Increase in Nociception Threshold and Decrease in Mu-Opioid Receptor Gene Expression in Liver of a Rat Model of Hepatic Encephalopathy

Shamseddin Ahmadi*, Arezoo Mohammadian Farsani, Zanyar Karami, Farnoosh Khosrobakhsh, Jalal Rostamzadeh

Department of Biological Science and Biotechnology, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Article Info:

Received: **20 Dec 2014** ***Accepted*****: 9 Feb 2015**

ABSTRACT

Introduction: Hepatic encephalopathy (HE) is a brain disorder with impairment of cognitive and motor functions caused by liver failure. The aim of this study was to evaluate changes in nociception threshold as well as gene expression of mu-opioid receptor 1 (MOR1) in rat liver after induction of HE. ***Materials and Methods:*** The male rats (280-320 g) were randomly divided into three groups of control (non-operated), sham (operated without common bile duct ligation) and a group with a common bile duct ligation (BDL) as an experimental model of HE. Changes in nociception threshold were assessed on day 21 of BDL, using a hotplate test. On day 21 of BDL, rats were weighed, sacrificed and total liver tissue was dissected and weighed, then percentage of liver to body weight was measured. In addition, blood samples were collected for biochemical analysis of serum, and a piece of the liver of each rat was dissected for evaluating the MOR1 gene expression. ***Results:*** The results showed that nociception threshold, percentage of liver to body weights, and serum levels of total bilirubin were significantly increased in the HE model group compared to the sham group (P<0.001). Blood urea nitrogen was also increased in this group compared to the sham group (P<0.01). The results also revealed that the MOR1 gene expression at mRNA levels in liver of rats with BDL was significantly decreased compared to the sham group (P<0.001). ***Conclusion:*** Our data indicate that chronic liver failure modulates the MOR1 gene expression in liver. In addition, changes in nociception threshold may confirm a slowness of sensory processing in HE.

Key words:

1. Liver Failure
2. Brain Diseases
3. Bilirubin
4. Urea

* ***Corresponding Author:*** Shamseddin Ahmadi

E-mail: *sh.ahmadi@uok.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

افزایش آستانهٔ احساس درد و کاهش بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی درکبد موش صحرایی با مدل انسفالوپاتی کبدی

شمس الدین احمدی*، آرزو محمدیان فارسانی، زانیار کرمی، فرنوش خسروبخش، جلال رستم‌زاده

گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۹ آذر ۱۳۹۳
تاریخ پذیرش: ۲۰ بهمن ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: انسفالوپاتی کبدی یک اختلال مغزی با اختلال عملکردهای شناختی و حرکتی ایجاد شده توسط نارسایی کبد است. هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات در آستانه احساس درد و بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی نوع ۱ در کبد موش‌های صحرایی پس از القای انسفالوپاتی کبدی بود. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی نر (با وزن ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم) به طور تصادفی به سه گروه کنترل (بدون عمل جراحی)، شم (با عمل جراحی و بدون بستن مجرای صفراوی مشترک) و گروه با انسداد مجرای صفراوی مشترک، به عنوان یک مدل آزمایشگاهی انسفالوپاتی کبدی، تقسیم شدند. تغییرات در آستانهٔ احساس درد با استفاده از آزمون صفحه داغ، ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی ارزیابی شد. در روز ۲۱ پس از انسداد مجرای صفراوی، موش‌های صحرایی وزن شده، کشته شدند و کل بافت کبد آن‌ها جدا گردید و وزن شد، سپس درصد وزن کبد به کل بدن محاسبه شد. به علاوه نمونه‌های خون برای بررسی بیوشیمیایی سرم جمع‌آوری شدند و یک قطعه از کبد هر موش صحرایی برای ارزیابی بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی نوع ۱، جداسازی گردید. **یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که آستانهٔ احساس درد، درصد وزن کبد به کل بدن و سطوح سرمی بیلی‌روبین کلی در گروه مدل انسفالوپاتی کبدی در مقایسه با گروه شم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۰۱$). نیتروژن اوره خون نیز در این گروه در مقایسه با گروه شم افزایش یافت ($P<۰/۰۱$). همچنین نتایج نشان دادند که بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی نوع ۱ در سطوح mRNA در کبد موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی، به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شم کاهش یافت ($P<۰/۰۰۱$). **نتیجه‌گیری:** نتایج ما نشان دادند که نارسایی مزمن کبد، بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی نوع ۱ را در کبد تنظیم می‌کند. به علاوه تغییرات در آستانه احساس درد ممکن است یک کندی پردازش حسی را در انسفالوپاتی کبدی تأیید کند.

