● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ نهم، شمارهٔ ۲، ص ۶۷ - ۶۰، ۱۳۸۱

مقالهٔ پژوهشی

فعالیت ضدالتهابی مهارکننده‌های کانال کلسیم بر التهاب مزمن در موش صحرایی

دکتر محمد خاکساری[۱]، دکتر سید محمدعلی سجادی[۲]، دکتر مهدی زینلی‌زاده[۳] و دکتر مسعود موسوی[۳]

خلاصه

از آنجا که کلسیم به عنوان فاکتور مهمی در فعال شدن یاخته‌های دخیل در التهاب شناخته شده است، مهار کننده‌های کانال کلسیم ممکن است دارای فعالیت ضدالتهابی باشند. بدین منظور در پژوهش حاضر فعالیت ضدالتهابی دو مهار کننده کانال ولتاژی کلسیم یعنی وراپامیل و نیفدیپین بر روی التهاب مزمن ناشی از تزریق اجووانت فروند در پنجه موش صحرایی بررسی شد. مطالعه روی ۵ گروه موش صحرایی بالغ نر انجام شد. التهاب مزمن با تزریق ۰/۱ml از محلول اجووانت کامل فروند (freund's complete adjuvant: (FCA) به داخل کف پای چپ حیوان ایجاد و در روزهای صفر (بلافاصله قبل از تزریق)، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ خیز التهابی اندازه گیری شد. وراپامیل با دوز ۲۵ و نیفدیپین با دوز ۱۰۰μg/kg و ایبوپروفن با دوز ۱۲mg/kg و دی‌متیل سولفوکسید (DMSO به عنوان حلال داروها) از روز هفتم پس از ایجاد التهاب (شروع مرحله مزمن) به روش خوراکی روزانه از طریق لوله دهانی ـ معدی به حیوانات داده شد. میزان خیز التهابی با اندازه گیری تغییرات حجم پنجه در روزهای فوق و مقدار رنگ آبی ایوانز (Evans blue) خارج عروقی در پنجه ملتهب در روز بیست و هشتم اندازه گیری شد. در گروه FCA حجم پنجه از روز اول افزایش یافت به طوری که میزان افزایش حجم در روز بیست و هشتم ۰/۵ml±۰/۸ بود. این پاسخ التهابی به میزان ۶۲/۵ درصد به وسیله وراپامیل، به میزان ۵۰ درصد توسط نیفدیپین و به میزان ۶۰ درصد به وسیله ایبوپروفن مهار شد. در روز بیست و هشتم بین اثرات ناشی از داروهای فوق اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. هیچ یک از داروهای مصرفی توان کاهش نشت آلبومین (بر اساس مقدار رنگ آبی ایوانز خارج عروقی) ناشی از اجووانت را نداشتند. این نتایج پیشنهاد می‌کنند، که داروهای مهار کننده کانال کلسیم توان کاهش التهاب مزمن ناشی از اجووانت را داشته و اثر مهاری آنها قابل مقایسه با اثر ایبوپروفن است.

واژه‌های کلیدی: کانال کلسیم، وراپامیل، نیفدیپین، التهاب مزمن، اجووانت

مقدمه

میانجی‌های مختلفی در پیدایش التهاب سهیم هستند، که از جمله آنها می‌توان، سیتوکین‌های التهابی (IL-15, IL-12, IL-10 (TNFa, IL-6, IL-1 کینین‌ها، هیستامین، سروتونین، متابولیت‌های اسیدآراشیدونیک ($LTB_4, TXA_2, PGE_2, PGD_2$ و PGI_2) ماده P، NO، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و PAF (فاکتور فعال کننده پلاکتی) را نام برد (۱،۳،۶،۲۷).

انقباض عضله صاف، رهایش میانجی‌های شیمیایی از یاخته‌های تیرک‌دار، شروع و هدایت ایمپالس عصبی، حرکت یاخته‌های التهابی و ترشح مواد شیمیایی از ماکروفاژها و نوتروفیل‌های فعال شده و فعالیت میانجی‌های التهاب در یاخته‌های هدف همه نشانگر پدیده‌های وابسته به کلسیم است،

۱ـ دانشیار فیزیولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲ـ استادیار گروه داخلی، ۳ـ پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی رفسنجان

