

بررسی اثرات دیکلوفناک بر انتقال عصبی - عضلانی به روش درون تنی و برون تنی

دکتر مسین وطن‌پور^{۱*}، دکتر امیر جلالی^۲، دکتر مسمن هوشدار تهرانی^۳، دکتر سهیلا هوشی^۴، دکتر فرشاد مهدوی^۴

دکتر زهرا موسوی^۴، مهندس فرمناز تنباکو سازان^۴

چکیده

سابقه و هدف: موضوع اثرات و مکانیسم فلج‌کنندگی آمپول دیکلوفناک سدیم که سبب توقف توزیع این فرآورده از سوی وزارت بهداشت شد، هنوز در پرده ابهام قرار دارد. عوامل مختلفی چون اثر مستقیم دارو بر انتقال عصبی-عضلانی به خصوص در موارد تزریق مکرر، فرآیندها و کمک‌حلال‌های استفاده شده در تهیه آن، از جمله مواردی هستند که جهت روشن شدن موضوع مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه اثرات فلج‌کنندگی غلظت‌های مختلف محلول تهیه شده از پودر و آمپول دیکلوفناک ایرانی بر سیستم عصبی-عضلانی به صورت درون تنی (*In vivo*) و برون تنی (*In vitro*) مورد مطالعه قرار داده شد.

مواد و روش‌ها: جوجه‌های ۷-۳ روزه بر اساس روش وارینر و گینبرگ (۸) توسط ماده بیهوش‌کننده اتر کشته می‌شدند و پس از کندن کرکهای ناحیه گردن، با ایجاد برش در طول خط وسط گردن، دو عضله در بطنی گردن (*CBC*) جدا و به دستگاه فیزیوگراف متصل می‌شد. برای بررسی اثرات محلول تهیه شده از پودر دیکلوفناک سدیم روی عضله *CBC*، دو سری آزمایش یکی تحریک غیر مستقیم (وقتی الکتروود روی عصب قرار دارد) و یکی تحریک مستقیم (وقتی الکتروود روی عضله قرار دارد) انجام شد. پیش از انجام آزمایش درون تنی با غلظت‌های ۷۵۰mg/ml ، ۲۵۰ ، ۱۲۵ ، ۷۵ و ۲۵ آمپول دیکلوفناک، موش‌های سوری تحت ۷۲ ساعت آموزش استقامت در مقابل سقوط در برابر دستگاه روتارود قرار داده شدند. از آزمون تی مزدوج برای داده‌های مربوط به دو سری آزمایش و از آزمون *ANOVA* با ملاک $P < ۰/۰۵$ جهت آنالیز آماری در بیش از دو سری آزمایش استفاده شد. در بررسی داده‌های درون تنی، نتایج به دست آمده ناشی از عدم تطابق درست یا گذاردن صحیح حیوان بر روی دستگاه که منجر به افتادن سریع و عدم مقاومت موش سوری نسبت به سقوط می‌شد، در نظر گرفته نشد.

یافته‌ها: مطالعه برون تنی بر روی عضله دو بطنی گردن جوجه، نشان داد که غلظت‌های پایین دیکلوفناک (۲mg/ml و $۰/۰۲$) در تحریک غیر مستقیم عصب تأثیری بر پاسخ‌های انقباضی سریع وابسته به عصب (توئیچ) بافت *CBC* ندارد ولی در غلظت‌های بالاتر (۲۰mg/ml و ۲) باعث افزایش تدریجی ارتفاع انقباضات می‌شود و تا حذف کامل انقباضات و فلج عضله به طور برگشت پذیر ادامه می‌یابد. تأثیر دیکلوفناک بر افزایش ارتفاع و تعداد انقباضات توئیچ و تغییر در انقباضات آهسته عضلانی (کنتراکچر) در تحریک مستقیم (عضله) در مقایسه با تحریک غیر مستقیم کمتر بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده مطالعه برون تنی، به نظر می‌رسد که اثرات مهار دیکلوفناک سدیم بر انتقال عصبی - عضلانی عضله *CBC* در غلظت‌های مورد استفاده به واسطه تأثیر مستقیم دارو اعمال می‌شود و با توجه به تغییرات معنی دار ($P < ۰/۰۵$) پاسخ توئیچ *CBC* به استیل‌کولین، کارباکول و کلرور پتاسیم در حضور غلظت‌های مختلف دیکلوفناک سدیم، احتمالاً از طریق مکانیسم پس‌سیناپسی واسطه‌گری می‌شود. هر چند که اثرات پیش‌سیناپسی آن را نمی‌توان نادیده گرفت. مطالعه درون تنی با استفاده از دستگاه روتارود نشان می‌دهد که تزریق محدوده غلظت‌های $۲۵-۷۵۰\text{mg/ml}$ دیکلوفناک سدیم در عضله تیپالیس موش سوری در حضور مواد افزودنی جانبی به شکل تزریقی (اکسیپانت) و عدم حضور اکسیپانت (غلظت‌های مختلف تهیه شده دارو) باعث کاهش وابسته به غلظت تعادل و مقاومت حیوان در برابر افتادن از