کلید واژه‌ها:
۱. نارسایی کبد
۲. بیماری‌های مغز
۳. بیلی‌روبین
۴. اوره

* **نویسنده مسئول:** شمس الدین احمدی
آدرس الکترونیکی: *sh.ahmadi@uok.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

مقدمه

انسفالوپاتی کبدی[1] نوعی اختلال مغزی است که در اثر نقص در عملکرد کبد ایجاد می‌شود. این بیماری در ابتدا علایم کمتری دارد که از آن جمله می‌توان به اختلال توجه، اختلالات شناختی ضعیف، کندی حرکتی و عدم تعادل حرکتی دو دست اشاره نمود. در حالت پیشرفتهٔ این بیماری، اختلالات عصبی و روانی تشدید می‌شوند و افراد بیمار در اثر تجمع بالای سموم در سیستم عصبی دچار کما و در نهایت مرگ می‌شوند (۱). مطالعات گذشتهٔ نقص در عملکرد کبد؛ در اثر نارسایی کبدی، هپاتیت، سیروز کبدی و یا انسداد مجرای صفراوی[2] را عامل اصلی ایجاد انسفالوپاتی کبدی معرفی نموده‌اند (۲).

کبد نقش مهمی را در متابولیسم ایفاء کرده و نیز در تولید صفرا و سم‌زدایی وظایف مهمی را انجام می‌دهد. از جمله مشکلاتی که در اثر نقص در عملکرد کبد ایجاد می‌شود، تجمع مواد سمی مانند بیلی‌روبین، اوره و آمونیاک در خون می‌باشد (۳، ۴). این سموم و از جمله آمونیاک، می‌توانند وارد سیستم عصبی شوند و در سلول‌های آستروسیت تجمع پیدا کنند. سپس سلول‌های آستروسیت در مغز شروع به سم‌زدایی آمونیاک می‌کنند و برای این کار، آن را به گلوتامین تبدیل می‌کنند که گلوتامین تولید شده نیز به نورون‌ها منتقل شده و در آنجا به گلوتامات تبدیل می‌شود. افزایش گلوتامات در نورون‌ها موجب بر هم خوردن تعادل مسیرهای عصبی مختلفی می‌شود که در نتیجهٔ آن، انواع اختلالات عصبی و روانی مربوط به انسفالوپاتی کبدی ایجاد می‌شوند (۵، ۱).

به روش‌های مختلفی می‌توان مدل آزمایشگاهی انسفالوپاتی کبدی را در موش‌های آزمایشگاهی ایجاد نمود که یکی از این روش‌ها، مسدود کردن مجرای صفراوی مشترک و جلوگیری از تخلیهٔ صفرا به داخل روده می‌باشد (۲). مسدود شدن جریان صفرا از کبد به روده با تغییرات متابولیکی عمیقی همراه است که از آن جمله می‌توان به تغییر در عملکردهای میتوکندریایی، کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش گلیکولیز و تجمع اسیدهای صفراوی هیدروفوبیک در کبد و پلاسما، اشاره نمود. این عوامل در نهایت سبب ایجاد یک پاسخ التهابی همراه با مرگ سلول‌های کبدی توسط مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده[3]، نکروز[4] و در پایان فیبروز[5] و سیروز[6] کبدی می‌شوند (۶، ۷).

