

## بررسی اثرات عروقی تجویز مزمن ۲ داروی سولفونیل اوره از نسل اول (کلرپروپامید) و نسل دوم (گلی بن کلامید) بر عمل کرد آئورت سینه‌ای موش صحرایی سالم

### چکیده

داروهای سولفونیل اوره به فراوانی در درمان بیماران مبتلا به دیابت تیپ دو مصرف می‌شود. گزارش‌های ضد و نقیضی در مورد ایجاد عوارض قلبی - عروقی توسط این داروها وجود دارد. همچنین به وجود تفاوت بین داروهای نسل اول و نسل دوم در ایجاد این عوارض اشاره شده است. در این مطالعه اثرات عروقی ۲ دارو از خانواده سولفونیل اوره به صورت تجربی (experimental) و آینده‌نگر (prospective) مورد بررسی قرار گرفت که شامل کلرپروپامید از نسل اول و گلی بن کلامید از نسل دوم بوده است و تاثیر تجویز داخل صفاقی ۱ ماهه و ۲ ماهه آن‌ها (کلرپروپامید ۸ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم در روز، گلی بن کلامید ۰/۲۸۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم در روز) بر پاسخ‌دهی آئورت مجزای موش‌های صحرایی نر سالم به فنیل‌افرین، استیل‌کولین، ایزوسورباید دی‌نیترات مورد مطالعه قرار گرفت و با گروه شاهد مقایسه شد. نتایج به دست آمده نشان دادند که به دنبال تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید در موش‌های صحرایی نر سالم تغییراتی در عملکرد آندوتلیوم و عضله صاف رخ می‌دهد. این تغییرات عبارت بودند از: افزایش معنی‌دار در اتساع وابسته به آندوتلیوم در پاسخ به استیل‌کولین و کاهش معنی‌دار پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین. از آن جا که در تجویز ۱ ماهه چنین تغییراتی مشاهده نشد، به نظر می‌رسد این تغییرات وابسته به زمان باشد و این در حالی است که تجویز ۱ ماهه و ۲ ماهه گلی بن کلامید تغییری در فعالیت آندوتلیوم و عضله صاف ایجاد نکرده بود. با توجه به این که EC<sub>50</sub> استیل‌کولین و فنیل‌افرین در حلقه‌های آئورت حیواناتی که برای آن‌ها به مدت ۲ ماه کلرپروپامید تجویز شده بود با گروه شاهد تفاوتی نداشت، به نظر می‌رسد تغییرات ایجاد شده به دنبال تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید روی پاسخ آندوتلیوم و فعالیت انقباضی عضله صاف، به علت ایجاد تغییر در مشخصات گیرنده‌های موجود در آندوتلیوم و عضله صاف آئورت نباشد. احتمال دارد این دارو با ایجاد تغییر در اجزای سلولی پس از گیرنده که در انتقال پیام نقش دارند، تاثیر فارماکولوژیک خود را اعمال کرده باشد. تحریک پرولیفراسیون سلول‌های آندوتلیال توسط داروهای سولفونیل اوره و نیز اثر مهارتی گلی بن کلامید بر ورود کلسیم و بر مکانیسم انقباضی با واسطه پروتئین کیناز - C گزارش شده است که می‌تواند توجیه کننده تغییرات مشاهده شده ناشی از تجویز کلرپروپامید باشد. اگر چه ذکر این نکته لازم است که احتمالاً برای بروز این اثرات توسط گلی بن کلامید مدت زمان بیش‌تری مورد نیاز است. نتایج این مطالعه نشان داد که حداقل در یک دوره تجویز ۲ ماهه این داروها، تغییراتی به نفع ایجاد پرفشاری خون در بستر عروقی مورد بررسی ایجاد نشد.

I \*دکتر معصومه شفیعی

II دکتر همایون همایونفر

III اسماعیل ایزدپناه

IV دکتر مسعود محمودیان

کلیدواژه‌ها: ۱ - سولفونیل اوره ۲ - گلی بن کلامید ۳ - کلرپروپامید

۴ - آئورت موش صحرایی

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه آقای اسماعیل ایزدپناه جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی به راهنمایی دکتر همایون همایونفر و مشاوره دکتر مسعود محمودیان و دکتر معصومه شفیعی، سال ۱۳۸۰.

I) استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران (\*مؤلف مسئول).

II) دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران.

III) کارشناس ارشد فیزیولوژی.

IV) استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران.

## مقدمه

بیماری‌های قلب و عروق یکی از عوامل اصلی ایجاد مرگ و میر در مبتلایان به دیابت به شمار می‌آیند. از آن جا که شواهد ارتباط دهنده عوارض قلبی - عروقی با بالا بودن قند خون کافی نیست، مطرح کردن هیپرگلیسمی به عنوان عامل اصلی مرگ و میر در افراد دیابتی مورد بحث می‌باشد (۱).

