ارزیابی اثر تجویز سیستمیک مینو سایکلین و رایلوزول بر تحمل به اثرات ضددردی ناشی از مصرف مزمن مرفین در موش صحرایی

بهلول حبیبی اصل، بهرام علیمحمدی، محمد چر خپور و کامبیز حسن زاده*

دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۲۳ ، تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۸

Evaluation the Effects of Systemic Administration of Minocycline and Riluzole on Tolerance to Morphine Analgesic effect in rat

Habibi Asl B., Alimohammadi B., Charkhpour M., Hassanzadeh K.*

Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 13 Sep. 2008, Accepted: 8 Mar. 2009

Objectives: Chronic opiate administration induces tolerance to the analgesic effect. Several studies indicate that nitric oxide/ N-methyl D-aspartate pathway has important role on morphine induced tolerance. The main goal of this study was to evaluate the effects of systemic administration of Minocycline and Riluzole on Morphine induced tolerance in rat. **Methods:** Animals were divided in 8 groups (n=8) and received daily: Saline (1 ml/kg, ip) or {Saline (1ml/kg, ip) + Morphine (10 mg /kg, ip)} or {Minocycline (10, 20, 40 mg/kg, ip) + Morphine (10 mg/kg, ip)} or Minocycline (10 mg/kg, ip) or Tween 80 (2%) (1 ml/kg, ip) or {Tween 80 (2%) (1ml/kg, ip) + Morphine (10 mg /kg, ip)} or {Riluzole (4, 8, 12 mg/kg, ip) + Morphine (10 mg/kg, ip)} or Riluzole (12 mg/kg, ip). Nociception was assessed using hot-plate apparatus. The hot-plate latency was recorded when rat licked its hind paw. A baseline latency was determined daily, then drug was injected. After 30 minutes morphine was administrated and post-drug latency evaluated 30 minutes after the injection of Morphine. **Results:** Results showed that Minocycline (20, 40 mg/kg) and Minocycline (10 mg/kg), delayed the tolerance appearing time about 3 and 4 days respectively. Riluzole (8, 12 mg/kg) could postpone day of morphine tolerance for 5 days in comparison with control group. **Conclusion**: Interaction with nitric oxide system and glutamatergic pathway are the possible mechanisms of Minocycline and ability of Riluzole as a glutamate release inhibitor could be the major mechanism in attenuating the development of Morphine induced tolerance.

Key words: *Morphine, Minocycline, Riluzole, Tolerance, nitric oxide.*

زمینه و هدف: مصرف مزمن اپیوئیدها سبب القای تحمل به اثرات ضددردی آنها می‌شود. مطالعات متعددی حاکی از نقش مهم مسیر نیتریک اکساید/N-متیل D-آسپارتات در بروز تحمل به اثرات ضددردی مرفین می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات مصرف سیستمیک مینوسایکلین و رایلوزول بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین در موش صحرایی می‌باشد. **روشها:** حیوانات به 8 گروه هشت تایی تقسیم و روزانه رژیم‌های زیر را دریافت کردند: سالین (1 ml/kg, ip) یا سالین (1 ml/kg, ip) + مرفین (10 mg/kg, ip) یا مینوسایکلین (10 mg/kg, ip) و۲۰و۴۰) + مرفین (۱۰ mg/kg, ip) یا مینوسایکلین (۱۰ mg/kg, ip) یا ۸۰(2%) Tween (1ml/kg, ip) یا Tween 80 (2%) (1 ml/kg, ip) + مرفین (۱۰ mg/kg, ip) یا رایلوزول (٤و٨ و۱۲ mg/kg, ip) + مرفین (۱۰ mg/kg, ip) و یا رایلوزول (۱۲mg/kg, ip). ارزیابی حس درد با تست هات پلیت انجام گرفت. روزانه ابتدا یک بار تست Base line انجام می‌شد سپس دارو تزریق و ۳۰ دقیقه بعد مرفین تزریق می‌شد و زمان عکس‌العمل حیوان (Latency Time) 30 دقیقه بعد از دریافت مرفین ارزیابی می‌شد. **یـــافته ها:** نـــتایج نشان دادند که مینوسایکلین در دوزهـــــــــای (۲۰و٤۰ mg/kg) روز کامل شدن تحمل را ۳ روز و در دوز ۱۰mg/kg کامل شدن تحمل را ٤ روز به تعویق انداخت. رایلوزول در دوزهای (۸ و۱۲ mg/kg) ر وز کامل شدن تحمل را ۵ روز به تعویق انداخت. **نتیجه گیری:** تداخل در سیستم نیتریک اکساید و مسیر گلوتامینرژیک توسط مینوسایکلین و توانایی رایلوزول به عنوان مهارکننده‌ی ریلیز گلوتامات، به عنوان مکانیسم‌های احتمالی این داروها در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین مطرح می‌باشند.

واژه های کلیدی: *مرفین، مینوسایکلین، رایلوزول، تحمل، نیتریک اکساید.*

*نویسنده مسئول: **کامبیز حسن زاده**، دستیار PhD،دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۳۳۷۲۲۵۰-۰٤۱۱، نـــمابر: ۳۳٤٤۷۹۸-۰٤۱۱

**Corresponding Author: Kambiz Hassanzadeh, PhD student, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-3372250; Fax: +98-411-3344798; E-mail: Hassanzadehk@tbzmed.ac.ir*

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

اپیوئیدها به عنوان یکی از بهترین گروه‌های دارویی جهت کاهش دردهای شدید حاد و مزمن همچنان به طور وسیع به کار گرفته می‌شوند. اما مشکل عمده‌ای که برای مصرف طولانی مدت اپیوئیدها وجود دارد مسئله بروز تحمل و بدنبال آن بروز وابستگی به آنها می‌باشد. وابستگی و تحمل به مرفین خصوصاً اثرات ضددردی مرفین یکی از مشکلات و عوامل محدود کننده مصرف این داروها در بیماران مبتلا به دردهای حاد و مزمن است. مطالعات مختلف در زمینه داروها و عواملی که بتوانند تحمل و وابستگی به اپیوئیدها را کاهش دهند صورت گرفته و همگی بیان کننده این هستند که جهت کاهش این علایم شناخت مکانیسم‌های دخیل در تحمل و وابستگی ضروری است (۲،۱).

