● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ ششم، شمارهٔ ۴، ص ۱۹۸-۱۹۱، ۱۳۷۸

مقالهٔ پژوهشی

اثرات وراپامیل و نیفیدیپین بر التهاب ناشی از کاراگینین در پنجهٔ موش صحرایی

دکتر محمد خاکساری[۱] و دکتر سید محمدعلی سجادی[۲]

خلاصه

از آن جایی که اعمال غیر قلبی مسددهای کانال‌های کلسیم کمتر مطالعه شده است و از سوی دیگر بعضی از مطالعات انجام شده در *in vitro* دخالت کانال‌های کلسیم را در پیدایش التهاب مطرح نموده‌اند، در پژوهش حاضر اثرات ضدالتهابی وراپامیل و نیفیدیپین روی التهاب حاد ناشی از کاراگینین در موش صحرایی بررسی و این اثرات با اثرات ضدالتهابی ایبوپروفن مقایسه شد. این مطالعه مداخله‌ای - تجربی روی ۱۱ گروه موش صحرایی بالغ نر انجام شد و التهاب (خیز) حاد پنجه توسط تزریق داخل کف پنجه ۰/۱ml محلول کاراگینین ۰/۵درصد ایجاد شد. نیفیدیپین با دوزهای ۱۰، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و وراپامیل با دوزهای ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و ایبوپروفن با دوز ۱۲ میلی‌گرم فوراً بعد از تزریق کاراگینین، به صورت داخل صفاقی مصرف شدند. میزان خیز التهابی با اندازه گیری تغییرات حجم و مقدار رنگ‌آبی ایوانز (Evans Blue) خارج عروقی در پنجه ملتهب چهار ساعت بعد از تزریق کاراگینین و مقایسه آن با پنجه کنترل (که سرم فیزیولوژیک به آن تزریق شده بود)، تعیین گردید. افزایش حجم پنجه ناشی از کاراگینین به طور معنی‌داری توسط وراپامیل و نیفیدیپین مهار شد. به طوری که این پاسخ التهابی به میزان ۱۱/۵±۸۳ درصد توسط دوز ۱۰۰$\mu g/kg$ نیفیدیپین و به میزان ۱۰±۸۰ درصد توسط دوز ۲۵$\mu g/kg$ وراپامیل مهار شد. فقط اثرات مهاری نیفیدیپین روی خیز پنجه وابسته به مقدار بود. ایبوپروفن افزایش حجم پنجه را به میزان ۱۰/۵±۸۳ درصد مهار نمود که این اثر قابل مقایسه با حداکثر اثر مهاری وراپامیل و نیفیدیپین است. هم‌چنین دوز ۲۰۰$\mu g/kg$ نیفیدیپین مقدار رنگ آبی ایوانز خارج عروقی را در پنجهٔ ملتهب به طور معنی‌داری (۵/۲±۳۷ درصد) مهار نمود. این اثر قابل مقایسه با اثر مهاری ایبوپروفن (۶/۵±۴۲ درصد) است، در حالی که وراپامیل برای ایجاد این پاسخ بی‌اثر بود. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که مصرف داروهای مسدد کانال‌های کلسیم خصوصاً نیفیدیپین می‌تواند به طور مؤثری خیز التهابی را مهار نموده و اثر مهاری آنها قابل مقایسه با اثر ایبوپروفن است.

واژه‌های کلیدی: وراپامیل، نیفیدیپین، التهاب حاد، مسددهای کانال‌های کلسیم

۱ـ استادیار گروه فیزیولوژی، ۲ـ استادیار گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان

مقدمه

پدیده التهاب بدون توجه به ماهیت عامل آسیب‌رسان بوجود می‌آید. به طوری که انواع عوامل آسیب‌رسان، ممکن است یک پاسخ مشابه را ایجاد کنند (۲۳). در حال حاضر پاتوفیزیولوژی التهاب مفاصل نامشخص است. اگر چه این موضوع مورد قبول همه است که اکثر جنبه‌های التهاب حاد از طریق رهایش میانجی‌های مختلف التهابی از قبیل هیستامین، سروتونین، برادی‌کینین، سیتوکین‌ها، کمپلمان‌ها، ایکوزانوئیدها، ماده P, CGRP, NO از بافت‌های میزبان واسطه گری می‌شوند و وجود این میانجی‌ها برای فرآیند التهاب حاد ضروری است (۱۴،۲۳).

