

## بررسی کارایی کتورولاک بر بروز تحمل و وابستگی به مورفین در موش سوری نر

مهديه انوش<sup>۱\*</sup>، مریم افروغ<sup>۲</sup>

(۱) مرکز تحقیقات داروشناسی کاربردی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران  
(۲) گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۴

### چکیده

**مقدمه:** با توجه به شیوع نسبتاً بالای وابستگی فیزیولوژیک و روانی به مورفین به عنوان یک ضد درد اپیویدی قوی از سویی و بروز تحمل به اثرات ضد دردی آن از سویی دیگر، یافتن راهکارهایی جهت کاهش این پیامدها اجتناب ناپذیر به نظر می رسد. داروهای مختلفی نظیر ضد تشنج ها و ضد سایکوزها تاکنون برای این منظور مطالعه شده اند. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثرات کتورولاک بر بروز تحمل و وابستگی به اثرات ضد دردی مصرف مزمن مورفین در موش های سوری نر می باشد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه، ۹ گروه موش های سوری نر بالغ استفاده شد. به منظور بررسی تحمل، مورفین و کتورولاک در ۵ روز متوالی یا به صورت تک دوز در روز پنجم به موش ها تزریق شدند. سپس جهت بررسی درد حاد حرارتی از تست صفحه داغ استفاده شده و زمان های شروع پاسخ، ثبت گردید. جهت بررسی درد شیمیایی، از تزریق فرمالین به کف پا استفاده شد و نمرات درد، ثبت گردید. نهایتاً جهت سنجش وابستگی از تست تزریق نالوکسان در روز پنجم، استفاده گردید و علائم سندرم ترک، به ثبت و بررسی شد.

**یافته های پژوهش:** پس از انتخاب دوز بهینه از هر دو دارو (۵ mg/kg مورفین و ۲ mg/kg کتورولاک)، در بررسی تحمل، تفاوت معناداری ( $P < 0.05$ ) بین مصرف تک دوز مورفین و مصرف مزمن مورفین، هم چنین بین مصرف مزمن مورفین و کتورولاک با مورفین بدون کتورولاک در موش های وابسته، مشاهده شد. اما مصرف تک دوز مورفین با مصرف مزمن کتورولاک در موش های وابسته تفاوت معناداری نداشت ( $P > 0.05$ ). در بررسی وابستگی نیز بین مصرف مزمن مورفین و مصرف مزمن مورفین همراه کتورولاک تفاوت معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ ). به علاوه اثر ضد دردی و نیز کاهندگی تحمل نسبت به مورفین در مدل درد شیمیایی اثبات شد.

**بحث و نتیجه گیری:** کتورولاک علاوه بر دارا بودن اثر کاهندگی در درد شیمیایی، تحمل به اثر ضد دردی مورفین را به طور معنی داری کاهش می دهد و از طرفی نیز علائم سندرم ترک ناشی از تجویز نالوکسان را می کاهد.

واژه های کلیدی: مورفین، کتورولاک، تحمل، وابستگی

\* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات داروشناسی کاربردی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

Email: anoushm@zums.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

سوء مصرف دارویی، محرکی لذت بخش است که باعث ایجاد رفتار جست و جو گرایانه برای یافتن مجدد دارو می شود. این رفتار نشانه وابستگی روانی به ماده ای است که تحریک کننده مراکز پاداشی مغز است (۱). اثرات سرخوشی و پاداش ناشی از مصرف اپیوئیدها در تحریک مسیرهای دوپامینرژیک در مغز میانی قابل پیش بینی است. اثرات داروهای اپیوئیدی بر سیستم اعصاب مرکزی شامل تهوع (استفراغ) کاهش درد و خواب آلودگی است (۲،۳) اپیوئیدها انتشار گلوتامات، ژن مربوط به پروتئین کلسی-تونین (CGRP)، و ماده P را، از منظر نقش آن ها در جریان و انتقال درد، مهار می کنند (۴) بعضی از مکانیسم های CNS که احساس درد را کاهش می دهند حالت سرخوشی هم ایجاد می کنند. این پتانسیل سوء مصرف باعث می شود محققین به دنبال راهی برای کاهش اثرات ناشی از قطع مصرف باشند (۳،۵) سوء مصرف مواد باعث ایجاد تحمل می شود که به صورت حد اتفاق می افتد و فرد به دنبال استفاده مداوم، برای دستیابی به اثر اولیه، دوز مصرفی را بالا می برد (۶) تحمل ناشی از طیف گسترده ای از پاسخ ها، از تغییرات بیوشیمیایی در گیرنده گرفته تا تغییرات عمومی تر در درون آن-متیل-دی-آسپاراتات (NMDA) مدارهای نورونی است (۷،۸) نقش سیستم های نوروترنسمیتری، از جمله گیرنده های NMDA و اکسید نیتریک، جالب توجه است (۹،۱۰)، چرا که مهارکننده های نیتریک اکساید سنتاز و آنتاگونیست های گیرنده NMDA می توانند تحمل را در مدل های حیوانی کاهش دهند یا معکوس کنند (۱۲،۱۱) حتی بیماران که دارو را برای اندیکاسیون پزشکی خاصی و در دوز درست دریافت می کنند ممکن است علائم تحمل وابستگی فیزیکی و ترک مصرف را در صورت قطع ناگهانی دارو نشان دهند (۶) با توجه به شیوع بالای وابستگی فیزیولوژیک و پاتولوژیک به مصرف مزمن مورفین به عنوان یک ضد درد قوی اپیوئیدی و عواقب بعدی آن که شامل تحمل نسبت به اثرات مورفین و وابستگی فیزیولوژیک و روانی می باشد که در بسیاری موارد

