Archive of SID

مقاله پژوهشی
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
جلد چهارم، شماره دوم، بهار ۱۳۸۴

اثر مسددهای کانال کلسیم بر روی آرتریت تجربی ناشی از تزریق اجوانت کامل فروند در زانوی موش صحرایی

محمدرضا رحمانی[۱*]، محمد خاکساری[۲]، مهدی محمودی[۳]، علی‌اصغر پورشانظری[۴]

دریافت: ۱۳۸۳/۱۲/۲۰ بازنگری: ۱۳۸٤/۳/۱۰ پذیرش: ۱۳۸٤/۳/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: آرتریت روماتویید یک بیماری التهابی مزمن مربوط به بافت همبند است که یک درصد جمعیت انسانی را مبتلا کرده است. از آن جایی که در مطالعات قبلی نقش آنتاگونیست‌های کانال کلسیم در کاهش التهاب حاد نشان داده شده است، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات وراپامیل و نیفدیپین بر روی آرتریت تجربی ناشی از اجوانت کامل فروند (CFA) در زانوی موش صحرایی است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی برروی ۸ گروه موش صحرایی نر بالغ انجام شد.گروه‌های ۱ و ۲ گروه‌های CFA و کنترل بودند که به ترتیب در زانوی راست آن‌ها ۰/۲ml محلول CFA و سالین تزریق شد.گروه‌های ۳ و ۴ به ترتیب دوزهای ۱۰۰و ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نیفدیپین و حیوان‌های گروه‌های ۵ و ۶ نیز به ترتیب همین دوزهای وراپامیل را از روز هفتم بعد از تزریق CFA تا پایان مطالعه به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه ۷ (گروه حلال) مشابه با گروه‌های ۵ و ۶ دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) را به روش فوق مصرف کردند و حیوان‌های گروه ۸، ایبوپروفن را به میزان ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی دریافت کردند. تغییرات ناشی از التهاب مزمن از طریق اندازه‌گیری قطر زانو، محتوای رنگ آبی ایوانز (E.B) و تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت سینوویال زانو برای مدت ۲۸ روز بعد از تزریق CFA تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که در روز هفتم بعد از تزریق CFA، قطر زانو (۱۳/۱±۰/۲mm) در مقایسه با روز صفر (۹/۹۹±۰/۰۸mm) به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده که این افزایش قطر تا پایان روز ۲۸ نیز دارای اختلاف معنی‌دار با روز صفر بود (p<۰/۰۰۱). هم‌چنین DMSO نتوانست این افزایش قطر ناشی از تزریق CFA را مهار کند، در حالی که دوز زیاد نیفدیپین در روزهای۱۴، ۲۱ و ۲۸ و دوز اندک آن فقط در روز ۲۸ به طور معنی‌داری افزایش قطر را کاهش داده است(p<۰/۰۱). دوز اندک وراپامیل در روزهای ۱۴و ۲۸ و دوز زیاد آن فقط در روز ۲۱ اثر مهاری مشابهی اعمال نموده است. ایبوپروفن در همه روزهای مطالعه افزایش قطر را مهارنموده است (p<۰/۰۱). محتوای E.B قبل از تزریق CFA به میزان ۲/۹۷±۰/۱۴µg/۱۰۰mg tissue بود، که بعد از تزریق به طور معنی‌داری افزایش یافت به طوری که در روز هفتم به میزان ۱۲/۳۷±۰/۷ میکروگرم به ازای ۱۰۰میلی‌گرم بافت رسید (p<۰/۰۰۱). در همه روزهای مطالعه (۱۴، ۲۱ و ۲۸) هم دوزهای اندک و هم دوزهای زیاد مسددهای کانال کلسیم به طور معنی‌داری محتوای E.B را کاهش دادند (p<۰/۰۰۱) و اثرات مهاری آن‌ها بر روی E.B خصوصاً در روز ۲۸ قابل مقایسه با اثر ایبوپروفن بود. هم‌چنین دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین ارتشاح سلول‌های التهابی را در روزهای ۲۱ و ۲۸ کاسته در حالی که فقط دوز اندک وراپامیل این ویژگی را از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر معرف این هستند که نیفدیپین و وراپامیل در مهار آرتریتیس تجربی زانو ناشی از تزریق CFA، از طریق کاهش قطر و کاهش محتوای E.B (نشت آلبومین) مؤثر می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: التهاب مزمن، وراپامیل، نیفدیپین، اجوانت کامل فروند، آرتریت تجربی

۱*- مربی و عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان (نویسندهٔ مسئول)
تلفن: ۰۳۹۱-۸۲۲۰۰۹۰، فاکس: ۰۳۹۱-۸۲۲۰۰۹۲، پست الکترونیکی: rahmanir47@yahoo.com
۲- دانشیار گروه فیزیولوژی و مرکزتحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳- دانشیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
۴- استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آرتریت روماتویید بیماری التهابی مزمن بافت همبند است که یک بیماری سیستمیک نیز می‌باشد، این بیماری یک درصد جمعیت انسانی را مبتلا کرده است [۳۶]، که بسته به منطقه جغرافیایی تا حدودی متغیر است و شیوع آن در خانم‌ها ۳ تا ۴ برابر مردان است و در دهه‌های ۲ و ۳ زندگی شیوع بیشتری دارد [۱۷،۳۷]. علی‌رغم مطالعات زیاد در چند سال اخیر، هنوز روش‌های درمانی جدید و مناسب و با تأثیر زیاد برای درمان آرتریت روماتویید در دسترس نمی‌باشد [۴۳].

تغییرات پاتولوژیک در آرتریت روماتویید با التهاب غشا سینوویال شروع می‌شود به طوری که یاخته‌های سینوویال و بافت‌های زیر سینوویوم دچار هیپرپلازی شده، گشاد شدن عروق و افزایش جریان خون باعث گرمی و قرمزی شده و نهایتاً سبب تشکیل خیز التهابی در اثر افزایش نفوذپذیری مویرگ‌ها و خروج مایع و پروتئین از گردش خون موضعی و تجمع گلبول‌های سفید چند هسته‌ای در جایگاه التهاب می‌شود [۴،۲۲]. موارد فوق مسئول بروز علایم موضعی کلاسیک التهاب حاد بوده [۳۷] که در ادامه به التهاب مزمن تبدیل می‌شود. هم‌چنین شاخص‌های زیر نیز برای التهاب مزمن مطرح شده‌اند: ۱- ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای شامل ماکروفاژها و پلاسما سل‌ها ۲- تخریب بافتی به علت سلول‌های التهابی ۳- ترمیم از طریق جایگزینی بافت همبند و رگ‌سازی خصوصاً فیبروز [۱۳].

