تحرض زيادة قوة الشد المطبقة على الألياف العضلية Tonus ونلاحظ أن الألياف تستعيد فعاليتها البدئية أو الأولية مباشرة بعد الغسل إذا لم يتم تحريض تقلص كزازي عليها (الشكل 6). وفي حالة تحريض تقلص كزازي تستعيد الألياف العضلية قوتها وفعاليتها التقلصية البدئية بعد مدة قد تصل إلى أكثر من عشر دقائق. ونستعرض فيما يلي تبدلات تأثير العقاقير الادرينرجية والاستيل كولين على الألياف العضلية الشاهدة والمشعة بجرع مختلفة.

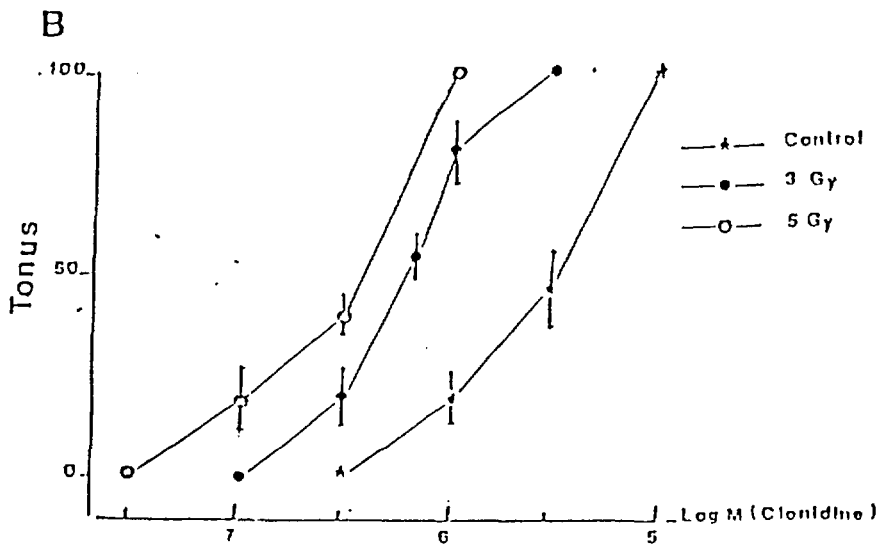
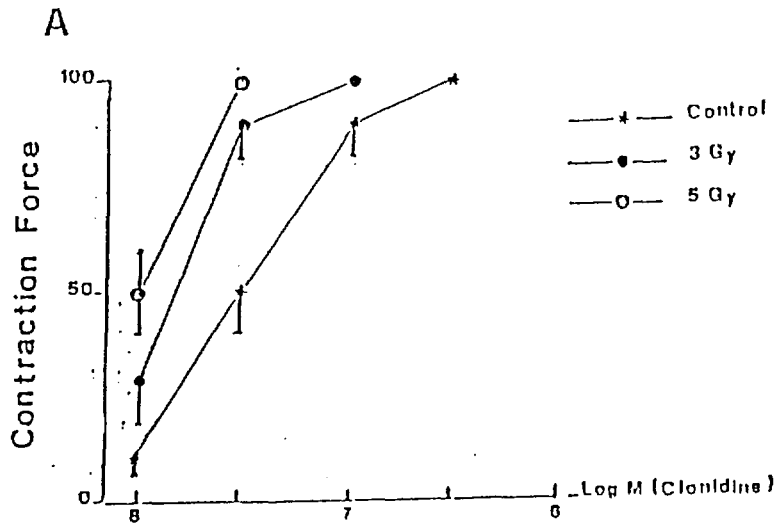
IV-1 الكلونيدين Clonidine:

تم اختبار الأثر التراكمي لتراكيز متزايدة من الكلونيدين على الألياف العضلية الشاهدة والمشعة. يلاحظ إن الكلونيدين يزيد من شدة وتواتر التقلص وبشكل طردي مع زيادة تركيزه بالمحلول، بحيث إن النسبة المئوية لزيادة الشدة تتوافق مع النسبة المئوية لزيادة تواتر التقلص وذلك اعتباراً من تركيز $10^{-8} M$. تزداد الفعالية التقلصية بزيادة تركيز الكلونيدين. ويكون تأثير الكلونيدين أعظماً عند التركيز $3 \cdot 10^{-7} M$ حيث يبدأ في تراكيز أعلى ظهور قوة شد إضافية Tonus تزداد هي بدورها بشكل طردي مع زيادة تركيز الكلونيدين، إلى أن



P.E (M)

الشكل 6: الألياف العضلية من الوريد الباني الكبدى تستجيب بشكل نموذجي للتنبه بزيادة شدة وتواتر التقلصات العضلية الذاتية وذلك مباشرة بعد وضع المحلول المختبر، تستعيد الألياف العضلية تقلصاتها البدائية تماما" بعد الغسل بمحلول عادي إذا لم يتم تحريض تقلص كسراري



الشكل 7: A - تمثيل بياني لزيادة الفعالية التقلصية بدلالة زيادة تراكيز الكلونيدين، نلاحظ انزياح بتأثير الكلونيدين على زيادة التقلصات العضلية شدة" وتواترا" حيث يحصل التأثير الأعظمي بتركيز أقل بعد التشعيع.

B- انزياح أثر الكلونيدين على زيادة قوة الشد الإضافية Tonus وذلك بدلالة جرعة التشعيع حيث على الألياف العضلية الشاهدة فإن $10^{-5}M$ من الكلونيدين تحرض الكزاز الأعظمي بينما يلزم تراكيز أقل لتحريض هذا الأثر على ألياف مشعة بجرعة 3 و 5 غري.

يدخل الليف العضلي طور تقلص كزازي بتركيز $3.10^{-6}M$. (الشكل A-7). ولا تزداد أهمية أو حدة هذا التقلص الكزازي في تراكيز أعلى من ذلك.

وفي الألياف العضلية المشعة بجرعة 1 غري (Gy) تزداد أهمية القوة التقلصية بدلالة تركيز الكلونيدين ولكن المنحني البياني يتطابق مع المنحني البياني للشاهد ولا توجد فروق معنوية مع ملاحظة زيادة تواتر التقلصات بعد التشعيع.

