

بررسی اثر ضد درد باکلوفن در موشهای دیابتی شده با آلوکسان

حسین حسینزاده*: دانشیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی مشهد
فرید ایلامی: داروساز

چکیده

هدف: ارزیابی اثر هیپرگلیسمی بر فعالیت ضد درد باکلوفن (آگونیست گیرنده $GABA_B$) در موشها
روشها: اثر ضد درد باکلوفن ($2/5-7/5$ mg/kg، درون صفاقی) در موشهای دیابتی شده با آلوکسان به مدت ۴ و ۱۴ روز با استفاده از آزمون صفحه داغ بررسی شد.
یافته‌ها: اثر ضد درد وابسته به دوز در پی تجویز باکلوفن در موشهای سالم و موشهای دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت. اثر ضد درد مرفین (10 mg/kg، درون صفاقی) در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم کاهش یافت.
نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد دیابت اثر کمتری روی فعالیت ضد درد باکلوفن نسبت به مرفین داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: باکلوفن، هیپرگلیسمی، فعالیت ضد درد، گابا، مرفین

مقدمه

دیابت و هیپرگلیسمی باعث تغییر حساسیت درد در انسان و حیوان می‌شود (۱-۳). مکانیسم این اثر کاملاً مشخص نمی‌باشد. پژوهشها نشان داده‌اند که تعداد یا تمایل و حساسیت چندین گیرنده یا ماده مانند اپیوئیدها (۴-۷)، سروتونین (۸)، استیل کولین (۹) و کاتکول‌آمین‌ها (۹، ۱۰) در حالت دیابت کاهش می‌یابند.

از نظر بالینی، درمان نوروپاتی دیابتی دشوار است. اثر ضد درد داروهایی مانند اپیوئیدها در افراد دیابتی کاهش می‌یابد (۵). یافتن دارویی موثر و قوی برای درمان نوروپاتی دیابتی مورد نیاز می‌باشد. باکلوفن، آگونیست گیرنده $GABA_B$ دارای فعالیت ضد درد در انسان و حیوان است (۱۱-۱۳). در این مطالعه

حساسیت فعالیت ضد درد باکلوفن در موشهای دیابتی و سالم بررسی و با مرفین مقایسه شد.

روشها

حیوانات: موشهای نر با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم، در چرخه نوری ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت تاریک در دمای 20 ± 2 °C نگهداری می‌شدند.

ایجاد دیابت: دیابت با تزریق (از راه ورید دم) 90 mg/kg آلوکسان مونوهیدرات ایجاد می‌شد و حیوانات بعد از ۷۲ ساعت از نظر دیابتی شدن بررسی می‌شدند. موشهایی که قند خون ناشتای بیش از 250 mg/kg داشتند، برای آزمایشهای بعدی انتخاب می‌شدند. آزمایشها بر روی این حیوانات طی ۴ و ۱۴ روز انجام شد.

*مشهد، صندوق پستی: ۹۱۹۶۷۷۳۱۱۷، پست الکترونیک: hosseinzadehh@yahoo.com

بعد از چهار روز باعث افزایش قند خون از $4/7 \text{ mg/dl} \pm 91/0$ به $435/5 \pm 19/9 \text{ mg/dl}$ شد (تعداد=۸؛ $p < 0/001$).

در آزمون صفحه داغ، مرفین (10 mg/kg) درون صفاقی) باعث اثر ضددرد در گروه‌های شاهد و دیابتی ۴ روزه شد. در بعضی زمانها (۳۰ و ۱۲۰ دقیقه) اثر ضددردی در گروه دیابتی معنی‌دار نبود (جدول ۱). در موشهای دیابتی بعد از ۱۴ روز، اختلاف معنی‌داری در زمان ۶۰ دقیقه بین اثر ضددرد مرفین در گروه نرمال و گروه دیابتی وجود داشت (جدول ۲).

باکلوفن ($2/5-7/5 \text{ mg/kg}$ درون صفاقی) قند خون موشهای دیابتی را بعد از ۳۰-۱۲۰ دقیقه تغییر نداد (جدول ۳). اگرچه باکلوفن باعث اثر ضددرد در گروه‌های نرمال و دیابتی شد، اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود نداشت (جدول ۴ و ۵).

بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آستانه درد در موشهای دیابتی در مدت ۴ و ۱۴ روز در مدل اثر ضددرد صفحه داغ تغییر نمی‌کند و همچنین دیابت اثری روی فعالیت ضددرد باکلوفن (برخلاف مرفین) نداشته است.

نمونه‌گیری خون: نمونه خون برای تعیین قند پلاسما توسط لوله‌های مویین میکروهماتوکریت هپارینه از گوشه چشم موش پس از ۱۸ ساعت ناشتایی (بدون محدودیت آب) گرفته می‌شد. غلظت قند خون توسط دستگاه (Boehringer Mannheim, Refloluxs Germany) اندازه‌گیری می‌شد.

اثر ضددرد: آزمون صفحه داغ (۱۴) بر روی موشهای نر توسط دستگاه صفحه داغ (شرکت فاراد-مشهد) اندازه‌گیری شد. دمای صفحه داغ $55 \pm 0/2^\circ\text{C}$ تنظیم شد. زمان پاسخ به حرارت (لیسیدن پنجه یا پرش) قبل و بعد از تجویز دارو اندازه‌گیری شد. زمان ختم عمل ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

بررسی آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و آنالیز آماری ANOVA جهت داده صورت گرفت و در صورت معنی‌دار بودن، آزمون بعدی Tukey-Kramer انجام گردید.

یافته‌ها

در آزمون صفحه داغ، تفاوت معنی‌داری بین زمان واکنش گروه دیابتی و گروه نرمال موشها وجود نداشت. تجویز تک‌دوز آلوکسان (90 mg/kg وریدی)

جدول ۱- اثر مرفین درون صفاقی بر آستانه درد موشهای سالم (N) و ۴ روز دیابتی شده (D) با آلوکسان (90 mg/kg) با تزریق وریدی) در آزمون صفحه داغ

| زمان واکنش* (ثانیه) | | | | | |
|---------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|
| زمان صفر | ۳۰ دقیقه | ۶۰ دقیقه | ۹۰ دقیقه | ۱۲۰ دقیقه | |
| $7/9 \pm 0/6$ | $8/6 \pm 1/5$ | $8/1 \pm 1/1$ | $10/0 \pm 1/0$ | $9/4 \pm 1/0$ | نرمال سالین (N) |
| $8/8 \pm 0/5$ | $8/0 \pm 0/8$ | $8/2 \pm 1/4$ | $9/0 \pm 1/3$ | $10/7 \pm 1/1$ | نرمال سالین (D) |
| $8/1 \pm 0/7$ | $13/6 \pm 1/0 \ddagger$ | $22/0 \pm 2/4 \S$ | $17/2 \pm 2/2 \ddagger$ | $15/7 \pm 1/6 \ddagger$ | مرفین 10 mg/kg (N) |
| $6/8 \pm 0/4$ | $11/0 \pm 1/1$ | $24/6 \pm 2/6 \S$ | $15/2 \pm 1/4 \ddagger$ | $12/0 \pm 0/8$ | مرفین 10 mg/kg (D) |

* هر نقطه مبین میانگین \pm انحراف معیار زمان واکنش در هشت موش می‌باشد.
 \ddagger $p < 0/05$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ \S $p < 0/01$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ \S $p < 0/001$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)

جدول ۲- اثر مرفین درون صفاقی بر آستانه درد موشهای سالم (N) و ۲ هفته دیابتی شده (D) با آلوکسان (۹۰ mg/kg) با تزریق وریدی) در آزمون صفحه داغ

| زمان واکنش* (ثانیه) | | | | | درمان |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------------|
| ۱۲۰ دقیقه | ۹۰ دقیقه | ۶۰ دقیقه | ۳۰ دقیقه | زمان صفر | |
| ۷/۴ ± ۰/۹ | ۷/۸ ± ۰/۸ | ۹/۱ ± ۱/۱ | ۷/۷ ± ۰/۹ | ۷/۳ ± ۰/۵ | نرمال سالین (N) |
| ۸/۳ ± ۰/۹ | ۸/۲ ± ۰/۹ | ۷/۸ ± ۰/۸ | ۶/۷ ± ۱/۰ | ۶/۳ ± ۰/۵ | نرمال سالین (D) |
| ۱۰/۲ ± ۱/۳ | ۱۲/۷ ± ۱/۱† | ۱۹/۹ ± ۱/۵§ | ۱۳/۲ ± ۲/۰† | ۷/۲ ± ۰/۵ | مرفین ۱۰ mg/kg (N) |
| ۸/۸ ± ۱/۱ | ۱۰/۸ ± ۱/۴ | ۱۴/۳ ± ۱/۲‡ | ۱۳/۸ ± ۱/۵‡ | ۶/۷ ± ۰/۴ | مرفین ۱۰ mg/kg (D) |

