

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضددرد باکلوفن در موشهای دیابتی شده با آلوکسان

حسین حسینزاده*: دانشیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعالی 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 ضددرد باکلوفن (۷/۵ mg/kg، درونصفاقی) در موشهای دیابتی شده با آلوکسان به مدت ۴ و ۱۴ روز با استفاده از آزمون صفحه داغ بررسی شد.

یافته‌ها: اثر ضددرد وابسته به دوز در پی تجویز باکلوفن در موشهای سالم و موشهای دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت. اثر ضددرد مرفین (۱۰ mg/kg، درونصفاقی) در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد دیابت اثر کمتری روی فعالیت ضددرد باکلوفن نسبت به مرفین داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: باکلوفن، هیپرگلیسمی، فعالیت ضددرد، گابا، مرفین

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

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 اپیوپیدها (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 ضددرد داروهایی مانند اپیوپیدها 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 ضددرد در انسان و حیوان است (۱۱-۱۳). در این مطالعه

روشها

حیوانات: موشهای نر با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم، در چرخه نوری ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت تاریک در دمای ۲۱ ± ۲°C نگهداری می‌شدند.

ایجاد دیابت: دیابت با تزریق (از راه ورید دم) ۹۰ mg/kg آلوکسان مونوهیدرات ایجاد می‌شد و حیوانات بعد از ۷۲ ساعت از نظر دیابتی شدن بررسی می‌شدند. موشهایی که قند خون ناشتاً بیش از ۲۵۰ mg/kg داشتند، برای آزمایشها 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 $۹۱/۰ \pm ۴/۷$ mg/dl به $۱۹/۹ \pm ۴/۵$ mg/dl شد ($p < ۰/۰۰۱$).

در آزمون صفحه داغ، مرفین ۱۰ mg/kg درونصفاقی) باعث اثر ضددرد در گروههای شاهد و دیابتی ۴ روزه شد. در بعضی زمانها (۳۰ و ۱۲۰ دقیقه) دیابتی اثر ضددردی در گروه دیابتی معنی دار نبود (جدول ۱). در مoshهای دیابتی بعد از ۱۴ روز، اختلاف معنی داری در زمان ۶۰ دقیقه بین اثر ضددرد مرفین در گروه نرمال و گروه دیابتی وجود داشت (جدول ۲). باکلوفن (۲/۵-۷/۵ mg/kg درونصفاقی) قند خون moshهای دیابتی را بعد از ۱۲۰-۳۰ دقیقه تغییر نداد (جدول ۳). اگرچه باکلوفن باعث اثر ضددرد در گروههای نرمال و دیابتی شد، اختلاف معنی داری بین این دو گروه وجود نداشت (جدول ۴ و ۵).

بحث

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

نمونه گیری خون: نمونه خون برای تعیین قند پلاسما توسط لوله های مویین میکروهماتوکریت هپارینه از گوشه چشم موش پس از ۱۸ ساعت ناشتاپی (بدون محدودیت آب) گرفته می شد. غلظت قند خون توسط (Boehringer Mannheim, Refloluxs Germany) اندازه گیری می شد.

اثر ضددرد: آزمون صفحه داغ (۱۴) بر روی moshهای نر توسط دستگاه صفحه داغ (شرکت فاراد- مشهد) اندازه گیری شد. دمای صفحه داغ $۵۵ \pm ۰/۲^{\circ}\text{C}$ تنظیم شد. زمان پاسخ به حرارت (لیسیدن پنجه یا پرش) قبل و بعد از تجویز دارو اندازه گیری شد. زمان ختم عمل ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

بررسی آماری

داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و آنالیز آماری ANOVA جهت داده صورت گرفت و در صورت معنی دار بودن، آزمون بعدی Tukey-Krammer انجام گردید.

یافته ها

در آزمون صفحه داغ، تفاوت معنی داری بین زمان واکنش گروه دیابتی و گروه نرمال moshها وجود نداشت. تجویز تک دوز آلوکسان (۹۰ mg/kg وریدی)

جدول ۱- اثر مرفین درونصفاقی بر آستانه درد moshهای سالم (N) و ۴ روز دیابتی شده (D) با آلوکسان (۹۰ mg/kg) با تزریق وریدی) در آزمون صفحه داغ

