

نوسکاپین و پانکراتیت حاد: بررسی تأثیر دوزهای متفاوت نوسکاپین بر سطح آمیلاز سرم در پانکراتیت حاد القا شده به موشهای صحرایی

دکتر مسعود محمودیان^{۱*}، ندا عصاره^۲، دکتر پروین رستمی^۳، دکتر پوریا صرامی فروشانی^۴

^۱استاد، مرکز تحقیقات دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۲پژوهشگر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

^۳استاد، دانشگاه تربیت معلم تهران

^۴پژوهشگر، مرکز تحقیقات دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

خلاصه

مقدمه

نوسکاپین دارویی است که اخیراً به‌عنوان یک آنتاگونیست برادی‌کینین مورد توجه قرار گرفته و در این مطالعه اثر آن روی مدل حیوانی پانکراتیت حاد مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روشها

۴۹ موش صحرایی نر از نژاد ویستار در پنج گروه آزمون و چهار گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. برای القای پانکراتیت حاد در موشهای صحرایی، از جراحی و مسدود کردن مجرای صفراوی مشترک استفاده شد. در این روش، چند ساعت پس از جراحی، التهاب شدیدی در پانکراس ایجاد می‌شود که برای تأیید این التهاب و بررسی تأثیر نوسکاپین در کاهش آن، آمیلاز سرم سنجیده شده است. در گروههای آزمون، آمیلاز پس از انجام جراحی و تزریق مقادیر مختلف نوسکاپین، اندازه‌گیری گردید. در گروههای شاهد بدون انجام مراحل مشابه، آمیلاز اندازه‌گیری شد.

نتایج

یافته‌های تحقیق نشان دادند که در گروه شاهد دوز صفر نوسکاپین، آمیلاز ۵ برابر گروه شاهد دست‌نخورده افزایش یافته است. اما در گروههای آزمون، تنها تأثیر معنادار نوسکاپین بر سطح آمیلاز افزایش آن در دوز ۰/۵ mg/kg بود و در سایر دوزها تغییرات مشاهده شده معنادار نبودند.

نتیجه‌گیری

همان‌گونه که انتظار می‌رفت نوسکاپین با مهار احتمالی برادی‌کینین بر شدت التهاب پانکراتیت حاد تأثیر گذاشت، اما احتمالاً میزان این تأثیر به دلیل کوتاه بودن نیمه عمر آن، در حد مورد نظر نبود. گوارش، ۱۳۸۳؛ سال نهم: ۵-۱۰۱

واژه‌های کلیدی: نوسکاپین، پانکراتیت حاد، برادی‌کینین، آمیلاز

مقدمه

بر اساس آسیب‌شناسی، این اختلال به دو نوع مختلف ادماتوز و هموراژیک-نکروتاز تقسیم می‌شود. علت این اختلالات به‌طور دقیق شناخته نشده، اما از جمله دلایلی که احتمالاً مطرح است می‌توان از ایسکمی (کم خونی) و بازگشت مجدد خون همراه با شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد اکسیژن، فعال شدن گلبول‌های سفید و نارسایی موضعی گردش خون نام برد^(۱).

برادی‌کینین یک پپتید گشادکننده عروقی است که از طریق گیرنده‌های B1 و B2 دارای آثار زیست‌شناسی متعددی است و در

از آنجا که پانکراتیت حاد یکی از بیماریهای مهلک دستگاه گوارش است، یافتن داروهای مؤثر برای درمان این بیماری با توجه به علت بروز آن ضروری می‌نماید.

* نویسنده مسئول: دکتر مسعود محمودیان- تهران، مرکز تحقیقات دارویی

رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

تلفن: ۰۵۸۶۹۶ / شماره: ۰۵۸۷۱۹

E-mail: masmah99@iums.ac.ir

مواد و روشها

در این مطالعه آزمایشگاهی، به منظور بررسی اثر نوسکاپین در کاهش التهاب در مدل حیوانی پانکراتیت، از ۴۹ سر موش صحرایی از نژاد ویستار نر (Wistar Rat) با وزنه‌های تقریبی 220 ± 30 که از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند استفاده گردید. برای ایجاد مدل حیوانی پانکراتیت حاد، مجرای مشترک صفراوی حیوانات با گره زدن مسدود می‌شد^(۱۳) و برای اطمینان از پانکراتیت ایجاد شده و بررسی اثر نوسکاپین-تهیه شده از شرکت دارویی تماد، (تولید مواد اولیه داروپخش)- در آن، چندین ساعت بعد از جراحی خون‌گیری انجام می‌شد و آمیلاز سرم اندازه‌گیری و بررسی می‌گردید.

