

# اثر نیفدیپین و وراپامیل بر نارسایی عروقی دیابت مزمن تجربی در موش صحرایی

مهدی محمودی<sup>۱</sup> (Ph.D)، محمد خاکساری<sup>۲\*</sup> (Ph.D)، غلامرضا اسدی کرم<sup>۱</sup> (Ph.D)، مهران بهادران<sup>۳</sup> (M.S.P.H)

۱- دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی، بیوفیزیک و تغذیه

۲- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی

۳- دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی

## چکیده

سابقه و هدف: شروع تأخیری عوارض دیابت می‌تواند از تغییرات عروقی، منشاء بگیرد. کلسیم نقش مهمی در القاء و شروع مرحله‌ای که منجر به آسیب عروقی و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شود، بازی می‌کند. هدف این مطالعه این بود که مشخص نماید آیا مسدود کننده‌های کانال کلسیم (نیفدیپین و وراپامیل) می‌توانند از نفوذپذیری عروق جلوگیری نمایند؟

مواد و روش‌ها: این مطالعه مداخله‌ای - تجربی بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد، که به‌طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند. دیابت به‌وسیله تزریق زیرجلدی ۵۰mg/kg از استرپتوزوتوسین ایجاد شد. نارسایی عروقی به دو روش میزان خروج رنگ آبی ایوانز و درصد محتوای آب بافتی اندازه‌گیری شد. حیوانات، روزانه ۴۰mg/kg وراپامیل و ۱۰mg/kg نیفدیپین به‌صورت خوراکی دریافت می‌کردند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که میزان خروج رنگ آبی ایوانز به‌طور معنی‌داری ( $P < 0/001$ ) در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش پیدا کرد؛ درحالی‌که وراپامیل به‌صورت معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) باعث کاهش میزان خروج رنگ آبی ایوانز شد، اما نیفدیپین اثر مهاری نداشت. درصد محتوای آب بافتی در گروه‌های مورد مطالعه تغییرات معنی‌داری نداشت. وزن حیوان‌های گروه دیابتی در پایان آزمایش در مقایسه با ابتدای آزمایش، کاهش معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) داشت؛ درحالی‌که در گروه‌های دیابتی دریافت کننده وراپامیل و نیفدیپین تغییرات وزن در ابتدا و انتهای آزمایش معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از مسدودهای کانال کلسیم مخصوصاً وراپامیل می‌تواند به‌طور مؤثری نارسایی عروق حاصل از دیابت را مهار نماید. این داروها هم‌چنین می‌توانند از کاهش وزن در حیوان‌های دیابتی جلوگیری نمایند.

واژه‌های کلیدی: دیابت، وراپامیل، نیفدیپین، نارسایی عروقی

## مقدمه

دیابت قندی یک اختلال مزمن است که از ویژگی‌های آن اختلال در متابولیسم گلوکز و آزاد شدن انرژی از سایر منابع سوختی می‌باشد. از جمله ویژگی‌های دیگر این بیماری عوارض تأخیری نوروپاتیک و عروقی است [۲۴]. با این‌که در

دو نوع اصلی دیابت (نوع I و نوع II) ساز و کارهای بیماری‌زایی متفاوتی وجود دارند، اما در هر دو نوع، عوارض درازمدتی به‌وجود می‌آیند که از علل اصلی آزردهی جسمی و مرگ و میر ناشی از دیابت محسوب می‌شوند؛ به‌طوری‌که زیر بنای این عوارض مزمن موضوع بسیاری از تحقیقات و

## Archive of SID

آراشیدونیک در مسیرهای سیکلوآکسیژناز و لیپوآکسیژناز آزاد می‌شوند نیز یک نقش بحرانی و تعیین‌کننده در حوادث پاتولوژیک عوارض عروقی دیابت دارند [۱۳]. با توجه به مطالب بالا می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً هیپرگلیسمی دیابتی نقش خود را در ایجاد عوارض مزمن و کشنده، از طریق ایجاد نارسایی عروق ایفا می‌کند و در نهایت این عارضه زمینه را برای ایجاد سایر عوارض مزمن دیابت فراهم می‌نماید.

گزارش شده است که دیابت قندی، با تغییر پیام‌رسانی کلسیم در انواعی از بافت‌ها مانند جریان‌های یونی افزایش یافته کلسیم در نورون‌های موش‌های صحرایی دیابتی و افزایش جریان‌های کلسیم مربوط به کانال کلسیم نوع L در یاخته‌های بتای پانکراس بیماران با دیابت نوع I [۲۳] همراه است. با این وجود در افراد دیابتی فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم [۲۵] و در بیماران دیابتی و در موش‌های صحرایی دیابتی فعالیت پمپ کلسیم [۲۲] نیز کاهش می‌یابد. متابولیسم فسفوانیزوتول در دیابت، تغییر یافته و به دنبال آن میزان کلسیم درون یاخته‌ای تغییر پیدا می‌کند [۲۵]. از سوی دیگر با توجه به این‌که مهارکننده‌های کانال کلسیم باعث بهبودی نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی دیابتی شده [۲۵] و کلسیم در فعال کردن فسفولیپاز A<sub>2</sub> و در نهایت افزایش محصولات مسیر متابولیسم اسید آراشیدونیک مانند ترومبوکسان A<sub>2</sub> [۲۰]، فعال کردن PKC [۱۶]، تولید و ساخت اکسیدنیتریک [۲۶]، رهایش میانجی‌های دخیل در التهاب مانند اینترلوکین‌ها [۳۱] و انقباض عضلات صاف عروق نقش دارد؛ که همه این عوامل از ساز و کارهای تغییر یافته در دیابت قندی و دخیل در پیدایش نارسایی عروق در این بیماری می‌باشند، این فرضیه مطرح می‌شود که شاید کلسیم در پیدایش عوارض عروقی دیابت، مانند تغییرات در نفوذپذیری عروق نقش داشته و مصرف مهارکننده‌های کانال کلسیم احتمالاً نقش پیش‌گیری‌کننده در پیدایش نارسایی عروقی دیابتی داشته باشند.