حرکت کلسیم احتمالاً یک عامل مهم در فعال شدن یاخته‌های دخیل در التهاب است (۹). کلسیم این عمل خود را یا از طریق دخالت در رهایش میانجی‌های دخیل در التهاب اعمال می‌کند (۱۶،۱۹،۲۱،۲۵،۲۶) و یا از طریق فعال کردن آنزیم‌های غشایی یا داخل یاخته‌ای به انجام می‌رساند. به طوری که گزارش شده است، کلسیم فعال شدن آنزیم سازنده NO (۳،۲۴) و همچنین فعال شدن آنزیم‌های PLA_2 ،PLC که نتیجه آن افزایش رهایش اسید آراشیدونیک و نهایتاً افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها، لوکوترین‌ها و ترومبوکسان‌هاست را موجب می‌شود (۱۹) و یا اینکه کلسیم واسطه‌ای برای تخریب غشاء یاخته است (۱۶). گذشته از موارد فوق کلسیم به عنوان واسطه برای ایجاد اثرات میانجی‌های التهابی نیز مطرح است، بدین طریق که ترکیبات التهاب‌زا اثرات داخل یاخته‌ای خود را از طریق افزایش کلسیم داخل یاخته‌ای اعمال می‌کنند (۱۰،۱۹). با توجه به شواهد فوق فرض می‌شود که کلسیم در پیدایش التهاب نقش دارد. یکی از راههای آزمودن فرضیه نقش کلسیم در التهاب، جلوگیری از ورود کلسیم به داخل یاخته از طریق مسدود کردن کانال‌های کلسیم غشایی است که این عمل با استفاده از داروهای مسدد کانال‌های ولتاژی کلسیم از قبیل وراپامیل و نیفیدیپین امکان‌پذیر است. برای این داروها که به طور وسیع برای درمان آنژین صدری و پرفشاری خون به کار برده می‌شوند، اخیراً تعدادی از اعمال غیر قلبی و عروقی از قبیل اثر روی گردش خون احشاء شکمی، عضلات صاف لوله گوارش، یاخته‌های ترشحی لوله گوارش و کلیه (۲۵)، مهارکردن فعالیت نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در *in vitro* (۱۰)، افزایش تولید و ترشح IL-6، IL-8 در *in vitro* (۲۱)، مهارگیرنده‌های سروتونین (۲۰)، کاهش پانکراتیت حاد (۱۶)، آسم (۱۹)، خیز ریوی (۶)، خیز مغزی (۳) و افزایش ترشح انسولین (۱۴) گزارش شده است. از آن‌جایی که بعضی از اعمال این داروها در *in vitro* بیانگر نقش ضدالتهابی احتمالی آنها در *in vivo* می‌باشد و همچنین از طرف دیگر، اگر چه امروزه راههای درمانی مختلفی برای کنترل بیماری‌های التهابی از قبیل التهاب مفاصل اعمال می‌شود، اما هیچکدام به درمان کامل و قطعی بیماری منتهی نگردیده است، بنابراین در این پژوهش ما اثر مصرف داخل صفاقی وراپامیل و نیفیدیپین را روی التهاب پنجه ناشی از کاراگینین در موش صحرایی مورد آزمون قرار دادیم. با این فرض که شاید با جلوگیری از ورود کلسیم به داخل یاخته توسط داروهای فوق، اولاً به طور مستقیم نقش کلسیم را در خیز التهابی (پیدایش خیز یافتی، یکی از ویژگی‌های التهاب حاد خصوصاً التهاب مفاصل و آسم است) نشان دهیم، ثانیاً کاربرد فارماکولوژیکی جدیدی برای وراپامیل و نیفیدیپین مطرح نمائیم و ثالثاً در صورت مفید بودن این داروها از یک سوکمک به درمان بیماری‌های التهابی نموده و از سوی دیگر شاید با مصرف همزمان این داروها با داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی از اثرات جانبی و ناخواسته داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی جلوگیری نمائیم.

مواد و روش کار

۱ـ **حیوان‌ها**: این مطالعه مداخله‌ای ـ تجربی دو سوکور روی ۱۱۰ سرموش صحرایی (rat) بالغ از جنس نر از نژاد Albino-N-Mary با وزن ۱۸۰-۱۶۰گرم انجام گرفت. موش‌ها در قفس‌های ۵تایی در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی رفسنجان با درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود.

۲ـ **روش ایجاد التهاب پنجه**: ابتدا حیوان‌ها وزن و سپس با تزریق داخل صفاقی (i.p.) نیوپنتال سدیم به میزان ۴۰mg/kg بیهوش شدند. خیز التهابی در موش‌ها با تزریق زیرجلدی ۰/۱ml از محلول ۰/۵ درصد کاراگینین (Sigma Co.UK) به داخل کف پای چپ حیوان ایجاد شد و به پای راست حیوان، ۰/۱ml سرم فیزیولوژیک تزریق گردید (۱۱،۲۷). کاراگینین، یک پاسخ التهابی حاد مشابه با آنچه که در آسیب‌های مفاصل انسانی رخ می‌دهد (همراه با مهاجرت دائم گلبول‌های سفید به محل التهاب) ایجاد می‌کند (۲،۲۷).

۳ـ **روش اندازه‌گیری خیزالتهابی**: میزان خیز التهابی به وسیله دو روش اندازه گیری شد:

الف ـ روش پلتیسموگرافی (plethysmography) مایع، که در این روش، در ساعت چهارم بعد از تزریق کاراگینین (که حداکثر خیز ایجاد می‌شود)، حجم پنجه چپ با دستگاه پلتیسموگراف

اندازه‌گیری شد، سپس حجم پنجه چپ که به آن کاراگینین تزریق شده بود از حجم پنجهٔ راست که به آن سرم فیزیولوژی تزریق شده بود، کسر گردید و افزایش حجم (ml) پنجه چپ، معادل با خیز التهابی ایجاد شده به وسیله کاراگینین در نظر گرفته شد (۵،۱۳).