در حالت التهاب مزمن، همانند التهاب حاد، میانجی‌های شیمیایی مختلفی از قبیل: لوکوترین‌ها، سیتوکین‌ها، کینین‌ها هیستامین، متابولیت‌های اسید آراشیدونیک، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اکسید نیتریک [NO] و مادهٔ P نقش اساسی دارند [۶،۱۲،۲۹،۳۸]. یون کلسیم در رهایش بسیاری از میانجی‌های التهابی فوق، فعال شدن آن‌ها و یا ایجاد اثرات آن‌ها نقش دارد، به طوری که گزارش شده است که کلسیم در فعال کردن فسفولیپاز A_2 و در نهایت افزایش محصولات مسیر متابولیسم اسید آراشیدونیک [۳۲]، فعال کردن PKC [۲۶]، تولید و ساخت NO [۳۳]، رهایش اینترلوکین‌ها [۴۲]، رهایش میانجی‌ها از طریق تحریک روند اگزوسیتوز، حرکت یاخته‌های التهابی، ترشح مواد شیمیایی از ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها [۱۰،۳۰]، افزایش LTB_4 و نتیجتاً افزایش چسبندگی گلبول‌های سفید به اندوتلیال عروق و افزایش مهاجرت آن‌ها به محل التهاب [۱۵،۴۲] فعال شدن لنفوسیت‌ها [۱۹] نقش دارد. از سوی دیگر گزارش شده است که مسددهای کانال کلسیم باعث کاهش فشار هیدروستاتیک در عروق [۴۲]، مهار تولید NO و آنزیم‌های سازنده ایکوزانوییدها [۱۲،۳۸]، کاهش رهایش هیستامین، برادی‌کینین،سروتونین، متابولیت‌های اسید آراشیدونیک، لوکوترین‌ها [۱۸]، مهار مهاجرت لنفوسیت‌ها [۶]، مهار اثر IL-2 [۱۴]، تثبیت غشاء یاخته و کاهش جراحت به بافت می‌شوند.

از آن‌جایی که همه عوامل فوق در پیدایش تغییرات پاتولوژیک مشاهده شده در ایجاد التهاب، دخیل می‌باشند، این فرضیه مطرح می‌شود که شاید کلسیم در پیدایش تغییرات همراه با التهاب نقش داشته باشد و به همین لحاظ در مطالعات قبلی اثر مسددهای کانال‌های ولتاژی کلسیم در التهاب حاد بررسی و نقش مهاری آن‌ها در التهاب حاد نشان داده شد [۲،۲۵]، بنابراین در مطالعه حاضر بررسی اثر مسددهای کانال کلسیم بر روی التهاب مزمن ناشی از تزریق اجوانت کامل فروند در زانوی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته و علاوه بر این اثرات آن‌ها با اثر ایبوپروفن (داروی ضد التهابی استاندارد) مقایسه می‌شود.

مواد و روش‌ها

۱- حیوان‌ها: این مطالعه مداخله‌ای - تجربی روی ۸۰ سر موش صحرایی بالغ نر از نژاد آلبینوان‌ماری با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام گرفت. حیوان‌ها در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی رفسنجان با درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی – روشنایی۱۲ ساعته نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آن‌ها بود. پروتکل آزمایش به روش زیر به طور یکسان روی همه گروه‌ها اجرا شد.

۲- روش ایجاد التهاب مزمن: برای ایجاد التهاب مزمن در زانو پس از ایجاد بی‌هوشی با اتر، ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول اجوانت کامل فروند[1] (CFA) با سرنگ انسولین به شماره ۲۶

1- Complete Freund's Adjuvant

www.SID.ir

Archive of SID

به فضای قدامی مفصل زانوی راست حیوان تزریق شد. استفاده از این روش یک مدل پذیرفته شده برای التهاب مزمن است که واکنش‌های التهابی شبیه آرتریت روماتویید در انسان ایجاد می‌کند [۲۸]. CFA ترکیبی از سوسپانسیون مایکوباکتریم توبرکلوزیس کشته و خشک شده در روغن معدنی می‌باشد [۱۶].

۳- روش‌های اندازه‌گیری میزان التهاب درزانو: با سه روش میزان التهاب در زانو مورد بررسی قرار گرفت:

الف) اندازه‌گیری تغییرات قطر مفصل:

اندازه‌گیری تغییرات قطر داخلی – جانبی مفصل زانو یکی از معیارها برای ارزیابی شدت التهاب می‌باشد [۲۸]، برای این کار از یک کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر (Diamond، چین) استفاده شد. قطر مفصل زانوی راست در روز صفر (یا قبل از تزریق CFA) و روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از تزریق در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. سپس تغییرات قبل و بعد از تزریق با یکدیگر مقایسه گردید [۱،۱۶].

ب) اندازه‌گیری میزان خروج رنگ آبی ایوانز از عروق:

بعد از اقدامات فوق رنگ آبی ایوانز[1] (E.B) به میزان ۲۰ mg/kg داخل ورید فمورال حیوان در روزهای صفر (یا قبل از تزریق CFA)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تزریق شد و نیم ساعت بعد حیوان کشته شده و بافت اطراف و کپسول مفصل جدا شده و با استفاده از روش خاص محتوای رنگ طبق فرمول بر حسب میکروگرم درصد میلی‌گرم بافت محاسبه و گزارش شد [۲]. با استفاده از این روش، پروتئین‌های پلاسما خصوصاً آلبومین به این رنگ متصل شده، به طوری که وجود رنگ آبی در فضای بین سلولی (خارج عروق) نشان‌گر وجود پروتئین در خارج از عروق می‌باشد که در شرایط طبیعی در عروق محبوس می‌مانند، اما در شرایط التهاب مزمن نفوذپذیری عروق افزایش یافته و به موازات آن نشت پروتئین و تجمع رنگ در خارج از عروق رخ خواهد داد [۲].

ج) آماده‌سازی مفصل زانو جهت مطالعات هیستوپاتولوژی:

بعد از کشتن حیوان‌ها (از هر گروه ۴ سر موش) با دوز بالای اورتان، مفصل زانوی راست همراه با استخوان متصل به آن قطع و در فرمالین برای مدت ۴۸ ساعت فیکس شده و سپس با محلول EDTA (مرک، آلمان) دکلسیفیه شدن بافت استخوان انجام، سپس در پارافین غوطه‌ور و برش‌های میکرونی با میکروتوم تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین (مرک، آلمان) رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری (زایس، آلمان) توسط یک نفر پاتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت.

۴- داروهای مصرفی: اجوانت کامل فروند (بیوژن، مشهد)، وراپامیل و نیفدیپین (اهدایی شرکت رز دارو، ایران) که با دوزهای ۱۰۰ و ۸۰۰ µg/kg و ایبوپروفن (سیگما، انگلستان) با دوز ۱۵ mg/kg به صورت خوراکی از طریق لوله دهانی معدی از روز هفتم بعد از تزریق CFA به حیوان‌ها داده شد. دوزهای استفاده شده در این مطالعه برای داروهای فوق در مطالعات قبلی اثر مهاری داشته‌اند [۲،۳]. داروهای مصرف شده در این مطالعه دردی متیل‌سولفوکسید (DMSO) (مرک، آلمان) حل شدند [۲]. حجم محلول‌های مصرفی ۱ml/kg بود و محلول‌ها توسط فردی مشخص (که از تقسیم‌بندی گروه‌های آزمون مطلع نبود) و در ساعت معین از روز هفتم بعد از تزریق CFA (شروع التهاب مزمن) برای مدت ۲۱ روز به حیوان‌ها خورانده شدند. DMSO نیز به عنوان حلال به صورت هم حجم با داروهای فوق مصرف شد. رنگ آبی ایوانز جهت تعیین میزان نشت پروتئین از عروق (سیگما، انگلستان)، اورتان و اتر (مرک، آلمان) جهت ایجاد بی‌هوشی نیز استفاده شدند.