*۱. نویسنده مسؤول: بخش فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. آدرس برای مکاتبه: vatanpour@hotmail.com

۲. بخش فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

۳. بخش شیمی دارویی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴. بخش فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

روی سکو می‌شود. نتایج مطالعات درون تنی نشان می‌دهد که الگوی پاسخ دهی یافت به آمپول و محلول‌های تهیه شده دیکلوفناک سدیم، تفاوت معنی‌داری ندارد و می‌توان گفت که کمک حلال‌ها و سایر اعمال داروسازی استفاده شده در فرآیند تولید دیکلوفناک تزریقی نقش چندانی در اثرات دارو بر انتقال عصبی-عضلانی ندارند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج آزمایش‌های درون تنی و برون تنی احتمال اثر مهارى آمپول دیکلوفناک بر انتقال عصبی-عضلانی با فعالیت مستقیم آن بر بافت عصبی - عضلانی وجود دارد.

واژگان کلیدی: آمپول دیکلوفناک سدیم، عصب، عضله، فلج، عوارض جانبی

مقدمه

و تأثیر شکل تزریقی آن در عضله تیپالیس موش سوری به طور درون تنی با استفاده دستگاه روتارود در حضور کنترل، بررسی و انجام شود.

مواد و روش‌ها

آزمایش برون تنی

جوجه‌های ۷-۳ روزه تهیه شده از کارخانجات جوجه کشی البرز، استیل کولین (Sigma)، کارباکول (GPR)، کلرید پتاسیم (Merck)، د-توبوکورارین (Sigma)، پودر دیکلوفناک تهیه شده از شرکت البرز، اتر (Merck)، مواد مورد استفاده جهت تهیه محلول تی-رود: (سولفات منیزیم، کلرید پتاسیم، کلرید سدیم، کلرید کلسیم، گلوکز، بی‌کربنات سدیم و فسفات دی‌هیدروژن سدیم همگی از Merck).

آزمایش درون تنی

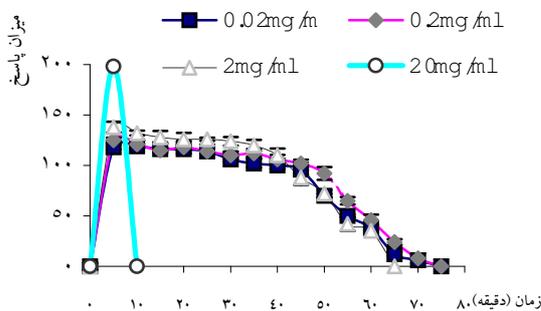
موش سوری نژاد NMRI تهیه شده از انستیتو رازی، آمپول دیکلوفناک تهیه شده از کارخانه البرز، دستگاه روتارود تهیه و سفارش شده در دانشکده داروسازی شهید بهشتی

آزمایش برون تنی

جوجه‌های ۷-۳ روزه بر اساس روش وارینر و گینبرگ (۸) توسط ماده بیهوش کننده اتر کشته می‌شدند و پس از کندن کرکهای ناحیه گردن، با ایجاد برش در طول خط وسط گردن، دو عضله CBC جدا و به دستگاه فیزیوگراف متصل می‌شد. برای بررسی اثرات محلول تهیه شده از پودر دیکلوفناک سدیم روی عضله CBC، دو سری آزمایش یکی تحریک غیر مستقیم (وقتی الکترود روی عصب قرار دارد) و یکی تحریک مستقیم (وقتی الکترود روی عضله قرار دارد) انجام شد. در تحریک الکتریکی غیر مستقیم از تحریکات الکتریکی با فرکانس ۰/۱، ۰/۲ ms پالس با استفاده از استیمولاتور Washington Bioscience استفاده شد. در تحریک الکتریکی