مطالعات نشان داده‌اند که ایجاد عوارض قلبی - عروقی تنها تا حدودی با کنترل قند خون قابل پیش‌گیری است (۲). بنابراین بروز عوارض قلبی - عروقی در بیماران دیابتی با وجود کنترل قند خون، توجه محققان را به این نکته که شاید داروهای خوراکی مورد مصرف در دیابت، خود سبب ایجاد عوارض قلبی - عروقی می‌شوند، جلب کرده است.

در University Group Diabetes Program (UGDP) در سال ۱۹۷۰ اثر رژیم غذایی، داروهای پایین آورنده خوراکی قند خون (تولبوتامید یا فنفورمین) و انسولین تراپی با دوز ثابت در رابطه با ایجاد عوارض عروقی در بیماران NIDDM بررسی شد و مشاهده گردید طی یک دوره ۸ ساله، در بیمارانی که تولبوتامید دریافت می‌کردند مرگ و میر ناشی از عوارض قلبی عروقی ۲ برابر بیماران درمان شده با پلاسبو یا انسولین بوده است. در رابطه با درستی این نتیجه یک اختلاف نظر ۱۰ ساله بین صاحب‌نظران وجود داشت زیرا نتایج به دست آمده غیرمنتظره بوده و این مطالعه برای بررسی این پرسش طراحی نشده بود.

اگر چه تاکنون هیچ مطالعه قابل مقایسه‌ای، این مشاهده را به طور کامل رد نکرده است، اخیراً در یک مطالعه آینده‌نگر (UK Prospective Diabetes Study Group) نشان داده شد که هیچ گونه مرگ و میر قلبی - عروقی اضافی در یک دوره ۱۴ ساله در بیمارانی که داروهای سولفونیل اوره نسل اول یا نسل دوم دریافت می‌کردند، ایجاد نشده است (۳).

با وجود این، نشان داده شده است که کنترل دقیق قند خون توسط سولفونیل اوره یا انسولین، خطر عوارض میکروواسکولار را کم می‌کند اما بیماری ماکروواسکولار را در دیابت تیپ دو کاهش نمی‌دهد (۴).

همچنین در مورد شواهد آزمایشگاهی (بطور عمده از مطالعات حیوانی) مربوط به عوارض جانبی که این داروها توانایی ایجاد آن را روی قلب دارند، هنوز بحث وجود دارد و تعمیم این شواهد به شرایط کلینیکی مشکل می‌باشد (۵).

یکی از عوارض قلبی - عروقی داروهای سولفونیل اوره افزایش فشار خون شریانی است که بعضی از مطالعات این عارضه را به تاثیر نامطلوب این داروها روی قلب و افزایش قدرت انقباضی آن نسبت داده‌اند (۶، ۷ و ۸).

در تعدادی از این مطالعات به تفاوت بین داروهای نسل اول و دوم در ایجاد این عارضه جانبی (افزایش فشار خون) اشاره شده، به طوری که نسل اول داروهای سولفونیل اوره را در ایجاد عوارض قلبی - عروقی مؤثرتر دانسته‌اند (۹). در هر حال سؤال این است که آیا درمان با ترکیبات سولفونیل اوره با افزایش عوارض قلبی - عروقی همراه است یا خیر؟ و آیا در این مورد تفاوتی بین داروهای نسل اول و دوم وجود دارد یا خیر؟ در مطالعه حاضر ۲ داروی پر مصرف از خانواده سولفونیل اوره (کلرپروپامید از نسل اول و گلی‌بن‌کلامید از نسل دوم) در یک دوره محدود، بررسی شدند و تاثیر تجویز ۱ ماهه و ۲ ماهه آن‌ها بر انقباض حاصل از یک آگونیست گیرنده آلفا - ۱، اتساع وابسته به آندوتلیوم و اتساع غیروابسته به آندوتلیوم آئورت موش صحرایی نر سالم مورد مطالعه قرار گرفت و با گروه شاهد مقایسه گردید.

## روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی و آینده‌نگر طی مراحل انجام شد که عبارت بودند از:

۱- تجویز داروهای سولفونیل اوره به حیوانات مورد آزمایش: در این مرحله موش‌های صحرایی سفید نر از نژاد Sprague Dawley با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن ۵-۳ ماه، به گروه‌های مورد و شاهد تقسیم شدند.

هر یک از گروه‌ها شامل ۷ موش بود که به آن‌ها کلرپروپامید داده شد.

در حمام بافت محلول کربس به طور مداوم با مخلوط  $O_2$  و  $CO_2$  حباب‌گیری می‌شد.

کشش استراحت (resting tension) اعمال شده برای آئورت یک گرم بود و به بافت اجازه داده می‌شد تا در مدت ۶۰ دقیقه وضعیت ثابتی پیدا کند.

محلول فیزیولوژیک داخل حمام بافت نیز هر ۱۵ دقیقه تعویض می‌شد. کشش بافت توسط ترانس دیوسر ایزومتریک، برای ثبت به یک فیزیوگراف Beckman مدل R۵۱۱A منتقل می‌گردید.

در تعداد دیگری از آزمایش‌ها با استفاده از یک میله فلزی باریک و سایش آرام سطح داخلی حلقه‌های آئورت به مدت ۶۰ ثانیه، آندوتلیوم به روش مکانیکی برداشته شد و برای اطمینان یافتن از تخریب آندوتلیوم پس از ایجاد یک پیش انقباض توسط فنیل‌افرین (۱ میکرومولار) از استیل‌کولین (۱۰ میکرومولار) استفاده گردید.