۵-گروه‌های آزمایشی: موش‌ها به روش تصادفی آسان به ۸ گروه زیر تقسیم شدند و در هر گروه ۱۰ سر حیوان وجود داشت:

گروه۱: حیوان‌هایی که در اثر تزریق CFA دچار التهاب مزمن زانو شده‌اند و تغییرات قطر زانو، میزان E.B و تغییرات هیستوپاتولوژیک در آن‌ها برای روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ اندازه‌گیری شد. **گروه۲:** در این گروه هم حجم CFA یعنی ۰/۲ml سرم فیزیولوژیک (سالین) در زانوی راست آن‌ها تزریق شد و تغییرات مشابه با گروه ۱ در آن‌ها نیز بررسی شد. گروه‌های ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ نیز CFA در زانوی راست آن‌ها تزریق شد. **گروه۳:** در این گروه وراپامیل با دوز ۱۰۰µg/kg برای ۲۱ روز داده شد و موارد مشابه با گروه ۱ اندازه‌گیری شد. **گروه۴:** در این گروه وراپامیل با دوز ۸۰۰µg/kg برای ۲۱ روز داده شد و موارد مشابه با گروه ۱ اندازه‌گیری شد.

1- Evans Blue

www.SID.ir

Archive of SID

گروه ۵: دراین گروه نیفدیپین با دوز ۱۰۰µg/kg برای ۲۱ روز داده شد و موارد مشابه با گروه ۱ در این حیوان‌ها بررسی شد. **گروه۶:** در این گروه نیفدیپین با دوز ۸۰۰µg/kg برای۲۱ روز داده شد و موارد مشابه با گروه ۱ در این حیوان‌ها بررسی شد. **گروه۷:** در این گروه CFA تزریق شده و حلال داروها یعنی DMSO خورانده شد و تغییرات قطر زانو، میزان E.B و تغییرات هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. **گروه۸:** در این گروه ایبوپروفن با دوز ۱۵mg/kg برای ۲۱ روز داده شد و موارد گروه ۱ بررسی شد.

۶- روش آماری: نتایج به دست آمده توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن با استفاده از آزمون Tukey و در مواردی با آزمون Student t-test تجزیه و تحلیل شدند. داده‌های همه آزمایش‌ها به صورت Mean± SEM نشان داده شده و با شرط $p<0/05$ اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

نتایج

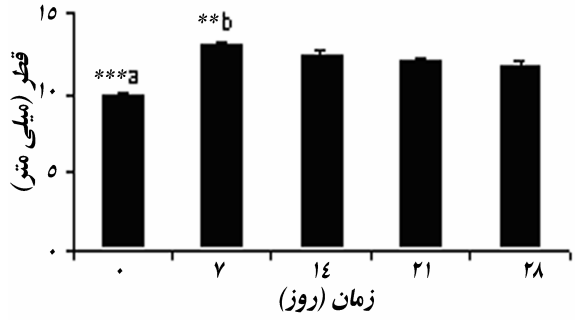
الف) تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت سینوویال زانو:

گروهی که CFA به تنهایی دریافت کرده بود در روز هفتم التهاب شدید در مفصل و نسوج پیرامون آن به صورت ادم، پرخونی، اتساع عروق و ارتشاح نوتروفیل‌ها مشاهده شد. در روز چهاردهم سلول‌های لنفوسیتی، پلاسماسل‌ها و مونوسیت‌ها نیز مشاهده گردید. در روز ۲۱ رشته‌های فیبری ظاهر شده و هم چنین تکثیر غشای سینوویال رخ داده و در روز ۲۸ مطالعه افزایش رشته‌های فیبری، سلول‌های گرانولوماتوز در حال تشکیل به همراه ژانت سل‌ها مشاهده شد. هم چنین از نظر هیستوپاتولوژی بین گروه CFA و DMSO اختلاف خاصی مشاهده نشد، از سوی دیگر در گروهی که سالین به جای CFA در زانوی آن‌ها تزریق شده بود سلول‌های التهابی مشاهده نشدند.

گروهی که نیفدیپین با دوز ۱۰۰µg/kg دریافت نمودند، شدت التهاب در آن‌ها مختصری کاسته شده و در روزهای ۲۱ و ۲۸ بر میزان سلول‌های ژانت، گرانولوماتوز افزوده شده است و در مورد دوز ۸۰۰µg/kg آن نیز در روزهای۲۱ و ۲۸ ارتشاح سلول‌ها کاسته شده و شدت ادم نیز کاهش یافته بود. دوز اندک وراپامیل از روز ۱۴ تا پایان مطالعه ارتشاح سلول‌های التهابی و شدت التهاب را کاهش داده، به طوری که در روز ۲۸ مسئله خاص التهابی وجود نداشت. اگرچه وراپامیل با دوز زیاد نیز در روزهای ۱۴ و ۲۱ شدت التهاب را کاسته اما در روز ۲۸، افزایش سلول‌های التهابی مشاهده شد. ایبوپروفن در روزهای مختلف مطالعه ارتشاح یاخته‌های التهابی و شدت التهاب را کاهش داده است.

ب) نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر زانو:

اثر تزریق CFA برروی افزایش قطر زانو در طی ۲۸ روز مطالعه در نمودار ۱ نشان داده شده است. در روز هفتم بعد از تزریق CFA قطر زانو (۱۳/۱±۰/۲mm) درمقایسه با روز صفر (۹/۹۹±۰/۰۸mm) افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p<0/001$). افزایش قطر ناشی از تزریق CFA در روزهای بعد از روز ۷ کاهش یافته است، اگرچه هنوز اختلاف معنی‌دار بین روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ با روز صفر ($p<0/001$) و روز ۷ ($p<0/01$) وجود دارد.