برگشت ناپذیر می نماید، لزوم یافتن راهکارهایی جهت کاهش این وابستگی امری اجتناب ناپذیر برای جوامع پیشرفته و در حال رشد امروز به نظر می رسد. به طوری که در بسیاری کشورهای جهان مطالعات مختلفی با این هدف در جریان است تا بتوان داروهای را یافت که با شدت عوارض کمتر، یا سبب کاهش دوز ضد دردی مورد نیاز مورفین شده و یا با تاثیر بر رسپتورهای خاص بتوانند میزان وابستگی یا تحمل به اثرات مورفین را بکاهند (۱۳،۱۴) و داروها یا رژیم های چند دارویی که بتوانند هر دو این اثرات را داشته باشند در اولویت قرار دارند لذا با توجه به این که تاثیر استفاده از برخی داروهای داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی نظیر دیکلوفناک در بهبود اثر بخشی مورفین مطالعه شده (۱۵)، لذا دست یابی به یک رژیم از یک ضد التهاب غیر استروئیدی جدیدتر با عوارض کمتر نسبت به دیکلوفناک که احتمال کاهش وابستگی به مورفین از آن انتظار می رود، ضروری به نظر می رسد. لذا در این مطالعه بر آن شدیم تا اثرات یک داروی ضد التهاب غیر استروئیدی نسبتاً جدید را بر عوارض تحمل و وابستگی به مورفین بررسی کنیم.

## مواد و روش ها

در این مطالعه که در آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی انجام گرفت، ۹ گروه از موش های سوری نر در محدوده وزنی ۲۵-۳۵ گرم استفاده شد. هر یک از این حیوانات پس از وزن شدن (وزن اولیه) در گروه های ۸ تایی در قفس های مجزا با شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد قرار گرفتند و تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته اخلاق، در این پژوهش اعمال شد. تمامی مطالعات بین ساعت ۱۱ تا ۱۶ انجام گرفته و حیوانات ۴ ساعت قبل از مطالعه به آزمایشگاه انتقال پیدا می کردند.

*داروها:* در این آزمایش مورفین سولفات (داروپخش-ایران) با دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، مورد استفاده قرار گرفت. پودر کتورولاک خالص تولیدی

شرکت ایبران هورمون (شماره بیج: ABEH000696 و شماره QC: 4681)، پس از انحلال در آب قابل تزریق، به صورت داخل صفاقی با چهار دوز یک، دو، چهار و شش میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به کار رفت. همین طور، آمپول نالوکسان شرکت تولید دارو-ایران، با دوز ۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، به صورت داخل صفاقی، مورد استفاده قرار گرفت.

*روش القاء/اعتیاد:* موش های سوری بر اساس روش معتبر موجود در منابع با دریافت یک دوز مورفین ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، در هر ۲۴ ساعت به صورت داخل صفاقی در ۷ روز متوالی علایم وابستگی از خود نشان دادند (۱۶).

*تست بررسی تحمل:* جهت بررسی تحمل ایجاد شده به اثرات ضد دردی مورفین، موش ها یک ساعت بعد از دریافت آخرین دوز دارو، روی هات پلیت قرار گرفتند، حیوان در صورت احساس درد دست هایش را می لیسید. لیسیدن دست ها معیار و مارکر تعیین زمان تاخیر در پاسخ دهی (Latency time (L.T) در نظر گرفته شد و زمان پاسخ به درد حرارتی به صورت بلند کردن پا ثبت شد. زمان خاتمه آزمون (Cut-off time) ۴۵ ثانیه در نظر گرفته شد (۱۶).

$MPE = \frac{Maximum\ Possible\ Effect - (TL - BL)}{Cut-off\ time - BL}$   
 TL=Test Latency Time  
 BL=Base Latency Time

*تست بررسی وابستگی:* پس از وابسته کردن حیوان به مورفین طی پروتکل استاندارد با تزریق تک دوز نالوکسان (۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) علایم ناشی از سندرم ترک از جمله تعداد پرش برای مدت ۳۰ دقیقه بررسی و ثبت شد.

برای یافتن دوز اپتیمم کتورولاک، موش ها پس از دریافت چهار دوز از داروی کتورولاک، روی دستگاه هات پلیت قرار گرفتند.

*نحوه القاء و سنجش درد شیمیایی:* بدین منظور مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق

شده بلافاصله پس از تزریق حیوان در محفظه مخصوص قرار داده می شود. پاسخ رفتاری درد به کمک آینه ای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افق در زیر محفظه تعبیه شده مشاهده شده و هر ۱۵ ثانیه پاسخ حرکتی درد (نمره درد) به صورت اعداد صفر، ۱ و ۲ و ۳ به شرح زیر ثبت گردید:

عدد صفر: برای زمانی که حیوان در راه رفتن تعادل کامل داشته و وزنش روی هر دو پا توزیع شده بود.

عدد ۱: برای زمانی که حیوان وزن خود را روی پای تزریق شده تحمل نکرده و یا در راه رفتن مشکل داشت.

عدد ۲: برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را بلند می کرد و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشت.

عدد ۳: برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را می لیسید یا به شدت تکان می داد.

نمره درد (Pain Score) در طی ۶۰ دقیقه به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه ای محاسبه و میانگین نمره درد در هر بلوک طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

میانگین نمره درد مساوی است با

$$\frac{T_0 + 1T_1 + 2T_2 + 3T_3}{20}$$

که در آن  $T_0$  و  $T_1$  و  $T_2$  و  $T_3$  تعداد ۱۵ ثانیه هایی است که حیوان در یک دوره ۵ دقیقه ای به ترتیب رفتارهای ۰ و ۱ و ۲ و ۳ را نشان می دهد در همه گروه ها زمان صفر تا ۵ دقیقه به عنوان مرحله حاد و زمان ۱۶ تا ۶۰ دقیقه به عنوان مرحله مزمن درد در نظر گرفته شد.

