

بررسی نقش پروتئین nNOS در کاهش اثر ضددردی بوپیواکائین در موش‌های

صحرایی نر تحمل یافته به تزریق مکرر مورفین

ساره امامی^۱، دکتر هما مناهجی^{*}^۱، سمیرا دانیالی^۱

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: اثر ضد دردها در افرادی که سوء مصرف به مواد اپیوئیدی دارند، کاهش می‌یابد. در ارتباط با نقش پروتئین nNOS در تحمل به مورفین گزارش‌های وجود دارد، ولی نقش آن در کاهش اثر ضد دردی بیحس‌کننده‌های موضعی در شرایط تحمل به مورفین مشخص نمی‌باشد. لذا در این پژوهش به نقش پروتئین nNOS روی اثر ضد دردی بوپیواکائین در موش‌های صحرایی نر تحمل یافته به مورفین پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده گردید. از روش کاشت کانول در نخاع استفاده شد. ۵ µg/kg مورفین ۳ نوبت در روز و به مدت ۵ روز به صورت اینتراتکال تزریق گردید. جهت بررسی تحمل در روز ۵، از آزمون فرمالین استفاده شد. ۲۰ دقیقه پس از تزریق آخرین دوز مورفین در روز ۵، بوپیواکائین ۵ µg/kg به صورت اینتراتکال تزریق و سپس آزمون فرمالین انجام گرفت. در سری دیگر آزمایشات، ۲۰ دقیقه پس از تزریق آخرین دوز مرفین در روز ۵، بوپیواکائین ۵ µg/kg و سپس بعد از ۲۰ دقیقه، ۷- NI به عنوان مهارکننده‌ی آنزیم nNOS، با دوز ۱۰ µg/kg تزریق گردید و پس از ۶۰ دقیقه، آزمون فرمالین انجام گرفت.

یافته‌ها: تزریق مکرر مورفین تحمل ایجاد نمود. اثر ضد دردی بوپیواکائین در حیوانات تحمل یافته به مورفین کاهش یافت. استفاده از مهارکننده‌ی nNOS توانست کاهش معنی‌داری در درد گروه تحمل یافته به مورفین همراه با بوپیواکائین در مقایسه با گروه تحمل یافته به مورفین ایجاد کند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که فعالیت آنزیم nNOS در کاهش اثرات ضد دردی بوپیواکائین در تزریق مکرر مورفین، نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: تحمل به مورفین، بوپیواکائین، nNOS

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Emami S, Manaheji H, Daniali S. Study the role of nNOS protein on reduction of bupivacaine analgesic effect in morphine tolerant male rats. Pejouhandeh 2016;20(6):334-341.

مقدمه

طولانی مدت اپیوئیدها وجود دارد، ایجاد تحمل و واستگی روانی و جسمی به آن می‌باشد (۳،۲). کاهش اثرات ضد دردی مورفین در بیماران با سابقه‌ی سوء مصرف مواد مخدر و همچنین دردهای نوروپاتیک، از جمله مشکلات و عوامل محدود کننده‌ی مصرف این دارو می‌باشد (۱،۴). مطالعات مختلفی در زمینه‌ی داروها و عواملی که بتوانند اثر ضددردی اپیوئیدها را افزایش و تحمل و واستگی به آنها را کاهش دهند، صورت گرفته است (۲). تحقیقات نشان داده است که عملکرد مورفین در حضور داروهای بیحس‌کننده‌ی موضعی مانند لیدوکائین تقویت می‌شود و از طرفی در کلینیک دیده شده است مدت اثر داروهای بیهوشی در افرادی که سوء

استفاده‌ی مکرر از اپیوئیدها (مزمن) منجر به پیدایش تحمل می‌شود که برای رسیدن به اثراً اولیه آن استفاده از دوز بالاتر ضروری می‌باشد (۱). مورفین به عنوان یکی از بهترین گروه‌های دارویی جهت کاهش دردهای حاد و مزمن به طور وسیعی به کار گرفته می‌شود. مشکل عمدہ‌ای که برای مصرف

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر هما مناهجی؛ مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛
صندوق پستی: صندوق پستی ۲۲۴۳۹۹۷۱، ۰۲۱؛ تلفن: ۰۹۶۱۵-۱۱۷۸؛ پست
الکترونیک: Manahejih@sbmu.ac.ir

