

EFECTELE ANALGEZICE ALE CALCITONINEI

-cercetare experimentală

Anca-Dana Buzoianu*, Vl. Șandor*, C. G. Radu*

REZUMAT

Calcitonina, hormon care intervine în homeostazia calciului a organismului, este probabil implicată și în modularea și transmiterea senzației dureroase. Scopul lucrării de față este investigarea efectului analgezic al calcitoninei și al intensității acestuia. S-a lucrat pe șoareci împărțiți în 5 loturi tratate cu doze diferite de calcitonină, diclofenac și cu asocierea diclofenac-calcitonină. Evaluarea durerii s-a făcut prin metoda termoanalgezică. Rezultatele arată un efect analgezic net al ambelor doze de calcitonină, precum și potențarea efectului analgezic al diclofenacului de către calcitonină.

Cuvinte cheie: calcitonină, durere, efect analgezic

ABSTRACT

The analgesic effects of calcitonin

Calcitonin is a hormone which has a role in calcium homeostasis in the organism. The aim of this study is to investigate the possible role of calcitonin in the transmission and perception of pain, by studying its administration on analgesic tests to laboratory animals. The sample was represented by white male mice divided in five groups. The animals were injected with different doses of calcitonin, diclofenac and the association calcitonin-diclofenac. The analgesia was evaluated by the hot-plate test. The results show a clear analgesic effect of calcitonin and the potentiation of the diclophenac analgesic effect.

Key words: analgesic effect, calcitonin, pain

Obiective

Calcitonina este un hormon secretat de celulele parafoliculare din tiroidă, care intervine în homeostazia calciului în organism. Calcitonina injectată la om sau la animal scade concentrația calciului și a fosfaților circulanți prin împiedicarea resorbției Ca osos. Unii autori^{1,3,6,11,12} au căutat să demonstreze existența unui efect analgezic al calcitoninei, presupunând că aceasta intervine în perceperea și transmiterea senzației dureroase, fără să existe însă o părere unanim conturată asupra mecanismelor care intervin în producerea acestui efect. În lucrarea de față ne-am propus să investigăm posibila intervenție a calcitoninei în modularea senzației dureroase prin studierea administrării ei pe teste de analgezie la animale de experiență.

Material și metodă

Materialul a fost reprezentat de 45 șoareci albi, masculi. Aceștia au fost menținuți în condiții obișnuite de laborator, primind alimentație și lichide standard. Animalele au fost împărțite prin randomizare în 5 loturi a câte 9 animale. Lotul I a fost considerat lot martor. Lotul II a fost tratat cu calcitonină în doza de 0.1 U.I./kg administrată intraperitoneal (i.p.). Lotul III a primit calcitonină în doza de 1 U.I./kg i.p. Lotului IV i s-a administrat Diclofenac (Voltaren®) în doza de 0.5 mg/kg, doză cunoscută ca având un efect analgezic mediu. Lotul V a fost tratat atât cu Diclofenac în doza menționată anterior, cât și cu calcitonină

în doza de 0.1 mg/kg.

În studiul de față am utilizat pentru evaluarea durerii metoda termoanalgezică, testul plăcii încălzite „hot-plate”. În acest test animalele sunt plasate pe o placă încălzită electric la 55° C, temperatură care se menține constantă. Cu ajutorul unui cronometru se măsoară timpul de reacție inițial (TR), considerat ca fiind timpul până la apariția primei manifestări cauzate de durere. Acest timp a fost considerat până la valoarea maximă de 60 secunde, după care se produc leziuni ireversibile ale tegumentelor labei, animalele care nu au reacționat în acest interval de timp fiind considerate areactive și eliminate din studiu.

Am efectuat determinări în următoarele momente: anterior administrării medicamentelor (momentul 1), la 30 de minute după administrare (momentul 2), 1 oră (momentul 3) și 2 ore (momentul 4) după administrarea medicamentelor. După determinarea timpilor de reacție la cele 5 loturi am comparat valorile obținute în cadrul aceluiași lot înainte și după administrarea substanțelor de cercetat, între diferitele momente, între fiecare lot și lotul martor precum și între loturi. Rezultatele au fost prelucrate statistic cu ajutorul testului t Student, considerând ca semnificativ $p < 0.05$.