یعنی افزایش در غلظت داخل یاخته‌ای کلسیم باید رخ دهد تا عمل یاخته‌ای خاص را تحریک کند (۱۸). بنابراین کلسیم احتمالاً یک یون مهم دخیل در پیدایش التهاب است. شواهد آزمایشگاهی فراوانی در جهت تأیید این موضوع وجود دارد: افزایش غلظت داخل یاخته‌ای کلسیم در یاخته‌های مشخصی در مجاری هوایی بیماران آسمی باید بوجود آید، تا پاسخ به محرک در آنها ایجاد شود (۱۸،۱۹). کلسیم موجب افزایش LTB_4 شده و از این طریق چسبندگی گلبول‌های سفید به اندوتلیال عروق و افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید از عروق به جایگاه‌های التهاب را باعث می‌شود (۲۳). افزایش داخل یاخته‌ای کلسیم نقش تعیین کننده‌ای در عملکرد و فعال شدن لنفوسیت‌ها دارد (۱۳). اسید آراشیدونیک از طریق تغییر در فعالیت کانال‌های یون کلسیم و به دنبال آن تغییر در غلظت داخل یاخته‌ای کلسیم اثرات خود را اعمال می‌کند (۲۴). علاوه بر این کلسیم موجب فعال شدن آنزیم سازندهٔ NO (۲۵)، فعال شدن آنزیم‌های PLC, PLA_2 و نهایتاً افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها، لوکوترین‌ها و ترومبوکسان‌ها می‌شود (۱۵،۲۲). تزریق داخل نخاعی کلسیم و تزریق یونوفورکلسیم A23187 به داخل پوست پاسخ التهابی ایجاد می‌کند (۲۶).

گزارش‌های فوق منجر به این فرضیه شده که مهارکننده‌های کانال کلسیم که مانع ورود کلسیم به داخل یاخته می‌شوند، احتمالاً توانایی مهار التهاب را دارا هستند و بر همین اساس در چندین پژوهش اعمال زیر برای مهارکننده‌های کانال کلسیم پیشنهاد شده است: مهار تولید و بیان ژن گیرنده IL-2 در لنفوسیت‌ها به وسیله وراپامیل (۲۸)، مهار مهاجرت لنفوسیت‌های تحریک شده توسط IL-1, IL-8 به جایگاه التهاب به وسیله وراپامیل و نیفدیپین (۴)، مهار رهایش PDGF و ترومبوکسان به وسیله وراپامیل و نیفدیپین (۱۵)، مهار خیرالتهابی میوکارد ناشی از اندوتلین -۱ به وسیله وراپامیل و نیفدیپین (۱۰)، مهار رهایش PAF، چسبندگی گلبول‌های سفید، افزایش نفوذپذیری عروق ناشی از LTB_4 به وسیله نیفدیپین (۲۳)، مهار رهایش کلسیم از منابع داخلی نوتروفیل‌ها و به دنبال آن مهار PLA_2 و عمل فاگوسیتوز به وسیله نیفدیپین و دیلتیازم (۲۲)، هم‌چنین مهار رهایش کلسیم از منابع داخلی نوتروفیل‌ها و به دنبال آن مهار PLA_2 و عمل فاگوسیتوز به وسیله نیفدیپین و دیلتیازم (۲۲)، همچنین مهار فعالیت نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در *in vitro* (۱۳) و مهار گیرنده‌های سروتونین (۱۲،۲۱). بیشتر اعمال بیان شده فوق برای مهارکننده‌های کانال کلسیم در *in vitro* می‌باشد و در حال حاضر در مورد اعمال ضد التهابی آنها در *in vivo* گزارش‌های اندکی وجود دارد. در مطالعه قبلی مهار خیز التهابی حاد ناشی از کاراگینین در پنجهٔ موش صحرایی توسط وراپامیل و نیفدیپین گزارش گردید (۲). در مطالعه حاضر فعالیت ضدالتهابی این دو مهارکننده بر روی التهاب مزمن ایجاد شده به وسیله تزریق اجووانت کامل فروند مورد آزمون قرار گرفت و با اثر ضدالتهابی ایبوبروفن که یک داروی استاندارد ضدالتهاب می‌باشد مقایسه شد. از آنجا که آرتریت ناشی از اجووانت در موش صحرایی از بسیاری جهات مشابه با آرتریت روماتوئید در انسان می‌باشد (۱،۹،۱۷) در صورت اثبات اثرات ضد التهابی وراپامیل و نیفدیپین در پژوهش حاضر می‌توان این داروها را در درمان بیماری‌های التهابی از قبیل آرتریت روماتوئید به صورت جایگزین یا همزمان با داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی پیشنهاد نمود.

مواد و روش کار

۱ـ حیوانات: این مطالعه تجربی روی ۶۰ سر موش صحرایی (rat) بالغ از جنس نر از نژاد Albino - N - Mary با وزن ۱۸۰-۱۶۰ گرم انجام گرفت. موش‌ها در قفس‌های ۵ تایی در حیوان‌خانه در درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود.