جهت اطمینان از ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مورفین در روز ۲۰، دلیل پس از آخرین تزریق اینتراتکال، آزمون فرمالین انجام شد. در گروه کنترل، به جای مورفین اینتراتکال، سالین تزریق گردید و پس از ۲۰ دقیقه، آزمون فرمالین جهت بررسی درد انجام شد. در گروه سوم، از تزریق تک دوز مورفین ۱۰ mg/kg به تنهایی (گروه حاد) و (جهت نشان دادن اثرات ضد دردی آن) و همچنین پس از تزریق مزمن آن (به منظور تأیید تحمل ایجاد شده) به صورت زیر پوستی استفاده گردید و پس از ۲۰ دقیقه، آزمون فرمالین جهت بررسی درد انجام شد. در گروه چهارم، پس از ایجاد تحمل به مورفین با روشی که ذکر شد، در روز ۵ بوپیواکائین ۵ µg/kg به صورت اینتراتکال و تک دوز تزریق گردید و پس از ۲۰ دقیقه، آزمون فرمالین انجام شد. در گروه پنجم، برای بررسی اثر ضد دردی بوپیواکائین (محلول در سالین) به تنهایی ۲۰ دقیقه پس از تزریق بوپیواکائین ۵ µg/kg، آزمون فرمالین انجام گرفت. در گروه ششم به منظور بررسی نقش آنزیم nNOS در گروه ۷ تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین، داروی 7-nitroindazol (7-NI) به صورت محلول در سالین به میزان ۱۰ µg/kg به صورت اینتراتکال و تک دوز تزریق گردید و یک ساعت پس از آن، آزمون فرمالین انجام گرفت.^(۴)

کاشت کانول در همان روز جراحی SNL و روی حیوان بیهوش صورت گرفت. بدین ترتیب که یک لوله پلی اتیلن PE-10 به طول ۷/۵ سانتی متر و به صورت داخل نخاعی از سوراخ بین مهره‌ای L4 و L5 عبور داده شد و به طول ۲ سانتی متر در جهت کرانیال وارد فضای زیر عنکبوتیه گردید. آنگاه انتهای دیگر کاتتر با حرارت مسدود و ناحیه‌ی زخم بخیه گردید. همه‌ی داروها در نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شده و در حجم ۵ میکرولیتر از طریق سرنگ همیلتون تزریق گردید.^(۷)

برای انجام آزمون فرمالین از جعبه‌ی آزمایشی که آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن قرار داشت، استفاده گردید. جهت سازگاری با محیط، حیوانات نیم ساعت قبل از آزمون در محیط آزمایش قرار داده می‌شدند. ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۰/۲۵٪ به صورت زیر جلدی به ناحیه‌ی کف پای چپ حیوان (در حالی که محدود شده بود) تزریق و سپس حیوان به جعبه‌ی آزمایش برگردانده و بلا فاصله از نظر واکنش‌های درد، بررسی گردید. هر ۱۵ ثانیه یک بار تا ۶۰ دقیقه، حرکات حیوان به صورت کمی ثبت می‌شد، به طوری که در هر زمان، یکی از رتبه‌های ۰ تا ۳ به شرح زیر به حرکات داده می‌شد: رتبه صفر: در این حالت هر دوی پای حیوان بر روی زمین قرار

صرف به مواد اپیوئیدی دارند، کاهش می‌یابد^(۵). از مهم‌ترین مکانیسم‌های درگیر در پدیده‌ی تحمل به مورفین، سیستم nitric oxide (NO) می‌باشد. گزارش‌هایی در ارتباط با نقش آنزیم neuronal nitric oxide synthase (nNOS) در مکانیسم‌های درگیر در تحمل به مورفین وجود دارد، بدین صورت که به دنبال تجویز مورفین، گیرنده‌های اپیوئیدی فعال شده و منجر به جریان یافتن کلسیم به داخل سلول و افزایش فعالیت nNOS می‌شود که به دنبال آن، با افزایش تولید NO اثر ضد دردی مورفین کاهش می‌یابد^(۳). از طرف دیگر، در سایر مطالعات دیده شده است که NO خود درد را در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی همانند اپیوئیدها مهار می‌کند^(۶). در ارتباط با نقش nNOS در تحمل به مورفین گزارش‌هایی وجود دارد، ولی نقش آن در کاهش اثرات ضد دردی بیحس کننده‌های موضعی در شرایط تحمل به مورفین مشخص نمی‌باشد. لذا پژوهش حاضر جهت شناخت مکانیسم‌های دخیل در کاهش اثرات ضد دردی بیحس کننده‌ی موضعی بوپیواکائین و نقش nNOS به دنبال مصرف مزمن مورفین صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر، نژاد ویستار با وزن بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در ۸ گروه استفاده گردید. حیوانات در شرایط کنترل شده از نظر درجه حرارت، دسترسی آزادانه به آب و غذا و سیکل ۱۲ ساعته‌ی تاریکی و روشنایی، در قفس‌های جداگانه در گروه‌های ۲ تا ۳ تا یک نگهداری شده و در تمام مدت به جز زمان انجام آزمایش، دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد و کافی داشتند. کلیه‌ی آزمایشات بین ساعت ۸ صبح تا ۳ بعد از ظهر انجام می‌گرفت. تمامی آزمایش‌ها منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه ملی بهداشت آمریکا (NIH) انجام شده و کلیه روش‌ها مورد تأیید کمیته اخلاق تحقیق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بوده است.

