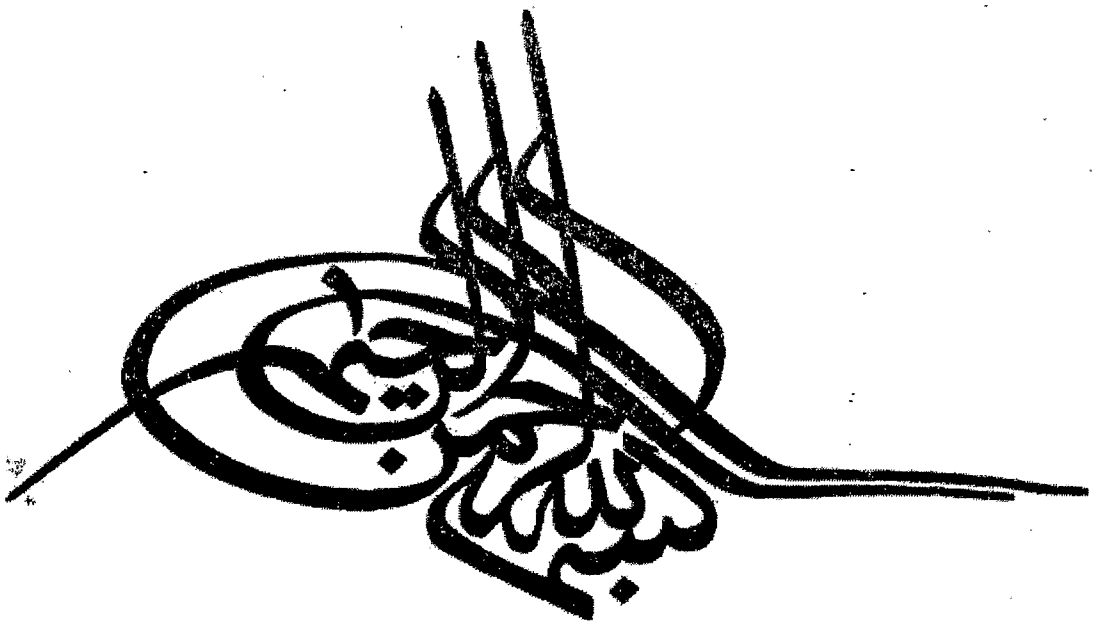

٩٩٨٩١

۸۷/۱/۱۰ ۵۲۱۷
۸۷/۱۱/۱۹

دانشگاه تربیت معلم

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

بررسی واکنش متقابل سیستم های بتا-آدرنرژیک و آنژیوتانسینرژیک بر اخذ آب در موشهای نر نژاد ویستار حساس شده به مورفین

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم جانوری

(گرایش فیزیولوژی جانوری)

استاد راهنما

سرکار خانم دکتر شهربانو عریان

استاد مشاور

جناب آقای دکتر ناصر نقدی

دانشجو

نفیسه ثنا ئی پور

۱۳۸۷ /۸/ ۱۱

بهمن ۱۳۸۶

۹۹۵۹۸

تقدیم به :

صاحب و مولایمان

حضرت ولی عصر (عج)

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۱-۱- آب به عنوان یک عنصر حیاتی بدن ۱

۱-۱-۱- تشنگی و جذب سدیم دو نتیجه محرومیت از آب ۲

۱-۱-۲- تشنگی اسمزی ۳

۱-۱-۳-تشنگی حجمی ۴

۱-۲- نقش آنژیوتانسین II (Ang II) در جذب آب ۵

۱-۲-۱-گیرنده های آنژیوتانسین در مغز ۶

۱-۲-۲- سیستم رنین- آنژیوتانسین ۹

۱-۲-۳- سیستم رنین- آنژیوتانسین در مغز ۹

۱-۳- فعالیت اعصاب آدرنرژیک ۱۱

۱-۳-۱- انتقال عصبی آدرنرژیک ۱۱

۱-۳-۲- گیرنده های آدرنرژیک ۱۳

۱-۳-۳- زیرگروه های گیرنده های آدرنرژیک ۱۴

۱-۳-۴- جایگاه های گیرنده های آلفا و بتا آدرنرژیک ۱۶

۱-۳-۴-۱- جایگاه گیرنده آلفا آدرنرژیک ۱۶

۱-۳-۴-۲- جایگاه گیرنده بتا آدرنرژیک ۱۶

۱-۳-۵- آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده های β_1- آدرنرژیک ۱۷

۱-۳-۶- آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده های β_2- آدرنرژیک ۱۸

۱-۳-۷- مهار کننده گیرنده β- آدرنرژیک ۲۰

۱-۴- عوامل دیگر دخیل در تنظیم جذب آب ۲۰

۱-۴-۱- Orexin ۲۰

۱-۴-۲- ANF (Atrial Natriuretic Factor) ۲۰

۱-۴-۳- Relaxin ۲۱

۱-۴-۴- گلوکوکورتیکوئیدها ۲۲

۱-۴-۵- کانال Nax ۲۳

۱-۵- نواحی درک تشنگی در مغز ۲۳

۱-۵-۱- نوروترنسمیترهای دخیل در تشنگی ۲۴

۱-۶- مورفین ۲۵

۱-۶-۱- اثرات مورفین ۲۶

۱-۶-۱-۱- اثر Antinociceptive مورفین ۲۷

۱-۶-۲- گیرنده اپیات ۲۸

۱-۶-۲-۱- زیرگروه های گیرنده اپیوئید ۲۸

a- زیرگروه های گیرنده μ ۲۸

b- زیرگروه های گیرنده δ ۲۹
c- زیرگروه های گیرنده κ ۳۰
۱-۶-۲-۲- ژنهای مرتبط با زیرگروه های گیرندهκ وδو μ ۳۱
۱-۶-۳- سیگنال ترنس داکشن اپیوئیدها ۳۱
۱-۶-۳-۱ سیگنال ترنس داکشن اپیوئیدها در سلولهای ایمنی ۳۳