مطالعات به‌شمار می‌رود [۴]. عوارض مزمن در دیابت به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱- عوارض عروقی که شامل دو نوع زیر می‌باشند؛ الف- عوارض میکروواسکولار: رتیئوپاتی، نوروپاتی و نفروپاتی. ب- عوارض ماکروواسکولار: بیماری‌های قلبی- عروقی، عروق محیطی و عروق مغزی. ۲- عوارض غیرعروقی: شامل عوارضی چون گاستروپارزی، ناتوانی جنسی و تغییرات پوستی است [۶]. در اهمیت عوارض عروقی در دیابت می‌توان به همین بسنده کرد که احتمال کوری در بیماران دیابتی، بیست بار بیش از افراد دیگر بوده و هم‌چنین مرحله نهایی نارسایی کلیوی ناشی از نفروپاتی دیابتی دلیل عمده مرگ و میر در بیماران دیابتی بوده و بالغ بر ۳۰ تا ۳۵ درصد بیماران را شامل می‌شود [۶].

رتیئوپاتی و سایر عوارض مزمن دیابت، هم در انسان و هم در مدل‌های تجربی حیوانی به‌وسیله نفوذپذیری افزایش یافته عروق و بسته‌شدن مویرگ‌ها مشخص می‌شوند [۲۱]. اگرچه بیان شده‌است که افزایش گلوکز خون یک عامل مهم تعیین‌کننده عوارض عروقی در دیابت می‌باشد، به‌طوری‌که با کنترل هیپرگلیسمی می‌توان از بروز رتیئوپاتی، نوروپاتی و نفروپاتی جلوگیری نموده و یا حداقل درصد آن‌ها را کاهش داد [۶]، اما مسیر سلسله‌حوادثی که منجر به این اختلالات عروقی می‌شوند، نامشخص است.

افزایش مزمن قند خون بر روی عملکرد سلول‌ها به‌وسیله انواعی از ساز و کارهای مختلف اثر می‌گذارد که از جمله آن‌ها می‌توان به فعالیت افزایش یافته مسیر پلی‌ال [۲۹]، حالت اکسیداسیون و احیاء تغییر یافته درون یاخته‌ای، فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC) و گلیکوزیلاسیون غیرآزیمی اشاره کرد [۲۷]. هیپرگلیسمی، هم‌چنین باعث افزایش نفوذپذیری عروق، تراوش و نشت پروتئین‌های پلاسما و فاکتور رشد به بیرون می‌گردد [۲۷]؛ علاوه بر این در بیماران دیابتی، افزایش تجمع پلاکتی، رهایش افزایش یافته ترومبوکسان A<sub>2</sub>، افزایش انقباض ناشی از ترومبوکسان A<sub>2</sub> [۱۷]، کاهش در ساخت اکسیدنیتریک (NO) در حالت پایه و تحریک شده [۹] نیز وجود دارد. واسطه‌های لیپیدی که از متابولیسم اسید

به تمامی حیوانات دایبیتی بلافاصله بعد از تزریق استرپتوزوتوسین تا پایان آزمایش، محلول کلرید سدیم (۴/۵ گرم در لیتر)، داده شد؛ همچنین برای کاهش مرگ و میر، براساس مطالعات قبلی به آب آشامیدنی تمامی حیوانات در روز سوم بعد از تزریق STZ یا بافر، قند به میزان ۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به آب آن‌ها اضافه شد. وزن حیوانات در ابتدای آزمایش و سپس به صورت هفتگی تا پایان آزمایش اندازه‌گیری و ثبت گردید.

هفت روز بعد از تزریق STZ، میزان قند خون اندازه‌گیری و حیوانات با قند پلاسما بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر [۲۲]، به همراه داشتن علائم پرادراری و برونوشی، به عنوان حیوانات دایبیتی در نظر گرفته شدند.

طریقه مصرف مهارکننده‌های کانال کلسیم، مهارکننده‌های کانال ولتازی کلسیم مورد استفاده در این پژوهش، وراپامیل و نیفدیپین (اهدایی از شرکت رزدارو، ایران) بودند که وراپامیل به صورت محلول در آب آشامیدنی حیوانات، به میزان ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر اساس آب مصرفی حیوانات به مدت ۴۰ روز به آن‌ها داده شد. نیفدیپین بعد از این‌که در ۱ میلی‌لیتر اتانول حل می‌شد، به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همان مدت زمان فوق مصرف شد [۵].

