پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیستم، شماره ۶، پی‌درپی ۱۰۸، صفحات ۳۳۴ تا ۳۴۱
بهمن و اسفند ۱۳۹۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۲۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۶

بررسی نقش پروتئین nNOS در کاهش اثر ضددردی بوپیواکائین در موش‌های صحرایی نر تحمل یافته به تزریق مکرر مورفین

*ساره امامی[1]، دکتر هما مناهجی[*2,1]، سمیرا دانیالی[1]*

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 پروتیئن nNOS در تحمل به مورفین گزارش‌هایی 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 تحمل‌یافته 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. µg/kg ۵ 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 µg/kg ۵ 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 µg/kg ۵ و سپس بعد از ۲۰ دقیقه، 7-NI به عنوان مهارکننده‌ی آنزیم nNOS، با دوز µg/kg ۱۰ تزریق گردید و پس از ۶۰ دقیقه، آزمون فرمالین انجام گرفت.

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

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

واژگان کلیدی: تحمل به مورفین، بوپیواکایین، 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

استفاده‌ی مکرر از اپیوئیدها (مزمن) منجر به پیدایش تحمل می‌شود که برای رسیدن به اثرات 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 عمده‌ای که برای مصرف طولانی مدت اپیوئیدها وجود دارد، ایجاد تحمل و وابستگی 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 محدودکننده‌ی مصرف این دارو می‌باشد (۴،۱). مطالعات مختلفی در زمینه‌ی داروها و عواملی که بتوانند اثر ضددردی اپیوئیدها را افزایش و تحمل و وابستگی 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

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر هما مناهجی؛ مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛ صندوق پستی: صندوق پستی ۱۱۷۸-۱۹۶۱۵؛ تلفن: ۲۲۴۳۹۹۷۱ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: Manahejih@sbmu.ac.ir

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

مصرف به مواد اپیوئیدی دارند، کاهش می یابد (۵).

از مهم‌ترین مکانیسم‌های درگیر در پدیده‌ی تحمل به مورفین، سیستم nitric oxide (NO) می‌باشد. گزارش‌هایی در ارتباط با نقش آنزیم nNOS (neuronal nitric oxide synthase) در مکانیسم‌های درگیر در تحمل به مورفین وجود دارد، بدین صورت که به دنبال تجویز مورفین، گیرنده‌های μ 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 درتحمل به مورفین گزارش‌هایی وجود دارد، ولی نقش آن در کاهش اثرات ضد دردی بیحس‌کننده‌های موضعی در شرایط تحمل به مورفین مشخص نمی‌باشد. لذا پژوهش حاضر جهت شناخت مکانیسم‌های دخیل در کاهش اثرات ضد دردی بیحس‌کننده‌ی 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 ۳تایی 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 پلی‌اتیلن 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) به‌صورت ۳ نوبت در روز با فواصل ۳ ساعت و به میزان ۵ μg/kg استفاده شد (۵). جهت اطمینان از ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مورفین در روز ۵، ۲۰ دقیقه 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 (به‌منظور تأیید تحمل ایجاد شده) به‌صورت 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 به‌صورت 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 به‌منظور بررسی نقش آنزیم nNOS در گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین، داروی 7-nitroindazol (7-NI) به صورت محلول در سالین به‌میزان ۱۰ μg/kg به‌صورت اینتراتکال و تک دوز تزریق گردید و یک ساعت پس از آن، آزمون فرمالین انجام گرفت (۶،۴).