فصل دوم: مواد و روشها

۲-۱- حیوانات مورد آزمایش ۳۴
۲-۲- مواد و وسایل ۳۴
۲-۳- داروها ۳۵
۲-۴- روشها ۳۶
۲-۴-۱ ساخت کانول راهنما و کانول تزریق ۳۶
۲-۴-۲- کانولاگذاری ۳۶
۲-۴-۳- نحوه تزریق داروها در موشهای سالم ۳۷
۲-۴-۴- نحوه تزریق داروها در موشهای حساس شده به مورفین ۳۸
۲-۴-۴- تعیین حجم آب اخذشده ۴۱
۲-۴-۵- بررسی برشهای بافتی به منظور تعیین موقعیت دقیق محل تزریق ۴۱
۲-۴-۶- بررسی های آماری روی میزان نوشیدن آب برحسب میلی لیتر ۴۱

فصل سوم: نتایج

۳-۱- اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف دوبوتامین بر میزان اخذ آب در موشها ۴۶
۳-۲- اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف آتنولول بر میزان اخذ آب در موشها ۴۷
۳-۳- اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف سالبوتامول بر میزان اخذ آب در موشها ۴۸
۳-۴- اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف پروپرانولول بر میزان اخذ آب در موشها ۴۹
۳-۵- اثر تزریق درون بطنی دوزهای مختلف لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشها ۵۰
۳-۶- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر دوبوتامین در حضور و غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشها ۵۱
۳-۷- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر آتنولول در حضور و غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشها ۵۲
۳-۸- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر سالبوتامول در حضور و غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشها ۵۳
۳-۹- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر پروپرانولول در حضور و غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشها ۵۴
۳-۱۰- اثر حساس شدن به مورفین بر میزان اخذ آب در موشها ۵۵
۳-۱۱- اثر تزریق درون بطنی دوزمؤثر دوبوتامین در موشهای حساس شده به مورفین ۵۶
۳-۱۲- اثر تزریق درون بطنی دوزمؤثر آتنولول در موشهای حساس شده به مورفین ۵۷
۳-۱۳- اثر تزریق درون بطنی دوزمؤثر سالبوتامول در موشهای حساس شده به مورفین ۵۸
۳-۱۴- اثر تزریق درون بطنی دوزمؤثر پروپرانولول در موشهای حساس شده به مورفین ۵۹
۳-۱۵- اثر تزریق درون بطنی دوزمؤثر لوزارتان در موشهای حساس شده به مورفین ۶۰

۳-۱۶- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر دوبوتامین در حضور یا غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشهای حساس شده به مورفین ۶۱
۳-۱۷- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر آتنولول در حضور یا غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشهای حساس شده به مورفین ۶۲
۳-۱۸- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر سالبوتامول در حضور یا غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشهای حساس شده به مورفین ۶۳
۳-۱۹- اثر تزریق درون بطنی دوز مؤثر پروپرانولول در حضور یا غیاب لوزارتان بر میزان اخذ آب در موشهای حساس شده به مورفین ۶۴

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۶۵
پیشنهادات ۷۱
منابع ۷۲

تقدیر و تشکر :

در آغاز بر خود لازم می دانم از خداوند منان که همواره مرا مورد لطف و عنایت خود قرار داده است، نهایت سپاس را به عمل آورم.

در ادامه از تمامی کسانی که در پیشرفت تحصیلی و ارتقاء فکری اینجانب دخیل بوده اند، تشکر و قدردانی می نمایم.

از استاد فرزانه و تلاشگر، چهره ماندگار، سرکار خانم دکتر شهربانو عریان که علاوه بر افتخار شاگردی ایشان، بر من منت نهادند و راهنمائی این پایان نامه را عهده دار شدند و با راهنمایی های خیرخواهانه خود همواره مرا مورد لطف و عنایت خود قرار دادند، کمال تقدیر و تشکر را دارم و از خداوند متعال توفیق روز افزون و سلامتی ایشان را مسئلت دارم.

از استاد گرانقدر و نمونه فضل و معرفت ، آقای دکتر نقدی که زحمت مشاوره این پژوهش را متقبل شدند و با راهنمایی های ارزشمندشان در تمامی مراحل انجام آزمایشات، راه گشای اینجانب بودند، نهایت سپاس و امتنان را دارم.

از استاد گرانمایه سرکار خانم دکتر پروین رستمی که علاوه بر افتخار شاگردی ایشان، قبول زحمت فرموده و داوری این پایان نامه را عهده دار شدند، کمال تشکر را دارم.

از استاد ارجمند آقای دکتر باباپور که لطف نموده و داوری این پایان نامه را متقبل شدند سپاسگذاری می نمایم.

از آقایان دکتر کاظم پریور، دکتر صدرزاده، دکتر خاوری نژاد و سرکار خانم دکتر کوچصفهانی که افتخار شاگردی ایشان موجب مباهات اینجانب می باشد، نهایت تشکر را دارم.

از پدر و مادرم که برای رستگاری فرزندان خود از راحتی و تفرج و سلامت خود چشم پوشیده اند ، کمال تقدیر و تشکر را دارم.