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری عروق، در پایان روز چهارم، حیوانات به وسیله تزریق محلول تیوبیتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. برای اندازه‌گیری نفوذپذیری عروقی، ابتدا مقدار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول رنگ آبی ایوانز (Evans blue) در ورید فمورال تزریق گردید و ۳۰ دقیقه بعد، با بازکردن شکم، دو تکه از دئودنوم برداشته شد. میزان نفوذپذیری عروقی به دو روش زیر محاسبه گردید [۲].

الف) تعیین میزان رنگ آبی ایوانز خارج عروقی. در یکی از نمونه‌های دوازدهه بعد از اندازه‌گیری وزن و آماده سازی، غلظت رنگ، با قرائت میزان جذب نوری توسط اسپکتروفوتومتر (Belgium) در طول موج ۶۲۰ نانومتر و با استفاده از معادله زیر تعیین گردید [۲].

با توجه به این که در مورد نقش احتمالی مهارکننده‌های کانال کلسیم (وراپامیل و نیفدیپین) در جلوگیری از نارسایی عروقی دایبیت گزارش معتبری وجود نداشت؛ بنابراین هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر حفاظتی داروهای فوق در جلوگیری از نفوذپذیری افزایش یافته عروق در دایبیت و آزمودن فرضیه نقش کلسیم در ایجاد واسکولوپاتی دایبیتی بود.

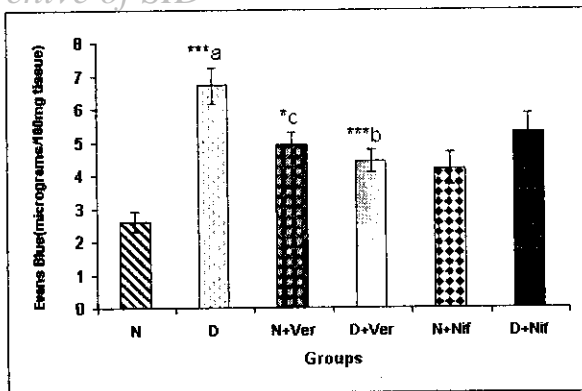
## مواد و روش‌ها

حیوانات، این مطالعه تجربی بر روی ۷۰ سر موش صحرایی نر از نژاد Albino N Mary با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم انجام شد. حیوانات در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی رفسنجان در دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند:

گروه‌های آزمایشی، حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه (۱۰ سر حیوان در هر گروه) زیر تقسیم شدند.

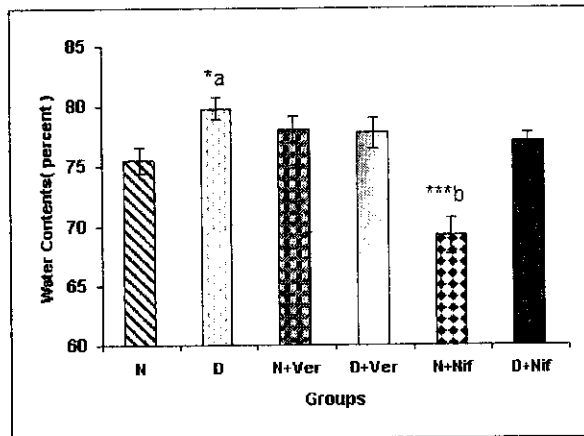
گروه ۱: حیوانات سالم که هیچ دارویی دریافت نمی‌کردند (گروه کنترل)، گروه ۲: حیوانات دایبیتی که هیچ دارویی دریافت نمی‌کردند، گروه ۳: حیوانات سالم دریافت‌کننده وراپامیل خوراکی (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه ۴: حیوانات دایبیتی دریافت‌کننده وراپامیل خوراکی (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه ۵: حیوانات سالم دریافت‌کننده نیفدیپین خوراکی (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه ۶: حیوانات دایبیتی دریافت‌کننده نیفدیپین خوراکی (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه ۷: حیوانات دایبیتی که هم حجم مصرفی نیفدیپین، از حلال آن (نرمال‌سالین و اتانول) را دریافت می‌کردند.

روش ایجاد دایبیت، ایجاد دایبیت تجربی در گروه‌های ۲، ۴، ۶ و ۷ با تزریق استرپتوزوتوسین [Upjohn, Michigan, USA (STZ)] با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به صورت زیرجلدی بین دو گوش حیوان انجام شد. در گروه‌های ۱، ۳ و ۵ حلال استرپتوزوتوسین (STZ) (بافر استات سدیم ۰/۰۱ مولار) به همان روش، تزریق شد [۱۸].