Rezultate

Determinarea timpului de reacție (TR) în cele 4 momente considerate la loturile studiate a dus la obținerea rezultatelor din tabelul de mai jos:

* Șef lucrări Dr. Anca-Dana Buzoianu, Prof. Dr. Vl. Șandor, Dr. Radu CG Catedra de Farmacologie și Toxicologie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, str. Pasteur nr.6, tel:0264-197256 int. 210

Persoana de contact: Dr. Anca Dana Buzoianu, medic primar pediatru, șef de lucrări, 3400 Cluj-Napoca, str. Firiza nr.8 ap.15, tel: 0744-622051, e-mail: ancabuzoianu@yahoo.com

Tabel I

Valorile medii (X) ale timpului de reacție (TR) în momentele considerate la loturile studiate. ES- eroarea standard

Parametri Loturi		Timp de reacție ($\bar{X} \pm e. s.$)				P		
		Initial (1)	30' (2)			1-2	1-3	1-4
I		3.86±0.4	3.66±0.5	4.05±0.25	3.22±0.4	0.05	0.04	0.01
II		4.3±0.2	11.66±0.3	11.44±0.3	10.77±0.7	0.01	0.04	0.03
III		4.16±0.6	15.00±0.5	13.94±0.7	12.94±0.6	0.001	0.01	0.01
IV		3.77±0.45	10.72±1.1	9.66±0.4	9.77±0.8	0.001	0.05	0.03
V		3.88±0.2	14.44±0.9	13.44±0.4	12.88±0.7	0.02	0.01	0.01
I	II	0.3	0.002	0.01	0.01			
	III	0.4	0.001	0.002	0.001			
	IV	0.8	0.001	0.002	0.001			
	V	0.3	0.001	0.001	0.001			
II	III	0.7	0.3	0.5	0.4			
	IV	0.2	0.7	0.4	0.6			
	V	0.4	0.3	0.4	0.4			
III	IV	0.3	0.1	0.1	0.3			
	V	0.2	0.3	0.1	0.4			
IV	V	0.5	0.001	0.001	0.002			

În urma prelucrării statistice cu ajutorul testului t Student s-a constatat existența unor diferențe semnificative statistic între timpii de reacție ai loturilor studiate în momentele considerate.

Astfel, au fost constatate diferențe semnificative între lotul I martor și lotul II la momentele 2 ($p < 0.002$), 3 ($p < 0.01$) și 4 ($p < 0.01$). Valorile p arată o înaltă semnificație statistică ceea ce indică un efect analgezic net al calcitoninei în doza menționată. Compararea timpilor de reacție în cele 4 momente considerate între lotul I și lotul III a dus de asemenea la obținerea unor diferențe cu înaltă semnificație statistică ($p < 0.01$) la momentele 2, 3 și 4. Comparând aceiași timpi de reacție între lotul martor și lotul tratat cu diclofenac s-au obținut de asemenea, cum era de așteptat, diferențe semnificative statistic în toate momentele considerate după administrarea analgezicului. Compararea aceluiași parametri între lotul martor și lotul V a evidențiat din nou o diferență înalt semnificativă statistic ($p < 0.001$) între lotul martor și lotul tratat cu asocierea calcitonină-diclofenac. Diferențele calculate între momentele inițiale nu au fost semnificative la nici unul dintre loturi.

Compararea celor două loturi tratate cu calcitonină între ele nu a dus la diferențe semnificative statistic. De asemenea compararea loturilor tratate cu calcitonină cu lotul tratat cu diclofenac nu a dus la rezultate semnificative statistic. Asocierea diclofenacului cu doza mică de calcitonină a dus la potențarea semnificativă ($p < 0.01$) a efectului analgezic al acestuia.

Am efectuat și comparațiile între diferitele momente considerate în cadrul fiecărui lot studiat. Lotul martor nu a prezentat diferențe semnificative între momentele considerate, diferențe care au fost obținute în cadrul celorlalte 4 loturi.

