مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۸، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱

صفحات ۹۲- ۶۸

Online ISSN: ٤٤٩٣-٢٤٧٦

Print ISSN: ٢٠٢٠-٢٥٣٨

www.irijournals.com

بررسی اثر متقابل سیستم های دوپامینرژیک وگابائرژیک بر اخذ آب در رت های نر نژاد ویستار حساس شده به مورفین

مونا خزائی [۱]، شهربانو عریان [۲]

[۱] کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

[۲] دکترای فیزیولوژی غدد درون ریز استاد گروه علوم جانوری دانشگده علوم زیستی دانشکده خوارزمی

چکیده

در این تحقیق واکنش متقابل سیستم های دوپامینرژیک و گابائرژیک بر اخذ آب در موش های صحرایی نر نژاد ویستار سالم و حساس شده به مورفین مورد مطالعه قرار گرفته است. برای تیمار درون بطنی در حیوان سالم یک کانول راهنما در بطن جانبی سمت راست موش های صحرایی بالغ با محدوده وزنی ۲۵۰- ۲۰۰ گرم قرار گرفت. بعد از دوره نقاهت حیوانات به مدت ۲۴ ساعت از آب محروم شدند، سپس داروها تزریق شده و میزان نوشیدن آب به مدت ۱ساعت در این حیوانات مورد بررسی قرار گرفت. در مورد حیوان حساس شده به مورفین، پس از دوره نقاهت، حیوان در ابتدا به مورفین حساس شده و بعد از ۲۴ ساعت محرومیت از آب، داروها تزریق و میزان اخذ آب به مدت یک ساعت در این حیوانات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تزریق درون بطنی بروموکریپتین (μ۱۰g/rat) آگونیست گیرنده D2، بیکوکولین (μ۱g/rat) آنتاگونیست گیرنده GABAA و تزریق زیر جلدی مورفین (۵mg/kg) بطور معنی داری توانستند میزان اخذ آب را در رت های محروم از آب افزایش دهد در حالیکه تزریق درون بطنی کلرپرومازین (μ ۴۰g/rat) آنتاگونیست گیرنده D2 و موسیمول (μ ۱/۰g/rat) آگونیست گیرنده GABAA میزان اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دادند.برهم کنش بین سیستم دوپامینرژیک-گابائرژیک نشان داد که تزریق بروموکریپتین، ۱۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد، در حالیکه تزریق کلرپرومازین و بیکوکولین، اثر معنی داری بر اخذ آب در مقایسه با گروه کنترل نداشت. برهم کنش بین سیستم های اوپیوئیدرژیک-دوپامینرژیک و اپیوئیدرژیک-گابائرژیک نشان دانند که تزریق درون بطنی بروموکریپتین و موسیمول در موش های حساس شده به مورفین توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد در حالیکه تزریق بیکوکولین در موش های حساس شده به مورفین توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. ولی کلرپرومازین در موش های حساس شده به مورفین اثر معنی داری را بر اخذ آب در مقایسه با گروه کنترل نداشت. داده های حاضر پیشنهاد می کند که سیستم های دوپامینرژیک و گابائرژیک و اپیوئیدرژیک دارای واکنش متقابل با یکدیگر در مکانیسم اخذ آب می باشند.

واژه‌های کلیدی: میزان اخذ آب، بروموکریپتین،کلرپرومازین، موسیمول، بیکوکولین، مورفین

مقدمه

تشنگی احساسی است که انسان و حیوانات را تحریک به نوشیدن می کند و ترکیبی از مکانیسم های تنظیمی است که هومئوستازی مایعات بدن را ثابت نگه می دارد و در نهایت برای بقا ضروری است (Mckinley et al ., 2004). تشنگی رفتاری است که برای تنظیم اسمولاریته پلاسما، حجم و فشار خون به حیوان کمک می کند (Magrani et al ., 2004). زمانی که بدن آب از دست می دهد، معمولا مایع داخل و خارج سلولی از بین می رود و فضاهای داخل و خارج سلولی از آب تهی می شوند و یکسری پاسخ های جبران کننده شروع می شود، این پاسخ ها شامل ترشح وازوپرسین، تحریک سیستم رنین- آنژیوتانسین- آلدوسترون، فعالیت سیستم سمپاتیک و کاهش دفع کلیوی آب و مواد محلول است. اگر چه چنین مکانیسم های جبرانی برای حیوانات مفید هستند، اما نمی تواند حجم مایعات بدن را به میزان پایه برگردانند به همین علت از دست رفتن مایعات بدن، دوباره باید جبران شود. درنتیجه تشنگی، رفتاری است که موجود را وادار به نوشیدن آب می کند و برای متناسب کردن پاسخ های فیزیولوژیکی که حجم و ترکیب مایعات بدن را ثابت نگه می دارند مهم است (Mckinley et al ., 2004) . تنظیم هومئوستازی مایعات بدن برای حفظ حیات ضروری است. به هم خوردن تعادل مایعات بدن، هنگامی که غلظت الکترولیت های خارج سلولی افزایش می یابد یا زمانیکه حجم مایعات خارج سلولی کاهش می یابد، رخ می دهد. برای اصلاح کاهش مایعات بدن که به هنگام hypovolemia رخ می دهد، حیوان به جذب آب و الکترولیت ها نیازمند است (Derek Daniels et al ., 2007) .شواهد نشان می دهد که بافت دیواره قدامی بطن سوم AV3V (Antro ventral third ventricle) در تشنگی دخالت دارد. همچنین نورون هایی در ناحیهSFO (Subfornical Organ)، OVLT (Organum Vasculosum lamina Terminalis) وجود دارد که جایگاه حساس اسمورسپتورها هستند. SFO و OVLTدو اندام دور بطنی هستند که فاقد سد خونی - مغزی می باشند و در دیواره قدامی بطن سوم قرار گرفته اند (Andersson , 1978) سیگنال های نورونی وارده از تاثیرات هورمونی و اسمزی همگی وارد ناحیه SFO شده و از آنجا وارد هسته Mnpo می شود، همچنین ورودی های آوران از بارورسپتور های قلبی عروقی به مغز از طریق اعصاب جمجمه ای پراجکت می شوند و به هسته NTS (Tracteus Solitarius) منتهی می شوند که در نهایت سیگنال های ایجاد شده از این هسته وارد Mnpo می شود. Mnpo اطلاعات را جمع آوری نموده و از طریق اتصالات وابران خود با سایر قسمت های مغز، نوشیدن و ترشح وازوپرسین را کنترل می کند (Gland Ritter., 1982).

مورفین یک داروی ضد درد اپیوئیدی بسیار قوی است، مورفین مانند سایر اپیوئیدها به طور مستقیم بر روی سیستم عصبی مرکزی بویژه بر روی هسته اکومبنس عمل نموده و درد را بر طرف می کند. مطالعات انجام شده بر خاصیت اپیوئیدهای گوناگون، مشخص کرده است که در بر طرف کردن درد موثرترین و بهترین ماده مخدر ضد درد است (Waller et al ., 1987).

مطالعات نشان می دهد که تزریق میکرونی مورفین، جایگاه های لیمبیک و هیپوتالاموسی مربوط به پاسخ های بلعی وجذبی، اخذ غذا را تحریک می کند (Sanger , 1980).

دیده شده که تزریق مستقیم مورفین به داخل هسته های پاراونتریکولار و هسته های هیپوتالاموسی و آمیگدال اخذ غذا را افزایش می دهد (Mclean , 1983 ; Wood et al ., 1985). بسیاری از تحقیقات نشان می دهد که نالوکسان یک آنتاگونیست اپیوئیدی اخذ آب و غذا را در رت های گرسنه و سیر کاهش می دهد (Cooper , 1980 ; Margules et al ., 1978). مهار اخذ آب و غذا به وسیله نالوکسان از طریق بلوکه کردن رسپتورهای μ اپیوئیدی آندوژن میانجی گری می

شود (Brown et al ., 1980 ; Sanger et al ., 1981) . Mineo kunihar و همکارانش در سال 1983 نشان می دهدکه مورفین اخذ آب و غذا را، در رت های سیر وگرسنه تحت شرایط مختلف تغییر می دهد. زمانیکه مورفین (۱ ،۳،۱۰mg/kg) بصورت درون صفاقی تزریق شد اخذ آب و غذا را در رت های سیر، طی دوره روشنایی افزایش داد بر عکس مورفین اخذ آب و غذا را در رت های سیر، طی دوره تاریکی کاهش داد و در نهایت اخذ آب و غذا را در رت های گرسنه، طی دوره روشنایی و تاریکی کاهش داد.(Hodge et al ., 1985; Vacca et al ., 2002) نشان دادند که تزریق مورفین بصورت درون صفاقی در رت های ۲۴ ساعت محروم از غذا، اخذ آب و غذا را کاهش داد، در حالیکه مورفین در رت های سیر اخذ آب و غذا را افزایش داد، همچنین تزریق مورفین بصورت زیر جلدی اخذ آب و غذا را کاهش داد. استفاده از مورفین بصورت سیستمیک و درون بطنی منجر به کاهش اخذ آب در رت های نر محروم از آب می شود (Zetier et al ., 1985). همچنین Summy و همکارانش بیان کردند که مورفین نوشیدن القا شده توسط آنژیوتانسین II را مهار می کند (Summy et al ., 1981).

تزریق سیستمیک هروئین یا آگونیست های گیرنده های اپیوئیدی δ، μ منجر به افزایش آزاد سازی دوپامین خارج سلولی مزولمبیک می گردد (Hemby et al ., 1995 ; Rada et al ., 1991; Julie et al ., 2007).برخی شواهد نشان می دهد که تزریق سیستمیک مورفین firing نورون های دوپامینرژیکی VTA را افزایش می دهد و منجر به افزایش رها سازی دوپامین از انتهای هسته اکومبنس می گردد (Matthews et al ., 1984) همچنین تزریق مورفین درون VTA رها سازی دوپامین در هسته اکومبنس را افزایش می دهد (Leone et al ., 1991). Sanger و همکارانش درسال 1980 بیان کردندکه اثرات مورفین در رفتارهای بلعی به محروم بودن از آب و غذا و دوز مورفین بستگی دارد. (Bontempi et al ., 1997) پیشنهاد می کنند که مورفین به شدت بیان فاکتور c-fos را در هسته اکومبنس، پوتامن و دمدار القا می کند. c-fos یک تنظیم کننده نسخه برداری است که بیان ژن های هدف را تغییر می دهد، منجر به راه افتادن آبشارهای درون سلولی و در نتیجه موجب رفتار نوشیدن می گردد (Hughes et al ., 1995).

دوپامین نقش کلیدی در تنظیم اعمال متفاوت فیزیولوژیکی در سیستم عصبی مرکزی دارد. دوپامین یک مولکول نسبتا کوچک است که در مغز به عنوان نوروترنسمیتر(NT) عمل می کند که در انتقال سیگنال بین نورون ها به کار می آید. دوپامین متعلق به دسته ای از NT ها بنام کتکول آمین هاست که مشخصه اصلی ساختمان این کتکول آمین ها، حلقه کتکولی و زنجیره های جانبی آمینی می باشد (Hussain et al ., 1998).تزریق درون بطنی دوپامین منجر به افزایش فعالیت نورون های وازوپرسینرژیک می شود و در نهایت منجر به افزایش وابسته به دوز AVP می شود (Forsling et al ., 1984). تزریق دوپامین به هسته های Supraoptic و Paraventricular باعث ایجاد یک پاسخ آنتی دیورتیک می شود (Urano et al ., 1978). تحریک منطقه Ventral Tegmental موجب افزایش در سطوح پلاسمایی AVP می شود که این اثر بیانگر حضور و فعالیت نورون های وازوپرسینرژیک در منطقه VTA است (Cornish et al ., 1997). همچنین Kingg و همکارانش بیان کردند که فعالیت نورون های کتکول آمینرژیک در مغز، رها سازی هورمون AVP هیپوفیزی را که در پاسخ به بسیاری از تحریکات فیزیولوژی مانند دهیدراتاسیون می باشد را تحریک می کند (**Knigg et al ., 1999**). هدف از این پژوهش بررسی اثر سیستم های دوپامینرژیک بر اخذ آب در رت های نر نژاد ویستار حساس شده به مورفین می باشد.