يظهر أثر التشعيع واضحا" بجرعة 3 و 5 غري (Gy) حيث يكون تأثير تركيز $10^{-8} M$ من الكلونيدين هاما" ويحصل الأثر الأعظمي بتركيز أقل من الكلونيدين ($10^{-7} M$ على الألياف مشعة بجرعة 3 غري (Gy) بينما يحصل الأثر الأعظمي بتركيز $3.10^{-8} M$ من الكلونيدين على ألياف مشعة بجرعة 5 غري (Gy).

وبالنسبة لقوة الشد الإضافية فإنها تصل إلى قيمة عظمى في الألياف الشاهدة بتركيز $10^{-5} M$ ويلاحظ انحراف واضح على المنحني البياني ويزداد طردياً مع زيادة الجرعة الإشعاعية (الشكل B-7).

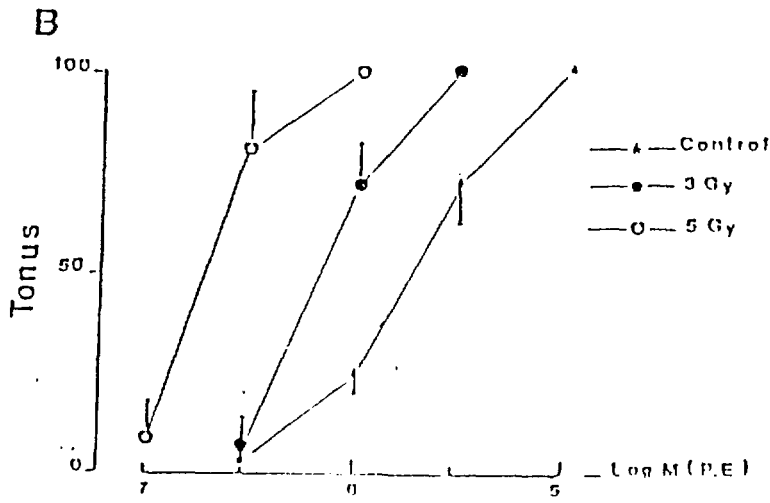
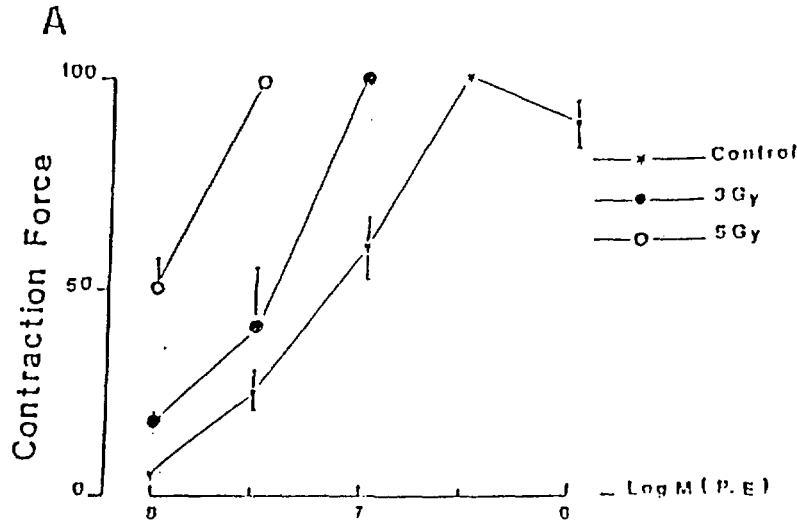
2-IV- الفنيل افرين Phenylephrine:

تم إتباع نفس البروتوكول المستخدم سابقاً بالنسبة للكلونيدين ويلاحظ تشابه كبير في تأثير تراكيز تراكمية من الفنيل افرين على زيادة الفعالية التقلصية للألياف العضلية.

أوضحت التجارب أيضاً" إن الفنيل افرين يحرض على زيادة شدة وتواتر التقلص بشكل طردي اعتباراً من $10^{-8} M$ ، ويكون التأثير أعظمية" عند التركيز $3.10^{-7} M$ حيث تنخفض الفعالية التقلصية قبل دخول الألياف في تقلص كزازي (الشكل A-8).

وفي الألياف العضلية المشععة بجرعة 1 غري (Gy) يتطابق تأثير الفنيل افرين مع الألياف الشاهدة ولا توجد فروق معنوية رغم زيادة تواتر التقلص بعد التشعيع، أما على الألياف المشععة بجرعة 3 و 5 غري (Gy) فهناك انزياح واضح في تأثير الفنيل افرين حيث تدخل الألياف المشععة بالطور الكزازي بتركيز من الفنيل افرين أقل من السابق (الشكل B - 8).

لم تتغير النتائج السابقة بالنسبة للكلونيدين والفنيل افرين بوجود تراكيز مرتفعة من البروبرانولول ($10^{-7}M$) وهو مثبط غير نوعي للمستقبلات بيتا الادرينرجية. مما يوضح أن تأثير هذه العقاقير محرض بتنشيط المستقبلات الفا الادرينرجية.