گروه‌بندی حیوانات: موش‌های صحرایی به ۹ گروه تقسیم شدند که شامل ۵ گروه آزمون (N=۵ یا N=۴)، یک گروه شاهد با دوز صفر نوسکاپین (N=۸)، یک گروه شاهد شم^۱ (N=۶)، یک گروه شاهد نوسکاپین (N=۶) و یک گروه شاهد دست نخورده (N=۷) بودند (جدول ۱). در گروه‌های آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از جراحی، نوسکاپین با دوزهای متفاوت (۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ mg/kg) به صورت درون صفاقی تزریق می‌شد؛ سپس جراحی به گونه‌ای که در ادامه ذکر می‌شود انجام و آمیلاز اندازه‌گیری می‌شد. در گروه شاهد با دوز صفر نوسکاپین، بدون تزریق نوسکاپین، جراحی انجام و آمیلاز اندازه‌گیری می‌گردید. در گروه شاهد شم، بدون تزریق نوسکاپین، تمام مراحل جراحی جز انسداد مجرای مشترک صفراوی انجام و آمیلاز اندازه‌گیری می‌شد. در گروه شاهد نوسکاپین، بدون انجام جراحی، نوسکاپین با دوز ۲ mg/kg تزریق و آمیلاز اندازه‌گیری می‌گردید. در گروه شاهد دست‌نخورده، بدون تزریق هیچ نوع دارویی

واکنش‌های التهابی نیز نقش مهمی دارد^(۳). در پانکراتیت حاد برادی‌کینین تولید می‌شود^(۳) و با تأثیر در عروق موجب شکل‌گیری ادم پانکراس و صدمات التهابی ناشی از آن می‌گردد^(۴). دخالت‌گیرنده B2 برادی‌کینین در پانکراتیت حاد القا شده توسط بستن مجاری صفراوی پانکراس ثابت شده است^(۵). به کارگیری داروهای آنتاگونیست گیرنده B2 برادی‌کینین در مدل‌های حیوانی پانکراتیت حاد، مرگ و میر را کاهش می‌دهد^(۶) و از میزان افزایش آمیلاز و لیپاز سرم کاسته می‌شود^(۵). در برخی مطالعات دیده شده است آنتاگونیست‌های برادی‌کینین می‌توانند نارسایی عملکرد اندام را که ناشی از ایسکمی (کم خونی) و بازگشت مجدد خون است به گونه‌ای مؤثر مهار نمایند^(۱).

نوسکاپین یک آلکالوئید ایزوکوئینولین شناخته شده در اوپیوم است^(۷). بر خلاف اغلب آلکالوئیدهای دیگر که از شیره اوپیوم حاصل می‌شوند، این دارو فاقد برخی از خواص مرتبط با این خانواده دارویی از قبیل ایجاد حساسیت، تسکین و اثرات سرخوشی است. این دارو اخیراً به عنوان یک داروی ضد التهابی مورد توجه قرار گرفته است و یک داروی بالینی با ارزش محسوب می‌شود^(۸) که علاوه بر اثرات مهم ذکر شده دارای اثر ضد التهابی در کاهش ادم مغزی^(۹) و سرکوب سرفه است^(۱۰). در برخی مطالعات، مشاهده شده که نوسکاپین بر گیرنده‌های برادی‌کینین دارای اثری آنتاگونیستی است و به نظر می‌رسد که نوع مهار انجام شده غیرقابلی است^(۱۱) و شاید بتوان از این اثر، در درمان بسیاری از مواردی که احتمال می‌رود برادی‌کینین در آنها نقش داشته باشد استفاده نمود^(۹، ۱۰ و ۱۲).

بنابراین با توجه به نقش احتمالی برادی‌کینین در بروز پانکراتیت حاد و همچنین تأثیر نوسکاپین در مهار برادی‌کینین، در مطالعه اخیر به بررسی تأثیر نوسکاپین در درمان پانکراتیت حاد پرداخته شده است.