کاشت کانول در همان روز جراحی SNL و روی حیوان بیهوش صورت گرفت. بدین ترتیب که یک لوله پلی اتیلن PE-10 به‌طول ۷/۵ سانتی‌متر و به‌صورت داخل نخاعی از سوراخ بین مهره‌ای L۴ و L۵ عبور داده شد و به طول ۲ سانتی‌متر 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 ۲/۵٪ به صورت زیر جلدی به ناحیه‌ی کف پای چپ حیوان (در حالی‌که محدود شده بود) تزریق و سپس حیوان به جعبه‌ی آزمایش برگردانده و بلافاصله 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

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

گرفته و وزن حیوان به صورت یکسان بین دوپا تقسیم می‌شد.
رتبه ۱: دراین حالت حیوان وزن کمتری را به پای تزریق شده اختصاص داده به طوری که بیشتر وزن بدن را هنگام راه رفتن یا استراحت روی پای دیگر قرار می‌داد.
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 به‌صورت mean±SEM بیان شدند و $P<0/05$ *، $P<0/01$ ** و $P<0/001$ *** به عنوان سطح 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.

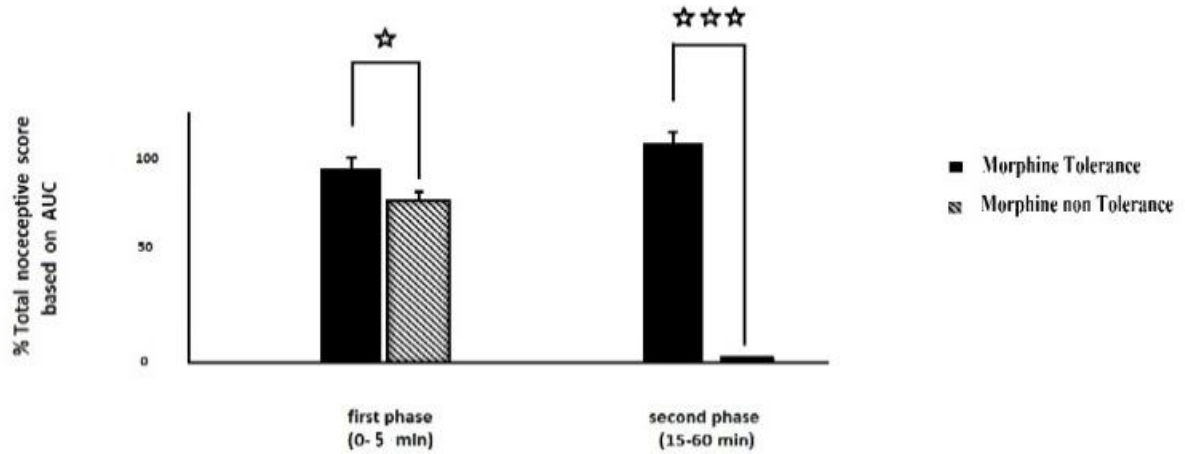
یافته‌ها

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین در گروه حاد یا گروه تحمل نیافته به مورفین با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه تحمل نیافته به مورفین نشان داد ($P<0/001$ ***، $P<0/05$ *) ولی مقایسه‌ی نتایج حاصل از تست رفتاری گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری در درد فازهای اول و دوم فرمالین نشان نداد (نمودار ۱).

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین در گروه دریافت کننده‌ی بوپیواکائین به تنهایی با گروه تحمل یافته به مورفین وگروه کنترل، کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه دریافت‌کننده‌ی بوپیواکائین نشان داد ($P<0/001$ ***، $P<0/01$ **، نمودار ۲).

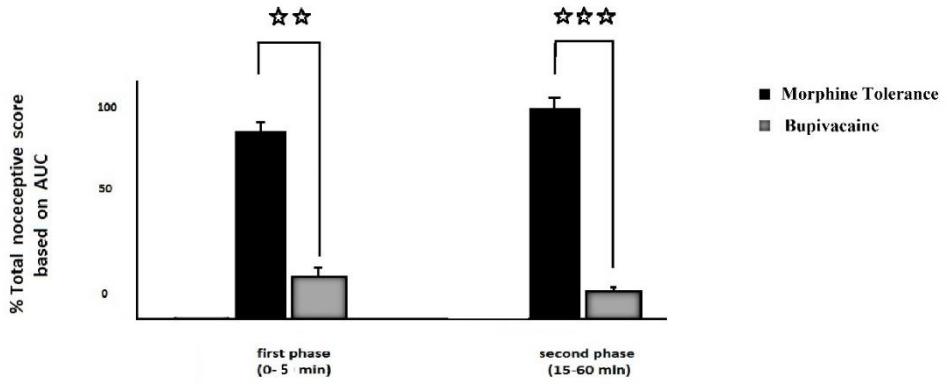
مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین در مقایسه با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین بین گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد (نمودار ۳).

مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین و داروی 7-NI در مقایسه با گروه 7-NI به تنهایی و گروه تحمل یافته به مورفین، کاهش معنی‌داری را در درد فاز دوم تست فرمالین در گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین نشان داد ($P<0/001$ ***، نمودار ۴).

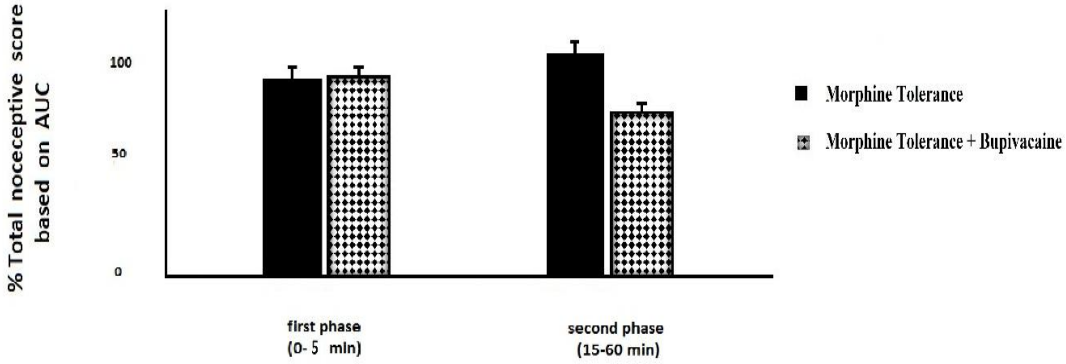


نمودار ۱. مقایسه نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه حاد یا گروه تحمل نیافته به مورفین با گروه تحمل یافته به مورفین و گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه تحمل نیافته نشان داد ($P<0/001$ *، $P<0/05$ *). ولی مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم فرمالین نشان نداد. نتایج به‌صورت سطح زیر نمودار (AUC) و Mean±SEM 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 One-way ANOVA و پس آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. = Phase1: Treatment effect (1.302, 5.209) ؛13.1, P<0.05 Phase 2: Treatment effect (2, 12), P<0.0001.**

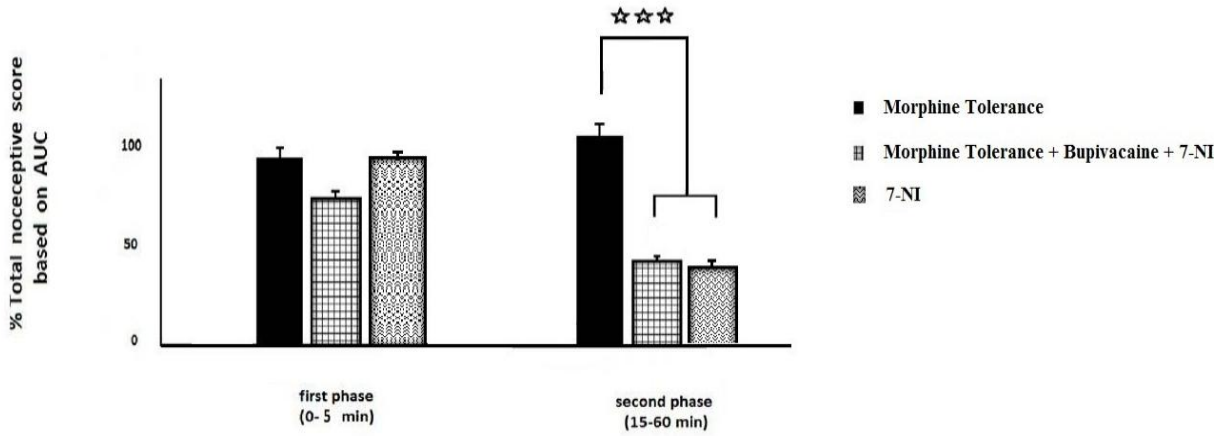
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]