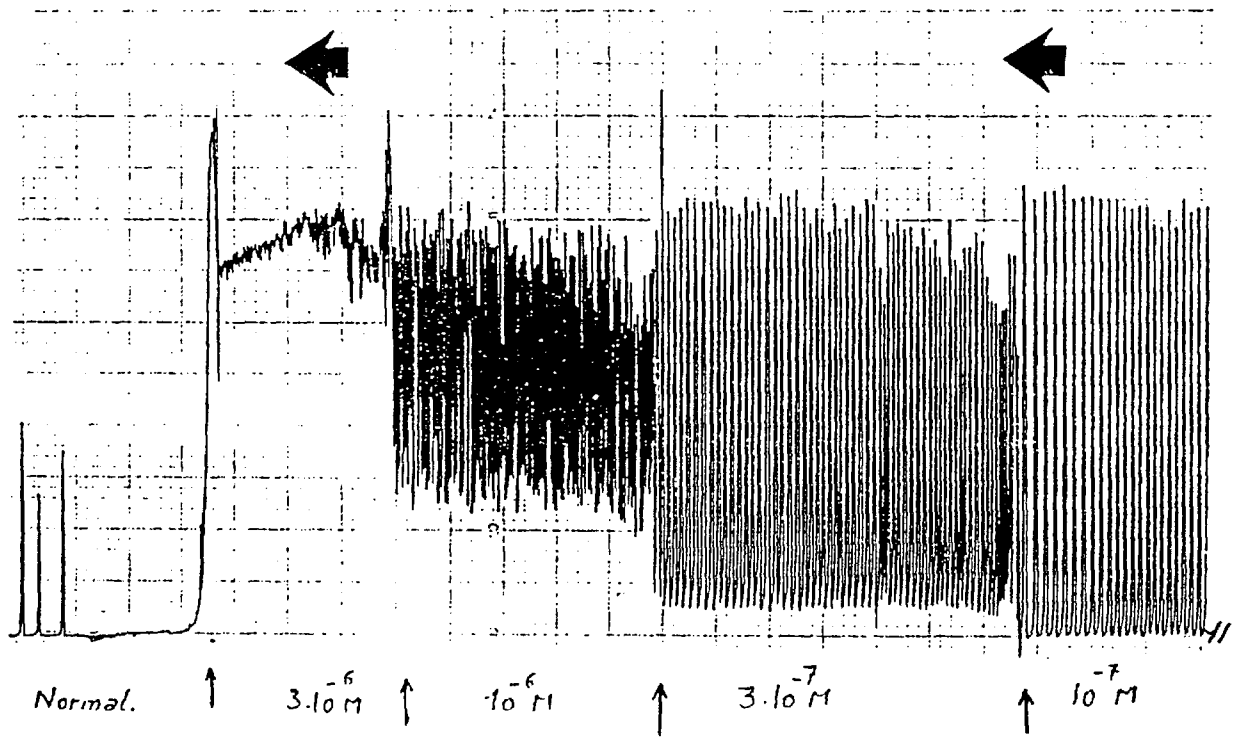
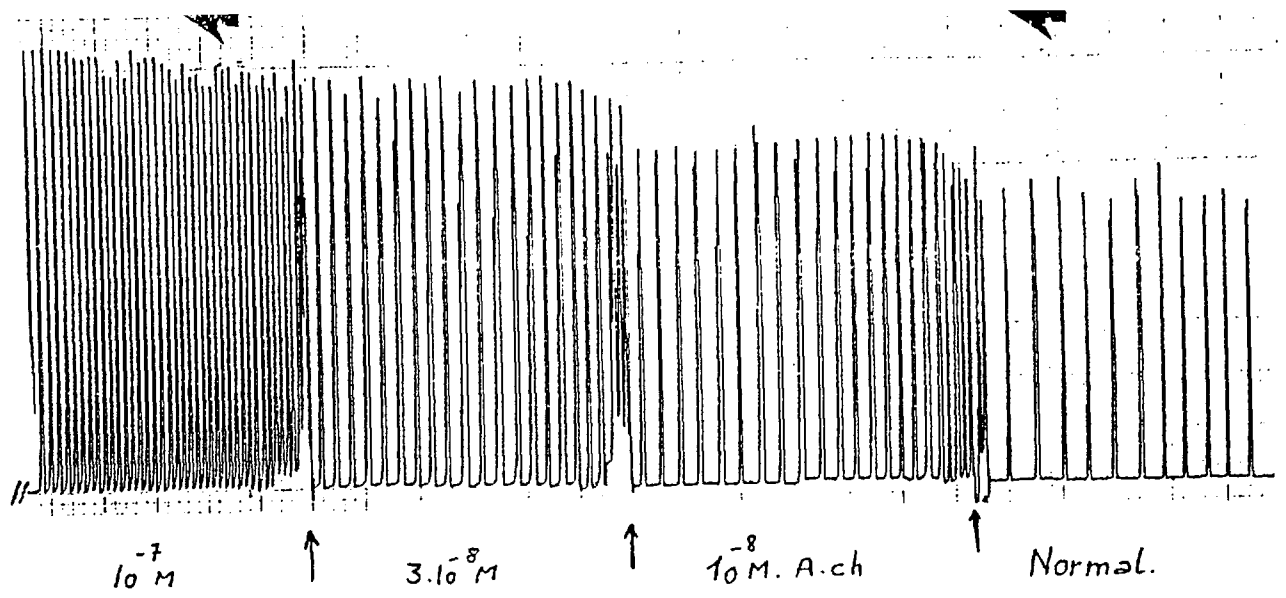
الشكل 8: أ- زيادة الفعالية التقلصية بدلالة تراكيز تراكمية من الفينيل افرين P.E ، يلاحظ على الألياف المشعة أن تراكيز أقل تحرض على الأثر الأعظمي.
 ب- تأثير التشعيع بجرعة 3 و 5 غري على ظهور قوة الشدة الإضافية التي يلزم لتحريضها تراكيز أقل من الفينيل افرين مقارنة مع الألياف الشاهدة.

3-IV- الاستيل كولين Acetylcholine:

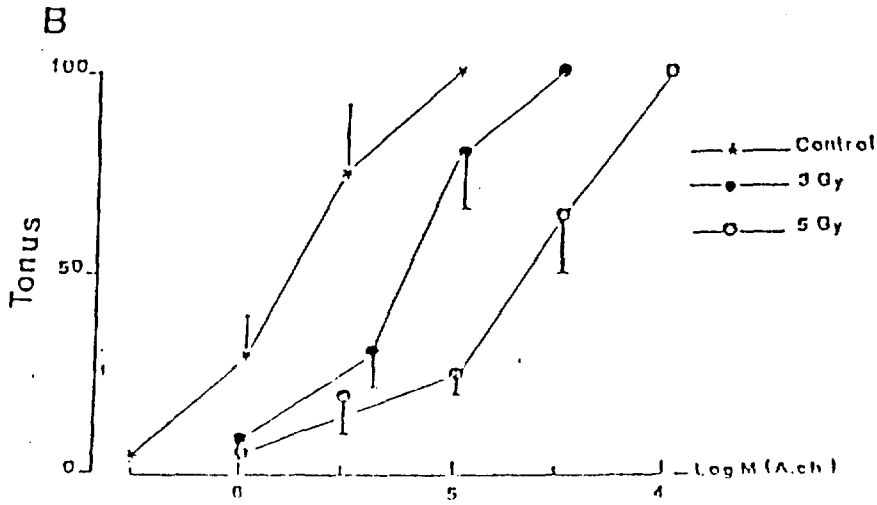
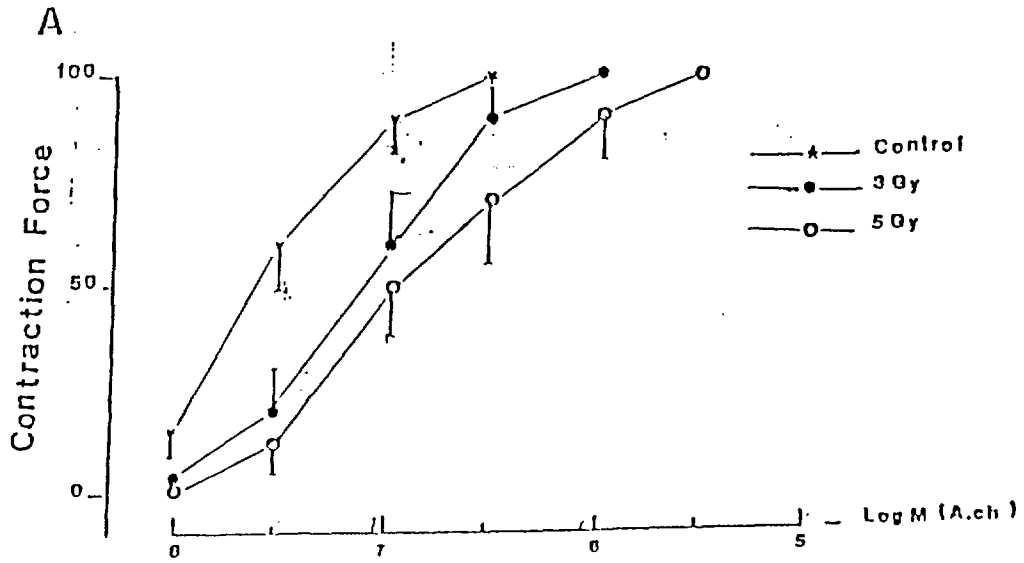
يحرص الاستيل كولين على زيادة في شدة وتواتر التقلص العضلي للألياف العضلية الشاهدة اعتباراً من تركيز $10^{-8} M$ وهذه الزيادة طردية مع تركيز الاستيل كولين حيث يكون الأثر الأعظمي للاستيل كولين على شدة وتواتر التقلص بحدود تركيز $3 \cdot 10^{-7} M$ (الشكل 9). على عكس الفئيل افرين والكلونيدين يلاحظ انخفاض ردة الفعل التقلصية المحرصة بالاستيل كولين على الألياف العضلية المشعة ويحرص الاستيل كولين الأثر الأعظمي بتركيز $10^{-6} M$ على الألياف المشعة بجرعة 3 غري (Gy) بينما يحصل الأثر العظمي بتركيز $3 \cdot 10^{-6} M$ على الألياف المشعة بجرعة 5 غري (Gy) (الشكل A-10)، (الشكل 11).

وبشكل مماثل فإن أثر الاستيل كولين على تحريض قوة الشد الإضافية Tonus يظهر نفس الانزياح في الألياف العضلية المشعة، حيث نلاحظ أن الألياف العضلية الشاهدة تدخل طور تقلص كزازي بتركيز $10^{-5} M$ من الاستيل كولين بينما على ألياف مشعة بجرعة 5 غري فإن الأثر الأعظمي يتحقق بتركيز $10^{-4} M$ (الشكل B-10).

يلاحظ في هذا المجال تناقص أهمية التقلص الكزازي منسوبة لقيمة التقلص البدائية بعد التشيع حيث اعتباراً من جرعة 1 غري وبشكل طردي تتناقص أهمية التقلص الكزازي المحرض بتراكيز مرتفعة من الاستيل كولين والتي تحقق الأثر الأعظمي E_{max} (الشكل 12).



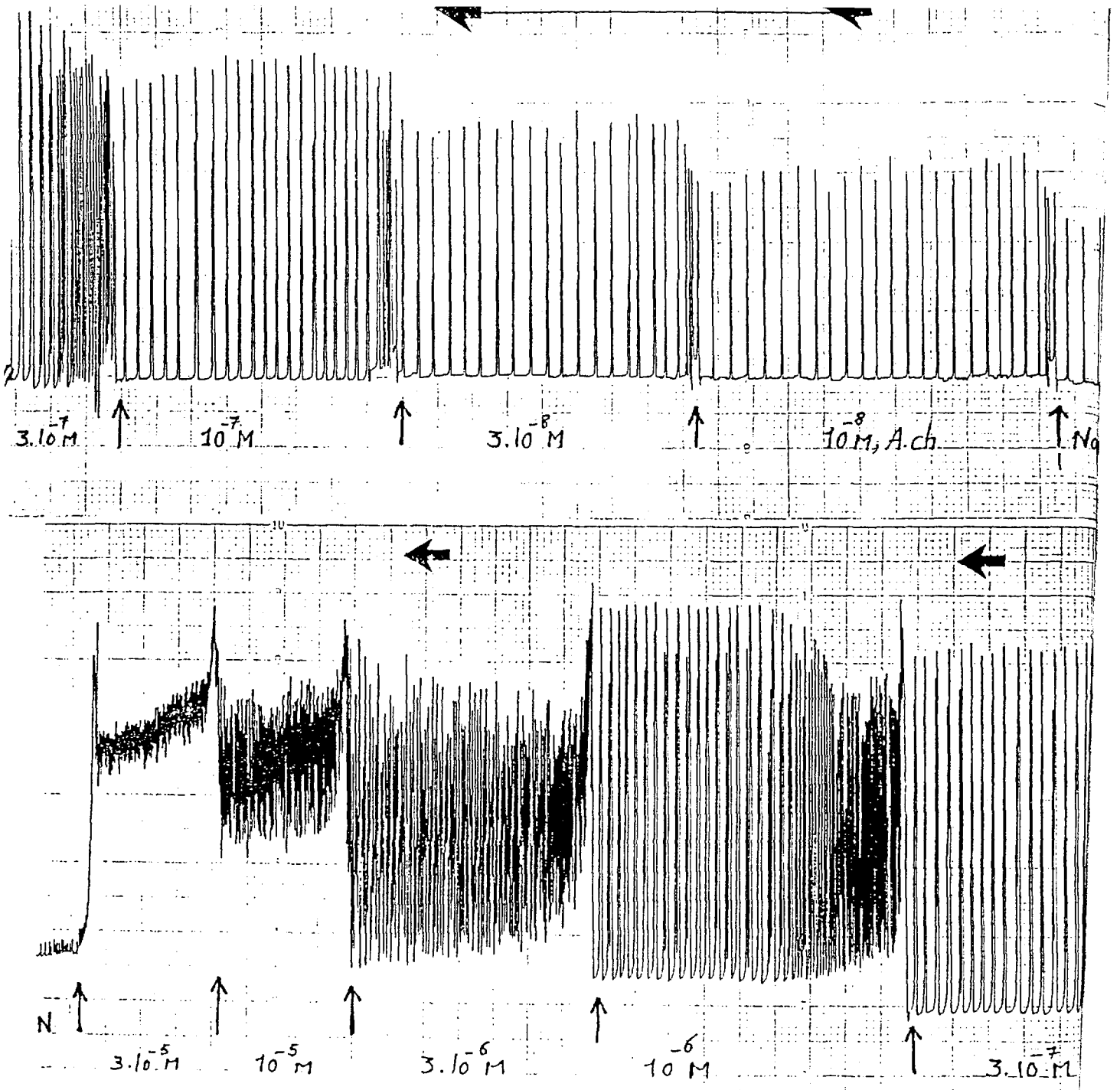
الشكل 9: أثر تراكيز تراكمية من الاستيل كولين $A.ch$ على تقلصات الألياف العضلية الشاهدة، يلاحظ أن الأثر الأعظمي E_{max} على شدة وتواتر التقلص يتحقق بحدود تركيز $3.10^{-6} M$ من الاستيل كولين أما التقلص الكزازي التام فيحصل بتركيز $3.10^{-6} m$. وتستعيد الألياف العضلي تقلصاتها الذاتية بعد الغسيل بمحلول عادي مباشرة. السهم \leftarrow يدل على جهة التسجيل.