در پایان به استاد فرزانه و فقید سرکار خانم مهندس اطمینانی که در این مسیر همواره درس همت و صبر را به دانه ای خرد آموختند، تندیسی از صمیمیت و سپاس را تقدیم می نمایم و از خداوند متعال توفیق روز افزون و سلامتی ایشان را مسئلت دارم.

چکیده:

اندامهای دور بطنی CVO_3، هسته پره اپتیک میانی (Mnpo) و بافتهای ناحیه قدامی شکمی بطن سوم در لامیناترمینالیس (AV_3V) از نظر آناتومیکی برای تنظیم تشنگی، ارتباطات گسترده ای با هیپوتالاموس، سیستم لیمبیک و ساقه مغز دارند. آنژیوتانسین II در تنظیم هومئوستازی مایعات بدن نقش مهمی داشته و یک تحریک کننده تشنگی است. آنژیوتنسین II اثرات خود را با واسطه گیرنده های AT_1 انجام می دهد و لوزارتان (آنتاگونیست گیرنده AT_1) اثر نوشیدن القا شده توسط آنژیوتانسین II را درموشها مهار می کند. در این تحقیق تداخل اثر سیستمهای β– آدرنرژیک و آنژیوتانسینرژیک بر اخذ آب در موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار سالم و حساس شده به مورفین مورد مطالعه قرار گرفته است. برای تیمار درون بطنی در حیوان سالم یک کانولای راهنما در بطن جانبی سمت راست موشهای 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 یک ساعت در این حیوانات مورد بررسی قرار گرفت. در مورد حیوان حساس شده به مورفین، پس از طی دورهٔ نقاهت، حیوان در ابتدا نسبت به مورفین حساس شده و بعد از ۲۴ ساعت محرومیت از آب، داروها تزریق و میزان نوشیدن آب به مدت یک ساعت در این حیوانات مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان دادند که تزریق i.c.v لوزارتان (50μg/rat) ، آنتاگونیست آنژیوتانسین II ، دوبوتامین (8 μg/rat) ، آگونیست گیرنده β_1 – آدرنرژیک، سالبوتامول (0/5 μg/rat) آگونیست گیرنده β_2 – آدرنرژیک و پروپرانولول (3 μg/rat) ، آنتاگونیست غیر انتخابی گیرندهβ_2– آدرنرژیک اخذ آب را کاهش می دهند ، در حالیکه آتنولول (10 μg/rat) و حساس شدن به مورفین اخذ آب را در موشها افزایش می دهند. به علاوه لوزارتان اثر کاهش دوبوتامین و پروپرانولول و نیز افزایش آتنولول در اخذ آب را مهار می کند. همچنین حساسیت به مورفین اثر دوبوتامین، آتنولول و سالبوتامول را می پوشاند، در حالیکه بر لوزارتان و پروپرانولول بی اثراست. در موشهای سالم اثر لوزارتان بر اثر آگونیست β_1–

آدرنرژیک و آنتاگونیست های β– آدرنژیک غلبه دارد، در صورتیکه بر روی آگونیست β_2 – آدرنرژیک بی اثر است.

در موشهای حساس شده به مورفین، مورفین اثر آگونیست های β– آدرنژیک و آنتاگونیست β_1– آدرنژیک را می پوشاند، در حالیکه بر روی آگونیست غیر انتخابیβ– آدرنژیک و لوزارتان بی اثر است. بنابراین نتایج نشان می دهد که بین سیستم های β– آدرنرژیک و آنژیوتانسینرژیک و اپیوئیدرژیک ، بر هم کنش نزدیکی در مکانیسم اخذ آب وجود دارد.

فصل اول:

مقدمه

INTRODUCTION

۱-۱- آب به عنوان عنصر حیاتی بدن

آب ترکیب شیمیایی اصلی بدن بوده،که برای سلامتی ضروری است. میزان آب موردنیاز هرفرد به عوامل زیادی بستگی دارد از جمله سلامت فرد و اینکه چه فعالیت هایی دارد و کجا زندگی می کند. اطلاعات نشان داده است که حدود ۶۰٪ توده بدن از آب تشکیل شده است. حدود ۲/۳ آب بدن درون سلولهای بدن است و مایع داخل سلولی نامیده می شود. ۱/۳ باقیمانده نیز مایع اطراف سلولهاست که مایع خارج سلولی نامیده می شود. حدود ۱/۴ از آب مایع خارج سلولی، پلاسمای خون را تشکیل میدهد(Bern, R.M., et al, 2007).

هر سیستمی در بدن به آب احتیاج دارد، مثلاً آب سم ها را به خارج از اندامهای حیاتی می برد، موادغذایی را به سلولها برده و یک محیط مرطوب برای بافتهای گوش، بینی و گلو ایجاد می کند.

فقدان آب می تواند منجر به دهیدراتاسیون شود که این امر زمانی صورت می پذیرد که آب کافی در بدن برای انجام اعمال طبیعی وجود نداشته باشد.

نوشیدن یک جنبه تنظیم مایعات بدن بوده که بصورت یک سیستم تنظیم کننده فیزیولوژیکی منسجم تقریباً در عملکرد حیاتی همه شبکه های اندامهای اصلی بدن مشارکت می نماید (Thornton, S.N., et al, 2007).