جدول ۱: اقدامات انجام شده در گروه‌های مختلف و تأثیر آنها بر سطح آمیلاز سرم

گروه‌های مختلف	اقدامات انجام شده و تأثیر آنها بر سطح آمیلاز	تزریق نوسکاپین	تزریق مورفین، داروهای بیهوشی و باز کردن شکم	بستن مجرای صفراوی مشترک (CBD)	سطح آمیلاز سرم
گروه‌های آزمون	+	+	+	+	↑↓
گروه شاهد با دوز صفر نوسکاپین	-	-	+	+	↑
گروه شاهد شم	-	-	+	-	-
گروه شاهد نوسکاپین	-	-	-	-	-
گروه شاهد دست‌نخورده	-	-	-	-	-

آزمایش تعیین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (EPS-G7) و با دستگاه اتوآنالایزر سیبا کورنینگ (Ciba Corning Autoanalyzer)، که توسط شرکت رونتگن از آمریکا وارد شده است) سنجیده می‌شد.^(۱۶)

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون mann-whitney توسط نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج

مقدار آمیلاز در گروه شاهد دست‌نخورده، شاهد نوسکاپین و گروه شم در حدود ۴۰۰۰ IU/L بود، اما مقدار آمیلاز سرم در گروه شاهد دوز صفر نوسکاپین، به مقدار چشم‌گیری و در حدود ۵ برابر سطح آمیلاز سرم خون گروه‌های شاهد دیگر، افزایش یافته بود (۲۰۰۰۰ IU/L، $p < 0.05$) (نمودار ۱).

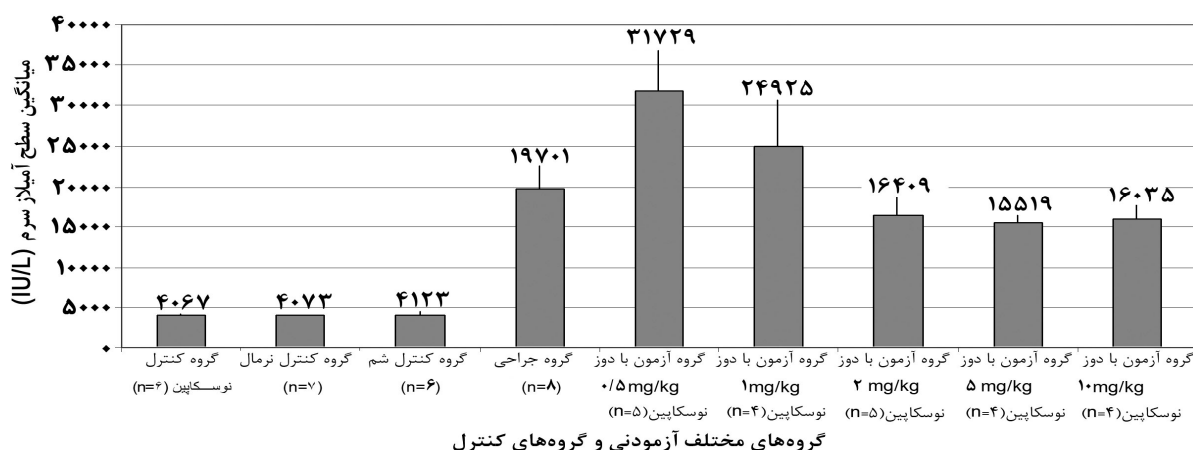
سطح آمیلاز سرم با تزریق دوز ۰/۵ mg/kg نوسکاپین، افزایش چشم‌گیری پیدا کرد (۳۲۰۰۰ IU/L) که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد دوز صفر نشان می‌دهد ($p < 0.05$). با دوزهای بیشتر نوسکاپین (۱، ۲، ۵ و ۱۰ mg/kg) میزان آمیلاز دارای روندی نزولی 16000 ± 500 IU/L بود و در دوز ۵ mg/kg به کمترین مقدار خود رسید. این روند با افزایش دوز به ۱۰ mg/kg ادامه پیدا نکرده است (۱۶۰۰۰ IU/L). با اینکه نوسکاپین در دوزهای ۲، ۵ و ۱۰ mg/kg مقدار آمیلاز را به میزان

و بدون انجام جراحی، آمیلاز اندازه‌گیری می‌شد.

تهیه نوسکاپین: برای تهیه غلظتهای متفاوت نوسکاپین از حلال اسید استیک استفاده شد. بدین صورت که ابتدا نوسکاپین وزن شده در اسید استیک خالص به میزان ۰/۱ سی‌سی برای ۱۰-۵ mg نوسکاپین حل می‌شد و سپس حجم آن با سالیین به ۱ میلی‌لیتر رسانده می‌شد.