یکی از مهمترین شاخه‌های مطالعه در نوروفارماکولوژی بررسی مکانیسم‌های بروز تحمل به اپیوئیدها و یافتن راههایی برای جلوگیری و یا به تعویق انداختن آن می‌باشد که در صورت توانایی جلوگیری از بروز این پدیده، کاربرد کلینیکی این داروها با ضریب اطمینان بیشتر افزایش خواهد یافت. بطور قطع از مهمترین مکانیسمهای درگیر در این زمینه نقش سیستم نیتریک اکساید و گیرنده های اسیدهای آمینه تحریکی (EAA) می‌باشد. فعال شدن گیرنده‌های اپیوئیدی منجر به جریان یافتن کلسیم، افزایش فعالیت نیتریک اکساید سنتاز(NOS) وافزایش تولید نیتریک اکساید (NO) می شود. نیتریک اکساید منجر به افزایش ریلیز گلوتامات از نورون‌های پیش سیناپسی می‌شودواین خود منجر به سمیت سلول‌های عصبی می گردد (۶-۳). برخی از مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کنند که سیستم NMDA/NO در افزایش تحمل و وابستگی به مرفین نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد (۹-۷،۴).

آزاد شدن پس سیناپسی NO در پی فعال شدن گیرنده NMDA آغازگر آزاد شدن گلوتامات از قسمت پیش سیناپسی می‌گردد. یعنی NO به عنوان یک ناقل عصبی رو به عقب به صورت فیدبک مثبت عمل می‌کند (۸،۷). افزایش تولید نیتریک اکساید در بدن از طریق مکانیسمهای زیر و نیز به واسطه افزایش Ca^{+2} داخل سلولی سبب افزایش تحمل و وابستگی به اپیوئیدها می‌شود:

۱- آزاد شدن گلوتامات از قسمت پیش سیناپسی (۴،۳).

۲- افزایش گوانوزین مونوفسفات حلقوی (cGMP) (۴،۳).

۳- فعال‌سازی پروتئین کیناز C (PKC)(۸).

۴- تولید پراکسی نیتریت (-ONOO) (3) .

نیتریک اکساید تولیدی از طریق مکانیسم‌های فوق‌الذکر در نهایت منجر به افزایش کلسیم داخل سلولی و افزایش تحریک‌پذیری سلول و در نتیجه افزایش حساسیت به درد، اینترنالیزاسیون و down-regulation گیرنده اپیوئیدی، فسفریلاسیون برخی پروتئین‌های کلیدی و مهار پاسخ‌های فیزیولوژیک شده که در نهایت همه این عوامل منجر به کاهش اثرگذاری مرفین بر سلول شده و تحمل و وابستگی به مرفین را افزایش می‌دهد(۵،۳).

مطالعات پیشین نشان داده اند که مینوسایکلین و مشتقات نیمه صناعی دیگر تتراسایکلین باعث اثرات نوروپروتکتیو در مقابل ایسکمی مغزی در موش صحرایی شده اند (۱۱،۱۰). در این مطالعات اثر نوروپروتکتیو مینوسایکلین با کاهش فعالیت NOS همراه بوده است (۱۲). از طرفی با توجه به نقش گلوتامات در آسیب‌های CNS و بیماری‌های نورودژنراتیو، چندین استراتژی درمانی برای کاهش سمیت خارج سلولی گلوتامات بکار رفته است. یکی از این روش‌ها استفاده از رایلوزول می‌باشد. مطالعات عنوان می کنند که این دارو ریلیز گلوتامات را مهار کرده و اثرات نوروپروتکتیو آن در بیماری‌هایی نظیر پارکینسون، ایسکمی و آسیب ضربه‌ای CNS نشان داده شده است (۱۵-۱۳).

بنابراین با توجه به اثر مهاری مینوسایکلین بر سیستم نیتریک اکساید وNMDA و نقش رایلوزول در مهار ریلیز گلوتامات و به دنبال آن کاهش تحریک گیرنده های NMDA ، به ارزیابی اثر این داروها بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین پرداختیم.

۲- مواد و روش ها

۲-۱: مواد

در این مطالعه مواد زیر مورد استفاده قرار گرفتند.

مرفین سولفات (شرکت داروپخش- ایران) ،رایلوزول (کارخانه sigma – آلمان)، مینوسایکلین(کارخانه sigma – آلمان)، نرمال سالین(کارخانه شهید قاضی ـ ایران)، Tween 80 (کارخانه Merck- آلمان)

۲-۲: حیوانات

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر در محدوهٔ وزنی (۲۷۵-۲۲۵ گرم) از نژاد Albino wistar استفاده شد. تمامی رت ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات انستیتو پاستور تهران تهیه شده و بعد از انتقال به دانشکده داروسازی تبریز در گروه‌های ۸ تایی در قفس‌های جداگانه و در حرارت و سیکل روشنایی و تاریکی نگهداری شدند. حیوانات آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. مطالعات بر روی حیوانات، بر اساس دستورالعمل کمیتهٔ اخلاق منطقه ای دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

در تمامی آزمایشات ، سه روز قبل از شروع مطالعات رفتاری حیوانات ، هر روز دوبار و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه با محیط آزمایش، آزمایشگر و دستگاه هات پلیت آشنا می‌شدند تا استرس ناشی از تغییر محل زندگی و تماس با آنها به حداقل ممکن برسد. همچنین هر روز قبل از انجام تزریقات رتها با ترازوی الکتریکی وزن شده و مقدار تزریق برحسب وزن حیوانات تنظیم می‌شد.