*طراحی مطالعه:* در بررسی اثر حاد داروی کتورولاک، در پایان پروتکل القای اعتیاد و در روز پنجم با توجه به آنالیز داده های حاصل از سنجش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی CAT، مقادیر CAT بین گروه کنترل و گروه MS و هم چنین بین گروه کنترل و گروه های دریافت کننده استرادیول (۴  $\mu\text{g}/1\ \mu\text{l}$  و ۲  $\mu\text{g}/1\ \mu\text{l}$ ) تفاوت

معنی داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ) (جدول شماره ۱). نجم، ۱ ساعت بعد از دریافت آخرین دوز مورفین، دوز اپتیمم کتورولاک به موش ها تزریق شد و پس از گذشت ۱ ساعت، روی دستگاه هات پلیت قرار گرفتند.

در بررسی اثر مزمن داروی کتورولاک، موش ها به مدت ۵ روز، هم زمان با مورفین و با فاصله ۱ ساعت، دوز اپتیمم کتورولاک را هم دریافت کردند و در روز پنجم، ۱ ساعت بعد از دریافت آخرین دوز، روی دستگاه هات پلیت قرار گرفتند.

برای بررسی وابستگی نیز، نالوکسان با دوز ۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم در روز پنجم و ۱ ساعت پس از دریافت آخرین دوز، به کار رفت و علایم ناشی از سندرم ترک از جمله تعداد پرش برای مدت ۳۰ دقیقه بررسی و ثبت شد.

برای بررسی درد شیمیایی ۲ گروه وابسته به مورفین و یک گروه کنترل منفی در نظر گرفته شد. کتورولاک مزمن با دوز (۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) در موش های وابسته، به صورت داخل صفاقی تزریق شد و گروه وابسته کنترل نرمال سالین که ۴ روز مورفین دریافت کرده بود در روز پنجم به جای دارو نرمال سالین دریافت نمود. گروه کنترل منفی نیز به جای مورفین در هر ۴ روز تنها نرمال سالین دریافت کرد. در هر سه گروه ۱۵ دقیقه بعد، مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق شد.

تجزیه و تحلیل داده ها: داده ها جهت مقایسه وارد نرم افزار آماری SPSS شدند. پس از بررسی همگن بودن داده ها، از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و برای مقایسه نمره درد، تعداد دفعات پرش و MPE جفت گروه ها از پس آزمون Tukey استفاده شده و  $P < 0.05$  در مقایسه جفت گروه ها، به لحاظ آماری، معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته های پژوهش

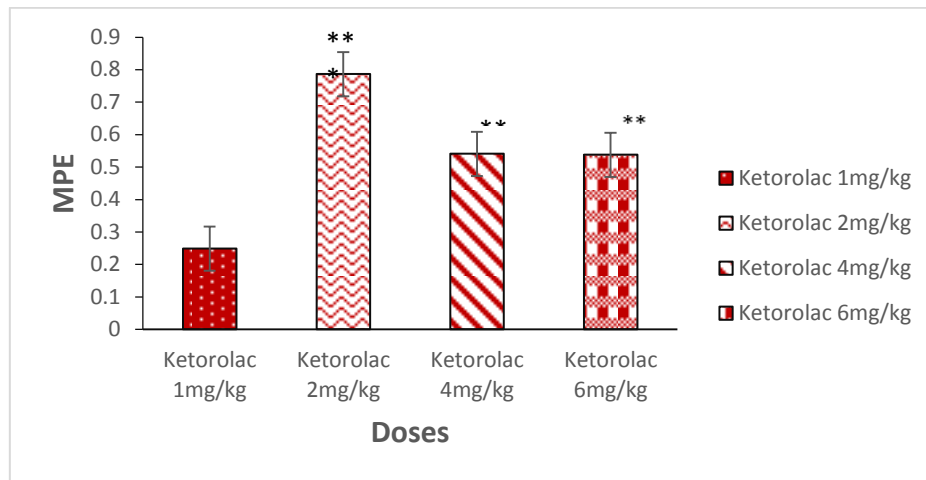
نتایج به دست آمده از مطالعه بر روی ۸۱ موش سوری نر که به طور رندوم در ۹ گروه تقسیم شده بودند به شرح زیر است:

بر اساس نمودار شماره ۱، دوزهای ۱، ۴ و ۶ میلی گرم به ازای کیلوگرم از داروی کتورولاک تفاوت معنی داری با دوز ۲ میلی گرمی دارو نشان دادند به این ترتیب که میزان MPE به دست آمده برای دوزهای یک تا ۶ میلی گرم به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۷۹، ۰/۵۴ و ۰/۵۴ بود. با توجه به این داده ها دوز ۲ میلی گرمی با توجه به میزان MPE بالاتر نسبت به سایرین، به عنوان دوز اپتیمم یا بهینه انتخاب شد (نمودار شماره ۱). از سوی دیگر در این مطالعه بر اساس نتایج به دست آمده از نمودار شماره ۲، تفاوت های معناداری بین گروه های دریافت کننده تک دوز مورفین و مزمن مورفین در پاسخ به محرک های دردزای حرارتی مشاهده شد که صحت پروتکل وابستگی و تحمل را نشان می دهد. چرا که گروهی که به مورفین وابسته شده بودند در دوزهای یکسان پاسخ ضعیف تری ( $MPE = 0.42$ ) نسبت به مورفین تک دوز ( $MPE = 0.65$ ) نشان دادند. این داده ها بیان کننده نیاز به افزایش دوز مورفین برای دریافت پاسخ اولیه است. به علاوه نمودار شماره ۲ نشان دهنده تاثیر مثبت کتورولاک بر روند تحمل به اثرات مورفین است. چرا که تجویز هم زمان کتورولاک و مورفین در پروتکل پنج روزه، تاثیر نهایی را در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین به صورت مزمن، به طرز معناداری افزایش داده است ( $P < 0.05$ ).