روش جراحی: بعد از بیهوش کردن حیوانات به‌وسیله داروی Ketamin (۱۰/۱ cc/kg، ۰/۱) و Xylazine (۲/۰، ۰/۵ cc/kg) برشی افقی به اندازه ۱/۵ سانتی‌متر در ناحیه اپی‌گاستر (کمی متمایل به چپ) ایجاد می‌شد، سپس با کنار زدن عضلات جدار شکم و دسترسی به دوازدهه، دوازدهه را از شکم بیرون آورده با گره زدن یک نخ بخیه ۴-۰ در انتهای مجرا، مجرای صفراوی مشترک (CBD) مسدود می‌گشت. مجدداً دوازدهه پس از تمیز کردن با سالیین، در حفره شکمی قرار داده می‌شد و عضلات و پوست به‌صورت جداگانه بخیه زده می‌شدند. فرایند جراحی در حدود ۱۰-۱۵ دقیقه به طول می‌انجامید.^(۱۴) در انتها از مورفین زیر جلدی با دوز ۲/۵ mg/kg^(۱۵) برای تسکین درد حیوانات پس از جراحی استفاده می‌شد.

اندازه‌گیری آمیلاز: پس از گذشت ۲۰ ساعت از جراحی با بیهوش کردن حیوانات با داروهای ذکر شده، از قلب آنها ۳ میلی‌لیتر خون گرفته می‌شد (حیوانات پس از خون‌گیری کشته می‌شدند) و آمیلاز با استفاده از کیت ارائه شده توسط «شرکت پارس آزمون» برای



نمودار ۱: تأثیر دوزهای مختلف نوسکاپین بر سطح آمیلاز سرم موش‌های صحرایی مبتلا به پانکراتیت حاد در مقایسه با گروه‌های کنترل

آن) باشد اما بررسی آسیب‌شناسی پانکراس و سطح آمیلاز پس از گذشت زمانی طولانی (۲۴ ساعت) انجام گیرد، التهاب پانکراس و سطح آمیلاز سرم حتی در صورت استفاده از آنتاگونیست‌های طولانی‌اثر (HOE 140) نیز کاهش نخواهد یافت^(۱۸). بنابراین به نظر می‌رسد «زمان» عاملی مهم و تأثیرگذار باشد و برای تداوم تأثیر آنتاگونیست‌های برادی‌کینین لازم است که به‌طور مداوم و در تمام طول مدت التهاب دارو با غلظت‌های مؤثر در بافت وجود داشته باشد. شاید به همین دلیل است که داروهای طولانی‌اثر بهتر از داروهای کوتاه‌اثر می‌باشند. از آنجا که داروهای طولانی‌اثر نیز در زمانهای طولانی تأثیر خود را از دست می‌دهند و نیمه عمر نوسکاپین نیز در برخی تحقیقات «انسانی» در حدود ۲/۵-۲ ساعت معرفی شده است^(۱۹ و ۲۰)؛ شاید کم بودن اثر مشاهده شده به‌دلیل تداوم مکانیسم‌های ایجادکننده پانکراتیت حاد (انسداد مجرا) و کم شدن میزان دارو در بافتها باشد.

نکته دیگری که نیاز به بررسی دارد، افزایش التهاب در دوزهای اولیه نوسکاپین است. به این منظور لازم است که به دو نکته توجه کنیم:

۱. پاسخ گردش خون مویرگی به برادی‌کینین دارای دو مرحله است. در غلظت‌های کم، برادی‌کینین باعث افزایش قطر عروق می‌شود و در غلظت‌های زیاد، باعث کاهش قطر آنها می‌گردد^(۲۱).
 ۲. ایسکمی و برگشت مجدد جریان خون از جمله عوامل تشدیدکننده التهاب در بافت است^(۱).
- هنگام استفاده از دوزهای پایین نوسکاپین، در ابتدا به‌دلیل مهار برادی‌کینین حالتی مشابه کم‌بودن غلظت آن پیش می‌آید و در نتیجه قطر مویرگها زیاد می‌شوند؛ ولی در ادامه با کاهش غلظت نوسکاپین، بر فعالیت برادی‌کینین افزوده و از قطر عروق کاسته می‌شود. محصول نهایی این فرآیندها شدت یافتن التهاب بر اساس پدیده ایسکمی و برگشت مجدد جریان خون است.