با شروع آزمایش‌ها، انقباض ناشی از یک آگونیست رسپتور آلفا - یک (فنیل‌افرین)، اتساع ناشی از یک ماده متسع کننده عروقی وابسته به آندوتلیوم (استیل‌کولین) و اتساع ناشی از یک ماده متسع کننده عروقی غیروابسته به آندوتلیوم (ایزوسورباید دی‌نیترات) در آئورت مجزای موش‌های صحرایی نر (گروه‌های مورد و شاهد) بررسی شد.

برای مطالعه پاسخ ناشی از اثر متسع کننده‌های عروقی در تمام حلقه‌ها یک پیش انقباض با فنیل‌افرین (۱ میکرومولار) ایجاد گردید.

منحنی‌های غلظت - پاسخ، برای فنیل‌افرین میانگین کشش ایجاد شده را بر حسب گرم در مقابل لگاریتم غلظت فنیل‌افرین نشان می‌دهد.

منحنی‌های غلظت - پاسخ برای متسع کننده‌های عروقی میانگین پاسخ (درصد کشش اولیه) را در مقابل لگاریتم غلظت مواد متسع کننده ارائه می‌کند. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شده‌اند.

اختلاف بین مقادیر به دست آمده از آزمایش‌ها با استفاده از Student's t test بررسی شد.

گروه اول به مدت ۱ ماه به میزان ۸ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم در روز و گروه دوم به مدت ۲ ماه همین میزان دارو را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. همچنین برای گروه ۱ ماهه و ۲ ماهه، ۲ گروه شاهد ۱ ماهه و ۲ ماهه که به آن‌ها حلال کلرپروپامید (نرمال سالین) داده شده بود در نظر گرفته شد. برای گلی‌بن‌کلامید نیز ۲ گروه، هر یک شامل ۷ موش وارد مطالعه شدند.

یک گروه "مورد" ۱ ماهه که گلی‌بن‌کلامید را با میزان  $0.285$  میلی‌گرم به ازای کیلوگرم در روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و یک گروه "مورد" ۲ ماهه که با همین دوز به مدت ۲ ماه گلی‌بن‌کلامید به آن‌ها داده شده بود. برای گروه ۱ ماهه و ۲ ماهه، ۲ گروه شاهد ۱ ماهه و ۲ ماهه که حلال گلی‌بن‌کلامید (نرمال سالین) دریافت کرده بودند در نظر گرفته شد. میزان داروهای مذکور براساس حداکثر مقدار توصیه شده در انسان انتخاب شد (۱۰).

۲- انجام آزمایش روی آئورت مجزای موش صحرایی: موش‌های سفید صحرایی بعد از سپری شدن مدت تزریق داروهای ذکر شده، به آزمایشگاه آورده شده و پس از بیهوش شدن با کلروفورم با قطع سرخرگ کاروتید کشته شدند. پس از باز کردن قفسه سینه، آئورت سینه‌ای جدا شد و در محلول کربس در دمای اتاق قرار گرفت. این محلول فیزیولوژیک به طور مرتب با مخلوط  $95\% O_2$  و  $5\% CO_2$  حباب‌گیری می‌شد.

ترکیب محلول کربس مورد استفاده بر حسب میلی‌مولار شامل  $10$  Glucose،  $25$   $NaHCO_3$ ،  $1.2$   $MgSO_4$ ،  $1.2$   $NaCl$ ،  $118$   $KCl$ ،  $4$   $CaCl_2$ ،  $2.5$   $KH_2PO_4$  بود. در داخل محلول کربس، آئورت به دقت از بافت‌های پیوندی اطراف پاک شد و سپس به قطعاتی در حدود ۴-۳ میلی‌متر تقسیم گردید.

در یک سری از آزمایش‌ها حلقه‌های آئورت بدون این که به آندوتلیوم آسیبی برسد به کمک سیم پلاتینی (به شکل L) از یک سر به قلاب شیشه‌ای و از سر دیگر، پس از منتقل شدن به حمام بافت (organ bath) حاوی محلول کربس ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به ترانس دیوسر ایزومتریک متصل شد.

نمودار شماره ۲ نیز منحنی غلظت - پاسخ برای فنیل‌افرین را در حلقه‌های فاقد آندوتلیوم آئورت در گروه‌های دریافت کننده دارو به مدت ۲ ماه نشان می‌دهد.

کاهش معنی‌دار پاسخ به فنیل‌افرین در حیواناتی که ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد در این نمودار مشاهده می‌شود.

تفاوتی در  $EC_{50}$  محاسبه شده برای فنیل‌افرین در ۲ گروه شاهد و مورد (تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید) مشاهده نشد (داده‌ها نشان داده نشده است).

منحنی غلظت - پاسخ برای فنیل‌افرین در حیواناتی که به مدت ۱ ماه به آن‌ها ۲ داروی سولفونیل‌اوره داده شده بود تغییر معنی‌داری را نشان نداد.