گابا آمینوبوتیریک اسید (GABA) مهم ترین نوروترنسمیتر عصبی مهاری در مغز پستانداران است و برآورد شده که حدود ۳۰-۴۰ درصد نورون های سیستم عصبی مرکزی از نوع گابائرژیک می باشند .(Sherif FM ,1994) . گابا بعنوان یک نوروترنسمیتر مهاری از نورون ها آزاد شده و به گیرنده های ویژه خود در غشا پس سیناپسی متصل می شود و در آنها یک پتانسیل پس سیناپسی مهاری تولید می کند (Garret et al ., 1997). گیرنده های GABAA مهم ترین گیرنده نوروترنسمیتر مهاری گابا در سیستم عصبی مرکزی پستانداران می باشد. گابا در رفتارهای تغذیه ای، تهاجمی، اضطراب نقش دارند .(Bowery , 1989) رابطه معنی داری بین گابا و دوپامین وجود دارد به طور کلی عملکرد گابا کاهش برانگیختگی نورونهای دوپامینرژیک در تگمنتوم و جسم سیاه می باشد.اپیوئیدها برانگیختگی سلول های دوپامینی در ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) را به وسیله مهار پیش سیناپسی آزاد سازی گابا افزایش می دهند.(Shoji et al ., 1999) . مطالعات Rattan در سال ۱۹۹۰ نشان داد که تزریق گابا و موسیمول به مناطق LAH (lateral hypothalamus) و PVN (paraventricular nucleus) منجر به کاهش اخذ آب گردید. همچنین Rattan و همکارانش با استفاده از ثبت فعالیت الکتریکی بیان کردند که تزریق موسیمول به PVN و هیپوتالاموس ventromedial (شکمی- میانی) منجر به کاهش فعالیت الکتریکی در این مناطق می شود. تزریق محیطی موسیمول، آگونیست گیرنده GABAA در موش های محروم از آب منجر به کاهش اخذ آب می گردد. تزریق درون بطنی موسیمول منجر به کاهش اخذ آب می گردد (Callera , 2005). وی همچنین نشان داد که تزریق موسیمول به صورت دو طرفی به داخل هسته LPB (Lateral parabrachial) منجر به کاهش اخذ ۰.۳M Nacl و جذب آب می گردد، در حالی که تزریق بیکوکولین، آنتاگونیست گیرنده GABAA به داخل هستهLPB به صورت دو طرفی، اثر موسیمول را بر اخذ Naclو آب بر عکس می کند. بنابراین Callera به این نتیجه رسید که فعالیت گیرنده های GABAA در هسته LPB بر روی اخذ Nacl و آب اثر می گذارد (Callera et al., 2005). هدف از این پژوهش بررسی اثر سیستم های گابائرژیک بر اخذ آب در رت های نر نژاد ویستار حساس شده به مورفین می باشد.

مواد وروش ها:

در این پژوهش از موشهای رت های نر نژاد ویستار (انستیتو ؛ تهران؛ ایران) با وزن ۲۰۰تا۲۵۰ گرم در زمان جراحی استفاده شدند. حیوانات بصورت گروهای شش تایی در یک قفس و دراتاق حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی ودمایی معادل ۲±۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.به رت ها اجازه داده می شود که خودرا به مدت حداقل یک هفته قبل از جراحی با شرایط آزمایشگاه سازگارکنند.آب و غذای کافی بجز در زمان آزمایشات در دسترس قرار داشت و پس از انجام جراحی، موشهای رت در قفس های جداگانه قرار گرفتند و به مدت ۷ روز دوره نقاهت را سپری کردند و تمام آزمایش ها بین ساعات ۱۰تا ۱۳ انجام گرفت.

جراحی استریوتاکسیک و تزریقات:

رت ها با ترکیب کتامین هیدروکلراید به نسبت (۱۰ میلی لیتر) و نسبت زایلزین (۴میلی لیتر) که به صورت درون صفاقی تزریق می شود، بیهوش شدند.سپس در یک دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند.مختصات استریوتاکسی برای تزریق به درون بطن جانبی راست یا چپ بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۰۰۷) عبارت است از ۰/۸ میلی متربه سمت خلفی محور

(AP)،۳/۱ در بخش جانبی خط میانی، ۳/۷ در بخش شکمی سطح پشتی جمجمه.یک کانول راهنما از جنس استیل ضد زنگ (۲۲ گیج) به صورت یک طرفه در بطن جانبی کاشته شد، به طوری که ۱ میلی متر بالای جایگاه تزریق قرار گرفت.سپس کانول های کاشته شده در جمجمه با سیمان آکریلیک دندانپزشکی ثابت شدند.برای جلوگیری از بسته شدن شدن کانول راهنما و لخته شدن خون از سرسوزن ۲۷ گیج استفاده شد،به طوری که آن ها تا زمان انجام تست در درون کانول راهنما قرار داشتند.حیوانات به مدت ۵ تا ۷ روز قبل از تست دوره ریکاوری را طی کردند.برای تزریق دارو، ابتدا توسط سرنگ انسولینی،لوله پلی اتیلنی و کانول متصل به آن را پراز سالین کرده سپس سرنگ همیلتون را به درون لوله پلی اتیلن و کانول راهنمای متصل به آن فرو برده و پیستون سرنگ همیلتون را به سمت عقب کشیده تا حباب هوا در انتهای لوله متصل به کانول راهنما ایجاد شود، سپس نوک کانول راهنما را وارد داروی مورد بررسی کرده و حدود ۰/۵ میکرولیتر از داروی مورد بررسی برداشته و به آرامی به مدت ۱ الی ۲ دقیقه به داخل بطن راست تزریق شد. .ضمنا موشها قبل از تزریق دارو به مدت ۲۴ ساعت محروم از آب شدند و ۱۵ دقیقه پس از تزریق دارو در هر موش آن ها را در قفس های مجزای ۶ تایی که بورت هایی برای سنجش آب خورده شده طراحی شده بود،قرار داده شد و سپس حجم آب خورده شده در مدت ۱ ساعت اندازه گیری شد.

داروها:

داروهای استفاده شده در تحقیق حاضر شامل مورفین (شرکت تماد،تهران،ایران)، بروموکریپتین، کلرپرومازین (شرکت شیمیایی سیگما، سنت لوئیز،کالیفرنیا،آمریکا). موسیمول (تاکریس، انگلستان)، بیکوکولین (شرکت شیمیایی سیگما،سنت لوئیز،کالیفرنیا،آمریکا). پیش از آزمایش داروی مورفین، موسیمول، بروموکریپتین و کلرو پرومازین در سالین ۰/۹ ٪ استریل و بیکوکولین در محلول ۰/۹ ٪ پروپیلن گلیکول حل شد.

بافت شناسی و برش مغزی:

بعد از اتمام مراحل آزمایش،هر حیوان به وسیله ی کلروفرم کشته شدند .سپس ۱ میکرولیتر از جوهر (محلول آبی متیلن بلوی ۱ درصدی) با یک کانول تزریق ۲۷ گیج به درون بطن جانبی راست تزریق شد.انتهای کانول ۲۷ گیج ۰/۵ میلی متر پایین تر از انتهای کانول راهنمای بطن جانبی قرار گرفت. در نهایت مغزهای حیوانات مورد آزمایش برداشته شده و در محلول فرمالین ۱۰٪ به مدت یک هفته قرار گرفتند سپس مغزها با آب مقطر شسته شده برش گیری انجام شدبرش های بدست آمده با اطلس paxinos و Watson (۲۰۰۷) مطابقت داده شدند.

آنالیز آماری:

برای بررسی آماری از روش آنالیز One way ANOVA، T-Test استفاده شد.تفاوت های با۰۵ /. > P میان گروه های آزمایشی از نظر آماری، معنی دار تلقی گردید.

نحوه تزریق داروها در موشهای سالم:

پس از طی بهبودی، موش ها برای تزریق دارو آماده می باشند و داروهای مورد نظر را به بطن راست موش تزریق می کنیم. جهت انجام این مرحله از کار، ابتدا توسط سرنگ انسولینی، لوله پلی اتیلنی و کانول متصل به آن را پر از سالین می کنیم .

سپس سرنگ همیلتون را به درون لوله پلی اتیلنی و کانول تزریق متصل به آن فرو می بریم و پیستون سرنگ همیلتون را به سمت عقب می کشیم تا حباب هوا در انتهای لوله متصل به کانول راهنما ایجاد شود سپس نوک کانول راهنما را وارد داروی مورد نظر می کنیم وحدود ۰/۵ ماکرولیتر از داروی مورد نظر را برداشته وسپس آن را به آرامی به مدت ۱ الی ۲ دقیقه به داخل بطن راست تزریق می کنیم. ضمنا موش ها قبل از تزریق دارو باید به مدت ۲۴ ساعت از آب محروم شده باشند . حدود ۱۵ دقیقه پس از تزریق دارو در هر موش، آن ها را در قفس های مجزایی قرار داده و بورتی برای سنجش آب خورده شده طراحی شده که به راحتی به آن دسترسی داشتند، سپس حجم آب خورده شده در ۱ساعت اندازه گیری می شود.

نحوه تزریق دارو ها در موشهای حساس شده به مورفین

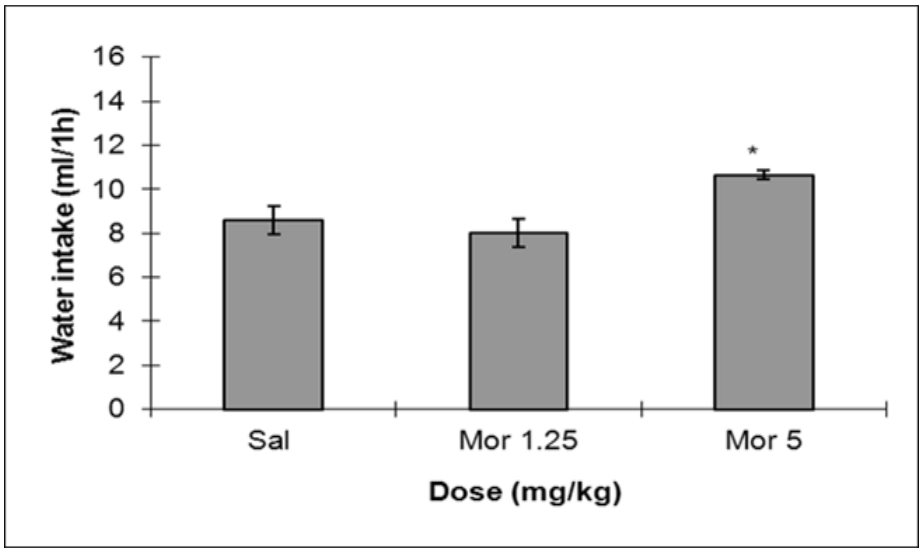
پس از طی بهبودی، موش ها به مدت ۳ روز پیاپی و سر ساعت مشخص تحت تزریق زیر جلدی مورفین(۵mg/kg) قرار می گیرند، در روز چهارم و در همان ساعت مشخص موش ها محروم از آب می شوند سپس در روز پنجم و در همان ساعت مشخص تحت تزریق زیر جلدی دوز بی اثرمورفین (۲/۵mg/kg) قرار می گیرند و ۱۵ دقیقه پس از آن داروها به همان ترتیبی که در موش های سالم توضیح داده شد به داخل بطن جانبی راست مغز موش تزریق می شود و به همان نحو حجم آب خورده شده در فاصله زمانی ۱ ساعت اندازه گیری می شود.