نمودار ۱. مقایسه محتوای رنگ آبی ایوانز خارج عروقی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. N: گروه سالم، D: گروه دیابتی، N+Ver: گروه سالم دریافت‌کننده وراپامیل، D+Ver: گروه دیابتی دریافت‌کننده وراپامیل، N+Nif: گروه سالم دریافت‌کننده نیفیدین، D+Nif: گروه دیابتی دریافت‌کننده نیفیدین. a: اختلاف معنی‌دار بین گروه D با گروه N، b: اختلاف معنی‌دار بین گروه D+Ver با گروه N، c: اختلاف معنی‌دار بین گروه N+Ver با گروه N را نشان می‌دهد.

\*= p < 0.05, \*\*= p < 0.01, \*\*\*= p < 0.001



نمودار ۲. مقایسه محتوای آب دوازده در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. N: گروه سالم، D: گروه دیابتی، N+Ver: گروه سالم دریافت‌کننده وراپامیل، D+Ver: گروه دیابتی دریافت‌کننده وراپامیل، N+Nif: گروه سالم دریافت‌کننده نیفیدین، D+Nif: گروه دیابتی دریافت‌کننده نیفیدین. a: اختلاف معنی‌دار بین گروه D با گروه N، b: اختلاف معنی‌دار بین گروه N+Nif با گروه N را نشان می‌دهد.

\*= p < 0.05, \*\*\*= p < 0.001

ب) نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای آب بافتی (دوازدهه). مقایسه مربوط به محتوای آب در گروه‌های مختلف با آزمون ANOVA اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد [F(5/42) = 8/494, P < 0.001]. نمودار ۲ نشان می‌دهد که دیابت درصد محتوای آب بافتی دوازدهه را در حیوان‌های دیابتی (79/8 ± 0/9%) به طور معنی‌داری نسبت به حیوان‌های سالم یا کنترل (75/5 ± 1/1%) افزایش داده است

$$\text{Ab/weight} \times 26.48 = \text{میزان رنگ آبی ایوانز} / 100 \text{mg tissue}$$

ب) تعیین محتوای آب بافتی. نمونه دوم از هر دوازدهه بعد از وزن شدن، به مدت ۹۶ ساعت در انکوباتور ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس محتوای آب بافتی با استفاده از معادله زیر تعیین گردید [۱۰].

$$\text{Water Content} = \frac{(\text{Wet Weight} - \text{Dry Weight})}{\text{Wet weight}} \times 100$$

روش آماری. داده‌ها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده‌اند. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها بین گروه‌ها و از آزمون Tukey برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. تمامی داده‌ها با p < 0.05 معنی‌دار تلقی گردیدند.

## نتایج

الف) نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان رنگ آبی ایوانز خارج عروقی. مقایسه مربوط به میزان خروج رنگ آبی ایوانز (E.B) در گروه‌های مختلف در نمودار ۱ نشان داده شده است. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که دیابت باعث افزایش خروج ماده رنگی از عروق شده، به طوری که بین گروه دیابت و بقیه گروه‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد [F(5/36) = 9/92, P < 0.001]. دیابت به طور معنی‌داری محتوای E.B خارج عروقی (6/7 ± 0/55) میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت) را در مقایسه با حیوان‌های سالم (2/6 ± 0/29) میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت) افزایش داده است (p < 0.001). مصرف وراپامیل در حیوان‌های دیابتی (4/4 ± 0/34) میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت) به طور معنی‌داری خروج رنگ E.B را از عروق ممانعت نموده است (p < 0.001). درحالی‌که این اثر مهاري توسط نیفیدین مشاهده نشد. علاوه بر این وراپامیل محتوای رنگ E.B را در حیوان‌های سالم (4/9 ± 0/37) افزایش داده است (p < 0.05).

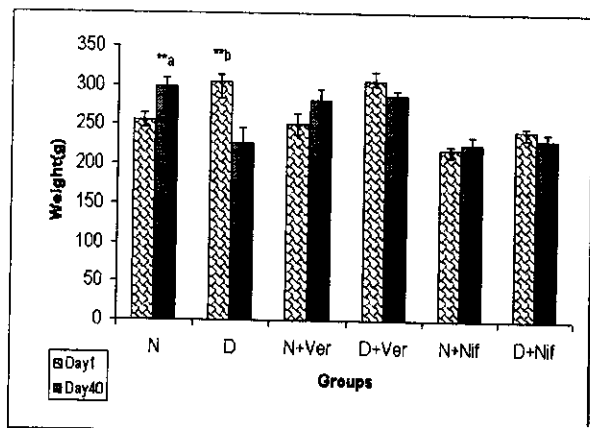
کلسیم احتمالاً در به راه انداختن سلسله حوادثی که منجر به آسیب و افزایش نفوذپذیری عروق در دیابت می‌شوند نقش دارد. به عبارت دیگر، کلسیم به عنوان یک واسطه اصلی هدایت‌کننده مسیرهایی است که از طریق آن‌ها هیپرگلیسمی باعث ایجاد واسکولوپاتی و در نهایت عوارض ثانویه دیابت می‌شود، مطرح است. در این پژوهش به منظور بررسی نقش کلسیم در نفوذپذیری افزایش‌یافته عروق در موش صحرایی دیابتی، اثر مهارکننده‌های کانال کلسیم یعنی وراپامیل و نیفدیبین مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت باعث افزایش معنی‌دار میزان رنگ آبی ایوانز در خارج عروق می‌شود. از آنجایی که میزان خروج این ماده رنگی نشانه‌ای از نشت پروتئین‌های پلاسما به‌خصوص آلبومین به بیرون از عروق است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در دیابت، نشت پروتئین عروقی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، این مطالعه بیانگر افزایش محتوای آب (شاخصی از خیز یا ادم بافتی است) در حیوان دیابتی در مقایسه با حیوان سالم است؛ اگر چه افزایش در محتوای آب خیلی کم‌تر از افزایش در رنگ آبی ایوانز است.

