



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE



---

ANUL 2025  
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ

*Cercetare experimentală privind receptorii opioizi  
periferici*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. ION-GIGEL FULGA**

**Student-doctorand:**

**JAFAL NADER-MUGUREL**

ANUL 2025

---

**Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București**

Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910 Cont:

RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect. 2

+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722

[www.umfcd.ro](http://www.umfcd.ro)

## Cuprins

Lista lucrări publicate .....	5
Listă abrevieri.....	6
Introducere.....	8
<b>I. Partea generală.....</b>	<b>11</b>
<b>Capitolul 1. Receptorii opioizi.....</b>	<b>11</b>
1.1 Opioizi versus opiacee.....	11
1.2 Peptide opioide endogene.....	11
1.3 Clasificarea receptorilor opioizi.....	15
1.3.1 Receptorul $\mu$ .....	17
1.3.2 Receptorul $\kappa$ .....	18
1.3.3 Receptor $\delta$ .....	19
1.3.4 Receptorul NOP.....	19
<b>Capitolul 2. Rolul receptorilor opioizi în durere și inflamație.....</b>	<b>21</b>
2.1 Durerea.....	21
2.1.1 Definiție.....	21
2.2.2 Clasificarea durerii .....	22
2.2 Calea nociceptiva.....	24
2.3 Teoria ”Gate Control” .....	29
2.4 Inflamația.....	31
2.4.1 Definiție.....	31

2.4.2 Tipuri de inflamație.....	32
2.5 Receptorii opioizi periferici implicați în durere și inflamație.....	34
<b>II. Partea specială.....</b>	<b>38</b>
<b>Capitolul 3. Ipoteză de lucru si observații generale.....</b>	<b>38</b>
<b>Capitolul 4. Material și metodă.....</b>	<b>39</b>
4.1 Animale.....	39
4.2 Substanțe.....	44
4.3 Aparatură.....	44
4.4 Metoda de lucru.....	45
4.5 Prelucrarea rezultatelor.....	56
<b>Capitolul 5. Efectul antiinflamator al morfinei administrate intraplantar pe modelul inflamației produse de caragenină prin injectare intraplantară.....</b>	<b>59</b>
5.1 Ipoteza de lucru.....	59
5.1.1 Punerea la punct a modelului experimental.....	59
5.1.2 Ipoteză de lucru.....	59
5.1.3 Material si metodă.....	59
5.1.4 Rezultate.....	59
5.1.5 Discuții de etapă.....	61
5.1.6. Concluzii de etapă.....	61
5.2 Verificarea responsivității modelului de inflamație al lăbuței de șobolan prin administrarea de caragenină.....	61
5.2.1 Ipoteză de lucru.....	61

5.2.2 Material și metodă.....	61
5.2.3 Rezultate.....	62
5.2.4 Discuții de etapă.....	65
5.2.5 Concluzii de etapă.....	65
5.3 Efectul antiinflamator al morfinei administrată intraplantar pe modelul inflamației produsă de caragenină prin injectare intraplantară. ....	66
5.3.1 Ipoteză de lucru.....	66
5.3.2 Material și metodă.....	66
5.3.3 Rezultate.....	67
5.3.4 Discuții de etapă.....	73
5.3.5 Concluzii de etapă.....	73
<b>Capitolul 6:</b> Efectul analgezic al morfinei administrată intraplantar pe modelul inflamației produse de caragenină prin injectare intraplantară la șobolan.....	74
6.1 Ipoteză de lucru.....	74
6.2 Material și metodă.....	74
6.3 Rezultate.....	75
6.4 Discuții de etapă.....	84
6.5 Concluzii de etapă.....	85
<b>Capitolul 7.</b> Relația doză-efect a morfinei prin injectarea locală pe modelul inflamației produse de caragenină.....	86
7.1 Ipoteză de lucru.....	86
7.2 Material și metodă.....	86

7.3 Rezultate.....	87
7.4 Discuții de etapă.....	89
7.5 Concluzii de etapă.....	89
<b>Capitolul 8. Cercetarea specificității efectului analgezic al morfinei administrate intraplantar.....</b>	<b>91</b>
8.1 Ipoteză de lucru.....	91
8.2 Material si metodă.....	92
8.3 Rezultate.....	92
8.4 Discuții de etapă.....	96
8.5 Concluzii de etapă.....	96
<b>Capitolul 9. Discuții generale.....</b>	<b>97</b>
<b>Capitolul 10. Concluzii și contribuții personale.....</b>	<b>112</b>
10.1 Concluzii.....	112
10.2 Contribuții personale.....	114
<b>Bibliografie.....</b>	<b>115</b>

## **Ipoteză de lucru și obiective generale**

Datele din literatură de specialitate sugerează că există receptori opioizi periferici, nu numai receptori opioizi centrali. Se pare că acești receptori opioizi periferici se produc în zonele inflamate tocmai datorită inflamației.

O primă ipoteză de lucru care pe care ne-am propus-o pornește de la premiza că dacă receptorii opioizi periferici sunt produși chiar de procesul inflamator ar putea să fie implicați în însuși procesul inflamator. Pe cale de consecință, stimularea receptorilor opioizi periferici ar putea influența favorabil sau nefavorabil inflamația.

O a doua ipoteză de lucru a plecat de la ideea că dacă stimularea receptorilor opioizi nervos centrali are ca principal efect farmacologic efectul analgezic, s-ar putea ca și stimularea receptorilor opioizi periferici să aibă un asemenea efect.

Un efect analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici ar putea fi interesant dacă s-ar găsi unele condiții de administrare a morfinei de asemenea natură încât să stimuleze numai receptorii opioizi periferici nu și receptorii opioizi nervos centrali. O asemenea cale ar putea fi administrarea morfinei intraplantar plecând și de la premiza că absorbția morfinei de la locul administrării trebuie să fie lentă și de mică intensitate sau în acest caz mult mai lentă și de mai mică intensitate decât administrarea intraperitoneală.

Dacă în urma cercetărilor constatăm că există posibilitatea stimulării exclusive a receptorilor opioizi periferici nu și a celor nervos centrali ni s-a părut interesant să studiem care sunt câteva din particularitățile efectului analgezic obținut pe această cale. Spre exemplu, în ce moment al inflamației efectul analgezic este maxim, dacă morfina administrată intraplantar are efect în toate tipurile de durere, care este intensitatea efectului analgezic după administrarea intraplantară comparativ cu intensitatea efectului analgezic obținut prin stimularea receptorilor opioizi nervos centrali, care este doza optimă care poate fi administrată intraplantar fără să producă efecte nervos centrale.