نتایج

تاثیر زیر جلدی مورفین، جهت حساس شدن به مورفین بر روی اخذ آب در موش ها :

دراین آزمایش، دوزهای مختلف مورفین(mg/kg ۲۵ /۱، ۵) به صورت زیر جلدی تزریق شد و اثرات آن بر اخذ آب درموشهای رت های محروم شده از آب بررسی شد. تحقیقات نشان می دهد که تزریق زیر جلدی) ۵mg/kg(مورفین افزایش معنی داری بر اخذ آب درمقایسه با گروه کنترل سالین ایجاد می کند. (شکل۱)

شکل ۱

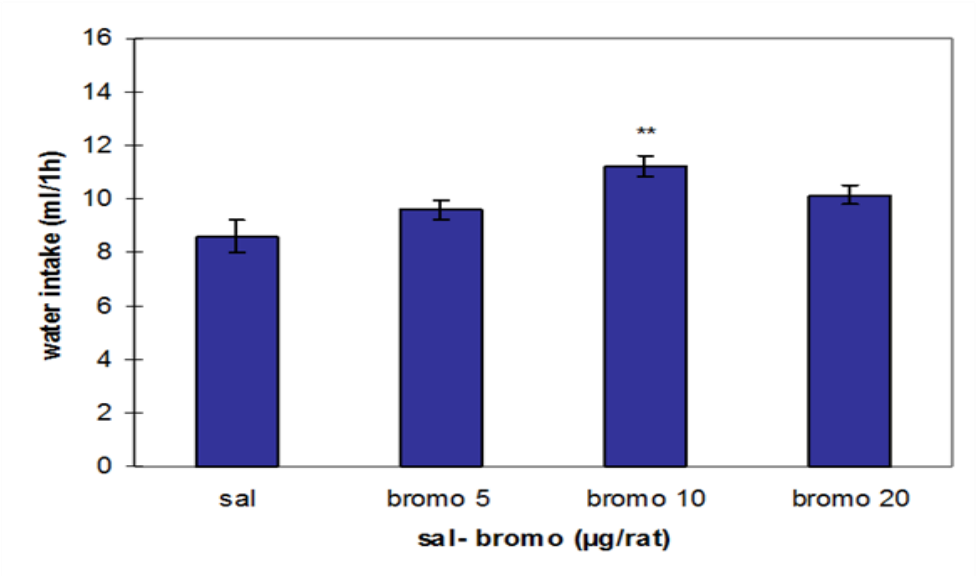


نمودار شکل ۱: اثر تزریق زیر جلدی مورفین بر اخذ آب. رت ها سالین و دوزهای مختلف مورفین (mg/kg ۵، ۲۵/ ۱) را به روش زیر جلدی دریافت نموده اند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها بر اساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6) *p<0.05 اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

تاثیرتزریق درون بطنی دوزهای مختلف بروموکریپتین:

اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف بروموکریپتین (g/rat ۵، ۲۰، ۱۰ µ)بر اخذ آب در رت های محروم از آب نشان را می دهد. آنالیزOne way ANOVA بیان می کند که دوز g/rat ۱۰ µبروموکریپتین افزایش معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه سالین نشان می دهد . (شکل ۲)

شکل ۲



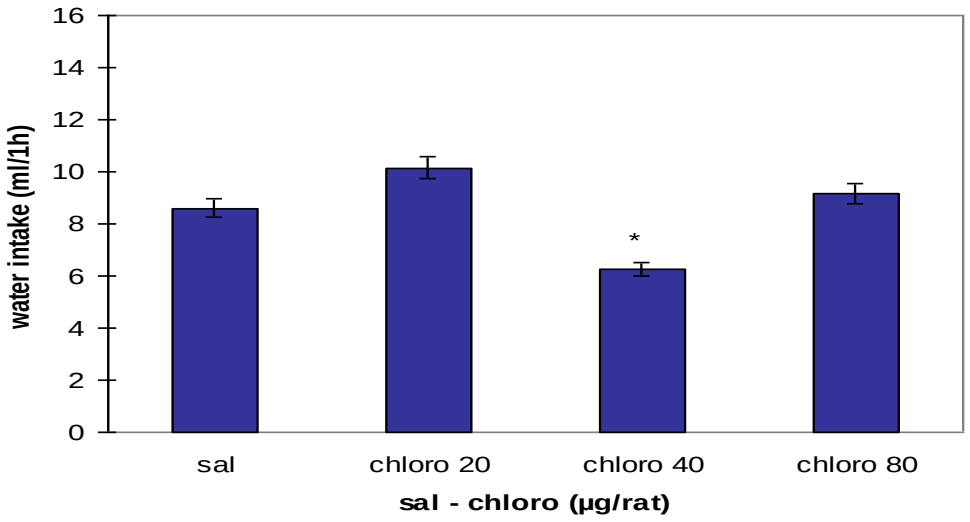
نمودار شکل ۲: اثر تزریق درون بطنی برموکریپتین بر اخذ آب. رت ها سالین یا دوزهای مختلف بروموکریپتین (µg/rat ۲۰، ۱۰، ۵) را به روش درون بطنی (I.C.V) دریافت کرده اند و سپس میزان اخذ به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها بر اساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6)**p<0.01 اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف کلرپرومازین:

اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف کلرپرومازین (۸۰g/rat μ،۴۰، ۲۰) بر اخذ آب در رت های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیزOne way ANOVA بیان می کند که دوز ۴۰g/rat μ کلرپرومازین کاهش معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه سالین نشان می دهد. (شکل ۳)

نمودار شکل ۳ : اثر تزریق درون بطنی کلرپرومازین بر اخذ آب. رت ها سالین یا دوزهای مختلف کلرپرومازین) g/rat μ ۸۰،۴۰، ۲۰) را به روش (I.C.V) دریافت کرده اند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها بر اساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6)*p<0.05 اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

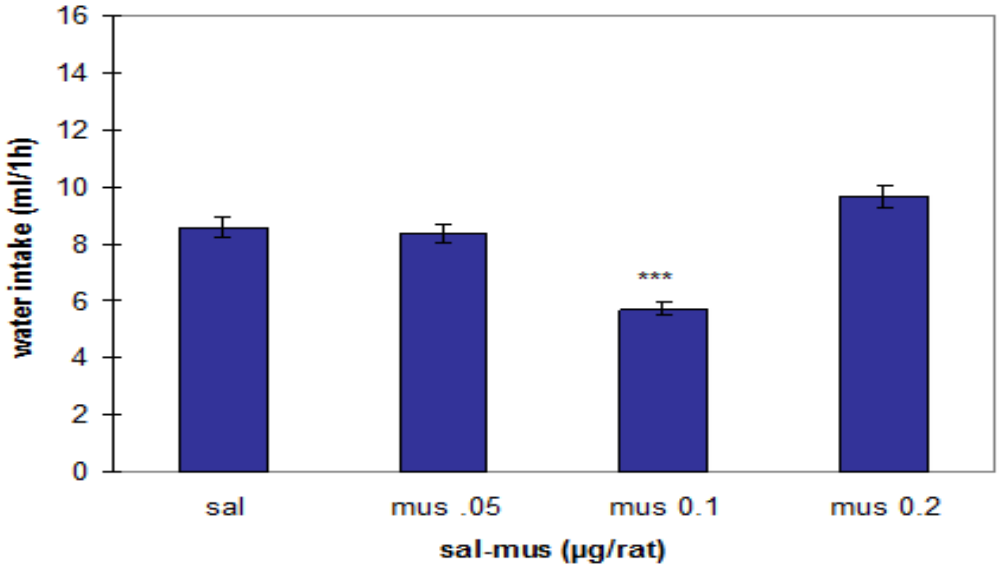
شکل ۳



تاثیرتزریق درون بطنی دوزهای مختلف موسیمول:

اثرتزریق درون بطنی دوزهای مختلف موسیمول (۲/۰،۱/۰۵،۰/۰g/rat μ) بر اخذ آب در رت های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که دوز ۱/۰g/rat μ موسیمول کاهش معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه سالین نشان می دهد. (شکل ۴)

شکل ۴

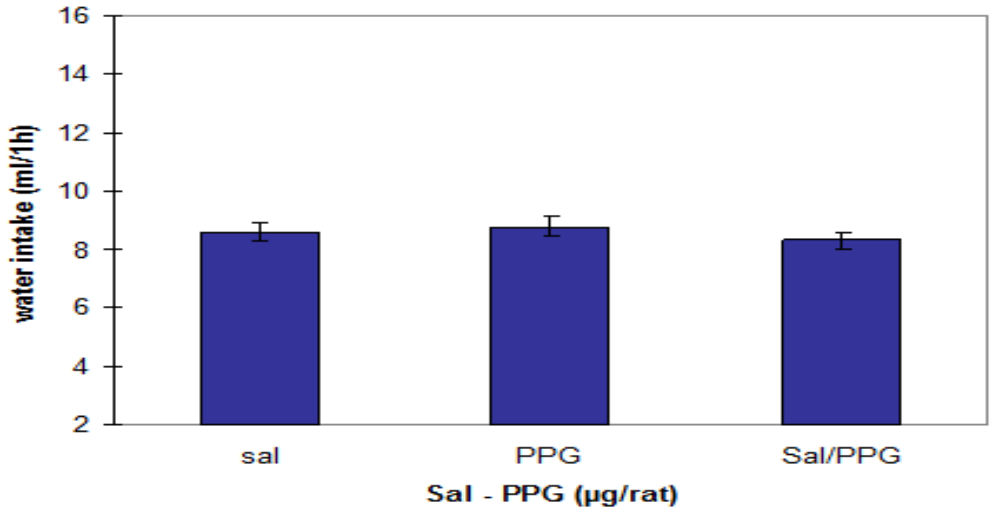


نمودار شکل ۴: اثرتزریق درون بطنی موسیمول بر اخذ آب. رت ها سالین و دوزهای مختلف موسیمول (µ g/rat ۰/۰۵،۰/۱،۰/۲) را به روش (I.C.V) دریافت کرده اند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها بر اساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6) ***p<0.001 اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی پروپیلن گلیکول:

اثر تزریق درون بطنی سالین و پروپیلن گلیکول بر اخذ آب در رت های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که مصرف همزمان پروپیلن گلیکول و سالین اختلاف معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه سالین نشان نمی دهد . (شکل ۵).