نمودار ۱:میانگین قطر مفصل زانو (mm) در گروه دریافت کننده اجوانت کامل فروند (CFA) با گروه ۱ در روزهای مختلف مطالعه. روز صفر، قطر زانو قبل از تزریق را نشان می‌دهد. a:اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA در تمام ۲۸ روز نسبت به روز صفر. b: اختلاف معنی‌دار بین اندازه قطر مفصل در روز ۷ با روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸. $p<0/01$:** $p<0/001$:*

ج) نتایج حاصل از اثرات داروهای مختلف روی قطر زانو:

مقایسه اثرات داروهای مختلف بر روی افزایش قطر ناشی از تزریق CFA در جدول ۱ نشان داده شده است. اگرچه قطر مفصل زانو (mm) در روز صفر در گروه‌های CFA، سالین و DMSO (به ترتیب ۹/۹۹±۰/۰۸، ۱۰/۱±۰/۰۷ و ۹/۸±۰/۰۸) یکسان است و اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها وجود ندارد، اما در روزهای ۲۱،۱۴،۷ و ۲۸ قطر زانو در گروه CFA بیشتر از گروه سالین است ($p<0/001$). از سوی دیگر DMSO، افزایش قطر ناشی از CFA را مهار ننموده است، هم‌چنین اگرچه، قطر زانو

www.SID.ir

Archive of SID

در روز ۷ در گروه‌های مصرف کننده دوزهای اندک و زیاد مسددهای کانال کلسیم و در گروه ایبوپروفن یکسان است، اما در روز ۱۴ توسط دوز زیاد نیفدیپین (p<۰/۰۰۱) و در روز ۲۱ توسط دوز اندک و زیاد وراپامیل و دوز زیاد نیفدیپین (p<۰/۰۰۱) کاهش پیدا کرده است؛ علاوه بر این در روز ۲۸ هم دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین و هم دوز اندک وراپامیل افزایش قطر ناشی از تزریق CFA را مهار نموده، به طوری که اختلاف معنی‌دار بین این گروه‌ها با گروه CFA و DMSO وجود دارد (p<۰/۰۱). ایبوپروفن در همه روزهای مطالعه به طور معنی‌داری افزایش قطر ناشی از CFA را کاهش داده است (p< ۰/۰۱). در روز ۱۴ بین دوز اندک وراپامیل با دوز اندک نیفدیپین (p<۰/۰۰۱) و دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین (p<۰/۰۵) و دوزهای اندک و زیاد وراپامیل (p<۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در روز ۲۱ بین دوز اندک و زیاد نیفدیپین نیز اختلاف معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵). در روز ۱۴ بین ایبوپروفن با دوز اندک نیفدیپین (p<۰/۰۱) و دوزهای اندک و زیاد وراپامیل (p<۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌دار وجود دارد، در حالی که در روز ۲۸ فقط بین ایبوپروفن و وراپامیل ۸۰۰ اختلاف معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۱).

جدول ۱: مقایسه اثرات گروه‌های مختلف مطالعه بر روی قطر مفصل زانو (mm) در روزهای مختلف مطالعه

روز / گروه	۰	۷	۱۴	۲۱	۲۸
CFA	۹/۹۹±/۰۸	۱۳/۱ ± ۰/۲[a]	۱۲/۴ ±۰/۲۶	۱۲/۰۹ ± ۰/۲۴[e]	۱۱/۷۶ ± ۰/۱۸[f]
سالین	۱۰/۱ ± ۰/۰۷	۹/۸۱ ± ۰/۰۸	۹/۷۱ ± ۰/۰۶	۹/۷ ± ۰/۰۶	۹/۷۴ ± ۰/۰۷
DMSO	۹/۸۰ ±۰/۰۸	۱۲/۶ ± ۰/۰۸[b]	۱۲/۳ ± ۰/۴	۱۱/۸ ± ۰/۱۶	۱۱/۸۶ ± ۰/۲۷
N -۱۰۰	___	۱۳/۴ ± ۰/۲۲	۱۱/۹۱ ± ۰/۱۴	۱۱/۱۲ ± ۰/۲۹	۱۰/۶۸ ± ۰/۲
V -۱۰۰	___	۱۲/۸۹ ± ۰/۱۵	۱۱/۴۷ ± ۰/۱۶[d]	۱۰/۷۴ ±۰/۱۸	۱۰/۶ ± ۰/۲
N -۸۰۰	___	۱۲/۸ ± ۰/۲	۱۱/۰۲ ±۰/۱۱[c]	۱۰/۰۷ ±۰/۲۴	۱۰/۶۵ ± ۰/۱۸
V -۸۰۰	___	۱۲/۹ ± ۰/۱۵	۱۰/۹۵ ± ۰/۱۷	۱۰/۸۴ ± ۰/۲	۱۱/۰۸ ± ۰/۱۹
ایبوپروفن	___	۱۳/۲ ±۰/۲۵	۱۰/۴۶ ±۰/۲۷[g]	۱۰/۸۷ ± ۰/۳۳	۹/۹ ± ۰/۱۴

داده‌ها به صورت Mean±SEM نمایش داده شده‌اند. CFA، اجوانت کامل فروند، DMSO، دی‌متیل‌سولفوکساید، ۱۰۰-N و ۸۰۰-N، به ترتیب دوزهای ۱۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفدیپین. ۱۰۰-V و ۸۰۰-V، به ترتیب دوزهای ۱۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل. ایبوپروفن mg/kg ۱۵. a: اختلاف معنی‌دار بین گروه سالین با CFA در همه روزهای مطالعه با p<۰/۰۰۱. b: اختلاف معنی‌دار DMSO در روزهای ۱۴،۷،۲۱ و ۲۸ با روزهای مشابه در گروه سالین با p< ۰/۰۱. C: اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA با دوز زیاد نیفدیپین در روز ۱۴ با p< ۰/۰۰۱. d: اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA با دوز اندک وراپامیل در روز۱۴ با P< ۰/۰۰۱. e: اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA با دوز زیاد نیفدیپین و دوزهای اندک و زیاد وراپامیل در روز۲۱ با p< ۰/۰۰۱. f: اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA با دوز اندک و زیاد نیفدیپین و دوز اندک وراپامیل در روز۲۸ با p< ۰/۰۱. g: اختلاف معنی‌دار بین ایبوپروفن با CFA در همه روزهای مطالعه با p< ۰/۰۱.

د) نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار رنگ آبی ایوانز:

اثرات CFA و داروهای مختلف برروی محتوای رنگ آبی ایوانز (E.B) در روزهای مختلف مطالعه در جدول۲ نشان داده شده است. در روز صفر مطالعه میزان رنگ آبی ایوانز در گروه‌های CFA، سالین و DMSO یکسان بود (۲/۹۷±۰/۱۴ µg/100mg tissue)، اما در روز هفتم بعد از تزریق CFA میزان E.B به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین افزایش یافت به ترتیب ۱۲/۳۷±۰/۷ در مقایسه با ۲/۷±۰/۱۵ میکروگرم درصد میلی‌گرم بافت، (p<۰/۰۰۱). این اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA و سالین تا