۲ـ روش ایجاد التهاب مزمن: ابتدا حیوان‌ها وزن و سپس با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم به میزان ۴۰mg/kg بی‌هوش شدند. خیز التهابی مزمن در موش‌ها با تزریق ۰/۱ml از محلول اجووانت کامل فروند Freund's Complete Adjuvant(FCA) (شرکت بیوژن ایران) به کف پای حیوان ایجاد شد. FCA، ترکیبی از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته و خشک شده در روغن معدنی می‌باشد و معمولاً برای ایجاد التهاب مزمن مفاصل (آرتریت) به عنوان یک آنتی‌ژن استفاده می‌شود (۱،۱۰،۱۷).

۳ـ روش اندازه‌گیری خیزالتهابی: میزان خیز التهابی به وسیله دو روش زیر اندازه‌گیری شد:

الف ـ روش پلتیسمومتری (plethysmometer) مایع که طبق این روش، افزایش حجم پنجه در روزهای صفر، (فوراً بعد از تزریق اجووانت) ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و همچنین روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ بعد از تزریق FCA، اندازه‌گیری شد (۹). روش پلتیسمومتری مشابه با روش استفاده شده در مطالعه قبلی ما است (۲).

ب ـ روش نشان‌دارکردن پروتئین که طبق این روش در روز بیست و هشتم مقدار ۳۵mg/kg رنگ آبی ایوانز Evans blue

Sigma Co.UK (E.B) 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 تارسوکروورال قطع شد. سپس پنجه‌ها وزن و توسط روش خاصی مقدار E.B به صورت میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت محاسبه شد (۲).

۴- داروهای مصرفی: وراپامیل ونیفدیپین (اهدایی شرکت رز دارو ایران) به ترتیب با دوز ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و ایبوپروفن (Sigma Co.UK) با غلظت ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت خوراکی از طریق یک لوله دهانی ـ معدی (در حالی که بی‌هوشی جزیی توسط اتر در حیوان ایجاد می‌شد) از روز هفتم بعد از تزریق FCA به حیوانات داده شد. دوزهای استفاده شده برای مهارکننده‌های کانال کلسیم در این مطالعه، دوزهایی بودند که در مطالعه قبلی حداکثر اثر مهاری را داشتند (۲). وراپامیل، نیفدیپین و ایبوپروفن در دی‌متیل سولفوکساید [sigma Co.UK (DMSO)] حل شدند (۱۰). حجم محلول‌های مصرفی ۱ml/kg بود و محلول‌ها توسط فردی مشخص و در ساعت مشخصی از روز و از روز هفتم بعد از تزریق (شروع دوره التهاب مزمن) برای مدت زمان بیست و یک روز به حیوان‌ها خورانده شدند. DMSO نیز به عنوان حلال به صورت هم حجم مصرفی داروهای فوق مصرف شد.

۵- گروه‌های آزمایشی: موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه زیر تقسیم شدند و در هر گروه ۱۲ سر حیوان وجود داشت:

گروه I (Sham): به حیوانات این گروه، حلال داروها یعنی DMSO خورانده شد و تغییرات حجم پنجه و مقدار رنگ آبی ایوانز در حضور FCA اندازه‌گیری شد.

گروه II (گروه کنترل یا درمان نشده): به حیوانات این گروه با روش ذکر شده FCA به کف پا تزریق و در روزهای صفر تا هفتم و همچنین روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸ بعد از تزریق حجم پنجه و در روز بیست و هشتم مقدار رنگ آبی ایوانز در آنها اندازه‌گیری شد.

گروه III (گروه وراپامیل): به حیوانات این گروه برای بیست و یک روز وراپامیل داده شد و حجم پنجه و مقدار رنگ آبی ایوانز از روز هفتم مطالعه اندازه‌گیری شد.

گروه IV (گروه نیفدیپین): در این گروه مشابه گروه III عمل شد با این تفاوت که به جای وراپامیل، نیفدیپین استفاده شد.

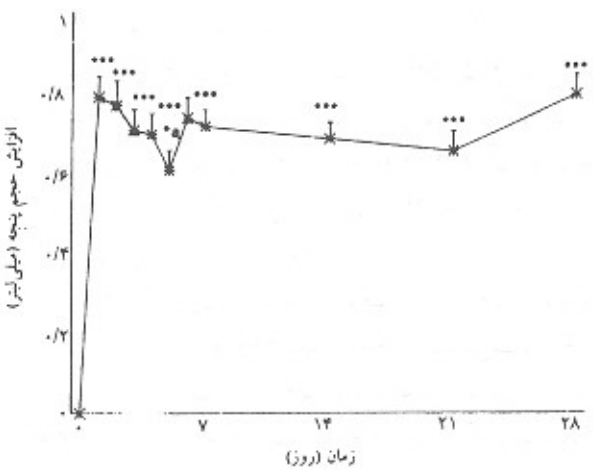
گروه V (گروه ایبوپروفن): این گروه تحت مصرف خوراکی ایبوپروفن قرار گرفت و تغییرات حجم پنجه و مقدار رنگ آبی ایوانز از روز هفتم مطالعه اندازه‌گیری شد.