۳-۲: گروه‌های مورد مطالعه و روش کار

در مورد تمامی گروه‌ها ابتدا تست هات پلیت با دمای ۵۲±۰/۵°C بلافاصله قبل از تزریق رژیم دارویی به عمل می آمد و در ادامه تزریق رژیم دارویی در مورد گروه‌های مختلف طبق روند زیر انجام گرفت:

۱- گروه کنترل سالین: سالین با دوز (۱ml/kg ,ip)

۲- گروه کنترل: سالین (۱ ml/kg ,ip) + مرفین (mg/kg ,ip ۱۰)

۳- گروه‌های مربوط به اثر مینوسایکلین بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین: مینوسایکلین (mg/kg , ip ۴۰و ۲۰ و ۱۰) + مرفین (۱۰ mg/kg , ip)

۴- گروه مینوسایکلین (۱۰ mg/kg, ip) به منظور ارزیابی اثرضددردی خود مینوسایکلین

۵- گروه کنترل (۲٪) Tween 8 در نرمال سالین (ml/kg ۱,ip)

۶- گروه کنترل(۲٪) Tween 80 در نرمال سالین (ml/kg ۱,ip) + مرفین (۱۰ mg/kg , ip)

۷- گروه‌های مربوط به اثر رایلوزول بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین: رایلوزول (mg/kg , ip ۴و۸ و۱۲) + مرفین (۱۰ mg/kg , ip)

۸- گروه رایلوزول (۱۲mg/kg, ip) به منظور ارزیابی اثرضددردی خود رایلوزول

نیم ساعت بعد از تزریق رژیم‌های دارویی فوق،در مورد گروه‌های درمانی و کنترل، یعنی گروه‌های ۲، ۳، ۶ و۷ مرفین با دوز ۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد. نیم ساعت بعد از تزریق مرفین، تست هات پلیت برای بررسی اثر ضددردی انجام گرفت.

۴-۲: بررسی بروز تحمل در گروه‌های تست و کنترل

کامل شدن تحمل روزی است که نتایج تست هات پلیت، قبل و بعد از تزریق مرفین در گروه‌های کنترل و درمانی یکی بوده(به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین قبل و بعد تزریق مرفین وجود نداشته باشد) و با نتایج سه روز بعد اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری نداشته باشند.

۵-۲: تست هات پلیت (Hot Plate)

آزمون هات پلیت به عنوان یک آزمون درد حاد، مناسب برای ارزیابی اثرات ضددردی مرفین می باشد. برای ارزیابی تاثیر رژیم های دارویی مختلف در ایجاد تحمل به اثرات ضددردی مرفین، ابتدا دمای دستگاه در ۵۲±۰/۵°C تنظیم می شد. بعد از تثبیت دمای دستگاه حیوان مورد آزمایش به آرامی بر روی صفحه ی گرم قرار داده می‌شد و زمان لازم برای عکس العمل حیوان به صورت لیسیدن پا ثبت می گردید (Latency time). نتایج آزمون هات پلیت به صورت Maximum Possible Effect (MPE%) بیان شد.

$$MPE\ \% = [\,(TL - BL)\,/\,(T\ cut\ off - BL)\,] * 100$$

TL: Test Latency time BL: Base Latency time T cut off: Time cut off

به منظور جلوگیری از آسیب به حیوان در صورت عدم پاسخ، تست هات پلیت بعد از ۴۵ ثانیه قطع گردید (Cut off Time=۴۵).

۶-۲: آنالیز آماری

نتایج به صورت Mean of MPE% ± SEM بیان شد و اختلاف بین گروه‌ها از طریق نرم افزار SPSS(Ver.14) بررسی گردید و جهت ارزیابی اختلاف، آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA(One Way ANOVA) بکار گرفته شد. در صورت وجود رابطه معنی‌دار از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد و اختلاف‌های با P<۰/۰۵ معنی‌دار (Significant) تلقی شد. جهت پی بردن به وجود اختلاف معنی‌دار بین BL(Base Latency Time) و TL(Test Latency Time) به منظور تعیین روز کامل شدن تحمل در هر یک از گروه‌های کنترل و درمانی از آنالیز آماری Paired sample T-Test استفاده شد و P<۰/۰۵ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

۳-۱: بررسی اثر مینوسایکلین بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین

همانطور که در نمودار۱ مشاهده می گردد روز کامل شدن تحمل برای گروه کنترل، روز ۷ می‌باشد. مینوسایکلین در دوزهای (۲۰ mg/kg, ۴۰) توانسته است روز کامل شدن تحمل را به روز ۱۰ در این دو دوز برساند و روز کامل شدن تحمل را ۳ روز به تعویق بیاندازد. در مورد دوز ۱۰ mg/kg مینوسایکلین روز کامل شدن تحمل را به روز ۱۱ افزایش داده است و توانسته است روز کامل شدن تحمل را ۴ روز به تعویق بیاندازد. در ضمن در روزهای ۷ و ۸ از تست های هات پلیت اختلاف معنی داری بین گروه مینوسایکلین ۱۰ mg/kg با گروه کنترل وجود دارد (P<۰/۰۵)