www.SID.ir

Archive of SID

انتهای مطالعه وجود داشت به طوری کـه در روز ۲۸ محتـوای E.B در گـروه CFA (۶/۶±۰/۳۷µg/100mg tissue) بیـشتر از گـروه سـالین (۲/۷±۰/۲) بـود (p<۰/۰۰۱). از سـوی دیگـر اختلاف معنی‌دار بین DMSO و گروه سالین در همه روزهـای مطالعه وجود داشت (p<۰/۰۰۱)، یعنی اینکه مصرف DMSO، افزایش محتوای رنگ آبی ایوانز ناشی از تزریـق CFA را مهـار ننموده است. اگرچه در روز هفتم مطالعه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف مسددهای کانال کلسیم با گروه‌های CFA یا DMSO وجود ندارد، اما در روزهای ۲۱،۱۴ و ۲۸ مطالعه هـم دوزهای اندک و هم دوزهای زیـاد وراپامیـل یـا نیفـدیپین در مقایسه با CFA یا DMSO به طور معنی‌داری محتوای E.B را کاهش داده‌اند (p<۰/۰۰۱)، که میزان در گروه‌های دوز انـدک و زیـاد نیفـدیپین محتـوای E.B در روز ۲۸ (بـه ترتیـب ۳/۹±۰/۲۵ µg/100mg tissue و ۲/۶۱±/۲۹) و در گـروه‌هـای دوز انـدک و زیـاد وراپامیـل در همـین روز محتـوای E.B بـه ترتیب ۴/۰۸±۰/۴۸ و ۳/۵±۰/۳۲ میکروگرم در صد میلی‌گـرم بافت است؛ هم‌چنین ایبوپروفن نیز در همـه روزهـای مطالعـه محتـوای E.B را در مقایـسه بـا گـروه‌هـای CFA و DMSO کاهش داد (p<۰/۰۰۱)، به طوری کـه میـزان E.B در روز ۲۸ در گروه ایبوپروفن ۲/۶۱±۰/۲۹ µg/100mg tissue بود.

جدول ۲: مقایسه اثرات گروه‌های مختلف مطالعه بر روی محتوای رنگ آبی ایوانز(µg/100mg tissue) در روزهای مختلف مطالعه

روز / گروه	۰	۷	۱۴	۲۱	۲۸
CFA	۲/۹۷ ±۰/۱۴[a]	۱۲/۳۷ ± ۰/۷	۹/۵۴±۰/۶[c]	۷/۱۱±۰/۳[d]	۶/۶±۰/۳۷[e]
سالین	۲/۷±۰/۱۵	۳/۱۳±۰/۱۹[b]	۲/۸۹±۰/۲۴	۲/۷۸±۰/۲	۲/۰۷±۰/۲
DMSO	۲/۷±۰/۲۵	۱۲/۲±۰/۵	۸/۲±۰/۲۵	۶/۷۳±۰/۷۶	۶/۷۵±۰/۶۸
N -۱۰۰	ــــ	۱۲/۷±۰/۳	۶/۴۵±۰/۳۵	۵/۴۲±۰/۲	۳/۹±۰/۲۵
V -۱۰۰	ــــ	۱۲±۰/۴	۶/۹۳±۰/۲۶	۵/۴۶±۰/۴	۴/۰۸±۰/۴۷
N -۸۰۰	ــــ	۱۱/۵±۰/۴۲	۴/۰۸±۰/۱۹	۳/۱۶±۰/۴۳	۲/۶۱±۰/۲۹
V -۸۰۰	ــــ	۱۲/۷±۰/۵	۳/۸۱±۰/۷۶	۳/۳۲±۰/۱۳	۳/۵±۰/۳۲
ایپوپروفن	ــــ	۱۱/۹±۰/۴	۲/۴۱±۰/۱۸[f]	۲/۳۷±۰/۱۵	۲/۶۱±۰/۲۹

داده‌ها به صورت Mean±SEM نمایش داده شده‌اند. CFA، اجوانت کامل فروند، DMSO، دی‌متیل‌سولفوکساید، N-۱۰۰ و N-۸۰۰، به ترتیب دوزهای ۱۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در کیلوگرم نیفدیپین. V-۱۰۰ و V-۸۰۰، به ترتیب دوزهای ۱۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در کیلوگرم وراپامیل. ایبوپروفن ۱۵ mg/kg. a: اختلاف معنی‌دار در گروه CFA بین روز صفر با بقیه روزهای مطالعه با p<۰/۰۰۱. b: اختلاف معنـی‌دار بـین گـروه سالین با CFA و DMSO در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ با p<۰/۰۰۱. c: اختلاف معنی‌دار بین گروه CFA با گروه های DMSO، دوزهای اندک و زیاد وراپامیل و دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین در روز ۱۴ با P<۰/۰۰۱. d: اخـتلاف معنـی‌دار بـین گـروه CFA بـا دوزهـای انـدک و زیـاد وراپامیل و هم‌چنین دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین در روز ۲۱ با P<۰/۰۰۱. e: اختلاف معنـی‌دار بـین گـروه CFA بـا دوز انـدک و زیـاد وراپامیل و هم‌چنین با دوزهای اندک و زیاد نیفدیپین در روز ۲۸ با P<۰/۰۰۱. f: اختلاف معنی‌دار بین ایبـوپروفن بـا CFA و یـا DMSO در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ مطالعه با p<۰/۰۰۱.

بحث

مطالعات قبلی تأثیر مسددهای کانال کلسیم را در التهـاب حاد نشان داده‌اند [۲۰،۲۵]، در مطالعه حاضر به منظور تعیین نقش کلسیم در التهـاب مـزمن، اثـرات وراپامیـل و نیفـدیپین (دوزهـای ۱۰۰ و ۸۰۰ میکروگـرم در کیلـوگرم) در آرتریـت تجربی (التهاب مزمن) در موش صـحرایی مـورد ارزیـابی قـرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق داخل مفصلی CFA باعث افزایش معنی‌دار قطر زانو می‌شود که در روز سوم مطالعه به میزان حداکثر می‌رسد و از روز هفتم حالت کفه پیدا می‌کند و از آنجایی که تقریباً این افزایش قطر تا روز ۲۸ (انتهای) مطالعه وجود داشت، نتیجه گیری می‌شود که اجوانت کامل فروند، التهاب مزمن ایجاد کرده است، که تأییدی بر مطالعات قبلی است [۲۳]. هم‌چنین با مطالعه مک‌دوگال و همکاران که اعلام نموده‌اند که بعد از تزریق داخل مفصلی CFA التهاب مزمن در روز هفتم در مفصل ایجاد می‌شود، هماهنگ است[۲۷]؛ اگرچه با مطالعات دیگران که بیان نموده‌اند، التهاب مزمن از روز چهارم بعد از تزریق CFA ایجاد می‌شود، هم‌خوانی ندارد [۱،۲۰]. CFA احتمالاً از طریق افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها، کاهش گروه‌های سولفیدریل (SH) سرم، افزایش تولید گلوتاتیون خون (GSH) [۱۶]، تجمع فاگوسیت‌ها در مفاصل و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسیدها [۱۶] التهاب مزمن یا آرتریت مفصلی را ایجاد نموده است.