بنابراین انسداد در جریان صفرا با اثرات تخریبی که بر کبد اعمال می‌کند، می‌تواند موجب نارسایی کبد و به دنبال آن انسفالوپاتی کبدی گردد (۲). محققان دیگری گزارش کرده‌اند که سطح اوپیوئیدهای درون‌زاد[7] محیطی و مرکزی پس از مسدود شدن مجرای صفراوی افزایش می‌یابد (۸، ۹). نشان داده شده است که تعداد گیرنده‌های اوپیوئیدی در مغز موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی کاهش می‌یابد، که این تنظیم کاهشی گیرنده‌های اوپیوئیدی نیز می‌تواند دلیلی بر سطوح افزایش یافته اوپیوئیدهای درون‌زاد باشد (۱۰).

فعالیت اوپیوئیدها و گیرنده‌های مو-اوپیوئیدی[8] در مسیرهای عصبی ارسال پیام درد، موجب کاهش ارسال پیام درد به مراکز عصبی می‌شوند (۱۱). به علاوه گیرنده‌های مو-اوپیوئیدی به طور گسترده در سیستم عصبی مرکزی در نواحی درگیر در عملکردهای حسی و حرکتی شامل بخش‌های مرتبط با تجمع و دریافت حس‌ها، سیستم لیمبیک و هیپوتالاموس توزیع شده‌اند (۱۲). این گیرنده‌ها در عملکردهای فیزیولوژیک مانند کنترل درد از طریق مهار آزاد شدن ناقلین عصبی[9] و تنظیم رفتارهای مربوط به خوشی و لذت از غذا خوردن و حفظ هومئوستاز مؤثر هستند (۱۳، ۱۴). اما این گیرنده‌ها در بافت‌های محیطی نیز وجود دارند و احتمال می‌رود که در اثر تغییرات اوپیوئیدهای درون‌زاد پس از انسداد مجرای صفراوی، این گیرنده‌ها در بافت‌های محیطی مانند پایانه‌های حسی اعصاب و در سایر بافت‌ها نیز دستخوش تغییر شوند (۱۵).

مطالعات دیگری تغییر فعالیت‌های عصبی مانند حافظه را در ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی گزارش کرده‌اند (۱۶). بنابراین هدف مطالعهٔ حاضر، بررسی تغییرات بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئیدی در کبد موش‌های صحرایی و ارتباط این تغییرات احتمالی با تغییر در آستانهٔ احساس درد در مدل انسفالوپاتی کبدی القاء شده با انسداد مجرای صفراوی، در زمان ۲۱ روز پس از انسداد مجرا بود. امید است با فهم مکانیسم‌های مولکولی و تغییرات ناشی از نارسایی کبدی و انسفالوپاتی کبدی، راه برای کنترل بهتر علایم این بیماری در کبد و مغز فراهم شود.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق از ۲۴ سر موش صحرایی جنس نر نژاد ویستار[10] با محدودهٔ وزنی ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات با دسترسی کافی به آب و غذا، درجه حرارت ۲ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و دورهٔ روشنایی -تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌های صحرایی به طور تصادفی در سه گروه آزمایشی شامل گروه کنترل (بدون عمل جراحی)، گروه شم (با عمل جراحی و بدون بستن مجرای صفراوی) و گروه با انسداد مجرای صفراوی به عنوان مدل القای انسفالوپاتی کبدی تقسیم شدند (۲). برای آزمون صفحهٔ داغ، بررسی تغییرات وزنی و بررسی‌های بیوشیمیایی سرم، از هشت سر موش صحرایی در هر گروه آزمایشی استفاده گردید. لازم به ذکر است که بررسی‌های تغییرات بیان ژن بر روی بافت کبد چهار موش صحرایی در هر گروه آزمایشی انجام شد. شورای تحصیلات تکمیلی و کمیتهٔ اخلاق پژوهشی دانشگاه کردستان رعایت تمام قوانین مربوط به مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی را در این مطالعه مطابق با قوانین بین المللی تأیید نمود.

