

**دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد**

**پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد**

**علوم جانوری – گرایش فیزیولوژی**

**عنوان:**

**بررسی نقش نیتریک اکساید در تحمل به مرفین در موشهای صحرایی تخمدان برداری شده**

اساتید راهنما:

استاد مشاور:

*نگارش:*

***فهرست***

|  |  |
| --- | --- |
| ***عنوان*** | ***صفحه*** |
| ***چكيده*** |  |
| ***فصل اول \_ مقدمه*** |  |
| 1-1 معرفی و بیان مسئله پژوهش  |  |
| 1-2 هورمونهای استروئیدی |  |
| 1-2-1 محل ترشح هورمونهای جنسی زنانه |  |
| 1-3 مکانیسم عمل استروژن  |  |
| 1-4 استروژن و سیستم عصبی |  |
| 1-4-1 استروژن و نوروترانسمیترها  |  |
| 1-4-2 استروژن و سیستم کولینرژیک |  |
| 1-4-3 استروژن و سیستم سرتونرژیک |  |
| 1-4-4 استروژن و سیستم کاتیکولامینرژیک |  |
| 1-5 استروژن و خلق و خوی  |  |
| 1-6 استروژن و  |  |
| 1-7 استروژن و گر گرفتگی  |  |
| 1-8 اثرات استروژن بر حافظه و یادگیری  |  |
| 1-9 استروژن و محافظت عصبی و بیماری آلزایمر  |  |
| 1-10 استروژن و بیماری پارکینسون  |  |
| 1-11 استروژن و درد  |  |
| 1-12 اپیوئیدها  |  |
| 1-12-1 گیرنده های اپیوئیدی |  |
| 1-12-2 طبقه بندی اپیوئیدها  |  |
| 1-12-3 مکانیسم های سلولی عمل اپیوئیدها  |  |
| 1-13 بی دردی  |  |
| 1-14 پیامد های مصرف اپیوئیدها  |  |
| 1-15 مکانیسم های نورو شیمیائی تحمل نسبت به اپیوئیدها  |  |
| 1-16 نیتریک اکساید |  |
| 1-16-1 سنتز و حذف نیتریک اکساید  |  |
| 1-16-2 مهار کننده آنزیم نیتروکساید سنتتاز |  |
| 1-17 اعمال فیزیولوژیک نیتریک اکساید  |  |
| 1-18 اثرات هورمونهای گنادی بر سیستم های مرکزی تولید کننده نیتریک اکساید  |  |
| 1-19 اثر تنظیمی هورمونهای استروئیدی تخمدانی بر تولید نیتریک اکساید |  |
|  | 21 |
| 1-17-1 شکل ظاهری معده | 21 |
| 1-17-2 سطوح معده  | 22 |
| 1-18 عروق خونی معده | 23 |
| 1-18-1 شرائین معده  | 23 |
| 1-18-2 وریدهای معده | 23 |
| 1-19 عصب رسانی معده  | 24 |
| 1-20 غدد معدی  | 24 |
| 1-21 فعالیت حرکتی معده  | 25 |
| 1-22 فعالیت الکتریکی و انقباضات معده  | 26 |
| 1-23 ارتباط معده و دوازدهه  | 27 |
| 1-24 تنظیم تخلیه معده  | 28 |
| 1-25 نحوه ترشح اسید معده  | 29 |
| 1-26 کنترل غلظت اسید معده  | 31 |
| 1-27 مکانسیم سلولی آگونیستهای سلول پاریتال | 31 |
| 1-28 آنتاگونیستهای ترشح اسیدمعده  | 32 |
| 1-29 کنترل in vivo میزان ترشح اسید | 33 |
| 1-29-1 مرحله سری | 33 |
| 1-29-2 مرحله معدی  | 33 |
| 1-29-3 مرحله روده ای  | 33 |
| 1-30 تحریک ترشح اسیدمعده  | 34 |
| 1-31 مهار ترشح اسید معده  | 34 |
| ***فصل دوم \_ روش کار*** |  |
| 2-1 مواد و روشها | 36 |
| 2-2 نحوه تجزیه و تحلیل داده هاو روش آماری | 37 |
| 2-3 روشهای عصاره گیری  | 38 |
| 2-3-1 روش خیساندن  | 39 |
| 2-3-2 روش تراوش | 39 |
| 2-3-3 روش هضم  | 40 |
| 2-3-4 روش جوشاندن | 40 |
| 2-3-5 روش سوکسیله | 41 |
| 2-4 روش بیهوشی | 42 |
| 2-5 روش انجام آزمایش | 43 |
| 2-6 روش اندازه گیری اسید نمونه  | 44 |
| 3-7 ترانسدیوسر | 48 |
| **فصل سوم \_ نتایج** |  |
| 3-1 داده های مربوط به ترشح اسیدمعده | 49 |
| 3-2 داده ها یمربوط به فعالیت حرکتی معده | 62 |
|  **فصل چهارم \_ بحث و نتیجه گیری** |  |
| 4-1 نتایج مربوط به تاثیر گیاه بومادران بر ترشح اسیدمعده  | 83 |
| 4-2 نتایج مربوط به تاثیر گیاه بومادران بر حرکات معده  | 85 |
| 4-2-1 اثر بر فشار داخل معده  | 85 |
| 4-2-3 اثر بر دامنه انقباضات | 85 |
| 4-2-3 اثر بر فرکانس انقباضات  | 86 |
| پیشنهادات  | 88 |
| منابع  | 89 |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