## Metodologia generală a cercetării

Studiile prezentate în această lucrare au utilizat două metodologii experimentale distincte, fiecare având un obiectiv specific în investigarea proceselor inflamatorii și a efectului analgezic al substanțelor testate.

Prima metodă a constat în **evaluarea evoluției volumului lăbuței inflamate** în timp, utilizând măsurători pletismometrice succesive după administrarea carageninei, în scopul cuantificării răspunsului inflamator local.

Cea de-a doua metodă a vizat **determinarea latenței de retragere a lăbuței** în condiții de stimulare termică nociceptivă, prin aplicarea metodei Hargreaves, pentru a analiza efectul analgezic al morfinei în inflamația indusă de caragenină. Această abordare complementară a permis o caracterizare detaliată atât a procesului inflamator, cât și a mecanismelor de control al durerii la nivel periferic.

### Animale

Toate experimentele au fost realizate pe șobolani masculi albinoși din rasa Wistar, cu o greutate inițială cuprinsă între 250 și 300 g. Animalele au fost achiziționate de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară Cantacuzino și transferate în laboratorul disciplinei de Farmacologie și Farmacoterapie al Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”. La momentul sosirii, șobolanii aveau vârsta de 6 săptămâni și au beneficiat de o perioadă de aclimatizare și adaptare de o săptămână înainte de începerea experimentelor.

Șobolanii au fost individualizați în cuști standard și menținuți în condiții controlate, cu o temperatură ambiantă de 21–24°C și un nivel de umiditate optim, pentru a asigura un mediu stabil. Regimul de iluminare artificială a fost menținut pe un ciclu de 12 ore lumină/întuneric, cu iluminare între orele 7:00 și 19:00, respectând ritmul circadian natural. Pe întreaga durată a studiului, animalele au beneficiat de acces *ad libitum* la hrană standard pentru rozătoare și apă, garantând astfel un aport nutrițional adecvat.

Un număr total de 267 de șobolani au fost incluși în experiment, fiind repartizați în loturi de 7–10 animale, în funcție de protocolul experimental specific fiecărui grup. Experimentele s-au desfășurat pe o perioadă cuprinsă între 2-7 zile. La finalizarea acestora, șobolani au fost eutanasiați sub anestezie generală, urmată de administrarea unui agent letal, procedura fiind efectuată de medicul veterinar al instituției. Eutanasia s-a realizat în conformitate cu normele etice și cu legislația în vigoare privind utilizarea animalelor în scopuri științifice.

Numărul de animale per grup a fost calculat pe baza variației anticipate, astfel încât puterea statistică a testului să fie de cel puțin 80%. Toate experimentele au fost efectuate în conformitate cu ghidurile etice privind cercetarea pe animale de laborator și cu aprobarea Comitetului de Etică al instituției.

Protocolul acestui studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică pentru Studii Non-Clinice realizate pe animale de laborator din cadrul Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București și a primit autorizația de proiect din partea Autorității Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor București, nr. 33/12.09.2022. Aprobarea a fost acordată în conformitate cu Legea nr. 43/2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, cu modificările și completările ulterioare, și cu Directiva CEE 86/609 din 24 noiembrie 1986 referitoare la actele cu putere de lege și actele administrative ale statelor membre privind protecția animalelor utilizate în scopuri experimentale și științifice.

### **Substanțe**

Substanțele utilizate au fost :

Morfină -clorhidrat de morfină soluție injectabilă 20 mg/ml Brand Zentiva

Ibuprofen sodium 100 g Brand Sigma

Lambda Carrageenan 100 g Brand Sigma

Soluție salină 0,9%

Apă distilată

În toate experimentele a fost folosită soluție de caragenină 1% (dizolvându-se 250 mg Caragenină în 25 ml apă distilată).

În experimentul numărul 2 în care s-a utilizat ibuprofen acesta a fost diluat astfel

1200 mg în 10 ml de apă distilată pentru a se obține 12 mg/ 0,1 ml .

În experimentele următoare, au fost utilizate diluții succesive de morfină, ajustate în funcție de doza necesară per kilogram de greutate corporală.

### **Aparatură**

Aparatura utilizată a fost:

Pletismometrul Ugo Basile 7140

Ugo Basile Plantar Test 37370

Seringi de insulină de 1 ml

Seringi de 2 ml, 5 ml, 10 ml

Flacon de sticlă 50 ml

Markere de culoare albastru, roșu, verde

Manuși de protecție marime M/L

Laptop Lenovo cu Windows 10 și Office 10

Agitator magnetic

### **Metodă de lucru**

Această cercetare experimentală a inclus un număr total de șase experimente succesive, fiecare fiind conceput pentru a investiga diferite aspecte ale proceselor fiziologice și farmacologice implicate în răspunsul inflamator indus prin administrarea de caragenină și analgezie. În vederea obținerii unor rezultate precise și reproductibile, s-a acordat o atenție deosebită etapei preliminare de aclimatizare și adaptare a animalelor de laborator, care a fost esențială pentru minimizarea variabilității interindividuale și a stresului experimentului asupra organismelor testate. După

această perioadă de acomodare, fiecare șobolan a fost identificat individual prin numerotare, ceea ce a facilitat monitorizarea ulterioară a fiecărui exemplar pe parcursul desfășurării experimentelor. În continuare, s-a realizat cântărirea fiecărui animal pentru a documenta greutatea corporală inițială, un parametru esențial în calcularea dozelor de substanțe administrate. După aceste etape preliminare, șobolanii au fost distribuiți în mod aleatoriu în loturile experimentale, asigurându-se astfel omogenitatea grupurilor și reducerea potențialelor biasuri metodologice.

În ceea ce privește primele trei experimente, obiectivul principal a fost determinarea pletismometrică a volumului lăbuțelor posterioare, în scopul evaluării edemului inflamator indus farmacologic. Pentru aceasta, s-a procedat la marcarea lăbuțelor posterioare ale fiecărui animal la nivelul articulației gambă-lăbuță, utilizând un marker permanent de culori diferite. Această metodă a permis identificarea facilă a lăbuțelor în timpul măsurătorilor și a redus posibilitatea erorilor de interpretare. Ulterior, pentru evaluarea modificărilor volumetrice, s-a utilizat pletismometrul digital Ugo Basile 7140, un instrument de precizie destinat măsurării modificărilor volumului de lichid dislocuit măsurat în mililitri. Măsurătorile inițiale ( $T_0$ ) au fost efectuate înainte de administrarea substanțelor experimentale, reprezentând astfel valorile de referință pentru fiecare subiect.