مصرف هر دو مهارکننده کانال کلسیم در حیوان‌های دیابتی، میزان رنگ آبی ایوانز را در خارج عروق کاهش داد؛ اگرچه کاهش ایجاد فقط به وسیله وراپامیل معنی‌دار بود، مشاهده اثر مهاری وراپامیل در مطالعه حاضر بیانگر نقش واسطه‌گری کلسیم در ایجاد واسکولوپاتی دیابتی است. وراپامیل احتمالاً از طریق مسیرهایی زیر این عمل را موجب شده است: ۱- کاهش غلظت کلسیم در وریدها و در نتیجه کاهش فشار هیدروستاتیک در این عروق و مویرگ‌های خونی [۲]، ۲- مهار فعالیت پروتئین کیناز C (PKC) وابسته به کلسیم و در نتیجه مهار مسیرهایی که توسط این آنزیم فعال می‌شوند، که از مسیرهایی مهم ایجاد واسکولوپاتی هستند [۱۶]، هم‌چنین از آنجایی که فعال شدن PKC منجر به مهار تولید NO می‌شود [۷]، بنابراین مهار PKC افزایش NO را

( $p < 0.05$ ). نیفدیبین، درصد محتوای آب ( $69.2 \pm 1.5$ ) را در حیوان‌های سالم به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها کاهش داده است ( $p < 0.001$ ). اما بین سایر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری در محتوای آب بافتی وجود ندارد.

ج) نتایج مربوط به تغییرات وزن در گروه‌های مورد مطالعه. مقایسه مربوط به تغییرات وزن در گروه‌های مختلف در نمودار ۳ نشان داده شده است. این نمودار، اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد [ $F(11/72)$ ]. هم‌چنین این نمودار معرف این است که وزن حیوان‌های گروه دیابتی در پایان آزمایش ( $225/8 \pm 20/8$  گرم) در مقایسه با ابتدای آزمایش ( $303/8 \pm 9/4$  گرم) کاهش معنی‌داری پیدا کرده است ( $p < 0.05$ )؛ از سوی دیگر وزن حیوان‌های گروه سالم یا کنترل در پایان آزمایش نسبت به ابتدای آزمایش ( $255/3 \pm 9/5$  گرم در مقایسه با  $298/5 \pm 9/5$  گرم) افزایش معنی‌دار داشته است ( $p < 0.01$ ). درحالی‌که در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده وراپامیل یا نیفدیبین تغییرات وزنی معنی‌دار در ابتدا و انتهای آزمایش مشاهده نمی‌شود؛ یعنی این‌که مصرف این داروها از کاهش وزن در دیابت جلوگیری نموده‌اند.



نمودار ۳. مقایسه میانگین تغییرات وزن در گروه‌های مورد مطالعه در ابتدا (روز اول) و انتهای (روز چهارم) مطالعه. N: گروه سالم، D: گروه دیابتی، N+Ver: گروه سالم دریافت‌کننده وراپامیل، D+Ver: گروه دیابتی دریافت‌کننده وراپامیل، N+Nif: گروه سالم دریافت‌کننده نیفدیبین، D+Nif: گروه دیابتی دریافت‌کننده نیفدیبین. a: اختلاف معنی‌دار بین وزن حیوان‌های گروه سالم در ابتدا و انتهای آزمایش. b: اختلاف معنی‌دار بین وزن حیوان‌های گروه دیابتی را نشان می‌دهد.

\*\*=  $p < 0.01$

هدایت عصبی در موش‌های صحرایی دیابتی وجود دارد [۲۵] مطابقت دارد. همچنین، تشدید در فعالیت یا افزایش در تعداد کانال‌های کلسیم در حیوان دیابتی [۳۲]، افزایش حساسیت به کلسیم در عضلات صاف مثانه حیوان‌های دیابتی [۳۰]، افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی در یاخته‌های هدف انسولین و بهبود بخشیدن به متابولیسم گلوکز در حیوان‌های دیابتی به‌وسیله مصرف مهارکننده‌های کانال کلسیم [۲۲]، افزایش حساسیت گیرنده‌های آلفا-آدرنرژیک و افزایش انقباض آئورت و در نتیجه افزایش PKC [۱۴] نیز گزارش شده است.