Discuția rezultatelor. Folosirea metodei termoanalgezice la șoareci permite evaluarea efectului analgezic al diferitelor substanțe^{7,8,12}. Procedeu este simplu și reproductibil, însă trebuie menționat că repetarea expunerii pe placa încălzită poate produce leziuni ale tegumentelor labei, care pot vicia

rezultatele prin scurtarea timpilor de reacție⁸.

Administrarea calcitoninei în doza de 0.1 U.I./kg i.p. la șoareci produce un efect analgezic notabil.

Acest rezultat este concordant cu cele obținute de alți cercetători^{5,6,10, 11,12} care au evidențiat efectul analgezic al calcitoninei, efect observat mai ales la om și mai puțin la animalele de experiență. Astfel, Umeno și colab.¹¹ au pus în evidență efectul analgezic care apare după injectarea sistemică a calcitoninei la pacienții cu dureri cronice. Analgezia produsă era de durată mare deși calcitonina de somon folosită are un timp de înjumătățire relativ scurt, chiar dacă este mai mare decât al calcitoninei umane¹.

În experimentul nostru, analgezia s-a menținut în toate cele 4 momente la care am efectuat determinările. Pentru testarea duratei efectului analgezic ar putea fi utilă determinarea timpilor de reacție și la un interval mai lung de la injectare, de exemplu la 6 ore.

Aceiași efect analgezic al calcitoninei a fost obținut și în cazul lotului III injectat cu calcitonină în doză mare 1U.I./kg.i.p. În ceea ce privește dozele la care alți cercetători au obținut efect analgezic la calcitonină, acestea variază. Astfel, Nagasawa și colab⁹. au raportat efect analgezic la doze de 0.12 U.I./kg și la 1.2 U.I./kg dar nu și la 0.012 U.I./kg. Alți cercetători au obținut efect analgezic la 4 U.I./kg și la 40U.I./kg dar nu și la doze mai mici de 0.4 U.I./kg³.

În studiul de față analgezia a fost obținută și la doza de 0.1 U.I./kg, deși nu a fost atât de intensă ca și în cazul folosirii dozei mari de calcitonină la lotul II.

Compararea timpilor de reacție între cele două loturi tratate cu doze diferite de calcitonină nu a arătat diferențe semnificative statistic, deși timpii de reacție la lotul tratat cu doza mare de calcitonină au fost mai mari. Lipsa diferenței statistice semnificative ar putea sugera că efectul analgezic produs de calcitonină nu este dependent de doză. În studiul de față am constatat analgezia produsă de calcitonină în administrare acută. Yamazaki și colab.¹² au evidențiat un

Comparație între lotul martor (I) și lotul tratat cu calcitonină 1 mmol/kg (III) la momentele considerate