ب - روش نشاندارکردن پروتئین، که در این روش قبل از تزریق کاراگینین، مقدار ۳۵mg/kg رنگ آبی‌ایوانز [Evans Blue (E.B)(Sigma Co.UK)]، به داخل ورید رانی تزریق شد و بعد از ساعت چهارم، ابتدا اندازه‌گیری حجم پنجه انجام شد و سپس حیوان‌ها کشته شدند و پنجه‌های آنها از محل مفصل تار سوکرورال قطع شد. سپس وزن و توسط روش خاصی مقدار E.B به صورت میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت محاسبه شد (۱،۱۱،۱۵). از آنجایی که رنگ آبی ایوانز به پروتئین‌های پلاسما از قبیل آلبومین متصل می‌شود، بنابراین حضور آن در بافت پنجه، به طور غیرمستقیم نشانگر نشت پروتئین به خارج عروق است. اندازه‌گیری‌ها در ساعات معین و توسط فرد مشخصی انجام شد.

۴- داروهای مصرفی : وراپامیل (اهدایی شرکت روزدارو - ایران) با دوزهای ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ و نیفدیپین (اهدایی شرکت روز دارو) با دوزهای ۱۰، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم و ایبوبروفن (Sigma Co.UK) با غلظت ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم (۱۲mg/ml) به صورت داخل صفاقی بعد از تزریق کاراگینین مورد استفاده قرارگرفتند (۹،۱۹،۲۱). محلول وراپامیل در سرم فیزیولوژیک و محلول‌های نیفدیپین و ایبوبروفن در الکل سفید تهیه شد. حجم محلول‌های تزریقی وراپامیل و نیفدیپین ۱ml/kg بود.

۵- گروه‌های آزمایشی : موش‌ها به طور تصادفی به ۱۱ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۱۰-۸ سر حیوان وجود داشت. گروه‌ها عبارتند از :

گروه‌های I,II : گروه‌های "sham" بودند که حلال داروها به آنها تزریق و تغییرات حجم پا و مقدار یا محتوای رنگ آبی‌ایوانز در حضور تزریق کاراگینین اندازه‌گیری شد. در گروه I هم حجم وراپامیل تزریقی، سرم فیزیولوژیک و در گروه II هم حجم نیفدیپین یا ایبوبروفن تزریقی، الکل سفید تزریق شد.

گروه III: «گروه کنترل یا درمان نشده» بود که در حیوان‌های این گروه با روشی که بیان شد، کاراگینین تزریق و در ساعت چهارم بعد از تزریق تغییرات حجم پا و مقدار رنگ آبی ایوانز اندازه‌گیری شد.

گروه‌های IV تا VI : «گروه‌های وراپامیل» بودند که به هر یک از این گروه‌ها، یکی از دوزهای وراپامیل تزریق و در حضور تزریق کاراگینین تغییرات حجم و مقدار رنگ آبی ایوانز اندازه‌گیری شد.

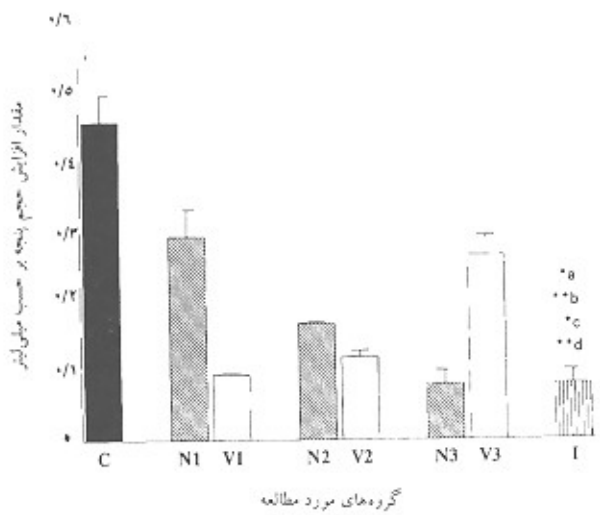
گروه‌های VII تا X : «گروه‌های نیفدیپین» بودند که به هر یک از این گروه‌ها یکی از دوزهای نیفدیپین تزریق و در حضور تزریق کاراگینین تغییرات حجم و مقدار رنگ آبی ایوانز اندازه‌گیری شد.

گروه XI : «گروه ایبوپروفن» بود که بعد از تزریق ایبوپروفن در حضور تزریق کاراگینین تغییرات حجم و مقدار رنگ آبی ایوانز در آنها اندازه‌گیری شد.

۶- روش آماری : اطلاعات به دست آمده توسط آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن استفاده از آزمون Tukey و در برخی از موارد با استفاده از آزمون unpaired t-test تجزیه و تحلیل شدند. نتایج همه آزمایش‌ها به صورت Mean±SEM گزارش شد و با شرط $P<0/05$ اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

نتایج

الف- نتایج حاصل از اندازه‌گیری تغییرات حجم: مقایسه اثر ایبوپروفن با دوزهای مختلف وراپامیل و نیفدیپین بر روی افزایش حجم پنجه در نمودار ۱ نشان داده شده است. ایبوپروفن (۱۲mg/kg) به طور معنی‌داری افزایش حجم پنجه ناشی از



نمودار ۱ : *مقایسه اثر ایبوپروفن و دوزهای مختلف وراپامیل و نیفدیپین بر افزایش حجم پنجه ناشی از کاراگینین*

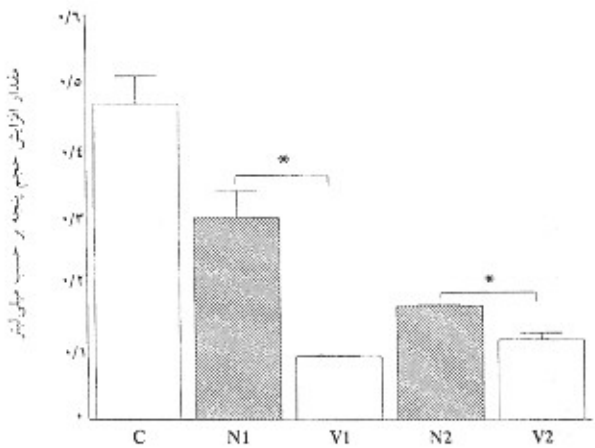
C:کنترل، V_1،V_2،V_3 به ترتیب دوزهای ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل است. N_1، N_2 و N_3 به ترتیب دوزهای ۱۰، ۲۵، ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفدیپین است. I: ایبوپروفن a: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با N_2، b: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با N_1، C: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با V_2 و d: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با V_3.

