IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران
سال ۱۴۰۱، دوره ۶، پیاپی ۱۶، صفحه ۸۴-۷۳

مقاله پژوهشی

نقش اثرات محافظت نورونی و آنتی‌اکسیدانی در کاهش اختلال حرکتی، آلودینیای مکانیکی و دمایی ناشی از ضایعه نخاعی در موش صحرایی به‌دنبال تزریق داخل نخاعی متفورمین

محمد آسترکی[۱]، سجاد فخری[۲*]، فاطمه عباس‌زاده[۳]، سمیرا شیرویی[۲]، محمدحسین فرزایی[۲]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. مرکز تحقیقات نوروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

دریافت: ۵ فروردین ۱۴۰۱ پذیرش: ۱۲ اردیبهشت ۱۴۰۱

چکیده

زمینه و هدف: آسیب نخاعی یک اختلال حسی و حرکتی ناتوان‌کننده است. شایع ترین نوع اختلال حسی بعد از آسیب نخاعی، درد نوروپاتیک است که سبب کاهش کیفیت زندگی می‌شود. تابه‌امروز روش‌های درمانی بکاررفته جهت درمان آسیب‌های نخاعی کاملا موثر نبوده است. بنابراین محققان همواره به دنبال یافتن داروهای جدید و کارآمد علیه ضایعه نخاعی بوده‌اند. پیش‌ازاین اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی متفورمین در سایر اختلالات سیستم عصبی مرکزی و محیطی به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر نقش احتمالی اثرات محافظت نورونی و آنتی‌اکسیدانی تزریق داخل نخاعی متفورمین بر درد نوروپاتی و عملکرد حرکتی بعد از آسیب نخاعی در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌ها: تعداد ۳۵ سر رت در پنج گروه تحت عنوان شم (بدون آسیب نخاعی)، آسیب نخاعی-دریافت‌کننده حامل دارو (آسیب) و سه گروه تحت درمان با متفورمین (متفورمین) با دوزهای یک، دو، و چهار میلی‌مولار قرار گرفتند. تست‌های رفتاری صفحه داغ، استون، وون فری، BBB و تغییرات وزن در روز های ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی انجام شد. تغییرات سرمی کاتالاز، گلوتاتیون، سطح نیتریت سرم و همچنین شمارش نورون‌های حسی و حرکتی نخاع نیز در پایان دوره‌ی ۲۸ روزه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تزریق داخل نخاعی متفورمین موجب کاهش درد حرارتی، سرمایی و مکانیکی، بهبود عملکرد حرکتی و همچنین افزایش متناسب وزن در موش‌های صحرایی مبتلا به آسیب نخاعی می‌شود. متفورمین همچنین سبب افزایش درصد کاتالاز و گلوتاتیون نسبت به گروه آسیب، کاهش سطح نیتریت سرم و افزایش تعداد نورون‌های حسی و حرکتی نسبت به گروه آسیب گردید.

نتیجه‌گیری: اثرات محافظت نورونی و آنتی‌اکسیدانی تزریق داخل نخاعی متفورمین می‌تواند سبب کاهش درد و بهبود حرکت به‌دنبال آسیب نخاعی شود.

واژه‌های کلیدی: آسیب نخاعی، آنتی‌اکسیدان، درد نوروپاتیک، عملکرد حرکتی، متفورمین، محافظت نورونی

مقدمه

آسیب طناب نخاعی یکی از مهمترین چالش‌های پیشرو در نظام درمانی کشورها به‌حساب می آید. تحقیقات نشان داده است که در کشورهای توسعه یافته میزان ابتلا به آسیب نخاعی ۱۰-۴۰ نفر در یک میلیون نفر می‌باشد که یک وضعیت بسیار نگران‌کننده به‌نظر می‌رسد [۱]. از عوارض مربوط به آسیب‌های نخاعی می‌توان به عدم‌توانایی حرکت یا تکان‌دادن عضو، ازدست‌دادن عملکرد جنسی، کاهش توانایی کنترل ادرار و مدفوع، وجود درد طاقت‌فرسا و ناتوان‌کننده و گاها حتی خودکشی اشاره کرد. در آسیب طناب نخاعی اولین فشار مکانیکی بر روی نخاع منجر به آسیب های نورولوژیکی موضعی می شود که به آن آسیب اولیه گویند. آسیب نخاعی ثانویه متعاقب پاسخ بدن به آسیب اولیه ایجاد می گردد. بعد از آسیب نخاعی یک سری وقایع آبشاری درون سلولی اتفاق می‌افتد که ممکن است ماه‌ها تا سال‌ها به‌طول بیانجامد و منجر

* نویسنده مسئول مکاتبات: Pharmacy.sajad@yahoo.com; sajad.fakhri@kums.ac.ir (ORCID: 0000-0001-8265-8284)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

به بدترشدن آسیب و جلوگیری از ترمیم نورونی گردد. درمیان آبشارهای پاتولوژیک سلولی متعاقب آسیب نخاعی، واسطه‌های استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد عوارض ثانویه نشان داده‌اند [۲].

بیشتر افرادی که مبتلا به آسیب نخاعی هستند علاوه‌بر فلج حرکتی، درد شدیدی را تجربه می‌کنند که تحت عنوان درد نوروپاتیک شناخته می‌شود. درد نوروپاتیک با علایم رفتاری مثل درد خودبخودی، هیپرآلژزیا و آلودینیا همراه است که مکانیسم‌های نورونی متفاوتی در ایجاد آن مطرح هستند. به‌دلیل مشخص‌نبودن مکانیسم و عوامل مربوط به این نوع درد و اختلال حرکتی همراه، هنوز درمان مناسب و قطعی برای آن ارائه نشده است. لذا باتوجه به تعدد بیماران مبتلا به آسیب نخاعی و اثرات آن بر جنبه‌های مختلف کیفیت زندگی این افراد، پیداکردن راه درمانی مناسب و پیدایش داروها و درمان‌های جدید جهت کمک به این افراد مورد توجه جوامع پزشکی بوده و توجه به آن لازم و ضروری به‌نظر می‌رسد [۳]. متفورمین از داروهای کاهنده‌ی قند خون می‌باشد که در درمان دیابت به‌کار می‌رود. مطالعات مختلف خواص آنتی‌اکسیدان، ضدالتهابی و محافظت عصبی متفورمین را به‌واسطه تحریک AMPK[1] تایید کرده‌اند [۴]. همچنین مصرف خوراکی و تزریق داخل‌صفاقی این دارو می‌تواند باعث کاهش درد نوروپاتی محیطی القاشده با شیمی درمانی به‌واسطه جلوگیری از تخریب فیبرهای نورونی اپیدرمی شود [۶، ۵]. همچنین در یک مدل درون‌تن، متفورمین به‌واسطه تحریک AMPK توانست به‌عنوان یک کاندید آنتی‌اکسیدانی مناسب دردهای بعد از عمل جراحی معرفی شود [۵]. در مطالعه دیگری همچنین اثرات ضدالتهابی تزریق داخل صفاقی متفورمین به‌واسطه کاهش فاکتور نکروز دهنده توموری-آلفا[2] و اینترلوکین-۱ بتا[3] توانست سبب کاهش درد نوروپاتیک در موش‌های صحرایی گردد [۷] . مطالعات پیشین، همچنین کارایی بیشتر تزریق داخل نخاعی (در مقایسه با سایر روش‌های مصرف) را در بهبود عمبکرد حسی-حرکتی و جلوگیری از مرگ سلول‌های عصبی متعاقب آسیب نخاعی نشان دادند [۹، ۸]. به‌نظر می‌رسد، به‌کارگیری تزریق داخل نخاعی، به‌واسطه افزایش اثرات آنتی‌اکسیدانی و میزان زنده مانی نورون‌های شاخ پشتی (حسی) و شاخ شکمی (حرکتی) نخاع بتواند نقش مهمی در بهبود درد نوروپاتیک و عملکرد حرکتی داشته باشد. با توجه به خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی متفورمین و همچنین نقش مهم واسطه‌های التهابی و رادیکال‌های آزاد در ایجاد درد های نوروپاتیک، در این مطالعه نقش احتمالی اثرات محافظت نورونی و آنتی‌اکسیدانی تزریق داخل نخاعی متفورمین در تعدیل درد و بهبود عملکرد حرکتی ناشی از این دارو متعاقب آسیب نخاعی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