شکل ۵

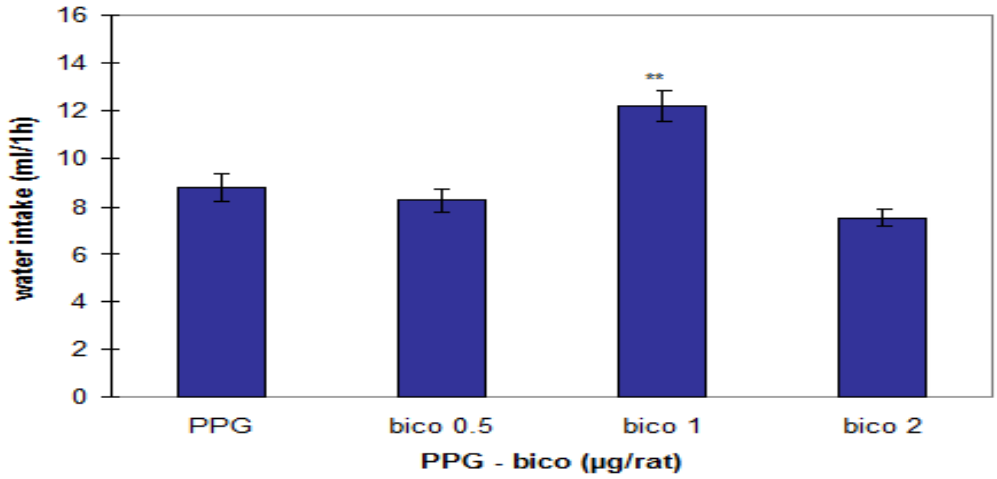


نمودار شکل ۵: اثر تزریق درون بطنی سالین و پروپیلن گلیکول بر اخذ آب . رت ها سالین یا پروپیلن گلیکول را به تنهایی دریافت کرده اند و گروه (Sal/PPG)، پروپیلن گلیکول را ۱۵ دقیقه پس از تزریق سالین دریافت نموده اند. وسپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6) $p>0.05$اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف بیکوکولین:

اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف بیکوکولین (µ ۲، ۱،۵/۰g/rat) بر اخذ آب در رت های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کندکه دوز µ ۱g/ratبیکوکولین افزایش معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه پروپیلن گلیکول (PPG) نشان می دهد. (شکل ۶)

شکل ۶

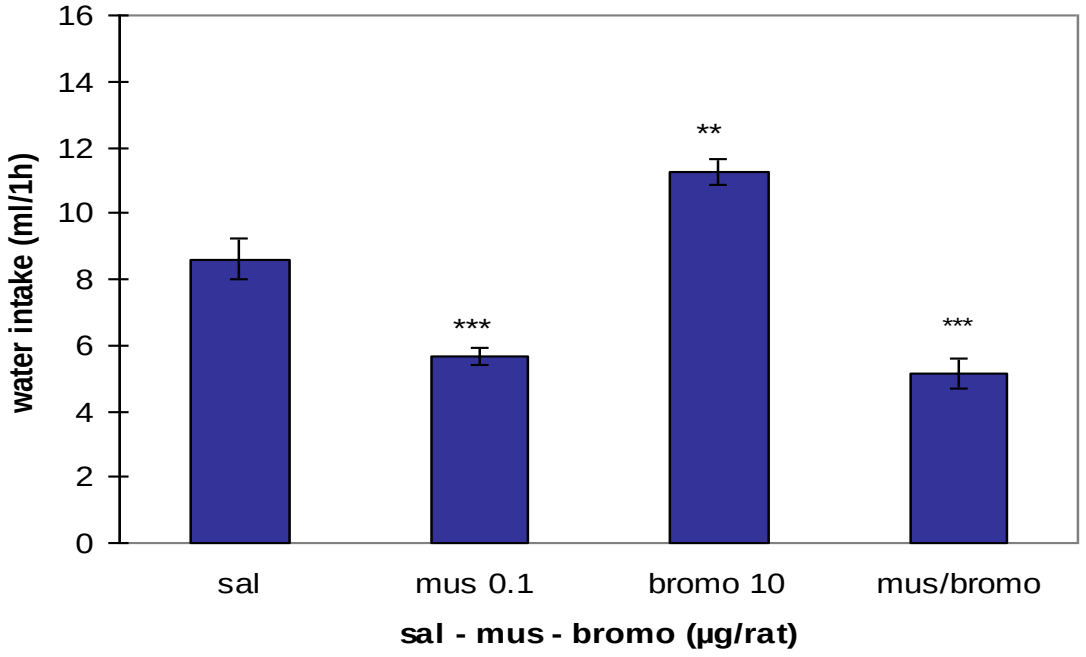


نمودار شکل ۶: اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین بر اخذ آب. رت ها PPG یا دوزهای مختلف بیکوکولین (µ ۲، ۱،۵/۰g/rat) را به روش (I.C.V) دریافت کرده اند و سپس میزان اخذ آب به یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند . (n=6)**p<0.01 اختلاف از گروهPPG را نشان می دهد.

تاثیر واکنش متقابل موسیمول و بروموکریپتین در موش های سالم:

اثر تزریق درون بطنی موسیمول و بروموکریپتین بر اخذ آب در رت های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که تزریق همزمان موسیمول و بروموکریپتین کاهش معنی داری در اخذ آب در مقایسه با گروه سالین نشان می دهد. (شکل۷)

شکل ۷

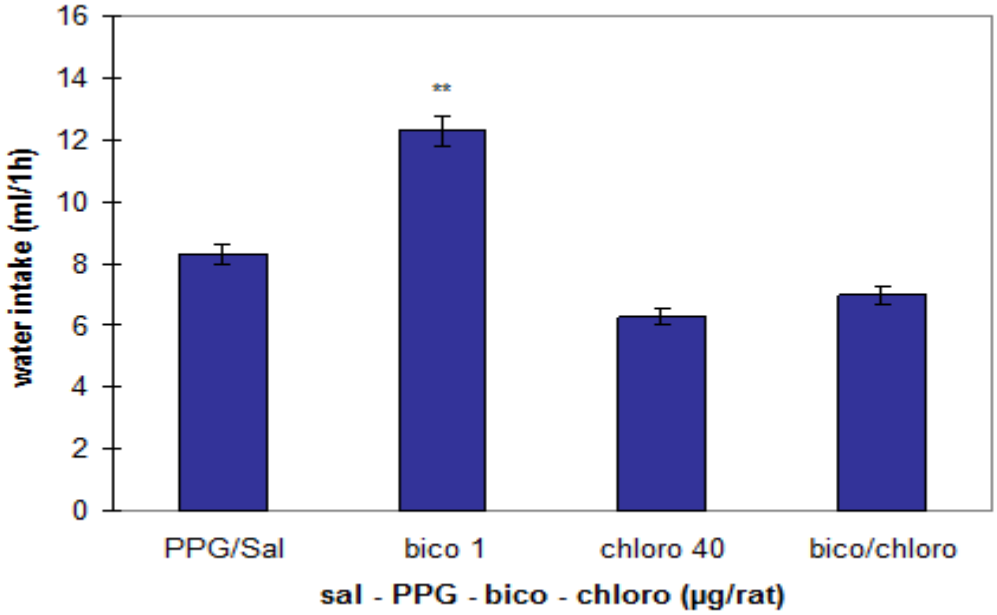


نمودار شکل ۷: اثر تزریق درون بطنی موسیمول و بروموکریپتین بر اخذ آب. رت ها موسیمول یا بروموکریپتین را به تنهایی دریافت کردند و گروه دیگر نیز بروموکریپتین را ۱۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول دریافت نمودند(mus/bromo) و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هرگروه تنظیم شده اند.(n=6) ***p<0.001 اختلاف از گروه saline را نشان می دهد.

تاثیر واکنش متقابل بیکوکولین و کلرپرومازین در موش های سالم:

اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین و کلرپرومازین بر اخذ آب در موش های محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که تزریق همزمان بیکوکولین و کلرپرومازین اختلاف معنی داری با گروه PPG/Sal نشان نمی دهد.(شکل ۸)

شکل ۸

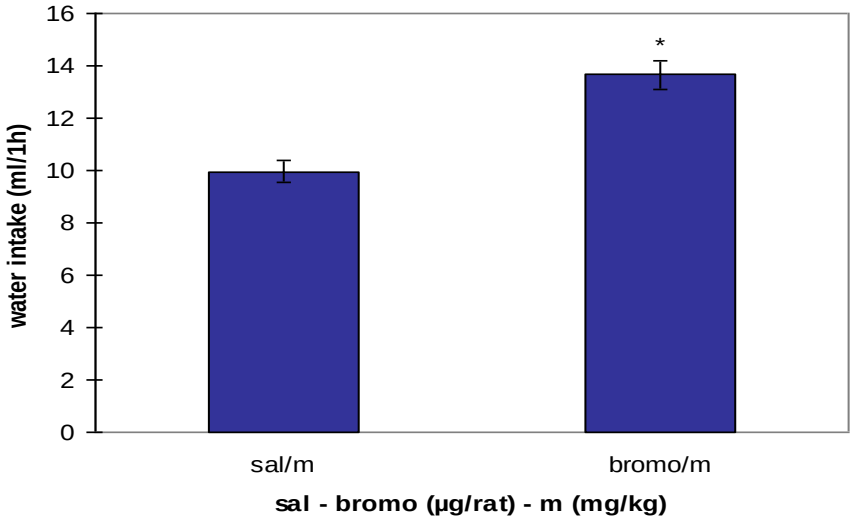


نمودار شکل ۸: اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین وکلروپرومازین بر اخذ آب. رت ها بیکوکولین یا کلرپرومازین را به تنهایی دریافت کردند و گروه دیگر نیزکلرپرومازین را ۱۵ دقیقه پس از تزریق بیکوکولین دریافت نمودند(bico/chloro) و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند.$p>0.05$ (n=6) اختلاف از گروه PPG/Sal را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی بروموکریپتین، در موش های حساس شده به مورفین:

اثر تزریق درون بطنی برموکریپتین بر اخذ آب در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز T-Testبیان می کند که تزریق بروموکریپتین در رت هایی که مورفین دریافت کرده اند افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه sal/m نشان می دهد .(شکل ۹)

شکل ۹

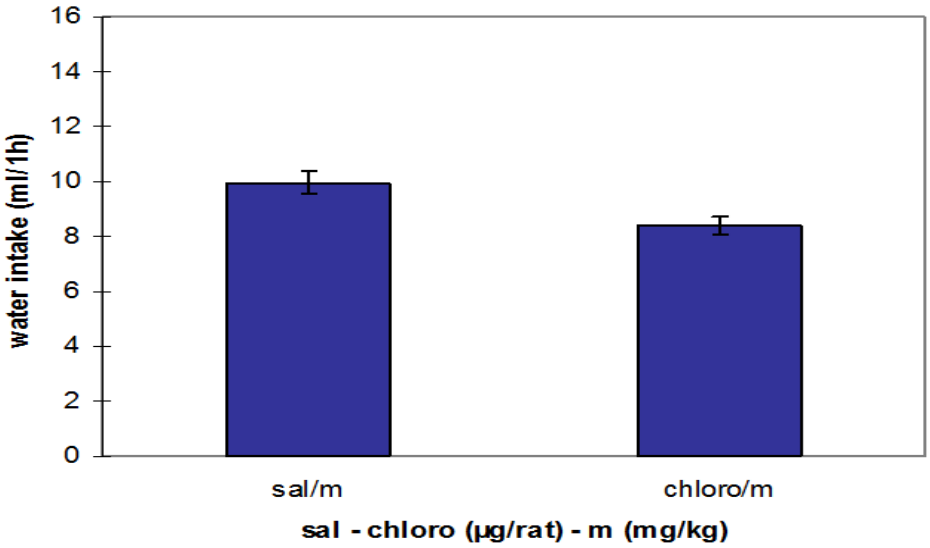


نمودار شکل ۹:اثر تزریق درون بطنی بروموکریپتین در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب. رت ها بروموکریپتین را ۱۵دقیقه پس از تزریق زیر جلدی مورفین دریافت نمودند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند.(n=6)*P<0.05 اختلاف از گروه sal/m را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی کلرپرومازین، در موش های حساس شده به مورفین:

اثر تزریق درون بطنی کلرپرومازین بر اخذ آب را در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز T-Testبیان می کند که تزریق کلرپرومازین در رت هایی که مورفین دریافت کرده اند اختلاف معنی داری را در مقایسه با گروه sal/m نشان نمی دهد.(شکل ۱۰)

شکل ۱۰

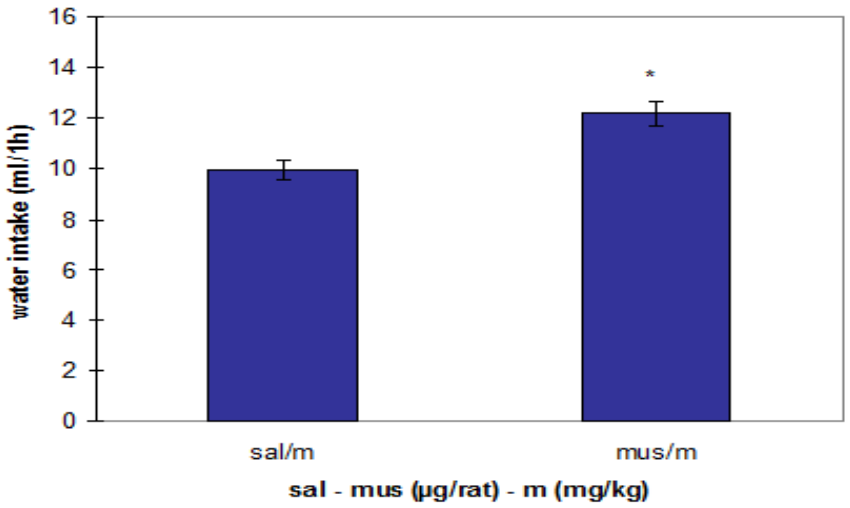


نمودار شکل ۱۰: اثر تزریق درون بطنی کلرپرومازین در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب. رت ها کلرپرومازین را ۱۵دقیقه پس از تزریق زیر جلدی مورفین دریافت نمودند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6) $p>0.05$ اختلاف از گروه sal/m را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی موسیمول، در موش های حساس شده به مورفین:

اثر تزریق درون بطنی موسیمول بر اخذ آب را در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب نشان می دهد. آنالیز T-Testبیان می کند که تزریق موسیمول در رت هایی که مورفین دریافت کرده اند افزایش معنی داری در مقایسه با گروه sal/m نشان می دهد.(شکل ۱۱).

شکل ۱۱

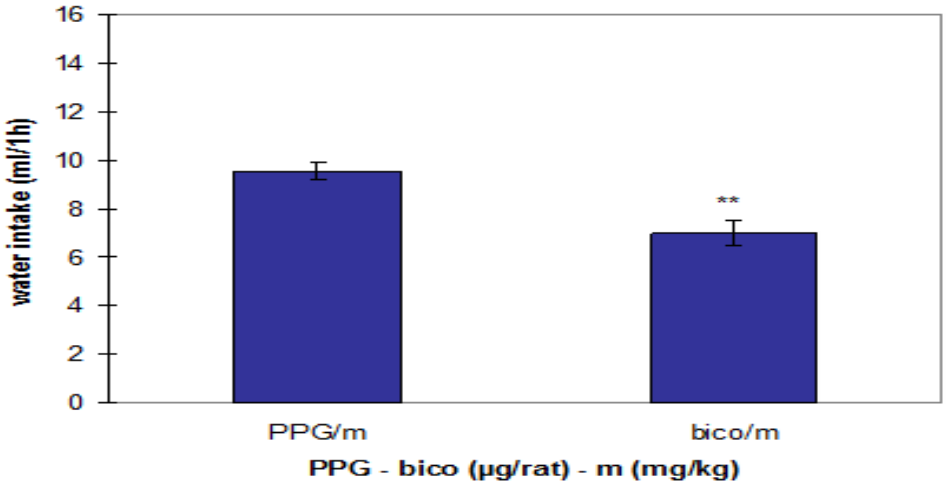


نمودار شکل ۱۱: اثر تزریق درون بطنی موسیمول در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب. رت ها موسیمول را ۱۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی مورفین دریافت نمودند وسپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6)*$p<0.05$ اختلاف از گروه sal/m را نشان می دهد.

تاثیر تزریق درون بطنی بیکوکولین،در موش های حساس شده به مور فین :

اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین بر اخذ آب را در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز T-Testبیان می کند که تزریق بیکوکولین در رت هایی که مورفین دریافت کرده اند کاهش معنی داری در مقایسه با گروه PPG/m نشان می دهد. (شکل ۱۲)

شکل ۱۲

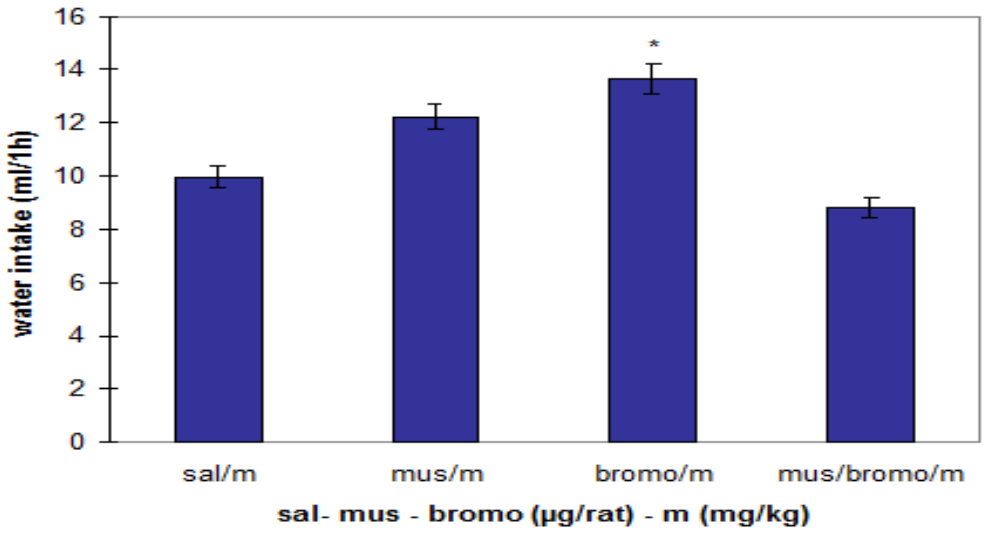


نمودار شکل ۱۲: ا: اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب. رت ها بیکوکولین را ۱۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی مورفین دریافت نمودند و سپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده اند. (n=6) $p<0.01$** اختلاف از گروه PPG/M را نشان می دهد.

تاثیر واکنش متقابل موسیمول و بروموکریپتین در موش های حساس شده به مورفین:

اثر تزریق درون بطنی موسیمول و بروموکریپتین بر اخذ آب در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که تزریق همزمان موسیمول و بروموکریپتین اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه sal/m نشان نمی دهد .(شکل ۱۳)

شکل ۱۳

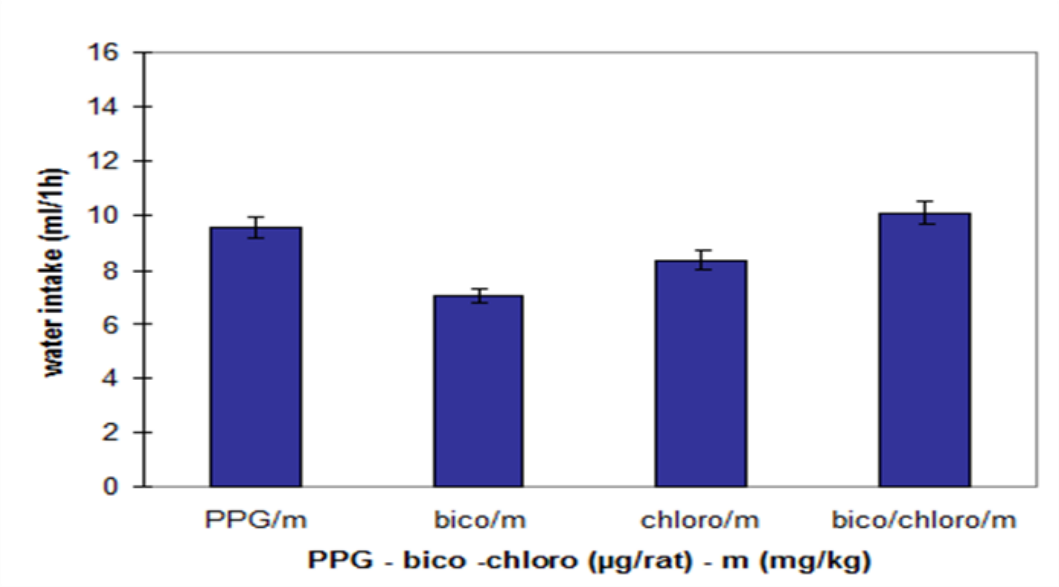


نمودار شکل ۱۳:اثر تزریق درون بطنی موسیمول و بروموکریپتین در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب . رت های حساس شده به مورفین، موسیمول و بروموکریپتین را به تنهایی دریافت کرده اند و گروه دیگر بروموکریپتین را ۱۵دقیقه پس از تزریق موسیمول دریافت نمودند وسپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده است. $P>0.05$ (n=6) اختلاف از گروه sal/m رانشان می دهد.

تاثیر واکنش متقابل بیکوکولین و کلرپرومازین در موش های حساس شده به مورفین:

اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین و کلرپرومازین بر اخذ آب در رت های حساس شده به مورفین و محروم از آب را نشان می دهد. آنالیز One way ANOVA بیان می کند که تزریق همزمان بیکوکولین و کلرپرومازین اختلاف معنی داری در مقایسه با گروهPPG/M نشان نمی دهد. (شکل ۱۴)

شکل ۱۴



نمودار شکل ۱۴: اثر تزریق درون بطنی بیکوکولین و کلرپرومازین در رت های حساس شده به مورفین بر اخذ آب. رت های حساس شده به مورفین، بیکوکولین و کلرپرومازین را به تنهایی دریافت کرده اند و گروه دیگرکلرپرومازین را ۱۵دقیقه پس از تزریق بیکوکولین دریافت نمودند وسپس میزان اخذ آب به مدت یک ساعت اندازه گیری شده است. ستون ها براساس means±S.E.M در هر گروه تنظیم شده است. $p>0.05$ (n=6) اختلاف از گروه PPG/M را نشان می دهد.