* $P<0/01$

** $P<0/001$

کاراگینین را مهار نموده است (P<۰/۰۰۱)، که این اثر مهاری ایبوپروفن به طور معنی‌داری بیشتر از اثر وراپامیل ۴۰۰μg/kg (P<۰/۰۰۱) و وراپامیل ۱۰۰μg/kg (P<۰/۰۱) است؛ هم‌چنین اثر مهاری ایبوپروفن به طوری معنی‌داری بیشتر از اثر نیفیدیپین ۱۰μg/kg (P<۰/۰۰۱) و نیفیدیپین ۲۵μg/kg (P<۰/۰۱) است، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین اثر ایبوپروفن و دوز ۱۰۰μg/kg نیفیدیپین وجود ندارد.

در نمودار ۲، مقایسه اثر وراپامیل و نیفیدیپین روی افزایش حجم پنجه نشان داده شده است. اثر مهاری دوز ۲۵μg/kg وراپامیل روی افزایش حجم پنجه (۰/۰۲±۰/۰۹۵) به طور معنی‌داری بیشتر از اثر همین دوز نیفیدیپین (۰/۰۳±۰/۱۷) است (P<۰/۰۱). از سوی دیگر اثر مهاری دوز ۱۰۰μg/kg نیفیدیپین روی افزایش حجم پنجه (۰/۰۲±۰/۰۸) به طور معنی‌داری بیشتر از اثر همین دوز نیفیدیپین (۰/۰۱±۰/۱۲) است (P<۰/۰۱). مؤثرترین دوز وراپامیل ۲۵μg/kg است که اثر کاهشی ۰/۰۲±۰/۰۹۵ را ایجاد نموده است و مؤثرترین دوز نیفیدیپین ۱۰۰μg/kg است که اثر کاهشی ۰/۰۲±۰/۰۸ را ایجاد نموده است.



نمودار ۲: مقایسه اثر دوزهای مختلف وراپامیل و نیفیدیپین روی افزایش حجم پنجه ناشی از کاراگینین

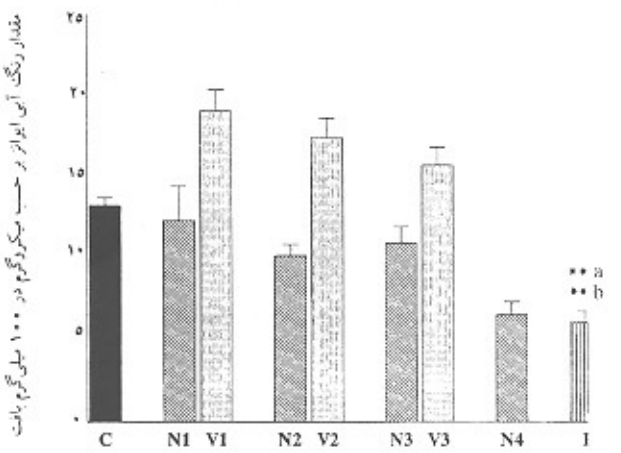
C:کنترل، N_1 و N_2 به ترتیب دوزهای ۲۵، ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفیدیپین و V_1، V_2 به ترتیب دوزهای ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل هستند.

* P<۰/۰۱

ب- نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگ آبی‌ایوانز:

در نمودار ۳، مقایسه اثر ایبوپروفن با دوزهای مختلف وراپامیل و نیفیدیپین بر روی مقدار رنگ (E.B) پنجهٔ ملتهب نشان داده شده است. ایبوپروفن (۱۲mg/kg) به طور معنی‌داری (۰/۷±۶) افزایش مقدار رنگ آبی ناشی از کاراگینین (۰/۵±۱۳/۴) را کاهش داده است (P<۰/۰۰۱)، که این کاهش رنگ توسط ایبوپروفن دارای اختلاف معنی‌دار با همهٔ غلظت‌های وراپامیل است (P<۰/۰۰۱). یعنی ایبوپروفن در مقایسه با وراپامیل افزایش مقدار رنگ را در پنجهٔ ملتهب مهار نموده است. علاوه بر این اثر مهاری ایبوپروفن به طور معنی‌داری بیشتر از اثر دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفیدیپین است (P<۰/۰۰۱)، در حالی که اختلاف بین اثر مهاری ایبوپروفن با اثر مهاری دوز ۲۰۰μg/kg نیفیدیپین معنی‌دار نیست.