ابتدا حیوانات به ۶ گروه تقسیم شدند. در گروه اول برای ایجاد تحمل به مورفین پس از بیهوش نمودن حیوانات با پنتوباربیتال ۵۵ mg/kg (سیگما، آمریکا) با استفاده از لوله پلی اتیلن شماره‌ی ۱۰ در بین سگمنت‌های ۴ و ۵ نخاع کانول گذاشته می‌شد. آنگاه پس از یک دوره ریکاوری بیست و چهار ساعته، جهت ایجاد تحمل به مورفین، از تزریق اینتراتکال ۵ روزه و مزمن مورفین (شرکت تماد، ایران) به صورت ۳ نوبت در روز با فواصل ۳ ساعت و به میزان ۵ µg/kg استفاده شد^(۵).

نقش nNOS در کاهش اثر ضد دردی بوپیواکائین

حداد یا گروه تحمل نیافته به مورفین با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، کاهش معنی داری در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه تحمل نیافته به مورفین نشان داد ($P < 0.001$ ، $P < 0.05$ ***). ولی مقایسه نتایج حاصل از تست رفتاری گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معنی داری در درد فازهای اول و دوم فرمالین نشان نداد (نمودار ۱).

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین در گروه دریافت کننده‌ی بوبیواکائین به تنها یابی با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه دریافت کننده‌ی بوبیواکائین نشان داد ($P < 0.01$ ، $P < 0.001$ ، $n=6$).

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیوکائین در مقایسه با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین بین گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد (نمودار ۳).

مقایسه نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین و داروی NI-7 در مقایسه با گروه NI-7 به تنها ی و گروه تحمل یافته به مورفین، کاهش معنی داری را در درد فاز دوم تست فرمالین در گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین نشان داد $P < .000$ ، $***$ ، نمودار ۴)

گرفته و وزن حیوان به صورت یکسان بین دو پا تقسیم می شد.
رتبه ۱: در این حالت حیوان وزن کمری را به پای تزریق شده اختصاص داده به طوری که بیشتر وزن بدن را هنگام راه رفتن یا استراحت روی پای دیگر قرار می داد.

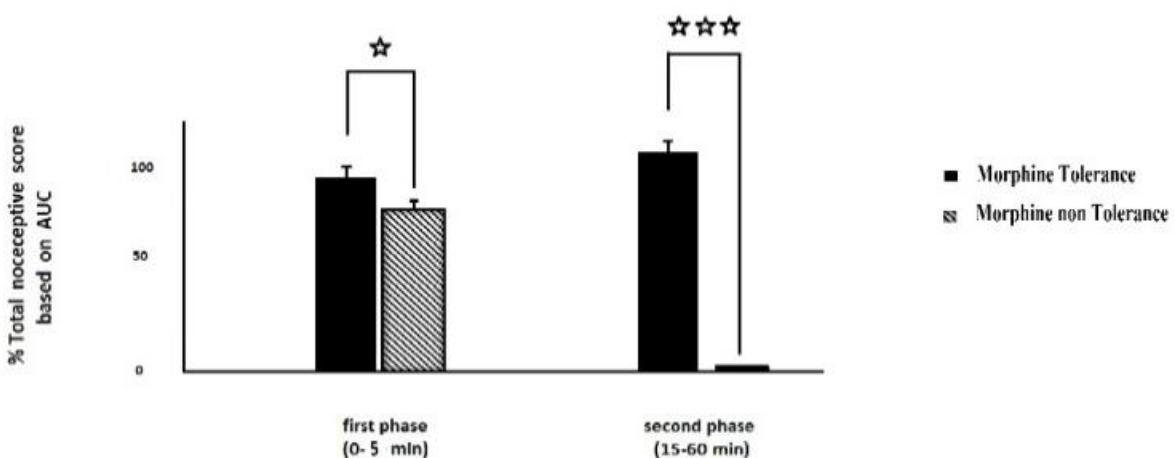
رتبه ۲: پای تزریق شده به صورت کامل بالاتر از سطح زمین نگه داشته می‌شد.