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 Student 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 حجم پنجه:

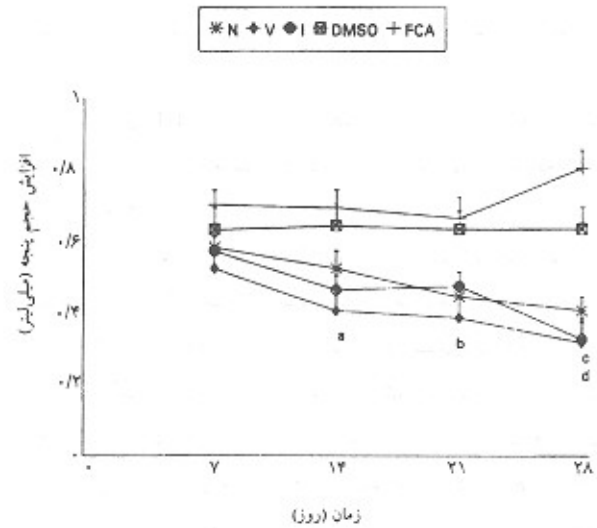
اثر FCA بر روی افزایش حجم پنجه در طی ۲۸ روز در نمودار ۱ نشان داده شده است. FCA از همان روزهای اول بعد از تزریق، حجم پنجه را در مقایسه با روز صفر افزایش داده است به طوری که افزایش حجم در روزهای اول تا بیست و هشتم بعد از تزریق دارای اختلاف معنی‌دار با روز صفر است ($P<0/001$).



نمودار ۱: *اثر اجووانت کامل فروند (FCA) بر روی حجم پنجه در روزهای مختلف بعد از تزریق a : ($P<0/05$) اختلاف معنی‌دار روز پنجم با روز اول *** : ($P<0/001$) اختلاف معنی‌دار روزهای مختلف با روز صفر*

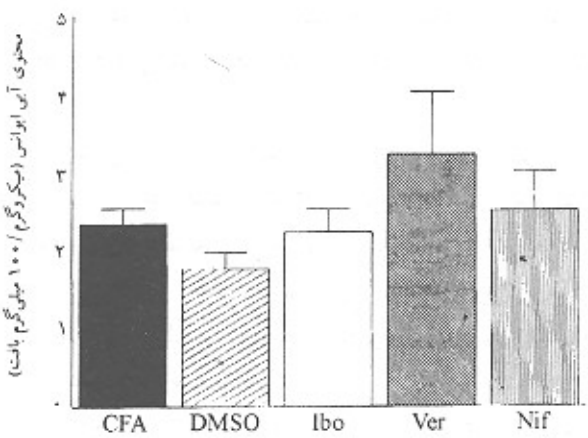
حجم پنجه در روز پنجم مقداری کاهش یافته اما بین بقیه روزهای مطالعه، اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. بدین ترتیب مشخص شد که افزایش حجم پنجه ایجاد شده در اثر تزریق FCA در روز اول تا روز بیست و هشت بعد از تزریق ادامه داشته است.

در نمودار ۲، مقایسه اثر وراپامیل، نیفدیپین و ایبوپروفن بر روی افزایش حجم پنجه ناشی از FCA نشان داده شده است. افزایش حجم پنجه در گروه وراپامیل در روز چهاردهم به میزان ۰/۴±۰/۰۵۹ است که اختلاف معنی‌دار با گروه FCA در همین روز دارد ($P<0/01$). افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق FCA و دی متیل سولفوکساید (DMSO) در روز بیست و یکم (۰/۶۳±۰/۰۵) به طور معنی‌داری به وسیله وراپامیل مهار شده



نمودار ۲: مقایسه اثر ایبوپروفن، وراپامیل، نیفدیپین و DMSO بر افزایش حجم پنجه ناشی از اجووانت کامل فروند(FCA). a : اختلاف معنی‌دار وراپامیل با FCA در روز چهاردهم (P<۰/۰۵)b : اختلاف معنی‌دار وراپامیل با FCA با DMSO در روز بیست و یکم (P<۰/۰۵) c : اختلاف معنی‌دار وراپامیل با نیفدیپین با ایبوپروفن با FCA در روز بیست و هشتم (P<۰/۰۰۱) d : اختلاف معنی‌دار وراپامیل با نیفدیپین با ایبوپروفن با DMSO در روز بیست و هشتم (P<۰/۰۵)