مهمترین راه تامین آب بدن، نوشیدن است که یک سیستم تنظیم کننده فیزیولوژیکی منسجم می باشد (Deluc et al., 2007). مکانیسم های نوروژنیک مسئول القاء رفتار نوشیدن در هیپوتالاموس و نواحی آزاد سد خونی- مغزی مجاور با هیپوتالاموس می باشند. مهمترین نواحی موثر در رفتار نوشیدن، مجموعا به عنوان اندام های Circumventricular terminalis نامید می شوند. این اندام ها شامل SFO (Subfornical Organ)، OVLT (Organum vasculosum lamina terminalis) در بطن سوم قدامی و AP (Area postrema) در بطن چهارم می باشند. زمانیکه سلول های

اسمورسپتور در SFO و OVLT توسط هایپراسمولاریته تحریک می شوند، نورون های پروجک شده به PVN (Paraventricular) و SON (nucleus Supraoptic) واقع در هیپوتالاموس را فعال می کنند تا تشنگی و جذب سدیم ایجاد شود (Saad et al ., 2002) . آنژیوتانسین II نقش مهمی در فعال کردن تشنگی و جذب سدیم به وسیله فعال کردن گیرنده های AT1 در OVLT،SFO و مناطق Postrema ایفا می کند (Saad et al., 2002). این گیرنده های موجود در این نواحی به دلیل فقدان سد خونی- مغزی در معرض آنژیوتانسینII ساخته شده در خون قرار دارند (Deluca et al ., 2001). آنژیوتانسین II ساخته شده در خون، نورون های موجود در اندام های دور بطنی را تحریک کرده و در نتیجه منجر به فعال شدن چندین مسیر عصبی می گردد، که این مسیرها می توانند اعمالی مثل ترشح وازوپرسین، نوشیدن آب، مصرف نمک را تحت تاثیر قرار دهند(Mckinley et al ., 2001). (Vacca et al ., 2002) نشان دادند که تزریق مورفین بصورت درون صفاقی در رت های ۲۴ ساعت محروم از غذا، اخذ آب و غذا را کاهش داد، در حالیکه مورفین در رت های سیر اخذ آب و غذا را افزایش داد . برخی شواهد نشان می دهد که تزریق سیستمیک مورفین firing نورون های دوپامینرژیکی VTA را افزایش می دهد و منجر به افزایش رها سازی دوپامین از انتهای هسته اکومبنس می گردد (Matthews et al ., 1984) Sangerو همکارانش درسال 1980 بیان کردندکه اثرات مورفین در رفتارهای بلعی به محروم بودن از آب و غذا و دوز مورفین بستگی دارد.

در مورد حساسیت به مورفین، در تحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که حساسیت به مورفین منجر به افزایش اخذ آب می شود. مورفین به وسیله فعال کردن رسپتورهای اوپیوئیدی μ واقع شده در اینترنورون های محتوی گابا در جسم سیاه و VTAآزادسازی دوپامین درهسته پوتامن، دمدار و اکومبنس را از طریق مهار زدایی نورون های دوپامینی افزایش می دهد (Pothos et al ., 1991). بنابراین مورفین می تواند سیستم گابائرژیک مرکزی را تحت تاثیر قرار دهد و باعث مهار آزادسازی گابا و افزایش آزاد سازی دوپامین و سروتونین گردد (Omer T.Ginawi et al., 2006) . فعالیت دوپامینرژیکی بر رسپتور های PVN اثر تحریکی بر رفتار نوشیدن و اخذ آب نشان می دهد (Forsling et al .,1984). نقش اوپیوئیدها در تنظیم نوشیدن هماهنگ با آزاد سازی آنتی دیورتیک هورمون می باشد. مورفین می تواند به وسیله تحریک آزادسازی ADH که بالانس آب را در رت ها تنظیم می کند، میزان آب بدن را حفظ کند (Vaswani et al ., 1983). بنابراین به این نتیجه رسیدیم زمانی که مورفین بصورت زیر جلدی تزریق می شود بر روی گیرنده های اپیوئیدی μ، δ خود در سیستم عصبی مرکزی قرار می گیرد باعث فعال شدن این گیرنده ها شده و در نهایت باعث مهار آزادسازی گابا و افزایش آزاد سازی دوپامین می شود. افزایش دوپامین منجر به تحریک PVN در هیپوتالاموس، آزادسازی ADH و افزایش اخذ آب می شود.

اثر بروموکریپتین و کلرپرومازین آگونیست و آنتاگونیست گیرنده D2 بر اخذ آب:

مطالعات اهمیت حضور گیرنده های دوپامینرژیکی را برای کنترل مرکزی رفتار نوشیدن نشان می دهند (Puigde et al., 1997 ; Pal .G.K et al ., 2001). فعالیت دوپامینرژیکی بر روی گیرنده PVN در هیپوتالاموس اثر تحریکی بر رفتار نوشیدن و اخذ آب را نشان می دهد، همچنین مشخص شده که کتکول آمین ها نقش مهمی را در کنترل هورمون های نوروهیپوفیز دارند (Fosling et al ., 1984). مسیرهای دوپامینرژیکی رها سازی آرژنین وازوپرسین را کنترل می کنند (Puigde et al ., 1997). افزایش در سطوح هیپوفیزی دوپامین پس از دهیدراتاسیون نقش سیستم دوپامینرژیکی را در کنترل ترشح AVP آشکار می کند (Holzbauer et al ., 1980). استفاده از دوپامین اگزوژن به درون هیپوتالاموس یا

بطن سوم منجر به تغییر نکردن، افزایش و یا کاهش رها سازی ADH می گردد ((Kimura et al., 1981)گزارش دادند که تزریق دوپامین باعث مهار آزادسازیAVP می شود در حالی که تزریق بروموکریپتین به عنوان آگونیست گیرنده D2 در رت ها میزان وازوپرسین پلاسمایی را دوبرابر می کند.همچنین شواهد بسیاری وجود دارد که بین سیستم های کتکول آمینرژیک و آنژیوتانسینرژیک ارتباطاتی وجود دارد این واکنش متقابل ممکن است روی برخی از فعالیت های مرکزی ANG II مانند رفتار عطش زا (Dipsogenic) اثر گذارد. برخی شواهد نشان می دهد که ANG II سیستم های دوپامینرژیک را تحریک می کند (Wesisinger et al ., 2001). آنژیوتانسین II از طریق اثر گذاشتن بر روی گیرنده AT1 در مناطق nigrostriatum و substantia می توان منجر به رها سازی دوپامین شود (Brooks et al., 1982). دوپامین، بر روی گیرنده های دوپامینی پس سیناپسی موجود بر روی جسم سلولی و یا پروجکشن های آکسونی نورون ماگنوسلولار سوپرا اپتیک عمل می کند. تحریک رسپتورهای دوپامینی باعث آزادسازی AVP به داخل جریان خون می گردد. آنژیوتانسین II با تحریک گیرنده های AT1 موجود در پایانه نورون های دوپامینی، منجر به آزادسازی دوپامین از پایانه های عصبی به داخل هسته سوپرا اپتیک می گردد، همچنین آنژیوتانسین II بطور مستقیم می تواند گیرنده های AT1 را در جسم سلولی نورون ماگنوسلولار تحریک نماید (Rossi , Noreen ., 1998). مطالعات نشان می دهد که اثر تحریکی ANG II بر ترشح ADH می تواند توسط ترکیبات ضد دوپامینرژیکی کاهش یابد. بنابراین این یافته ها پیشنهاد می کند که سیستم دوپامینرژیکی درگیر در نقش تحریکی ANG II بر ترشح وازوپرسین است (Brooks et al., 1982).درتحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که بروموکریپتین اخذ آب را زیاد می کند در حالی که کلرپرومازین نقش کاهشی در مقایسه با گروه کنترل دارد. مطالعات گذشته بیان کردند که ترشح وازوپرسین از نوروهیپوفیز توسط سیستم های دوپامینرژیکی میانجی گری می شود و نتایج حاضر نیز احتمالا در ارتباط با نقش سیستم دوپامینرژیکی بر رها سازی AVP و رفتار نوشیدن می باشند. زمانی که بروموکریپتین آگونیست دوپامینرژیک بصورت درون بطنی در رت های محروم از آب تزریق می شود باعث تحریک گیرنده D2 دوپامینی و رها سازی دوپامین می گردد، همچنین بعلت محرومیت از آب آنژیوتانسنII ترشح می شود و آنژیوتانسین II منجر به رها سازی دوپامین می شود و دوپامین منجر به فعالیت نورون های وازوپرسینرژیک، و به تبع آن ترشح وازوپرسین و افزایش اخذ آب می گردد، در حالی که کلرپرومازین آنتاگونیست دوپامینرژیکی منجر به کاهش ترشح AVP و اخذ آب شود.

اثر بروموکریپتین وکلرپرومازین آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده D2 بر اخذ آب در موش های حساس شده به مورفین:

شواهد بسیاری است که اثرات پپتیدهای اوپیوئیدی در رفتار نوشیدن بسیار متناقض می باشند، سیستم دوپامینرژیکی مزولیمبیک متشکل از VTA و کورتکس میانی Perfrontal و هسته اکومبنس در عملکردهای پاداشی اپیوئیدها مهم هستند و این سیستم دارای نقش هایی در رفتار نوشیدن و اشتها می باشد (Mahmoud Hosseini et al ., 2007). مورفین بصورت غیر مستقیم بر روی سیستم دوپامینرژیکی عمل می کند، تزریق مورفین گیرنده های اوپیوئیدی μ واقع شده در اینترنورون های محتوی گابا در جسم سیاه و VTA را فعال می کند و فعال شدن گیرنده های μ، ازطریق مهار زدایی نورون های دوپامینی منجر به افزایش رها سازی دوپامین در هسته اکومبنس، پوتامن و دمدار می گردد (Iwatsubo et al ., 1977 ; Di chiara et al ., 1988). همچنین پیشنهاد شده که اوپیوئیدها می توانند نورون های دوپامینی درگیر در رها سازی AVP را تحت تاثیر قرار دهند (Aziz et al ., 1981 ; Lightman et al ., 1982). داده های نوروشیمیایی وجود

یک واکنش متقابل بین سیستم دوپامینی و اپیوئیدی را پیشنهاد می کنند. همچنین مطالعات الکتروفیزیولوژیکی اثر تحریکی نورون های دوپامینرژیکی و اپیوئیدرژیکی در VTA را نشان می دهد (Gysling et al .,1983). بنابراین این احتمال وجود دارد که مسیرهای دوپامینرژیکی و اوپیوئیدی در کنترل AVP واکنش متقابل با همدیگر داشته باشند. همچنین شواهد نشان می دهد که سیستم دوپامینرژیکی در تنظیم بیان ژنی القا شده توسط مورفین نقش دارد (Liu et al ., 1994 ; Bontempi et al .,1997). در تحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که بروموکریپتین آگونیست دوپامینرژیکی در موش های حساس شده به مورفین اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد در حالیکه کلرپرومازین آنتاگونیست دوپامینرژیکی اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان نمی دهد. زمانی که بروموکریپتین آگونیست دوپامینرژیک بصورت درون بطنی در رت های محروم از آب تزریق می شود منجر به تحریک گیرنده D2 دوپامینی بر روی نورون های دوپامینی و رها سازی دوپامین می گردد، همچنین بعلت محرومیت از آب آنژیوتانسنII ترشح می شود و آنژیوتانسین II و مورفین هر دو منجر به رها سازی دوپامین می شود و دوپامین منجر به فعالیت نورون های وازوپرسینرژیک و ترشح وازوپرسین و به تبع آن افزایش اخذ آب می گردد.