تعداد ۳۵ سر موش صحرایی با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم در ۵ گروه مورد بررسی قرار گرفتند. گروه شم تحت عمل لامینکتومی بدون آسیب (شم)؛ گروه آسیب نخاعی تحت عمل لامینکتومی و آسیب نخاعی و دریافت‌کننده نرمال سالین به‌عنوان حلال دارو؛ گروه‌های متفورمین تحت عمل لامینکتومی و آسیب نخاعی و دریافت‌کننده متفورمین در غلظت‌های یک، دو، و چهار میلی‌مولار. تمامی آزمایشات این تحقیق، مطابق با قواعد اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعه‌ی درد و کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (کد اخلاق: IR.KUMS.REC.1399.386) انجام شد. حیوانات در یک چرخه ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذای موجود و با حرارت کنترل شده ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آزمایشات حداقل یک هفته پس از سازگار شدن موش‌ها با محیط حیوان‌خانه انجام شد. اندازه‌گیری وزن و همچنین تست‌های رفتاری ارزیابی درد نوروپاتی شامل آزمون صفحه داغ، استون و وون‌فری و عملکرد حرکتی در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از آسیب نخاعی انجام شد. تغییرات سرمی کاتالاز، گلوتاتیون، سطح نیتریت سرم و همچنین شمارش نورون‌های حسی و حرکتی نخاع نیز درپایان دوره‌ی ۲۸روزه اندازه‌گیری شد.

آسیب نخاعی

بیهوشی موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی کتامین/زایلازین (۱۰/۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، انجام شد. به‌منظور انجام عمل جراحی موهای ناحیه پشت حیوان در ناحیه مهره‌های سینه‌ای تراشیده شدند، سپس با اسکالپل شکافی به

[1] Adenosine monophosphate activated protein kinase
[2] Tumor necrosis factor alpha
[3] Interleukin 1 beta

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

طول ۲ سانتی‌متر روی پوست حیوان در محل مهره‌های سینه‌ای ۸ و ۹ ایجاد گردید. برای اینکه دسترسی به ستون مهره‌ها راحت‌تر باشد، پوست و عضلات در ناحیه برش داده شده از دو طرف به کمک لیگاتور کشیده شد. بعد از آن با کمک رانجر و با احتیاط فراوان شکستن مهره یا لامینکتومی صورت گرفت [۱۰]. بعد از انجام لامینکتومی، با استفاده از یک کلیپس آنوریسم کالیبره‌شده (با فشار ۹۰ جی) اطراف طناب نخاعی به‌مدت یک دقیقه بسته شد که این امر منجر به فلج کامل پاهای پسین حیوانات می‌شود. حیوانات در حین جراحی و تا هوشیاری کامل، روی یک پد با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گذاشته شدند. پس از جراحی، عمل بخیه‌زدن توسط نخ های جراحی (۰-۳) انجام شد. به‌منظور آبرسانی و ضدعفونی مجاری ادراری، تا چندین روز بعد از جراحی حیوانات سرم فیزیولوژی زیرجلدی (۲ میلی‌لیتر) و سفازولین (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) داخل صفاقی دریافت کردند. در هر قفس دو موش صحرایی در شرایط مناسب و تغذیه آزاد نگهداری شدند. مثانه حیوانات تا زمانی که رفلکس تخلیه مثانه بازگردانده شود دو بار در روز تخلیه شد.

تزریق داخل نخاعی دارو

برای تزریق دارو، از روش تزریق مستقیم داخل نخاعی استفاده شد [۱۱]. در موش‌های بیهوش شده ستیغ ایلیاک به وسیله انگشت اشاره و شست نگه داشته شد. سپس فضای خالی بین مهره ۵ و ۶ کمری توسط لمس‌کردن شناسایی شد. نیم ساعت بعد از جراحی، باتوجه‌به گروه مورد نظر، ۲۰ ماکرولیتر نرمال سالین یا متفورمین با غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار به‌طورتدریجی به مدت ۱۰ ثانیه توسط سرنگ همیلتون ۲۵ میکرولیتر تزریق شد. سرنگ قبل از جدا شدن به منظور جلوگیری از خروج دارو، به مدت ۱۰ ثانیه در این فضا نگه داشته شد.

آزمون صفحه داغ برای سنجش درد حرارتی

به منظور بررسی پاسخ حیوانات به محرک حرارتی از دستگاه صفحه داغ استفاده شد [۱۲]. موش‌ها در یک محفظه استوانه‌ای شکل از جنس پلکسی گلاس و بر روی یک صفحه داغ قرار گرفتند. برای کاهش استرس موش‌های صحرایی در هنگام استفاده از دستگاه صفحه داغ، قبل از روشن‌کردن دستگاه با قرار دادن هر موش ۴-۳ مرتبه با فواصل زمانی ۵ دقیقه روی صفحه دستگاه سعی شد که حیوانات با محیط صفحه آزمون آشنا شوند. درهنگام‌شروع آزمون، موش‌ها بر روی صفحه داغ که در محدوده دمایی ۲ ± ۵۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود قرار گرفتند. فاصله زمانی بین قرار گرفتن موش بر روی دستگاه تا زمان لیسیدن پا یا جیغ زدن حیوان به عنوان مدت زمان به آستانه رسیدن درد به وسیله حرارت درنظر گرفته شد. برای محاسبه دقیق‌تر اعداد، هر موش ۳ مرتبه با فواصل زمانی ۵ دقیقه بر روی دستگاه قرار گرفت. سپس از میانگین به‌دست‌آمده برای آنالیز آماری استفاده شد.

آزمون استون برای سنجش درد سرمایی

جهت بررسی آلودینای سرمایی از تست استون استفاده گردید [۱۳]. جهت این امر، حیوانات در قفس‌های خاص با کف توری که به میزان ۴۰ سانتی‌متر بالاتر از سطح میز قرار داشت قرار داده شدند. ۱۰ دقیقه بعد از قرار دادن حیوانات در قفس مخصوص، ۱۰۰ میکرولیتر استون از فاصله ۲ سانتی‌متری به کف پای حیوان اسپری شد و عکس العمل حیوان شامل: (۰) بدون پاسخ، (۱) احساس ترس بدون کشیدن پا (شوکه‌شدن)، (۲) رفلکس کشیدن مختصر پا، (۳) رفلکس‌کشیدن طولانی پا، (۴) رفلکس‌کشیدن طولانی و مکرر پا و لیس زدن حیوان مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون وون فری برای سنجش درد مکانیکی

جهت انجام آزمون وون‌فری حیوانات بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلس (به ابعاد ۲۰ × ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) قرار گرفته و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید، از تارهای۱۰ تا ۱۰۰ جی وون فری جهت سنجش درد مکانیکی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن (۱۰ جی) شروع‌شده و به‌ترتیب درصورت عدم‌پاسخ حیوان، تار با شماره بالاتر امتحان می‌شد. هر تار، ۳ بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای حیوان فشار داده شده و درصورتی‌که ۲ بار متوالی پاسخ دهد (حیوان پای خود را بلند کند)، آن تار به عنوان آستانه پاسخ درنظر گرفته و بدین‌ترتیب آزمایش متوقف شد. درحالتی‌که

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

حیوان به تار با آخرین شماره (۱۰۰ جی) پاسخ نداد، عدد آن تار به‌عنوان آستانه پاسخ درنظر گرفته شد [۱۵، ۱۴].