* هر نقطه مبین میانگین ± انحراف معیار زمان واکنش در هشت موش می باشد.
 † p < ۰/۰۵ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ ‡ p < ۰/۰۱ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ § p < ۰/۰۰۱ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ || p < ۰/۰۵ (مقایسه با مرفین در گروه دیابتی)

جدول ۳- اثر باکلوفن (۷/۵ mg/kg) درون صفاقی) بر گلوکز ناشتای پلاسمای در موشهای دیابتی شده با آلوکسان (۹۰ mg/kg) با تزریق وریدی)

| قندخون* (mg/dl) | | | درمان |
|-----------------|--------------|------------|-------------|
| دو ساعت | یک ساعت | نیم ساعت | |
| ۳۷۹/۵ ± ۲۸/۵ | ۳۰۸/۵ ± ۲۹/۵ | ۴۰۷ ± ۲۹/۴ | نرمال سالین |
| ۴۰۹/۵ ± ۲۳/۲ | ۴۰۱/۶ ± ۲۴/۸ | ۴۳۹/۸ ± ۲۶ | باکلوفن |

* داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار و مربوط به شش موش می باشد.

جدول ۴- اثر باکلوفن (درون صفاقی) بر آستانه درد موشهای سالم (N) و ۴ روز دیابتی شده (D) با آلوکسان (۹۰ mg/kg) وریدی) در آزمون صفحه داغ

| زمان واکنش* (ثانیه) | | | | | درمان |
|---------------------|-------------|--------------|--------------|-----------|-----------------------|
| ۱۲۰ دقیقه | ۹۰ دقیقه | ۶۰ دقیقه | ۳۰ دقیقه | زمان صفر | |
| ۱۰/۹ ± ۱/۴ | ۱۰/۰ ± ۱/۵ | ۹/۴ ± ۱/۳ | ۱۰/۷ ± ۱/۲ | ۸/۵ ± ۰/۶ | نرمال سالین (N) |
| ۱۳/۳ ± ۱/۹ | ۱۵/۷ ± ۱/۶ | ۱۲/۸ ± ۱/۱ | ۱۱/۶ ± ۱/۸ | ۷/۸ ± ۰/۷ | نرمال سالین (D) |
| ۲۲/۲ ± ۲/۲‡ | ۲۲/۱ ± ۲/۹† | ۲۰/۶ ± ۲/۳‡ | ۱۶/۹ ± ۲/۴ | ۷/۹ ± ۰/۹ | باکلوفن ۲/۵ mg/kg (N) |
| ۱۸/۸ ± ۱/۶ | ۲۱/۴ ± ۲/۵† | ۱۸/۳ ± ۱/۸ | ۱۴/۷ ± ۲/۰ | ۷/۵ ± ۰/۶ | باکلوفن ۲/۵ mg/kg (D) |
| ۲۵/۰ ± ۲/۴§ | ۲۴/۸ ± ۱/۷§ | ۲۸/۰ ± ۱/۴۹§ | ۱۸/۳ ± ۱/۸ | ۷/۲ ± ۰/۴ | باکلوفن ۵ mg/kg (N) |
| ۱۶/۱ ± ۱/۸ | ۲۴/۵ ± ۱/۹§ | ۲۶/۲ ± ۲/۵۹§ | ۲۲/۳ ± ۱/۵† | ۷/۸ ± ۰/۷ | باکلوفن ۵ mg/kg (D) |
| ۱۷/۷ ± ۱/۸ | ۲۷/۷ ± ۲/۸§ | ۳۳/۰ ± ۲/۹۱§ | ۳۰/۴ ± ۲/۳§ | ۷/۶ ± ۰/۶ | باکلوفن ۷/۵ mg/kg (N) |
| ۱۹/۹ ± ۲/۵ | ۲۷/۴ ± ۲/۹§ | ۳۵/۱ ± ۲/۱۶§ | ۲۵/۳۶ ± ۲/۹§ | ۶/۱ ± ۰/۳ | باکلوفن ۷/۵ mg/kg (D) |