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۳: بررسی اثر ضددردی مینوسایکلین

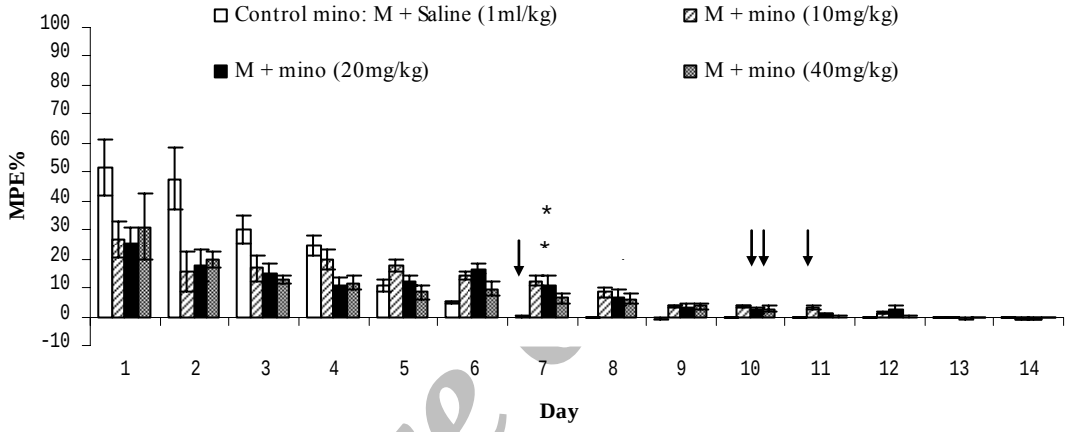
همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می گردد مینوسایکلین با موثرترین دوز در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین یعنی دوز mg/kg ۱۰ ، اثر ضددردی معنی داری به لحاظ آماری ندارد.

۳-۳: بررسی اثر رایلوزول بر تحمل به اثرات ضددردی مرفین

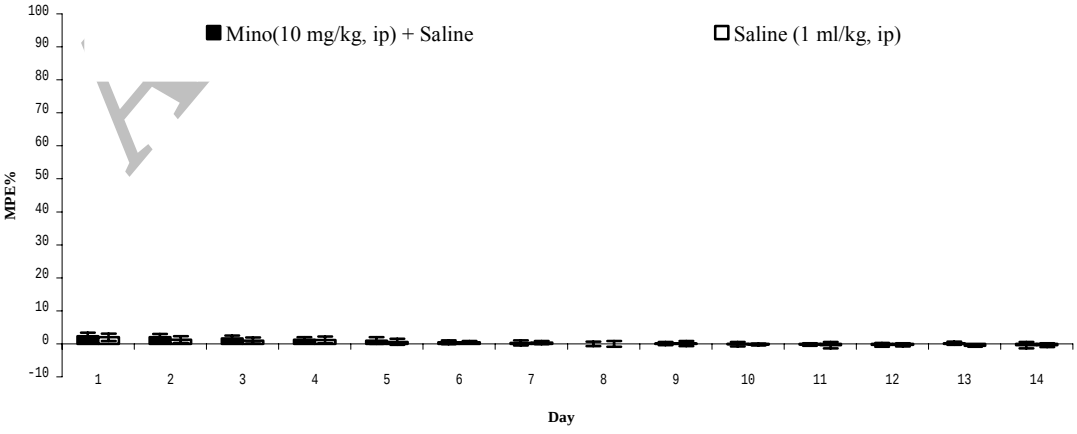
همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می گردد روز کامل شدن تحمل برای گروه کنترل، روز ۷ می‌باشد. رایلوزول در دوزهای (mg/kg ۸, ۱۲) توانسته است روز کامل شدن تحمل را به روز ۱۲ در این دو دوز برساند و کامل شدن تحمل را ۵ روز به تعویق بیاندازد. در مورد دوز mg/kg ٤ رایلوزول روز کامل شدن تحمل را به روز ۸ افزایش داده است. در ضمن در روزهای۷و ۸ و ۹ و ۱۰ از تست‌های هات پلیت اختلاف معنی‌داری بین گروه رایلوزول در دوزهای mg/kg ۸, ۱۲ با گروه کنترل وجود دارد.

٤-۳: بررسی اثر ضددردی رایلوزول و Tween 80 (۲٪)

همانطور که در نمودار ٤ مشاهده می گردد رایلوزول با موثرترین دوز در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین یعنی دوز mg/kg ۱۲ ، اثر ضددردی معنی داری به لحاظ آماری ندارد.