الشكل 10:

A- على الألياف العضلية المشععة يلزم تراكيز أعلى من الاستيل كولين لإحداث أثر أعظمي لزيادة القوة التقلصية مقارنة مع الألياف العضلية الشاهدة.

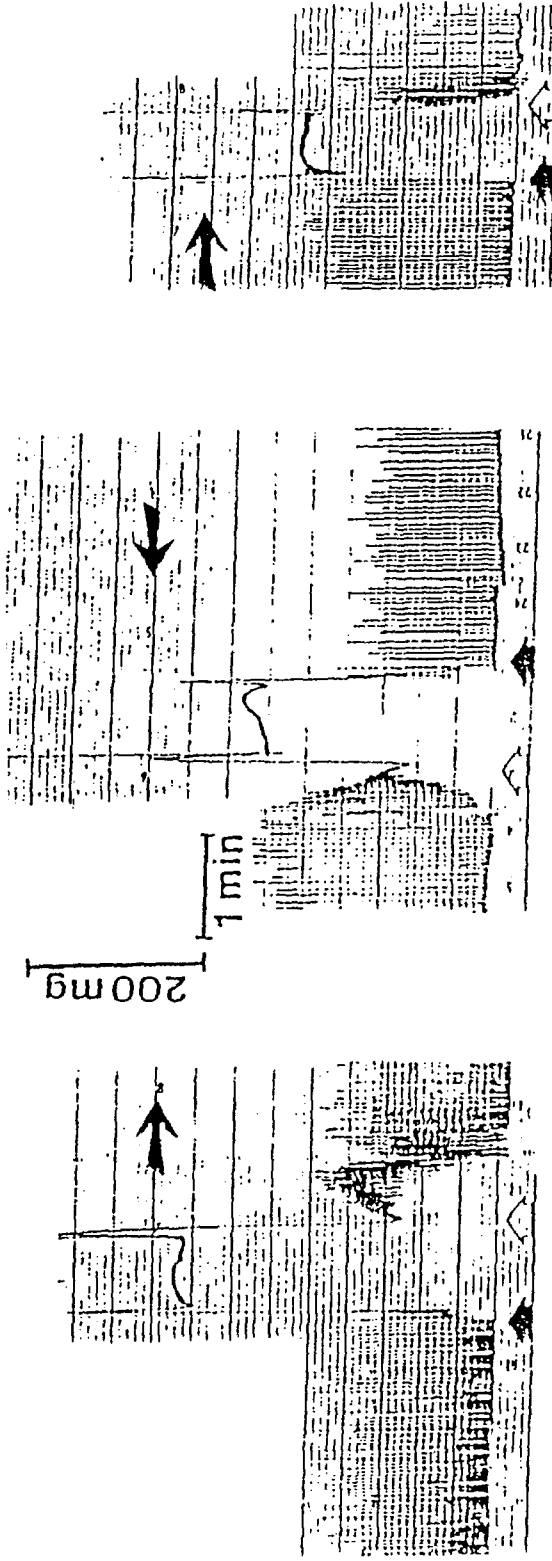
B- أثر التشعيع على ظهور قوة الشد الإضافية حيث تدخل الألياف العضلية الشاهدة الكزاز التام بتركيز $10^{-5}M$ بينما يلزم تراكيز أعلى لإحداث نفس الأثر على الألياف العضلي المشععة.



الشكل 11:

أثر تراكيز تراكمية من الاستيل كولين $A.ch$ على تقلصات الألياف العضلية المشعة بجرعة 5 غري، يلاحظ أن الألياف تحافظ على تقلصاتها الذاتية بتركيز $10^{-6} M$ من الاستيل كولين على خلاف الألياف العضلية الشاهدة، أما الأثر الأعظمي E_{max} على قوة الشد الإضافية $Tonus$ فيحقق بتركيز عالية ($3.10^{-5} - 10^{-4} M$)

السهم ← يدل على جهة التسجيل.