کمتر از گروه شاهد دوز صفر نوسکاپین رسانده است و این تفاوت از لحاظ آماری معنادار نیست، اما مقادیر مذکور در مقایسه با دوز ۰/۵ mg/kg به شکلی معنادار کاهش یافته‌اند ($p < 0.05$).

بحث

با مقایسه گروه کنترل دوز صفر نوسکاپین با سایر گروه‌های کنترل، افزایش چشم‌گیر و معناداری در سطح آمیلاز سرم مشاهده می‌شود که بیانگر موفقیت‌آمیز بودن جراحی انجام شده در القای پانکراتیت حاد است. با توجه به عدم افزایش آمیلاز در گروه شاهد شم در مقایسه با گروه شاهد دست‌نخورده اطمینان حاصل می‌کنیم که تزریق مورفین و داروهای بیهوشی و باز کردن شکم نمی‌توانند به‌عنوان یک عامل مخدوش‌کننده، در نتیجه این تحقیق تأثیر بگذارند. با توجه به عدم افزایش آمیلاز سرم در گروه شاهد نوسکاپین مشخص می‌گردد که در شرایطی که التهاب وجود ندارد نوسکاپین سطح آمیلاز سرم را تغییر نمی‌دهد.

در نتایج به دست آمده مشاهده شد که نوسکاپین در دوزهای ۰/۵ و ۱ mg/kg باعث افزایش سطح آمیلاز سرم گردید (این افزایش تنها در دوز ۰/۵ mg/kg معنادار بود) که این امر برخلاف انتظار بود، اما سایر دوزها همان‌گونه که انتظار می‌رفت باعث کاهش میزان التهاب شدند که البته برخلاف انتظار، مقدار کاهش در مقایسه با دوز صفر نوسکاپین در حد معناداری نبود.

برای توجیه پدیده‌های مذکور باید توجه شود که در برخی مطالعات، آنتاگونیست‌های «کوتاه‌اثر» برادی‌کینین نظیر NPC 349 در مهار التهاب موجود در پانکراتیت حاد موفق نبوده‌اند^(۱۷)، اما آنتاگونیست‌های «طولانی‌اثر» برادی‌کینین نظیر HOE140 (ICATIBANT) به میزان معناداری التهاب و میزان افزایش آمیلاز سرم را تحت تأثیر قرار داده‌اند^(۱۷). چنانچه تزریق آنتاگونیست‌ها نزدیک به زمان القای پانکراتیت حاد (بلافاصله قبل و ۳ ساعت بعد از

مراجع

1. Hoffmann T, Kubler J, Messmer K. Bradykinin antagonism in ischemia and reperfusion of the pancreas, *Zentralbl Chir* 1996; **121**: 412-22, discussion 422-3.
2. Agostoni A, Cugno M. The kinin system: biological mechanisms and clinical implications. *Recenti Prog Med* 2001; **92**: 764-73.
3. Bentrem DJ, Joehl RJ. Pancreas: healing response in critical illness. *Crit Care Med* 2003; **31**: S582-9.
4. Griesbacher T. Kallikrein-kinin system in acute pancreatitis: potential of B2-bradykinin antagonists and kallikrein inhibitors. *Pharmacology* 2000; **60**: 113-20.
5. Hirata M, Hayashi I, Yoshimura K *et al.* Blockade of bradykinin B(2) receptor suppresses acute pancreatitis induced by obstruction of the pancreaticobiliary duct in