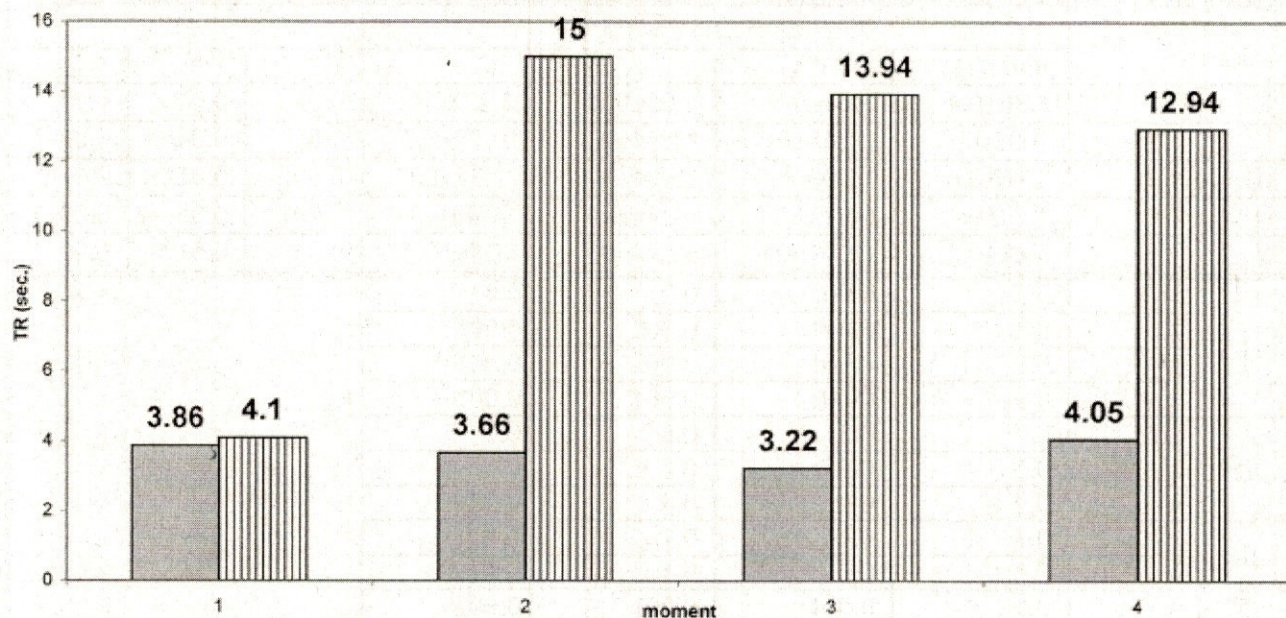


Fig. 1

Comparație între lotul martor (I) și lotul tratat cu calcitonină 1 mmol/kg (III) la momentele considerate