Control

3 Gy

5 Gy

الشكل 12: تسجيلات توضح تناقص قيمة الشد الإضافية Tonus التي تولدها الألياف العضلية المشعة بجرع 3 و 5 غري مقارنة مع الألياف العضلية الشاهدة حيث يحدث نفس التركيز من الـ A.ch تقلص كزازي يتجاوز 100 % من وسطي قيمة التقلصات البدائية بينما على الألياف المشعة بجرعة 3 غري فإن التقلص الكزازي لا يتجاوز 60 % وبالتسبع بجرعة 5 غري فإن الألياف لا تولد أكثر من 10 - 15 % من وسطي الفعالية التقلصية البدائية. 3.10^{-5} M: \uparrow استيل كولين \uparrow : غسيل N

السهم \leftarrow يدل على جهة التسجيل.

أصبح من المعروف أنه من أهم تأثيرات الأشعة المؤينة على المستوى الخلوي تلك التي تتناول الفوسفوليبيدات واستقلابها التي تقود بشكل منطقي لظاهرة أكسدة الفوسفوليبيدات في الغشاء الخلوي مما يبذل بدرجات تتعلق بالجرعة الإشعاعية في بنية هذه الليبيدات، وهذا يقود لخلخلة التبادل الأيوني عبر الغشاء. هذه التأثيرات أشار إليها Vojtsitsky منذ عام 1988 وأكدها جميع الأبحاث اللاحقة.

وبحسب دراسات Floersheim 1992 ، فإن المحصلة النهائية لأثر التشعيع ستكون زيادة تدفق تيار الكالسيوم Ca^{2+} - flux عبر الغشاء الخلوي ورفع تراكيز الكالسيوم الداخلية $[Ca^{2+}]_i$ Cytosolic وهذا ينجم عنه اضطراب في العديد من السيرورات والفعاليات الخلوية بحسب نمط الخلية ووظيفتها (عضلية، غدية، عصبية، الخ ..).

دون الدخول بآلية نقل الإشارة عبر تنشيط المستقبل الخلوي فإننا يمكن أن نعتبر تنبيه المستقبل الخلوي هو البداية في سلسلة الحوادث cascade of events التي تحرض ضمن الخلية على تشكيل المرسل الثاني 2^{nd} messenger ، هذا المرسل سينقل الإشارة كي تترجم إما بتنشيط أو تثبيط فعالية الخلية، وهكذا فإن تنبيه المستقبلات المسكارينية والمستقبلات الفا-1 الادرينرجية سينشط آلية خلوية أنزيمية PIP2/PL تقود إلى رفع التركيز الخلوي الداخلي من البروتين كيناز C- (PKC) والكالسيوم الداخلي $[Ca^{2+}]_i$ ، وأصبح بحكم الحقيقة المؤكدة إن رفع التركيز الداخلي للكالسيوم الأيوني بالتضافر مع رفع تركيز البروتين كيناز C يكون بدوره محرضاً على تفعيل أنزيمات أخرى قادرة بدورها على تنشيط جملة أنزيمات تتدخل في الاصطناع الحيوي الخلوي والنشاط الانقسامى، والتكاثر والانتشار الخلوي

Prolifertion الخ (Coppes et al 1997)

منذ عام 1995 أوضح Yeagle في دراسة مرجعية هامة حول المستقبلات الغشائية أن هناك عدداً كبيراً من نظم نقل الإشارة الخلوية Signal Transduction تستخدم ما اصطلح على تسميته البروتينات - G (G - protines) ومن أهمها المستقبلات بيتا- الأدرينرجية، المستقبلات الفا- 1 الأدرينرجية، المستقبلات المسكارينية الكولينرجية، مستقبلات الفازوبرسين Vasopressin وهو مقبض وعائي هام، ومستقبلات هرمونات عديدة أهمها الانجيوتنسين Angiotensine، الخ..

تستخدم المستقبلات الخلوية الغشائية في نقل الإشارة البروتين -G، ويرتبط تنشيط هذا البروتين بارتباط المنبه - الذي قد يكون منبه كولينرجي أو أدرينرجي - على المستقبل النوعي الخاص، يقود هذا الارتباط النوعي وتشكيل المعقد agonsit - receptor إلى تنشيط انزيم هام هو الأدينيلات سيكلاز Adenylate Cyclase وهذا الانزيم معروف بأنه يتوسط التفاعل الحيوي في إماهة الأدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP، وهذا بالمحصلة يرفع تراكيز الأدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي cAMP.

ويمكن إن تقود زيادة [cAMP] i وبشكل مباشر إلى تنشيط بعض البروتينات - كيناز والتي من أهمها البروتين كيناز - C (PKC) وفي المحصلة النهائية لذلك تؤدي إلى فسفرة البروتينات الداخلية المرتبطة برد الفعل الخلوي وذلك حسب نوع الخلية (تقلص، افرار، نقل إشارة، الخ ..) .

وفي الألياف العضلية الشاهدة، فإن الكلونيدين والفنيل افرين كبقية المواد الفارماكولوجية الأدرينرجية يؤثران على المستقبلات الأدرينرجية من النمط الفا - 1 α -1 adrenoceptors حيث أوضحنا بتجارب سابقة إن المواد التي تنشط المستقبلات الأدرينرجية الفا- 2 بشكل نوعي مثل مادة الـ BHT-933 لا تزيد من الفعالية التقلصية لوريد الباب الكبدي حتى بتراكيز مرتفعة من رتبة 10^{-4} M.

إضافة لذلك فإن البرازوزين Prazozine وهو مثبط نوعي عالي الكفاءة للمستقبلات الفل-1
الادرينرجية α_1 - adrenergic antagonist (بقدرة تثبيطية 1000 ضعف على
المستقبلات الفل-1 منه على المستقبلات الفل-2) وبتركيز منخفضة من رتبة 10^{-7} - 10^{-8} M
يلغي بشكل كامل أثر الكلونيدين والفنيل افرين على زيادة التقلص العضلي الذاتي للألياف
العضلية المدروسة، مما يعني سيطرة كاملة للمستقبلات الادرينرجية من النمط α_1 في هذه
العضلات الملساء الوعائية .