نمودار ۲. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه دریافت کننده بوپیواکائین به تنهایی با گروه تحمل یافته به مورفین وگروه کنترل کاهش معنی‌داری را در درد فازهای اول و دوم تست فرمالین در گروه دریافت کننده‌ی بوپیواکائین نشان داد (P<۰/۰۱ **، P<۰/۰۰۱ *). نتایج به‌صورت سطح زیر نمودار (AUC) و Mean±SEM 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 One-way ANOVA و پس آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. Phase1: Treatment effect (1.382, 5.526) = 20.61, P<0.0001; Phase 2: Treatmenteffect (2, 12) = 32.35, P<0.0001.**



نمودار ۳. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین 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 به‌صورت سطح زیر نمودار (AUC) و Mean±SEM 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 One-way ANOVA و پس آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. Phase 1: Treatment effect (1.720, 6.881) = 0.5290; Phase 2: Treatment effect (2, 12) = 1.513.



نمودار ۴. مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از تست فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین و داروی 7-NI. در مقایسه با گروه 7-NI به تنهایی و گروه تحمل یافته به مورفین، کاهش معنی‌داری را در درد فاز دوم تست فرمالین در گروه تحمل یافته به مورفین توأم با بوپیواکائین نشان داد (P<۰/۰۰۱ *). نتایج به‌صورت سطح زیر نمودار (AUC) و Mean±SEM 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 One-way ANOVA و پس آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. Phase1: Treatment effect (1.928, 7.711) = 3.972; Phase 2: Treatment effect (3, 16)= 31.83, P<0.0001.**

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

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 این‌رو در مقایسه‌ی نتایج رفتاری حاصل از آزمون فرمالین گروه تحمل یافته به مورفین با گروه کنترل، اختلاف معناداری در دو فاز آزمون دیده نشد. لذا همان‌طور 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 تنهایی (جهت نشان دادن اثرات ضد دردی آن) و پس از تزریق مزمن آن (به‌منظور تأیید تحمل ایجاد شده) استفاده گردید. در مقایسه‌ی 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 نشان‌دهنده‌ی اثر تک دوز حاد مورفین در ایجاد بی‌دردی 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 µg ۱۰ مورفین بعد از ۵ روز، تحمل به اثر بی‌دردی 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 به‌صورت جداگانه در سال ۲۰۰۵ پس از تزریق ۷ روزه داخل نخاعی مورفین، کاهش اثر ضددری مورفین را در آزمون Tail flick نشان دادند (۱۱-۹).

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، به‌طوری‌که پس از گذشت ۴۸ ساعت نیز افزایش یافته و به حداکثر خود رسیده است (۱۲). از طرفی Detweiler در سال ۱۹۹۵ نشان داد تزریق تک دوز مورفین mg/kg ۱۰ 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 روزه‌ی مورفین خوراکی، تحمل به اثرات ضد دردی آن را نشان داد. وی همچنین با تزریق تک دوز مورفین mg/kg ۱۰ به‌صورت 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 مشابهی به‌دست آمد. Doyle نیز در سال ۲۰۱۰ با تزریق زیرجلدی تک دوز مورفین mg/kg ۱۰، اثر ضد دردی آن را در آزمون Tail flick نشان داد (۱۵).