مقایسه اثر وراپامیل و نیفیدیپین روی مقدار رنگ (E.B) در پنجه ملتهب در نمودار ۴ نشان داده شده است. دوز ۲۰۰μg/kg نیفیدیپین در مقایسه با همهٔ دوزهای وراپامیل مقدار رنگ آبی را به طور معنی‌داری کاهش داده است (P<۰/۰۰۱). وراپامیل برای

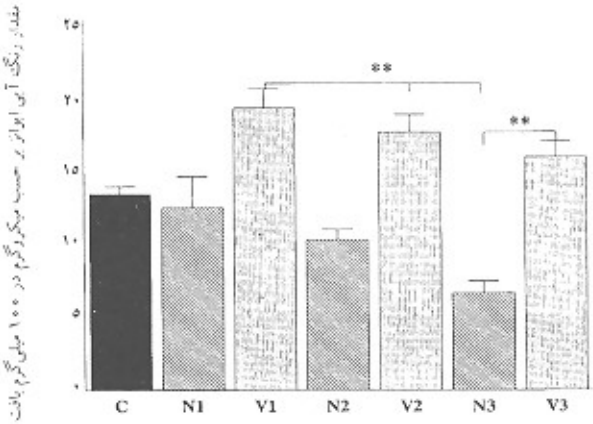


نمودار ۳: مقایسه اثر ایبوپروفن و دوزهای مختلف وراپامیل و نیفیدیپین بر روی مقدار رنگ آبی ایوانز (E.B.) پنجه، ناشی از کاراگینین

C:کنترل، V_1، V_2، V_3 به ترتیب دوزهای ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل است. N_1، N_2 و N_4 به ترتیب دوزهای ۱۰، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفیدیپین است. I: ایبوپروفن a: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با کلیه دوزهای مختلف وراپامیل b: اختلاف معنی‌دار ایبوپروفن با دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفیدیپین

** P<۰/۰۰۱

مهار این پاسخ بی‌اثر بود، در حالی که مؤثرترین دوز نیفیدیپین ۲۰۰μg/kg است که مقدار رنگ آبی ایوانز را به میزان ۰/۸±۶/۵ کاهش داده است.



نمودار ۴: *مقایسه اثر دوزهای مختلف وراپامیل و نیفدیپین بر روی میزان رنگ آبی ایوانز (E.B.) پنجه، ناشی از کاراگینین*

C: کنترل، N_1 و N_2 و N_3 به ترتیب دوزهای ۱۰، ۲۵، ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفدیپین است. V_1، V_2 و V_3 به ترتیب دوزهای ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل است.
** $P<0/001$

بحث

در حال حاضر پاتوفیزیولوژی التهاب نامشخص است، اگر چه این موضوع مورد قبول همه است که اکثر جنبه‌های التهاب حاد از طریق رهایش میانجی‌های مختلف التهابی از بافت میزبان واسطه گری می‌شود که وجود این میانجی‌ها برای فرآیند التهاب ضروری است (۱۴). یکی از میانجی‌هایی که دارای نقش احتمالی در فعال شدن یاخته‌های التهابی است، کلسیم می‌باشد (۹) که به طرق مختلف، در پیدایش التهاب نقش دارد. با مصرف مسدد‌های کانال کلسیم در *in vitro* نقش کلسیم در التهاب نشان داده شده است (۹،۱۶،۱۹،۲۱). با توجه به دوزهای مصرفی در مطالعات قبلی، در پژوهش حاضر با مصرف دوزهای اندک وراپامیل و نیفدیپین در *in vivo* [(که اکثر دوزهای مصرفی، بر روی قلب اثر نمی‌گذارند) (۲۰،۲۲)] نقش کلسیم در پیدایش التهاب حاد ناشی از کاراگینین مورد ارزیابی قرار گرفت. از آن‌جایی که تشکیل خیز بافتی در التهاب حاد تعیین کننده است (۲۶)، بنابراین از اندازه گیری این خیز به عنوان معیار برای سنجش توان ضد التهابی داروهای مصرفی استفاده شد.

این مطالعه نشان داد که نیفدیپین افزایش حجم پنجه ملتهب ناشی از کاراگینین را به صورت وابسته به دوز مهار نموده است، به طوری که حداکثر پاسخ مهاری (۱۱/۵±۸۳ درصد) با دوز ۱۰۰$\mu g/kg$ بدست آمده است.

نتایج حاصل از اثر وراپامیل حاکی از این است که حداکثر پاسخ ایجادی (۸۰ درصد که تفاوت معنی‌داری، با حداکثر پاسخ ایجادی نیفدیپین ندارد) توسط کمترین دوز مصرفی وراپامیل (۲۵$\mu g/kg$) بدست آمده است، یعنی این‌که اثرات وراپامیل بر خلاف اثرات نیفدیپین وابسته به دوز نیست. اثرات مشاهده شده فوق به دنبال مصرف داخل صفاقی داروهای مسدد کانال کلسیم، نشانگر واسطه گری کلسیم در پاسخ التهابی ایجادی در پنجه است.

نتایج حاصل از سنجش اثر ضدالتهابی داروهای فوق با یک داروی ضدالتهابی استاندارد یعنی ایبوپروفن نشانگر این است که ایبوپروفن به میزان ۱۰/۲±۸۳ درصد افزایش حجم پنجه را مهار نموده است. مقایسه ایبوپروفن و وراپامیل نشان می‌دهد که این اثر ایبوپروفن با حداکثر پاسخ ایجادی توسط دوز ۲۵$\mu g/kg$ وراپامیل و دوز ۱۰۰$\mu g/kg$ نیفدیپین قابل مقایسه است.