رتبه ۳: در این مرحله، حیوان رفتارهایی مانند لیسیدن گاز گرفتن پای تزریق شده را از خود نشان می‌داد. در هر ۱۵ ثانیه نمره به حرکتی تعلق می‌گرفت که بیشترین زمان را به خود اختصاص داده بود. برای هر نمونه، میانگین نمرات در هر ۵ دقیقه محاسبه شده و جهت رسم منحنی پاسخ-زمان از آن استفاده می‌شد.

داده‌های این پژوهش به صورت mean \pm SEM بیان شدند و معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد. سطح زیر نمودار AUC (Area under curve) منحنی آزمون فرمالین کلیه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل محاسبه شد و سپس نسبت به گروه کنترل، نرمالایز گردید و با استفاده از آزمون One-way ANOVA و پس آزمون Tukey، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

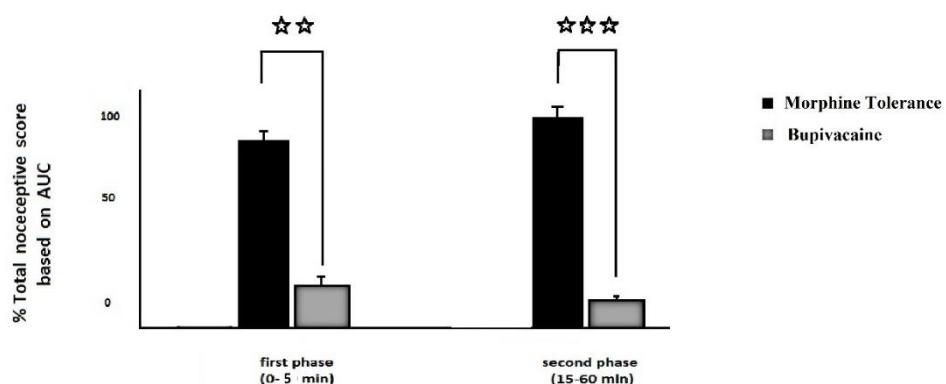
ما فته‌ها

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین در گروه



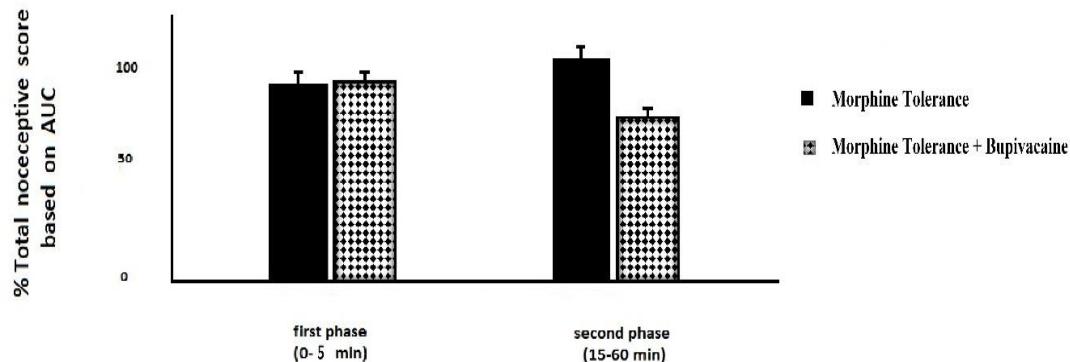
نmodar 1. مقایسه نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه حاد یا گروه تحمل نیافته به مورفین با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، کاهش معنی داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه تحمل نیافته نشان داد ($P<0.001$). ولی مقایسه نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معنی داری را در درد فازهای اول و دوم فرمالین نشان نداد. نتایج به صورت سطح زیر نمودار (AUC) و Mean \pm SEM نشان داده شده است (n=6). منحنی آزمون فرمالین کلیه گروهها با استفاده از نرم افزار اکسل محاسبه شد و سپس نسبت به گروه کنترل نرمالایز شد. نتایج با استفاده آنوموی Tukey و آنوفا One-way ANOVA آنالیز شدند.