است (P<۰/۰۵). در روز بیست و هشتم بعد از تزریق FCA،افزایش حجم پنجه در حضور وراپامیل، نیفدیپین و ایبوپروفن دارای اختلاف معنی‌دار با گروه FCA است (P<۰/۰۰۱).همچنین در این روز وراپامیل و نیفدیپین و ایبوپروفن با گروه DMSO اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۳: مقایسه اثر ایبوپروفن، وراپامیل، نیفدیپین و DMSO بر مقدار رنگ آبی ایوانز (E.B) پنجهٔ ملتهب ناشی از FCA. DMSO: دی‌متیل سولفوکساید، Ibo: ایبوپروفن، Ver: وراپامیل، Nif: نیفدیپین

در هیچیک از روزهای مطالعه بین وراپامیل، نیفدیپین و ایبوپروفن اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

ب - نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگ آبی ایوانز

مقایسه اثر ایبوپروفن با وراپامیل، نیفدیپین و DMSO بر مقدار رنگ آبی ایوانز در پنجه ملتهب در روز بیست و هشتم در نمودار ۳ نشان داده شده است. FCA مقدار رنگ آبی ایوانز را در پنجه به میزان ۰/۱۴±۲/۳۶ میکروگرم در ۱۰۰ میلی گرم بافت افزایش داده است. اندازه‌گیری این مقدار رنگ در حضور وراپامیل، نیفدیپین، ایبوپروفن و DMSO نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین این گروه‌ها با FCA وجود ندارد.

بحث

داده‌های این مطالعه نشان داد که درصد افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق اجووانت کامل فروند در روزهای یکم (۱۸۱/۴)، پنجم (۱۶۲/۸)، هفتم (۱۷۴/۲)، چهاردهم (۱۷۱/۱)، بیست و یکم (۱۶۸/۱) و بیست و هشتم (۱۸۲/۵) در مقایسه با روز صفر معنی‌دار می‌باشند. همچنین افزایش حجم از روز هفتم تقریباً حالت کفه پیدا کرد. به عبارت دیگر این اثر به صورت دو مرحله‌ای، حاد تا روز پنجم و مزمن از روز هفتم تا بیست و هشتم مشاهده شد. نتایج این مطالعه تا حدودی با مطالعات گزارش شده راجع به FCA هماهنگ است به طوری که Fahim و همکاران گزارش نمودند FCA یک مرحله حاد التهاب با حداکثر در روز چهارم و یک مرحله مزمن که در روزهای ۱۹ و ۲۲ بعد از تزریق به حالت کفه می‌رسد ایجاد می‌کند (۹). بدوی و همکاران حداکثر افزایش قطر زانوی تزریق شده با FCA را در روز سوم پس از تزریق نشان دادند و در روزهای بعد قطر کاهش یافته اما به مقدار اولیه خود تا ۴۰ روز بعد از تزریق برنمی‌گردد (۱). Barbier نشان داد که FCA از روز اول تزریق افزایش وزن پنجه را موجب می‌شود و در روز ۱۲ کاهش پیدا می‌کند اما بعد از آن با افزایش جزیی حالت کفه پیدا می‌کند (۵). تفاوت اندکی که گزارش‌های فوق با مطالعه حاضر دارد، احتمالاً مربوط به تفاوت در میزان FCA تزریقی و یا روش‌های اندازه‌گیری خیز التهابی است. اجووانت از طریق افزایش در تولید پروستاگلاندین‌ها، کاهش گروه‌های سولفیدریل (SH) سرم، افزایش گلوتاتیون خون (GSH) (۹،۱۱)، تجمع فاگوسیت‌ها در مفاصل و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسیدها (۹)، آرتریت مفصلی را ایجاد می‌کند.

نتایج بخش دیگر این پژوهش نشان داد که وراپامیل افزایش

حجم ناشی از FCA را در روزهای چهاردهم ۴۲٪، بیست و یکم ۴۲/۴٪ و بیست و هشتم ۶۲/۵٪ کاهش داد. نتایج حاصل از اثر نیفدیپین حاکی از این است که حداکثر اثر نیفدیپین در روز بیست و هشتم و به میزان ۵۰٪ است.

نتایج حاصل از مقایسه سنجش اثر ضد التهابی داروهای فوق با ایبوپروفن نشانگر این است که در همهٔ روزهای مطالعه بین اثرات مهاری وراپامیل، نیفدیپین و ایبوپروفن اختلاف معنی‌دار وجود ندارد.