După realizarea acestor măsurători inițiale, s-a administrat caragenină 1% în volum de 0,15 ml prin injecție locală, intraplantară, însă exclusiv la nivelul lăbuței posterioare drepte. Această metodologie a permis utilizarea lăbuței stângi ca referință internă pentru fiecare animal, contribuind la reducerea variațiilor interindividuale și îmbunătățind acuratețea interpretării rezultatelor.

În cadrul primului experiment, lotul experimental a fost format din nouă șobolani, iar determinările pletismometrice au fost realizate în mod secvențial la intervale de timp stabilite post-administrare: 3 ore, 6 ore, 12 ore, 24 ore și 48 ore de la injectarea carageninei. Această abordare a permis observarea progresiei inflamației și a modificărilor de volum în timp, furnizând astfel date esențiale pentru caracterizarea cineticii răspunsului inflamator acut.

Pentru cel de-al doilea experiment, protocolul a inclus utilizarea a două loturi experimentale, fiecare alcătuit din opt șobolani, având drept scop investigarea efectului

antiinflamator al ibuprofenului asupra edemului indus de caragenină. Unul dintre loturi a fost supus unui tratament farmacologic constând în administrarea de ibuprofen la o doză de 120 mg/kg corp, sub formă de injecție intraperitoneală, imediat după injectarea carageninei. Cel de-al doilea lot a servit drept grup de control și a primit o administrare echivalentă în volum de soluție salină 0,9% (0,1 ml/100 g), menită să reproducă stresul procedural, fără a exercita efecte farmacodinamice specifice.

Măsurătorile pletismometrice au fost efectuate pentru fiecare lot atât la momentul inițial (T0), cât și la intervale de timp prestabilite pentru a urmări evoluția procesului inflamator și răspunsul la tratament: la 150 de minute, 5 ore, 12 ore, 24 ore, 48 ore, 72 ore și 96 ore de la injectarea carageninei. Această abordare temporală extinsă a permis o evaluare detaliată a dinamicii răspunsului inflamator și a eficienței agentului antiinflamator administrat, oferind astfel un cadru comprehensiv pentru analiza mecanismelor implicate în procesele inflamatorii experimentale.

În cadrul celui de-al treilea experiment, șobolani au fost repartizați în șase loturi experimentale, fiecare lot fiind alcătuit din șapte subiecți. Această etapă experimentală a fost concepută pentru a investiga efectele diferitelor doze și căi de administrare ale sulfatului de morfină asupra edemului inflamator indus prin administrarea de caragenină.

În concordanță cu metodologia aplicată în experimentele anterioare, inflamația a fost indusă prin injectarea intraplantară a unei soluții de caragenină 1% la nivelul lăbuței posterioare drepte a fiecărui animal. Această procedură a permis reproducerea unui model standardizat de inflamație acută, facilitând evaluarea comparativă a efectelor farmacologice ale sulfatului de morfină.

După inducerea inflamației, loturile experimentale au fost supuse unor intervenții farmacologice specifice. În acest sens, sulfatul de morfină a fost administrat în două doze distincte, respectiv 1 mg/kg corp și 5 mg/kg corp, prin două căi de administrare diferite: intraplantar și intraperitoneal. Astfel, patru dintre cele șase loturi experimentale au primit tratamentul activ, două dintre ele prin administrare intraplantară și celelalte două prin administrare intraperitoneală. Această abordare experimentală a permis nu doar compararea eficacității celor două doze testate,

ci și evaluarea influenței căii de administrare asupra răspunsului inflamator și a eventualelor efecte sistemice ale morfinei.

Pentru a asigura un design experimental riguros, două loturi suplimentare au fost desemnate drept loturi martor. Acestea au primit injecții de soluție salină 0,9%, administrată fie intraplantar, fie intraperitoneal, în volume echivalente cu cele utilizate pentru administrarea substanței active. Această procedură a avut drept scop izolarea efectului farmacologic specific al sulfatului de morfină de eventualele influențe produse de manipularea experimentală sau de administrarea vehiculului.

Măsurătorile pletismometrice au fost efectuate conform unui protocol standardizat, având drept punct de referință momentul administrării sulfatului de morfină, considerat T0. Determinările volumetrice ulterioare au fost realizate la intervale de timp bine definite, respectiv la 6 ore, 24 de ore, 48 de ore și 72 de ore după administrarea tratamentului. Această strategie de monitorizare a permis evaluarea dinamicii efectului analgezic și antiinflamator al sulfatului de morfină, precum și identificarea eventualelor diferențe între grupurile experimentale în funcție de doză și calea de administrare.

În cadrul următoarelor trei experimente, s-a adoptat o metodologie diferită de investigare, având drept obiectiv principal evaluarea efectului analgezic al morfinei administrate local asupra durerii inflamatorii induse prin injectarea intraplantară de caragenină. Spre deosebire de experimentele anterioare, care au urmărit modificările inflamatorii prin măsurători pletismometrice, aceste experimente s-au bazat pe testarea pragului nociceptiv utilizând metoda *Hargreaves*, un model experimental standardizat destinat evaluării sensibilității termice a membrelor posterioare la stimuli dureroși.

Pentru determinarea sensibilității dureroase a șobolanilor, s-a utilizat dispozitivul *Ugo Basile Plantar Test 37370*, un echipament de înaltă precizie conceput pentru măsurarea latenței de retragere a lăbuței posterioare ca răspuns la aplicarea unui stimul termic controlat. Metoda *Hargreaves* presupune focalizarea unui fascicul infraroșu de intensitate constantă asupra suprafeței plantare a lăbuței, generând astfel o încălzire treptată a țesutului cutanat. Răspunsul nociceptiv al animalului este înregistrat automat în momentul în care subiectul își retrage lăbuța, acest timp de

latență fiind considerat un indicator direct al pragului termic al durerii. Testul permite compararea pragului nociceptiv între loturile experimentale și loturile de control, oferind informații relevante despre eficacitatea analgezică a substanței testate.

În cadrul experimentului numărul 4, s-au utilizat 10 loturi experimentale, fiecare lot fiind alcătuit din 10 șobolani. Obiectivul acestui experiment a fost de a determina impactul temporal al administrării morfinei asupra sensibilității dureroase a lăbuței inflamate. Astfel, loturile experimentale au primit o doză de 5 mg/kg corp de sulfat de morfină, administrată intraplantar la nivelul lăbuței posterioare drepte, însă la momente diferite față de injectarea carageninei. Distribuția loturilor a fost realizată astfel încât un prim lot a primit morfină imediat după administrarea carageninei (0,15 ml, concentrație 1%), un al doilea lot a primit morfina la 3 ore post-administrare, un al treilea lot la 6 ore, al patrulea lot la 24 de ore, iar al cincilea lot la 48 de ore după inducerea inflamației.