[1] Hepatic encephalopathy (HE)
[2] Bile duct ligation (BDL)
[3] Apoptosis
[4] Necrosis
[5] Fibrosis
[6] Cirrhosis
[7] Endogenous
[8] Mu-opioid receptor (MOR)
[9] Neurotransmitters
[10] Wistar

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

بستن مجرای صفراوی

عمل جراحی و بستن مجرای صفراوی مطابق با کار محققین دیگر و مطالعهٔ پیشین خود ما صورت پذیرفت (۱۸، ۱۷). موش‌های صحرایی با مخلوط داروهای کتامین و زایلازین به ترتیب به میزان ۵۰ و ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم از طریق تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. پس از بیهوشی، موهای ناحیهٔ میانی شکم توسط قیچی به طور کامل برداشته شدند و از بتادین و الکل ۷۰ درصد برای ضد عفونی کردن پوست ناحیهٔ شکم استفاده گردید. سپس توسط یک تیغ جراحی یک شکاف طولی در خط میانی شکم ایجاد شد و در دو مرحله، پوست و عضلات شکم باز شدند. پس از باز کردن ناحیهٔ شکمی در زیر موقعیت کبد و پیدا کردن مجرای صفراوی، این مجرا در گروه شم بدون ایجاد انسداد فقط مشاهده و دستکاری شد. اما در گروه با انسداد مجرای صفراوی، قسمت بالا و پایین مجرای مشترک صفراوی توسط دو گره مسدود گردید و مجرا در بین آن دو گره قطع شد. سپس جدار شکم در دو لایهٔ عضله و پوست بخیه زده شد.

پس از اتمام عمل جراحی، به میزان یک میلی‌لیتر سالین به هر موش صحرایی به طور داخل صفاقی تزریق گردید و موش‌ها تا زمان به هوش آمدن کامل، در یک جعبهٔ تمیز و در زیر حوله قرار داده شدند. با توجه به نتایج مطالعات قبلی که در زمان ۲۱ روز پس از انجام جراحی و بستن مجرای صفراوی، تغییرات مولکولی و رفتاری در موش‌های صحرایی گزارش شده بود (۱۷، ۱۶)، در این مطالعه نیز فاصلهٔ ۲۱ روز پس از جراحی به عنوان زمان مناسب برای القای نارسایی کبدی و ایجاد بیماری انسفالوپاتی کبدی در نظر گرفته شد.

آزمون صفحهٔ داغ و اندازه‌گیری آستانهٔ واکنش به درد

از دستگاه صفحهٔ داغ[11] (شرکت پویا ارمغان، ایران) برای بررسی آستانهٔ احساس درد استفاده گردید. دمای صفحهٔ داغ در ۰/۲ ± ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم گردید. لبه‌های صفحهٔ داغ با یک دیوارهٔ شیشه‌ای با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر احاطه شده بود تا از خارج شدن موش‌های صحرایی از روی صفحهٔ داغ در هنگام انجام آزمون جلوگیری شود. برای سنجش آستانهٔ واکنش به درد، تأخیر اولیهٔ[12] واکنش به درد برحسب ثانیه، یک روز قبل از انجام جراحی برای هر موش صحرایی ثبت گردید. برای اندازه‌گیری تأخیر واکنش به درد در زمان آزمون[13]، ۲۱ روز پس از بستن مجرای صفراوی هر موش صحرایی بر روی صفحهٔ داغ منتقل شد و تأخیر واکنش به درد برحسب ثانیه ثبت گردید. معیار واکنش به درد، لیس زدن کف پای عقبی و یا پرش از روی صفحهٔ داغ بود. برای جلوگیری از آسیب به حیوان سقف زمان تأخیر[14] واکنش به درد، ۸۰ ثانیه در نظر گرفته شد. سپس تأخیرهای ثبت شده طبق فرمول زیر به بیشترین اثر ضد دردی ممکن (MPE٪)[15] تبدیل گردید که به عنوان معیاری برای آستانهٔ احساس درد می‌باشد (۱۹).

$$\%MPE=\left[\frac{\text{تأخیر اولیه} - \text{تأخیر در زمان آزمون}}{\text{تأخیر اولیه} - \text{سقف زمان تأخیر}}\right]\times 100$$