آزمون BBB [4] برای سنجش عملکرد حرکتی

جهت انجام آزمون BBB، موش‌های صحرایی در یک استوانه پلاستیکی به قطر ۹۰ سانتی‌متر با دیواره‌های ۱۰ سانتی‌متری قرار داده شدند و توسط یک آزمایشگر به‌مدت ۴ دقیقه عملکرد حرکتی حیوان تحت نظارت قرار گرفت. باتوجه به معیارهای بررسی سنجش مقیاس حرکتی [۱۶] به هر پای حیوان نمره مربوطه داده شد و درنهایت از دو پای حیوان میانگین گرفته شد و نتایج حاصله مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

بررسی تغییرات وزن

وزن حیوانات قبل از جراحی (روز صفر) و در روزهای آزمون اندازه‌گیری شد. تغییرات وزنی در حیوانات برای هر گروه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

اختلاف وزن= [(وزن حیوان در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸)- (وزن حیوان در روز صفر قبل از عمل جراحی)].

سنجش درصد تغییرات کاتالاز و گلوتاتیون سرم

در این تحقیق از روش Aebi جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد [۱۷]. بدین‌صورت‌که ابتدا مقدار ۲۰ میکرولیتر از سرم موش‌ها به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسید نیتروژن ۶۵ میلی‌مولار اضافه و به‌مدت ۴ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد. از آمونیم مولبیدات ۳۲.۴ میلی‌مولار جهت توقف واکنش استفاده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر با الایزاریدر خوانده شد و تفاوت جذب گروه‌های درمان با گروه شم طبق فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰*(استانداردC/(نمونهC – استانداردC))= تفاوت درصد

که استاندارد C، میزان کاتالاز در نمونه گروه شم و نمونه C، میزان کاتالاز در نمونه سایر گروه ها می باشد.

جهت اندازه‌گیری سطح گلوتاتیون از روش Ellman's استفاده شد. در این تحقیق ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH ۷/۴) به هر چاهک اضافه شد. سپس ۳۰-۴۰ میکرولیتر دیتیوبیس نیترو بنزوئیک اسید[5] (DTNB) به آن اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه و درنهایت جذب آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر توسط الایزا ریدر خوانده شد. تفاوت جذب گروه های درمان با گروه شم طبق فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰*(استانداردG/(نمونهG – استانداردG))= تفاوت درصد

که استاندارد G، میزان گلوتاتیون در نمونه گروه شم و نمونه G، میزان گلوتاتیون در نمونه سایر گروه ها می باشد.

سنجش مقدار نیتریک اکساید سرم

از روش رنگ‌سنجی گریس برای اندازه‌گیری نیتریک اکساید استفاده شد. عمل پروتئین‌زدایی از نمونه‌های سرم با اضافه‌کردن سولفات روی (۱۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) انجام گرفت. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. محلول رویی برداشته شد و به ۱۰۰ میکرولیتر از آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول وانادیوم‌کلرید (۸ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر)اضافه شد تا نیترات را به نیتریت احیا کند. بعد محلول گریس شامل ۵۰ میکرولیتر سولفانیل آمید (۲ درصد) و ۵۰ میکرولیتر دی‌آمید دی‌هیدروکلراید (۰/۱٪) اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. سپس رنگ حاصل در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده و جذب نمونه‌ها با جذب استاندارد مقایسه و غلظت نمونه‌ها محاسبه شد.

مطالعات بافت‌شناسی

برای ارزیابی وسعت ناحیه تخریب شده در نخاع، حیوانات را بیهوش و بافت نخاع توسط ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات و ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول پارافرمالدئید ۴٪ به‌صورت ترانس کاردیال فیکس شدند. پس از خارج‌ساختن نخاع، بافت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول پارافرمالدئید ۴٪ در یخچال نگهداری گردیدند. نمونه ها پس از پردازش بافتی با پارافین قالب‌گیری شده و با کمک دستگاه میکروتوم برش‌های عرضی با ضخامت ۱۰ تهیه و روی اسلایدهایی که حاوی یک لایه پوششی از چسب پلی ال لایزین بودند، قرار داده شدند و برای رنگ‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفتند. جهت شناسایی و بررسی تعداد نورون‌ها از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین استفاده شد.

[4] Basso, Beattie, Bresnahan

[5] 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

از هـر نمونـه ۵ مقطـع از ناحیـه مرکـزی آسـیب، انتخـاب و رنگ‌آمیزی شد. سپس از هر مقطع بافتی با بزرگ نمـایی 40× با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon عکس‌برداری گردیـد. با استفاده از نرم‌افزار Image J شمارش نورون‌ها، از ناحیه شاخ شکمی و پشتی مقاطع بافتی صورت گرفت.

آنالیز آماری

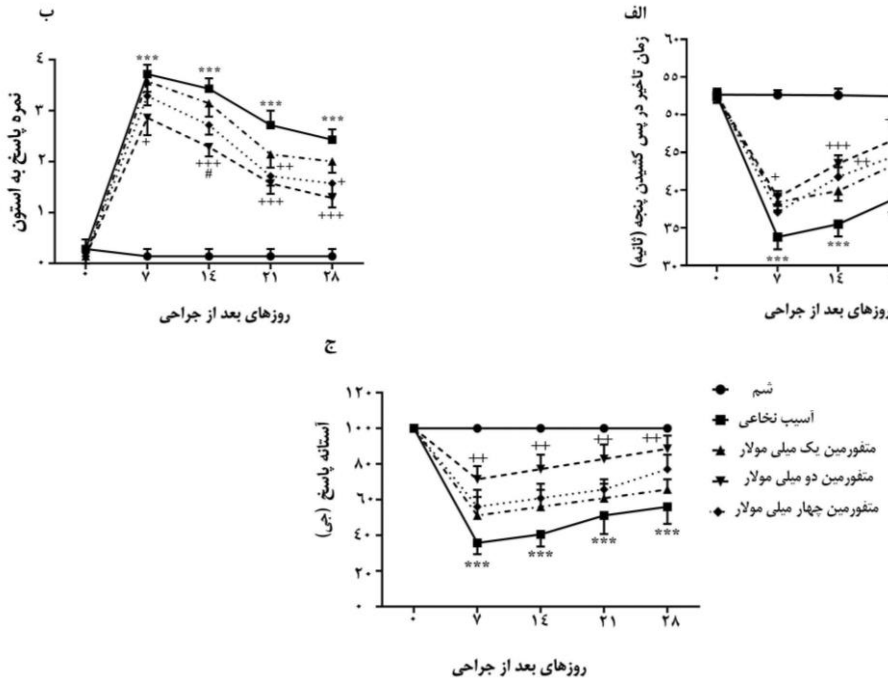
آنالیز آماری با استفاده از نـرم‌افـزار Prism 8 انجـام شـد. نتایج بر حسب میانگین ± انحراف معیار استاندارد گزارش شـده است. آزمون‌های آماری آنالیز واریـانس یـک‌طرفـه و دوطرفـه به‌ترتیب به همراه تست‌های تعقیبی توکی و بـن فرونـی بـرای مقایسه اختلاف میانگین گروه‌های مختلف استفاده شد.