Pentru a asigura o comparație adecvată, s-au constituit și cinci loturi martor, fiecare corespunzând unui moment specific de administrare al morfinei. Animalele incluse în aceste loturi au primit injecții cu soluție salină 0,9% în volum identic cu cel al soluției active, administrată intraplantar în lăbuța dreaptă la aceleași intervale de timp (imediat după administrarea carageninei, la 3 ore, 6 ore, 24 ore și 48 ore). Această strategie a permis diferențierea clară a efectului farmacologic specific al morfinei de orice modificare nociceptivă generată exclusiv de procesul inflamator.

La toate animalele incluse în studiu, sensibilitatea dureroasă a fost determinată utilizând metoda Hargreaves, aplicată prin intermediul dispozitivului Ugo Basile Plantar Test 37370. Măsurătorile s-au realizat prin determinarea timpului de latență (exprimat în secunde) până la retragerea lăbuței posterioare drepte, un răspuns reflex la senzația de durere indusă de stimulul termic.

Pentru fiecare animal, testările au fost inițiate la 10 minute după administrarea morfinei sau a soluției saline 0,9%. Pentru a obține date cât mai precise și pentru a reduce variabilitatea individuală, s-au efectuat câte cinci determinări pentru fiecare șobolan, la intervale de 5 minute între măsurători. Datele obținute au fost ulterior analizate prin calcularea mediei aritmetice a celor

cinci valori pentru fiecare subiect, această abordare statistică având rolul de a minimiza efectele eventualelor erori de măsurare și de a asigura o estimare robustă a pragului nociceptiv al fiecărui lot experimental.

În cadrul celui de-al cincilea experiment, s-a urmărit investigarea efectului dozei asupra răspunsului analgezic al morfinei administrate local în contextul durerii inflamatorii induse prin injectarea de caragenină. Pentru această etapă experimentală, s-au utilizat cinci loturi experimentale, fiecare fiind alcătuit din câte zece șobolani, selectați și distribuiți aleatoriu pentru a asigura comparabilitatea rezultatelor.

Dintre cele cinci loturi, patru au primit sulfat de morfină în doze variabile, administrate intraplantar la nivelul lăbuței posterioare drepte, la un interval de trei ore după injectarea carageninei. Dozele testate au fost stabilite astfel încât să permită evaluarea unei posibile relații doză-răspuns, fiind în progresie geometrică de rație 2 după cum urmează: 2,5 mg/kg/corp, 5 mg/kg/corp, 10 mg/kg/corp și 20 mg/kg/corp. Această strategie experimentală a permis investigarea efectului analgezic al morfinei la diferite concentrații, precum și identificarea unui eventual efect de platou sau a unei saturații a răspunsului nociceptiv.

Pentru a asigura validitatea rezultatelor și a exclude influențele non-specifiche asociate cu procedura de administrare, a fost inclus și un lot martor. Acest grup a primit o injecție intraplantară de soluție salină 0,9%, administrată în lăbuța posterioară dreaptă, la același interval de timp (3 ore după injectarea carageninei) și în volum echivalent cu cel utilizat pentru administrarea morfinei în loturile experimentale. Acest lot martor a fost esențial pentru identificarea oricăror modificări ale pragului de durere care nu sunt asociate direct cu efectele farmacologice ale morfinei, ci mai degrabă cu factori precum manipularea mecanică sau reacția inflamatorie generată de injectarea lichidului.

Pentru fiecare șobolan, determinările sensibilității nociceptive au fost realizate la 10 minute după administrarea morfinei sau a soluției saline, utilizând metoda Hargreaves, conform protocolului descris anterior, prin intermediul dispozitivului Ugo Basile Plantar Test 37370. Măsurătorile au constat în determinarea timpului de latență până la retragerea lăbuței ca răspuns reflex la stimulul termic aplicat.

Pentru obținerea unor rezultate precise și reproductibile, s-au efectuat cinci determinări succesive pentru fiecare animal, la intervale regulate de cinci minute între măsurători. Valorile obținute au fost utilizate pentru calcularea mediei aritmetice, această metodă statistică având rolul de a diminua influența eventualelor variații individuale .

În plus, pentru a preveni expunerea prelungită a animalelor la stimuli termici excesivi și pentru a evita riscul de arsuri tisulare, s-a stabilit un prag maxim de latență de 30 de secunde. În cazul în care un șobolan nu retrăgea lăbuța în acest interval, măsurătoarea era oprită automat, iar timpul de latență maxim (30 secunde) era înregistrat ca valoare finală pentru acel subiect. Această măsură a fost implementată pentru a respecta principiile etice și standardele de bună practică în cercetarea experimentală pe animale, reducând disconfortul și stresul asociat procedurilor de testare.

În cadrul celui de-al șaselea și ultim experiment, s-a utilizat aceeași metodologie de testare a sensibilității nociceptive, aplicând metoda Hargreaves pentru evaluarea efectului analgezic al morfinei administrate în durerea inflamatorie indusă prin injectarea intraplantară de caragenină. Studiul a inclus cinci loturi experimentale, fiecare format din câte zece șobolani, distribuți aleatoriu pentru a asigura comparabilitatea datelor și validitatea statistică a rezultatelor obținute.

Dintre aceste cinci loturi, trei au fost desemnate drept loturi experimentale și au primit tratament cu sulfat de morfină, administrat fie local, fie sistemic. Mai precis, primul lot experimental a primit morfină într-o doză de 5 mg/kg corp prin administrare intraplantară la nivelul lăbuței posterioare drepte, al doilea lot a primit aceeași doză de 5 mg/kg corp prin administrare intraperitoneală, iar al treilea lot experimental a primit o doză mai mare, respectiv 10 mg/kg corp de morfină, administrată intraperitoneal. Toate aceste administrări s-au realizat la un interval de trei ore după injectarea cu caragenină, moment ales pe baza observațiilor din experimentele anterioare, pentru a surprinde o etapă activă a procesului inflamator și a evalua eficiența analgezică a morfinei în această fază.