Phase 2: Treatment effect (2, 12), $P < 0.0001$; 13.1, $P < 0.05$



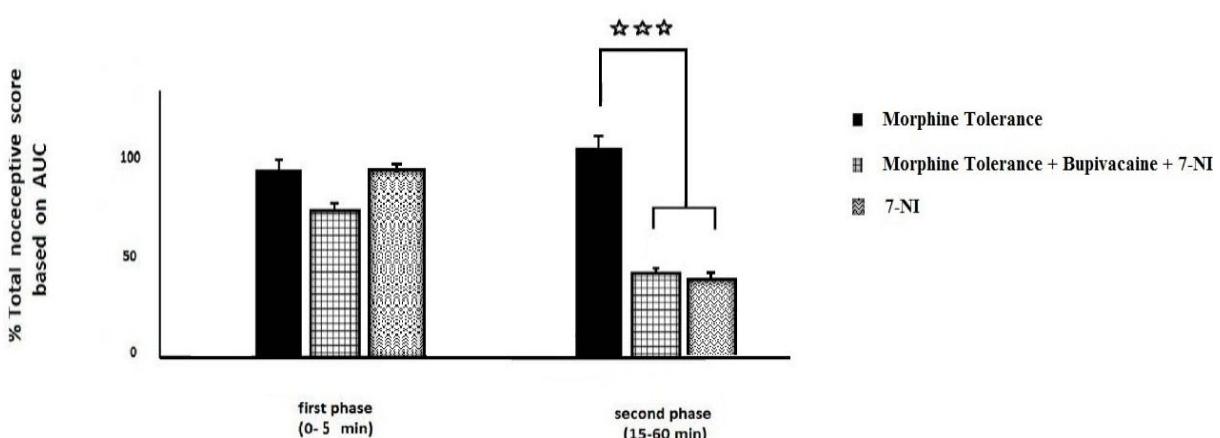
نمودار ۲. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه دریافت کننده بوبیواکائین به تنها‌یابی با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه دریافت کننده بوبیواکائین نشان داد ($P<0.001$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$). نتایج به صورت سطح زیر نمودار Mean \pm SEM (AUC) و نشان داده شده است ($n=6$). منحنی آزمون فرمالین کلیه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل محاسبه شد و سپس نسبت به گروه Phase1: Treatment effect مورد تجزیه و پس آزمون Tukey One-way ANOVA و پس آزمون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

$$\text{Phase 1: Treatment effect } (1.382, 5.526) = 20.61, P<0.0001; \text{ Phase 2: Treatment effect } (2, 12) = 32.35, P<0.0001$$



نمودار ۳. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوبیواکائین در مقایسه با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین بین گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد. نتایج به صورت سطح زیر نمودار Mean \pm SEM (AUC) و نشان داده شده است ($n=6$). منحنی آزمون فرمالین کلیه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل محاسبه شد و سپس نسبت به گروه کنترل نرمالایز گردید و با استفاده از آزمون Tukey One-way ANOVA و پس آزمون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

$$\text{Phase 1: Treatment effect } (1.720, 6.881) = 0.5290; \text{ Phase 2: Treatment effect } (2, 12) = 1.513$$



نمودار ۴. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوبیواکائین و داروی 7-NI در مقایسه با گروه 7-NI به تنها‌یابی و گروه تحمل یافته به مورفین، کاهش معنی‌داری را در درد فاز دوم تست فرمالین در گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوبیواکائین نشان داد ($P<0.001$, *** $P<0.001$). نتایج به صورت سطح زیر نمودار Mean \pm SEM (AUC) و نشان داده شده است ($n=6$). منحنی آزمون فرمالین کلیه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل محاسبه شد و سپس نسبت به گروه کنترل نرمالایز گردید و با استفاده از آزمون Tukey One-way ANOVA و پس آزمون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

$$\text{Phase 1: Treatment effect } (1.928, 7.711) = 3.972; \text{ Phase 2: Treatment effect } (3, 16) = 31.83, P<0.0001$$

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز مزمن مورفین به صورت اینتراتکال به مدت ۵ روز و هر روز در ۳ نوبت، اثرات ضد دردی مورفین را کاهش داده و نسبت به آن تحمل ایجاد نموده است. از این رو در مقایسه نتایج رفتاری حاصل از آزمون فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معناداری در دو فاز آزمون دیده نشد. لذا همان طور که اشاره شد، تزریق مکرر مورفین سبب کاهش اثر ضد دردی آن روی درد ناشی از فرمالین شده است. در این آزمایشات همچنین از تزریق تک دوز مورفین به تنها یک (جهت نشان دادن اثرات ضد دردی آن) و پس از تزریق مزمن آن (به منظور تأیید تحمل ایجاد شده) استفاده گردید. در مقایسه نتایج حاصل از تزریق تک دوز حاد مورفین با گروه تحمل یافته به مرفین و گروه کنترل در هر دو فاز فرمالین، اختلاف معناداری دیده شد که نشان دهنده اثر تک دوز حاد مورفین در ایجاد بی دردی است. ولی در تزریق تک دوز مورفین پس از تجویز مزمن مورفین به مدت ۵ روز، اثر ضددردی دیده نشد، که گویای ایجاد تحمل به مورفین بوده است. در تأیید این نتایج، Wong در سال ۲۰۰۰ با تزریق داخل نخاعی $10 \mu\text{g}$ مورفین بعد از ۵ روز، تحمل به اثر بی دردی مورفین را در آزمون Tail flick نشان داد (۸). در تحقیق دیگری Powell و همکاران در سال ۲۰۰۰ و پس از آن Lim و Lin به صورت جداگانه در سال ۲۰۰۵ پس از تزریق ۷ روزه داخل نخاعی مورفین، کاهش اثر ضددردی مورفین را در آزمون Tail flick نشان دادند (۹-۱۱).