دیکلوفناک سدیم یک ترکیب ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAID) است که در ۱۹۷۳ به بازار دارویی معرفی شد و به صورت فرآورده‌های خوراکی، رکتالی، موضعی و تزریقی در بازار دنیا عرضه می‌شود (۱). این دارو عمدتاً در درمان استنواآرتیت، آرتريت روماتوئید و دردهای عضلانی شدید استفاده می‌شود. در بیماران با و بدون سابقه ناراحتی گوارشی، نارسایی کلیوی و بیماران قلبی تحت درمان با داروهای مدر باید با احتیاط مصرف شود. مهمترین عوارض مصرف این دارو، ناراحتی های گوارشی و در پاره ای از موارد عوارض پوستی و ندرتاً عوارض ادراری و خونی گزارش شده است (۲). لیکن گزارش مربوط به آسیب جدی به عصب - عضله و فلج پایدار با این دارو بسیار نادر و به صورت گزارش موردی بوده است. دیکلوفناک سدیم از پرمصرف ترین داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی کشور است و از شکل تزریقی آن به فراوانی در درمان درد و کنترل تب استفاده می‌شده است. با افزایش مصرف شکل تزریقی آن در ایران پیش از سال ۱۳۷۸، به تدریج گزارش‌های موردی از فلج ناحیه پا به صورت افتادگی مچ پا، نکروز بافتی، ضایعات زخم مانند، عفونت فاشیا و فلج عصب سیاتیک گزارش شده است (۳-۶). سایر عوارض گزارش شده آمپول دیکلوفناک در ایران شامل نکروز، درد، تورم و کبودی در محل تزریق به ویژه در کودکان بوده است. بر اساس گزارش دفتر تحقیق و توسعه معاونت غذایی و دارویی وزارت بهداشت در ۱۳۷۸ بروز تعداد زیاد از این عوارض گاهی منجر به فلج پایدار طی یک محدوده زمانی کوتاه (۶ تا ۸ ماه) قابل تأمل و نگران کننده بوده است (۷). با توجه به نگرانی مسئولان وقت وزارت بهداشت، دستور جمع‌آوری و عدم استفاده از آمپول دیکلوفناک در داروخانه‌ها و مراکز بهداشتی که در همان سال صادر شد، باعث بحث و اظهار نظرات متفاوت شد که بعضاً تاکنون نیز ادامه دارد. بر همین اساس در این تحقیق تلاش شد که اثرات دیکلوفناک بر انتقال عصبی - عضلانی به طور برون تنی با استفاده از روش انقباض تویچ بر روی عضله دو بطنی گردن جوجه (CBC)

در این مطالعه نشان داده شده است که غلظت‌های 0.2 mg/ml و 0.2 دیکلوفناک سدیم، تغییر معنی‌داری در ارتفاع انقباضات توئیچ وابسته به عصب ایجاد نکرده ولی با افزودن غلظت‌های بالاتر 2 mg/ml و 2 ، تغییر معنی‌دار در پاسخ انقباضی بافت CBC دیده می‌شود که در تمامی غلظت‌ها ابتدا ارتفاع انقباضات توئیچ افزایش می‌یابد و به تدریج به سمت کاهش ارتفاعات و تا حذف کامل انقباضات سریع و فلج عضله پیش می‌رود. با افزایش غلظت دارو، زمان رسیدن به مهار کامل انقباضات و فلج عضله کوتاه‌تر شد (شکل ۱). اثرات دیکلوفناک سدیم در غلظت‌های مختلف بر بافت CBC، برگشت‌پذیر بوده و پس از یک یا دو بار شستشوی بافت طرف مدت بیست دقیقه، کلیه اثرات دارو از بین می‌رفت.



شکل ۱- اثر غلظت‌های 0.02 mg/ml ، 0.2 mg/ml ، 2 mg/ml و 20 mg/ml دیکلوفناک سدیم در تحریک الکتریکی غیر مستقیم بر روی CBC. نتایج به دست آمده نشان دهنده تغییر معنی‌دار ($P < 0.05$) پاسخ انقباضی توئیچ وابسته به عصب بافت CBC در غلظت‌های 2 mg/ml و 20 mg/ml دیکلوفناک در مقایسه با کنترل بوده است. با افزایش غلظت دیکلوفناک زمان مهار کامل انقباضات و فلج عضله کوتاه‌تر می‌شود. در بین سه غلظت 2 mg/ml ، 20 mg/ml و 20 mg/ml دیکلوفناک تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) دیده نمی‌شود. محور X نشان دهنده درصد تغییرات ارتفاع توئیچ بر اساس کنترل (۱۰۰٪) است. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده است ($n = 4$).

ب) مقایسه اثر غلظت 0.2 mg/ml دیکلوفناک سدیم بر روی پاسخ‌های انقباض CBC در تحریک الکتریکی مستقیم و غیر مستقیم در این آزمایش، ابتدا با استفاده از د-توبوکورارین انتقال عصبی - عضلانی متوقف و سپس با جابجایی الکترود از ناحیه عصب بر روی فیبرهای عضلانی، پاسخ انقباضی توئیچ وابسته به عصب بافت CBC به غلظت‌های مختلف دیکلوفناک سدیم مورد آزمایش قرار گرفت.

مستقیم ابتدا انتقال عصبی - عضلانی توسط $20-10 \mu\text{m}$ توبوکورارین مهار و عضله مستقیماً با خصوصیات مشابه تحریک غیر مستقیم تحریک شد. در هر دو سری آزمایش پس از گرفتن بیست دقیقه ثبت فعالیت حرکتی عضله توسط مبدل F-60 و فیزیو گراف Narco Biosystem MK-111-S، اثرات غلظت‌های 0.2 ، 0.2 ، 0.2 ، 0.2 ، 2 ، 20 دیکلوفناک بر روی عضله آزمایش شد. جهت بررسی اثرات پیش یا پس سیناپسی دیکلوفناک در غیاب تحریک الکتریکی و پس از بیست دقیقه ثبت فعالیت حرکتی، پاسخ توئیچ وابسته به عصب عضله CBC به داروهای استیل کولین 1 mM به مدت 30 ثانیه، کارباکول $5 \mu\text{m}$ به مدت 60 ثانیه و کلرور پتاسیم 50 mM به مدت 30 ثانیه قبل و بعد از افزودن غلظت‌های 0.2 ، 0.2 ، 2 ، 20 دیکلوفناک مشاهده و مقایسه شد.