از زمانی که اولین ارگانیسم تک سلولی برروی زمین بوجود آمد، تنظیم میزان آب سلول وحجم سلول یک مشکل پایان ناپذیر بوده است. ارگانیسم ها، اعم از گیاهان و جانوران، که در آب دریا یا آب شیرین زندگی می کنند، مکانیسم هایی را برای مبارزه با حرکات آب در عرض غشاهای مرتبط با محیط خارج، ایجاد می کنند. جانوران و گیاهان خشکی در رابطه با این موضوع مشکل دیگری دارند و آن بدست آوردن آب کافی و نگه داشتن آن است. بنابراین در مورد جانوران خشکی زی آب بدن از طریق نوشیدن،یا متابولیسم غذای خورده شده بدست می آید. سیستم کلیه،به انضمام سیستم تنفسی برای نگه داری آب در بدن ایفای نقش می کنند. آب داخل بدن بایستی توسط سیستم دیگری نظیر سیستم قلبی-عروقی که مکانیسم های کنترل مربوط به خود را دارا هستند، در سراسر بدن توزیع شود. به هر حال سیستم های فیزیولوژیکی تنظیمی بسیاری در ارتباط با نوشیدن آب وجود دارند که همه به مکانیسم های کنترلی جداگانه نیاز دارند. تأثیر متقابل بین همه مکانیسم ها یک تصویر جذاب از کنترل فیزیولوژیکی نشان می دهد (Thornton, S.N., et al, 2007).

۱-۱-۱- تشنگی و جذب سدیم دو نتیجه محرومیت از آب

تشنگی القا شده توسط محرومیت از آب بوسیله فرضیه Double depletion توضیح داده می شود. این فرضیه بر این اساس استوار است که دهیدراتاسیون مایعات دو قسمت عمده بدن یعنی بخش خارج سلولی و داخل سلولی، سیگنالهایی را فعال می کند که این سیگنالها جذب آب را القاء می کنند همچنین جذب سدیم هم توسط محرومیت از آب تسهیل می شود (Deluca, L.A., 2007) .

سدیم یک عنصر کلیدی است که نقش مهمی در تنظیم مایعات بدن ایفا می نماید .یون سدیم کاتیون اصلی مایعات خارج سلولی است (پتاسیم یون اصلی مایعات داخل سلولی است) و بنابراین یک نقش ضروری در تنظیم اسمولالیته مایعات بدن مانند شیبی که حرکت آب را تنظیم می کند، ایفا می نماید (Deluca, L.A., 2007).

محرومیت از آب اثرات فیزیولوژیکی خاصی را القاء می نماید که این اثرات احتمالاً در ارتباط با جذب نمک نیز می باشد. جذب سدیم و تشنگی توسط حالات انگیزشی که حیوان دهیدراته را برای کسب مجدد بخش عمده مایعات بدن به فعالیت وا می دارد، شناخته می شود. محرومیت از آب فقط تشنگی را تحریک نمی کند، بلکه جذب سدیم را نیز فعال می نماید. فرضیه Double-Depletion در مورد تشنگی به این امر معتقد است که جذب آب به صورت یک پاسخ به کاهش آب بوده، که در اثر از دست دادن مایعات دو قسمت مهم بدن (داخل و خارج سلولی) ایجاد می شود و در نتیجه انقباض وافزایش تونیسیته ECF (Exteracellular fluid)از طریق سیستم رنین- آنژیوتنسین و اسمورسپتور، سیگنالهایی را تولید می کند که به طور مرکزی باعث تشنگی می شوند. این فرضیه، مکانیسم هایی که هر کدام به طور جداگانه در ایجاد تشنگی در حیوانات محروم شده از آب مؤثراند، با هم تلفیق می کند. (Rodrigues, G.A., et al, 1985) در حقیقت جذب آب و نمک توسط چندین مکانیسم فعال شده در طول دهیدراتاسیون کنترل می شود.بعضی مکانیسم ها مانند تولیدAngII (AngiotensinII) هردو رفتار را فعال نموده، در حالیکه بعضی دیگر مانند افزایش اسمولاریته خون یا افزایش غلظت سدیم، جذب آب را فعال کرده ،اما جذب نمک را مهار می نماید(De-Luca , L.A., 1997).

چندین ساعت محرومیت از آب منجر به تغییرات فیزیولوژیکی مناسبی می شود که جذب سدیم را آغاز می کند، مثلاً انسانها، چهار پایان، خرگوشها و موش های محروم شده از آب، فقط متراکم شدن ECF را ندارند بلکه یک بالانس منفی سدیم هم دارند که به سبب مکانیسم بافری نتیجه شده از افزایش تونیسیته خارج سلولی است، سپس براساس این یافته ها محرومیت از آب جذب سدیم را القاء می کند. زمانیکه

موشهای محروم شده از آب در معرض انواع مختلف مایعات معدنی قرار گرفتند ،مشاهده گردید که آنها سدیم را در مقایسه با مایعات معدنی دیگر ترجیح می دهند. این مسئله نشان می دهد که AngII (آنژیوتنسین II) جذب سدیم القاء شده توسط محرومیت از آب را میانجی گری می کند. (Rodrigues, G.A., et al, 1985) همچنین احتمالاً آلدوسترون فقط جذب سدیم را فعال می کند و Clonidine، آگونیست α2-Adrenergic جذب آب و نمک القاء شده توسط این مکانیسم ها را مهار می کند. (De-Luca, L.A., 1997) همچنین نتایج محققین نشان می دهند که فعالیت فارماکولوژیکی گیرنده های 5-HT3 واقع در CeA(Centeral amygdala) جذب نمک را در موش های محروم شده از سدیم مهار می نماید. (Luz, C.P., et al, 2007)

محرومیت از آب پاسخ های کلی را القاء می کند که نه تنها جذب آب و نمک را تحریک می کند، بلکه همچنین سیستم هایی را که در حفظ حجم و حالت طبیعی بافت دخیل اند، را تحریک می نماید. بالا رفتن AngII در حال گردش، وازوپرسین و تون سمپاتیک برای جلوگیری ازکاهش فشارخون تحت تأثیر کاهش حجم خارج سلولی، ایجاد می شود. (Rodrigues, G.A., et al,1985)

1-۱-۲- تشنگی اسمزی

یک مفهوم کلیدی در ارتباط با جذب آب (و بالانس آب) درهر ارگانیسم به صورت اسمز تعریف می شود. اسمز کشش آب برای حرکت، به سمتی با غلظت بالا است، تا جایی که غلظت در دو طرف غشاء نیمه تراوا یکسان شود. اندازه گیری احتمال حرکت آب به داخل یک محلول از طریق اسمز را اسمولاریته محلول (یا فشار اسمزی که واحدآن mOsm/L است)می گویند. اسمولاریته محلول آب خالص به عنوان اسمولاریته 0mOsm تعریف می شود.