با توجه به سازوکارهای احتمالی دخیل در پیدایش خیز التهابی، مسددهای کانال کلسیم، احتمالاً از طریق کاهش دوز ca^{++} در وریدها و کاهش مقاومت این عروق، کاهش فشار هیدروستاتیک در عروق خونی کوچک (مثل مویرگ‌ها) را موجب شده است، یا از طریق مهار رهایش میانجی‌های دخیل در التهاب عمل خود را انجام داده است (۱۶،۱۹،۲۱،۲۵،۲۶) و یا از طریق کاهش دوز ca^{++}، فعالیت آنزیم‌های سازنده ایکوزانوئیدها و لوکوترین‌ها یعنی PLC،PLA_2 را مهار نموده است (۸). هم‌چنین شاید این داروها با مهار ورود کلسیم، تثبیت غشاء یاخته را موجب شده که نتیجه این امر کاهش جراحت به بافت و کاهش التهاب است (۲۴). از آن جایی که گزارش شده است که ایکوزانوئیدها از طریق افزایش ورود کلسیم، التهاب را ایجاد می‌کنند بنابراین، داروهای مصرفی فوق شاید منحصراً با جلوگیری از عملکرد این واسطهٔ مهم التهابی عمل مهاری خود را انجام داده باشند. شاهد این مدعا قابل مقایسه بودن اثرات ناشی از این مسددها با اثر ایبوپروفن در این پژوهش است، زیرا غلظتی از ایبوپروفن در این مطالعه استفاده شده است که دارای اثر مهاری روی آنزیم سیکلواکسیژناز است (۴). احتمال قابل طرح دیگر برای عملکرد مهاری این داروها، مهار گیرنده‌های سروتونین است (۱۰). شاید این داروها جریان روبه داخل کلسیم ناشی از بعضی از میانجی‌ها را در یاخته‌های اندوتلیال (۱۷) عروق مهار نموده‌اند و به دنبال آن شل شدن یاخته‌ها و یا بسته شدن شکاف بین این یاخته‌ها بوجود آمده که نتیجه نهایی آن کاهش نفوذپذیری عروق و مهار خروج مایع و پروتئین از عروق است. علی‌رغم دلایل احتمالی فوق، اما این احتمال نیز وجود دارد که اثرات ضد التهابی داروهای فوق ممکن است از طریق

اعمال غیر مرتبط با مهار کانال کلسیم (۱۸،۲۳) از قبیل مهار کانال‌های یون‌های دیگر (۱۲) و یا تنظیم کاهشی گیرنده‌های مواد التهاب‌زا در پنجهٔ ملتهب (۱۸) یا مهار ورود کلسیم با واسطهٔ گیرنده (۲۰) اعمال شده باشد. البته احتمال‌های دیگری نیز قابل طرح است. اثرات مشاهده شده برای مسدد‌های کانال کلسیم با گزارش De Vires، که مصرف موضعی مسدد‌های دیگر کلسیم را روی التهاب پوست بررسی کرده است، هماهنگی دارد (۹) و هم‌چنین با گزارش‌هایی که راجع به کاهش پانکراتیت حاد، (۱۶)، کاهش خیز ریوی در ارتفاعات (۶)، کاهش خیز مغزی (۳)، جلوگیری از آسم (۱۹) و مهار افزایش حساسیت نوع تأخیری (DTH) (۷) است، مطابقت دارد؛ علاوه بر این، پژوهش حاضر تأییدی برای گزارش‌های دیگران راجع به فعالیت‌های غیرقلبی این مسدد‌های کانال کلسیم (۲۱،۲۵) است.

در مقایسه‌ای که بین اثر ضدالتهابی وراپامیل و نیفیدیپین انجام شد، آشکار گردید که اثر وراپامیل در دوز کم ۲۵μg/kg به طور معنی‌داری بیشتر از اثر همین دوز نیفیدیپین است، در حالی که در دوز زیاد ۱۰۰μg/kg اثر وراپامیل کمتر از اثر نیفیدیپین است. دلایل این پاسخ متفاوت وراپامیل می‌تواند این باشد که شاید در دوزهای کم اثر وراپامیل توسط سازوکارهای مطرح شده قبلی اعمال شده باشد و در دوزهای زیاد کاهش دوز کلسیم در شریانچه‌ها، شل شدن شریانچه‌ها و افزایش جریان خون موضع و نتیجتاً افزایش فشار هیدروستاتیک را موجب شده است (۱۴) و بدین وسیله اثر مهاری آن روی خروج مایع کاهش یافته است و یا این که از طریق افزایش تولید اینتر لوکین‌ها (۲۱) در این دوز این اثر اعمال شده باشد. با اینکه علی‌رغم این که هر دو مسدد مهار کننده کانال کلسیمی آهسته هستند، اما به علت تفاوت ساختمانی این مسدد‌های مصرف شده بعضی تفاوت‌ها در رفتار تنظیمی آنها وجود دارد، به طوری که وراپامیل اثر قلبی بیشتر و اثر عروقی کمتری دارد، برعکس اثر نیفیدیپین روی قلب کمتر از اثر آن روی عروق است (۲۸) که این خود تفاوت پاسخ را ایجاد نموده است. اگر چه گزارش شده است که تقویت اثر ضددردی نیکوتین توسط این مسدد‌های کانال‌های کلسیم نیز وابسته به دوز نیست (۲۸).