آزمایش درون تنی

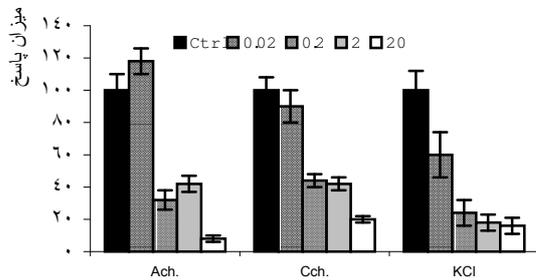
پیش از انجام آزمایش درون تنی با غلظت‌های 0.75 ، 250 ، 75 ، 125 و 25 آمپول دیکلوفناک، موش‌های سوری تحت 72 ساعت آموزش استقامت در مقابل سقوط در برابر دستگاه روتارود قرار داده شدند. جهت ارزیابی روش به صورت بین روزی و درون روزی و تعیین تکرار پذیری آن، پیش از تزریق هر غلظت در 3 روز متوالی و هر روز سه بار در فواصل نیم ساعت تزریق حجم مشخص نرمال سالین در عضله پای موش سوری (تیبالیس) انجام می‌شد (۹). برای هر یک از غلظت‌ها گروه 15 تایی از حیوانات در نظر گرفته و آموزش داده شدند. پس از انجام آموزش‌های لازم، توان تحمل 120 ثانیه با دور گردش $8/5$ دور در دقیقه دستگاه روتارود به عنوان ملاک Cut off هماهنگی عضله بدون بروز خستگی و تحمل حیوان در نظر گرفته شد (۹ و ۱۰).

از آزمون تی مزدوج برای داده‌های مربوط به دو سری آزمایش و از آزمون ANOVA با ملاک $P < 0.05$ جهت آنالیز آماری در بیش از دو سری آزمایش استفاده شد. در بررسی داده‌های درون تنی، نتایج به دست آمده ناشی از عدم تطابق درست یا گذاردن صحیح حیوان بر روی دستگاه که منجر به افتادن سریع و عدم مقاومت موش سوری نسبت به سقوط می‌شد، در نظر گرفته نشد.

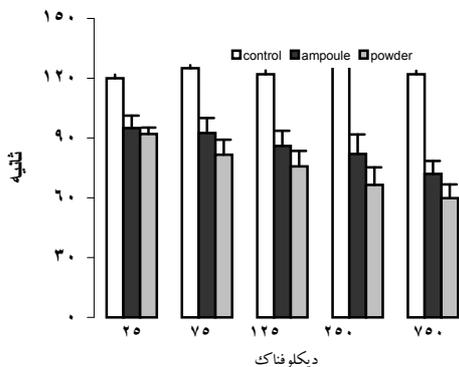
یافته‌ها

الف) اثر دیکلوفناک بر روی پاسخ‌های انقباضی CBC در تحریک الکتریکی غیر مستقیم به روش برون تنی

د) بررسی اثرات دیکلوفناک سدیم (بدون اکسیپانت) و تزریقی (با اکسیپانت) بر پاسخ‌های انقباضی عضله تیپالیس موش سوری در روش درون تنی.

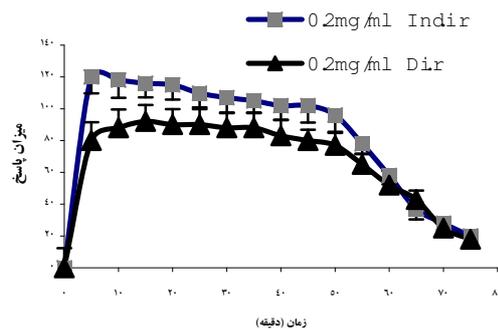


شکل ۳- اثرات قبل (کنترل ۱۰۰٪) و بعد از افزودن غلظت‌های ۲۰ و ۲۰۰ و ۲۰۰۰ mg/ml دیکلوفناک سدیم بر پاسخ‌های توئییج وابسته به عصب بافت CBC به استیل کولین (Ach.) ۱mM به مدت ۳۰ ثانیه، کارباکول (Cch.) ۵μM به مدت ۶۰ ثانیه و کلرید پتاسیم (KCl) ۵mM به مدت ۳۰ ثانیه. همانطوری که در شکل مشخص است، به جز پاسخ بافت به استیل کولین و کارباکول در غلظت ۲۰ mg/ml کاهش معنی دار ($P < 0.05$) در ارتفاع انقباضات توئییج سایر غلظت‌های مورد آزمایش دیکلوفناک دیده می‌شود. Ctrl کنترل. هر ستون و خط عمودی بیانگر $Mean \pm SEM$ است ($n=14$).