اسمولاریته محلول با اضافه شدن ماده حل شدنی (نمک، اسیدهای آمینه، گلوکز و غیره) افزایش می یابد. هرچه اسمولاریته یک محلول بیشتر باشد حرکت آب به داخل آن از طریق اسمز بیشتر است.

اسمز در بدن موجودات کاربرد زیادی دارد. گرادیانهای اسمزی از طریق سوراخهای کوچک بین سلولهای روده کوچک منجر به جریانهای آب به داخل بدن جانور می شوند. (روده ها طوری سازمان یافته اند که اسمولاریته محتویات روده پایین تر از سلولهای اطراف و فضای روده ای است) (Thornton, S.N., et al, 2007) همچنین مکانیسم های تشکیل دهنده شیب اسمزی در معده باعث حرکت آب می شوند که تنظیم این مکانیسم ها از طریقCSR(Ca(+2) -Sensing Receptor)صورت می پذیرد.

مطالعات نشان می دهند که بالارفتن پتاسیم وابسته به CAMP قبل از آغاز ترشح اسید، شیب اسمزی ایجاد می کند که در نتیجه باعث آغاز حرکت آب به داخل معده می شوند و در اثر فعالیت CSR، که احتمالاً از طریق کاهش در سطوح CAMP، داخل سلولی انجام می شود این فرآیند مهار می گردد. (Gerbino, A., et al , 2007)

بنابراین آب توسط مکانیسم های اسمزی از ادرار خارج گردیده و ادرار غلیظ می شود. اکثر قسمت های بدن اسمولاریته یکسان(۲۹۰mOsm~) دارند و بنابراین اسمز به خودی خود نمی تواند شبکه حرکت آب داخل بدن باشد. اما اگر اسمولاریته یکی از ترکیبات بدن (مثلاً پلاسمای خون) تغییر یابد،آب شروع به حرکت از یک ناحیه به ناحیه دیگر می کند. برای مثال با نوشیدن مقدار زیادی آب، این ماده به داخل خون جذب شده و اسمولاریته پلاسمای خون پایین می آید. در نتیجه آب از پلاسمای خون که اسمولاریته پایین تری دارد به بافت های دیگر بدن که اسمولاریته بالاتری دارد ،حرکت می کند.

در بیش از ۶ پستاندار کانالهای دخیل در عمل ترنس داکشن واکنش تحریک اسمزی شامل TRPV (Transient Receptor Potential Vanilloid) TRPV1، TRPV2، TRPV4می باشند.

همچنین در بی مهرگان هم کانال های TRPV، در حواس مکانیکی مانند تحریک اسمزی در C.Elegans نقش دارند(Liedtke, W., 2006).

1-1-3- تشنگی حجمی

هنگامیکه حجم پلاسمای خون کاهش می یابد، تشنگی حجمی اتفاق می افتد. کاهش حجم پلاسما را می توان با خارج کردن مقداری از خون حیوانات آزمایشگاهی ایجاد کرد. روش بهتر، تزریق محلولهای کلوئیدی به داخل حفره شکمی حیوان است. کلوئیدها از مولکولهای بزرگی ساخته شده اند که از غشاء سلولی عبور نکرده و در حفره شکمی باقی می مانند و به علت اینکه محلول مولکولها هیپرتونیک است، مایع خارج سلولی را به خارج از بافت می کشانند. در ابتدا آب از مایع میان بافتی خارج می شود، اما با کاهش حجم مایع میان بافتی، فشار خون موجب خروج مایع پلاسما از عروق خونی برای جبران این کاهش می شود. زیرا غلظت مایع میان بافتی ثابت می ماند. مایعی که پلاسمای خون را ترک می کند، ایزوتونیک است. وقتی مولکولهای آب به طرف بیرون حرکت می کنند، شیب غلظتی توسط کلوئید ایجاد شده و بنابراین NaClراباخود به بیرون می کشانند. پس از حدود یک ساعت، ترشح وازوپرسین حجم ادرار را کاهش می دهد. همچنین حیوان شروع به نوشیدن کرده و تا زمانیکه بیشتر حجم مایع از دست رفته جایگزین شود، به نوشیدن ادامه می دهد. البته به علت خروج NaCl، در حیوان اشتهای نمکی نیز ایجاد می شود. یعنی

هنگامیکه آب می نوشد، هنوز به NaCl نیز نیاز دارد تا مجددا حجم پلاسما را گسترش دهد. جذب NaCl باعث برطرف شدن رقت اسمزی حاصل از نوشیدن آب شده و مانع از مهار تشنگی می شود که مجددا حیوان آب می نوشد و با جذب مرحله ای آب و NaCl، حیوانات هیپوولومیک می توانند کمبود حجم پلاسما را جبران کنند (Stricker, E.M, 2000, et al).