نتایج حاصل از بررسی اثرات این داروها روی خروج پروتئین (خصوصاً آلبومین) از عروق پنجهٔ ملتهب که به وسیله محتوا یا مقدار رنگ آبی ایوانز در بافت ملتهب اندازه گیری شد، نشانگر این است که فقط دوز ۲۰۰μg/kg نیفیدیپین محتوای رنگ را به میزان ۵/۲±۳۷ درصد به طور معنی‌داری کاهش داد. حتی دوزهای ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل به ترتیب افزایش به میزان ۶/۷±۴۴ درصد و ۴/۲±۳۱ درصد در محتوای رنگ آبی بافت بوجود آوردند، که معرف افزایش خروج پروتئین (نه مهار آن) در این دوزهای وراپامیل است. سازوکار این موضوع که چرا وراپامیل بر محتوای رنگ آبی ایوانز در پنجهٔ ملتهب اثر نداشت، احتمالاً به این دلیل است که نشت پروتئین و حرکت آب مستقل از یکدیگر رخ می‌دهد، که این مشابه با اثر مشاهده شده برای داروهای ضدالتهابی در مطالعه قبلی ما است (۱) و یا به این علت است که وراپامیل با تولید و ترشح اینترلوکین (۲۷) نفوذپذیری عروق را افزایش داده است.

محتوای رنگ آبی ایوانز در پنجهٔ ملتهب توسط ایبوپروفن به میزان ۵/۲±۴۲ درصد کاهش پیدا کرده است که این میزان اثر به طور معنی‌دار از اثر همهٔ دوزهای مصرفی وراپامیل و دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۱۰۰ نیفیدیپین نیز بیشتر است در حالی که این اثر با اثر ناشی از دوز ۲۰۰μg/kg نیفیدیپین روی خروج رنگ آبی ایوانز از عروق تفاوت معنی‌دار ندارد.

در مجموع، بررسی حاضر نشان داد که مصرف وراپامیل و نیفیدیپین التهاب حاد پنجه، ناشی از کاراگینین را از طریق کاهش حجم افزایش یافته پنجه کاهش می‌دهد، که برای ایجاد این پاسخ اثر نیفیدیپین قوی‌تر از اثر وراپامیل است و حتی این اثر قابل مقایسه با اثر ناشی از ایبوپروفن است؛ علاوه براین نیفیدیپین نه تنها از طریق مهار خروج مایع از عروق، التهاب را کاهش داده است، بلکه حتی توانایی کاهش نشت پروتئین را نیز در عروق پنجه ملتهب داراست. بنابراین در شرایطی که استفاده از استروئیدها یا داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی (از قبیل شیوع پیدایش زخم معده یا خصوصاً افزایش فشار خون در اثر مصرف این داروها) اثرات ناخواسته‌ای را ایجاد می‌کند، یا در شرایطی از قبیل اترواسکلروزیس که امروزه سازوکار التهابی را در پیدایش آن دخیل می‌دانند (۲۲)، جایگزینی یا مصرف یک ماده مهار کننده کانال کلسیم خصوصاً نیفیدیپین پیشنهاد می‌شود. هم‌چنین اگر از نظر پاتوفیزیولوژی اثر ضدالتهابی این داروها در انسان تأیید شود، ممکن است این ترکیبات برای درمان بیماری‌های التهابی انسان نیز مفید باشند.

سپاسگزاری

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی از سوی شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی رفسنجان تصویب شد و از حمایت مالی این دانشگاه برخوردار بوده است، بدین وسیله از مسؤولان ذیربط قدردانی به عمل می‌آید. پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند هم‌چنین از همکاران محترم مرکز کامپیوتر و واحد نگهداری حیوان‌های دانشکده پزشکی رفسنجان قدردانی و تشکر به عمل آورند.

Summary

Effects of Verapamil and Nifedipine on Carrageenan-Induced Inflammation in the Rat Paw.

M. Khaksari, PhD[1], M.A. sajadi, MD[2]

1. Assistant Professor of Physiology, 2. Assistant Professor of Internal Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Rafsanjan, Iran

The extracardiac actions of calcium-channel belockers has little been studied. In fact, it has been demonstrated in a number of ***in vitro*** *studies, that calcium-channel blokers are involved in inflammation. Here, we evaluated the dose-dependent effects of the verapamil and nifedipine on carrageenan-induced, acute inflammation in the rat paw compared to the anti-inflammatory activites of ibuprofen. The adult male rats were divided into two groups. Paw edema was induced by intraplantar injection of 0.1 ml of 0.5% carrageenan solution. Different doses of nifedipine (10, 25, 100, 200, μg/kg) and verapamil (25, 100 400,μg/kg) and ibuprofen 12 mg/kg given intrapritoneally after carrageenan injection. Assessment of edema performed by calculation of volume changes and by extravasation of Evans Blue in test group compared to the control, one hour after injection of carrageen. Verapamil and nifedipine showed significantly inhibitory effect on increased edema. Maximum inhibition (83±10%) were induced by nifedipine at 100 μg/kg and verapamil at 25μg/kg. Nifedipine inhibited paw edema in a dose-dependent manner. The inflammation was significantly reduced (37±5.2%) by nifedipine at 200μg/kg, whereas verapamil did not have any effect. Ibuprofen reduced increased volume of paw and Evans Blue content by 83±11.5%, and 42±6.3% respectively. No significant differences were found between inhibitory effects of nifedipine and ibuprofen. According to this results, calcium-channel blockers can inhibit acute inflammatory responses in the paw, and these effects are comparable to ibuoprofen.*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1999; 6(4): 191-198

Key Words: *Verapamil, Nifedipine, Acute inflammation, Calcium channels blockers*

منابع

۱. خاکساری، محمد: اثر ایبوپروفن و متی‌مازول بر خیز ناشی از سوختگی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۴، سال دوم، شماره ۳، ص ۱۲۷-۱۲۰.