یافته‌ها

اثرات متفورمین بر درد نورپاتیک

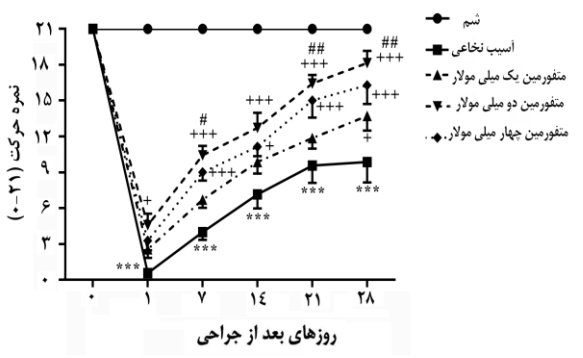
بـه‌منظـور بررسـی درد حرارتـی، درد سـرمایی و درد مکـانیکی به‌ترتیب از آزمون‌های صفحه داغ، استون و وون‌فری استفاده گردید. قسمت الف نمودار ۱، نتایج مربوط به تغییرات در آستانه پاسخگویی به محرک درد حرارتی می‌باشد. نتایج نشان داد کـه حیوانات گروه شم نسبت بـه محـرک حـرارت واکنشـی نشـان ندادند و تقریبا بدون پاسخ بودند، اما حیوانات با آسـیب نخـاعی به‌شدت نسبت به محرک درد حرارتی حساس شدند. بـا تزریـق متفورمین آستانه تحمل حرارتی حیوانات آسیب دیده بیشتر شـد و تزریق داخـل نخـاعی متفـورمین دو میلـی‌مـولار نسـبت بـه دوزهـای یـک و چهـار میلـی‌مـولار کـارایی بهتـری داشـت [$F_{۱۶،۱۵۰}$=۶/۳۰۷، $p < ۰/۰۰۱$ تـــــــــداخل ؛ $F_{۴،۱۵۰}$=۸۱/۴۹، $p < ۰/۰۰۱$ ردیـف (روزهـا) ؛ $F_{۴،۱۵۰}$=۷۲/۷۳، $p < ۰/۰۰۱$ ستون (گروه ها)].

داده‌های مربوط به آزمون اسـتون در قسـمت ب نمـودار ۱ نشان داد که حیوانات گروه شم رفلکسی نسبت به محرک سرما نداشتند و تقریبا بدون پاسخ بودند. اما بعـد از آسـیب، حیوانـات به‌شدت نسبت به این محرک حساس شدند و نسبت بـه گـروه شم اختلاف معناداری را در پاسخ به محـرک سـرمایی–اسـتون نشان دادند ($p < ۰/۰۰۱$). درمان با متفورمین باعث افزایش



نمودار ۱– نتایج بررسی اثر متفورمین بر آستانه درد حرارتی (الف)، سرمایی (ب) و درد مکانیکی (ج) متعاقب آسـیب نخـاعی در مـوش‌هـای صـحرایی. داده‌هـا به‌صورت میانگین ± اانحراف معیار استاندارد (تعداد در هر گروه = ۷) ارائه شده است. ***: تفاوت معنی‌دار با گروه شم با $p < ۰/۰۰۱$ و +: تفاوت معنی‌دار با گـروه آسیب با $p < ۰/۰۵$ و++ : تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۱$ و+++: تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۰۱$، و#: تفاوت معنی‌دار با گـروه متفـورمین دو میلی‌مولار با $p < ۰/۰۵$.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]



نمودار ۲- نتایج بررسی اثر متفورمین بر عملکرد حرکتی در موش‌های صحرایی متعاقب آسیب نخاعی. داده ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (تعداد در هر گروه = ۷) ارائه شده است. ***: تفاوت معنی‌دار با گروه شم با $p < ۰/۰۰۱$ و+++ : تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۰۱$ و#: تفاوت معنی‌دار با گروه متفورمین دو میلی‌مولار با $p < ۰/۰۵$ و## : تفاوت معنی‌دار با گروه متفورمین دو میلی‌مولار با $p < ۰/۰۱$.

مقاومت اختلاف معناداری را در پاسخ به محرک سرمایی- استون نشان دادند ($p < ۰/۰۰۱$). درمان با متفورمین باعث افزایش مقاومت نسبت به محرک سرما شد و در این آزمون هم تزریق دو میلی‌مولار دارو نسبت به یک و چهار میلی مولار کارایی بهتری نشان داد [$F_{۱۶،۱۵۰}=۸/۹۷$، $p < ۰/۰۰۱$ تداخل؛ $F_{۴،۱۵۰}=۱۱۶/۸$، $p < ۰/۰۰۱$ ردیف (روزها) ؛ $p < ۰/۰۰۱$، $F_{۴،۱۵۰}=۱۰۲/۷$ ستون (گروه‌ها)].

قسمت ج نمودار ۱ نشان می دهد که آستانه تحمل درد مکانیکی در تمام روزهای بعد از لامینکتومی در گروه شم یکسان بود. در گروه با آسیب نخاعی آستانه تحمل درد به‌شدت کاهش یافت و درمان با متفورمین (تزریق دو میلی مولار) با افزایش آستانه تحمل درد مکانیکی در موش‌های مبتلا به آسیب نخاعی همراه بود. [$F_{۱۶،۱۵۰}=۲/۲۹۵$، $p = ۰/۰۰۴۹$ تداخل؛ $F_{۴،۱۵۰}=۲۴/۶۸$، $p < ۰/۰۰۱$ ردیف (روزها) ؛ $p < ۰/۰۰۱$، $F_{۴،۱۵۰}=۳۲/۴۴$ ستون (گروه ها)].

بررسی عملکرد حرکتی

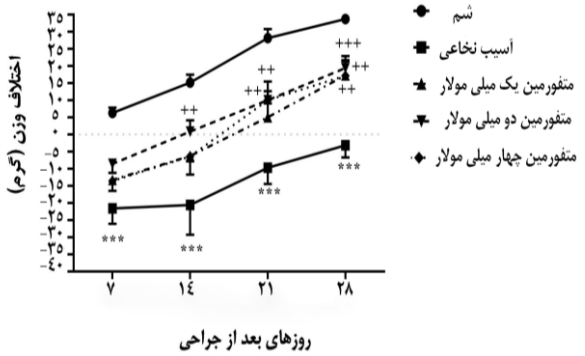
عملکرد حرکتی موش‌های صحرایی پس از آسیب با مقیاس حرکتی BBB مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج مقیاس حرکتی BBB (نمودار ۲) موش‌ها در گروه شم در تمام روزها اختلال حرکتی را از خود نشان ندادند و نمره کامل ۲۱ را گرفتند. در گروه آسیب موش‌ها در روز اول، کاملا فلج و با نمره ۰ و یک بودند و تا روز آخر اختلاف معناداری با گروه شم داشتند. درمان با متفورمین به‌طور قابل‌توجهی باعث بهبود حرکتی موش‌ها از روز ۷ به بعد شد. در بین ۳ غلظت داروی متفورمین تزریق دو میلی‌مولار نسبت به یک و چهار میلی‌مولار کارایی بهتری داشت [$F_{۲۰،۱۸۰}=۱۲/۳۹$، $p < ۰/۰۰۱$ تداخل؛ $F_{۵،۱۸۰}=۱۷۰/۷$، $p < ۰/۰۰۱$ ردیف (روزها) ؛ $p < ۰/۰۰۱$، $F_{۴،۱۸۰}=۱۷۷$ ستون (گروه ها)].