**نمودار شماره ۲ -** منحنی‌های غلظت - پاسخ برای فنیل‌افرین در حلقه‌های بدون آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌های دریافت کننده کلرپروپامید، گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه و گروه شاهد. نتایج به صورت کشش ایجاد شده بر حسب  $g/ring$  ناشی از غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین بیان شده‌اند. هر نقطه نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای معیار حاصل از ۷ آزمایش است ( $P < 0.05$ ).

نمودار شماره ۳ منحنی غلظت - پاسخ برای استیل‌کولین را در ۳ گروهی که کلرپروپامید و گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه برای آن‌ها تجویز شده بود و مقایسه آن با گروه شاهد را نشان می‌دهد.

در شرایطی که  $P < 0.05$  بود اختلاف بین نتایج معنی‌دار (Significant) در نظر گرفته شد.

برای محاسبه میانگین‌ها، خطای معیار و همچنین رسم نمودارها از نرم‌افزار رایانه‌ای Sigma Plot استفاده گردید.

### نتایج

نمودار شماره ۱ منحنی غلظت - پاسخ را برای فنیل‌افرین در حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت در گروه‌هایی که برای آن‌ها به مدت ۲ ماه کلرپروپامید و گلی‌بن‌کلامید تجویز شده بود نشان می‌دهد.

در گروهی که ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند پاسخ ناشی از فنیل‌افرین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود.

محاسبه  $EC_{50}$  برای فنیل‌افرین در ۲ گروه شاهد و مورد (تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (داده‌ها نشان داده نشده است).

در منحنی غلظت - پاسخ برای فنیل‌افرین در حیواناتی که برای آن‌ها ۲ داروی سولفونیل‌اوره به مدت ۱ ماه تجویز شده بود تغییر معنی‌داری مشاهده نگردید.

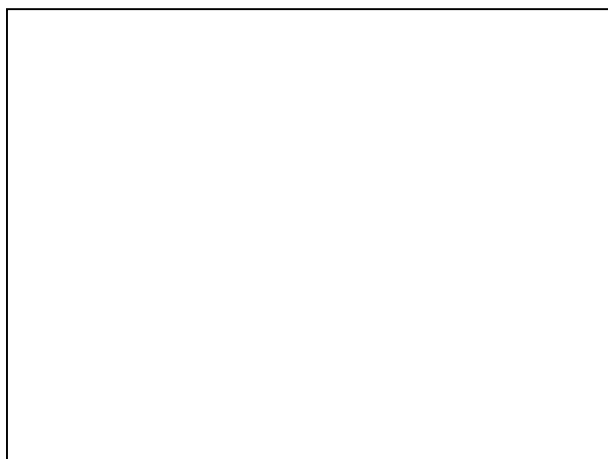


**نمودار شماره ۱ -** منحنی‌های غلظت - پاسخ برای فنیل‌افرین در حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌های دریافت کننده کلرپروپامید، گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه و گروه شاهد. نتایج به صورت کشش ایجاد شده بر حسب  $g/ring$  ناشی از غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین بیان شده‌اند. هر نقطه نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای معیار حاصل از ۷ آزمایش است ( $P < 0.05$ ).

دارو گرفته بودند و مقایسه آن را با گروه شاهد نشان می‌دهد.

نمودارها بیان کننده آن هستند که تجویز ۱ ماهه و ۲ ماهه این داروها تغییری در اتساع غیروابسته به آندوتلیوم آئورت ایجاد نمی‌کند.

تجویز ۱ ماهه این ۲ دارو نیز اتساع غیروابسته به آندوتلیوم را در حلقه‌های دارای آندوتلیوم تغییر نداد.



**نمودار شماره ۴-** منحنی‌های غلظت - پاسخ برای ایزوسورباید

دی‌نیترات در حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌های دریافت کننده کلرپروپامید، گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه و گروه شاهد. نتایج به صورت درصد اتساع ایجاد شده نسبت به کشش ناشی از فنیل‌افرین بیان شده‌اند. هر نقطه نشان دهنده میانگین  $\pm$  خطای معیار حاصل از ۷ آزمایش است ( $P < 0.05$ ).

نمودار شماره ۵ نیز منحنی غلظت - پاسخ برای ایزوسورباید دی‌نیترات را در حلقه‌های بدون آندوتلیوم آئورت در گروه‌هایی که ۲ دارو گرفته بودند و مقایسه آن با گروه شاهد را نشان می‌دهد.

در این نمودار نیز عدم تفاوت پاسخ‌دهی به یک متسع کننده عروقی غیروابسته به آندوتلیوم در گروه‌های "مورد" نسبت به گروه شاهد مشاهده می‌گردد.

تجویز ۱ ماهه گلی‌بن‌کلامید و کلرپروپامید در حلقه‌های بدون آندوتلیوم تفاوت معنی داری در اتساع غیروابسته به آندوتلیوم ایجاد نکرده بود.