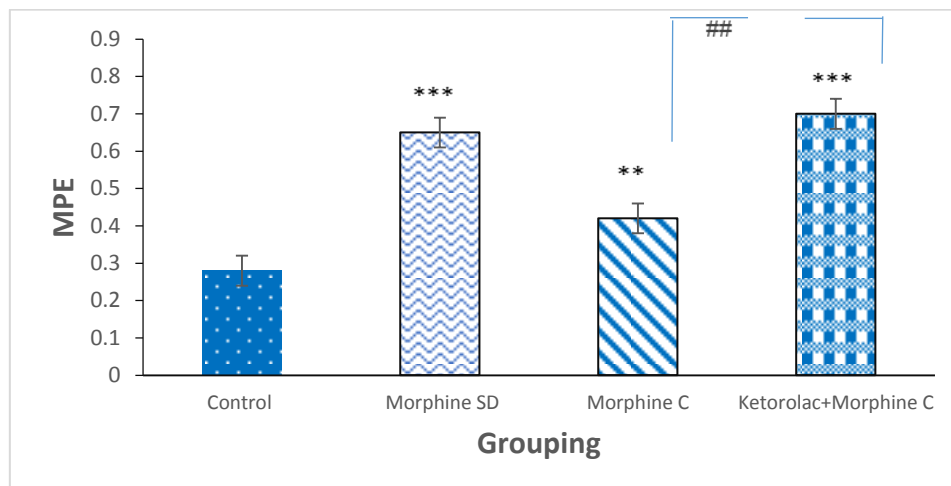
مطابق نمودار شماره ۳، در تست وابستگی نیز در گروه دریافت کننده مورفین به شکل مزمن، تعداد پرش های ناشی از مصرف نالوکسان در روز پنجم به طور میانگین، ۴۱ مورد بود که این تعداد در گروه دریافت کننده مورفین همراه با کتورولاک به ۱۲ مورد کاهش یافته بود که کاهش معناداری ( $P < 0.001$ ) را نشان می دهد. به علاوه، در گروه دریافت کننده مورفین همراه کتورولاک، تعداد پرش ها به ۱۲ پرش کاهش یافته بود که تفاوت آشکاری با گروه دریافت کننده مورفین به شکل مزمن دارد. هر چند، نتایج نشان می دهند که شدت کاهش علایم، به اندازه گروه سالم نبوده و علایم سندرم ترک به طور کامل از بین نرفته اند، لیکن شدت علایم که با تعداد پرش ها مشخص می شود، کاهش قابل ملاحظه ای داشته

تجویز مزمن مورفین در مقایسه با گروه نرمال سالیین به طور معنی داری موفق به کاهش درد شد، و هم چنین تجویز کتورولاک همراه با مورفین نیز در ۴ بلوک انتهایی که عمدتاً مربوط به فاز دوم درد شیمیایی بودند، موفق به کاهش معنی دار نمرات درد از ۰/۷۸-۰/۹۱-۰/۶۳-۰/۷۹ در چهار بلوک انتهایی به ترتیب به ۰/۴۵-۰/۲۶-۰/۲۳ شده و این نتایج نشان می دهند که دو گروه اثرات ضد درد شیمیایی خود را حفظ کرده اند (نمودار شماره ۴).

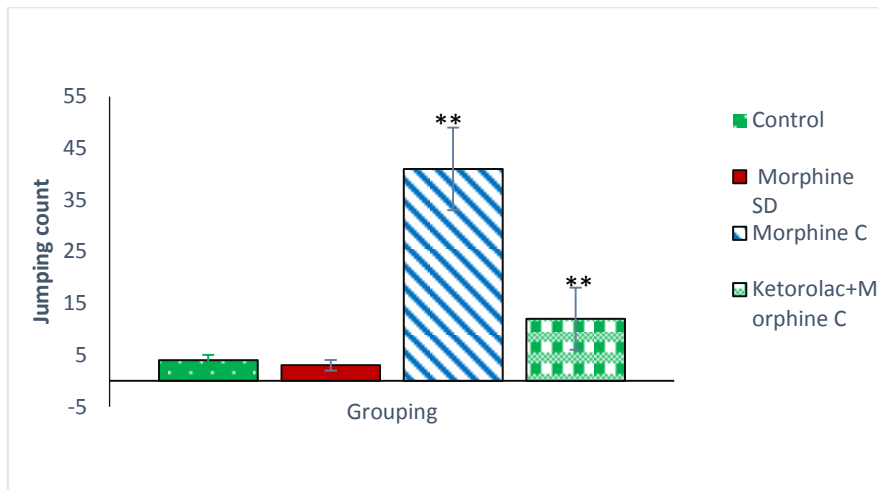
است (نمودار شماره ۳). در تست درد شیمیایی، و بر طبق نمودار شماره ۴، نتایج به دست آمده از تست فرمالین یک رفتار درد چهار مرحله ای را نشان داد، شامل دو دوره پاسخ های رفتاری با فاصله زمانی حدود ۱۰-۱۵ دقیقه. بدین ترتیب که فاز ۱ کوتاه بوده ولی فوراً پس از تزریق فرمالین شروع می شود و ۵ دقیقه به طول می انجامد. در فاز ۲ پاسخ طولانی تر بوده و از ۱۶ دقیق شروع شده و تقریباً در دقیقه ۵۰ به پایان می رسد. بر اساس داده های حاصل از نمودار شماره ۴،