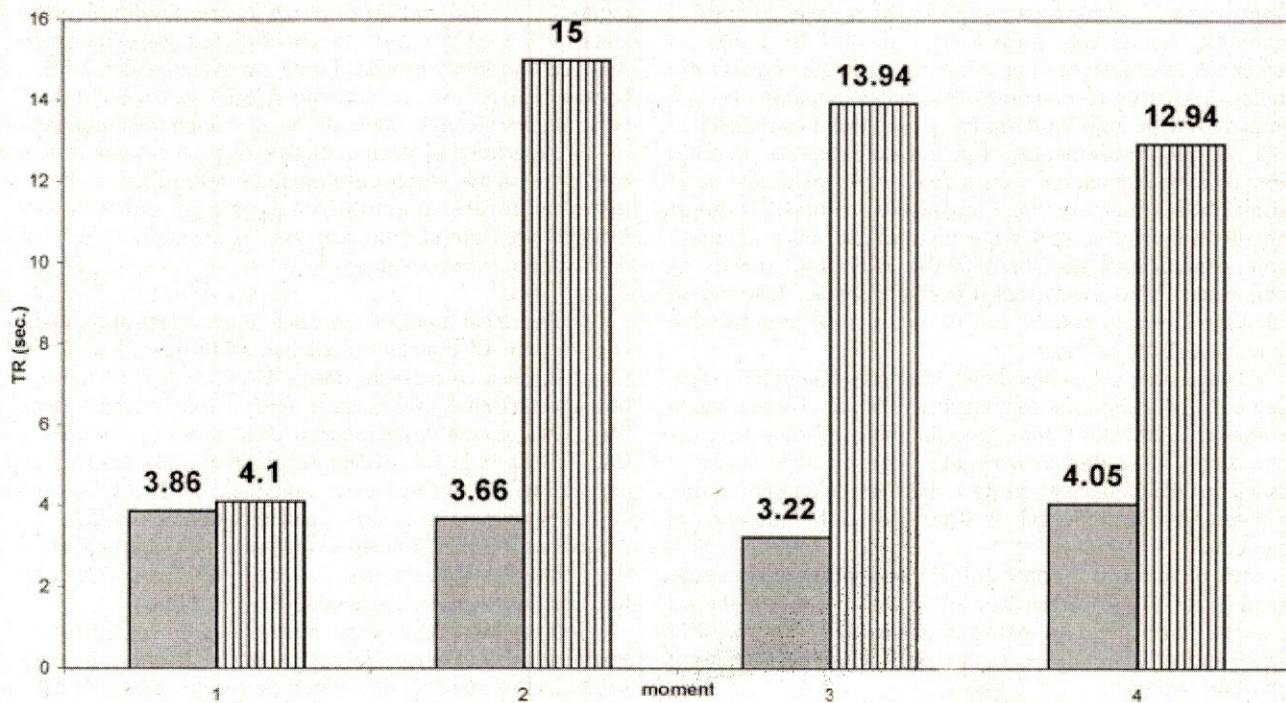


Fig. 2

**Comparație între lotul tratat cu diclofenac (IV)
și lotul tratat cu calcitonină-diclofenac (V)**

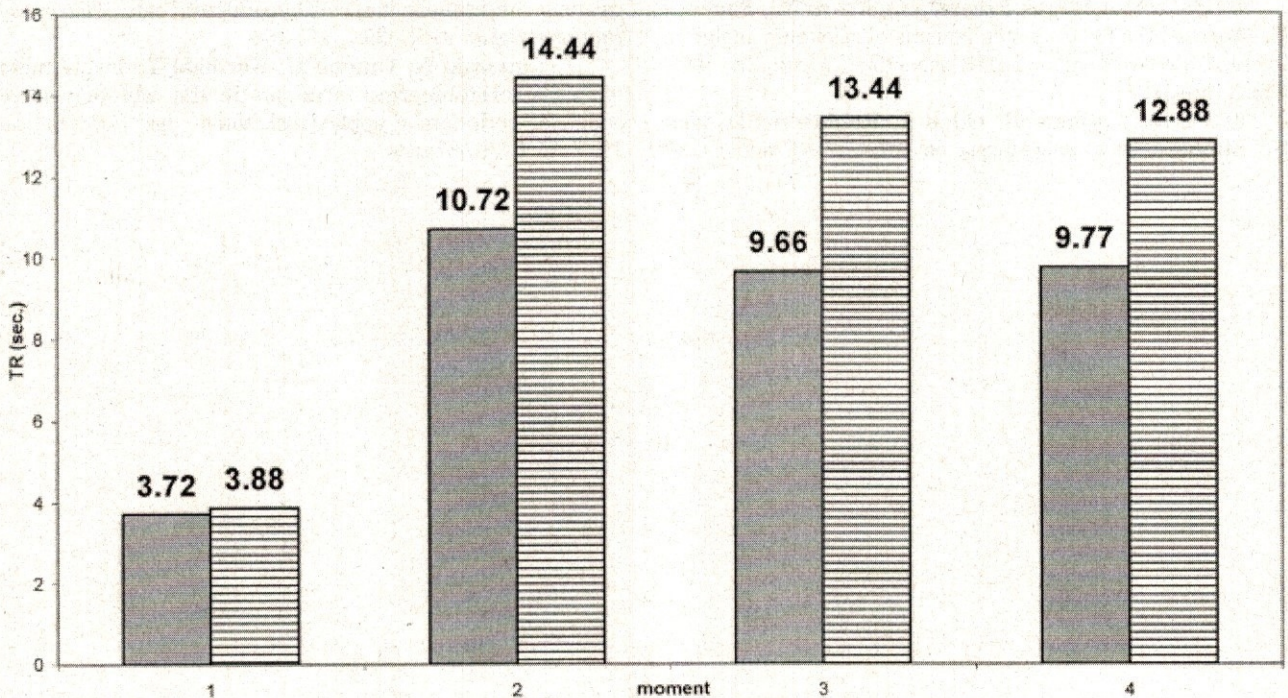


Fig. 3

efect de inhibare a hiperalgiei produse prin injectarea de formalină, efect obținut prin administrare cronică de calcitonină s.c. timp de cel puțin 4 zile. Analgezia produsă a fost inhibată prin injectarea intraventriculocerebrală de antagoniști ai receptorilor serotoninergici, în timp ce injectarea intratecală a acelorași substanțe nu a dus la antagonizarea efectului analgezic al calcitoninei. Aceste rezultate sugerează implicarea sistemului serotoninergic în analgezia produsă de calcitonină la nivel central dar nu și la nivel medular⁹. De asemenea s-a observat că injectarea unor antagoniști ai receptorilor pentru opiacee de tipul naloxonei și a unor α -adrenolitice că acestea nu modifică nici ele analgezia produsă de calcitonină, ceea ce a permis să se concluzioneze că în mecanismul de producere a acesteia nu sunt implicate nici sistemul opioidelor endogene și nici cel adrenergic¹².