حداقل دو دسته گیرنده برای آغاز تشنگی حجمی و اشتهای نمکی وجود دارد. دسته اول در کلیه ها قرار دارد که باعث ترشح رنین از کلیه ها می شود، رنین وارد جریان خون شده و باعث تبدیل آنژیوتانسینوژن به آنژیوتانسین I می شود. سپس آنژیوتانسین I تحت تأثیر آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) به فرم فعال آنژیوتانسین II در می آید، که نوشیدن وترشح وازوپرسین را تحریک می کند. دسته دوم گیرنده ها در دهلیز راست و روی دیواره های سیاهرگی بزرگی که خون را به قلب برگشت می دهند، شناسایی شده اند. پیشنهاد شده که این گیرنده ها افزایش تشنگی و ترشح وازوپرسین بعد از کاهش حجم خون را میانجی گری می کنند (Stricker, E.M, 2000, et al) .

۱-۲- نقش آنژیوتانسین II (AngII) در جذب آب

یکی از ترکیبات کلیدی سیستم رنین- آنژیوتانسین، AngIIاست، که وقتی به طور مستقیم به مغز یا به ساختارهای مختلف مغزی و یا به سیستم بطنی- مغزی داده می شود، جذب آب و محلول Nacl غلیظ را تحریک می کند. این عمل از طریق گیرنده های نوع 1 آنژیوتانسین (AT1) میانجی گری می شود، که این گیرنده ها در هیپوتالاموس و مخصوصاً در اندامهای Circumventricular اطراف بطن سوم، ساختارهایی که در تقویت درک احساس مغزی حالت دهیدراتاسیون بدن توسط مغز مؤثرند، وجود دارد (Thornton, S.N., et al, 2007). گیرنده AT1 توسط جفت شدن با G-پروتئین و درگیرکردن Plc، PLA2، PLD ونیزآدنیلات سیکلاز و رهایی کلسیم درون سلولی عمل خود را انجام می دهد(Timmermans, PB., 1996).

فعالیت و عملکرد گیرنده های مرکزی AngII به سطوح در گردش مینرالوکورتیکوئید بستگی دارد. تیمار کوتاه مدت (۳ الی ۴ روز) با DOCA (Low-dose mineralocorticoid)نرخ نوشیدن محلول نمک هیپرتونیک القاء شده با AngII (تئوری Synergy)را بالا می برد. تیمار با آلدوسترون باعث افزایش تعداد سایتهای اتصالی AngII مرکزی می شود. این نتایج پایه تئوری Synergy را که توسط Epstein و همکارانش در سال ۱۹۸۶ ارائه گردیده است، تشکیل می دهد که به موجب آن برهم کنش مرکزی این دو هورمون منجر به افزایش جذب سدیم می شود. این یافته در مورد موش های نژاد ویستار و Sprague Dawley دیده

شده، در صورتیکه در موشهای Fisher یا Zuckerobeseدیده نشده، که نشان می دهد شاید این مکانیسم در همه موش ها کاربرد نداشته باشد. تجارب الکتروفیزیولوژیکی با استفاده از کاربرد یونتوفورتیک AngII و لوزارتان، آنتاگونیست غیرپپتیدی اختصاصی گیرنده AT1، تحریکاتی را در نورونهایی در Preoptic/ medial septum region of urethane-anesthetized موش های نر ویستارنشان می دهد.

پیش تیمار DOCA تحریکات نورونی را در پاسخ به AngII بالا برده و پاسخ به لوزارتان را کاهش می دهد. این فرضیه که می گویدDOCA افزایش دهنده AngII القاء کننده تحریک نورونی است را در حمایت از تئوری Synergy مطرح می نماید. گیرنده های AT2 پاسخ های جذبی وابسته به سدیم را در رژیم غذایی تنظیم می کنند، همچنین دهیدراتاسیون القاء شده با دیورتیک ها را در طول زایمان، بوسیله جذب نمک بیشتر در نوزاد ایجاد می نمایند (Thornton, S.N., et al, 2007) . پاسخ گیرنده AT2 سریع است ،اما احتمالاً پروتئین تیروزین- فسفات را درگیر می نماید (Timmermans, PB., 1996).

۱-۲-۱- گیرنده های آنژیوتنسین در مغز:

پپتیدهای آنژیوتانسین اثراتشان را از طریق رسپتورهای ویژه ای تحت عنوان AT1، AT2، AT4 اعمال می کنند (جدول ۱-۱) (Wright, J.W., et al, 2002) AT1 رسپتوری با ساختار ۷ ترانس ممبران، اندازه مولکولی KDA 42-40 بوده و بوسیله پروتئین ها به سیستم های پیامبرثانویه فسفولیپازC، کلسیم و CAMP جفت(کوپل)می شوند (De Gasparo, M., et al, 2000) و به عنوان واسطه عملکردهای آنژیوتانسین کلاسیک نظیر کنترل همئوستازی مایعات و فشارخون عمل می نمایند (Wright, J.W., 1997). ژن AT1 انسان روی کرومزوم 3q قرار دارد. در جوندگان دو نوع فرعی AT1 شامل AT1A, AT1B وجود دارد که به وسیله ژنهای متفاوتی کد می شوند، اما اثرات فارماکولوژیکی یکسانی دارند. (DeGasparo, M., 2000) گیرنده های AT1 به طور انتخابی با آنژیوتانسین II و آنژیوتانسین III باند می شوند، اگرچه آنژیوتانسین III به گیرنده AT2 نیز باند می شود. AT2 نیز گیرنده ای با ۷ ترانس ممبران، اندازه مولکولی KDa 42 بوده و دارای 32-34% هموژی با AT1 است (Gard, P.K., 2002). ژن AT2 انسان روی کروموزوم x با موقعیت سیتوژنیک q23-q24 قرار گرفتهاست (De Gasparo, M., 2000).