اثرات متفورمین بر تغییرات وزن

تغییرات وزن موش‌های صحرایی نسبت به روز قبل از عمل جراحی مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۳). در طول ۴ هفته آزمایش، موش‌های گروه شم از الگوی افزایش وزن مناسبی برخوردار بودند. آسیب نخاعی باعث کاهش وزن در گروه آسیب نخاعی شد که در مقایسه با گروه شم ازنظرآماری معنادار بود ($p < ۰/۰۰۱$). همانطورکه در شکل هم قابل مشاهده است درمان با متفورمین، به صورت معناداری مانع از کاهش وزن به‌دنبال آسیب نخاعی شد ($p < ۰/۰۰۱$)، [$p = ۰/۹۵$، $F_{۱۲،۱۲۰}=۰/۴۳$ تداخل؛ $p < ۰/۰۰۱$، $F_{۳،۱۲۰}=۴۶/۷۸$ ردیف (روزها) ؛ $p < ۰/۰۰۱$، $F_{۴،۱۲۰}=۳۹/۰۱$ ستون (گروه ها)].

اثرات متفورمین بر درصد تغییرات کاتالاز، گلوتاتیون و سطح سرمی نیتریت

در نمودار ۴ نتایج مربوط به تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز (قسمت الف) و گلوتاتیون (قسمت ب) آورده شده است.



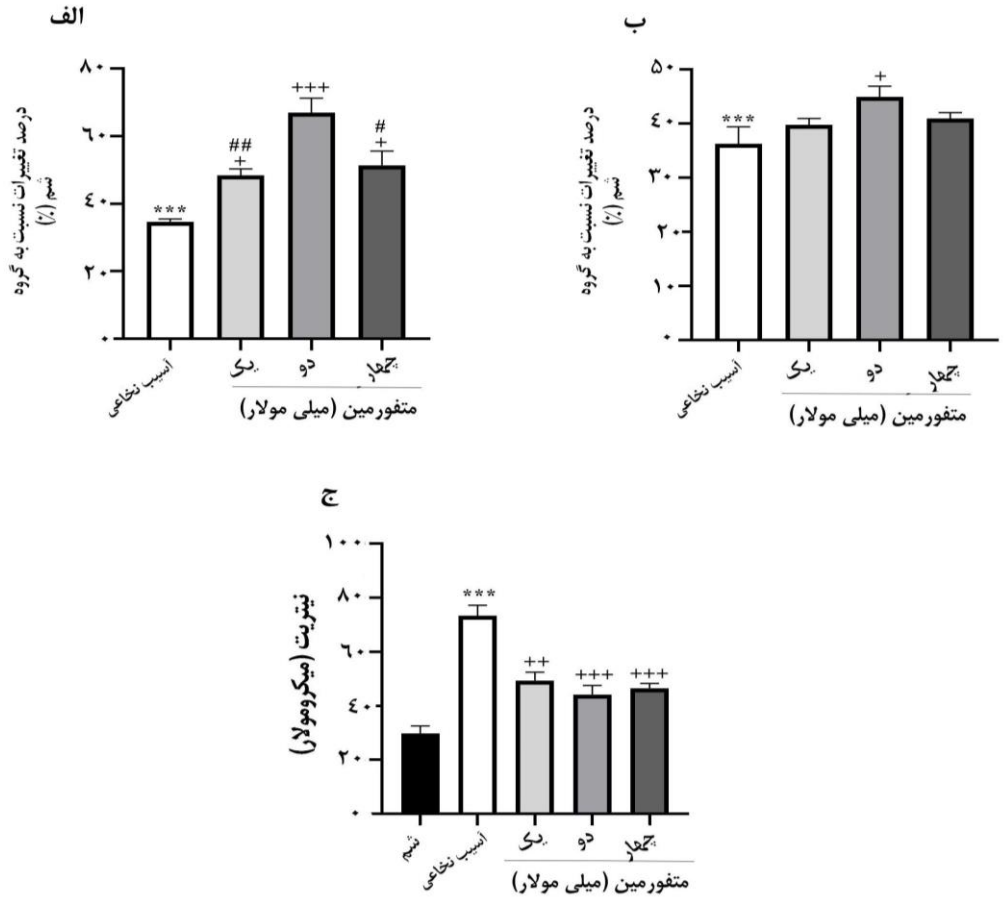
نمودار ۳- بررسی اثر متفورمین بر تغییرات وزن در موش صحرایی متعاقب آسیب نخاعی. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (تعداد در هر گروه = ۷) ارائه شده است. ***: تفاوت معنی‌دار با گروه شم با $p < ۰/۰۰۱$ و++ : تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۱$ و+++: تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۰۱$.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

نتایج نشان داد که تغییرات سرمی میزان کاتالاز و گلوتاتیون در گروه آسیب نخاعی نسبت به گروه شم تفاوت معنی داری را نشان می دهد ($p < ۰/۰۰۱$). همچنین درمان با غلظت دو میلی‌مولار متفورمین در مقایسه با سایر غلظت‌ها افزایش بیشتری را در میزان گلوتاتیون و کاتالاز ایجاد کرده است ($p < ۰/۰۰۱$). باتوجه به قسمت ج نمودار ۴ آسیب نخاعی همچنین باعث افزایش مقدار نیتریت در مقایسه با گروه شم شد ($p < ۰/۰۰۱$). متفورمین به‌طور معنادری باعث کاهش مقدار نیتریت شد ($p < ۰/۰۰۱$) و مقدار نیتریت در هر سه گروه درمان شده با متفورمین تقریبا به یک اندازه بود ($p < ۰/۰۰۱$, $F_{۴،۱۰}=۲۶/۴۰$).