**چکیده :**

**در** مطالعه حاضر نقش نیتریک اکساید در تحمل به مرفین در موشهای صحرائی تخمدان برداری شده مورد بررسی قرار گرفت. تعداد 90 سر موش صحرائی ماده تهیه و به 10 گروه تقسیم شدند. 1- گروه کنترل(Sham) 2- کنترل- تحمل Tol) Sham-) 3-گروه اوارکتومی (OVX)4 - گروه اوارکتومی – تحمل (Tol- OVX ) 6،5و 7-گروههای اوارکتومی تحت درمان با ال آرژنین(50،10 و200 Mg/kg) (Tol – LA) 8 و 9- گروههای اوارکتومی تحت درمان با ال نیم(10 و 50) (Tol – LN). گروه های 3 تا 9 اوارکتومی شدند. 8 هفته بعد از تخمدان برداری، تحمل به مرفین در گروههای 2 و 4 تا 9 از طریق تزریق داخل صفاقی 20 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین در طی 4 روز ایجادشد. حیوانات گروه 6،5 و 7 همزمان با ایجد تولرانس 50،10 و 200 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن ال آرژنین دریافت کردند. حیوانات گروه 9 ، 8 همزمان با دریافت 20 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین، 10 و 50 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن ال نیم دریافت کردند. سنجش درد بوسیله تست صفحه داغ (Hot plate ) انجام گرفت. در روز پنجم، ابتدا از حیوانات ثبت پایه گرفته شد سپس حیوانات 5 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین دریافت کردند و اثرات ضد دردی هر 10 دقیقه بررسی شد.

نتایج نشان داد که زمان واکنش به درد بعد از تزریق 5 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین نسبت به زمان پایه در گروه کنترل و اوارکتومی بالا بود اما تفاوتی در گروههای کنترل – تحمل و اورکتومی – تحمل وجود نداشت. اگرچه زمان واکنش به درد بعد از تزریق 5 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین در گروه کنترل از گروه اوارکتومی بالاتر بود. اما تفاوتی بین گروههای کنترل- تحمل و اوارکتومی – تحمل مشاهده نشد.

Repeated measure AVOVA نشان داد که زمانهای واکنش بعد از تزریق 5 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین در گروه اوارکتومی –تحمل پایین تر از هر سه گروه دریافت کننده ال آرژنین بود که نشان دهنده این مطلب است که ال آرژنین تحمل به مرفین در موش های صحرایی اوارکتومی شده را کاهش می دهد. نتایج همچنین نشان داد که زمان واکنش به درد بعد از تزریق 5 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن مرفین در گروه اوارکتومی- تحمل نسبت به گروههای دریافت کننده ال نیم پایین تر است. این یافته نشان می دهد که ال نیم نیز تحمل به مرفین در موشهای صحرایی تخمدان برداری شده را کاهش می دهد.

نتایج نشان می دهد که تکرار مصرف مرفین می تواند منجر به تحمل شود. اگر چه تفاوتی بین تحمل در حضور و یا عدم حضور هورمون های جنسی ماده وجود ندارد اما ال آرژنین و ال نیم تحمل به مرفین را کاهش می دهند.