* هر نقطه مبین میانگین ± خطای معیار زمان واکنش ۸ آزمایش می باشد.
 † p < ۰/۰۵ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ ‡ p < ۰/۰۱ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ § p < ۰/۰۰۱ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)

جدول ۵- اثر باکلوفن درون صفاقی بر آستانه درد موشهای سالم (N) و ۲ هفته دیابتی (D) با آلوکسان (۹۰ mg/kg وریدی) در آزمون صفحه داغ

| زمان واکنش* (ثانیه) | | | | | درمان |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|-----------|-----------------------|
| ۱۲۰ دقیقه | ۹۰ دقیقه | ۶۰ دقیقه | ۳۰ دقیقه | زمان صفر | |
| ۸/۹ ± ۰/۶ | ۸/۳ ± ۰/۷ | ۶/۸ ± ۰/۴ | ۷/۳ ± ۰/۵ | ۶/۰ ± ۰/۷ | نرمال سالین (N) |
| ۱۰/۰ ± ۰/۵ | ۱۱/۴ ± ۰/۶ | ۹/۴ ± ۰/۴ | ۸/۳ ± ۰/۷ | ۶/۹ ± ۰/۴ | نرمال سالین (D) |
| ۱۲/۲ ± ۰/۶ ‡ | ۱۵/۰ ± ۱/۰ § | ۱۴/۵ ± ۰/۷ § | ۹/۵ ± ۰/۷ | ۷/۱ ± ۰/۶ | باکلوفن ۲/۵ mg/kg (N) |
| ۱۴/۸ ± ۰/۶ ‡ | ۱۴/۴ ± ۰/۶ | ۱۳/۸ ± ۰/۹ ‡ | ۹/۱ ± ۰/۹ | ۹/۵ ± ۰/۷ | باکلوفن ۲/۵ mg/kg (D) |
| ۱۳/۸ ± ۰/۸ § | ۱۹/۱ ± ۰/۷ § | ۱۹/۷ ± ۰/۹ § | ۱۰/۲ ± ۰/۷ | ۶/۱ ± ۰/۴ | باکلوفن ۵ mg/kg (N) |
| ۱۳/۶ ± ۰/۸ § | ۱۷/۵ ± ۰/۸ § | ۱۷/۲ ± ۰/۹ § | ۱۱/۵ ± ۰/۸ † | ۷/۲ ± ۰/۵ | باکلوفن ۵ mg/kg (D) |

* هر نقطه مبین میانگین ± خطای معیار زمان واکنش ۸ آزمایش می باشد.

† $p < 0.05$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ ‡ $p < 0.01$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ § $p < 0.001$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)

کمی کاهش در EC50 باکلوفن مشاهده شد (۱۶). اخیراً "Malcangio و Tomlinson کاهش کارایی اثر ضد درد باکلوفن را در موشهای دیابتی شده با استرپتوزوسین گزارش نموده‌اند (۱۵) ولی باید در نظر داشت که مدل ضد درد مطالعه ما متفاوت از این گروه می باشد.

باکلوفن در نوروپاتی دیابتی انسان استفاده شده است و ۱۵ بیمار مبتلا به درد عصبی بعد از هرپس و ۱۰ بیمار دیابتی با درد نوروپاتی تحت درمان با باکلوفن قرار گرفته‌اند. باکلوفن در نوروپاتی دیابتی یا نوروپاتی ناشی از هرپس در ناحیه اسپینال اثر کمی داشت. شش بیمار از ۷ بیمار با درد عصب صورتی ناشی از هرپس پاسخ خوبی به باکلوفن طی ۳ هفته کارآزمایی بالینی دادند (۱۷). در گزارشی دیگر در بیماران، باکلوفن در نوروپاتی دیابتی مقاوم به داروهای رایج، به خوبی باعث متوقف شدن درد شد (۱۳).

نتایج این پژوهش نشان می دهد که برخلاف مرفین، دیابت اثر کمی در کاهش فعالیت ضد درد باکلوفن دارد.