با توجه به تغییرات پاتولوژیک در التهاب مزمن و نقش سیستم‌های نوروآندوکرینی، ایمونولوژیکی و عروق خونی کوچک و همچنین میانجی‌های مختلف در پیدایش آرتریتیس، ساز و کارهای احتمالی دخیل در پیدایش عمل این مهارکننده‌های کانال کلسیم را می‌توان به شرح زیر برشمرد: مهارکننده‌های کانال کلسیم از طریق مهار تولید یا فعال شدن NO (۲۵)، مهار فعال شدن آنزیم‌های PLC, PLA2 و به دنبال آن کاهش تولید پروستاگلاندین‌ها، و لوکوترین‌ها و ترومبوکسان‌ها (۱۵،۲۲)، مهار تولید و بیان ژن گیرندهٔ IL-2 در لنفوسیت‌ها (۲۸)، عملکرد مشابه با عملکرد ضد التهابی گلوکورتیکوئیدها (۱۶)، مهار مهاجرت لنفوسیت‌ها به موضع التهاب (۴)، مهار رهایش PAF و چسبندگی گلبول‌های سفید و همچنین مهار افزایش نفوذپذیری ناشی از LTB4 (۲۳)، مهار عمل فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها و همچنین مهاجرت آنها (۲۲)، مهار فعالیت نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها (۱۳)، مهار انقباض یاخته‌های پری‌سیت عروق (۱۰،۲۳)، مهار افزایش غلظت کلسیم داخل یاخته‌ای به دنبال تولید سوپراکسید و همچنین مهار افزایش ویسکوزیته خون (۱۲) این اعمال را انجام می‌دهند. توافق هایی وجود دارد که اثرات ضد التهابی این ترکیبات ممکن است از طریق اعمال غیر مرتبط با مهار کانال کلسیم اعمال شده باشد که از جمله آنها می‌توان مهار گیرنده‌های سروتونین (۱۶)، مهار ترشح هورمون پرولاکتین (۲۴) [پرولاکتین باعث افزایش التهاب می‌شود (۱۶)]، مهار تولید IL-1 به وسیله وراپامیل (۲۸)، مهار حرکت کلسیم از منابع داخل یاخته‌ای، یاخته‌های PMN خصوصاً به وسیله نیفدیپین (۲۲) را نام برد.

اثرات مشاهده شده در این مطالعه برای مهارکننده‌های کانال کلسیم با گزارشات پژوهشگران دیگر راجع به اثر این مواد، از جمله مهار التهاب ناشی از فرمالین (۱۴)، مهار خیز میوکارد و تجمع خارج عروقی آلبومین ناشی از اندوتلین -۱ (۱۰)، مهار التهاب حاد ناشی از اسید آراشیدونیک و پاسخ التهاب مزمن ناشی از فوربول به وسیله مسدودهای جدید کانال کلسیم (۸)، مهار رهایش محصولات التهابی از مجاری هوایی و کنترل آسم (۱۸)، مهار خیز ایجادی به وسیله PAF (۷)، مهار خیز پنجه ناشی از کاراگینین در موش صحرایی (۲)، مهار التهاب حاد و حساسیت از نوع تأخیری [DTH، (۱۱)]، تنظیم کاهشی گیرنده‌های مواد التهاب زا در پنجه ملتهب و مهار ورود کلسیم با واسطه گیرنده (۲۰) هماهنگ است.

مقایسه اثر این ترکیبات بر روی التهاب حاد ناشی از کاراگینین (۲) با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که حداکثر اثر وراپامیل در این مطالعه در روز بیست و هشتم (۶۲/۵٪) کمتر از اثر ضد التهابی ناشی از این دوز در التهاب حاد (۸۰٪) است. حداکثر اثر مهاری دوز مصرفی نیفدیپین در این مطالعه (۵۰٪) کمتر از اثر مهاری همین دوز در مطالعه التهاب حاد (۸۳٪) است. به عبارت دیگر اثرات هر دو داروی مهارکننده در التهاب مزمن در مقایسه با التهاب حاد کمتر است. دلایل احتمالی این گوناگونی پاسخ در دو شکل مختلف التهاب توسط بعضی از پژوهشگران بدین صورت بیان شده است که در التهاب مزمن هم کاهش پاسخ به سیستم سمپاتیکی عروق و هم کاهش پاسخ به ماده P وجود دارد در حالی که در التهاب حاد فقط کاهش پاسخ به سیستم سمپاتیکی عروق وجود دارد (۸). بنابراین احتمالاً تغییرات قطر عروق در پاسخ به مهارکننده‌های کانال کلسیم باتوجه به تغییر ایجادی در پاسخ‌دهی به دو سیستم فوق در التهاب حاد و مزمن متفاوت است. علاوه بر این گزارش شده است که عضله صاف عروق آرتریتک دارای غلظت کلسیم بالاتری هستند (۱۱) لذا توسط عوامل مهاری کمتر تنگ می‌شوند و مجدداً این گوناگونی در قطر عروق می‌تواند گوناگونی تغییر در نفوذپذیری در دو نوع التهاب را به دنبال داشته باشد. همچنین گزارش شده است که در التهاب مزمن تولید بیش از حد NO رخ داده و کاهش پاسخ دهی عروق زانو به فنیل افرین وجود دارد (۱).