**کلمات کلیدی:موش صحرایی تخمدان برداری شده، نیتریک اکساید، ال آرژنین، ال نیم، تحمل.**

**معرفی و بیان مسئله پژوهش**

یکی از مشکلات اصلی استفاده از داروهای اوپیوئیدی از جمله مرفین ایجاد تحمل به خواص ضد دردی این داروها می باشد. با وجود انجام تحقیقات بسیار متعدد، مکانیسم دقیق تولرانس به خوبی مشخص نشده است(39) و بنابراین راه حل مناسبی هم برای مقابله با این مشکل ارائه نشده است. مطالعات متعدد میانجی های عصبی مختلفی را دراین پدیده دخیل دانسته اند. به عنوان مثال Zhu و همکارانش، Herman و همکارانش نشان دادند که گلوتامات در این پدیده نقش مهمی دارد.

 Maller و همکاران و Sousa و همکاران نشان دادند که که نیتریک اکساید می تواند در درد نقش داشته باشد. یک سری مطالعات نیز نشان دادند که نیتریک اکساید در اثر ضد دردی مرفین نقش دارد(45). مطالعات دیگر نشان دادند که نیتریک اکساید در پدیده تحمل به اوپیوئیدها می تواند نقش داشته باشد(45). اگرچه که نتایج مطالعات متعدد ضد و نقیض می باشد. در یک مطالعه Adams و همکارانش نشان دادند که مهار کننده های آنزیم NOS تحمل به مرفین را کاهش می دهد(2) در حالیکه در مطالعه دیگری Patakiو همکارا نش نشان دادند که افزایش تولید نیتریک اکساید تحمل به مرفین را کاهش می دهد(66). تداخل عمل مرفین با نیتریک اکساید در بسیاری از اعمال فیزیولوژیک دیگر نیز نشان داده شده است(40).

 مطالعات متعدد به نقش هورمونهای جنسی در سیستم عصبی مرکزی پرداخته اند. در این میان بعضی مطالعات وجود دارند که به بررسی نقش هورمونهای جنسی در اثرات ضد دردی مرفین و تحمل به اثرات ضد دردی مرفین پرداخته اند(35). Powellو همکاران نشان دادند که پاسخ به اثرات ضد دردی مرفین در جنس مذکر از جنس مونث بیشتر است(32)Holtman . و همکاران نشان دادند که تحمل به مرفین بین دو جنس تفاوت وجود دارد(35). آنها نشان دادند که تحمل به مرفین در جنس مونث از جنس مذکر بیشتر است(35) در صورتیکه craft و همکاران عکس این نتیجه را ارائه دادند(13).

مطالعات متعدد تداخل عمل نیتریک اکساید با هورمونهای جنسی (64) و بخصوص در سیستم عصبی مرکزی را نشان داده اند(6).

همینطور مشخص شده است که هورمونهای جنسی بیان نیتریک اکساید سنتاز و در نتیجه تولید نیتریک اکساید را تحت تاثیر قرار می دهند(59). همچنین Du و همکاران نشان دادند که تستوسترون بیان نیتریک اکساید سنتاز نورونی(nNOS) را افزایش می دهد (17). از طرف دیگر بیان شده است که هورمونهای جنسی بسیاری از اعمال تولید مثلی را با واسطه نیتریک اکساید انجام دهند(64). به طور خلاصه شواهدی که در بالا آورده شده نشان می دهند که 1-مکانیسم دقیق تحمل به مرفین مشخص نیست و میانجی های متعددی می توانند در آن دخیل باشند .2- هورمون های جنسی در تحمل به مرفین نقش دارند .3- نیتریک اکساید هم در تحمل به مرفین نقش دارد 4 - تداخل عمل نیتریک اکساید و هورمون های جنسی در سیستم عصبی مرکزی نشان داده شده است . لذا در این مطالعه بررسی خواهد شد که اولا آیا تحمل به مرفین در حضور هورمونهای جنسی زنانه ( وجود تخمدانها) و عدم حضور هورمونهای جنسی متفاوت است؟ ثانیا آیا نیتریک اکساید که در بسیاری از اعمال سیستم عصبی نقش دارد و از طرفی با هورمونهای جنسی تداخل اثر دارد در این تفاوت تحمل به مرفین نقش دارد؟ لذا دراین مطالعه بررسی خواهد شد که آیا نیتریک اکساید به عنوان یک میانجی عصبی در تحمل به مرفین در موشهای صحرایی تخمدان بر داری شده نقش دارد یا خیر؟