اثر موسیمول و بیکوکولین آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده GABAA بر اخذ آب:

مطالعات Rattan در سال 1990 نشان داد که تزریق گابا و موسیمول به مناطق LAH (lateral hypothalamus) و PVN (paraventricular nucleus) منجر به کاهش اخذ آب گردید. همچنین Rattan و همکارانش با استفاده از ثبت فعالیت الکتریکی بیان کردند که تزریق موسیمول به PVN و هیپوتالاموس ventromedial (شکمی- میانی) منجر به کاهش فعالیت الکتریکی در این مناطق می شود.تزریق محیطی موسیمول، آگونیست گیرنده GABAA در موش های محروم از آب منجر به کاهش اخذ آب می گردد. تزریق درون بطنی موسیمول منجر به کاهش اخذ آب می گردد (Callera , 2005). وی همچنین نشان داد که تزریق موسیمول به صورت دو طرفی به داخل هسته LPB (Lateral parabrachial) منجر به کاهش اخذ Nacl 0.3M و جذب آب می گردد، در حالی که تزریق بیکوکولین، آنتاگونیست گیرنده GABAA به داخل هسته LPB به صورت دو طرفی، اثر موسیمول را بر اخذ Nacl و آب بر عکس می کند. بنابراین Callera به این نتیجه رسید که فعالیت گیرنده های GABAA در هسته LPB بر روی اخذ Nacl و آب اثر می گذارد (Callera et al., 2005).Abigail و همکارانش بیان کردندکه اعمال سیستمیک و یا مرکزی موسیمول نوشیدن و اخذ آب را در یک رفتار وابسته به دوز مهار می کند. وی بیان کرد زمانی که موسیمول به صورت سیستمیک یا مرکزی تزریق شود موسیمول از سد خونی مغزی عبور کرده و گیرنده های مرکزی GABAA را تحت تاثیر قرار می دهد و از این طریق منجر به مهار اخذ آب می گردد (Abigail et al ., 2002).Rattan بیان کرد که داروهایی نظیر موسیمول و بیکوکولین نقش موثری بر رها سازی AVP و به تبع آن تعادل آب و مایعات در بدن رت ها دارند (Rattan et al ., 1990). Tanaka بیان می کند که تزریق موسیمول به Mnpo و SFO منجر به کاهش اخذ آب می گردد، در حالی که بیکوکولین منجر به افزایش اثرات آنژیوتانسینII بر رفتار نوشیدن و اخذ آب می گردد. همچنین وی بیان کرد که سیستم گابائرژیک Mnpo و SFO در کنترل هومئوستازی مایعات بدن و رفتار نوشیدن در گیر می باشد و پرجکشن های گابائرژیک از Mnpo روی تحریک پذیری نورون های وازوپرسینرژیک در هسته سوپرا اپتیک اثر مهاری دارد (Nissen and Renaud ., 1994 , Tanaka et al ., 2003). Unger وهمکارانش نشان دادند که تزریق موسیمول نوشیدن را مهار می کند و اثرات خود را از طریق مهار فعالیت هورمون

های غده هیپوفیز خلفی و مهار رها سازی AVP اعمال می کند. وی بیان کرد که تحریک نورون های گابائرژیک در هسته های SON و PVN منجر به مهار نورون های وازوپرسینرژیک و رها سازیAVP و به تبع آن کاهش اخذ آب می گردد (Unger et al., 1983). شواهد بسیاری نشان می دهد که واکنش متقابلی بر رفتار نوشیدن و اخذ آب بین سیستم آنژیوتانسینرژیک و گابائرژیک وجود دارد. مطالعات نشان می دهد که نوشیدن و اخذ آب ایجاد شده توسط آنژیوتانسینII در یک رفتار وابسته به دوز از طریق تزریق درون بطنی موسیمول مهار می شود (Abe et al ., 1987).Unger بیان می کند که سیستم گابائرژیک اثرات مهاری خود را روی افزایش فشار خون، نوشیدن و رها سازی AVP می گذارد و از این طریق عملکرد آنژیوتانسینII را مهار می کند. وی نشان داد که افزایش سطوح پلاسماییAVP توسط آنژیوتانسینII از طریق موسیمول مهار می گردد. همچنین تزریق موسیمول در داخل هسته های SON و PVN منجر به تحریک نورون های گابائرژیک شده، و تحریک نورون های گابائرژیک منجر به مهار اثرات آنژیوتانسین II، رها سازی AVP و افزایش فشار خون می گردد (Unger et al ., 1983). Mugnaini و همکارش بیان کردند که Mnpo محتوی نورون ها و پایانه های گابائرژیک است. همچنین تحقیقات نشان می دهد که GABA و آنالوگ های آن، پاسخ های فشاری و نوشیدن القا شده توسط آنژیوتانسین II را از طریق لامینا ترمینالیس در طول دیواره قدامی بطن سوم تحت تاثیر قرار می دهد (Jones and Mogenson ., 1982). Tanaka بیان می کند که کاهش پاسخ های دیپسوژنیک (عطش زا) ایجاد شده توسط آنژیوتانسین II از طریق سیستم گابائرژیک و گیرنده های GABAA ایجاد می گردد.درتحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که موسیمول به عنوان آگونیست گیرنده GABAA به طور معنی داری منجر به کاهش اخذ آب می گردد، در حالیکه بیکوکولین آنتاگونیست گیرنده GABAA به طور معنی داری اخذ آب و رفتار نوشیدن را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد. زمانی که موسیمول آگونیست گیرنده GABAA به صورت درون بطنی در رت های محروم از آب تزریق شود باعث تحریک گیرنده های GABAA روی نورون های گابائرژیک و رها سازی گابا شده، در نتیجه گابا می تواند منجر به مهار اثرات آنژیوتانسین II و مهار نورون های وازوپرسینرژیک و به تبع آن کاهش اخذ آب می گردد.

اثر واکنش متقابل موسیمول و برموکریپتین بر اخذ آب:

شواهد بسیاری نشان می دهد که نوشیدن در رت ها بعد از پیش تیمار با آگونیست های گابائرژیک در مناطق Cerebroventricular، Ventral tegmental، Globus Pallidus و Forbrain به صورت وابسته به دوز مهار می شود (Unger et al ., 1983). همچنین Tanaka گزارش داد که پیش تیمار با موسیمول فعالیت دیپسوژنیک (عطش زا) آنژیوتانسینرژیک را در SFO از بین می برد و سیستم گابائرژیک این اثرات مهاری را از طریق گیرنده های GABAA اعمال می کند (Tanaka et al ., 2003).GABA آندوژن یا لیگاندهای اگزوژن به وسیله باند شدن به دو زیر نوع گیرنده مهاری GABAA، GABAB می توانند فعالیت نورون های دوپامینرژیکی VTA را تغییر دهند (Sieghart , 1995).گزارش شده که فعال شدن گیرنده های GABAA، GABAB واقع شده در نورون های VTA منجر به مهار نورون های دوپامینی، کاهش رها سازی دوپامین می گردد . همچنین افزایش دوپامین خارج سلولی القا شده توسط کوکائین را مهار می کند (Walters et al ., 1996) .در تحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که تزریق بروموکریپتین ۱۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول نمی تواند اثر مهاری موسیمول بر اخذ آب را افزایش دهد، بنابراین زمانی که موسیمول به صورت درون بطنی تزریق می شود منجر به فعال شدن گیرنده های گابا شده، در نتیجه گابا می تواند منجر به مهار اثرات آنژیوتانسین II و مهار نورون

های دوپامینرژیک و وازوپرسینرژیک و به تبع آن کاهش اخذ آب گردد و تزریق بروموکریپتین ۱۵ دقیقه پس از آن نمی تواند اثر مهاری موسیمول را از بین ببرد.

اثر موسیمول در موش های حساس شده به مورفین بر اخذ آب:

با توجه به توضیحات داده شده درباره اثر موسیمول بر اخذ آب در بالا انتظار می رود که تزریق درون بطنی موسیمول در موش های سالم منجر به کاهش اخذ آب گردد حال آنکه در تحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که تزریق درون بطنی موسیمول در موش های حساس شده به مورفین منجر به افزایش اخذ آب می شود. شواهد نشان می دهدکه گیرنده های GABAA در جسم سلولی نورون دوپامینرژیکی مزولیمبیک و اینترنورون های گابائرژیک پیش سیناپسی نورون های دوپامینرژیک واقع شده اند در حالی که گیرنده های GABAB فقط درجسم سلولی نورون های دوپامینرژیکی قرار گرفته اند (Kalivas et al ., 1993).پیشنهاد شده که فعال شدن گیرنده های GABAA واقع شده در اینتر نورون های گابائرژیک، منجر به مهار اینتر نورون های گابائرژیک، مهار زدایی نورون های VTA و افزایش رها سازی دوپامین و افزایش دوپامین خارج سلولی القا شده توسط کوکائین می گردد (Walters et al ., 1996 ; Xi and Stein 1998 ; Andrew et al ., 2005). بنابراین با توجه به توضیحات داده شده این احتمال وجود دارد که تزریق درون بطنی موسیمول باعث فعال شدن گیرنده های GABAA واقع شده در اینتر نورون های گابائرژیک پیش سیناپسی نورون های دوپامینرژیک شود و باعث مهار زدایی نورون های دوپامینی و افزایش دوپامین گردد در نتیجه افزایش دوپامین منجر به تحریک وازوپرسین و به تبع آن افزایش اخذ آب می گردد.

اثر بیکوکولین در موش های حساس شده به مورفین بر اخذ آب:

تحقیقات انجام شده توسط Rattan نشان می دهد که داروهایی نظیر موسیمول و بیکوکولین نقش موثری بر رها سازی AVP و به تبع آن تعادل آب و مایعات در بدن رت ها دارند (Rattan et al ., 1990). همچنین مطالعات نشان می دهد که مورفین با مهار آزادسازی گابا، منجر به افزایش آزادسازی دوپامین و سروتونین می گردد. بنابراین انتظار می رود که استفاده از یک داروی گابائرژیک اگزوژن، افزایش دوپامین و سروتونین القا شده توسط مورفین را مهار کند (Tao and Auerbach ., 2002). با توجه به نتایج بدست آمده از تزریق درون بطنی بیکوکولین در موش های سالم به این نتیجه رسیدیم که بیکوکولین میزان اخذ آب را افزایش می دهد بنابر این انتظار می رود که تزریق بیکوکولین در موش های حساس شده به مورفین نیز منجر به افزایش اخذ آب گردد، حال این که درتحقیق حاضر به این نتیجه رسیدیم که تزریق درون بطنی بیکوکولین در موش های حساس شده به مورفین منجر به کاهش اخذ آب گردید. Walters و همکارش در سال 1996 بیان کردند که فعال شدن گیرنده های GABAA و GABAB واقع شده در نورون های VTA باعث مهار این نورون ها و کاهش آزادسازی دوپامین وکاهش آزادسازی دوپامین خارج سلولی القا شده توسط کوکائین می گردد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که تزریق درون بطنی بیکوکولین باعث فعال شدن گیرنده های گابا واقع شده در نورن های دوپامینی VTA شده و در نهایت منجر به کاهش آزادسازی دوپامین و به تبع آن کاهش اخذ آب گردد.