- rats. *Br J Pharmacol* 2002; **135**: 29-36.
6. Yekebas E, Treede H, Jochum M *et al.* Bradykinin B2-receptor antagonism attenuates fatal cardiocirculatory breakdown induced by severe experimental pancreatitis. *Crit Care Med* 2000; **28**: 1119-27.
 7. Karlsson MO, Dahlstorm B, Eckernas SA *et al.* Pharmacokinetics of oral noscapine. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; **39**: 275-9.
 8. Ke Y, Ye K, Grossniklaus HE *et al.* Noscapine inhibit tumor growth with little toxicity to normal tissues or inhibition of immune responses. *Cancer Immunol. Immunother* 2000; **49**: 217-25.
 9. Mahmoudian M, Siadatpour Z, Ziai SA *et al.* Reduction of the prenatal hypoxic-ischemic brain edema with Noscapine. *Acta Physiol Hung* 2003; **90**: 313-8.
 10. Ebrahimi SA, Zareie MR, Rostami P. Interaction of Noscapine with the Bradykinin mediation of the cough response. *Acta Physiol Hung* 2003; **90**: 147-55.
 11. Mahmoudian M, Mojaverian N. Effect of Noscapine, the antitussive opioid alkaloid, on Bradykinin-induced smooth muscle contraction in the isolated ileum of the guinea-pig. *Acta Physiol Hung* 2001; **88**: 231-7.
 12. Mahmoudian M, Mehrpour M, Benaissa F. A preliminary report on the application of Noscapine in the treatment of stroke. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; **59**: 579-81.
 13. Azima B, Kao RL, Youngberg G. A new animal model of reversible acute pancreatitis. *Jour Sur Resea* 1996; **63**: 419-24.
 14. Yamaguchi Y, Matsuno K, Goto M. In situ kinetics of acinar, duct, and inflammatory cells in duct ligation-induced pancreatitis in rats. 1993; **104**: 1498-506.
 15. Stump KC, Swindle MM, Saudek CD *et al.* Pancreatectomized swine as a model of diabetes mellitus. *Lab Anim Sci* 1988; **38**: 439-43.
 16. Hohenwaller W, Stein W, Hafkenseid JC *et al.* Reference ranges for alpha-amylase in serum and urine with 4, 6-ethylidene-(G7) -1-4-nitrophenyl-(G1) -alpha, D-maltoheptoside as substrate. *J Clin chem Clin Biochem* 1989; **27**: 97-101.
 17. Griesbacher T, Lembeck F. Effects of the bradykinin antagonist, HOE 140, in experimental acute pancreatitis. *Br J Pharmacol* 1992; **107**: 356-60.
 18. Kanbe T, Naruse S, Kitagawa M. Effects of a bradykinin receptor antagonist (HOE140) on taurocholate-induced acute pancreatitis in rats. *Pancreas* 1996; **13**: 283-8.
 19. Ye K, Ke Y, Keshava N *et al.* Opium alkaloid noscapine is an antitumor agent that arrests metaphase and induces apoptosis in dividing cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; **95**: 1601-6.
 20. Dahlstrom B, Mellstrand T, Lofdahl CG *et al.* Pharmacokinetic properties of noscapine. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; **22**: 535-9.
 21. Zhou Z, Chen Y. Influencing factors of pancreatic microcirculatory impairment in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2002; **8**: 406-12.

Noscapine and Acute Pancreatitis: Effects of Different Doses of Noscapine on Serum Amylase Level in Experimental Acute Pancreatitis in Rats

ABSTRACT

Mahmoudian M
Razi Institute for
Drug Research, Iran University
of Medical Sciences

Assareh N
Islamic Azad University North
Branch, Tehran

Rostami P
Tehran Teacher Training
University

Sarrami Foroushani P
Razi Institute for
Drug Research, Iran University
of Medical Sciences

Corresponding Author:
*Massoud Mahmoudian MD,
Razi Institute for
Drug Research, Iran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98 21 8058696
Fax: +98 21 8058719
E-mail: masmah99@iums.ac.ir*

Introduction and Aims: Noscapine has been recently known as an antagonist of Bradykinin, and in this study its effect on the animal model of acute pancreatitis has been evaluated.

Materials and Methods: 49 male Wistar rats have been evaluated in five experimental and four control groups. Common bile duct has been ligated by means of surgery to induce acute pancreatitis in rats. The resulted inflammation of the pancreas and the effect of Noscapine on it have been documented by measuring serum amylase levels. Amylase was measured in experimental groups after surgery and injection of Noscapine. Amylase was also measured in control groups while they did not undergo similar procedures.

Results: The only meaningful effect of Noscapine values on the level of serum amylase was an unexpected increase in the 0.5 mg/kg dose; and in other doses (1, 2, 5, 10 mg/kg) the changes in the level of serum amylase were not meaningful.

Conclusions: Noscapine has affected the inflammation of acute pancreatitis via probable mediation of Bradykinin, but the inflammation was not favorably reduced, probably because of short lifetime of Noscapine. *Govaresh* 2004; 9: 101-5

Keywords: Noscapine, Acute pancreatitis, Bradykinin, Amylase