پیشنهاد شده AT2 در رشد مغز، آپوپتوزیس، رشد عروقی و کنترل جریان خون دخالت دارد (Gard , P.R., 2002, Wright, J.W., 1997) یک جایگاه انتقال آنژیوتانسین به نام AT3 نیز شناخته شده است که باعث تحریک CGMP مشخص می شود، اما تاکنون هیچ عملکرد فیزیولوژیکی را نتوانسته اند به آن نسبت

دهند (Chaki, S., And Inagami, T.,1992). سرانجام دریافتند که آنژیوتانسین IV به یک جایگاه ویژه متفاوت از AT1و AT2 منتقل می شود که AT4 نامیده شده است (Harding, J.W., et al, 1992) .

آنژیوتانسین IV با تمایل بسیار پایینی به AT1و AT2 منتقل می شود. آنژیوتانسین II نیز تمایل بسیار پایینی به AT4 نشان می دهد (Allen, A.M., et al, 1998) گفته می شود AT4 واسطه اثرات آنژیوتانسین IV، نه تنها در تنظیم جریان خون، بلکه برای تعدیل فعالیت های حسی و حرکتی مرکزی نیز می باشد و به علاوه در یادگیری و حافظه نیز نقش دارد (Von Bohlen and Halback , O. ,2003) .

همه اثرات شناخته شده آنژیوتانسین II با واسطه گیرنده های AT1 انجام می شود که در سراسر بافت های مغزی، قلبی عروقی، کبدی، کلیوی و غدد آدرنال وجود دارند. در مغز جوندگان، تراکم بالایی از جایگاههای انتقال آنژیوتانسین II در سپتوم و به مقدار کمتری در تالاموس، مغز میانی، ناحیه Postrema، هیپوتالاموس، مخچه، هیپوکامپ و کورتکس یافت شده است(Sirrett, N.E., et al, 1977).

اخیرا آزمایشات تشخیصی، بالاترین تراکم AT1 را در نورونهای لامنیا ترمینالیس و هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموسی یافته اند، اما گیرنده های AT1 در اندامهای دور بطنی، مغز پسین، ماده سیاه، هسته های پارابرانشیال جانبی، شاخ پشتی نخاع، آمیگدال، کورتکس و هیپوکامپ نیز وجود دارند (Allen, A.M.,et al, 2000) گیرنده های AT1 در پایانه های عصبی پیش سیناپسی قرار داشته و در سلولهای گلیایی مغز وجود دارند،عواملی نظیر دهیدراتاسیون، افزایش فشارخون و استرس می توانند باعث تنظیم افزایشی یا کاهشی بیان گیرنده AT1 شوند (Charron, G., et al, 2002). گیرنده های AT2 در سطوح بالا در جنین و نیز افراد بالغ در وضعیت پاتولوژیکی، بیان می شوند که نقش آنها در تمایز سلولی، رشد و ترمیم می باشد. اما در افراد بالغ طبیعی بیشتر در قلب، آندوتلیوم، غدد آدرنال، تخمدان، رحم و بخشهایی از مغز محدود شده اند. گیرنده های AT2 بویژه در تالاموس و مخچه قرار دارند (Lenkei, Z., 1991, Allen, A.M., 2000)

این گیرنده ها در سپتوم، هسته ساب تالاموس، عقده های قاعده ای، آمیگدال و پل مغزی نیز وجود دارند. در طول رشد و نمو مغزی نقشی را به AT2 نسبت داده اند، زیرا AT2 اصولاً در جانوران جوان بیان می شود. در هنگام بلوغ، AT2 بعضی از اثرات بواسطه AT1 را خنثی می کند (Hohle, S., et al, 1994).

توزیع گیرنده های AT4 در مغز متفاوت ازگیرنده های AT1و AT2 است. بیان AT4 در کورتکس، هیپوکامپ، آمیگدال، تالاموس، هیپوتالاموس، دستگاه بویایی، ناحیه تگمنتال شکمی، ماده سیاه، کولیکولوس فوقانی، مخچه، هسته زیتونی تحتانی، هسته وستیبولار جانبی، لوکوس سرلئوس و نخاع مشاهده شده است (Von Bohlen and Halbach O., 2003).

جایگاه باند شدن رسپتورهای AT4 هم در نورونها و هم در آستروسیت ها قرار دارد (Green land, K., et al, 1996).

جدول ۱-۱ رسپتورهای آنژیوتنسین (Savaskan, E., 2005)

	AT1	AT2	AT4
Main ligand	Ang II	Ang II	Ang IV
Structure	7 transmembrane	7 transmembrane	Timer
Molecular size	40-42 kDa	42 kD a	~ 60; $\gamma 80 KDa$ $\alpha 165; \beta$
Amino acids	359	363	Unknown
Receptor subtypes	$AT1_A, AT1_B$	$AT2_A, AT2_B$	Likely
G- protein coupled	Yes	Likely	Unlikely

۱- ۲-۲- سیستم رنین- آنژیوتانسین

در سیاهرگهای بزرگ یک سری گیرنده های حجمی(Volume receptor) وجود دارند که با کاهش در حجم خون سیگنالهایی را برای جذب آب به مغز می فرستند و همچنین باعث افزایش رهایی هورمون آنتی دیورتیک می شوند.