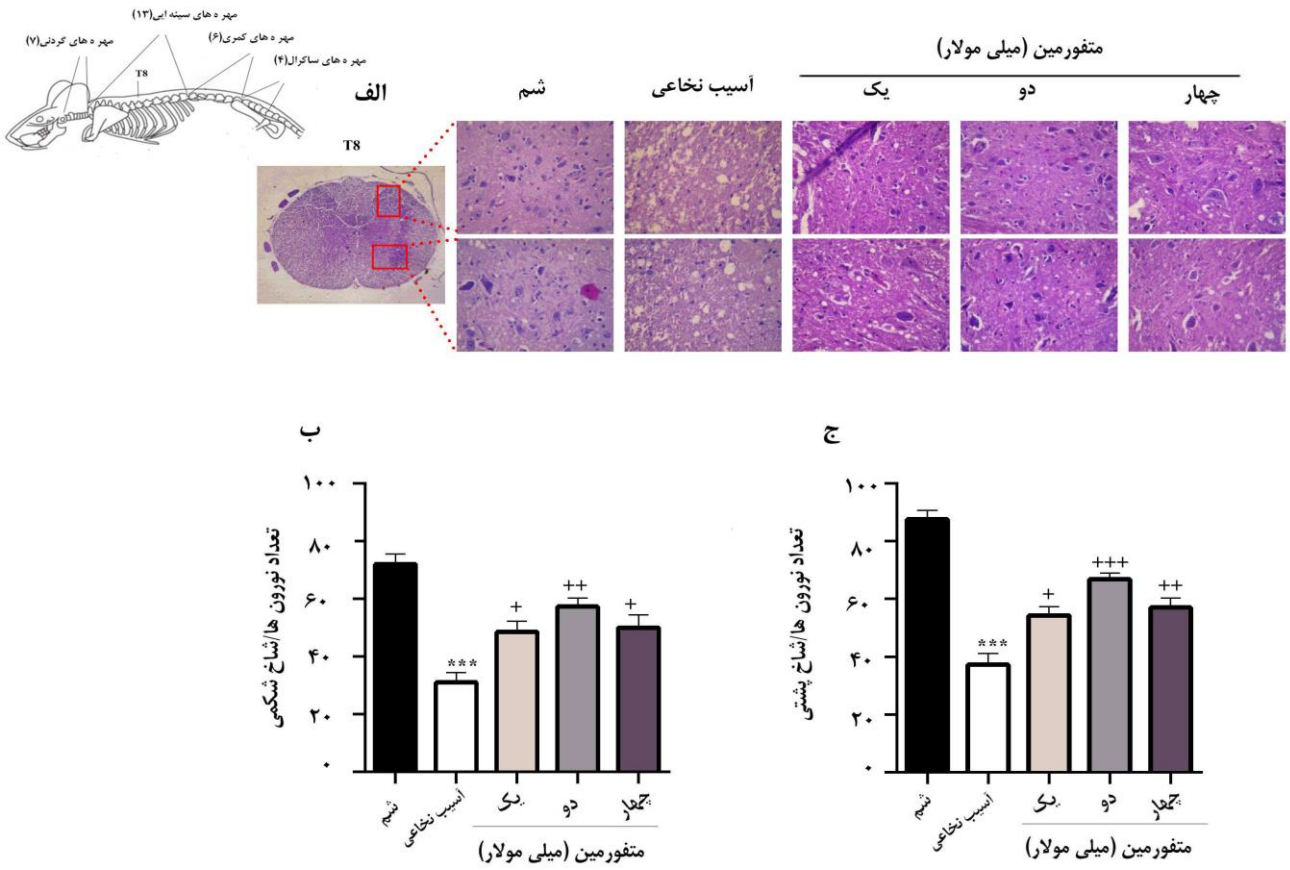
نتایج بافت شناسی

جهت بررسی میزان آسیب بافتی بعد از آسیب نخاعی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین در روز ۲۸ بعد از آسیب استفاده شد (شکل ۱). نتایج شمارش تعداد نورون‌های حرکتی در ناحیه شاخ شکمی و پشتی ماده خاکستری نخاع نشان داد که در مقایسه با گروه شم آسیب به نخاع باعث کاهش معنادار تعداد نورون‌ها در محل آسیب شده است ($p < ۰/۰۰۱$). درمان با متفورمین در تمام غلظت‌ها باعث بهبود محافظت از نورون و حفظ تعداد نورون ها در ناحیه شکمی ($p < ۰/۰۰۱$, $F_{۴،۱۵}=۱۶/۱۵$) و پشتی ($p < ۰/۰۰۱$, $F_{۴،۱۵}=۳۳/۰۵$) شد، هرچند غلظت دو میلی‌مولار نسبت به غلظت‌های یک و چهار میلی مولار کارایی بهتری داشت و از نظر آماری هم معنادار بود.



نمودار ۴- نتایج بررسی اثر متفورمین بر درصد تغییرات کاتالاز (الف) ، گلوتاتیون (ب) و مقدار نیتریت (ج) متعاقب آسیب نخاعی در موش های صحرایی. داده ها به صورت میانگین± انحراف معیار استاندارد (تعداد در هر گروه=۳) ارائه شده است. ***: تفاوت معنی دار با گروه شم با $p < ۰/۰۰۱$ و +: تفاوت معنی دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۵$ و+++: تفاوت معنی دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۰۱$ ،#: تفاوت معنی دار با گروه متفورمین دو میلی مولار با $p < ۰/۰۵$ و##: تفاوت معنی دار با گروه متفورمین دو میلی مولار با $p < ۰/۰۱$.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]



شکل ۱– بررسی اثر متفورمین بر تعداد نورون‌های حسی و حرکتی (الف) در شاخ شکمی (ب) و پشتی (ج) نخاعی در موش صحرایی متعاقب آسیب نخاعی. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (تعداد در هر گروه = ۳) ارائه شده است. ***: تفاوت معنی‌دار با گروه شم با $p < ۰/۰۰۱$ و $^{+}$: تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۵$ و $^{++}$: تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۱$ و $^{+++}$: تفاوت معنی‌دار با گروه آسیب با $p < ۰/۰۰۱$.

بحث

آسیب نخاعی یک اختلال حسی–حرکتی ناتوان‌کننده است که بیماران مبتلا به آن مادام العمر در رنج و سختی به سر می‌برند. علاوه بر آن سالانه هزینه‌های زیادی به سیستم سلامت کشورها ازاین‌طریق وارد می‌شود. در آسیب نخاعی، ضربه مکانیکی اولیه روی ستون فقرات منجر به آسیب عصبی می‌شود که "آسیب اولیه" نامیده می‌شود. آسیب مکانیکی باعث ایجاد آبشار پیچیده‌ای از تغییرات بیولوژیکی می‌شود که به‌عنوان "آسیب ثانویه" شناخته می‌شود. آسیب ثانویه از همان ساعات اولیه پس از آسیب نخاعی آغاز می‌شود و منجر به نقایص عصبی بیشتر می‌شود و شامل استرس اکسیداتیو، التهاب، پاسخ‌های ایمنی، تغییر در بیان گیرنده‌ها و کانال‌های یونی است. مطالعات متعددی نقش استرس اکسیداتیو و واسطه‌های درون‌سلولی مربوطه در ایجاد اختلال حسی و حرکتی متعاقب آسیب نخاعی را مطرح کرده‌اند [۲].

درد به‌عنوان یک عامل مهم و تاثیر گذار در رنج، ضعف و کاهش کیفیت زندگی افراد مبتلا به آسیب نخاعی شناخته می‌شود. درد نوروپاتیک مزمن ناشی از آسیب های نخاعی به‌عنوان یکی از دشوارترین مشکلات در کنترل و درمان به حساب می‌آید و مطالعات زیادی در این زمینه وجود دارد که به ارتباط مستقیم بین درد و عملکردهای ضعیف فیزیکی، روانی و اجتماعی اشاره داشته‌اند. درهمین‌راستا، اختلالات حرکتی یکی دیگر از عوارض رایج متعاقب آسیب نخاعی محسوب می‌گردد که می‌تواند منجر به فلج عضو گردد [۱۸]. نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق دو میلی‌مولار متفورمین باعث بهبود هایپرآلژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی در موش‌های صحرایی شد، [۱۹]. در مطالعه دیگری همچنین گزارش شده است که متفورمین باعث کاهش درد نورپاتیک در موش‌های صحرایی نر شد [۲۰] و همچنین توانست از درد نوروپاتیک

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

ناشی از بستن عصب نخاعی[6] (SNL) جلوگیری کند [۲۱]. افشاری و همکاران نیز با بررسی اثر ضد دردی متفورمین بر درد نوروپاتیک نشان دادند که از بین سه دوز مختلف متفورمین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی)، دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته علائم درد نوروپاتیک را به‌شکل چشمگیر و معناداری کاهش دهد [۷]. در مطالعه حاضر، سه نوع درد مکانیکی، حرارتی و سرمایی، و بهبود عملکرد حرکتی متعاقب دریافت دوزهای مختلف داخل‌نخاعی متفورمین مورد ارزیابی قرار گرفت. مطالعات پیشین، همچنین کارایی بیشتر تزریق داخل‌نخاعی (در مقایسه با سایر روش‌های مصرف) را در بهبود عمبکرد حسی–حرکتی و جلوگیری از مرگ سلول‌های عصبی متعاقب آسیب نخاعی نشان دادند [۹، ۸]. در این مطالعه، هدف از تزریق داخل نخاعی دارو، افزایش کارآیی، کاهش دوز و کاهش عوارض جانبی ناشی از مصرف مکرر دارو به صورت خوراکی و یا داخل صفاقی است. از دیدگاه مطالعات بافت‌شناسی، تعداد نورن‌های شاخ شکمی نخاع متعاقب آسیب نخاعی کاهش یافت و این امر سبب اختلال عملکرد حرکتی در موش صحرایی شد. همچنین، آسیب نخاعی سبب کاهش تعداد نورون‌های حسی در شاخ پشتی نخاع و درد نوروپاتیک شد. در این مطالعه، برای اولین بار بر ارتباط تزریق داخل نخاعی متفورمین بر فاکتورهای استرس اکسیداتیو و زنده‌ماندن نورون‌های حسی و حرکتی متعاقب آسیب نخاعی فشاری پرداخته شد. نتیجه مطالعه ما نشان داد که تزریق داخل نخاعی متفورمین می‌تواند سبب افزایش زنده‌ماندن نورون حسی در شاخ پشتی و همپنین نورون‌های حرکتی در شاخ شکمی نخاع می‌شود.