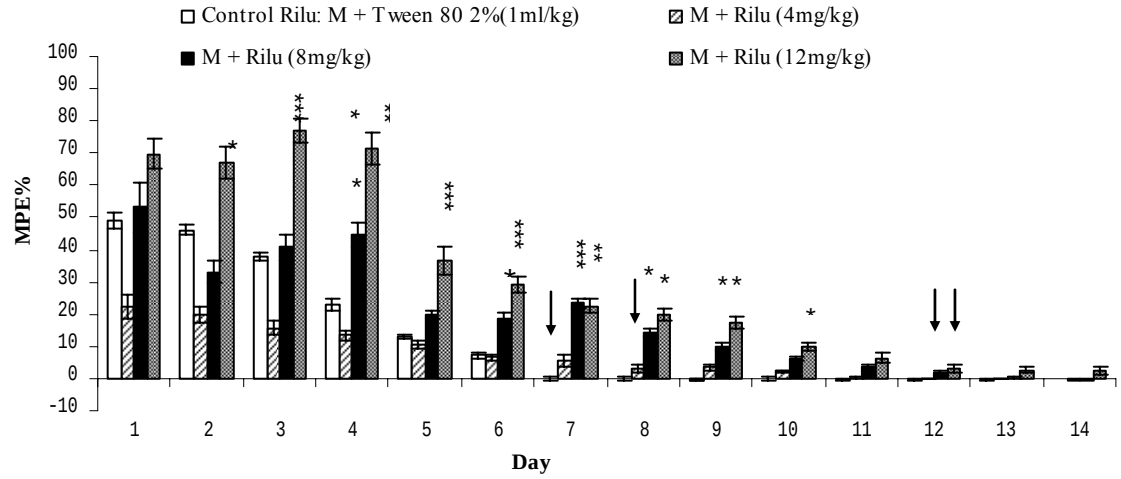
نمودار۱. تاثیر دوزهای مختلف مینوسایکلین(mg/kg٤۰و ۲۰و ۱۰) بر تحمل به اثرات ضد دردی ناشی از مصرف مزمن مرفین. هر ستون بیانگر میانگین MPE٪ ± SEM برای ۸ موش صحرایی می‌باشد. تفاوت بین گروه‌های درمانی مینوسایکلین با گروه کنترل (M+S) با آنالیز آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شد. جهت پی بردن به وجود اختلاف معنی‌دار بین BL (Base Latency Time) و TL(Test Latency Time) به منظور تعیین روز کامل شدن تحمل در هر یک از گروه‌های کنترل و درمانی از آنالیز آماری Paired sample T-Test استفاده شد و P<۰,۰۵ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد. *P<۰/۰۵ **P < ۰/۰۱ وجود اختلاف آماری معنی‌دار، نسبت به گروه کنترل (M+S) مقایسه شده است. ↓ نشان دهنده‌ی روز کامل شدن تحمل می‌باشد. Mino: Minocycline M: Morphine



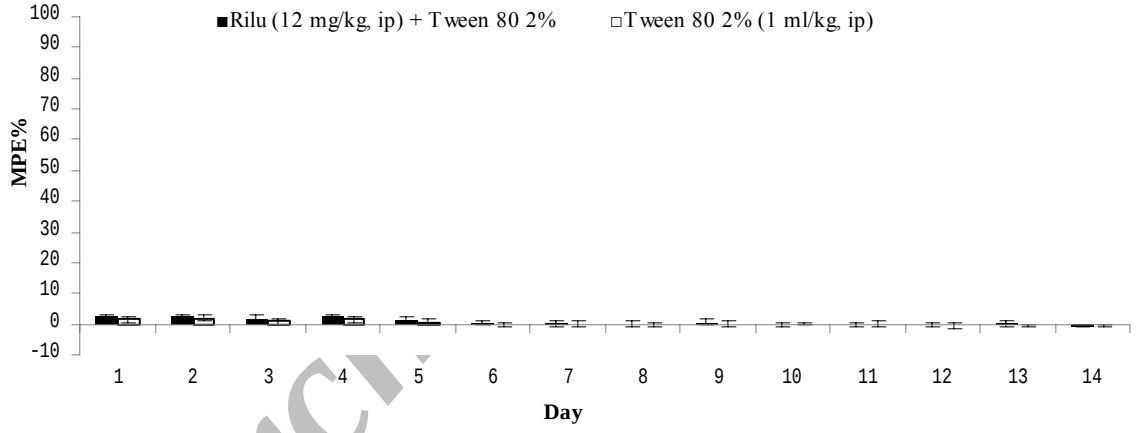
نمودار۲. مقایسه اثر ضددردی موثرترین دوز مینوسایکلین (۱۰mg/kg, ip) در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین نسبت به سالین (۱ ml/kg, ip). هر ستون بیانگر میانگین MPE٪ ± SEM برای ۸ موش صحرایی می‌باشد. روزانه بلافاصله قبل و ۱ ساعت بعد تزریق مینوسایکلین و سالین تست هات پلیت انجام گرفته و نتایج ثبت گردید. تفاوت بین گروه مینوسایکلین با گروه سالین با آنالیز آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شد. Mino: Minocycline

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۳. تاثیردوزهای مختلف رایلوزول (۴ ,۸ ,۱۲ mg/kg, ip) بر تحمل به اثرات ضد دردی ناشی از مصرف مزمن مرفین. هر ستون بیانگر میانگین MPE٪ ± SEM برای ۸ موش صحرایی می‌باشد. تفاوت بین گروه‌های درمانی رایلوزول با گروه کنترل (M+ Tween 80 2%) با آنالیز آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شد. جهت پی بردن به وجود اختلاف معنی‌دار بین BL(Base Latency Time) و TL(Test Latency Time) به منظور تعیین روز کامل شدن تحمل در هر یک از گروه‌های کنترل و درمانی از آنالیز آماری Paired sample T-Test استفاده شد و P < ۰/۰۵به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد. ۰/۰۵ >P* و ۰/۰۱>P ** و ۰,۰۰۱ >P *** وجود اختلاف آماری معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (M+Tween 80,٪۲) مقایسه شده است. ↓نشان دهنده ی روز کامل شدن تحمل می‌باشد. M: Morphine Rilu: Riluzole