Pentru a permite o comparație obiectivă și a controla posibilele influențe non-farmacologice asupra pragului nociceptiv, s-au constituit două loturi martor. Primul lot martor a primit o injecție intraplantară de soluție salină 0,9%, administrată în lăbuța posterioară dreaptă, în

același volum utilizat pentru administrarea morfinei în lotul experimental corespunzător. Al doilea lot martor a primit, de asemenea, soluție salină 0,9%, dar administrată pe cale intraperitoneală, pentru a reflecta eventualele diferențe cauzate de calea de administrare a substanței vehicul. Toate administrările din aceste loturi martor au fost realizate la trei ore după injectarea cu caragenină, replicând fidel momentul intervenției farmacologice din loturile experimentale.

Pentru fiecare animal, determinarea sensibilității dureroase s-a realizat utilizând metoda Hargreaves, aplicată cu ajutorul dispozitivului Ugo Basile Plantar Test 37370, conform protocolului descris anterior. Testările au fost inițiate la 10 minute după administrarea morfinei sau a soluției saline, iar pentru fiecare șobolan s-au efectuat cinci determinări succesive, la intervale de cinci minute între măsurători. Această abordare metodologică a permis obținerea unor date precise, prin reducerea variabilității interindividuale și minimizarea erorilor experimentale.

### **Prelucrarea rezultatelor**

În cadrul acestei cercetări experimentale, analiza datelor a vizat doi parametri principali, corespunzători celor două metode distincte de investigare utilizate. Astfel, în primele trei experimente, obiectivul principal a fost evaluarea modificărilor inflamatorii la nivelul lăbuței posterioare drepte, măsurate prin metoda pletismometrică, care a permis cuantificarea volumului edematos al acesteia în diferite momente post-administrare a carageninei și a substanțelor testate. În schimb, în următoarele trei experimente, accentul a fost pus pe analiza sensibilității nociceptive, evaluată prin metoda Hargreaves, utilizând latența de retragere a lăbuței inflamate ca indicator al pragului de durere termică. Această abordare diferențiată a permis o caracterizare complexă atât a răspunsului inflamator, cât și a efectului analgezic al morfinei în funcție de doză și calea de administrare.

Pentru procesarea statistică a datelor obținute, s-a utilizat software-ul IBM SPSS Statistics for Windows, versiunea 29.0 (versiunea de probă de 30 de zile, Armonk, NY: IBM Corp). Analiza variabilelor continue a fost precedată de testarea normalității distribuției acestora utilizând testul Shapiro-Wilk. Rezultatele au fost ulterior exprimate sub formă de medie  $\pm$  deviație standard,

mediană, valoare minimă și valoare maximă, asigurând astfel o interpretare robustă a tendințelor centrale și a dispersiei datelor.

Pentru compararea valorilor variabilei volumul lăbuței posterioare drepte, măsurată pletismometric în primele trei experimente ce prezintă distribuție normală s-a utilizat testul Student t. Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit la  $p < 0,05$ , valoare considerată relevantă pentru evidențierea diferențelor semnificative între loturile experimentale.

Pentru compararea variabilei timp de retragere a lăbuței drepte în experimentele bazate pe metoda Hargreaves, s-a utilizat testul Mann-Whitney U, având în vedere distribuția non-normală a datelor.

Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit la  $p < 0,05$ , valoare considerată relevantă pentru evidențierea diferențelor semnificative între loturile experimentale.

## Rezultate

Prezentele cercetări și-au propus să studieze receptorii opioizii periferici. S-a optat pentru eventualii receptori opioizi de la nivelul lăbuței posterioare drepte a șobolanilor.

Întrucât datele de literatură susțin că receptorii opioizi periferici își cresc densitatea ca urmare a procesului inflamator, o primă problemă pe care ne-am pus-o a fost să vedem dacă acești receptori sunt implicați și în procesul inflamator. S-a ales ca model experimental inflamația lăbuței posterioare drepte a șobolanilor la care s-a măsurat volumul lăbuței în mililitri cu ajutorul pletismometrului digital Ugo Basile 7140.

Într-un prim pas s-a studiat dacă administrarea de caragenină produce inflamație. S-a lucrat pe un lot de 9 șobolani la care după administrarea intraplantară de caragenină s-a măsurat volumul lăbuței posterioare drepte și volumul lăbuței posterioare stângi la care nu s-a administrat caragenină. Măsurătorile s-au făcut imediat după administrarea carageninei, apoi la 3, 6, 12, 24 și 48 de ore după administrarea carageninei. Pe toată perioada urmăririi, exceptând administrarea imediată, volumul lăbuței drepte la care s-a administrat caragenină a fost semnificativ statistic mai

mare decât volumul lăbuței posterioare stângi la care nu s-a administrat caragenină. Aceasta ne-a făcut să tragem concluzia că într-adevăr caragenina când este administrată intraplantar produce o inflamație a lăbuței respective.

În al doilea pas s-a studiat dacă medicamentele antiinflamatorii reduc volumul lăbuței inflamate prin administrarea de caragenină.

S-a lucrat pe două loturi a câte 8 șobolani. După administrarea carageninei, unul dintre loturi a primit ibuprofen 120 mg/kg/corp intraperitoneal, iar celălalt lot soluție salină 0,9% în doză de 0,1 ml/100 g intraperitoneal. Volumul lăbuțelor inflamate și a lăbuțelor neinflamate a fost măsurat imediat, la 2,5 ore, la 5, 12, 24, 48, 72 și 96 de ore. Pe toată perioada urmăririi exceptând determinarea imediată, volumul mediu al lăbuțe inflamate la animalele tratate cu soluție salină 0,9% a fost semnificativ mai mare decât volumul mediu al lăbuțelor inflamate la șobolani tratați cu ibuprofen. În aceste condiții s-a apreciat că modelul experimental ales este valid și poate fi utilizat pentru a detecta un eventual efect antiinflamator al morfinei administrată intraplantar.

Ulterior s-a lucrat pe 6 loturi a câte 7 șobolani după producerea inflamației cu caragenină, s-a studiat efectul antiinflamator al morfinei administrate intraplantar în doze de 1 mg/kg/corp și 5 mg/kg/corp și efectul antiinflamator al morfinei administrată intraperitoneal în doze de 1 mg/kg/corp și 5 mg/kg/corp comparativ cu loturile martor corespunzătoare la care s-a administrat soluție salină 0,9% intraplantar, respectiv intraperitoneal în același volum ca și morfina administrată. Din datele obținute a rezultat că numai morfina în doza de 5 mg/kg/corp administrată intraplantar a avut un efect semnificativ față de lotul martor la 48 ore de la administrarea de caragenină. Se poate trage concluzia că morfina administrată intraplantar are efect antiinflamator dacă se administrează la locul inflamației.