مکانیسم‌های درگیر در تحمل به اثر ضددردی اپیوئیدها کاملاً مشخص نیست (۱۶). از جمله تغییراتی که به دنبال مصرف مزمن مرفین رخ می‌دهد، فعال شدن مسیر نزولی تسهیل‌کننده‌ی درد از بخش فوقانی شکمی بصل‌النخاع (RVM) و ناحیه‌ی خاکستری دور قناتی (PAG) است که در تحمل به مرفین دخالت دارند. Meng (۲۰۰۷) نشان داد که افزایش تعداد cells-on در RVM به دنبال مصرف مزمن مورفین باعث افزایش حساسیت این نورون‌ها به درد می‌شود که به دنبال این تغییرات، افزایشی در تحریک‌پذیری سلول‌های شاخ خلفی نخاع مشاهده می‌شود (۱۷). علاوه برآن، افزایش بیان دینورفین نیز باعث فعال شدن و تسهیل مسیر نزولی درد می‌شود که هم در تحمل به اثر ضددردی مورفین و هم هایپرآلژزی حاصل از آن دخالت دارد (۱۸،۱۶).

تحقیقات نه چندان زیادی حاکی از عدم پاسخ بیحس‌کننده‌های موضعی مورد استفاده در پروسه‌های دندانپزشکی و جراحی در افرادی است که سابقه‌ی سوء مصرف مواد مخدر دارند. حتی زمان اثر داروهای بیهوشی در آنها کوتاه‌تر از افراد نرمال گزارش شده است. Moini و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که تزریق دوز پایین لیدوکائین در حیوانات وابسته به مرفین ایجاد بیدردی نمی‌کند (۱۹). لذا در ادامه‌ی پژوهش، جهت شناخت مکانیسم‌های دخیل در کاهش اثر داروهای بیحس‌کننده‌ی موضعی غیر اپیوئیدی به دنبال ایجاد تحمل به مورفین، از بوپیواکائین µg/kg ۵ استفاده شد. نتایج نشان داد که تزریق اینتراتکال بوپیواکائین پس از ایجاد تحمل به مورفین، کاهش معناداری روی درد ناشی از فرمالین نداشته است، در صورتی که تزریق تک دوز آن به تنهایی باعث کاهش درد ناشی از فرمالین در دو فاز اول و دوم گردیده است. بنابراین بوپیواکائین نتوانسته است پس از ایجاد تحمل به مورفین تأثیری روی کاهش درد داشته باشد. همسو با این یافته، Karbasy در سال ۲۰۱۴ گزارش نمود که حس درد در بیماران با سابقه‌ی سوء مصرف به اپیوئیدها، پس از جراحی و تزریق اینتراتکال بوپیواکائین در مقایسه با بیماران فاقد سوء مصرف، بیشتر بوده است (۲۰). Saito در سال ۱۹۹۸ در تزریق اینتراتکال توأم و مزمن ۶ روزه‌ی مورفین و لیدوکائین نشان داد که نه تنها درد کاهش نیافته است بلکه در آزمون Tail flick افزایش نیز نشان داده است. این خود بیانگر عدم اثر مورفین و لیدوکائین در شرایط پیدایش تحمل به مرفین

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

می‌باشد (۵). پژوهش حاضر نیز نشان داد که تجویز بوپیواکائین 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 ساعته‌ی 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 با شدت بیشتری توسط بیماران احساس گردیده است. به‌نظر می‌رسد فنتالین با تحریک گیرنده‌های μ توانسته است موجب پیدایش تحمل به اثر ضددردی مورفین شود (۲۱).