اندازه‌گیری وزن کل بدن، وزن کبد، نمونه‌گیری خون محیطی و بیوپسی بافت کبد در گروه‌های آزمایشی

در روز بیست و یکم پس از انسداد مجرای صفراوی، در ابتدا وزن کل بدن در گروه‌های کنترل، شم و گروه با انسداد مجرای صفراوی اندازه‌گیری شد. به دنبال آن، هر موش صحرایی با مخلوط کتامین و زایلازین بیهوش گردید و از قلب آن‌ها چند سی‌سی خون گرفته شد و به دنبال آن، کل بافت کبد جداسازی و وزن گردید. سپس درصد وزن کبد به کل بدن در گروه‌های آزمایشی محاسبه شد. بلافاصله قطعه‌ای از بافت کبد نیز بر روی سطح یخ نمونه‌برداری شد و به سرعت به داخل میکروتیوب‌های حاوی محلول RNAlater (شرکت کیاژن، آمریکا) منتقل گردید. بافت کبد در داخل محلول RNAlater به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد و سپس محلول RNAlater موجود در میکروتیوب‌ها تخلیه گردید و میکروتیوب‌های حاوی بافت کبد تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. برای سنجش سطوح بیلی‌روبین و نیتروژن اورهٔ خون[16] از کیت تشخیص طبی (شرکت درمان کاو، اصفهان، ایران) استفاده شد.

روش استخراج RNA از بافت کبد

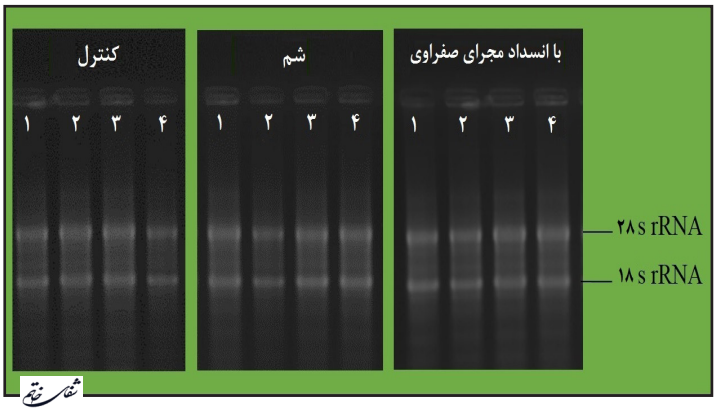
استخراج RNA به روش استفاده از تریزول[17] و با استفاده از محلول RNX-Plus (شرکت سیناژن، تهران، ایران) مطابق با مطالعهٔ پیشین ما انجام شد (۱۷). برای استخراج RNA، یک قطعه از بافت کبد هر موش صحرایی به وزن ۷۵ میلی‌گرم در داخل محلول RNX-Plus با هموژنایزر (مدل Silent Crusher S، شرکت هایدولف، آلمان) یکنواخت شد و ضمن انجام مراحل بعدی طبق روش استفاده شده، در نهایت رسوب RNA به دست آمد. حل کردن رسوب با آب تیمار شده با دی اتیل پیروکربنات[18] و مهار کنندهٔ RNase[19] انجام شد و RNA ی استخراج شده در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

سنجش کیفی و کمی RNA با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز و روش اسپکتروفوتومتری

به منظور بررسی کیفیت RNA ی کل استخراج شده، نمونه‌های RNA بر روی ژل آگارز یک درصد، الکتروفورز شدند و باندهای شفاف RNA های ریبوزومی ۲۸s و ۱۸s و نسبت تقریبی دو به یک باندها، به عنوان ملاک سالم بودن RNA ی کل استخراج شده در نظر گرفته شد (تصویر ۱). سنجش کمّی برای تعیین غلظت RNA ی کل، به روش اسپکتروفوتومتری انجام شد و

[11] Hot plate test
[12] Baseline latency
[13] Test latency
[14] Cut off time
[15] Percentage maximal possible effect (%MPE)
[16] Blood urea nitrogen
[17] Trizol
[18] Diethyl pyrocarbonate (DEPC)
[19] RNase inhibitor

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]



تصویر ۱- تصویر ژل الکتروفورز مربوط به RNA ی استخراج شده از بافت کبد نمونه‌های هر سه گروه آزمایشی. اعداد ۱ تا ۴ نمایانگر شمارهٔ نمونه در هر گروه آزمایشی می‌باشد. وضوح باندهای RNA ی ریبوزومی ۲۸s و ۱۸s نشان‌دهندهٔ سالم بودن و کیفیت RNA ی استخراج شده می‌باشد.