مصرف هر دو مهار کننده کانال کلسیم در حیوان‌های با التهاب مزمن، قطر مفصل زانو را کاهش داد، به طوری که بیشترین اثر مهاری دوز اندک وراپامیل در روز ۲۱ به میزان ۱۱/۲ درصد و دوز زیاد آن در روزهای ۱۴و ۲۱ به ترتیب به میزان‌های ۱۱/۳۸ و ۱۰/۴۱ درصد بر روی افزایش قطر ناشی از CFA مشاهده شد. هم چنین دوز اندک نیفدیپین در روز ۲۸ به میزان ۸/۷ درصد و دوز زیاد نیفدیپین در روز ۲۱ به میزان ۱۱/۶ درصد نسبت به روز صفر، افزایش قطر زانو را مهار نمود. اثر مهاری دوز زیاد این مسددها بر روی قطر زانو خصوصاً در روز ۲۱ مطالعه قابل مقایسه با اثر ایبوپروفن است، اگر چه اثر مهاری ایبوپروفن در روز ۲۸ بیشتر از اثر مهاری هر دو دوز وراپامیل و نیفدیپین است.از سوی دیگر نتایج این مطالعه معرف این هست که، حدود ۴۰۰ درصد محتوای رنگ آبی ایوانز خارج عروقی مفصل زانو در روز هفتم توسط CFA در مقایسه با روز صفر افزایش یافته، اگرچه این افزایش تا روز ۲۸ وجود داشت، اما مقدار آن کمتر شده بود، به طوری که در این روز حدود ۲۰۰ درصد می‌رسید. از آنجایی که میزان خروج این ماده رنگی نشانه‌ای از نشت پروتئین‌های پلاسما به خصوص آلبومین به بیرون از عروق است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که CFA نشت پروتئین عروقی را افزایش داده است. هم دوز اندک و هم دوز زیاد وراپامیل یا نیفدیپین اثر مهاری معنی‌داری بر روی میزان رنگ آبی ایوانز خارج عروقی در روزهای ۲۱و ۲۸ مطالعه داشتند، به طوری که در روز ۲۱ دوزهای زیاد وراپامیل و نیفدیپین محتوای رنگ را به ترتیب به میزان ۵۳ و ۵۰ درصد کاهش دادند و در روز ۲۸، بیشترین اثر مهاری توسط دوز زیاد نیفدیپین به میزان ۶۱ درصد اعمال شده است، که این اثر قابل مقایسه با اثر مهاری ایبوپروفن در همین روز است.

مشاهده اثر مهاری مسددهای کانال کلسیم بر روی قطر و محتوای E.B و تغییرات هیستوپاتولوژیک مفصل زانوی ملتهب، در مطالعه حاضر، بیان‌گر نقش واسطه‌ای کلسیم در ایجاد التهاب مزمن است. مکانیسم دقیق اثر مسددهای کانال کلسیم در کاهش التهاب مزمن مشخص نشده است اما داروهای فوق از طروق متعددی می‌توانند موجب بروز اثر فوق گردند که در این‌جا به تعدادی از این مکانیسم‌ها اشاره می‌گردد: 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 مسیرهای که توسط این آنزیم فعال می‌شوند [۲۶]، ۳- از طریق مهار PKC، افزایش NO را موجب شده و در نتیجه باعث شل شدن یاخته‌های اندوتلیوم عروق شده که منجر به بسته شدن شکاف بین یاخته‌های اندوتلیوم و کاهش نشت پروتئین می‌گردد، [۷،۳۸]، ۴- مهار جریان رو به داخل کلسیم ناشی از بعضی از میانجی‌های در یاخته‌های اندوتلیوم عروق و شل شدن این یاخته‌ها [۲۹]، ۵- کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسیدها [۳۹]، ۶- کاهش اثر التهاب‌زایی پروستاگلاندین‌ها و سایر ایکوزانوئیدها [۵]، ۷- مهار رهایش میانجی‌های دخیل در التهاب از قبیل: هیستامین، برادی‌کینین، سروتونین و سایر میانجی‌ها [۴۰]، ۸- کاهش تولید لوکوترین‌ها (ترکیبات التهاب‌زای قوی) [۳۳]، ۹- افزایش رهایش CRH، کورتیزول و تقویت اثر آن‌ها، [۲۵] ۱۰- مهار تولید پپتیدهای مؤثر در عمل کموتاکسی نوتروفیل‌ها [۳۴]، ۱۱- مهار مهاجرت لنفوسیت‌های تحریک

www.SID.ir

Archive of SID

شده توسط IL-1 و IL-8 [۶] که با نتایج هیستولوژیک مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد، ۱۲- کاهش نفوذپذیری عروق در اثر LTB_4 [۳۵]، ۱۳- کاهش سیالیت و نفوذپذیری غشا از طریق مهار PLA_2 و PLC [۱۵]، ۱۴- کاهش رهایش و هم‌چنین کاهش بیان ژن TNF-α و به دنبال آن کاهش التهاب [۱۱،۳۱]، کاهش ورود کلسیم به نوتروفیل‌ها [۹]، کاهش عملکرد VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال عروق یا فاکتور نفوذپذیری عروق) و نتیجتاً اصلاح عملکرد عروق [۴۱].

اثر مفید آنتاگونیست‌های کلسیم بر روی مهار آرتریت تجربی [التهاب مزمن] با گزارش‌هایی که در مورد اثر مفید این داروها بر کاهش التهاب حاد ناشی از کاراگینین [۲،۲۵]، کاهش پانکراتیت حاد [۲]، کاهش التهاب ریه [۲۴]، کاهش آرترواسکلروزیس از طریق کاهش التهاب [۱۱]، کاهش نفوذپذیری عروق در دیابت قندی [۳]، کاهش خیز مغزی [۴۵]، و کاهش نشت پروتئین از عروق مغزی [۸] مطابقت دارد، اگرچه یک مورد گزارش نیز وجود دارد که این داروهای مسدد کانال کلسیم، محتوای رنگ آبی ایوانز (افزایش نفوذپذیری به آلبومین) را در کلیه‌های موش صحرایی تحت درمان با این داروها افزایش می‌دهند [۲۱].

نتایج بخش دیگر این پژوهش نشان می‌دهد که در روز ۱۴ مطالعه هر دو مسدد کانال کلسیم به صورت وابسته به دوز بر روی کاهش قطر مفصل زانو عمل نموده‌اند، اما در روز ۲۱ فقط نیفدیپین دارای اثر وابسته به دوز است، از سوی دیگر به نظر می‌رسد که اثر دوز زیاد وراپامیل با گذشت زمان کاهش پیدا کرده است، به طوری که در روز ۲۸ اولاً اثر دوز زیاد کمتر از دوز اندک بوده و ثانیاً بین ایبوپروفن و دوز زیاد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. تفاوت بین اثرات وراپامیل و نیفدیپین بر روی کاهش قطر زانو می‌تواند به علت تفاوت ساختمانی این دو آنتاگونیست باشد، زیرا این تفاوت می‌تواند بعضی از تفاوت‌ها را در عملکرد آن‌ها به وجود آورد، به طوری که گزارش شده است که وراپامیل دارای اثر قلبی کمتر و اثر عروقی بیشتر است [۴۴].