شکل ۴- مقایسه اثر مهارى دیکلوفناک بر میزان تحمل موش سوری در دستگاه روتارود (بر مسب ثانیه) در مضمور اکسیپانت (آمپول) و عدم مضمور اکسیپانت (مملولهای تهیه شده از پودر) بر عضله تیپالیس موش سوری در غلظت‌های ۲۵-۷۵۰ mg/ml دیکلوفناک در مقایسه با کنترل (نرمال سالین) به صورت درون تنی. نتایج نشان‌دهنده اثرات مهارى معنی دار ($P < 0.05$) مشخص وابسته به غلظت دیکلوفناک بر میزان تحمل موش سوری است. ملاک Cut off، توان تحمل ۱۲۰ ثانیه با دور گردش ۸/۵ دور در دقیقه انتفاب شده است. هر ستون و خط عمودی بیانگر $Mean \pm SEM$ است ($n=14$).

تأثیر دیکلوفناک سدیم با غلظت ۰/۲ mg/ml آزمایش شده بر افزایش پاسخ انقباضی توئییج در تحریک مستقیم به مراتب کمتر از تحریک الکتریکی غیرمستقیم است. با وجود این، تفاوت افزایش انقباضات توئییج در تحریک الکتریکی مستقیم و غیر مستقیم معنی دار نیست (شکل ۲). الگوی مشابه تغییرات در انقباضات آهسته فیبرهای عضلانی (کونترکچر) نیز دیده شد که همانند پاسخ انقباضات سریع عضلانی توئییج معنی دار نبود.



شکل ۵- مقایسه اثر غلظت ۲ mg/ml دیکلوفناک سدیم در تمریک الکتریکی مستقیم (الکتروود بر روی عضله) و غیر مستقیم (الکتروود بر روی عصب) بر روی پاسخ انقباضی توئییج بافت CBC. علیرغم عدم افزایش اولیه ارتفاعات انقباضات توئییج در تمریک الکتریکی مستقیم، تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در انقباضات توئییج تمریک الکتریکی مستقیم و غیر مستقیم با استفاده از آزمون تی مزدوج دیده نشد. دو منحنی در انتها بر همدیگر منطبق می‌شوند. Dir، تمریک الکتریکی مستقیم، Indir، تمریک الکتریکی غیر مستقیم داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده است ($n=14$).

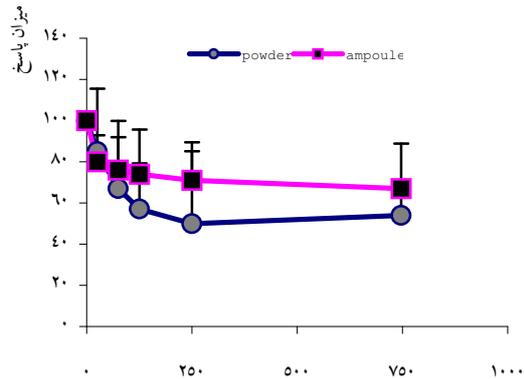
ج) اثر دیکلوفناک سدیم بر پاسخ‌های انقباضی CBC به استیل کولین، کارباکول و کلرید پتاسیم در غیاب تحریک الکتریکی در مقایسه اثر استیل کولین، کارباکول و کلرید پتاسیم بر پاسخ انقباضات عضلانی توئییج CBC، قبل (نرمال سالین به عنوان کنترل ۱۰۰٪) و بعد از افزودن دیکلوفناک سدیم در غلظت‌های ۰/۲ mg/ml -۲۰، مشاهده می‌شود که میزان تغییرات ارتفاع پاسخ انقباضی بافت CBC به استیل کولین، کارباکول و کلرید پتاسیم بعد از افزودن دیکلوفناک، کاهش تدریجی معنی دار ($P < 0.05$) همراه با افزایش غلظت نشان می‌دهد (شکل ۳).

علیرغم تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) پاسخ تویج بافت CBC به غلظت‌های بالای دیکلوفناک در برابر کنترل، تفاوت معنی‌داری در پاسخ انقباضی به غلظت‌های یکسان تهیه شده از آمپول و پودر دیکلوفناک سدیم دیده نشد و الگوی پاسخ بافت به آمپول و پودر دارای یک شیب تقریباً یکسان بود که با افزایش غلظت، پاسخ مهاری افزایش و به تدریج به حالت کفه می‌رسید (شکل ۵ و جدول ۱)