تتضح زيادة حساسية المستقبلات الادرينرجية بزيادة أثر العقاقير الادرينرجية على الفعالية
التقلصية للألياف العضلية المشعة، وهنا يمكن الافتراض أن التشعيع إضافة لأنه يؤدي إلى
تبدلات بنيوية في الغشاء الخلوي فإنه يقود إلى تنشيط تدفق الكالسيوم عن طريق القنوات
الأيونية من النمط POC ، المرتبط عملها بتنشيط المستقبلات الغشائية، وإن التشعيع على ما
يبدو ينشط القنوات الأيونية التي يرتبط تنشيطها بعملية تنشيط المستقبلات الادرينرجية وهكذا
فإن تراكيز منخفضة من الكلونيدين والفنيل افرين قادرة على تحريض رد فعل تقلصي هام
يكاد يكون مهماً" على الألياف العضلية الشاهدة، وقد أظهرت التجربة حساسية زائدة
للمستقبلات الادرينرجية محرضة بالتشعيع، و زيادة هذه الحساسية طردية مع الجرعة
الإشعاعية المستخدمة ضمن حدود الجرع تحت المميتة sub-lethal doses.

يؤدي التشعيع إلى زيادة تواتر التقلصات الذاتية بشكل ملحوظ وهذا يمكن ربطه بشكل أو
بآخر بزيادة تركيز الكالسيوم الايوني الداخلي (Alya 1995) الذي يجعل سوية تنبيه
المستقبلات الادرينرجية تنخفض طردا مع جرعة التشعيع بحيث أن تراكيز منخفضة من
العقاقير الادرينرجية قادرة على تنشيط المستقبلات، التي من المحتمل أيضا أن يطرأ عليها
نتيجة التشعيع تبدلات وظيفية وربما بنيوية فيما يخص تنشيط تحت وحدات البروتين -G
المرتبط بالمستقبل تجعلها تنشط بتركيز منخفضة.

أيضاً بالنسبة للاستيل كولين فإنه يحرض على زيادة شدة وتواتر النقص وذلك بتثبيط المستقبلات المسكارينية، فقد أوضحنا بدراسات سابقة أن الأتروبين Atropine وبتراكيز منخفضة من رتبة 10^{-7} M يلغي بشكل كامل أي أثر للاستيل كولين الذي لا يؤثر على النقص العضلي للألياف المدروسة حتى بتراكيز مرتفعة جداً" من رتبة $3 \cdot 10^{-4}$ M . ومعروف أن الأتروبين يثبط بشكل اصطناعي المستقبلات المسكارينية دون المستقبلات النيكوتينية الكولينرجية.

إضافة لذلك يتجلى أثر الاستيل كولين على الخلايا البطانية Endothelial Cells بتحريض الاسترخاء الوعائي Vasodilatation، هذا الأثر غير موجود ويمكن إهماله تماماً" بحكم واقع تحضير الألياف العضلية وعزلها، الذي يضمن تخريب ميكانيكي كامل للطبقة البطانية الوعائية، وهكذا فإن تحرير عامل الاسترخاء الوعائي الذي تطرحه الخلايا البطانية المعروفة بـ (EDRF) (Endothelium Derived Relaxing Factor)، وتبنيه الطبقة العضلية غير وارد في حالة استخدام ألياف عضلية معزولة وفق طريقة الجراحة المتبعة في بروتوكول تحضير الألياف العضلية.

وفي الألياف العضلية الشاهدة يحرض الاستيل كولين زيادة التقلصات العضلية بشكل مشابه للعقاقير الأدرينرجية وهذا يتفق مع الأدبيات العلمية التي تؤكد على أن تثبيط المستقبلات الكولينرجية ينشط عمل القنوات الأيونية (ROC) ويزيد من تيار تدفق الكالسيوم Ca^{2+} flux في الظروف الفيزيولوجية الطبيعية، تتأثر هذه الآلية سلباً بالتثبيط بمعنى أن التثبيط يخفف من حساسية المستقبلات الكولينرجية التي يتطلب تنشيطها تركيزاً أعلى لتعطي نفس الأثر، وهذا ما يؤكد انخفاض الفعالية التقلصية العظمى عند تحريض تقلص كزازي بتركيز عال من الاستيل كولين من رتبة 10^{-5} - $3 \cdot 10^{-6}$ M، حيث يلاحظ أن الألياف العضلية الشاهدة قادرة على توليد قوة شد كزازية تتجاوز 100% من وسطي القوة التقلصية البدائية،

بينما لا تتجاوز قوة الشد الكزازية للألياف العضلية المشععة بجرعة 3-5 غري 60% و15% على الترتيب (الشكل 12).

إن هذه النتائج تقودنا إلى افتراض وجود فروق معنوية هامة في الحساسية الإشعاعية للمستقبلات الكولينرجية والادرينرجية بحيث أن القنوات الأيونية من النمط ROC التي تنتشط بالتبني الكولينرجي والادرينرجي قد يكون لها طبيعة بنيوية وسوية تنبيه مختلفة، وهذا يمكن التأكد منه بدراسات فيزيولوجية كهربائية على هذه القنوات ولاسيما بتقانة Patch-clamp لدراسة فعالية تنشيط القنوات الأيونية بشكل منفرد بعد التشعيع.

VI- توصيات:

أظهرت نتائج هذا العمل أن الحساسية الإشعاعية للمستقبلات الادرينرجية من النمط الفأ- 1 أعلى من حساسية المستقبلات الكولينرجية، ومن هنا نقترح:

1. متابعة الدراسة على المستقبلات الادرينرجية من النمط الفأ- 2، وذلك في عضلات لمساء أخرى غير وعائية، مثل القناة الناقلة للنطاف Canal deferent عند الجرذ. حيث هناك سيطرة للمستقبلات الادرينرجية الفأ- 2.

2. دراسة الدور الواقى الإشعاعي الذي يمكن أن تلعبه المواد الفارماكولوجية المنشطة للمستقبلات الادرينرجية من النمط الفأ- 1 و الفأ- 2، عن طريق حقن الحيوانات قبل التشعيع بجرع يتم تحديدها لاحقا بعد تحديد الوقت الأنسب للحقن قبل التشعيع.

حيث أن التأثيرات الجانبية للعقاقير الادرينرجية تكاد تكون مهملة على أشخاص لا يعانون من أي اضطرابات قلبية وعائية.