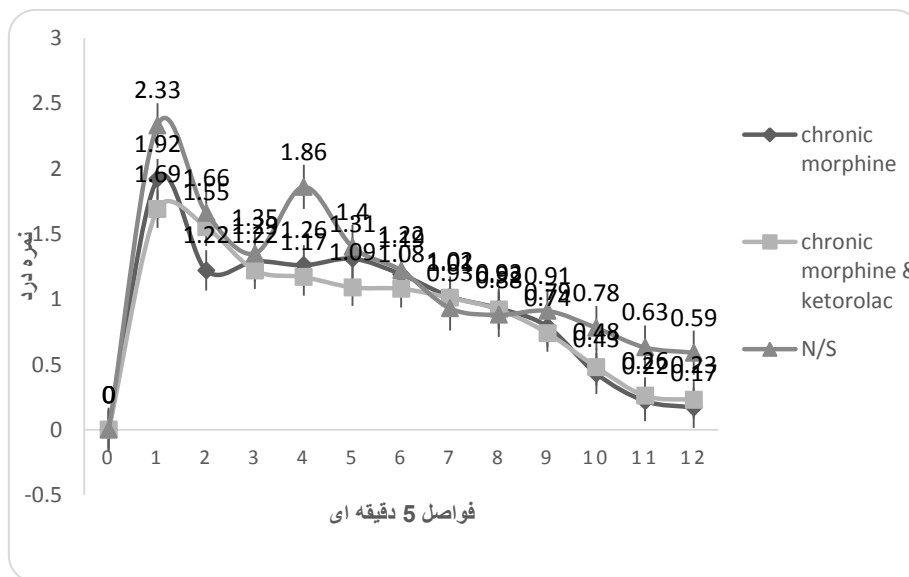
نمودار شماره ۱. مقایسه MPE در گروه های دریافت کننده ۴ دوز از داروی کتورولاک. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. تعداد نمونه ها در هر گروه ۸ عدد بوده اندازه گیری ها دوبار تکرار شدند. \* نشانگر تفاوت معنی دار در سطح  $(P < 0.01)$  با کمترین دوز و \*\*\* نشانگر تفاوت معنی دار در سطح  $(P < 0.001)$  با کمترین دوز می باشد.



نمودار شماره ۲. مقایسه MPE در گروه کنترل (دریافت کننده N/S)، گروه دریافت کننده تک دوز مورفین (Morphine SD)، گروه دریافت کننده مزمن مورفین (Morphine C)، و گروه وابسته دریافت کننده دوز بهینه (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) کتورولاک (Ketorolac+Morphine C). داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. \* نشانگر تفاوت معنی دار در سطح  $(P < 0.01)$  با گروه کنترل و \*\*\* نشانگر تفاوت معنی دار در سطح  $(P < 0.001)$  با گروه کنترل می باشد. ## نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه دریافت کننده مورفین به شکل مزمن با گروه مورفین مزمن و کتورولاک می باشد  $(P < 0.01)$ .



نمودار شماره ۳. مقایسه تعداد پرش در گروه کنترل (دریافت کننده N/S)، گروه دریافت کننده تک دوز مورفین (Morphine SD)، گروه دریافت کننده مزمن مورفین (Morphine C)، و گروه وابسته دریافت کننده دوز بهینه (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) کتورولاک + (Ketorolac+Morphine C). داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. \*\* نشانگر تفاوت معنی دارد در سطح ( $P < 0.01$ ) با گروه کنترل و \*\*\* نشانگر تفاوت معنی دار در سطح ( $P < 0.001$ ) با گروه کنترل می باشد.



نمودار شماره ۴. مقایسه نمره درد در گروه کنترل (دریافت کننده N/S)، گروه دریافت کننده مزمن مورفین، و گروه وابسته دریافت کننده کتورولاک و مورفین. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است و  $P < 0.05$  نشانگر تفاوت معنادار با گروه کنترل می باشد. گروه دریافت کننده مورفین مزمن، تفاوت معناداری در هیچ یک از فواصل زمانی با گروه دریافت کننده مورفین و کتورولاک نشان نداد.

### بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، دوز دو میلی گرم بر کیلوگرمی کتورولاک نتایج ضد دردی بهتری در مقایسه با دوز ۴ و ۶ میلی گرم بر کیلوگرم دارو نشان داد که با محدوده دوز موثر کتورولاک در مقالات پیشین که برای اولین بار توسط جت و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد هم

خوانی دارد (۱۷). در سال ۲۰۱۳ نیز مطالعه ای توسط Gaines و همکاران انجام شد که در آن به بررسی تاثیر دوزهای مختلف کتورولاک بر تحریک پتانسیل اعصاب وستیبولار پرداختند و نشان داده شد که در دوزهای بالا که با تجمع دارو در بدن همراه است، اثرات دارو کاهش می یابد (۱۸). علت کاهش اثرات ضد