Întrucât aceeași cantitate de morfină administrată intraperitoneal nu a avut efect antiinflamator semnificativ statistic se poate presupune că morfina administrată intraplantar și-a produs efectul prin unii receptori opioizi periferici situați la nivelul inflamației produse și nu prin receptori opioizi situați în sistemul nervos central.

Întrucât cel mai important efect al morfinei semnalat în literatura de specialitate este efectul analgezic care în mod obișnuit se produce prin stimularea receptorilor opioizi nervos centrali, ne-am pus problema dacă un asemenea efect nu poate fi produs și prin stimularea receptorilor opioizii periferici. Având în vedere că numai morfina administrată intraplantar în doza de 5 mg/kg/corp a

avut efect antiinflamator, am dorit să vedem dacă aceeași doză are efect analgezic. De asemenea, din datele obținute mai sus s-a putut constata că receptorii opioizi periferici își cresc densitatea membranară în timp. Aceasta ne-a făcut să presupunem că și intensitatea efectului analgezic ar putea să varieze în timp.

Pentru a verifica această ipoteză, s-a realizat un nou experiment prin care s-a studiat efectul analgezic al morfinei pe lăbuța posterioară dreaptă a șobolanului la care s-a administrat intraplantar caragenină. Pentru a vedea efectul analgezic în funcție de durata de la producerea inflamației și până la momentul administrării morfinei efectul analgezic al morfinei a fost măsurat la 10 minute după administrarea acesteia, iar morfina a fost administrată la mai multe intervale de timp după administrarea carageninei, respectiv imediat, la 3, 6, 24 și 48 de ore. Ca test de analgezie s-a utilizat testul de retragere a lăbuței la stimulare termică cu ajutorul aparatului Ugo Basile Plantar Test 37370.

Timpul a fost măsurat în secunde și s-au comparat loturile între ele. Din datele obținute s-a putut constata că latența de retragere a lăbuței a fost mai mică la 24 de ore și 48 ore decât la determinările anterioare ceea ce sugerează că la 6 ore de la administrarea carageninei s-a produs un fenomen de hiperalgezie și aceasta hiperalgezie a fost influențată semnificativ statistic de către morfina administrată intraplantar dar mult mai puțin decât a fost influențată în primele 6 ore când probabil nu exista hiperalgezie. Coroborând toate aceste date putem afirma că în urma inflamației produse de caragenină se instalează o durere normală care după 6 ore de la producerea inflamației evoluează către un proces de hiperalgezie. Morfina administrată intraplantar a avut un efect maxim la 3 ore de la producerea inflamației, probabil prin creșterea densității receptorilor opioizi periferici probabil generată chiar de inflamație. După 6 ore de la producerea inflamației morfina administrată intraplantar a avut efect analgezic semnificativ statistic dar de intensitate mult mai mică decât anterior ceea ce sugerează că receptorii opioizi nu sunt sau sunt implicați foarte puțin în fenomenul de hiperalgezie. Este posibil de asemenea ca durerea constatată la animalele cu hiperalgezie să aibă două componente, respectiv o componentă locală și o componentă nervos centrală, posibil la nivelul măduvei spinării prin fenomenul de “gate control”. Dacă așa ar sta lucrurile morfina nu a putut influența decât componenta locală, nu și componenta nervos centrală. Morfina a avut un efect mai intens înaintea instalării hiperalgeziei deoarece în acea perioadă nu a existat decât componenta locală.

Constatarea că efectul analgezic maxim se produce atunci când morfina este administrată intraplantar după administrarea carageninei ne face să ne punem problema unei relații doză-efect. Pentru aceasta s-a efectuat următorul experiment realizat pe un număr de 50 de șobolani împărțiți în 5 loturi a câte 10 șobolani. Animalelor li s-a administrat morfina intraplantar în doze progresiv crescătoare respectiv 2,5, 5, 10 și 20 mg/kg/corp, iar lotului martos i s-a administrat soluție salină 0,9% în volum de 0,1 ml la 3 ore după administrarea carageninei. La 10 minute după administrarea morfinei s-a măsurat latența de retragere a lăbuței după administrarea unui fascicul infraroșu ce generează stimularea termică la nivelul lăbuței (cu ajutorul aparatului Ugo Basile Plantar Test 37370). Prin analiza rezultatelor obținute s-a constatat că morfina nu a crescut semnificativ statistic latența de retragere a lăbuței la doza de 2,5 mg/kg corp. La dozele de 5 mg/kg corp și 10 mg/kg corp morfina a crescut semnificativ statistic latența de retragere a lăbuței, media celor două loturi fiind foarte apropiate, respectiv  $4,18 \pm 1,08$  secunde și  $4,28 \pm 2,15$  secunde. La lotul numărul 5 latența de retragere a lăbuței a crescut foarte mult, atingând o valoare medie de  $27,1 \pm 4,48$  secunde, dar spre deosebire de celelalte loturi la acest lot șobolanii au prezentat evidente semne de activitate nervos centrală a morfinei cum ar fi starea de imobilitate coada Straub, la acest lot latența de retragere a lăbuței a depășit timpul maxim acceptabil de 30 secunde. Faptul că doza de 10 mg/kg corp morfină și 5 mg/kg corp morfină au determinat o creștere a latenței de retragere a lăbuței practic de aceeași intensitate, ne permite să afirmăm că foarte probabil numărul maxim de receptori opioizi existenți în lăbuța de șobolan inflamată de caragenină este corespunzător dozei de 5 mg/kg corp morfină. Rezultatele obținute în acest experiment cu doza de 20 mg/kg corp morfină, când s-au înregistrat evidente efecte nervos centrale ale morfinei, ne-a arătat că morfina se poate absorbi și după injectarea intraplantară, dar probabil această absorbție este mică astfel încât după administrarea intraplantară are efecte nervos centrale numai dacă doza este foarte mare. Faptul că doza de 5 mg/kg corp și 10 mg/kg corp morfină au crescut latența retragerii lăbuței în jur de 4 secunde iar doza de 20 mg/kg corp care spre deosebire de dozele anterioare a avut și efecte nervos centrale a crescut latența de retragere a lăbuței în jur de 30 secunde ne face să presupunem că efectul analgezic produs prin stimularea receptorilor opioizi periferici este mai mică intensitate decât efectul analgezic produs prin stimularea receptorilor opioizi nervos centrali.

Pentru a verifica efectele nervos centrale ale morfinei administrate intraplantar s-a efectuat un nou experiment în care dozele de morfină administrate intraplantar au fost comparate din punct

de vedere analgezic cu aceleași doze administrate intraperitoneal. Ipoteza noastră de lucru pleacă de la premisa că absorbția morfinei după administrarea intraperitoneală este mult mai intensă și mult mai rapidă decât după administrarea intraplantară ceea ce ar însemna că efectul analgezic al morfinei să fie mai intens după administrarea intraăperitoneală decât după administrarea intraplantară.