بحث

گزارش‌های منتشر شده از مصرف اشکال تزریقی دیکلوفناک پیش از ۱۳۷۸ وزارت بهداشت نشان داد که تزریق عضلانی متعدد این دارو در ایران باعث اثرات و عوارض مختلف آسیب پذیر شده که در برخی موارد توأم با درد منجر به ناتوانی پایدار شدید بافت عصب - عضله و فلج برگشت ناپذیر بوده است. علاوه بر این گزارش‌ها، می‌توان به گزارش سال ۱۳۷۷ کرمانشاه اشاره کرد که تزریق آمپول دیکلوفناک منجر به ۸ مورد فلج شده بود که این فلج به همراه درگیری عصب پروتئال مشترک در ناحیه تزریقی گلوئتال بوده است. بیماران درگیر بغیر از افتادگی مچ پا هیچ یافته عصبی دیگری نداشتند و بیشترین تعداد بیماران در محدود سنی ۶-۴ سال قرار داشتند (۱۱). در یک بررسی مشابه در آلمان مشخص شد که به دلیل سهل انگاری پزشکان پس از تزریق عضلانی دیکلوفناک، ۹۰ نفر دچار عوارض آسیب پذیر ناشی از تزریق به صورت نکروز و فلج عصب سیاتیک شده‌اند. نکروز بافتی می‌تواند عارضه ناشی از تزریق عضلانی داروها باشد (۱۲ و ۱۳). ولی بسیاری از آسیب شناسان از بروز این عارضه اطمینان ندارند. اگر چه گزارش‌های سلول ساختی نیز وجود ضایعه پوستی در لایه زیر چربی پوست همراه با نکروز عضلانی پس از تزریقات مکرر دیکلوفناک را تأیید کرده است (۱۴ و ۱۵).

بر اساس گزارش‌های وزارت بهداشت، موارد متعدد آسیب عصب سیاتیک متعاقب تزریق عضلانی آمپول دیکلوفناک سدیم به مرکز ثبت و بررسی عوارض ناخواسته داروها اعلام شده است. این گزارش‌ها مشتمل بر ۱۱ مورد اختلال حرکتی پا ناشی از تزریق عضلانی آمپول که در چهار مورد نشان دهنده آسیب عصب سیاتیک به صورت افتادگی مچ پا بوده است (۶). با توجه به گزارش‌های مشابه دریافتی متعاقب مصرف نوع خارجی آمپول دیکلوفناک سدیم (ولتارن) مشخص شد که تزریقات مکرر آمپول دیکلوفناک سدیم اعم از تولید داخل یا خارج می‌تواند در جمعیت ایرانی عوارض مشابه بر روی انتقال عصبی - عضلانی ایجاد کند.



شکل ۵- مقایسه منحنی‌های دوز-پاسخ عضله تیپالیس موش سوری به غلظت‌های ۲۵-۷۵۰ mg/ml دیکلوفناک با مضمون (آمپول) و عدم مضمون اکسیپانت (مملولهای تهیه شده) در برابر کنترل (۱۰۰٪) به صورت درون تنی. داده‌ها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده است (n=۴).

با تزریق محلول دیکلوفناک سدیم (بدون اکسیپانت) و غلظت‌های تهیه شده دیکلوفناک تزریقی ۲۵، ۷۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۷۵۰ mg/ml میزان کاهش تعادل (هماهنگی عصب و عضله) یا کاهش مقاومت حیوان در دستگاه روتارود بیشتر می‌شد، یعنی با افزایش غلظت دیکلوفناک میزان مقاومت حیوان در برابر ایستادن در دستگاه روتارود کاهش معنی‌داری بیشتر پیدا می‌کرد (شکل ۴). با توجه به حجم کوچک بافت عضله تیپالیس موش سوری، حجم تزریقی غلظت‌های متفاوت دیکلوفناک سدیم به میزان یکسان ۰/۵ میلی لیتر تعیین و تزریق شد

جدول ۱- مقایسه درصد اثرات مهاری بر انتقال عصبی-عضلانی (فلج) مشاهده شده در غلظت‌های ۲۵-۷۵۰ mg/ml دیکلوفناک سدیم با مضمون (آمپول) عدم مضمون اکسیپانت (مملولهای تهیه شده) (n=۴).

غلظت*	۲۵	۷۵	۱۲۵	۲۵۰	۷۵۰
درصد فلج مشاهده شده (%)	۱۵	۳۳	۴۳	۴۸	۴۵
فلج ناشی از دیکلوفناک سدیم بدون اکسیپانت	۲۰	۲۴	۲۶	۲۹	۳۳
فلج ناشی از دیکلوفناک سدیم با اکسیپانت					

Mg/ml*

(و) مقایسه اثرات غلظت‌های مختلف دیکلوفناک سدیم در حضور و عدم حضور اکسیپانت بر پاسخ عضله تیپالیس موش سوری در روش

می‌توان گفت که شاید آسیب بافتی عضله (سمیت عضلانی و اثر پس سیناپسی) در غلظت‌های بالای دیکلوفناک (در غلظت پایین $0.2/0.4$ mg/ml دیکلوفناک، کاهش معنی‌دار پاسخ به استیل کولین و کارباکول دیده نشد)، شاهد دیگر تأیید کننده تأثیر مستقیم دارو بر روی غشای عضله در غلظت‌های بالای دیکلوفناک باشد. البته با توجه به مهار انقباض عضله پس از یک افزایش گذرا ارتفاع توئیچ، به نظر می‌رسد که دارو می‌تواند با اثرات پیش سیناپسی آزادسازی استیل کولین از پایانه عصب را واسطه‌گری کند.