زمان واکنش * (ثانیه)					
۱۲۰ دقیقه	۹۰ دقیقه	۶۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	زمان صفر	
$۹/۴ \pm ۱/۰$	$۱۰/۰ \pm ۱/۰$	$۸/۱ \pm ۱/۱$	$۸/۶ \pm ۱/۵$	$۷/۹ \pm ۰/۶$	نرمال سالین (N)
$۱۰/۷ \pm ۱/۱$	$۹/۰ \pm ۱/۳$	$۸/۲ \pm ۱/۴$	$۸/۰ \pm ۰/۸$	$۸/۸ \pm ۰/۵$	نرمال سالین (D)
$۱۵/۷ \pm ۱/۸ \ddagger$	$۱۷/۲ \pm ۲/۲ \ddagger$	$۲۲/۰ \pm ۲/۴ \ddagger$	$۱۳/۶ \pm ۱/۰ \ddagger$	$۸/۱ \pm ۰/۷$	مرفین ۱۰ mg/kg (N)
$۱۲/۰ \pm ۰/۸$	$۱۵/۲ \pm ۱/۴ \ddagger$	$۲۴/۶ \pm ۲/۶ \ddagger$	$۱۱/۰ \pm ۱/۱$	$۶/۸ \pm ۰/۴$	مرفین ۱۰ mg/kg (D)

* هر نقطه میان میانگین \pm انحراف معیار زمان واکنش در هشت mosh 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 ۲- اثر مرفین درون صفاقی بر آستانه درد موشهای سالم (N) و ۲ هفتۀ 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§	۱۲/۲ ± ۲/۰†	۷/۲ ± ۰/۵	مرفین ۱۰ mg/kg (N)
۸/۸ ± ۱/۱	۱۰/۸ ± ۱/۴	۱۴/۳ ± ۱/۲‡	۱۲/۸ ± ۱/۵‡	۶/۷ ± ۰/۴	مرفین ۱۰ mg/kg (D)

* هر نقطه میانگین ± انحراف معیار زمان واکنش در هشت موش می‌باشد.
† $p < 0.05$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ ‡ $p < 0.01$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ § $p < 0.001$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ || $p < 0.05$ (مقایسه با مرفین در گروه دیابتی)

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

قدنخون* (mg/dl)			درمان
دو ساعت	یک ساعت	نیم ساعت	
۳۷۹/۵ ± ۲۸/۵	۳۰/۸/۵ ± ۲۹/۵	۴۰/۷ ± ۲۹/۴	نرمال سالین
۴۰/۹/۵ ± ۲۲/۲	۴۰/۱/۶ ± ۲۴/۸	۴۳۹/۸ ± ۲۶	باکلوفن

*داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار و مربوط به شش موش می‌باشد.

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§	۱۸/۲ ± 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§	۲۵/۲۶ ± ۲/۹§	۶/۱ ± ۰/۳	باکلوفن ۷/۵ mg/kg (D)

* هر نقطه میانگین ± خطای معیار زمان واکنش ۸ آزمایش می‌باشد.
† $p < 0.05$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ ‡ $p < 0.01$ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالین)؛ § $p < 0.001$ (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	۸/۲ ± ۰/۷	۶/۸ ± ۰/۴	۷/۲ ± ۰/۵	۶/۰ ± ۰/۷	نرمال سالمین (N)
۱۰/۰ ± ۰/۵	۱۱/۴ ± ۰/۶	۹/۴ ± ۰/۴	۸/۳ ± ۰/۷	۶/۹ ± ۰/۴	نرمال سالمین (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)
۱۴/۱ ± ۰/۶‡	۱۴/۴ ± ۰/۶	۱۲/۸ ± ۰/۹‡	۹/۱ ± ۰/۹	۹/۵ ± ۰/۷	باکلوفن ۲/۵ mg/kg (D)
۱۲/۸ ± ۰/۸§	۱۹/۱ ± ۰/۷§	۱۹/۷ ± ۰/۹§	۱۰/۲ ± ۰/۷	۶/۱ ± ۰/۴	باکلوفن ۵ mg/kg (N)
۱۲/۶ ± 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 میانگین ± خطای معیار زمان واکنش ۸ آزمایش می باشد.

‡ p<۰/۰۵ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالمین) ; § p<۰/۰۱ (آزمون توکی؛ مقایسه با سالمین)

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

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 می‌دهد که برخلاف مرفین، دیابت اثر کمی در کاهش فعالیت ضددرد باکلوفن دارد.

گزارش‌های مبنی بر اثر دیابت روی آستانه درد متفاوت می‌باشد. 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 معنی‌دار بین آستانه درد گروه‌های 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 ضددرد مرفین در موشهای دیابتی کاهش یافت. این اثر در موشهای دیابتی ۱۴ روز بازتر بود. اثر مشاهده شده با گزارش‌های قبلی در مورد کاهش اثر ضددرد مرفین در موشهای دیابتی با مدل‌های ضددرد صفحه داغ، پرش دم و tail immersion همخوانی داشت (۷-۴).

فعالیت ضددرد باکلوفن در موشهای دیابتی به طور معنی‌داری تغییر نکرد. بعد از ۱۰ روز در هیپوکامپ رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسمین، پتانسیل سیناپسی ارتودرومیک گابا یا ماسیمول تغییر نکرد، اگرچه مقدار

مأخذ

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, Bräse 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. GABA_A-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.