همان طور که مشاهده می‌شود تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید به طور معنی‌داری در تمام غلظت‌ها اتساع وابسته به آندوتلیوم را افزایش می‌دهد در حالی که تجویز ۲ ماهه گلی‌بن‌کلامید تنها در غلظت‌های بالا و به مقدار ناچیز (اما معنی‌دار) اتساع وابسته به آندوتلیوم را کاهش داده بود.

EC<sub>50</sub> استیل‌کولین در گروه شاهد و گروهی که ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند با استفاده از منحنی‌های غلظت - پاسخ به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جدول نشان داده نشده است).

تجویز ۱ ماهه این ۲ دارو تغییر معنی‌داری در منحنی غلظت - پاسخ استیل‌کولین ایجاد نکرده بود.



**نمودار شماره ۳-** منحنی‌های غلظت - پاسخ برای استیل‌کولین در

حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌های دریافت کننده کلرپروپامید، گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه و گروه شاهد. نتایج به صورت درصد اتساع ایجاد شده نسبت به کشش ناشی از فنیل‌افرین بیان شده‌اند. هر نقطه نشان دهنده میانگین  $\pm$  خطای معیار حاصل از ۷ آزمایش است ( $P < 0.05$ ).

نمودار شماره ۴ نیز منحنی غلظت - پاسخ برای ایزوسورباید دی‌نیترات را در حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت در گروه‌هایی که ۲ ماه

در بخشی از آزمایش‌ها اثرات منقبض‌کننده فنیل‌افرین روی حلقه‌های دارای آندوتلیوم و بدون آندوتلیوم آئورت موش صحرایی سالم بررسی شد.

نتایج نشان دهنده آن بود که در گروهی که به مدت ۱ ماه گلی‌بن‌کلامید و کلرپروپامید دریافت کرده بودند، پاسخ انقباضی در حلقه‌های دارای آندوتلیوم و بدون آندوتلیوم آئورت نسبت به فنیل‌افرین اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد ندارد.

هم‌چنین در گروهی که به مدت ۲ ماه گلی‌بن‌کلامید برای آن‌ها تجویز شده بود، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نگردید اما در گروهی که به مدت ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند، در حلقه‌های دارای آندوتلیوم و بدون آندوتلیوم در مورد پاسخ انقباضی ایجاد شده توسط غلظت‌های بالاتر فنیل‌افرین کاهش معنی‌داری وجود داشت (نمودار شماره ۱ و ۲) اما چون EC<sub>50</sub> فنیل‌افرین نسبت به گروه شاهد تغییر نکرده بود، بیان‌کننده عدم تغییر در مشخصات گیرنده آلفا - ۱ می‌باشد بنابراین احتمال دارد کلرپروپامید روی اجزای داخل سلولی بعد از رسپتور که در روند انتقال پیام شرکت دارند تاثیر داشته باشد.

داروهای سولفونیل‌اوره از طریق بلوک کانال‌های پتاسیم حساس به ATP اثر خود را اعمال می‌کنند و فعالیت کانال‌های پتاسیمی در ماهیچه صاف عروق اثر عمده‌ای روی پتانسیل غشایی و تون آن‌ها دارد (۱۱).

از آن‌جا که ترکیبات سولفونیل‌اوره موجب بسته شدن این کانال‌ها می‌شوند می‌توان انتظار داشت که در صورت حضور روی گیرنده روی تون عروقی تاثیر داشته باشند اما در این مطالعه شست و شوی بافت برای حداقل ۱ ساعت سبب گردید تا داروی تجویز شده به طور کامل از بافت شسته شود.

از سوی دیگر نتایج نشان دهنده آن بود که تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید پاسخ‌دهی به فنیل‌افرین را در حلقه‌های آئورت کاهش می‌دهد بنابراین پاسخ مشاهده شده، احتمالاً ناشی از ایجاد تغییر به دنبال تجویز مزمن این دارو می‌باشد.



**نمودار شماره ۵-** منحنی‌های غلظت - پاسخ برای ایزوسورباید دی‌نیترات در حلقه‌های بدون آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌های دریافت‌کننده کلرپروپامید، گلی‌بن‌کلامید به مدت ۲ ماه و گروه شاهد. نتایج به صورت درصد اتساع ایجاد شده نسبت به کشش ناشی از فنیل‌افرین بیان شده‌اند. هر نقطه نشان دهنده میانگین  $\pm$  خطای معیار حاصل از ۷ آزمایش است ( $P < 0.05$ ).

#### بحث

این نکته که عوارض قلبی - عروقی در بیماران دیابتی با وجود کنترل قند خون اتفاق می‌افتد، توجه محققان را به خود جلب کرده است که شاید داروهای مورد مصرف در دیابت تیپ دو (شایع‌تر از دیابت تیپ یک می‌باشد)، خود موجب ایجاد عوارض قلبی - عروقی می‌شوند.

یکی از عوارض قلبی - عروقی که برخی از گزارش‌ها آن را به داروهای سولفونیل‌اوره نسبت داده‌اند، افزایش فشار خون شریانی می‌باشد (۶، ۷ و ۸).