از دیدگاه مکانیسمی، mTORC1 یک تنظیم کننده سنتز پروتئین است و با کنترل ترجمه پروتئین، فعالیت نورون‌های حسی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی را تنظیم می‌کند. mTORC1 و اهداف پایین‌دستی آن در سیستم ترجمه در زیر مجموعه‌ای از گیرنده‌های درد فیبر A قرار گرفته‌اند. همچنین گزارشات حاکی از این است که مسیر mTORC1 نقش کلیدی در ترجمه و سنتز پروتئین‌های دخیل در نورون‌های آوران اولیه که پلاستیسیتی مزمن را در درد پاتولوژیک حفظ می‌کند، ایفا می‌کند. متفورمین قادر است AMPK را فعال کند و مسیر mTORC1 را مهار و به واسطه آن استرس اکسیداتیو را تعدیل کند [۱۹]. افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نهایتا بروز پدیده استرس اکسیداتیو از شناخته‌شده‌ترین مکانیسم‌های آسیب نخاعی پس از صدمه می‌باشد. هر چند در شرایط طبیعی رادیکال‌ها و اکسیدان‌های تولیدشده در بافت عصبی توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شود اما پس از بروز آسیب نخاعی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ناحیه صدمه‌دیده بافت عصبی تضعیف می‌گردد. در نواحی صدمه‌دیده نخاع، تجمع رادیکال‌های آزاد به طور گسترده‌ای زیاد می‌گردد که بخشی به‌دلیل تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی بوده و بخشی دیگر به دلیل افزایش آنزیم‌های پرواکسیدان می‌باشد. تجمع این رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث صدمه به ماکرومولکول‌های حیاتی سلول‌ها نظیر پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند. بنابراین حذف این رادیکال‌ها در نواحی صدمه‌دیده نخاع تا حد زیادی می‌تواند از عوارض ناشی از آسیب نخاعی را بکاهد [۲۲]. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که تزریق داخل نخاعی متفورمین عملکرد آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها را با بالابردن میزان گلوتاتیون و کاتالاز در برابر گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌دهد و مقدار نیتریت سرمی را کاهش می‌دهد. بنابراین می‌تواند آبشارهای داخل‌سلولی منتج به مرگ‌سلولی را مسدود می‌کند. نتایج مطالعه ما با نتایج جهانبخش و همکاران در سال ۲۰۱۸ در یک راستا می باشد. آن‌ها نشان دادند درمان با داروی دیگر کاهنده قند خون (پیوگلیتازون) از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت نخاع ضایعه دیده باعث کاهش آسیب اکسیداتیو و همچنین تغییرات آسیب شناختی نخاع می‌گردد [۲۳]. پیش‌ازاین، محققان نشان دادند که متفورمین ازطریق مهار استرس اکسیداتیو باعث بازسازی آکسونی به‌دنبال آسیب نخاعی می‌گردد [۲۴]. در مطالعه پیشین، اهمیت ارتباط نزدیک بین مسیرهای استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوزی با نقش بالادستی استرس اکسیداتیو در آسیب نخاعی توسط محققان مطالعه حاضر مورد بحث قرار گرفته‌اند [۲۴]. بنابراین تعدیل مسیرهای استرس اکسیداتیو می‌تواند مهارکننده واسطه‌های التهابی و آپوپتوزی نیز باشد. اگرچه اندازه‌گرفتن پارامترهای بیوشیمیایی در تمامی روزهای تست منعکس‌کننده ارزیابی دقیق‌تری از تغییرات ظرفیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و روند

[6] Spinal nerve ligation (SNL)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

ترمیم یا تخفیف عوارض ثانویه آسیب نخاعی در گروه‌های تحت درمان باشد، اما لزوم رعایت اصول اخلاقی در استفاده حداقلی از حیوانات آزمایشگاهی، همچنین ایجاد بیهوشی در روزهای نمونه‌گیری سبب تداخل در اجرای تست‌های رفتاری می‌گردد. فلذا تغییرات فاکتورهای مورد بررسی در آسیب نخاعی عمدتا در روز پایانی صورت می‌پذیرد.

کاهش وزن قابل‌توجه یکی از مشخصه‌های حاد آسیب نخاعی است که به دلیل تغییرات متابولیک و آتروفی عضلانی رخ می‌دهد. پس از کاهش وزن حاد، افراد مبتلا به بی‌حرکتی وارد مرحله افزایش وزن می‌شوند که بیشتر با افزایش چربی بدن و چاقی احشایی که ممکن است منجر به چالش‌های دشواری مانند سندرم متابولیک و عوارض قلبی عروقی شود، ایجاد می‌شود. در این مطالعه متفورمین با تعدیل درد حیوان و متعاقبا افزایش تمایل حیوان به مصرف غذا سبب نرمال‌سازی مصرف غذا از طریق فعل و انفعالات دارویی مختلف مانند بهبود حساسیت به انسولین و همچنین بهبود متابولیسم لیپیدی شد [۲۵]. مطالعات گسترده‌تر با تمرکز بر تغییرات وزن برای تایید این اثرات ضروری است.

ازآنجایی‌که تاکنون داروی تاییدشده‌ای توسط سازمان غذا و داروی آمریکا[7] جهت کنترل علایم حسی و حرکتی متعاقب آسیب نخاعی وجود ندارد، فلذا یکی از محدودیت‌های مطالعات آسیب نخاعی عدم اعمال گروه کنترل مثبت است و سایر داروهایی که در این زمینه جهت کنترل درد و یا تعدیل عملکرد حرکتی استفاده می‌شوند (مانند متیل پردنیزولون و دگزامتازون) خود می‌توانند سبب ایجاد عوارض بافتی گردند و قابلیت کافی و استاندارد جهت ارزیابی و مقایسه در مطالعات پیش‌بالینی را ندارند.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج مطالعه حاضر، استفاده از تزریق داخل‌نخاعی متفورمین علاوه بر بهبود درد نوروپاتیک و عملکرد حرکتی موش صحرایی، با تقویت ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی نخاع آسیب‌دیده از آسیب اکسیداتیو حین آسیب نخاعی جلوگیری می‌کند. همچنین متفورمین توانست سبب تعدیل تغییرات وزن، به‌عنوان یکی از عوارض متعاقب آسیب نخاعی، و افزایش تعداد نورون‌های حسی و حرکتی در شاخ پشتی و شکمی نخاع گردد. براین‌اساس، تزریق داخل‌نخاعی متفورمین می‌تواند به‌عنوان یکی از گزینه‌های درمانی برای کاهش عوارض ناشی از آسیب نخاعی مورد استفاده قرار گیرد.

[7] U.S. Food and Drug Administration (FDA)

ملاحظات مالی

این مطالعه با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (شماره گرنت ۹۹۰۹۹۹) انجام شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

س.ف، ف.ع: طراحی مطالعه و آنالیز داده ها؛ م.آ، س.ف: انجام مطالعه، جمع آوری داده ها و نگارش مقاله؛ س.ف، س.ش، م.ح.ف: نظارت بر اجرای پروژه.

فهرست منابع

[1] Schwartz G, Fehlings MG, Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. ***J Neurosurg Spine*** 94 (2001) 245-256.

[2] Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, Kotter M, Druschel C, Curt A, Fehlings MG, Traumatic spinal cord injury. ***Nat Rev Dis Primers*** 3 (2017) 1-21.