نمودار٤. مقایسه اثر ضددردی موثرترین دوز رایلوزول (۱۲ mg/kg, ip) در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین نسبت به ٪۲ Tween 80 (۱ml/kg, ip). هر ستون بیانگر میانگین MPE٪ ± SEM برای ۸ موش صحرایی می‌باشد. روزانه بلافاصله قبل و ۱ ساعت بعد تزریق رایلوزول و Tween تست هات پلیت انجام گرفته و نتایج ثبت گردید. تفاوت بین گروه رایلوزول با گروه Tween با آنالیز آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شد. مطابق با نمودار فوق تفاوت معنی‌داری بین اثر ضددردی رایلوزول و Tween وجود ندارند. Rilu: Riluzole

٤- بحث

شواهد قابل توجهی بیان می‌کنند که گیرنده‌های اسید آمینه‌های تحریکی خصوصاً گیرنده‌های NMDA در تحمل و وابستگی به اپیوئیدها نقش دارند (۱۸). گیرنده NMDA دارای یک کانال Ca است. باز شدن این کانال سبب ورود کلسیم به داخل سلول و افزایش غلظت Ca^{2+} داخل سلولی می‌شود که خود سبب اثرات متعدد زیر می‌باشد:

۱- فعال شدن نیتریک اکساید سنتاز (NOS) که سبب افزایش تولید NO می‌شود (۹،۸).

۲- تنظیم فیدبک مثبت فعالیت PKC(۱۹).

۳- تسهیل فعالیت کلسیم کالمودولین کیناز Π (CaMkII) (۲۰).

این تحولات همچنین، فعالیت سایر پروتئین کینازها را تغییر می‌دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

از طرفی مطالعات متعددی اثرمهاری آنتاگونیست‌های متعدد گیرنده NMDA را بر تحمل ایجاد شده نسبت به اثرات ضددردی ترکیبات اپیوئیدی نشان داده‌اند که تقریباً همگی حاکی از کاهش میزان تحمل ایجاد شده می‌باشند (۲۱). همانطور که گفته شد فعال شدن گیرنده‌های اپیوئیدی منجر به افزایش فعالیت نیتریک اکساید سنتاز می شود که این خود منجر به سمیت سلولهای عصبی می گردد. نیتریک اکساید خود منجر به افزایش ریلیز گلوتامات از نورون‌های پیش سیناپسی می‌شود(۹،۸).

دراین مطالعه از مینوسایکلین جهت پیشگیری از بروز تحمل به اثرات ضددردی مرفین استفاده شد.مطالعات نشان داده‌اند که مینوسایکلین دارای اثرات متعددی می‌باشد که شامل:

۱) کاهش فعالیت NOS وایجاد اثر نوروپروتکتیو (۱۲).

۲) تأثیرات نوروپروتکتیو به واسطه دخالت این دارو در مسیرهای داخل سلولی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی (۲۳)

۳) اثرات بلوکری روی فاکتورها و پاسخ‌های التهابی (۲٤)

٤) مهار آزادسازی فاکتورهای تسهیل کننده آپوپتوزیس مثل Bax و Bak و Bid و... از سیتوکروم C و غشاء میتوکندری و در نتیجه جلوگیری از اثرات مهاری این فاکتورها روی BCL-2 و در نتیجه افزایش بیان BCL-2 و جلوگیری از آپوپتوزیس (۲۵). نتایج مطالعه حاضرحاکی از آن است که مینوسایکلین در دوزهای (۲۰ mg/kg, ٤۰) توانسته است روز کامل شدن تحمل را به روز ۱۰ در این دو دوز برساند و روز کامل شدن تحمل را ۳ روز به تعویق بیاندازد. در مورد مینوسایکلین (۱۰ mg/kg) روز کامل شدن تحمل به روز ۱۱ شیفت پیدا کرده و توانسته است کامل شدن تحمل را ٤ روز به تعویق بیاندازد. در ضمن در روزهای ۷ و ۸ از تست های هات پلیت اختلاف معنی داری بین گروه مینوسایکلین ۱۰ mg/kg با گروه کنترل وجود دارد.

بررسی‌های اخیر به روشنی بیان می‌کنند که مینوسایکلین آزاد سازی گلوتامات را مهار می‌کند و به تبع آن سطح Ca^{2+}و تحریک نورون‌های تحت مطالعه کم شده و از مرگ سلولی به واسطه افزایش Ca^{2+} جلوگیری می‌کند. این کاهش تحریک سلولی به همراه کاهش آزادسازی گلوتامات توجیه مناسبی برای اثرات سیتوپروتکتیو مینوسایکلین می‌باشد (۲٦).