دردی در موش ها را بر اساس مقاله ای که در سال ۲۰۱۲ توسط Tsagareli و همکاران چاپ شد، می توان به بروز تحمل به این دارو و برخی دیگر از ضد التهاب های غیر استروئیدی نسبت داد. به طوری که در اثر افزایش دوز دارو و اشباع شدن گیرنده های هدف دارو (نظیر آنزیم های COX و پدیده کاهش پاسخ رخ می دهد) (۱۹). مطالعه Guo و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر برخی داروها نظیر هالوپریدول را بر تحمل و وابستگی به مورفین با مکانیسم های نامشخص نشان داد (۲۰). به علاوه Jun و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر تزریق داخل نخاعی لاموتریژین را بر بهبود اثر بخشی مورفین بررسی کردند (۲۱) و بیان احتمال تاثیر COX و نیز رسپتورهای کاپا در این مطالعه ها گزارش شد به طوری که برای برخی از این داروها اثر ضد درد ذاتی نیز پیشنهاد شده بود که به نوعی تقلیدکننده اثر مورفین بوده اند (۲۰، ۲۱) که نتایج مطالعه حاضر نیز همسو با این نتایج بوده و اثر ضد درد شیمیایی برای کتورولاک مطرح شده است. بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر داروی کتورولاک نیز هم چون هم گروه های خود نظیر دیکلوفناک توانست تحمل به مورفین در درد حرارتی حاد را تا حدودی کنترل نماید و نتایج مطالعه حاضر، انجام آزمایشات بافتی و بررسی مکانیسم در سطح سلولی را پیشنهاد می کند و نتایج به دست آمده بر روی اثرات کتورولاک بر درد حرارتی، همسو با مقاله چاپ شده در سال ۲۰۱۱ است (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر دو یافته جدید را به دست داد: یکی این که کتورولاک به طور معنی داری توانست تحمل نسبت به مورفین را کاهش دهد. یافته جدید دیگر این مطالعه اثر کتورولاک به تنهایی و در حضور تجویز تک دوز و یا مزمن مورفین و بر روی درد شیمیایی القاء شده با فرمالین بود که بر اساس نتایج به دست آمده، برای نخستین بار اثر ضد درد شیمیایی برای کتورولاک گزارش گردید که می تواند همسو با نتایج مطالعه ای در سال ۲۰۱۲ در نظر گرفته شود که تاثیر مثبت تجویز هم زمان کتورولاک و مورفین بر تولید سیتوکاین ها در دردهای پس از عمل جراحی نشان داده بود (۲۳). این یافته ها در مجموع نشان

می دهد که تاثیر این دارو بر روی پروسه های تحمل نسبت به مورفین ممکن است ارتباطی با اثر ضد التهابی یا ضد دردی احتمالی دارو نداشته و با احتمال قوی مرتبط با مکانیسم های پیچیده تحمل نظیر اینترنالیزاسیون گیرنده ها و یا ترانسسمیترهای واسطی نظیر NMDA یا اکسید نیتریک می باشد (۱۰، ۹).

در بررسی تحمل، تفاوت معناداری بین موش های وابسته به مورفین و موش های وابسته ای که همزمان کتورولاک هم دریافت می کردند مشاهده شد. به این معنی که داروی کتورولاک که به عنوان یک داروی ضد التهاب با قدرت اثر انتخابی بر روی آنزیم Cox2 شناسایی شده است تحمل به مورفین را به طور معناداری کاهش داد. اما مصرف تک دوز مورفین با مصرف مزمن کتورولاک در موش های وابسته تفاوت معناداری نداشت. در بررسی وابستگی، بین مصرف مزمن مورفین و مصرف مزمن مورفین همراه کتورولاک تفاوت معنادار وجود داشت. مکانیسم های متفاوت و منحصر به فردی برای عملکرد کتورولاک در مقایسه با سایر ضد التهاب های غیر استروئیدی پیشنهاد شده است. برای نمونه Guo همکاران در سال ۲۰۱۵ مکانیسم های جدیدی برای کتورولاک پیشنهاد دادند نظیر تاثیر بر GTPase های خانواده Rho و اثر ضد سرطانی دارو (۲۴) و یا گزارش، که پس از آن، در چندین مقاله دیگر نیز به اثرات ضد سرطانی کتورولاک اشاره شد. از جمله می توان به مقاله ای در سال ۲۰۱۸ اشاره کرد که توسط Desmedt و همکاران منتشر شده و به اثر بخشی کتورولاک و بی اثر بودن دیکلوفناک در کاهش عود سرطان پستان در افراد با توده چربی بالا اشاره شده و مکانیسم احتمالی را نیز، دخالت این دارو در مسیرهای آدیپوژنز گزارش کرده است (۲۵). به علاوه اثبات اثر بخشی قابل ملاحظه کتورولاک در بیماران با پیوند کبد درمقایسه با مورفین (۲۵) در سال ۲۰۱۲ گزارش شده است. لذا با توجه به نتایج این مطالعات که یافته های این پژوهش را تایید می کنند، به نظر می رسد، یافته های این پژوهش راهگشای جدیدی در کنترل بهینه درد مزمن در بیماران مبتلا به سرطان و یا نوروپاتی باشد (۲۶). در مطالعات وابسته به درد شیمیایی بین فاز ۱ و ۲ یک دوره میانی از ۶ تا ۱۵ وجود

مکانیسم به مطالعات بیشتر و جداسازی گیرنده های فوق نیاز است.

در پایان با توجه به داده های پژوهش حاضر می توان چنین نتیجه گیری کرد که داروی کتورولاک قادر به کاهش تحمل و وابستگی به مورفین در موش های سوری شده و نیز توانایی مهار درد شیمیایی را نیز دارا می باشد. بنا بر این با توجه به یافته های این پژوهش و نیز پژوهش های اشاره شده در بخش بحث و بررسی می توان تداخل با گیرنده های کاپا اپیویدی، تاثیر بر گیرنده های Rho و مهار تولید سیتوکاین ها و هم چنین جلوگیری از سنتز ایکوزانوییدهای التهابی نظیر پروستاگلاندین هارا که علت اصلی مهار فاز دوم درد شیمیایی ناشی از تزریق موضعی فرمالین هستند، به عنوان مکانیسم های عمل پیشنهادی برای اثرات مشاهده شده از کتورولاک در نظر گرفت.