[3] Hagen EM, Rekand T, Management of neuropathic pain associated with spinal cord injury. ***Pain Ther*** 4 (2015) 51-65.

[4] Rena G, Hardie DG, Pearson ER, The mechanisms of action of metformin. ***Diabetologia*** 60 (2017) 1577-1585.

[5] Burton MD, Tillu DV, Mazhar K, Mejia GL, Asiedu MN, Inyang K, Hughes T, Lian B, Dussor G, Price TJ, Pharmacological activation of AMPK inhibits incision-evoked mechanical hypersensitivity and the development of hyperalgesic priming in mice. ***Neuroscience*** 359 (2017) 119-129.

[6] Mao-Ying Q-L, Kavelaars A, Krukowski K, Huo X-J, Zhou W, Price TJ, Cleeland C, Heijnen CJ, The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. ***PloS One*** 9 (2014) e100701.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

[7] Afshari K, Dehdashtian A, Haddadi N-S, Haj-Mirzaian A, Iranmehr A, Ebrahimi MA, Tavangar SM, Faghir-Ghanesefat H, Mohammadi F, Rahimi N, Anti-inflammatory effects of Metformin improve the neuropathic pain and locomotor activity in spinal cord injured rats: introduction of an alternative therapy. ***Spinal cord*** 56 (2018) 1032-1041.

[8] Kim H, Na DL, Lee NK, Kim AR, Lee S,Jang H, Intrathecal injection in a rat model: a potential route to deliver human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into the brain. ***Int J Mol Sci*** 21 (2020) 1272.

[9] Fakhri S, Abbaszadeh F, Pouriran R, Jorjani M, The effects of intrathecal ketamine on improving sensory-motor function in a rat model of compression spinal cord injury. ***Physiol Pharmacol*** 24 (2020) 101-110.

[10] Naseri K, Saghaei E, Abbaszadeh F, Afhami M, Haeri A, Rahimi F, Jorjani M, Role of microglia and astrocyte in central pain syndrome following electrolytic lesion at the spinothalamic tract in rats. ***J Mol Neurosci*** 49 (2013) 470-479.

[11] Mestre C, Pélissier T, Fialip J, Wilcox G,Eschalier A, A method to perform direct transcutaneous intrathecal injection in rats. ***J Pharmacol Toxicol Methods*** 32 (1994) 197-200.

[12] Janicki P,Libich J, Detection of antagonist activity for narcotic analgesics in mouse hot-plate test. ***Pharmacol Biochem Behav*** 10 (1979) 623-626.

[13] Kauppila T, Cold exposure enhances tactile allodynia transiently in mononeuropathic rats. ***Exp Neurol*** 161 (2000) 740-744.

[14] Ferland C, Laverty S, Beaudry F,Vachon P, Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. ***Pharmacol Biochem Behav*** 97 (2011) 603-610.

[15] Shields SD, Eckert III WA, Basbaum AI, Spared nerve injury model of neuropathic pain in the mouse: a behavioral and anatomic analysis. ***J Pain*** 4 (2003) 465-470.

[16] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. ***J Neurotrauma*** 12 (1995) 1-21.

[17] Aebi H, Catalase in vitro. ***Methods Enzymol*** 105 (1984) 121-126.

[18] Budh CN, Kowalski J, Lundeberg T, A comprehensive pain management programme comprising educational, cognitive and behavioural interventions for neuropathic pain following spinal cord injury. ***J Rehabil Med*** 38 (2006) 172-180.

[19] Baeza-Flores GDC, Guzmán-Priego CG, Parra-Flores LI, Murbartián J, Torres-López JE,Granados-Soto V, Metformin: a prospective alternative for the treatment of chronic pain. ***Front Pharmacol*** 11 (2020) 558474.

[20] Inyang KE, Szabo-Pardi T, Wentworth E, McDougal TA, Dussor G, Burton MD, Price TJ, The antidiabetic drug metformin prevents and reverses neuropathic pain and spinal cord microglial activation in male but not female mice. ***Pharmacol Res*** 139 (2019) 1-16.

[21] Weng W, Yao C, Poonit K, Zhou X, Sun C, Zhang F, Yan H, Metformin relieves neuropathic pain after spinal nerve ligation via autophagy flux stimulation. ***J Cell Mol Med*** 23 (2019) 1313-1324.

[22] Zarringol M, A review on regulation of autophagy by ROS (Reactive Oxygen Species). ***Razi J Med Sci*** 24 (2018) 93-105.

[23] Jahanbakhsh Z, Ghoshooni H, Mohammadi M, Salehi M, Effect of pioglitazone on antioxidant capacity and oxidative damage after spinal cord injury in rat. ***J Babol Univ Med Sci*** 20 (2018) 16-22.

[24] Wang H, Zheng Z, Han W, Yuan Y, Li Y, Zhou K, Wang Q, Xie L, Xu K, Zhang H, Metformin promotes axon regeneration after spinal cord injury through inhibiting oxidative stress and stabilizing microtubule. ***Oxid Med Cell Longev*** (2020) 9741369.

[25] Powell D, Affuso O, Chen Y, Weight change after spinal cord injury. ***J Spinal Cord Med*** 40 (2017) 130-137.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

Research paper

The role of neuroprotective and antioxidant effects in reducing motor dysfunction, mechanical allodynia and heat hyperalgesia caused by spinal cord injury in rats following intrathecal administration of metformin

Mohammad Astaraky[1], Sajad Fakhri[2*], Fatemeh Abbaszadeh[3], Samira Shirooie[2], Mohammad Hosein Farzaei[2]

[1]Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[2]Pharmaceutical Sciences Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[3]Neurobiology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 25 March 2022 Accepted: 2 May 2022

Abstract

Background and Aim: Spinal cord injury (SCI) is a debilitating sensory-motor dysfunction. Neuropathic pain and motor dysfunction are the most common types of dysfunctionality after SCI, which reduces the quality of life. So far, SCI treatment has not been completely effective and researchers are seeking for novel alternative/potent therapies. Metformin has shown antioxidant and anti-inflammatory effects on the central and peripheral nervous systems. In the present study, the probable neuroprotective and antioxidant effects of intrathecal metformin administration was evaluated on the neuropathic pain and motor dysfunction after SCI.

Methods: Thirty-five rats were divided into five groups: sham, SCI, and metformin (Met) at doses of 1, 2 and 4 mM. Hot plate, acetone, and von Frey behavioral tests and weight changes were performed on days 7, 14, 21, and 28 after SCI. The changes in serum levels of catalase and glutathione, as well as nitrite level, and numbers of sensory and motor neurons were measured on day 28 after surgery.

Results: Intrathecal injection of metformin reduced heat, cold and mechanical pain, motor activity, and modulated weight changes in rats after SCI. Intrathecal metformin also attenuated serum changes of catalase and glutathione, decreased serum nitrite, and increased survived sensory and motor neurons after SCI.

Conclusion: Employing the neuroprotective and antioxidant potential of intrathecal metformin administration could reduce neuropathic pain and improve motor dysfunction following SCI.

Keywords: Spinal cord injury, Antioxidant, Neuropathic pain, Motor activity, Metformin, Neuroprotection

Please cite this article as follows:

Astaraky M, Fakhri S, Abbaszadeh F, Shirooie S, Farzaei MH, The role of neuroprotective and antioxidant effects in reducing motor dysfunction, mechanical allodynia and heat hyperalgesia caused by spinal cord injury in rats following intrathecal administration of metformin. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 6 (2022) 73-84.

*Corresponding author: Pharmacy.sajad@yahoo.com; sajad.fakhri@kums.ac.ir (ORCID: 0000-0001-8265-8284)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]