داده‌های به دست آمده در بررسی درون تنی در تأیید نتایج برون تنی نشان می‌دهد که افزایش غلظت دیکلوفناک سدیم سبب کاهش معنی‌دار مقاومت و تعادل حیوان در برابر دستگاه روتارود می‌شود. همان گونه که در قسمت نتایج آمده است، الگوی پاسخ دهی بافت به آمپول و پودر دارو دارای شبیه تقریباً یکسان است که تفاوت معنی‌داری بین آنها دیده نمی‌شود. با توجه به مهار کامل انقباضات و فلج برگشت پذیر CBC مشاهده شده پس از تزریق دیکلوفناک با اکسیپانت (آمپول) و بدون آن (محلول‌های دیکلوفناک) در بیشتر غلظت‌های استفاده شده، به نظر می‌رسد که کمک حلال‌ها (مانند بنزیل الکل) و سایر فرآیندهای داروسازی استفاده شده در تهیه دیکلوفناک تزریقی، نقش چندانی در ایجاد فلج نداشته باشند. همچنین با توجه به نتایج آزمایش‌های تسریع شده حرارتی در دمای ۸۰ و ۹۰ جهت بررسی تاریخ انقضا و بررسی پایداری آمپول دیکلوفناک، که نشان دهنده پایداری لازم محلول‌های تزریقی دیکلوفناک سدیم تهیه شده در دماهای بالا به مدت ۷ و ۱۴ روز است (۱۶)، می‌توان پیشنهاد کرد که اثرات مهار کنندگی دارو بر انتقال عصب - عضله با فعالیت مستقیم دارو بر بافت عصبی - عضلانی ارتباط داشته باشد. اگر چه نباید تعدد تزریقات مکرر دیکلوفناک به عنوان عامل مؤثر را از نظر دور نگاه داشت زیرا مطالعات بافت شناسی حیوانی نشان داده است که تکرار تزریقات دارو در یک محل خاص قادر به ایجاد اثرات تخریبی بر شبکه سیاهرگی و بافت عصبی - عضلانی موضعی است (۱۷)، همچنین با افزایش تعداد تزریق و غلظت دارو در عضله، افزایش فعالیت کراتین کیناز و صدمه به عضله نیز دیده شده است (۱۸).

البته به نظر می‌رسد که برای بیان دقیق‌تر مکانیسم فلج دیکلوفناک، انجام مطالعات تکمیلی دیگر مانند بررسی اثرات دارو بر عضله دیسفاگرام موش صحرائی (MHD)، انجام آزمایش‌های الکتروفیزیولوژیک به منظور بررسی اثرات دارو بر مجاری یونی، مقایسه اثر فلج کنندگی آن با سایر داروهای NSAID مانند

با توجه به شواهد نشان دهنده اثرات موضعی دیکلوفناک سدیم بر نکرور بافتی و عصب (مانند عصب سیاتیک) و از آنجا که عضله دو بطنی گردن جوجه (CBC) عصب خود را از چند ناحیه و مانند اکثر عضلات پستانداران در یک منطقه متمرکز دریافت می‌کند و دارای انقباضات از نوع آهسته (کونترکچر) و سریع توئیچ (وابسته به عصب) حساس به اثر استیل کولین خارجی است، پس الگوی مناسبی برای پاسخ‌دهی در شرایط برون تنی در انتقال کولینرژیک، عصبی-عضلانی و تفکیک اثرات پس سیناپسی و پیش سیناپسی اثرات دیکلوفناک سدیم تشخیص داده شد.

پاسخ عضله CBC در تحریک الکتریکی غیر مستقیم نشانگر افزایش ارتفاع انقباضات توئیچ در مقایسه با کنترل است که تدریجاً با آغاز انقباضات آهسته از ارتفاع توئیچ کاسته می‌شود و تا حذف کامل انقباضات سریع و فلج عضله پیش می‌رود. این نحوه اثر را می‌توان به اثرات پیش سیناپسی دیکلوفناک در آزادسازی استیل کولین از پایانه عصبی سوماتیک در صفحه محرکه انتهایی، انتشار آن به نقاط مجاور و شروع انقباضات آهسته نسبت داد.

در بررسی تفکیکی اثر دارو مشخص شد که الگوی اثر دارو در تحریک الکتریکی مستقیم همانند تحریک غیر مستقیم است، اگر چه میزان افزایش اولیه ارتفاع توئیچ کمتر است.