در مجموع، بررسی حاضر نشان داد که هم وراپامیل و هم نیفدیپین دارای اثر قوی و قابل ملاحظه‌ای بر ضد تورم مفصل زانو و هم‌چنین افزایش نفوذپذیری عروق و تغییرات هیستوپاتولوژیک مفصل با التهاب مزمن می‌باشد؛ بنابراین دارای اثرات بالقوه بر روی عملکرد سیستم‌های دخیل در پاتوژنز آرتریت روماتویید می‌باشند. با این وجود، اگر اهمیت یون کلسیم در فرآیندهای دخیل در ایجاد آرتریتیس مورد قبول واقع شود، ما می‌توانیم امیدوار باشیم که نسل جدیدی از داروهای مؤثر براین اختلال مزمن معرفی شوند. البته برای صحت این ادعا پیشنهاد می‌شود که اولاً مکانیسم‌های دخیل در اثرات ضد التهابی این مسددها توسط پژوهش‌های بیشتر مشخص شده و ثانیاً کارآزمایی بالینی انجام شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش به عنوان 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 نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات آقای دکتر امیر رهنما و آقای مهدی شریعتی قدردانی نمایند.

منابع

[۱] بدوی م و همکاران: کاهش پاسخ‌دهی عروق زانو موش صحرایی به تحریک گیرنده‌های آلفاآدرنرژیک در شرایط التهاب مزمن: نقش نیتریک‌اکساید. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، ۱۳۷۹، (۲)۴، صفحات: ۸۶-۱۷۵.

[۲] خاکساری م، سجادی م: اثرات وراپامیل و نیفدیپین بر التهاب ناشی از کاراگینین در پنجه موش‌های صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ۱۳۷۸، جلد ۶ شماره ۴، صفحات: ۸-۱۹۱.

[۳] محمودی م، خاکساری م، اسدی‌کرم غر، بهادران م: اثر نیفدیپین و وراپامیل بر نارسایی عروقی دیابت مزمن تجربی در موش صحرایی. مجله کومش ۱۳۸۳، جلد ۵ شماره ۳ و ۴، صفحات: ۵۰-۱۴۳.

www.SID.ir

Archive of SID

[4] Alexander F, Mathison M, Teoh KH, et al: Arachidonic acid metabolites mediate early burn edema. *J Trauma.,* 1984; 24(8): 709-12.

[5] Andrew C, Nicholson O, Etingin P: Dihydropyrtidine calcum antagonist modulates cholesterol metabolism and eicanoid biosynthesis in cells journal of cellular biochemistry 1992; 48: 393-400.

[6] Bacon KB, Westwick J, Camp RD: Potent and specific inhibition of IL-8-, IL-1alpha- and IL-1beta- induced in vitro human lymphocyte migration by calcium channel antagonists. *Biochem Biophys Res Commun.,* 1989: 165(1): 349-54.

[7] Beckman JA, Golfime AB, Gordon MB. Inhibition of protein kinase C beta prevents impaired endothelium-dependent vasodilation caused by hyperglycemia in humans. *Circ Res.,* 2002; 90(1): 107-11.

[8] Blezer E, Nicolay K, Goldschmeding R, Koomans HA, Joles J: Reduction of cerebral injury in stroke-prone spontaneously hypertensive rats by amlodipine. *EUR J Pharmacol.*, 2002;444(1-2): 75-81.

[9] Boston ME, Frech GC, Chacon-Cruze E, Buesher ES, Oelberg DG: Surfactant releases internal calcium stores in neutrophils by G protein-activated pathway. *Exp Biol Med (May wood).,* 2004; 229(1): 99-107.

[10] Broecke RT, Leusink-Muis T, Hiberdink R, et al: Specific modulation of calmodulin activity induces a dramatic production of superoxdie by alveolar macrophages. *Lab Invest.,* 2004; 84(1): 29-40.

[11] Brown DM, Donaldson K, Borm PJ, Schins RP, Dchnhardt M, et al: Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles. *AM J Physiol Lung Cell Mol Physiol.,* 2004; 286(2): L344-53.

[12] Chang J, Blaze KE, Carlson RP: Inhibition of phospholipase A2 (PLA2) activity by nifedipine and nisoldipine is independent of their calcium – channel blocking activity. *Inflammation,* 1987; 11(3): 353-64.

[13] Collins T: Acute and chronic inflammation.In Robbins pathologic basis of disease edited by R.S.Cotran, V.Kumar.And T.Collins. (6th ed) Philadelphia, Pennsylvania: W.B.Saunders company, 1999; chapt (3), pp: 50-88.

[14] Birx DL, Berger M, Fleisher TA: The interference of T cell activation by calcium channel blocking agents. *J Immunol.,* 1984; 133(6): 2904-9.

[15] Dugal D, Scott T: Acute joint inflammation-mechanisms and mediators. *Gen pharmacol*., 1994; 25(7): 1285-96.

[16] Fahim AT, Abd-el Fattah AA, et al: Effect of pumpkin-seed oil on the level of free radical scavenger in induced during adjuvant-arthritis in rats. *Pharmacol Res.*, 1995; 31(1): 73-9.

[17] Fauci AS, Braunwald E: Harrison's Principle of internal medicine, 15th ed. New York: MC Grew Hill Companies 2001; vol.2, pp: 1928-37.

[18] Fedorak RN, Empey LR, Walker K: Verapamil alters eicosanoid synthesis and accelerates healing during experimental colitis in rats. *Gastroenterology,* 1992; 102(4pt1): 1229-35.

[19] Greene WC, Parker CM, Parker CW: Calcium lymphocyte activation. *Cell Immunol*., 1976; 25(1): 74-89.

[20] Hiroshi S, Masaki G, kouichi K: Application of Adjuvant – in inflammatory drugs induced local hyperthermia for evaluation of Anti – inflamma_ tory Drugs. *J Pharma and Exp .therapeutics.,* 1988; 247(3): 1158-63.

[21] Hulthen UL, Cao Z, Rumble JR, Cooper ME, Johnston CI: Vascular hypertrophy and albumin permeability in a rat model combining hypertension and diabetes mellitus. Effects of calcium antagonism, angiotensin converting enzyme inhibition, and angiotensinII-AT1-receptor blockade. *AM J Hypertens.,* 1996; 9(9): 895-901.

www.SID.ir

Archive of SID

[22] Hurley JV, Staub NC, Taylor AE: Textbook of edema. New York Raven pres 1984; pp: 463-88.

[23] Karimian SM, Mcpougall JJ, Ferrell WR: Neuropeptidergic and autonomic control of the vasculature of the rat knee joint revealed by laser Doppler perfusion imaging. Exp physiol 1995; 80(3): 341-8.

[24] Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, Inoue S, Ni W, et al: Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhition of nitric oxide synthesis. *AM J Physiol Heart Circ Physiol*., 2004; 286(2): H768-74.