این پژوهش همچنین نشان داد که اثر مهاری آنتاگونیست‌های کانال کلسیم بر آرتریت ناشی از اجووانت در همه روزهای مطالعه قابل مقایسه با اثر مهاری ایبوپروفن است. این یافته‌ها این احتمال را قوت می‌بخشد که شاید این مسددها منحصراً با جلوگیری از عملکرد ایکوزانوئیدها (۲۵)، کاهش آرتریتیس را موجب شده باشند.

نتایج حاصل از بررسی اثرات این داروها روی خروج آلبومین از عروق پنجه ملتهب که به وسیله مقدار رنگ آبی ایوانز در بافت ملتهب اندازه گیری شد، معرف این است که هیچ یک از داروهای مصرفی توان کاهش محتوای رنگ آبی ایوانز ناشی از

FCA را نداشتند. ساز و کارهای این موضوع که چرا داروهای مصرفی روی خروج آلبومین از عروق اثر نداشتند، احتمالاً به این دلیل است که نشت آلبومین و حرکت آب مستقل از یکدیگر رخ می‌دهد که این تا حدودی مشابه با اثر مشاهده شده برای این مهار کننده‌ها در التهاب حاد است (۲). به طور خلاصه مطالعه موجود نشان داد که وراپامیل و نیفدیپین دارای اثرات ضد التهابی قوی بوده و نتیجتاً دارای اثرات بالقوه بر روی عملکرد سیستم‌های دخیل در پاتوژنز آرتریتیس مشابه با اثر داروهای ضد التهابی هستند. بااین وجود اگر اهمیت یون کلسیم در فرآیندهای سلولی دخیل در پاتوژنز مورد قبول واقع شود، ما می‌توانیم امیدوار باشیم که نسل جدیدی از داروهای ضد التهاب یعنی مهارکننده‌های کانال کلسیم بتوانند به عنوان داروهای ضد التهاب مزمن مصرف شوند. برای صحت این ادعا احتیاج به پژوهش‌های بیشتری خصوصاً انجام کارآزمایی بالینی است.

سپاسگزاری

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

Summary

The Antiinflammatory Activity of Calcium-Channel Antagonists on Chronic Inflammation in Rat

Khaksari M, PhD[1]., Sajadi MA, MD[2]., Zeynalyzadeh M, MD[3]. and Moosavi M, MD[3].

1. Associate Professor of Physiology, Medicine School and Cardio-Vascular Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 2. Assistant Professor of Internal Medicine, 3. General Physician, Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Rafsanjan, Iran

Calcium mobilization is known to be an important factor in the activation of cells involved in inflammation, so, calcium-channel antagonists are be expected to exhibit antiinflammatory activity. In the present study, we evaluateted the antiinflammatory effects of two calcium channel blockers, verapamil and nifedipine on adjuvant induced chronic inflammation in rat paw. Sixty adult male rats were divided into 5 groups. Chronic paw edema was induced by intraplantar injection of 0.1 ml of Freund's complete adjuvant (FCA). Inflammatory edema measured in 0,1,2,3,4,5,6,7,14,21 and 28 days after adjuvant inoculation. Verapamil (25μg/kg), nifedipine (100μg/kg), ibuprofen (12mg/kg) with DMSO (dimethyl sulphoxide) were given to animals daily through intragastric device from day 7 after adjuvant injection. Assessment of edema proformed by calculation of volume changes and by extravasation of Evans blue (E.B.) in the test groups compared to the control. FCA caused a remarkable increase in paw edema (0.8±0.05ml) after 28 days. Verapamil significantly reduced the paw edema (62.5%) at day 28. A marked inhibition was induced by mifedipine (50%) and ibuprofen (60%). No significant differences were found between inhibitory effects of ibuprofen and other drugs. Non of the drugs have any effect on the extravasation of E.B. These data suggest that calcium channel blockers, inhibit adjuvant induced chronic inflammation in rats and these effects are comparable to that of ibuprofen.

Key words: *Calcium channel antagonist, Verapamil, Nifedipine, Chronic inflammation, Adjuvant*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2002; 9(2): 60-67

منابع

۱. بدوی، محمد: کاهش پاسخ دهی عروق زانوی موش صحرایی به تحریک گیرنده‌های آلفا-۱ آدرنرژیک در شرایط التهاب مزمن: نقش نیتریک اکساید. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، ۱۳۷۹، جلد ۴، شماره ۲، ص ۱۸۶-۱۷۵.