Au fost comparați și timpii de reacție între lotul martor și cel tratat cu diclofenac, medicament cu efect antiinflamator și analgezic cunoscut, obținând așa cum era de așteptat diferențe semnificative între cele două loturi. Asocierea calcitoninei în doza mică cu diclofenacul îi potențează efectul analgezic al acestuia, așa cum rezultă din compararea lotului V cu lotul IV căruia i s-a administrat numai diclofenac ($p < 0.001$).

Potențarea acțiunii analgezice a diclofenacului de către calcitonină se face printr-un mecanism incomplet elucidat, în care se pare că sunt implicați ionii de calciu. Astfel Butakov și colab². au demonstrat efectul analgezic al calcitoninei atât în administrare s.c. cât și la administrare intraventriculocerebrală și intratecală. Efectul analgezic a fost superior la administrarea intratecală. Autorii citați au găsit o corelație semnificativă între analgezia produsă de calcitonină și concentrația calciului seric. După

administrarea de blocanți ai canalelor de calciu, analgezia a fost semnificativ diminuată². Compararea efectului analgezic între loturile tratate cu calcitonină și cel tratat cu diclofenac nu a dus la obținerea de diferențe semnificative statistice, ceea ce ne sugerează că efectul analgezic produs de dozele de calcitonină studiate este comparabil cu cel al diclofenacului.

Rezultatele obținute de noi, în concordanță cu cele găsite de alți cercetători, pledează pentru efectul analgezic al calcitoninei, fiind de dorit continuarea prezentului studiu prin administrarea cronică a calcitoninei, apoi administrarea ei intratecală și intraventriculocerebrală.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abott FV, Melzack R, Leber BF.: Morphine analgesia and tolerance in the tail-flick and formalin tests: dose-response relationship. *Pharmacol. Biochem Behav.* 1982, 17,6, 1213-1219
2. Butakov SS, Ignatov ID.: The effect of calcium regulating hormones on pain sensitivity in rats. *Eksp Klin Farmakol* 1996, 59,2, 9-11
3. Calland JW, Harris SE, Carnes DL.: Human pulp cells respond to calcitonin gene-related peptide in vitro. *J Endod* 1997, 23,8,485-489
4. Cristea I: Terapie durerii. Ed. Medicală, București, 1996, 125-127
5. Eisenberg E, Vos BP, Strassman AM.: The peripheral antinociceptive effect of morphine in a rat model of facial pain. *Neuroscience*, 1996, 72, 2, 519-525
6. Hafkelt T.: Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron*, 1991, 7 867-879
7. Mungiu OC.: Agoniști și antagoniști în procesul analgezic la nivel periferic și spinal. *Durerea acută și cronică*,

1997,2,10-14

8. **Mungiu OC.:** Algeziologie generală - o abordare farmacologică. Ed. Polirom, Iași, 1999, 28-35

9. **Ormazabal MJ, Goicoechea C, Alfaro MI, Sanchez E, Martin MI.:** Study of mechanisms of calcitonin analgesia in mice. Involvement of 5-HT₃ receptors. *Brain Res* 1999, 845:2, 130-138

10. **Pertl C, Amann R, Odell E, Robinson PD, Kim S.:** Effects of local anaesthesia on substance P and CGRP

content of the human dental pulp. *J Endod* 1997, 23:7, 416-418

11. **Umeno H, Nagasawa T, Yamazaki N, Kuraishi Y.:** Antinociceptive effects of repeated systemic injections of calcitonin in formalin-induced hyperalgesic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1996, 55:1, 151-156

12. **Yamazaki N, Umeno H, Kuraishi Y.:** Involvement of brain serotonergic terminals in the antinociceptive action of peripherally applied calcitonin. *Jpn J Pharmacol* 1999, 81:4, 367-374