گزارش‌هایی نیز مبنی بر افزایش درد ناشی از فرمالین در مصرف مزمن مورفین نسبت به کنترل، وجود دارد. Trujillo در سال ۱۹۹۳ نشان داد که ۴ ساعت پس از کاشت کپسول زیر پوستی مورفین، تحمل به اثر ضد دردی آن در حضور آزمون فرمالین قابل اندازه‌گیری است، به طوری که پس از گذشت ۴۸ ساعت نیز افزایش یافته و به حداقل خود رسیده است (۱۲). از طرفی Detweiler در سال ۱۹۹۵ نشان داد تزریق تک دوز مورفین 10 mg/kg به صورت زیر جلدی در تست فرمالین و Tail flick، اثرات ضد دردی داشته است (۱۳). علاوه بر آن سیروسی در آزمایشگاه درد گروه فیزیولوژی، با تجویز ۲۱ روزه مورفین خوراکی، تحمل به اثرات ضد دردی آن را نشان داد. وی همچنین با تزریق تک دوز مورفین 10 mg/kg به صورت داخل صفاقی در تست فرمالین، اثرات ضد دردی آن را نیز گزارش نمود (۱۴). در آزمایشات ما نیز پس از تجویز تک دوز مورفین، نتیجه‌ی

وریدی ۸ ساعته مورفین و ایجاد تحمل به آن، افزایش nNOS را در مغز گزارش نمود (۲۴)، ولی در سال ۱۹۹۸ به دنبال کاشت کپسول زیر پوستی مورفین پس از ۳ روز تحمل ایجاد نمود که در پی آن افزایش nNOS را در مغز نشان داد (۲۵).

از این رو در بخش دیگری از این پژوهش به منظور بررسی نقش nNOS در کاهش اثر ضد دردی بوپیوکائین در شرایط تحمل به مورفین از داروی 7-NI (مهارکننده اختصاصی nNOS)، استفاده گردید. نتایج نشان داد که استفاده ای اینتراتکال از 7-NI به تنها یابی و پس از تزریق آخرین دوز مورفین به همراه بوپیوکائین، توانسته است تحمل به اثر ضددردی مورفین را در درد ناشی از فرمالین کاهش دهد؛ البته این کاهش در فاز اول معنی دار نبود ولی با افزایش زمان اینترافاز ظهور فاز دوم را به تعویق انداخته است و سبب کاهش فاز دوم در هر دو گروه تحمل یافته به همراه 7-NI گردیده است. گرچه استفاده از 7-NI به تنها یابی نیز کاهش درد را نشان داده است، ولی به نظر می‌رسد توانسته است در بهبود اثر ضد دردی مورفین در شرایط تحمل به اثر ضد دردی آن و بوپیوکائین در شرایط تحمل به اثر ضد دردی مورفین نقش داشته باشد. در همین راستا Singh در سال ۲۰۱۳ و Wong در سال ۲۰۰۰ گزارش نمودند که تزریق داخل صفاقی 7-NI تحمل و وابستگی به اثرات ضد دردی مورفین را در آزمون Tail flick کاهش داده است (۲۶، ۸). همچنین Elliot در سال ۱۹۹۴ نشان داد تزریق زیر جلدی مهارکننده‌های غیراختصاصی nNOS مانند NOrArg و L-NAME و N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA) را در آزمون NOS جلوگیری کرده و تحمل و وابستگی به مورفین را در آزمون Tail flick کاهش داده است (۴).