S-a lucrat pe 5 loturi a câte 10 șobolani cărora li s-a produs inflamația lăbuței posterioare drepte cu caragenină iar la 3 ore după caragenină s-a administrat fie 5 mg/kg/corp morfină intraplantar fie soluție salină 0,9% intraplantar fie morfină 5 mg/kg/corp intraperitoneal fie soluție salină 0,9% intraperitoneal fie morfină 10 mg/kg/corp intraperitoneal. La toate animalele s-a determinat timpul de retragere a lăbuței după administrarea unui fascicul infraroșu la nivelul lăbuței cu ajutorul aparatului Ugo Basile Plantar Test 37370.

Analiza rezultatelor a arătat că doza de 5 mg/kg/corp administrată intraplantar a avut un efect analgezic semnificativ statistic față de martorul corespunzător pe când aceeași doză administrată intraperitoneal nu a avut un efect analgezic semnificativ statistic.

Deoarece administrarea intraperitoneală presupune întotdeauna o absorbție foarte intensă și foarte rapidă, rezultă că doza de 5 mg/kg/corp administrată intraperitoneal nu este în măsură să producă efecte nervos centrale pentru că nu a produs efect analgezic semnificativ statistic. Dacă efectul analgezic al morfinei administrate intraplantar s-ar fi produs prin stimularea receptorilor opioizi nervos centrali ar fi trebuit ca aceeași doză administrată intraperitoneal, cale de administrare care asigură o absorbție mult mai eficientă să fi avut un efect analgezic mult mai intens ceea ce nu a fost cazul. Aceasta ne face să presupunem că efectul analgezic al administrării intraplantare de morfină s-a produs exclusiv prin stimularea receptorilor opioizi periferici. Această specificitate de acțiune depinde probabil foarte mult de cantitatea de morfină administrată local. Doza de 10 mg/kg corp intraplantar despre care s-a demonstrat mai ca are efect analgezic de aceeași intensitate cu doza de 5 mg/kg corp, când a fost administrată intraperitoneal, a avut un efect analgezic mult mai mare și însoțită de evidente semne de acțiune nervos centrale. Practic doza de 10 mg/kg/corp morfină administrată intraperitoneal a avut efecte asemănătoare cu doza de 20 mg/kg corp morfină administrată intraplantar după cum s-a demonstrat în experimentul precedent, cu siguranță faptului că administrarea intraperitoneală presupune o absorbție mult mai bună decât administrarea intraplantară.

Coroborând toate cele prezentate mai sus rezultă că există receptori opioizi periferici și că stimularea lor produce atât efect analgezic cât și efect antiinflamator. Aceste efecte fiind produse la doze care administrate intraperitoneal au fost lipsite de efecte.

Foarte probabil acestor receptori opioizi periferici le crește densitatea ca urmare a dezvoltării procesului inflamator deoarece efectul maxim a fost atins la 3 ore de la administrarea carageninei.

De asemenea, s-a putut constata că durerea evoluează în timpul inflamației fiind de intensitate maximă la 3 ore iar după această perioadă se instalează un fenomen de hiperalgezie.

Cercetările noastre au arătat că efectul morfinei este mult mai intens înainte de instalarea hiperalgeziei decât după instalarea ei ceea ce ne-a făcut să credem că în a doua parte a inflamației există concomitent atât hiperalgezie cât și durere normală și că foarte probabil stimularea receptorilor opioizi periferici nu influențează fenomenul de hiperalgezie.

Din cercetările efectuate mai sus rezultă că doza de 5 mg/kg/corp morfină administrată intraplantar și doza de 10 mg/kg/corp morfină administrată intraplantar au efect analgezi de aceeași intensitate ceea ce ne-a permis să presupunem că numărul maxim de receptori opioizi la nivelul lăbuței inflamate este cel corespunzător dozei de 5 mg/kg/corp morfină intraplantar.

Morfina administrată intraplantar sau intraperitoneal în doze mari care au avut și efecte nervos centrale au avut un efect analgezic mult mai intens decât dozele de morfină care administrate intraplantar au fost lipsite de efecte nervos centrale. Deci stimularea receptorilor opioizi periferici chiar la doze capabile să ocupe toți receptorii opioizi periferici situați în zona în care se administrează morfina au un efect analgezic de mai mică intensitate decât stimularea receptorilor opioizi situați nervos central.

Cu alte cuvinte, par să existe unele diferențe între stimularea receptorilor opioizi periferici și stimularea receptorilor opioizi nervos centrali. Stimularea receptorilor opioizi periferici produce un efect analgezic de mai mică intensitate decât stimularea receptorilor opioizi nervos centrali, stimularea receptorilor opioizi periferici are și efect antiinflamator care nu a fost descris în literatură prin stimularea receptorilor opioizi nervos centrali. Stimularea receptorilor periferici pare să aibe efect numai în durerea normală, nu și în hiperalgezie.

## Concluzii

1. La nivelul lăbuței de șobolan inflamată cu caragenină există receptori opioizi periferici.
2. Acești receptori par să apară și să crească în timp ca urmare a unui stimul produs chiar de inflamație.
3. Numărul maxim al receptorilor opioizi periferici din lăbuța de șobolan inflamată cu caragenină este probabil cel corespunzător dozei de 5 mg/kg/corp administrată intraplantar.
4. În condițiile noastre experimentale acest număr maxim de receptori opioizi din lăbuțele de șobolan inflamate cu caragenină a fost atins după 3 ore de la administrarea carageninei.
5. Latența de 3 ore ne face să credem că densitatea receptorilor opioizi a crescut mai degrabă prin creșterea exprimării membranare decât prin sinteză deoarece timpul de 3 ore este prea mic pentru sinteză.
6. Stimularea receptorilor opioizi periferici are efect antiinflamator.
7. Doza de morfină administrată intraplantar și care a avut efect antiinflamator, atunci când a fost administrată intraperitoneal nu a prezentat efect antiinflamator.
8. Foarte probabil stimularea receptorilor opioizi centrali nu are efect antiinflamator .
9. Stimularea receptorilor opioizi periferici are efect analgezic .
10. Efectul analgezic obținut prin stimularea receptorilor opioizi periferici este de mai mică intensitate decât efectul analgezic obținut prin stimularea receptorilor opioizi centrali.
11. Stimularea receptorilor opioizi periferici pare să aibă efect analgezic numai în durerea normală, nu și în durerea din hiperalgezie.
12. Intensitatea maximă a efectului analgezic obținut prin stimularea receptorilor opioizi periferici se atinge la 3 ore de la producerea inflamației.
13. Morfina administrată intraplantar pare să se absoarbă puțin de la locul injectării, totuși dacă se administrează intraplantar în doze mari, în condițiile noastre experimentale, mai mult de 10 mg/kg.corp morfină apar și efecte nervos centrale.
14. Datele obținute de noi în aceste experimente nu ne permit să facem considerente privind mecanismul post-receptor prin care stimularea receptorilor opioizi are efect analgezic și antiinflamator .
15. De asemenea, este greu de făcut considerații privind extrapolarea acestor date în terapia umană.