گزارشهای مبنی بر اثر دیابت روی آستانه درد متفاوت می باشد. در آزمون پرش دم، کاهش در آستانه درد بعد از ۴۸ ساعت در موشهای دیابتی مشاهده شد (۳). به تازگی گزارش شده است که محرک گرمایی برخلاف محرک مکانیکی بر روی موشهای دیابتی بعد از ۱۴ روز اثر ندارد (۱۵). در این مطالعه نیز اختلاف معنی دار بین آستانه درد گروه های نرمال و دیابتی مشاهده نشد.

مرفین به عنوان شاهد مثبت در این مطالعه استفاده شد و به علت مطالعات فراوان قبلی فقط یک دوز به کار برده شد. فعالیت ضد درد مرفین در موشهای دیابتی کاهش یافت. این اثر در موشهای دیابتی ۱۴ روز بارزتر بود. اثر مشاهده شده با گزارشهای قبلی در مورد کاهش اثر ضد درد مرفین در موشهای دیابتی با مدل های ضد درد صفحه داغ، پرش دم و tail immersion همخوانی داشت (۴-۷).

فعالیت ضد درد باکلوفن در موشهای دیابتی به طور معنی داری تغییر نکرد. بعد از ۱۰ روز در هیپوکامپ رت های دیابتی شده با استرپتوزوسین، پتانسیل سیناپسی ارتودرومیک گابا یا ماسیمول تغییر نکرد، اگرچه مقدار

مآخذ

1. Lee JH, Cox DJ, Mook DG, McCarty RC. Effect of hyperglycemia on pain threshold in alloxan-diabetic rats. *Pain* 1990; 40: 105-7.
2. Chan AW, MacFarlane IA, Bowsher DR, Wells JC. Does acute hyperglycaemia influence heat pain thresholds? *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1988; 51: 688-90.
3. Bays HE, Pfeifer M. Diabetes mellitus: peripheral diabetic neuropathy. *Medical Clinics of North America* 1988; 72: 1439-64.
4. Akunne HC, Soliman KF. The role of opioid receptors in diabetes and hyperglycemia-induced changes in pain threshold in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 1987; 93: 167-72.
5. Ginawi OT. Morphine analgesia in normal and alloxanized mice. *Archives of International Pharmacodynamics and Therapeutics* 1992; 318: 13-20.
6. Lux F, Brase DA, Dewey WL. Antagonism of antinociception in mice by glucose and fructose: comparison of subcutaneous and intrathecal morphine. *European Journal of Pharmacology* 1988; 146: 337-40.
7. Kamei J, Sodeyama M, Ohsawa M, Kimura M, Tanaka S. Modulation by serum glucose levels on morphine-induced antinociceptive effect in C57BL/KsJ-db/db mice. *Life Sciences* 1998; 62: 1-6.
8. Takeshita N, Yamaguchi I. Meta-chlorophenylpiperazine attenuates formalin-induced nociceptive responses through 5-HT_{1/2} receptors in both normal and diabetic mice. *British Journal of Pharmacology* 1995; 116: 3133-8.
9. Williams AS, Schaible TF, Scheuer J, Kennedy R. Effects of experimental diabetes on adrenergic and cholinergic receptors of rat myocardium. *Diabetes* 1983; 32: 881-6.
10. Bitar MS, Pilcher CW. Insulin-dependent attenuation in alpha 2-adrenoreceptor-mediated nociception in experimental diabetes. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 1997; 56: 15-20.
11. Aley KO, Kulkarni SK. Baclofen analgesia in mice: a GABA_B-mediated response. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 1991; 13: 681-6.
12. Zarrindast MR, Djavdan M. GABAA-antagonists and baclofen analgesia. *General Pharmacology* 1988; 19: 703-6.
13. Anghinah R, Oliveira, ASB, Gabbai AA. Effect of baclofen on pain in diabetic neuropathy. *Muscle & Nerve* 1994; 18: 958-9.
14. Vogel HG, Vogel WH. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays*. Berlin: Springer; 1997.
15. Malcangio M, Tomlinson DR. A pharmacological analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin/diabetic rats. *Pain* 1998; 76: 151-7.
16. Morrison PD, Mackinnon MWB, Bartrup JT, Skett PG, Stone TW. Changes in adenosine sensitivity in the hippocampus of rats with streptozotocin-induced diabetes. *British Journal of Pharmacology* 1992; 105: 1004-8.
17. Terrence CF, Fromm GH, Tenicela R. Baclofen as an analgesic in chronic peripheral nerve disease. *European Neurology* 1985; 24: 380-5.