جدول ۱- نتایج اندازه‌گیری غلظت RNA ی استخراج شده از بافت کبد تمامی نمونه‌ها و شاخص‌های خلوص RNA.

	کنترل				شم				با انسداد مجرای صفراوی			
	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
غلظت RNA *	۱/۴۶	۱/۴	۱/۲۸	۱/۳۴	۱/۲۶	۱/۲۷	۱/۲۸	۱/۳	۱/۴	۱/۲۶	۱/۳۷	۱/۳۳
نسبت ۲۶۰/۲۸۰	۱/۸	۱/۸	۱/۹۵	۲/۰۴	۱/۹۴	۱/۹۹	۲/۰۸	۱/۹۹	۱/۹۶	۱/۹۵	۱/۹۹	۱/۸۵
نسبت ۲۶۰/۲۳۰	۲/۱۸	۲/۱۷	۲/۰۸	۲/۱	۲/۰۶	۲/۰۵	۲/۰۸	۲/۱۵	۲/۱۳	۲/۰۸	۲/۱۱	۲/۱۵

* واحد غلظت RNA، بر حسب میکروگرم بر میکرولیتر می‌باشد.

از میزان جذب به دست آمده در طول موج ۲۶۰ نانومتر برای تعیین غلظت RNA ی کل استخراج شده از نمونه‌ها استفاده شد. نتایج مربوط به نسبت میزان جذب در طول موج‌های ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر و نیز نسبت جذب در طول موج‌های ۲۶۰ به ۲۳۰ نانومتر، که نشان‌دهندهٔ میزان خلوص RNA ی استخراج شده است، در جدول ۱ خلاصه شده است.

بررسی تغییرات بیان ژن گیرندهٔ مو -اوپیوئید نوع ۱

ما در این تحقیق از روش رونویسی معکوس -واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (RT-PCR)[20] نیمه کمّی[21] برای بررسی تغییرات بیان ژن استفاده کردیم. توالی mRNA ی ژن‌های گیرندهٔ مو -اوپیوئید نوع ۱ یا به طور خلاصه MOR1 (NM-013071) و بتا اکتین[22] (NM-031144) و نواحی اتصال اگزون‌ها از داده پایگاه مربوطه به دست آمد. برای جلوگیری از تکثیر احتمالی DNA، حداقل یکی از پرایمرهای رفت یا برگشت مربوط به ژن‌های مورد نظر در نواحی اتصال دو اگزون طراحی گردید که توالی آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

به علاوه برای اطمینان از عدم تکثیر احتمالی قطعات DNA ژنومی در هنگام انجام PCR، کنترل NRT[23] (کنترلی که در واکنش تبدیل RNA به cDNA از آنزیم نسخه‌بردار معکوس استفاده نشده بود) و کنترل NTC [24] (کنترل بدون اضافه کردن نمونه cDNA) در انجام PCR استفاده شد. با توجه به عدم تکثیر قطعات مورد انتظار و قطعات دیگر در PCR این نمونه‌های کنترلی، از تیمار DNase بر روی RNA های استخراج شده، استفاده نشد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