با توجه به نتایج فوق مینوسایکلین توانسته است تحمل به اثرات ضد دردی مرفین را کاهش دهد. البته دوز ۱۰mg/kg این دارو زمان بروز تحمل را در مقایسه با دوزهای بالاتر کمی بیشتر به تعویق انداخته است که می تواند بیانگر این موضوع باشد که احتمالا در دوزهای بالاتر این دارو ، مکانیسمهای دیگری فعال شده و بنابراین اثر توام به همراه مرفین کاهش یافته است که برای پی بردن به این موضوع و درک مکانیسم انجام مطالعات بیشتر ضروری می‌باشد. به منظور بررسی اینکه آیا اثرات دیده شده از مینوسایکلین ناشی از اثر ضددردی خود دارو است، ارزیابی اثر ضددردی موثرترین دوز دارو در کاهش تحمل(mg/kg ۱۰) نشان داد که خود دارو به تنهایی دارای اثر ضددردی معنی داری نمی باشد. مطالعات دیگری نشان داده‌اند که فعال شدن گیرنده های NMDA باعث فعال شدن سلول‌های میکروگلیال می‌شود که این سلول‌ها در مرگ سلولی دخالت دارند و مینوسایکلین با مهار تکثیر سلول‌های میکروگلیال و اثرات ضد التهابی که دارد از اثر سیتوتوکسیک NMDA جلوگیری می‌کند (۱۲). همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده مصرف مینوسایکلین در روزهای ابتدایی اثر ضد دردی مرفین را کاهش داده است در این زمینه تغییرات نوروترانسمیتری مهم می باشد و به نظر میرسد تغییرات نیتریک اکسایدوگلوتامات درروزهای اولیه منجر به افزایش حساسیت به درد و هایپرآلژزیا میشود. با تجه به اثرات متعدد ماینوسایکلین که به آنها اشاره شد مکانیسم احتمالی برای اثر مینوسایکلین در مطالعه حاضر، اثر مهاری دارو برآنزیم تولید کننده نیتریک اکساید (NOS) و به تبع آن کاهش ریلیز NO و کاهش فعالیت گیرنده ی NMDA و دیگر گیرنده‌های گلوتامات است بنابراین دو مکانیسم اخیر که بطور وسیع با هم در ارتباط بوده و غیر قابل تفکیک می باشند به عنوان مکانیسمهای مهم در این زمینه مطرح و قابل بررسی می باشند.

در بخش دیگری از مطالعه از داروی رایلوزول استفاده شد. رایلوزول تنها داروی اختصاصی است که در درمان (ALS) Amyotrophic Lateral Sclerosisبکار رفته است (۲۷،۲۸). مطالعات متعددی حاکی ازاثرات نوروپروتکتیو رایلوزول هستند و مکانیسمهای زیر را برای این اثرات مطرح می کنند:

۱) مهار ریلیز گلوتامات از پایانه‌های پیش‌سیناپسی از طریق مکانیسم مرتبط با پیام‌رسانی G-protein(۲۸،۲۹).

۲) مهار فعالیت ساب یونیت α کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ در مرحله هیپرپلاریزاسیون و در نتیجه افزایش زمان غیرفعال بودن کانال (۳۰،۲۹).

۳) مهار کانال های کلسیمی و پتاسیمی فعال شده با ولتاژ بالا (۳۱-۲۹).

٤) ممانعت از آزاد سازی کلسیم بواسطه G-protein از منابع داخل سلولی (۳۲و۳۰).

Archive of SID

www.SID.ir

٥) کاهش ریلیز اسیدآمینه‌های تحریکی با مکانیسم مشابه وابسته به G-protein(٣٠،٣٢).

٦)افزایش برداشت گلوتامات با افینیته ی بالا در سیناپتوزوم‌های نخاعی در In vitro و In vivo (٢٨،٢٩).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رایلوزول در دوزهای (mg/kg ٨, ١٢) توانسته است روز کامل شدن تحمل را به مدت٥ روز به تعویق بیاندازد. در مورد دوز mg/kg ٤ رایلوزول روز کامل شدن تحمل را به روز ٨ افزایش داده است. در ضمن در روزهای٧و ٨ و ٩ و ١٠ از تست‌های هات پلیت اختلاف معنی داری بین گروه رایلوزول در دوزهای mg/kg ٨, ١٢ با گروه کنترل وجود دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده کاهش تحمل به اثرات ضد دردی مرفین توسط رایلوزول در دوزهای mg/kg ٨ و به خصوص mg/kg ١٢ کاملا مشهود می باشد ازطرفی اثر رایلوزول در این مطالعه وابسته به دوز می باشد.همچنین نتایج در نمودار٤ نشان دادند که تجویزموثر ترین دوز رایلوزول در کاهش تحمل به تنهایی اثر ضددردی معنی داری نسبت به گروه حامل ندارد.

در برخی مطالعات پیشین رایلوزول حتی به عنوان آنتاگونیست گیرنده های NMDA نیز عنوان شده است (٣٠،٣٢). لذا شاید این دارو بتواند از طریق مهار تحریک گیرنده‌های NMDA و تبع آن جلوگیری از اثرات متعدد ناشی از تحریک این گیرنده‌ها، در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین موثر باشد. از میان مکانیسمهای مطرح شده برای رایلوزول، مهار ریلیز گلوتامات و مهار کانالهای کلسیمی به عنوان مهمترین مکانیسمها در زمینه تحمل به اثرات ضد دردی مورفین مطرح می باشند البته لازم به ذکر است که این اثر رایلوزول در برخی منابع مورد قبول واقع نشده است. در مجموع به نظر می‌رسد برای اطلاع کافی از اثرات رایلوزول در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

٥- نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر مینوسایکلین (mg/kg ٤٠و٢٠و ١٠) موجب کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین شده است که در این میان دوز (mg/kg ١٠) موثرترین دوز بود . رایلوزول (mg/kg١٢, ٨) توانسته است در کاهش تحمل به اثرات ضددردی مرفین موثر باشد و رایلوزول (mg/kg ٤) تحمل به اثرات ضددردی مرفین را کاهش نداد.

٦- تشکر و قدردانی

با تشکر فراوان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که هزینه انجام این مطالعه را برعهده گرفت.