۲. نجفی‌پور، حمید: تغییر نسبت گیرنده‌های بتا آدرنرژیک مفصل زانوی خرگوش بر اثر التهاب حاد. مجلهٔ فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، ۱۳۷۷، سال دوم، شماره ۲، ص ۱۱۲-۱۰۴.

3. Abe K, Kogure K and Watanabe T. Prevention of ischemic and postischemic brain edema by a novel calcium antagonist (PN 200-110). *J Cereb Blood Flow Metab* 1988; 8(3): 436-439.
4. Alexander F, Mathieson M, Teoh KHT, *et al.* Arachidonic acid metabolites Mediate early burn edema. *J Trauma* 1984; 24(8): 709-712.
5. Amorim CZ, Sergio R and Vargaftig BB. Interference of PCA 4248, a novel PAF receptor antagonist with antigen induced paw edema in mice. *Eur J Pharmacol* 1993; 236: 301-304.
6. Bartsch P. High altitude pulmonary edema. *Respiration* 1997; 64(6): 435-443.
7. Corteza Q, Shen S, Revic D and Chretien P. Effects of calcium channel blockers on *in vivo* cellular immunity in mice. *Transplantstion* 1989; 47(2): 339-342.
8. Craven PA and DeRubertis FR. Ca^{2+} calmodulin-dependent release of

arachidonic acid for renal medullary prostaglandin synthesis: Evidence for involvement of phospholipases A-2 and C. *J Biol Chem* 1983; 258(8): 4814-4823.

9. De Vries GW, Mclaughlin A, Wenzel WB *et al.* The antiinflammatory activity of topically applied novel calcium channel antagonists. *Inflammation* 1995; 19(2): 261-275.
10. Fujishima Y, Hara H, Shimazawa M, Yokota K and Sukamoto T. The effects of a novel Ca^{2+} channel blocker, KB-2796, on 5- HT induced responses. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1994; 104(1): 19-29.
11. Gilligan JP, Lovato SJ, Erion MD and Jeng AY. Modulation of carrageenan Induced hind paw edema by substance P. *Inflammation* 1994; 18(3): 285-292.
12. Hagiwara S and Byerly L. Calcium channel. *Ann Rev Neurosci* 1981: 4: 69-125.
13. Hanada S, Sertie JA, Waisbich E and Sudo LS. Miconazole as inflammatory agent I. Cellular and pathophysiological effects. *Gen Pharmacol* 1994; 25(4): 713-717.
14. Katzung BG: Basic and clinical pharmacology. 16th ed., Lange Medical book, 1995; pp301-305.
15. Khoshbaten A and Ferrell WR. Responses of blood vessels in the rabbit knee to acute joint inflammation. *Ann Rheum Dis* 1990; 44(supple): 540-544.
16. Lake Bakaar G and Lyubsky S. Dose dependent effect of continuous subcutaneous verapamil infusion on experimental acute pancreatitis in mice. *Dig Dis Sci* 1995; 40(11): 2349-2355.
17. Mendelowitz D, Bacal K and Kunze DL. Bradykinin activated calcium influx pathway in bovine aortic endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1992; 262(4): 31-34.
18. Miranda HF and Paeile C. Interactions between analgesics and calcium channel blockers. *Gen Pharmacol* 1990; 21(2): 171-174.
19. Ogle CW, Cho CH, Tong MC and Koo MWL. The influence of verapamil on the gastric effects of stress in rats. *Eur J Pharmacol* 1985; 112(3): 339-404.
20. Rink TJ. Receptor-mediated calcium entry. *FEBS LETT* 1990; 268(2): 381-385.
21. Rodler S, Roth M, Nauck M, Tamm M and Block LH. Ca^{2+} channel blockers modulate the expression of interleukin 6 and interleukin 8 genes in human vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27(10): 2295-2302.
22. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990; *Nature* 1993; 362: 801-804.
23. Scott DT, Lam FY and Ferrell WR. Acute joint inflammation-mechanisms and mediators. *Gen pharmacol* 1994; 25(7): 1285-1296.
24. Southan GJ and Szabo C. Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. *Biochem Pharmacol* 1996; 51(4): 383-394.
25. Takagi T and Kato M. Effects of Nifedipine and verapamil on splanchnic and renal blood flow and function. *Prog Appl Microcirc* 1989; 14: 104-117.
26. Warren JB. Vascular control of inflammatory oedema. *Clinical Science colch* 1993; 84: 581-584.
27. Wirth KJ, Alpermann HG, Satoh R and Inazu M. The bradykinin antagonist hoe 140 inhibits carrageenan and thermically induced paw oedema in rats. *Agents Actions* 1992; 38(supple III): 428-431.
28. Zbuzek VK, Cohen B and Wu W. Antinociceptive effect of nifedipine and verapamil tested on rats chronically exposed to nicotine and after its withdrawal. *Life Sci* 1997; 60(19): 1651-1658.