Zirak و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند زمان اثر تزریق اینتراتکال بوپیواکائین توأم با فنتالین (داروی ضد درد مخدر) نیز در گروه با سابقه‌ی سوء مصرف به اپیوئیدها در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی بوپیواکائین به تنهایی کوتاه‌تر بوده است (۲۲). از طرفی استفاده‌ی حاد 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 توأم با یکدیگر و به صورت حاد استفاده شود در کاهش درد بسیار مؤثر می‌باشد. Aguirre و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰ اثر بی‌دردی مورفین همراه با دیپیرون (داروی ضد درد غیر مخدر) را در شرایط تزریق حاد 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، بدین‌صورت که استفاده‌ی مزمن از اپیوئیدها می‌تواند از کارایی داروهای بیحس‌کننده‌ی 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 μ، فعالیت گیرنده‌ی NMDA (N-Methyl-D-aspartic acid) و تولید NO می‌باشد (۱). به دنبال تجویز مزمن مورفین، گیرنده‌های اپیوئیدی μ فعال 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 وریدی ۸ ساعته‌ی مورفین و ایجاد تحمل به آن، افزایش nNOS را در مغز گزارش نمود (۲۴)، ولی Bhargava در سال ۱۹۹۸به‌دنبال 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 به‌منظور بررسی نقش nNOS در کاهش اثر ضد دردی بوپیواکائین در شرایط تحمل به مورفین از داروی 7-NI (مهارکننده‌ی اختصاصی nNOS)، استفاده گردید. نتایج نشان داد که استفاده‌ی اینتراتکال از 7-NI به تنهایی و پس از تزریق آخرین دوز مورفین به همراه بوپیواکائین، توانسته است تحمل به اثر ضددردی مورفین را در درد ناشی از فرمالین کاهش دهد؛ البته این کاهش در فاز اول معنی‌دار نبود ولی با افزایش زمان اینترفاز 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 تنهایی نیز کاهش درد را نشان داده است، ولی به‌نظر می‌رسد توانسته است در بهبود اثر ضد دردی مورفین در شرایط تحمل به اثر ضد دردی آن و بوپیواکائین 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 درآزمون 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 از فعالیت 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 اینترفاز آزمون فرمالین را افزایش دهد و در ظهور فاز دوم تأخیر ایجاد نماید و به‌عبارتی درد را کاهش داده است. به‌علاوه Bahari و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ در آزمایشگاه درد گروه فیزیولوژی نشان دادند به‌دنبال تزریق نخاعی 7-NI در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی، درد حرارتی و مکانیکی کاهش یافته است (۲۷). از نتایج این پژوهش چنین برمی‌آید که آنزیم nNOS در مکانیسم‌های دخیل در کاهش اثرات ضد دردی بوپیواکائین طی تزریق مکرر مورفین نقش داشته باشد، به‌طوریکه مهار این آنزیم سبب افزایش بی‌دردی گردیده است. لذا به‌نظر می‌رسد که مهارکننده‌های nNOS بتوانند چشم‌انداز جدیدی را در افزایش اثر ضد دردهای غیرمخدری در شرایط تحمل به مورفین، پیش رو قرار دهند.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

REFERENCES

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. Satio Y, kaneko M, kirihara Y, Sakura S, Kosaka Y. Interaction of intrathecally infused morphine and lidocaine in rat. Anesthesiology 1998;89(6):1455–63.

6. 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.

7. 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.

8. 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.

9. 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.

10. 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.

11. 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.

12. Trujillo KA, Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-80. Science 1991;251(4989):85–7.

13. Detweiler DJ, Rohde DS, Basbaum AL. The development of opioid tolerance in the formalin test in the rat. Pain 1995;63(2):251–4.

14. 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)

15. 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.

16. 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.

17. 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.

18. 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.

19. Moini Zanjani T, Sabetkasaei M. Withdrawal on lidocaine-induced analgesia in rats. Iran Biomed J 2010;14(4):164–70.

20. 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.

21. Cooper DW, Garcia E, Mowbray P, Millar M. Anaesth patient-controlled following spinal fentanyl at caesarean section. Anaesth 2002;57(3):266–70.

22. 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.

23. 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.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]

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.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-21]