تفاوت بین اثرات وراپامیل و نیفدپین بر میزان خروج ماده رنگی که در این مطالعه مشاهده شد می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به کم بودن دوز مصرفی نیفدپین یا کم بودن طول دوره مصرف این دارو در این مطالعه اشاره کرد؛ هر چند که انتخاب دوز مصرفی این داروها بر اساس سایر مطالعاتی که از این دو دارو به منظورهای مختلف استفاده کرده‌اند، صورت گرفته است. همچنین علی‌رغم این‌که هر دو دارو از مهارکننده‌های کانال‌های کلسیمی آهسته می‌باشند، اما به‌علت تفاوت ساختمانی، بعضی از تفاوت‌ها در عملکرد تنظیمی آن‌ها با یک‌دیگر وجود دارد، به‌طوری‌که وراپامیل دارای اثر قلبی بیش‌تر و اثر عروقی کم‌تر می‌باشد، در حالی‌که برای نیفدپین اثر قلبی کم‌تر و اثر عروقی بیش‌تر بیان شده است [۳۳]، بنابراین این خود تفاوت در پاسخ را ایجاد می‌نماید؛ همچنین گزارش شده است که نیفدپین توانایی مهار PKC را ندارد [۵].

یکی دیگر از مشاهدات این پژوهش عدم تأثیر این مهارکننده‌ها در حیوان‌های سالم و حتی افزایش محتوای رنگ آبی ایوانز در خارج عروق، به‌وسیله وراپامیل می‌باشد. ساز و کار دقیق این اثر مشخص نیست، اما این احتمال وجود دارد که اولاً وراپامیل هم‌چون برخی از داروهای شناخته شده دیگر، اثرات درمانی خود را فقط در افراد بیمار ایجاد می‌کند و حتی ممکن است در افراد سالم اثرات معکوس داشته باشد، زیرا تشدید فعالیت یا افزایش در تعداد کانال‌های کلسیم [۳۲]،

موجب شده و در نتیجه باعث شل شدن یاخته‌های اندوتلیوم عروق که منجر به کاهش شکاف بین‌یاخته‌های اندوتلیوم و کاهش نشت پروتئین می‌گردد می‌شود. ۳- مهار رهایی میانجی‌های دخیل در التهاب با توجه به نقش احتمالی و زمینه‌ای التهاب در ایجاد نارسایی عروق در دیابت [۲]، ۴- مهار جریان رو به داخل کلسیم ناشی از بعضی میانجی‌ها در یاخته‌های اندوتلیوم عروق و شل شدن این یاخته‌ها که منجر به مهار خروج پروتئین‌های پلاسمایی از عروق می‌شود [۱۹]، ۵- جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و محصولات ناشی از گلیکوزیلاسیون [۲۸]، زیرا گزارش شده است که اولاً در دیابت، تولید آنیون سوپراکسید افزایش می‌یابد، ثانیاً مصرف اسیداسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، تولید NO را افزایش می‌دهد [۸، ۱۲]، بنابراین شاید وراپامیل به علت نقش آنتی‌اکسیدانی، اثر خود را اعمال نموده است. ۶- افزایش ترشح انسولین و کنترل قند خون و سرانجام جلوگیری از مکانیسم‌هایی که به‌وسیله آن‌ها هیپرگلیسمی باعث اختلالات میکروواسکولار می‌شوند [۱۱]، ۷- از آن‌جایی که فعالیت پمپ کلسیم در حیوان دیابتی کاهش پیدا می‌کند [۲۲] و این امر منجر به افزایش کلسیم در داخل یاخته شده و در نهایت باعث افزایش انقباض یاخته‌های اندوتلیال و افزایش نشت پروتئین می‌شود، شاید مصرف مهارکننده‌های کانال کلسیم از طریق مقابله با این افزایش کلسیم داخل سلولی، هم شل شدن یاخته‌های اندوتلیال و هم شل شدن وریدها را موجب شده باشند. ۸- گزارش شده است که فعالیت  $Na^+ - K^+ ATPase$  در دیابت کاهش می‌یابد [۱۲] و کاهش فعالیت این آنزیم، افزایش غلظت کلسیم داخل‌یاخته‌ای و وقوع حوادث فوق را به دنبال دارد، که احتمالاً مهارکننده‌های کانال کلسیم از حوادث ناشی از افزایش غلظت کلسیم داخل‌یاخته‌ای جلوگیری می‌نمایند.

اثر مفید آنتاگونیست‌های کلسیم روی مهار میزان خروج رنگ آبی ایوانز از عروق با گزارش‌هایی که در مورد اثر این داروها بر کاهش پانکراتیت حاد [۱۶]، مهار التهاب ناشی از کاراگینین و ادجوانت کامل فروند [۲، ۱] و افزایش سرعت

می‌باشند. با این وجود اگر اهمیت یون کلسیم در فرایندهای دخیل در پاتوژنز اختلالات مزمن دیابت قندی مورد قبول واقع شود، ما می‌توانیم امیدوار باشیم که نسل جدیدی از داروهای مؤثر بر روی اختلالات مزمن دیابت معرفی شوند. برای صحت این ادعا، احتیاج به پژوهش‌های بیش‌تر، به‌خصوص انجام کارآزمایی بالینی است.

### تقدیر و تشکر

این پژوهش به‌عنوان طرح تحقیقاتی از سوی شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تصویب شده و از حمایت مالی این دانشگاه برخوردار بوده است، لذا بدین‌وسیله از مسئولان ذیربط قدردانی به عمل می‌آید. هم‌چنین پژوهش‌گران، بر خود لازم می‌دانند از آقایان دکتر رضا بیدکی، دکتر غلام‌رضا بازماندگان و خانم‌ها اسلام کیش، بختیاری و میرزایی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند تقدیر و تشکر به‌عمل آورند.