16. Pe deoparte intensitatea efectului analgezic este mai mică prin stimularea receptorilor opioizi periferici decât prin stimularea receptorilor opioizi nervos-centrali, pe de altă parte stimularea receptorilor opioizi periferici este lipsită de efecte nervos centrale.

Pe baza celor arătate mai sus putem presupune că administrarea locală de morfină ar putea fi utilă în tratamentul unor inflamații acute. Ar fi interesant de studiat dacă și alți opioizi au efect analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici. O asemenea cercetare s-ar putea să constate că există opioizi la care efectele periferice se produc la doze mult mai mici decât efectele nervos centrale.

În cercetările noastre, doza de morfină care produce efect analgezic periferic este numai de două ori mai mică decât doza care produce efecte nervos centrale. De asemenea, ar fi interesant să se cerceteze dacă morfina sau alți opioizi au efect analgezic periferic și în urma administrării cutanate. Totodată ar fi interesant să se studieze dacă și unii opioizi care nu traversează bariera hematoencefalică, cum este loperamida, au efect analgezic. Un astfel de medicament ar putea avea o diferență mai mare între doza care produce efect analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici și doza care produce efecte nervos centrale. Bineînțeles că aceasta ar crește siguranța medicamentului, loperamida ar putea fi un candidat serios în acest sens deoarece ea se absoarbe din tubul digestiv și nu străbate bariera hematoencefalică din cauza activității glicoproteinei P care scoate loperamida din lichidul cefalorahidian. Dacă loperamida se absoarbe din tubul digestiv este de așteptat să se absoarbă și transdermic, deoarece la nivelul pielii nu există transporterul glicoproteină P. Noi nu am studiat în aceasta cercetare loperamida deoarece obiectivele noastre au fost altele: să demonstrăm existența efectului analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici, să cercetăm dacă există un efect antiinflamator prin stimularea receptorilor opioizi periferici, să studiem la cât timp după producerea inflamației intensitatea efectului analgezic este maximă, să studiem o relație doză efect, să vedem dacă se poate găsi o doză de opioid care să producă efect analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici fără să aibă efecte nervos centrale, să studiem dacă stimularea receptorilor opioizi periferici au efect analgezic în toate tipurile de durere.

Toate aceste obiective au fost atinse în această cercetare, cercetarea efectului analgezic prin stimularea receptorilor opioizi periferici cu loperamidă ar trebui să reprezinte o continuare a acestei cercetări.

### **Contribuții personale**

1. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se compară efectul analgezic al morfinei cu efectul antiinflamator. (*Capitolul 5, subcapitol 5.3; Capitolul 6, subcapitole 6.3, 6.4, 6.5*)
2. Este pentru prima dată în literatură când se compară intensitatea efectului analgezic al morfinei administrată local efect produs prin stimularea receptorilor opioizi periferici cu efectul stimulării receptorilor opioizi nervos centrali după administrarea intraperitoneală. (*Capitol 8, subcapitole 8.3, 8.4, 8.5*)
3. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se semnaleză faptul că morfina are efecte numai în durerea normală nu și în hiperalgezie. (*Capitol 6, subcapitole 6.4, 6.5*)
4. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se publică o relație doză-efect după administrarea intraplantară a morfinei. (*Capitol 7, subcapitole 7.3, 7.4, 7.5*)
5. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se remarcă faptul că intensitatea efectului analgezic al morfinei administrate intraplantar variază în timp în funcție de evoluția inflamației fiind maximă la 3 ore de la producerea inflamației. (*Capitol 6, subcapitol 6.5*)
6. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se constată că se poate găsi o doză de morfină administrată intraplantar și care are efect analgezic fără să aibă efecte nervos centrale. (*Capitol 7, subcapitole 7.3, 7.4, 7.5*)
7. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se încearcă determinarea numărului maxim de receptori opioizi periferici în lăbuța de șobolan inflamată. (*Capitol 6, subcapitole 6.4, 6.5*)

## LISTA PUBLICAȚIILOR DIN TEMA TEZEI DE DOCTORAT

1. **Jafal NM**, Stoleru S\*, Zugravu A, Graziosi G, Orban C, Popescu M, Vătășescu Balcan A, Fulga I, *Anti-inflammatory effects of locally versus systemically injected morphine on chemically induced inflammation: an experimental animal study*, Farmacia, 2024, 72(5), 1209-1215, FI – 1,4/2024, Q4, (capitolul 5, pagini 66-73)

<https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.24>

<https://farmaciajournal.com/issue-articles/anti-inflammatory-effects-of-locally-versus-systemic-injected-morphine-on-chemically-induced-inflammation-an-experimental-animal-study/>

2. **Jafal NM**, Stoleru S\*, Zugravu A, Orban C, Popescu M, Marin RC, Fulga IG, *The Analgesic Effect of Morphine on Peripheral Opioid Receptors: An Experimental Research*, The Journal of Critical Care Medicine, 2024, 10(4), 337-344, FI - 0.9/2024, Q4, (capitolul 6, pagini 74-85)

<https://doi.org/10.2478/jccm-2024-0042>

<https://jccm.ro/wp-content/uploads/2024/10/jccm-2024-0042.pdf>

3. **Jafal NM**, Stoleru S\*, Orban C, Fulga IG, *Peripheral Opioid Receptors in the Modulation of Inflammatory Pain: a Narrative Review*, Maedica – a Journal of Clinical Medicine, 2025, 20(1), 72-80, (capitolul 1- pagini 15-17, capitolul 2-pagini 34-37, capitolul 9- pagini 97-111)

<https://doi.org/10.26574/maedica.2025.20.1.72>

[https://www.maedica.ro/articles/2025/1/2025\\_20\(23\)\\_No1\\_pg72-80.pdf](https://www.maedica.ro/articles/2025/1/2025_20(23)_No1_pg72-80.pdf)