همان‌طور که ذکر گردید، در پژوهش حاضر استفاده از تک دوز 7-NI توانست زمان اینترافاز آزمون فرمالین را افزایش دهد و در ظهور فاز دوم تأخیر ایجاد نماید و به عبارتی درد را کاهش داده است. بعلاوه Bahari و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ تزریق نخاعی 7-NI در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی، درد حرارتی و مکانیکی کاهش یافته است (۲۷). از نتایج این پژوهش چنین بر می‌آید که آنزیم nNOS در مکانیسم‌های دخیل در کاهش اثرات ضد دردی بوپیوکائین طی تزریق مکرر مورفین نقش داشته باشد، به طوریکه مهار این آنزیم سبب افزایش بی‌دردی گردیده است. لذا به نظر می‌رسد که مهارکننده‌های nNOS بتوانند چشم‌انداز جدیدی را در افزایش اثر ضد دردهای غیرمخدري در شرایط تحمل به مورفین، پيش رو قرار دهند.

می‌باشد (۵). پژوهش حاضر نیز نشان داد که تجویز بوپیوکائین پس از ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مورفین نتوانسته است درد را کاهش دهد.

در تحقیق Cooper و همکاران در سال ۲۰۰۲ دیده شده است که تزریق ۳ ساعته فنتالین در حین عمل جراحی در مقایسه با تزریق تک دوز آن قبل از جراحی، در ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مورفین که پس از عمل تجویز شده است، نقش داشته به نحوی که درد باشدت بیشتری توسط بیماران احساس گردیده است. به نظر می‌رسد فنتالین با تحریک گیرنده‌های می‌توانسته است موجب پیدایش تحمل به اثر ضددردی مورفین شود (۲۱).

Zirak و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند زمان اثر تزریق اینتراتکال بوپیوکائین توازن با فنتالین (داروی ضد درد مخدر)، نیز در گروه با سابقه سوء مصرف به اپیوئیدها در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بوپیوکائین به تنها یابی کوتاه‌تر بوده است (۲۲). از طرفی استفاده هاد از اپیوئیدها به همراه بیحس‌کننده‌های موضعی نیز منجر به بی‌دردی می‌شود، لذا چنانچه در آزمایشگاه و یا در کلینیک از اپیوئیدها به همراه بیحس‌کننده‌های موضعی توازن با یکدیگر و به صورت هاد استفاده شود در کاهش درد بسیار مؤثر می‌باشد. Aguirre و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰ اثر بی‌دردی مورفین همراه با دیپپیرون (داروی ضد درد غیر مخدر) را در شرایط تزریق هاد روی درد فرمالین نشان دادند (۲۳). علت تفاوت این نتایج با پژوهش حاضر می‌تواند در ارتباط با اختلاف در مدت زمان استفاده از مورفین باشد، بدین صورت که استفاده می‌زمن از اپیوئیدها می‌تواند از کارایی داروهای بیحس‌کننده موضعی کاسته و از پیدایش بی‌دردی در شرایط تحمل به مورفین جلوگیری نماید.

مطالعات نشان داده است که مکانیسم‌های متعددی در تحمل به مورفین دخیل است. این مکانیسم‌ها مشتمل بر تنظیم کاهشی گیرنده‌های اپیوئیدی می‌باشد، فعالیت گیرنده‌ی N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA) و تولید NO می‌باشد (۱). به دنبال تجویز می‌زمن مورفین، گیرنده‌های اپیوئیدی می‌فعال شده که خود منجر به جریان رو به داخل سلولی کلسیم می‌شود. سپس با افزایش فعالیت nNOS در سیستم عصبی مرکزی و محیطی تولید NO افزایش می‌یابد. NO خود منجر به افزایش ریلیز گلوتامات از نورون‌های پیش‌سیناپسی، افزایش cGMP و PKC می‌شود که این عوامل، خود سبب افزایش تحمل و وابستگی به مورفین می‌باشند (۳، ۱). Heinzen در سال ۲۰۰۴ پس از تزریق