در بعضی از این مطالعات به وجود تفاوت در ایجاد این عارضه جانبی (افزایش فشارخون) بین داروهای نسل اول و نسل دوم اشاره شده است، به طوری که نسل اول داروهای سولفونیل‌اوره را دارای عوارض قلبی - عروقی بیشتری معرفی کرده‌اند (۹).

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات عروقی تجویز ۱ ماهه و ۲ ماهه ۲ داروی سولفونیل‌اوره یعنی کلرپروپامید (نسل اول) و گلی‌بن‌کلامید (نسل دوم) در موش‌های صحرایی سالم پرداخته شده است.

در حالی که اثرات متسع کننده ایزوسورباید دی نیترات روی حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش صحرایی سالم با مصرف ۲ ماهه کلرپروپامید و گلی بن‌کلامید، اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان نداد (نمودار شماره ۴).

توضیح این مطلب لازم است که تغییرات پاسخ‌دهی به فنیل‌افرین (همان‌طور که قبلاً اشاره شد) روی پاسخ ناشی از استیل‌کولین تأثیری ندارد زیرا این پاسخ به صورت "رصد اتساع ایجاد شده" بیان شده است.

عدم تغییر در پاسخ ایزوسورباید دی نیترات نیز تأکید کننده این ادعا می‌باشد.

افزایش اتساع ناشی از استیل‌کولین در گروهی که ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند و عدم تغییر در اتساع ایجاد شده توسط ایزوسورباید دی نیترات، از سوی دیگر نشان می‌دهد که تغییر مشاهده شده در پاسخ به استیل‌کولین مربوط به تغییر در آندوتلیوم می‌باشد نه عضله صاف عروق و ایجاد این تغییرات در اتساع وابسته به آندوتلیوم، به طول مدت تجویز این داروها وابسته است.

از طرفی چون EC<sub>50</sub> استیل‌کولین در گروه مورد و شاهد تغییر معنی‌داری را نشان نداد، به نظر می‌رسد کلرپروپامید روی مشخصات رسپتور کولینرژیک، مانند تمایل اتصال، تأثیر نداشته باشد و ممکن است اجزای بعد از رسپتور در سلول‌های آندوتلیال تحت تأثیر قرار گرفته باشند.

در یک مطالعه به این نکته اشاره شده است که داروهای سولفونیل‌اوره در غلظت‌های درمانی، Turnover سلول‌های آندوتلیال را در عروق بزرگ تغییر می‌دهند، بدین ترتیب ممکن است به شکل وابسته به انسولین سبب تحریک پرولیفراسیون این سلول‌ها شوند (۱۷).

در گروهی که به مدت ۲ ماه گلی بن‌کلامید دریافت کرده بودند، در غلظت‌های بالا ( $10^{-6}$  و  $10^{-4}$  مولار) پاسخ‌دهی به استیل‌کولین به میزان بسیار کم اما معنی‌دار کاهش یافته بود.

به نظر می‌رسد ایجاد انقباض پس از تحریک گیرنده آلفا - یک به علت ورود کلسیم به داخل سلول و نیز آزاد شدن کلسیم از ذخایر داخل سلولی باشد (۱۲).

هم چنین نشان داده شده است که گلی بن‌کلامید در آئورت مجزای موش صحرایی (۱۳) و عروق مزانترا (۱۴) اثر مهاری بر ورود کلسیم از طریق کانال کلسیم دارد و از این طریق روی میزان کلسیم داخل سلولی در عضله صاف عروق موثر خواهد بود که این اثر به کاهش قابلیت انقباض عضله صاف منجر می‌شود (۱۴). علاوه بر آن گلی بن‌کلامید دارای اثر مهاری بر مکانیسم انقباضی با واسطه پروتئین کیناز C است (۱۴) که در انقباض ناشی از تحریک گیرنده آلفا - یک دخالت دارد (۱۵ و ۱۶) بنابراین اگر چه در مطالعه حاضر گلی بن‌کلامید تغییر معنی‌داری را در پاسخ انقباضی نسبت به فنیل‌افرین ایجاد نکرده بود، ممکن است تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید نیز از این راه پاسخ به فنیل‌افرین را کاهش داده باشد و ایجاد چنین اثری در گروهی از حیوانات که گلی بن‌کلامید دریافت کرده بودند به علت قدرت اثر (Potency) بیش‌تر این دارو و در نتیجه تجویز مقادیر کم‌تر آن نیاز به زمان طولانی‌تری دارد.

در بخش دیگری از این مطالعه اتساع وابسته به آندوتلیوم مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل از آن نشان داد که در حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش صحرایی که توسط فنیل‌افرین منقبض شده بودند، در گروه‌هایی که به مدت ۱ ماه گلی بن‌کلامید و کلرپروپامید دریافت کرده بودند پاسخ‌دهی به استیل‌کولین در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری پیدا نکرد.

مطالعه اثرات متسع کننده ایزوسورباید دی نیترات روی حلقه‌های دارای آندوتلیوم آئورت موش‌های صحرایی سالم نیز که به مدت ۱ ماه کلرپروپامید و گلی بن‌کلامید برای آن‌ها تجویز شده بود، اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان نداد اما در گروهی که برای آن‌ها به مدت ۲ ماه کلرپروپامید تجویز شده بود در تمام غلظت‌ها پاسخ به استیل‌کولین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده بود (نمودار شماره ۳).