### منابع

- [۱] خاکساری محمد، سجادی سیدمحمدعلی، زینلی‌زاده مهدی، موسوی مسعود. فعالیت ضدالتهابی مهارکننده‌های کانال کلسیم بر التهاب مزمن در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۸۱؛ دوره نهم، جلد ۶: صفحات ۶۷-۶۰.
- [۲] خاکساری محمد، سجادی سیدمحمدعلی. اثرات وراپامیل و نیفدیبین بر التهاب ناشی از کاراگتین در پنجه موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۸؛ جلد ۶، شماره ۴: صفحات ۱۹۸-۱۹۱.
- [۳] خاکساری محمد، خوش‌باطن علی، حاجی‌زاده سهراب. اثر ایوپروفن و متی‌مازول بر خیز ناشی از سوختگی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۴؛ دوره دوم: صفحات ۱۲۷-۱۲۰.
- [۴] صادقی علی، عسکری مسعود، علیزاده شهریار، کردی آرش. آسیب‌شناسی پایه (اندام‌ها و دستگاه‌ها). چاپ دوم، تهران: مؤسسه انتشارات پزشکی ایران، ۱۳۷۶، صفحات ۳۸ تا ۱۰۱۹.
- [۵] مهرانی حسین‌علی. بررسی فعالیت PKC و ارتباط آن با عوارض ناتویه دیابت در موش. مجله پزشکی کوثر، ۱۳۸۰؛ جلد ۶، شماره ۱: صفحات ۶۴-۵۵.
- [6] Alvin CP. Diabetes mellitus. In: Braunwald E, editor. Harrison principles of internal medicine. 15<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw Hill Co. 2001; p. 2109-2129.
- [7] Beckman JA, Golfime AB, Gordon MB. Inhibition of protein kinase C prevents impaired endothelium-dependent vasodilation caused by hyperglycemia in human. *Circ Res*, 2002; 90: 107-111.
- [8] Beckman JA, Gbldfine AB, Gordon MB, Creager MA. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired

افزایش حساسیت به کلسیم [۳۰]، کاهش فعالیت پمپ کلسیم [۲۲]، کاهش فعالیت پمپ سدیم - پتاسیم [۱۲] و افزایش حساسیت گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک [۱۴] فقط در حیوان دیابتی در مقایسه با سالم وجود دارد. ثانیاً ممکن است وراپامیل با تولید و ترشح اینترلوکین [۳۳] در حیوان‌های سالم، نفوذپذیری عروق آن‌ها را افزایش داده باشد.

بخش دیگر این پژوهش نشان داد که وزن حیوان‌های دیابتی در پایان آزمایش در مقایسه با تغییرات وزن در حیوان‌های سالم کاهش پیدا کرده است، که این کاهش وزن علامت بارز دیابت وابسته به انسولین می‌باشد. اما نکته قابل توجه در این تغییرات وزن این می‌باشد که آنتاگونیست‌های کلسیم در این مطالعه توانسته‌اند کاهش وزن حیوان دیابتی را کنترل کرده و از کاهش شدید وزن جلوگیری نمایند؛ به‌طوری که اختلاف وزن در ابتدا و انتهای مطالعه وجود نداشت. احتمالاً این داروها از طریق تغییر در ترشح انسولین از باقیمانده یاخته‌های بتای جزایر لانگرهانس [۱۵] و تغییر در متابولیسم گلوکز [۲۲] این اثر را موجب شده‌اند، اگر چه جلوگیری از کاهش وزن شاید یکی دیگر از مکانیسم‌های عملکرد وراپامیل برای کاهش نفوذپذیری عروق در حیوان دیابتی باشد.

نتایج حاصل از بررسی اثرات این داروها بر روی محتوای آب، نشان‌گر این است که این داروها بر روی محتوای آب اثر نداشتند. ساز و کار این موضوع که چرا وراپامیل بر روی محتوای آب در حیوان دیابتی اثر نداشت، احتمالاً به این دلیل است که حرکت آب و نشت پروتئین، مستقل از یک‌دیگر رخ می‌دهند، که این مشابه با اثر ضدالتهابی مشاهده قبلی برای این داروها در مطالعه قبلی ما می‌باشد که توسط مطالعات دیگران نیز تأیید شده است [۱۳].