۲. خاکساری، محمد: اثرات وراپامیل و نیفدیپین بر التهاب ناشی از کاراگینین در پنجه موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۸، سال ششم، شماره ۴، ص ۱۹۸-۱۹۱.

3. Akira S, Hirano T, Taga T and Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL6 and related molecules (IL1 and TNF). *FASEB J* 1990; 4(11): 2860-7.
4. Bacon KB, Westwick J and Camp RD. Potent and specific inhibition of IL-8, IL-1α- and IL-1β- induced in vitro human lymphocyte migration by calcium channel antagonists. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165(1): 349-354.
5. Barbier A, Navarro J Breliere JC and Roncucci R. Biochemical and clinical changes in rats with developing adjuvant arthritis. *Agents and Actions* 1984; 15(1/2): 103-105.
6. Beckman JS and Crow JP. Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans* 1993; 21(2): 330-334.
7. Bonnet J, Loiseau AM, Orvoen M and Bessin P. Platelet activating factor acether (PAF-acether) involvement in acute inflammatory and pain process. *Agents Actions* 1981; 11(6-7): 559-562.
8. De Vries GW, McLaughlin A, Wenzel MB *et al.* The antiinflammatory activity of topically applied novel calcium channel antagonists. *Inflammation* 1995; 19(2): 261-275.
9. Fahim AT, Abd-el Fattah AA, Agha AM and Gad MZ. Effect of pumpkin-seed oil on the level of free radical scavengers induced during adjuvant-arthritis in rats. *Pharmacol Res* 1995; 31(1): 73-79.
10. Filep JG, Skrobik Y, Fournier A and Foldes-Filep E. Effects of calcium antagonists on endothelin-1-induced myocardial ischaemia and oedema in the rat. *Br J Pharmacol* 1996; 118(4): 893-900.
11. Fontaine J, Herchuelz A and Famaey JP. A pharmacological analysis of the responses of isolated aorta from rats with adjuvant arthritis. *Agents Actions* 1984; 14(5/6): 684-687.
12. 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.
13. Greene WC, Parker CM and Parker CW. Calcium and lymphocyte activation. *Cell Immunol* 1976; 25(1): 74-89.
14. Gurdal H, Sara Y and Tulunay FC. Effects of calcium channel blockers on formalin-induced nociception and inflammation in rats. *Pharmacology* 1992; 44(5): 290-6.
15. Kahn NN. Platelet-stimulated thrombin and PDGF are normalized by insulin and Ca^{2+} channel blockers. *Am J Physiol* 1999; 276(5pt1): E856-E862.
16. Masi AT, Bijlsma WJ, Chikanza IC, Pitzlic C and Cutolo M. Neuroendocrine, immunologic and microvascullar systems interactions in rheumatoid arthritis: Physiophathologenetic and therapeutic perspectives. *Semin Arthritis Rheum* 1999; 29(2): 65-81.
17. McDougall JJ, Karimian SM and Ferell WR. Alteration of substance P-mediated vasodilatation and sympathetic vaso constriction in the rat knee joint by adjuvant-induced inflammation. *Neurosci Lett* 1994; 174(2): 127-129.
18. Middleton E and Buffalo NY. Calcium antagonists and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76(2): 341-346.
19. Mueller E and van Breemen C. Role of

intracellular Ca^{2+} sequestration in beta-adrenergic relaxation of a smooth muscle. *Nature* (London) 1979; 281(5733): 682-683.

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. Rosales C and Brown EJ. Calciumchannel blockers nifedipine and diltiazem inhibit Ca^{2+} release from intracellular stores in neutrophils. *J Biol Chem* 1992; 267(3): 1443-1448.
23. Rosen B. Influence of calcium on the in vivo flow of leukocytes and erythrocytes. *Prog Appi Microcirc* 1989; 67-87.
24. Roudbaraki MM, Vacher P and Drouhault R. Arachidonic acid increases cytosolic calcium and stimulates hormone release in rat lactotrophs. *Am J Physiol* 1995; 268(6pt1): E1215-1223.
25. Southan GJ and Szabo C. Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. *Bochem Pharmacol* 1996; 51(4): 383-394.
26. Thomas G. Mechanism of ionophore A23187 induction of plasma protein leakage and its inhibition by indomethacin. *Eur J Pharmacol* 1982; 81(1): 35-42.
27. Vinay K, Ramiz C and Stanley L: Robbins, Basic patholog. 6^{th} ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co, 1997; PP26-45.
28. Weir MR, Peppler R, Gomolka D and Handwerger BS. Evidence that the antiprolif erative effect of verapamil on afferrent and efferent immune responses is independent of calcium channel inhibition. *Transplantation* 1992; 54(4): 681-685.