به منظور بررسی وسیع‌تر عوارض جانبی داروهای سولفونیل اوره تجویز طولانی‌تر این داروها و نیز انجام آزمایش‌های *in vivo* در حیوانات سالم و دیابتی پیشنهاد می‌گردد.

#### منابع

- 1- Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications, *Diabetes Care*, 1996, 19: 257-67.
- 2- Hayoz D., Ziegler T., Brunner HR., Ruiz J. Diabetes mellitus and vascular lesions. *Metabolism*, 1998, 47(12 Suppl. 1): 16-9.
- 3- Hordman JG., Limbird LE. Goodman & Gilman's the pharmacological Basis of therapeutics, 10 th ed., New York, Mc Graw-Hill, 2001, PP: 1703-4.
- 4- Anonymous. Intensive blood-glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes(UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study(UKPDS) Group, *Lancet*, 1998, 352: 837-53.
- 5- Harrower AD. Comparative tolerability of sulfonylureas in diabetes mellitus, *Drug. Saf*, 2000, 22: 313-20.
- 6- Pogasta G., Dubecz E. The direct effect of hypoglycaemic sulfonylureas on myocardial contractile force and arterial blood pressure, *Diabetologia*, 1977, 13: 515-519.
- 7- Crass MF., Spanheimer RG., Ston DB., Brown RJ. Tolbutamide-induced inotropic responses in the perfused working heart: effects of albumin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 1973, 142: 861-6.
- 8- Ballagi-Pordany G., Koszeghy A., Koltai MZ., Aranyi Z., Pogasta G. Divergent cardiac effects of the first and second-generation hypoglycemic sulfonylureas compounds, *Diabetes Res. Clin. Pract*, 1990, 8: 109-14.
- 9- Ballagi-Pordany G., Koltai MZ., Aranyi Z., Pogasta G. Direct effects of hypoglycemic sulfonylureas on the cardiovascular system of dogs. *Diabetes Res, Clin. Pract*, 1991, 11: 47-52.

چون این تغییر در انتهای منحنی دوز - پاسخ قرار دارد، از اهمیت کمتری برخوردار می‌باشد بنابراین به نظر می‌رسد اثر تجویز کلرپروپامید و گلی‌بن‌کلامید در طی این مدت تا حدی متفاوت بوده یا آن که تغییر در اتساع وابسته به آندوتلیوم در طی زمان‌های مختلف(با تاخیر بیشتر در مورد گلی‌بن‌کلامید) بروز می‌کند.

اثرات متسع کننده ایزوسورباید دی‌نیترات روی حلقه‌های بدون آندوتلیوم آئورت موش صحرایی در گروه‌هایی که به مدت ۱ ماه و ۲ ماه کلرپروپامید و گلی‌بن‌کلامید برای آن‌ها تجویز شده بود نیز بررسی گردید و بین پاسخ‌دهی به ایزوسورباید دی‌نیترات در حلقه‌های دارای آندوتلیوم و حلقه‌های بدون آندوتلیوم در گروه‌های "مورد" نسبت به گروه شاهد اختلافی مشاهده نشد.

عدم تغییر در این پاسخ نشان دهنده آن است که تجویز ۱ ماهه و ۲ ماهه این ۲ داروی خانواده سولفونیل اوره، بر قابلیت اتساع عضله صاف تاثیری ندارد.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر بیان کننده آن است که با تجویز ۲ ماهه کلرپروپامید در موش‌های صحرایی سالم، تغییراتی در عملکرد آندوتلیوم رخ می‌دهد و از آن‌جا که در تجویز یک ماهه چنین تغییراتی مشاهده نشد، به نظر می‌رسد افزایش پاسخ متسع کننده نسبت به استیل‌کولین، وابسته به زمان باشد در حالی که تجویز ۲ ماهه گلی‌بن‌کلامید تغییری در فعالیت آندوتلیوم ایجاد نکرده بود. هم چنین پاسخ انقباضی آئورت به فنیل‌افرین در موش‌های صحرایی که به مدت ۲ ماه کلرپروپامید دریافت کرده بودند کاهش معنی‌داری را نشان داد اما حیواناتی که گلی‌بن‌کلامید به آن‌ها داده شده بود چنین تغییراتی را نشان ندادند.

نتایج آزمایش‌ها در این بررسی نشان می‌دهد که تجویز ۲ ماهه ۲ داروی سولفونیل اوره از نسل اول و دوم نه تنها تغییراتی به نفع ایجاد پرفشاری خون در بستر عروقی مورد بررسی ایجاد نکرد بلکه تجویز کلرپروپامید به افزایش معنی‌دار اتساع وابسته به آندوتلیوم و کاهش معنی‌دار انقباض ناشی از فنیل‌افرین منجر شد.