در مجموع، بررسی حاضر نشان داد که وراپامیل دارای اثر قوی بر ضد اختلالات میکروواسکولار (افزایش نفوذپذیری نسبت به پروتئین‌ها) در حیوان دیابتی بوده و در نتیجه دارای اثرات بالقوه بر روی عملکرد سیستم‌های دخیل در پاتوژنز رتینوپاتی، نوروپاتی، نفروپاتی و حتی زخم پای دیابتی

- [21] Papachristodoubu D, Heath H, Kang SS. The development of retinopathy in sucrose-fed and streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 1976; 12: 367-74.
- [22] Reddi AS, Dasmahapatra A, Jyothirmoyi GN, Jayasund A. Erythrocyte  $Ca^{++}$ ,  $Na^{+}/K^{+}$ ATPase in long-term streptozotocin diabetic rats, effect of good glycemic control and a  $Ca^{++}$  antagonist. *Am J Hypertens*, 1992; 5: 863-8.
- [23] Ristic H, Srinivasan S, Hall KE. Serum from diabetic BB/W rats enhances calcium currents in primary sensory neurons. *J Neurophysiol*, 1998; 80: 1236-44.
- [24] Robert S, Sherwin E. Diabetes mellitus, In: Bennet JC. Editor. *Cecil textbook of medicine*. 21<sup>st</sup> edition, Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2000. p. 1263-85.
- [25] Robertson S, Cameron NE, Cotter MA. The effect of the calcium antagonist nifedipine on peripheral nerve function in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 1992; 35: 1113-17.
- [26] Rodler S, Roth M, Nauk M, Tamm M, Block LH.  $Ca^{++}$  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.
- [27] Ruderman NN, Williamson JR, Brownlee M. Glucose and diabetic vascular disease. *FASEB J*, 1992; 6 (11): 2905-14.
- [28] Sobal G, Menzel EJ, Sinzinger H. Calcium antagonists inhibitors of in vitro low density lipoprotein oxidation and glycation. *Biochem Pharmacol*, 2001; 61(3): 373-9.
- [29] Tuck RR, Schmelzer JD, Low PA. Endoneurial blood flow and oxygen tension in the sciatic nerves of rats with experimental diabetic neuropathy. *Brain*, 1984; 107(pt3): 935-50.
- [30] Waring JW, Wendt IR. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on intracellular calcium and contraction of longitudinal smooth muscle from rat urinary bladder. *J Urol*, 2000; 163(1): 323-30.
- [31] Warren JB. Vascular control of inflammatory edema. *Clin Science Colch*, 1993; 84: 581-4.
- [32] White RP, Carrier GO. Enhanced vascular  $\alpha$ -adrenergic neuroeffector system in diabetes: Importance of calcium. *Am J Physiol*, 1988; 255: H1036-42.
- [33] Wirth KJ, Alpermann HG, Satoh R, Inazu M. The bradykinin antagonist hoe140 inhibits carrageenan and thermally induced paw edema in rats. *Agents Actions*, 1992; 38(Suppl III): 428-31.
- [34] Zubek VK, Cohen B, Wu W. Antinociceptives effect of nifedipine and verapamil tested on rats chronically exposed to nicotine and after its withdrawal. *Life Sci*, 1997; 60(19): 1651-8.
- by acute hyperglycemia in humans. *Circulation*, 2001; 103: 1618-23.
- [9] Calver A, Collier J, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Inves*, 1992; 90: 2548-54.
- [10] Chakir M, D'Orleans-Juste P, Plante GE. Neutral endopeptidase inhibition, a new approach in the exploration of diabetic vasculopathy in rats. *Eur J Pharmacol*, 1995; 285: 11-18.
- [11] Gerich JE. Clinical significance, pathogenesis and management of postprandial hyperglycemia. *Arch Intern Med*, 2003; 163: 1306-16.
- [12] Gupta S, Chough E, Daley J, Oates P, Tornheim K, Ruderman NB, et al. Hyperglycemia increase endothelial superoxide that impairs smooth muscle cell  $Na^{+}$ - $K^{+}$  ATPase activity. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002; 282: C560-C566.
- [13] Hammes HP, Weiss A, Fuhrer D, Kramer HJ, Papavassilis C, Grimminger F. Acceleration of experimental diabetic retinopathy in the rat by omega-3 fatty acids. *Diabetologia*, 1996; 39:251-5.
- [14] Hattori Y, Kawasaki H, Kanno M. Increased contractile responses to endothelin-1 and U46619 via a protein kinase C-mediated nifedipine-sensitive pathway in diabetic rat aorta. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 1999; 104(1): 73-80.
- [15] Katzung BG. *Basic and clinical pharmacology*. 16<sup>th</sup> ed. USA: Lange Medical Book. 1995; p. 301-5.
- [16] Koya D, King GL. Protein kinase C activation and development of diabetic complications. *Diabetes*, 1998; 47(6): 859-66.
- [17] Malasanos TH, Stacpoole PW. Biological effects of omega-3 fatty acids in diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1991; 14: 1160-79.
- [18] Mahmoodi M, Khaksari M, Bazmandegan GR, Sajjadi MA, Asadikaram GR. Calcium channel blockers can control hyperglycemia and prevent weight loss in experimental diabetic rats. *Proceedings of the European Congress of CCLM, Espania, Moduzzi Editore*; 2003, p. 675-9.
- [19] Mendelowitz D, Bacal K, Kunze DL. Bradykinin-activated calcium influx pathway in bovine aortic endothelial cells. *Am J Physiol*, 1992; 262(4pt2): H942-8.
- [20] Ogle CW, Cho CH, Tong MC, Koo MW. The influence of verapamil on the gastric effects of stress in rats. *Eur J Pharmacol*, 1985; 112(3): 399-404.