REFERENCES

- Gheibi N, Javdan M. Noxious behaviors from subcutaneous injection of formalin and morphine tolerance effects on the responses of addicted male rats IJPR 2004;3(1):49.
- Hassanzadeh K, Charkhpour M, Habibi Asl B, Sadegh Amiri O. A novel pharmacological role for minocycline: Attenuating the withdrawal syndrome of morphine in rat. Pharm Sci 2009;15(1):67–74.
- Charkhpour M, Hassanzadeh K, Habibi Asl B, Alimohammadi B. Evaluation the effects of systemic administration of minocycline and riluzole on tolerance to morphine analgesic effect in rat. Pharm Sci 2009;15(2):205–12.
- Elliott K, Minami O, Yuri A, Kolesnikov B, Gavril W, Pasternak J. The NMDA receptor antagonists, LY274614 and MK-801, and the nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine, attenuate analgesic tolerance to the mu-opioid morphine but not to kappa opioids. Pain 1994;54(1):69–75.
- Satio Y, kaneko M, kiriha Y, Sakura S, Kosaka Y. Interaction of intrathecally infused morphine and lidocaine in rat. Anesthesiology 1998;89(6):1455–63.
- CuryY, Picoloa G, Gutierrez V, Ferreira S. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. Nitric Oxide 2011;25(3):243–54.
- Storkson RV, Kjorsvik A, Tjolsen A, Hole K. Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat. J Neurosci Meth 1996;65(2):167–72.
- Wong C-S, Hsu M-M, Chou Y, Tao P-L. Morphine tolerance increases [³H] MK-801 binding affinity and constitutive neuronal nitric oxide synthase expression in rat spinal cord. Br J Anaesth 2000;85(4):587–91.
- Powell KJ, Ma W, Sutak M, Doods H, Quirion R, Jhamandas K. Blockade and reversal of spinal morphine tolerance by peptide and non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists. Br J Anaesth 2000;131(5):875–84.
- Lim G, Wang S, Mao J. cAMP and protein kinase A contribute to the downregulation of spinal glutamate transporters after chronic morphine. Neurosci Lett 2005;376(1):9–13.
- Lin J-A, Lee M-S, Wu C-T, Yeh C-C, Lin S-L, Wen Z-H, et al. Attenuation of morphine tolerance by intrathecal gabapentin is associated with suppression of morphine-evoked excitatory amino acid release in the rat spinal cord. Brain Res 2005;1054(2):167–73.
- Trujillo KA, Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-80. Science 1991;251(4989):85–7.
- Detweiler DJ, Rohde DS, Basbaum AL. The development of opioid tolerance in the formalin test in the rat. Pain 1995;63(2):251–4.
- Siroosi S. Study the changes of spinal GABA transporter-1 in tolerance to morphine induced antinociception in rat. Shahid Beheshti University 2015. (Text in Persian)
- Doyle T, Bryant L, Muscoli C, Cuzzocrea S, Esposito E, Chen Z, et al. Spinal NADPH oxidase is a source of superoxide in the development of morphine-induced hyperalgesia and antinociceptive tolerance. Neurosci Lett 2010;483(2):85–9.
- Vanderah TW, Suenaga NM, Ossipov MH, Malan TP, Lai J, Porreca F. Tonic descending facilitation from the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced abnormal pain and antinociceptive tolerance. J Neurosci 2001;21(1):279–86.
- Meng ID, Harasawa I. Chronic morphine exposure increases the proportion of on-cells in the rostral ventromedial medulla in rats. Life Sci 2007;80(20):1915–20.
- Vanderah TW, Ossipov MH, Lai J, Malan TP, Porreca F. Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. Pain 2001;92(1):5–9.
- Moini Zanjani T, Sabetkasaei M. Withdrawal on lidocaine-induced analgesia in rats. Iran Biomed J 2010;14(4):164–70.
- Karbasy H, Derakhshan P. Effects of opium addiction on level of sensory block in spinal anesthesia with bupivacaine for lower abdomen and limb surgery: a Case-control study. Anesth Pain Med 2014;4(5):1–4.
- Cooper DW, Garcia E, Mowbray P, Millar M. Anaesth patient-controlled following spinal fentanyl at caesarean section. Anaesth 2002;57(3):266–70.
- Zirak N, Soltani G, Javdani N, ShamlooA, Bameshki A. Effect of fentanyl in spinal anesthesia with bupivacaine in opium abusers. Razavi Int J Med 2014;2(1):1–4.
- Aguirre-Banuelos P, Granados-Soto V. Evidence for a peripheral mechanism of action for the potentiation of the antinociceptive effect of morphine by dypirone. J Pharmacol Toxicol Methods 1999;42(2):79–85.

24. Heinzen EL, Pollack GM. Pharmacodynamics of morphine-induced neuronal nitric oxide production and antinociceptive tolerance development. *Brain Res* 2004;1023(2):175–84.
25. Bhargavna HN, Kumar S, Barjave MJ. Kinetic properties of nitric oxide synthase in cerebral cortex and cerebellum of morphine tolerant mice. *Pharmacol* 1998;56(5):252–6.
26. Singh RK, Dhanaraj E, Ramarao P. Effects of neuronal NOS selective inhibitor 7-nitroindazol on inhibitory effect of calcium channel blockers on development of tolerance to morphine induced analgesia. *Pharmacologia* 2013;53–9.
27. Bahari Z, Manaheji H, Dargahi L, Daniali S, Norozian M, Meftahi GH, et al. Time profile of nNOS expression in the spinal dorsal horn after L5 spinal root transection in rats. *Neurophysiology* 2015;47(4):287–94.