در بررسی تفکیکی اثرات پیش یا پس سیناپسی دارو، از استیل کولین و کارباکول (مهارکننده آنزیم کولین استراز) خارجی استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که ارتفاع انقباضات توئیچ بافت CBC در پاسخ به استیل کولین و کارباکول پس از افزودن دیکلوفناک سدیم کاهش می‌یابد. پس اگر دیکلوفناک نقش مهار کنندگی بر آنزیم کولین استراز ایفا می‌کرد، می‌بایست ارتفاع انقباضات ناشی از استیل کولین خارجی افزایش می‌یافت و در ارتفاع انقباضات کارباکول تغییری حاصل نمی‌شد. کلرور پتاسیم با تغییر پتانسیل استراحت غشای فیبرهای عضلانی سالم می‌تواند باعث انقباضات توئیچ و آهسته شود. علیرغم انتظار کاهش پتانسیل استراحت غشای و دیپلاریزاسیون صفحه محرکه انتهایی به علت افزایش یون پتاسیم، شاهد کاهش معنی‌دار پاسخ بافت به کلرید پتاسیم هستیم که شاید به علت آسیب بافتی در اثر مستقیم دارو بر روی عضله باشد و همان گونه که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت بافتی دارو، کاهش بیشتری دیده می‌شود. با توجه به کاهش معنی‌دار پاسخ وابسته به غلظت بافت CBC به کارباکول و استیل کولین همانند کلرید پتاسیم می‌توان پیشنهاد کرد که این اثر دیکلوفناک سدیم در نتیجه تأثیر مستقیم دارو بر روی غشای عضله حاصل شود. از طرف دیگر،

درمانی شهید بهشتی است که در آزمایشگاه سم شناسی دانشکده داروسازی به مرحله اجرا در آمده است. بدین وسیله از همکاری‌های ارزشمند آقای دکتر بیژن شفق‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشکده داروسازی، آقای داداشی، خانم‌ها طاهری و شمس صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

پیروکسیکام و بررسی سمیت بافتی آن از طریق مطالعات بافت شناسی ضرورت داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این کار تحقیقاتی نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی -

REFERENCES

- Insel PA. Analgesic, antipyretics and anti-inflammatory agents employed in the treatment of rheumatoid arthritis and gout. In: Nies AS, Taylor P. Goodman and Gillman. The pharmacological basis of therapeutics. Vol 1. New York: Pergamon Press. 1991; PP: 638-81.
- Boyd JR, Kastrup EK, Olin BR, Hunsaker LM. Drug information. In: Fact and comparison. St. Louis. Lippincott Company. 1992; PP: 248-52.
- Pillans PI, Oconnor N. Tissue necrosis and necrotizing facilities after intramuscular administration of diclofenac. Ann Pharmacother. 1995; 29: 264-6.
- Verfaillie G, Knape S, Corn L. A case of fetal necrotizing facilities after intramuscular administration of Diclofenac. Eur J Emerg Med. 2002; 9: 270-3.
- Vukovich RA, Brannick LJ, Sugerman AA, Neiss ES. Sex differences in the intramuscular absorption and bioavailability of cephadrine. Clin Pharmacol Ther. 1975; 18: 215- 20.
- معاونت غذا و دارو. اطلاعیه عوارض ناشی از تزریق دیکلوفناک سدیم تزریقی. ماهنامه دارویی رازی. خرداد ۱۳۸۱. صفحه ۸۶.
- تزریق عضلانی دیکلوفناک و فلج ناشی از آن. دفتر تحقیق و توسعه معاونت غذایی و دارویی. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. پیش شماره تیرماه ۱۳۷۸.
- Ginsborg BL, Warriner J. The isolated Biventer Cervices nerve-muscle preparation. Br J Pharmac Chemother. 1960; 15: 410-11.
- Campana AL. P53 inactivation lead to impaired motor synchronization in mice. Eur J Neurosci. 2003; 17: 2135-46.
- Malcangio M, Ghelardini C, Giotti A, Malmberg-Aiello P, Bartilini A. CGP 35348, a new GABAB antagonist, prevents antinociception muscle-relaxant effect induced by baclofen. Br J Pharmacol. 1991; 103:1303-1308.
- خاموشیان کامبیز. معرفی ۸ مورد بیمار مبتلا به Foot drop متعاقب تزریق عضلانی دیکلوفناک سدیم. پایان نامه دکترای پزشکی. دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه. ۱۳۷۷.
- Bork K. In: Cutaneous side effects of drugs. Philadelphia: WB Saunders. 1988; PP: 364-9.
- Serratrice G. Study of Diclofenac injectable. Tribune Med. 1982; 46: 43-8.
- Stricker BH, Van-Kasteren BJ. Diclofenac-induced isolated myonecrosis and the Nicolau syndrome. Ann Int Med. 1992; 117: 1058.
- Baroni L, Grossi E, Trombetta N. Multicenter study on the use of injectable Diclofenac in pain states: analysis of the clinical data on 1873 patients. Clin Ter. 1983; 106: 447- 56.
- جاوید مرجان. بررسی پارامترهای فیزیوشیمیایی و فارماسیوتیکال اشکال دارویی مختلف دیکلوفناک سدیم ساخت داخل و مقایسه آن با نمونه خارجی. پایان نامه دکترای داروسازی. دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. ۱۳۷۹.
- Gary JE. Local histological changes following long-term intramuscular injections. Arch Patho. 1967; 84: 522-7.
- Fisher TL. This procedure has legal as well as clinical risks. Can Med Assoc J. 1975; 112: 395-6.