نتیجه گیری کلی ؛

نتایج تحقیقات حاضر نشان دادند که تزریق مورفین (۵mg/kg)، بروموکریپتین آگونیست گیرنده D2 و بیکوکولین آنتاگونیست گیرنده GABAA بطور معنی داری منجر به افزایش اخذ آب شد، در حالیکه کلرپرومازین آنتاگونیست گیرنده D2 و موسیمول آگونیست گیرنده GABAA بطور معنی داری منجر به کاهش اخذ آب شد. برهم کنش بین سیستم های اوپیوئیدرژیک-دوپامینرژیک و اوپیوئیدرژیک-گابائرژیک نشان داد که بروموکریپتین آگونیست دوپامینرژیک،موسیمول آگونیست گابائرژیک در موش های حساس شده به مورفین توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را درمقایسه با گروه کنترل افزایش دهند بعبارت دیگر توانستند اثر تحریکی مورفین بر اخذ آب را افزایش دهند . در حالیکه بیکوکولین آنتاگونیست گابائرژیک در موش های حساس شده به مورفین توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را کاهش دهد، اما کلرپرومارین آنتاگونیست دوپامینرژیک در موش های حساس شده به مورفین بر اعمال این اثر ناتوان بود.برهم کنش بین سیستم های دوپامینرژیک-گابائرژیک نشان داد که تزریق بروموکریپتین آگونیست دوپامینرژیک ۱۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول آگونیست گابائرژیک توانست بطور معنی داری میزان اخذ آب را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. اما کلرپرومازین آنتاگونیست دوپامینرژیک و بیکوکولین آنتاگونیست گابائرژیک بر اعمال این اثر ناتوان بودند. برهم کنش بین سیستم های دوپامینرژیک-گابائرژیک-اپیوئیدرژیک نشان داد که تزریق بروموکریپتن آگونیست دوپامینرژیک ۱۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول آگونیست گابائرژیک در موش های حساس شده به مورفین تا حدی میزان آخذ آب را کاهش داد ولی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان نداد، در حالی که تزریق کلرپرومازین آنتاگونیست دوپامینرژیک ۱۵ دقیقه پس از تزریق بیکوکولین آنتاگونیست گابائرژیک در موش های حساس شده به مورفین تا حدی میزان اخذ آب را افزایش داد ولی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان نداد . داده های حاضر پیشنهاد می کند که سیستم های دوپامینرژیک و گابائرژیک و اپیوئیدرژیک دارای واکنش متقابل با یکدیگر در مکانیسم اخذ آب می باشند.

منابع

1. Abigail J. Houston, John C.L.Wong and lvor S.Ebenezer (2002). Effects of subcutaneous administration of the Gamaaminobutyric acidA receptor agonist muscimol on water in water–deprived rats. Physiology & Behavior Vol 77 , 445- 450.
2. Andersson B (1978). Regulation of water intake. physiol 5,582- 603
3. Andrew C. Barrett, S. Stevens Negus, Nancy K. Mello, and S. Barak Caine (2005). Effect of GABA agonists and GABA-A receptor modulators on cocaine–and food–maintained responding and cocaine discrimination in rats. J Pharmacol. Exp Ther. Vol .315, No.2 , 858 -871.
4. Barnard EA , Skolnick P, Olsen RW, Mohler H, Sieghart W, Biggio G, Braestrup C , Bateson AN , Langer SZ(1998). International Union of Pharmacology .XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acid receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. Pharmacol Rev 50, 291-313.
5. . Bontempi Band Sharp FR (1997).Systemic morphine–induced Fos protein in the rat striatum and nucleus accumbens is regulated by mu opioid receptors in the substania nigra and ventral tegmental area. J Neursci 17, 8596 – 8612.
6. . Bowery NG (1989).GABAB receptors and their significance in mammalian pharmacology . Trends pharmacol . Sci. 10, 401- 407.
7. Brown, D.R., Blank, M.S. and Holtzman, S.G (1980). Suppression by naloxone of water intake induced by deprivation and hypertonic saline in intact and hypophysectomized rats. Life Sci. 26, 1535 – 1542.
8. Callera J.C., Olivera L.B., Barbosa S.P., Colombari D.S.A., Deluca L.A. JR. and Mennani J.V (2005). GABAA receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic Nacl intake. Neuroscience 134, 725 – 735.
9. Carlson , N.R., (1998). Physiology of behavior. Sixh Edition, 356–375.
10. Cooper, S.J (1980). Effects on food and water comsumption in the non- deprived and deprived rat. Psychopharmacology (Berlin) 71, 1- 6.
11. De luca, L.A., Wendramini, R.C., Pereira, D.T.B., Colonbari, D.A.S., David, R.B., de paula, P.M., Menani, J. V (2007). Water deprivation and the double-depletion hypothesis: Common neural Mechanisms underlie thirst and salt appetite. J Medical and Biological Research 40, 707 – 712.
12. . Derek Daniels, Daniel K. Yee and Steven J. Fluharty (2007). Angiotensin II receptor signaling, Experimental Physiology 92, 523 – 527.
13. Forsling M.L., Williams H (1984). Central effects of dopamine on vasopressin in the normally hydrated and water-loaded rat. J Physiol 346, 49 – 59.
14. Garret M., Bascles L., Boue-Grabot E., Sartor P., charron G., Bloch B., Margolskee R.F (1997). An mRNA encoding a Putative GABA gated chloride channel is expressed in human cardiac conduction system. J . Neurochem 68, 1382 – 1389.
15. Gland Ritter E .R.C (1982). Area postrema lesions increase drinking to Angiotensin and extera cellular dehydration. Physiol Behav 29, 943- 947.
16. Hemby SE, Martin TJ, Co C, Dworkin SI, Smith JE. (1995). The effects of intravenous heroin administration on extracellular nucleus accumbens dopamine concentration as determined by in vivo microddialysis. J Pharmacol Exp ther 273, 591 – 598.
17. Julie Le Merrer, Stephanie Gavello-Baudy, Daniel Galey, Pierre Cazala (2007). Morphine self-administration into lateral septum depends on dopaminergic mechanisms: Evidence from pharmacology and fos neuroimaging. Behavioural Brain Recherch 180, 203 -217.

18. . Kalivas PW, Churchill L, Klitenick MA (1993). GABA and enkephalin Progection from the nucleus accumbenc and ventral Pallidum to the ventral tegmental area. Neuroscience 57, 1047 – 1060.
19. Leone P , Pocock D, Wise RA (1991). Morphine-dopamine intraction: ventral tegmental morphine increases nucleus accumbens dopamine release. Pharmacol Biochem Behave 39, 469 - 472.
20. Liu J, Nickplenko J, and Sharp FR (1994). Morphine induces c-fos and junB in striatum and nucleus accumbns via D1 and N-methyl-D-aspartate receptors. Proc Natl Acad Sci USA 91, 8537 -8541.
21. Magrani J., Silva E., Rmos A.C., Athanazio R., Barbetta M., Fregoneze G.B (2004). Central H1 and H2 receptor participation in the control of water and salt intake in rats. Physiol Behav 48, 233 -243.
22. Margules, D.L., Moisset, B., Lewis, M.G., Shibabuya, H. and pert, C.B (1978). Beta–endorphine is associated with overeating in genetically obese mice (ob/ob) and rats (fa/fa). Science 202, 988 -991.
23. Matthews, RT, German, DC (1984). Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopaminergic neurons by morphine. Neuroscience 11, 617 -626.
24. Mckinley M.J., Johnson A.K (2004). The physiological regulation of thirst and fluid intake. News Physiol Sci 19, 1 -6.
25. Mclean, S. and Hoebel, B.G (1983). Feeding induced by opiates injected in to the paraventricular hypothalamus, peptides. Japn J physiol ,Vol 4 , 287-292.
26. Mineo Kunihara, Miyuki Kanbayashi and Takao Ohshima (1983). Opposite effects of morphine on feeding and drinking in rats relative to administration time. J . Pharmacol. 33, 829 -835.
27. Mugnaini E, Oertel WH. An atlas in the distribution of GABAergic neurons and terminals in the rat CNS as revealed by GAD immunocytochemistry. IN: Bjorklund A, Hokfelt T (1985) Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol 4, 436 – 608.
28. Olsen R.W., Tobin A.J (1990). Molecular biology of GABAA receptors. FASEB J .4, 1469 -1480.
29. Omer T. Ginawi , Othman A. Al-Shabanah , Abdulrahman M. Al-Matroudi and Tarig M. H. El- Hadiyah. (2006). Effect of valproic acid on food intake and nociception in morphine – dependent mice. Saudi Pharmaceutical Journal , Vol .14, 149 -154.
30. Pothos E, Rada P, Mark GP, and Hoebel BG (1991). Dopamine microdialysis in the nucleus accumbens during acute and chronic morphine, naloxone-precipitated withdrawal and clonidine treatment. Brain Res 566, 348 – 350.
31. Rada D, Mark GP, Pothos E, Hobel BG (1991). Systemic morphine simultaneously decrease extracellular acetylcholine and increase dopamine in the nucleus accumbns of freely moving rats. Neuro Pharmacology 30, 1133 -1139.
32. Ratten Anil Kumar and Mangat Harjit Kaur (1990). Electrical activity and feeding correl ates of intracranial hypothalamic injection of gaba muscimol and picrotoxin in the rats. Acta Neurobiol. EXP. 50 , 23 – 36.

33. Saad, W.A., Guarda, I.F.M.S., Camargo, L.A.A., Santos, T.A.F.B., Simoes, S (2002). Adrenoceptors of the medial septal area modulate water intake and renal excretory function induced by central administration of angiotensin II. J Medial and Biological Reserch 35, 951 – 959.

34. Sieghart W (1995). Structure and pharmacology of gamma-aminobutyric acidA receptor subtypes. Pharmacol Rev 47, 181 -234.
35. Sanger DJ, McCarthy PS (1980). Differential effects of food and water intake in food deprived and freely-feeding rats. Psychopharmacol 72, 103 -106.
36. Sanger, D.J., McCarthy, P.S. and Metcalf, G (1981). The effects of opiate antagonists arstereospecific Neuropharmacology 20, 45 -47.
37. Sherif FM (1994). GABA-transminase in brain and blood plateles:basic and clinical aspects. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 18, 1219 -1233.
38. Shoji Y, Delfs J ,Williams JT (1999). Presynaptic inhibition of GABAB-mediated synaptic potentials in the ventral tegmental area during morphine withdrawal. J Neurosci , 19, 2347 -2355.
39. Summy–Long JY, Keil LC, Deen K & Severs WB (1981). Opiate regulation of angiotensin-induced drinking and vasopressin release. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 217, 630 - 637.
40. Svoboda, KR., Lupica, CR (1998). Opioid inhibition hippocampal interneurons via modulation of potassium and hyperpolarization-activated cation. Currents J Neurosci 18, 7084 -7098.
41. Tao R , Auerbach SB (2002). GABAergic and glutamatergic afferents in the dorsal raphe nucleus mediate morphine-induced increases in serotonin efflux in the rat central nervous system. J Pharmacol Exp Ther , 303: 704 – 710.
42. Unger T, Bles F, Ganten D, Lang RE, Rettig R and Schwab NA (1983). GABAergic stimulation inhibits central actions of angiotensin II: pressor response , drinking and releas of vasopressin. European jornal of pharmacology 90, 1 - 9.
43. Vacca G, Serra S, Brubetti G, Carai MAM, Gessa GL, Colombo G (2002). Boosting effect of morphine on alcohol drinking is suppressed not only by the cannabinoid CB1 receptor antagonist . SR 141716, Eur J Pharmacol 445, 55 -59.
44. Vaswani, K., Tejwani, G.A., Muosa, S. (1983). Stress induced differential intake of various diets and water by rat: The role of the opiate system. Life Sci . 32, 1983 – 1996
45. 121. Vincenzo R. Olgiati, Carmela Netti, Francesca Guidobono, and Antonio Pecile (1980). The central GABAergic system and control of food intake under different experimental conditions . Psychopharmacology 68, 163 – 167.
46. Walters JR and Pucak ML.(1996). The modulation of midbrain dopaminergic systems by GABA , in the modulation of depaminergic transmission by other neurotransmitters (Ashby CRG ed) pp 157-187, CRC Press LLC, Boca Raton, FL.
47. Williams JT, Christie MJ, Manzoni O (2001). Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. Physiol Rev 81, 299 -343.
48. Woods, J.S. and Leibowitz, S.F (1985). Hypothalamic sites sensitive to morphine and naloxone: effecets on feeding behavior. Pharmacol Biochem. Behav. 23, 431 – 438.