VII - كلمة شكر:

الشكر الجزيل للسيد الدكتور إبراهيم عثمان المدير العام لهيئة الطاقة الذرية لدعمه الكبير للأبحاث في مجال البيولوجيا الإشعاعية، والشكر لكل من ساهم في إنجاز هذا العمل، وعلى الأخص السيد رائد أزروني والأنسة هيفاء هنيدي لمساعدتهما التقنية والعلمية، والسيد سمير المتني من المخبر العياري الثانوي لمساعدته في عمليات تشعيع الحيوانات وحساب الجرعة الإشعاعية في كل عملية تشعيع.

VIII- References:

- [1] Alya. G, Bourreau.J.P, Feletou. M, Simonet. S, Tricoche. R, and Walden. M, (1984).
Adrenoceptors sub-types on two vascular smooth musles.
In: " Pharmacology of Adrenoceptors ".
Eds SZABADI et al, Manchester. 1985 pp: 279-280.
- [2] Alya. G, (1987).
Etude " in vitro " de l, activite electrique et mecanique de la FMLV
de la veine porte de rat, Aspects ioniques et pharmacologiques.
Ph.D Thesis, Order N: 52, Univ. Poitiers- France.
- [3] Alya. G, (1995).
Effects of γ - irradiation on rat Vascular smooth muscle fibers
(VSMF) contraction.
Proc. 2nd Arab. Conf. On the peaceful uses of atomic energy.
Part II, B, pp: 607-617.
- [4] Benham. C. D, Merrit J. E, and Rink T. J. (1989).
Receptor mediated Calcium entry
In: Ion Transport. Chap: 13, pp: 187-217.
Edr: Keeling D, and Benham. C (1990). Academic Press Limited.
London.
- [5] Conklin, B. R, and Bourne. H. R, (1993).
Structural elements of G α subunits that interact with G β receptors
and effectors.
Cell, 73, pp: 631-641.

- [6] Coppes R.P, vissink.A, Zeilstra.L.J.W, and Konings. A.W.T, (1997).
Muscarinic receptor stimulation increases tolerance of rat salivary gland function to radiation damage.
Int. J. Radiat. Biol. Vol: 72 N: 5, pp: 615-625.
- [7] Feletou M, Alya G, Walden. M, and Tricoche. R, (1986).
Source of Calcium and cholinergic contraction of the rat portal vein and the sheep coronary artery.
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 283, N: 2, pp: 254-271.
- [8] Floersheim. G. L (1992).
Calcium antagonists protect mice against lethal doses of ionizing radiation.
British. J. Radiol. Vol 65, pp: 1025-1029.
- [9] Floersheim G.L (1993).
Radioprotective effects of calcium antagonists used alone or with other types of radioprotectors.
Radiat. Res. 133, pp: 80-87.
- [10] Gaulfield, M (1993).
Muscarinic receptors: characterisation, function and coupling.
Pharmacol. Ther. 58, pp: 319-381.
- [11] Kulinsky.V.I, Klimova.A.D, Yashunsky.V.G,
and Aplatova T.V,(1986).
Investigation of mechanism of radioprotective action of adrenoceptors agonists. Involvement of both types of α -1 adrenoceptors in the radioprotective effect.
Radiobiologiya, 26, pp: 11-16.
- [12] Neer. E. J, (1995).
Heteromeric G-proteins, organizers of transmembrane signals.
Cell 80, pp: 249-257.

- [13] Nishizuka, Y.(1992).
Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase-C.
Science, 258, pp: 607-614.
- [14] Sophia.S, K, Alie.H. S, Albert. C. R, George. M. H,
and Amato. J. G. (1993).
Potassium - channel activation in Response to low doses of γ -irradiation involves reactive oxygen intermediates in nonexcitator cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA.
Vol. 90, pp: 908-912. *Cell Biology*.
- [15] Timmermans. R, and Gerber G.B (1980).
Effet de la phynoxy-phenoxybenzamine sur le flux sanguin mesentérique du rat irradié.
C.R. Soc. Biol. 174, pp: 883-888.
- [16] Vojtsitsky. J. V. M, (1994).
Ion permeability of sarcoplasmic reticulum membranes after x-irradiation.
Radiobiologiya, 28, 3, pp: 314-317.
- [17] Watson. S, and Arkininstall. S, (1994).
The G-protein linked receptor.
Factsbook. Chap: 1, Acetylcholine, pp: 7-18.
Academic press. Harcourt. B & company publishers. 1994.
- [18] Wess, J (1997).
G-protein-Coupled receptors: molecular mechanisms involved in receptor activation and selectivity of G-protein recognition.
FASEB. J. 11, pp: 346-354.

[19] Wykoff. M. H (1972).

The effect of fast neutron irradiation on blood pressure and the response to epinephrine and acetylcholine in the rat.

Rad. Res. 49, pp: 624-630.

Activation of Vascular Cholinergic and Adrenergic Receptors induced by Gamma Rays

Abstract

Activation of vascular cholinergic receptors and adrenoceptors plays an important role in vasomotoricity and peripheric vascular resistance. These factors are essential in maintaining a stable blood pressure.

The aim of this study is to investigate the radiosensitivity differences between vascular cholinergic receptors and adrenoceptors, and consequently to determinate the effects of ionizing radiation (whole body irradiation) on contractile response regulation of vascular smooth muscle fibers VSMF isolated from rat portal vein. Our results show that:

- Clonidine, (non-specific adrenergic agonist), and Phenylephrine which is more specific α_1 - adrenoceptor agonist, increase the **VSMF** contractions. The maximum effect is obtained at $10^{-5} - 3.10^{-5}$ M.
- On irradiated rats (1-3-5 Gy), there is an important shift thus, the maximal response (E_{max}) can be obtained in lower concentrations of clonidine and Phenylephrine.
- Irradiation decreases the contractile responses of **VSMF** mediated by cholinergic stimulation, in a dose dependant manner. With:

$$E_{max} 1Gy > E_{max} 3Gy > E_{max} 5Gy$$

- Irradiated muscular fibers became less sensitive to Acetylcholine Thus, $3 \cdot 10^{-8}$ M A.ch which induces more than 50 % of contraction force increase in normal conditions, This concentration induce generally a negligible effect after irradiation.

Our results reveal the existence of radiosensitivity differences between vascular cholinergic and adrenergic receptors.