References:

1. Mayer D.J., Mao J. Mechanisms of opioid tolerance current view of cellular mechanisms. Pain Forum, 1999, 8: 14-18.
2. Leonard A.S., Hell J.W. Cyclic AMP – dependent protein kinase and protein kinase C phosophorylate N- methyl –D – aspartate receptors at different sites. J. Biology Chem, 1997, 272: 12107-12115.
3. Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology, 9 th ed. Mc Grow-hill, New York, 2004, 403-410,626-647.
4. Lue W.M., Su M.T., Lin W.B., Tao P.L. The role of the nitric oxide in the development of morphine tolerance in rat hippocampal slices. European Journal of Pharmacology, 1999, 383: 129-135.
5. Adams M.L., Kalicki J.M., Meyer E.R., Cicero T.J. Inhibition of the morphine withdrawal syndrome by Nitric Oxide syntheses inhibitor, N- nitro- L-Arginine methyl ester. Life Sciences, 1993, 52: 245-249.
6. Cha E.Y., Harris J.R. Nitroglycerin inhibits the development of morphine tolerance and dependence in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2003, 74: 551-557.
7. Montague P.R., Gancayco C.D., Winn M.J., Marchase R.B., Friedlander M.J. Role of NO production in NMDA receptor mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. Sciences, 1994, 263-273.
8. Pasternak G.W., Kolesnikov Y.A., Babey A.M. Perspectives on the N- Methyl-D-Aspartate/Nitric Oxide Cascade and Opioid Tolerance. Neuropsychopharmacol., 1995, 13: 309-313.
9. Heinzen E.L., Pollack E.M. Pharmacodynamics of morphine-induced neuronal Nitric Oxide production and antinociceptive tolerance development. Brain Research, 2004, 1023: 175-184.
10. Yrja N.J., Keina R.N., Pellikka M., Kfelt T. H., Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglia activation and are neuroprotective in global brain ischemia. Proc Natl Aca. Sciences, 1998, 95: 157-169.
11. Yrja N.J., Tikka, Keina Nen R., Goldsteins G., Chan P.H., Koistinaho J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. Proc. Natl. Acad. Sciences, 1999, 96:13496-13500.
12. Tikka T.M., Koistinaho J.E. Minocycline Provides Neuroprotection against N-Methyl-D-aspartate Neurotoxicity by Inhibiting, Microglia. J. Immunology, 2001, 166: 7527-

www.SID.ir

7533.
13. Azbill R.D, Mu X., Springer J.E. Riluzole increases high-affinity glutamate uptake in rat spinal cord synaptosomes. Brain Research, 2000, 871: 175–180.
14. Bareyre F., Wahl F., McIntosh T.K, Stutzmann J.M. Time course of cerebral edema after traumatic brain injury in rats: effects of riluzole and mannitol. J. Neurotrauma, 1997, 14: 839–849.
15. Wahl F., Renou E., Stutzmann J.M. Riluzole reduces brain lesions and improves neurological function in rats after a traumatic brain injury. Brain Res, 1997, 756: 247–253.
18. Tokuyama S., Wakabayashi H., Feng Y.Z., Ho I.K. The role of glutamate in the locus coeruleus during opioid withdrawal and effects of H-7, a protein kinase inhibitor, on the action of glutamate in rats. J. Biomed. Sciences, 1998, 5: 45-53.
19. Mao J. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception tolerance and neuroplasticity. Brain Research, 1999, 30: 289-304.
21. Habibi Asl B., Hassanzadeh K., Moosazadeh S. Effects of ketamine and magnesium on morphine induced tolerance and dependence in mice. DARU, 2005, 13: 110-115.
22. Avidor-Reiss T., Bayewitch M., Levy R., Matus N., Vogel Z. Adenylyl cyclase super sensitization in mu –opioid receptor-transfected Chinese hamster ovary cells following chronic opioid treatment. J. Biology Chem, 1995, 270: 29732-29738.
23. Kraus R.L., Pasiweczny R., Lariosa W.K., Turner M.S., Jiang A., Trauger J.W. Antioxidant properties of minocycline, Neuroprotection in an oxidative stress and direct radical-scavenging activity. J. Neurochem, 2005, 94: 819-827.
24. Stirling D.P., Khodarahmi K., Steeves J.D., Tetzlaff W. Minocycline as neuroprotective agent. Neuroscientist, 2005, 11: 308-322.
25. Wang J., Wei Q., Wang C.Y., William D.M., David C.H., Dong Z. Minocycline up-regulates Bcl-2 and protects against cell death in mitochondria. J. Biology Chem, 2004, 279: 19948-19954.
26. Jose C.G., et al. Neuroprotectant minocycline depresses glutamatergic neurotransmission and Ca2+ signaling in hippocampal neurons. Eur. J. Neurosci, 2007, 26: 2481-2495.
27. Lacomblez L., Bensimon G., Leigh P.N., Guillet P., Meininger V. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. Dose-ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. Lancet, 1996, 347: 1425–1431.
28. Wang S.J., Wang K.Y., Wang W.C. Mechanisms underlying the riluzole inhibition of glutamate release from rat cerebral cortex nerve terminals (synaptosomes). Neuroscience, 2004, 125: 191–201.
29. Fumagalli E., Funicello M., Rauen Th., Gobbi M., Mennini T. Riluzole enhances the activity of glutamate transporters GLAST, GLT1 and EAAC1. European Journal of Pharmacology, 2008, 578: 171–176.
30. De Sarro G., Siniscalchi A., Ferreri G., Gallelli L., De Sarro A. NMDA and AMPA/ kainate receptors are involved in the anticonvulsant activity of riluzole in DBAr2 mice. European Journal of Pharmacology, 2000, 408: 25–34.
31. Wang S.J., Wang K.Y., Wang W.C. Mechanism underlying the riluzole inhibition of glutamate release from rat cerebral cortex nerve terminals (synaptosomes). Neuroscience, 2004, 125: 191–201.
32. Kretschmer B.D. Ligands of the NMDA receptor-associated glycine recognition site and motor behavior. Amino Acids, 1998, 14: 227–234.

Archive of SID

www.SID.ir