همچنین این گیرنده ها باعث افزایش جذب سدیم و آزادشدن رنین در اثر فعالیت سمپاتیک می شوند. به این ترتیب گیرنده های فشار / حجم کلیه، کاهش در فشار خونرسانی کلیه را دریافت نموده و باعث افزایش رهایی رنین می شوند. تولید رنین تحت کنترل فیزیولوژیکی است و می تواند توسط تغییرات در جذب الکترولیت ها،تغییرات هورمون ACTH و زمینه ژنتیکی موش، تغییر کند. (Mulrow,P.J., 1992)

رنین بر روی آنژیوتانسین در حال گردش عمل می کند، α2-Globulin رها شده از کبد، یک دکاپپتید (آنژیوتانسین I) را تشکیل می دهد. آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین در ریه آن را به اکتاپپتید (Ang II) تبدیل می کند، که چندین وظیفه دارد. Ang II یک منقبض کننده رگی بوده (که این کار را با اثر مستقیم و غیرمستقیم بر روی دیواره رگ انجام میدهد)، بنابراین قطر رگ را متناسب با حجم پایین خون کاهش می دهد و جریان خون را تسهیل می کند. همچنین مراکز تشنگی در مغز را تحریک می کند و در نتیجه منجر به جستجوی آب و نوشیدن آب می شود همچنین باعث آزادشدن هورمون مینرالوکورتیکوئید، آلدوسترون، از آدرنال می گردد(Thornton, S.N., et al, 2007) .

افزایش در فعالیت رنین پلاسما که توسط Hypovolemia القاء می شود، بعد از اشباع تشنگی همچنان بالا باقی می ماند. این افزایش در ارتباط با بیان ژن C-Fos در اندام Subfornical و به طور جزئی در Laminaterminalis صورت می پذیرد. نورونهایی در این ۲ ساختار وجود دارند که توسط آنژیوتانسین II فعال می شوند. مهارکردن آنزیم تغییر دهنده یا گیرنده های آنژیوتانسین II در مرکز تشنگی قویاً خوردن محلول سدیم هیپرتونیک را مهار می کند. (Deluca, L.A., et al, 2007)

۱-۲-۳- سیستم رنین – آنژیوتانسین در مغز:

امروزه اجزاء متعددی از سیستم رنین– آنژیوتانسین مثل آنژیوتانسینوژن، آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE)، آنژیوتانسین II و گیرنده های مربوط به آنها در مغز یافت شده و اعتقاد براین است که یک سیستم رنین- آنژیوتانسین اختصاصی و مستقل در مغز وجود دارد. اجزاء فعال سیستم رنین – آنژیوتنسین محیطی مثل AngII نمی توانند از سد خونی – مغزی عبور کنند (Harding, J.W., et al, 1988) بنابراین می توانند

مستقیماً فقط روی نواحی از مغز اثر می گذارید که فاقد سدخونی- مغزی هستند مثل نواحی دوربطنی (Mckinley, M.J., et al, 1990)

اعتقاد براین است که AngII موجود در جریان خون، با گیرنده های ویژه ای در نورونهای اندامهای دوربطنی برهم کنش می کند که ممکن است این اندامها به نواحی دیگر مغزی در پشت سدخونی – مغزی ارسال شوند. (Giles, M.E., et al, 1999)

اندام ساب فورنیکال و OVLT (Organum Vasculosum) که جزء اندامهای دوربطنی هستند، بوسیله AngII در گردش تحت تأثیر قرار گرفته و باعث تشنگی، تمایل به سدیم و ترشح وازوپرسین می شوند (Fitts, D.A., et al, 2000). اثر AngII مخیطی بر ناحیه Postrema، باعث افزایش فشارخون می شود (Otsuka, A., et al, 1986)با مشاهدات اولیه در سال ۱۹۷۰ در مغز سگ و جوندگان پیشنهاد احتمال وجود یک سیستم رنین – آنژیوتانسین اختصاصی در مغز داده شد (Fischer- Ferraro, C., 1971) در سال ۱۹۷۱ رنین از مغز سگ جداسازی شد (Ganten, D., 1971) و جایگاه های باند شدن AngII در مغز رت مشخص شد (Harding, J.W., et al, 1981). آزمایشات ایمونوهیستو شیمیایی توزیع آنژیوتانسینوژن، آنژیوتانسین I، آنژیوتانسین II و رنین را در نواحی مختلف مغز رت ها مشخص کردند. (Changaris, D.G., et al, 1978). ایمونوراکتیویتی AngII هم در نورونها و هم رگهای ساقه مغز، مخچه و هیپوتالاموس مشخص شده و آنژیوتانسینوژن و آنژیوتانسین I درهسته های هیپوتالاموس یافت شدند (Healy,D.P.,1984). در مرحله بعد سنتز اجزاء مختلف سیستم رنین- آنژیوتانسین مثلاً رنین و آنژیوتانسینوژن، درون مغز از طریق شناسایی توالی RNA پیامبر آنها، تأیید گردید(Ganten, D., et al, 1983).

به علاوه در مغز انسان ایمونوراکتیویتی AngII در عقده های قاعده ای، کورتکس، هیپوتالاموس، تالاموس، ساقه مغز و مخچه نشان داده شده است (Savaskan, E., et al, 2001) و وجود جایگاه های اتصال آنژیوتانسین در مغز پیشین، ماده سیاه، عقده های قاعده ای، مخچه، کورتکس، تالاموس و هیپوتالاموس مشخص شده است (Barnes,J.M.,et al,1993) بنابراین اعتقاد براین است که AngII در مغز، به عنوان یک نوروترنسمیر تنظیم کننده تشنگی، نوشیدن، ترشح هورمونهای آنی دیورتیک، تسهیل کننده اثرات Vasopressor و ترشح هورمونها مثل هورمونهای آدرنوکورتیکوتروپیک و لوتئینی عمل می کند (Phillips, M.I.,1987).