#### سپاسگزاری

مقاله حاضر از پایان نامه تصویب شده در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان با شناسه A12-323-2 استخراج شده و نویسندگان مقاله بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به دلیل تامین بودجه پژوهش حاضر تقدیر و تشکر می نمایند.

10/90-323-01: کد اخلاق

#### References

- Zarrindast MR, Ahmadi S, Haerirohani A, Rezayof A, Jafari M R, Jafarisabet M. GABA receptors in the basolateral amygdala are involved in mediating morphine reward. *Brain Res* 2004; 1006:49-58. doi:10.1016/j.brainres.2003.12.048
- Nummenmaa L, Saanijoki T, Tuominen L, Hirvonen J, Tuulari J, Nuutila P. Opioid receptor system mediates reward processing in humans. *Nat Commun* 2018; 9:1500. doi: 10.1038/s41467-018-03848-y
- Pasternak GW, Pan YX. Mu opioids and their receptors evolution of a concept. *Pharmacol Rev* 2013; 65: 1257-317 doi: 10.1124/pr.112.007138
- Yaksh TL. Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity.

دارد که کمترین رفتار درد مشاهده می شود این تئوری وجود دارد که دو فاز متفاوت نشان دهنده دو نوع متفاوت از درد است فاز ۱ در اثر تحریک مستقیم عصب به وسیله فرمالین به وجود می آید و فاز دوم دردی است که در اثر عکس العمل التهابی در محل به وجود می آید (۱۶). تاثیر مثبت کتورولاک بر این مدل در راستای نتایج گزارشی است که در سال ۲۰۱۱ از آثار مثبت تجویز کتورولاک بر درد بیماران دریافت کننده کاتتر داخل نخاعی توسط Ray و همکاران منتشر شده است (۲۲). از سوی دیگر با توجه به عدم تاثیر کتورولاک بر درد حاد، می توان چنین استنباط نمود که احتمال تحریک گیرنده های  $\mu$  متوسط این دارو بسیار ضعیف می باشد که این یافته نیز قبلاً توسط Sukhtandar و همکاران در سال ۲۰۱۴ بررسی و گزارش شده است (۲۷). به علاوه عوارضی نظیر دپرسیون تنفسی یا تغییر در خلق برای کتورولاک مطرح است که برای نخستین بار توسط Uphouse و همکاران با رسپتورهای کاپا اپیویدی مرتبط دانسته شد (۲۸). لذا می توان به این نتیجه رسید که کتورولاک می تواند بر سایر گیرنده های اپیویدی نظیر  $\delta$  و  $\kappa$  تاثیر گذاشته و از این طریق وابستگی ناشی از نالوکسان را کاهش دهد. لیکن برای اثبات این

- Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41:94-111. doi: 10.1312/actanes.0412-17.1997
- Gendron L, Cahill CM, Zastrow MV, Schiller PW, Pineyro G. Molecular pharmacology of  $\delta$ -opioid receptors. *Harmacol Rev* 2016; 68: 631-700. doi:10.1124/pr.114.008979
- Woller SA, Moreno GL, Hart N, Wellman PJ, Grau JW, Hook MA. Analgesia or addiction? : Implications for morphine use after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2012; 29: 1650-62. doi: 10.1089/neu.2011.2100
- Tao PL, Lao PY, Loh HH. Search for the ideal analgesic in pain treatment by engineering the muopioid receptor. *IUBMB Life* 2010; 62: 103-11. doi:10.1002/iub.292