- 10- James EF., Reynolds., Martindale. The extra pharmacopeia, Thirty-first edition, London, Royal Pharmaceutical Society, 1996, PP: 2012-4.
- 11- Taguchi H., Heistad DD., Chu Y., Rios CD., Ooboshi H., Farasi FM. Vascular expression of inducible nitric oxide synthase is associated with activation of  $Ca^{++}$ -dependent  $K^{+}$  channels, J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996, 279: 1514-9.
- 12- Vanzwieten PA., Timmermans PB. Alpha-adrenoceptor stimulation and calcium movements, Blood Vessels, 1987, 24: 271-80.
- 13- Chan W., Yao X., Ko W., Huang Y. Nitric oxide mediated endothelium-dependent relaxation induced by glibenclamide in rat isolated aorta, Cardiovasc. Res, 2000, 46: 180-7.
- 14- Huang Y., Chan NW. Involvement of endothelium in relaxantaction of glibenclamide on the rat mesenteric artery, Eur. J. Pharmacol, 1998, 343: 27-33.
- 15- Berridge MJ. Inositol phosphate and calcium signaling, Nature, 1993, 361: 315-25.
- 16- Dempsey EC., Newton AC., Mochly-Rosen D., Fields AP., Reyland ME., Insel PA., et al. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol, 2000, 279: L429-L438.
- 17- Petty RG., Pearson JD. The influence of hypoglycaemic agents on the growth and metabolism of human endothelial cells, Diabet. Med, 1992, 9: 30-7.

**STUDY ON THE VASCULAR EFFECTS OF CHRONIC ADMINISTRATION OF TWO SULFONYLUREAS, CHLORPROPAMIDE AND GLIBENCLAMIDE, ON THE HEALTHY RAT THORACIC AORTA**

<sup>I</sup> \*M. Shafiei, PhD      <sup>II</sup> H. Homayounfar, PhD      <sup>III</sup> E. Izadpanah, MSc      <sup>IV</sup> M. Mahmoudian, PhD

**ABSTRACT**

Diabetes mellitus is one of the most common endocrine disorders with increasing prevalence. Cardiovascular complications are among the major causes of death in diabetic patients. Type II diabetes mellitus is generally treated with sulfonylureas. There are controversial reports regarding adverse cardiovascular effects of these drugs. Also evidence exists about differences in side effects between first and second generation sulfonylureas. Thus, an experimental and prospective study was performed. In this study, the vascular effects of two sulfonylureas belonging to the first(chlorpropamide) and second generation(glibenclamide) were investigated in healthy male rats. Healthy rats were treated with chlorpropamide(8mg/kg/day; i.p.) and glibenclamide(0.285mg/kg/day; i.p.) for one- and two-month periods and the response of isolated aortic rings to phenylephrine, acetylcholine and isosorbide dinitrate were then examined and compared to control. The results showed that chlorpropamide pretreatment after two months caused a significant reduction in contractile response to phenylephrine. Moreover, a significant increase in endothelium-dependent relaxation in response to ACh was also observed after a two-month period of pretreatment with chlorpropamide. Such changes were not observed after one month administration so it appears that these changes are time dependent. Glibenclamide did not cause such changes after one-or two-month pretreatment. Calculated EC50s for either phenylephrine or ACh did not differ in test groups compared to control. So it is suggested that changes in the characteristics of smooth muscle alpha-1 adrenoceptors or endothelial muscarinic receptors may not be involved in the observed responses. The alpha-1 adrenoceptor-induced vasoconstriction appears to be caused both by the release of intracellular  $Ca^{2+}$  and by the transmembranous influx of extracellular  $Ca^{2+}$ . It has been demonstrated that glibenclamide may interfere with  $Ca^{2+}$  influx which in turn affects intracellular  $Ca^{2+}$  levels in arterial smooth muscle, leading to reduction to muscle contractility. Inhibitory effect of glibenclamide in the protein kinase-C mediated contractile mechanism has also been suggested. The observed effect of chlorpropamide on phenylephrine-induced contraction can be attributed to such mechanisms and a longer pretreatment may be needed for glibenclamide to show its inhibitory effect on contractile response to phenylephrine. On the other hand, it has been shown that sulfonylureas may stimulate the proliferation of endothelial cells from large vessels. There may be a difference between chlorpropamide and glibenclamide in the time needed to cause such an effect. Also, it is possible that vascular effects of chlorpropamide are due, at least in part, to changes in the post-receptor cellular components which are involved in signal transduction. Results obtained in this study indicate that up to two months pretreatment with chlorpropamide and glibenclamide in healthy rats did not affect the aortic function in such a way to contribute to hypertension.

**Key Words:** 1) Sulfonylureas 2) Glibenclamide 3) Chlorpropamide 4) Rat aorta

*This article is a summary of the thesis by E.Izadpanah for the degree of MSc in Physiology under supervision of H.Homayounfar, PhD and consultation with M.Mahmoudian, PhD and M. Shafiei, PhD*

**I)** Assistant professor of Pharmacology, Razi Institute for Drug Research, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (\*Corresponding author).

**II)** Associate professor of Physiology, Medical School, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

**III)** MSc in Physiology.

**IV)** Professor of Pharmacology. Razi Institute for Drug Research. Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.