[25] Khaksari M, Mahani SE, Mahmoodi M: Calcium channel blockers reduce inflammatory edema in rat: involvement of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Indian J Pharmacol.*, 2004; 36(6): 351-54.

[26] Koya D, King GL: Protein kinase C activation and development of diabetic complications. *Diabetes,* 1998; 47(6): 859-66.

[27] McDougall JJ: Abrogation of alpha-adrenergic vasoactivity in chronically inflamed rat knee joints. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.,* 2001; 281(3):R821-7.

[28] Mcdougall JJ, karimian S.M, Ferrell WR: Prolonged alteration of vasoconstrictor and vasodilator responeses in rat knee joints by adjuvant monoarthritis. *EXP Physiol.,* 1995; 80(3): 344-57.

[29] Mendelowitz D, Bacal K, Kunze DL: Bradykinin-activated calcium influx pathway in bovine aortic endothelial cells. *Am J Physiol.,* 1992; 262(4Pt2): H942-8.

[30] Middleton EJr: Calcium antagonists and asthma. *J Allergy Clin Immunol.,* 1985; 76(2Pt2): 341-6.

[31] Mott RT, Ait-Ghezala G, Town T, Mori T, Vendrame M, et al: Neuronal expression of CD22: novel mechanism for inhibiting microglial proinflammatory cytokine production. *Glia,* 2004; 46(4):369-79.

[32] 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.

[33] Rodler S, Roth M, Nauck M, Tamm M, 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): 2295-302.

[34] Rosales C, Brown EJ: Calcium channel blockers nifedipine and diltiazem inhibit Ca2+release from intracellular stores in neutrophils. *J Biochem.,* 1992; 267(3): 1443-8.

[35] Rosen B: Influence of calcium on the invivo flow of leukocytes and erythrocytes. *Prog Appi Microcirc.,* 1989; pp: 67-87.

[36] Ruddy S, Harris ED, Sledge CB: Kelley's text book of rheumatology, Philadelphia: W.B. Saunders 2001; vol.1, pp: 401-16.

[37] Scott DT, Lam FY: Acute Inflammation enhances substance – induced plasma protein extravasations in the rat knee joint. *Regul Pept.,* 1992; 39(2-3): 227-35.

[38] Shamimunisa B: Effects of calcium chnnel antagonists on LPS – induced hepatic iNOS expression. *AM J physiol.,* 1999; 40: G351-G60.

[39] Sobal G, Menzel EJ, Sinzinger H: Calcium antagonistsas as inhibitors of in vitro low density lipoprotein oxidation and glycation. *Biochem Pharmacol.,* 2001; 61(3): 373-9.

[40] southan G, Szabo C: Selective Pharmacological inhibition of distinct oxide synthesis informs. *Biochem pharmacol.,* 1995; 51(4): 383-94.

[41] Tilton RG, Kawamura T, Chang KC, et al: Vascular dysfunction induced by elevated glucose levels in rats is mediated by vascular endothelial growth factor. *J Clin Invest*., 1997; 99(2): 2192-202.

[42] Warren JB: Vascular control of inflammatory edema. *Clin Sci (Lond).,* 1993;84(6): 581-4.

[43] William P, Arend Jean-michl D: Inhibition of the production and efeects of interlukin-1 and

www.SID.ir

Archive of SID

in rats. ***Agents Actions Suppl.,*** **1992; 38(Pt3): 428-31.**

[45] Yang SY, Wang ZG: Therapeutic effect of nimodipine on experimental brain injury. ***Chin J Traumatol.*****, 2003; 6(6): 326-31.**

tumor necrosis factor α in rhumatoid arthritis.*Arthritis&Rhumatism* 1995; 38(2):151-60.

[44] Wirth KJ, Alpermann HG, Satoh R, Inazu M: The bradykinin antagonist Hoe 140 inhibits carrageenan-and thermically induced paw odema

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Calcium Channel Blockers on Experimental Arthritis Induced by Complete Ferund's Adjuvant Injection in Rat Knee

MR. Rahmani MSc[1*], **M. Khaksahri** PhD[2], **M. Mahmoodi** PhD[3], **AA. Pourshanazari** PhD[4]

1- Academic Member, Dept. of Physiology and Pharmacology, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

2- Associated Professor, Dept. of Physiology and Phisiology Resrearch Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3- Associated Professor, Dept. of Biochemistry and Biophysic, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

4- Assistant Professor, Dept. of Physiology and Pharmacology, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Background: Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disorder of connective tissue that has affected 1% of human population. The role of calcium antagonists in acute inflammation has shown by previous studies. Therefore the aim of the present study was to investigate the effect of verapamil and nifedipine (two calcium antagonists) on experimental arthritis induced by complete Ferund's adjuvant (CFA) in rat knee.

Materials and Methods: This experimental study was carried out in 8 groups of adult male rats. In group 1 and 2 (CFA and control group), 0.2 ml of CFA or saline solution were injected respectively. Groups 3and 4 received 100 and 800µg/kg nifedipine and groups 5 and 6 received the same doses of verapamil orally 7 days after injection of CFA till the end of study. Group 7 (solvent group) received dimethyl sulfoxide (DMSO) as same as groups 5 and 6 and group 8 received 15mg/kg ibuprofen daily from day 7th orally with gastro-intestinal tube. The changes caused by chronic inflammation were evaluated by measurement the knee diameter and Evans blue (E.B) content through 28 through days of CFA injection.

Results: The finding of this study showed that on day 7th after CFA injection the knee diameter (13.1±0.2mm) increased significantly compared to the day zero (9.99±0.08 mm). The increasing of diameter was significant till the end of study (day 28) ($p<0.001$). DMSO failed to reduce the increased diameter induced by CFA but the high dose of nifedipine on day 14, 21 and 28 and its low dose only on day 28 reduced the increased diameter significantly ($p<0.01$). The low dose of verapamil on days 14 and 28 and its high dose only on day 28 have had an inhibitory effect. Ibuprofen inhibited the increased diameter during all 28 days of study significantly ($p<0.01$). The E.B content before the injection of CFA was 2.97±0.14 µg/100mg tissue that increased significantly after injection of CFA. Whereas 7 days after CFA injection, E.B content was 12.37±0.7µg/100mg tissue ($p<0.001$). Either low or high dose of calcium channel blockers had significant inhibitory effect on E.B content on days 14, 21 and 28 $p<0.001$. The inhibitory effect of calcium channel blockers on E.B content was comparable to ibuprofen effect on the day 28.

Conclusion: The findings of this study showed that nifedipine and verapamil can inhibit the experimental arthritis induced by CFA injection into the rat knee, by reducing the knee diameter and decrease the E.B content (albumin leakage).

Key words: Chronic inflammation, Verapamil, Nifedipine, CFA, Experimental arthritis

Corresponding author, Tel:(0391)8220090,Fax:(0391)8220092, E-mail: rahmanir47@yahoo.com

Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, 2005, 4(2): 73-84

www.SID.ir