8. Pasternak GW, Kolesnikov YA, Babey AM. Perspectives on the N-methyl-D-aspartate nitric oxide cascade and opioid tolerance. *Neuropsychopharmacology*. 2005; 13: 309-13. doi: 10.1016/0893-133X(95)00084-Q
9. Dang VC, Christie MJ. Mechanisms of rapid opioid receptor desensitization, resensitization and tolerance in brain neurons. *Br J Pharmacol* 2012; 165:1704-16. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01482.x
10. Sang L, Wu C, Zuo Y. Melatonin prevents morphine-induced hyperalgesia and tolerance in Rats role of protein kinase C and N-methyl-D-aspartate receptors. *BMC Anesthesiol* 2015; 15: 1-8. doi: 10.1186/1471-2253-15-12
11. Babey AM, Kolesnikov Y, Cheng J. Role of nitric oxide on dopamine release and morphine dependency. *Basic Clin Neurosci* 2016;7: 283-90 doi: 10.15412/J.BCN.03070401
12. Maaruf A, Kolesnikov YA, Pick CG, Pasternak GW. Removal of polysialylated neural cell adhesion molecule increases morphine analgesia and interferes with tolerance in mice. *Brain Res* 2011; 1404: 55-62. doi:10.1016/j.brainres.2011.06.021
13. Rosen JM, Yaggie RE, Woida PJ, Miller RJ, Schaeffer AJ, Klumpp DJ. TRPV1 and the MCP-1/CCR2 axis modulate post-UTI chronic pain. *Trends Pharmacol Sci* 2018; 8:1-7. doi: 10.1038/s41598-018-24056-0
14. Seo YJ, Yoon H. The effects of preemptive analgesia of morphine and ketorolac on post-operative pain cortisol O2 saturation and heart Rate. *J Kore Acad Nurs* 2007; 38: 720-29. doi: 10.4040/jkan.2008.38.5.720
15. Sanchez L, Slosky LM, Thompson BJ, Zhang Y, Laracuenta M, Demarko KM, et al. , P-glycoprotein modulates morphine uptake into the CNS a role for the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. *Plos One* 2014, 9: 88516. doi: 10.1371/journal.pone.0088516
16. Nasri S, Anoush M, Khatami N. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effects of fresh onion juice in experimental animals. *Af Pharm Pharmacol* 2012; 6: 1679-84.
17. Jet MF, Ramesh CS, Brown CD, Chiu S, Emmet C, Voronin T, et al. Characterization of the analgesic and anti-inflammatory activities of ketorolac and its enantiomers in the Rat. *J Pharm Exp Ther* 1999; 288:1288-97.
18. Gaines GC, Jones TA. Effects of acute administration of ketorolac on mammalian vestibular sensory evoked potentials. *J Am Assoc Lab Anim Sc* i2013; 52: 57-62.
19. Tsagareli MG, Tsiklauri N, Nozadze I, Gurtskaya G. Tolerance effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs microinjected into central amygdala, periaqueductal grey, and nucleus raphe: Possible cellular mechanism. *Neural Regen Res* 2012; 7: 1029-39. doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2012.13.010
20. Guo S L, Lin C J, Huang H H, Chen L K, Sun W Z. Reversal of morphine with naloxone precipitates haloperidol induced extrapyramidal side effects. *J Pain Sym Manage* 2006; 31: 391-02. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2006.03.002
21. Jun G, Kim SH, Yoon YI, Park JY. Intrathecal lamotrigine attenuates antinociceptive morphine tolerance and suppresses spinal glial cell activation in morphine tolerant Rats. *J Korean Med Sci* 2013; 28: 300-07. doi: 10.3346/jkms.2013.28.2.300
22. Ray SB, Saini R, Kumar R. Intrathecal catheterization and drug delivery in rats to compare the analgesic effects of morphine with ketorolac. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2011; 27:84-09.
23. Gomezvazquez ME, Hernandezsalazar E, Novelootanez JD, Cabrerapivaral CE, Davalosrodriguez IP, Salazarparamo M. Effect of endovenous morphine vs ketorolac on proinflammatory cytokines during postoperative analgesia in laparoscopic cholecystectomy. *Cir Cir* 2012; 80:56-62.
24. Uo Y, Kenny R, Cook L, Adams SF, Rutledge T, Romero E, Et al. A novel pharmacologic activity of ketorolac for therapeutic benefit in ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 5064-72 doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0461
25. Desmedt C, Demicheli R, Fornili M, Bachir I, Duca M, Viglietti G, et al. Potential benefit of intra operative administration of ketorolac on breast cancer recurrence according to the patient body mass index. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110:1115-22. doi: 10.1093/jnci/djy042

26. Kao CW, Wu SC, Lin KC, Chen CL, Huang CJ, Cheng KW, et al. Pain management of living liver donors with morphine with or without ketorolac. *Transplant Proc* 2012; 44: 360-2. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.12.040.

27. Sukhtandar DD, Lee H, Rice KC, Ko MC. Differential effects of opioid related ligands and NSAIDs in nonhuman primate

models of acute and inflammatory pain. *Psychopharmacology* 2014; 231:1377-87. doi: 10.1007/s00213-013-3341-0

28. Uphouse LA, Welch SP, Ward CR, Ellis EF, Embrey JP. Antinociceptive activity of intrathecal ketorolac is blocked by the kappa opioid receptor antagonist nor-binaltorphimine. *Eur J Pharmacol* 1993; 242:53-08.

## Evaluation of the Effects of Ketorolac on Tolerance and Dependence to Morphine in Male Mice

Anoush M<sup>1\*</sup>, Afroogh M<sup>2</sup>

(Received: August 26, 2018

Accepted: December 23, 2018)

### Abstract

**Introduction:** According to the high prevalence of pathologic and physiologic dependence to morphine as a strong opioid analgesics and tolerance to analgesic effects, it seems inevitable to find solutions to reduce these consequences. Previous studies addressed different types of drugs, such as anti-seizure drugs and anti-psychotics. This study aimed to investigate the effects of ketorolac on tolerance and dependence to the analgesic properties of the chronic use of morphine in male mice.

**Materials & Methods:** In this study, adult male albino mice were divided into 9 groups. In order to investigate the analgesic tolerance, mice received morphine plus ketorolac either on 5 consecutive days or a single dose in the fifth day. The hot plate test was performed and latency times were recorded. For the evaluation of chemical pain, formalin subplantar injection was administered and the pain marks were recorded. Finally, dependence assessment was performed using naloxone hydrochloride injection on the fifth day, and the withdrawal symptoms were recorded.

Ethic Code:10/90-323-01

**Findings:** There was a significant difference ( $P<0.05$ ) among the single dose of morphine, normal saline (as the negative control group), and chronic morphine administration; with no significant difference between taking a single dose of morphine or ketorolac in the addicted mice. Regarding the dependence, there was a significant difference ( $P<0.05$ ) between the chronic use of morphine and chronic morphine plus ketorolac administration were reported.

**Discussion & Conclusions:** It can be concluded that ketorolac have an anti-analgesic effect on chemical pain. It reduces tolerance to morphine anti-analgesic effect and it is capable of reducing the withdrawal syndrome symptoms induced by naloxone.

**Keywords:** Morphine, Ketorolac, Tolerance, Dependence

1. Applied Pharmacology Research Centre, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

2. Dep of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

\*Corresponding author Email: Anoushm@zums.ac.ir