غلظت RNA ی استفاده شده برای ساختن cDNA در تمام نمونه‌ها یکسان‌سازی شد و غلظت ۰/۵ میکروگرم استفاده شد. پس از بهینه سازی، برنامهٔ مندرج در جدول ۳ برای انجام PCR اجرا شد. باند مربوط به ژن MOR1 در PCR های با ۲۸ چرخه، بیشترین وضوح را داشت. پس از اتمام PCR، محصولات تکثیر شده به منظور بررسی میزان بیان ژن، بر روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز گردید. از خط‌کش ژنی[25] ۱۰۰ جفت بازی برای تشخیص محل باندها و تأیید تکثیر قطعات مورد انتظار از ژن‌های بتا اکتین و گیرندهٔ مو-اوپیوئید بر روی ژل آگارز استفاده شد. پس از رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید به مدت ۲۰

[20] Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)
[21] Semi-quantitative
[22] β-Actin
[23] No reverse transcriptase control (NRT)
[24] No template control (NTC)
[25] Gene ruler or DNA ladder

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

جدول ۲- توالی پرایمرهای رفت و برگشت برای ژن‌های بتا اکتین و گیرندهٔ مو -اوپیوئید (MOR1).

ژن	پرایمر	توالی (′5-′3)	دمای اتصال (°C)	طول قطعه (bp)
بتا-اکتین	رفت	CTGGGTATGGAATCCTGTGG	۶۰	۲۰۱
	معکوس	AGGAGGAGCAATGATCTTGAT	۶۰	
MOR1	رفت	CAGGGGTCCATAGATTGCAC	۶۰	۳۲۷
	معکوس	GAAGTGCCAGGAAACGGTC	۶۰	

شفای خاتم

جدول ۳- برنامهٔ دمایی و زمانی انجام PCR برای تکثیر ژن‌های بتا اکتین و گیرندهٔ مو -اوپیوئید در بافت کبد.

ردیف	مراحل	دما (درجهٔ سانتیگراد)	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه‌ها
۱	واسرشتگی اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
۲	واسرشتگی	۹۴	۳۰	۲۸
۳	اتصال پرایمرها	۶۰	۳۰	
۴	طویل‌سازی	۷۲	۴۵	
۵	طویل‌سازی نهایی	۷۲	۶۰۰	۱

شفای خاتم

دقیقه، با استفاده از دستگاه ژل داک[26] (شرکت نانوژل، آلمان) عکسبرداری از ژل‌ها انجام شد و به کمک برنامهٔ آنالیز عکس Image J، باندهای موجود بر روی ژل آگارز به صورت کمّی در آمد.

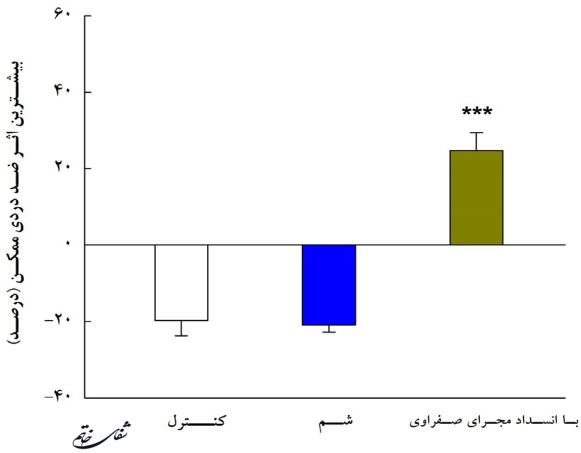
تحلیل آماری

داده‌های مربوط به آزمون صفحهٔ داغ، درصد وزن کبد به کل بدن، نیتروژن اورهٔ خون و تغییرات بیان ژن گیرنده‌های مو-اوپیوئید در گروه‌های آزمایشی توزیع طبیعی داشتند. بنابراین داده‌های هر گروه به صورت Mean ± SEM محاسبه شد و مقایسه‌ها و تحلیل آماری این داده‌ها به کمک آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) در نرم‌افزار آماری SPSS (IBM SPSS Statistics 22.0) انجام شد. پس از معنی‌دار بودن مقدار آمارهٔ F حاصل از انجام ANOVA، برای مقایسهٔ گروه تیمار با گروه کنترل از آزمون توکی[27] استفاده گردید. توزیع داده‌های مربوط به بیلی‌روبین خون طبیعی نبود و به صورت میانه و چارک‌های داده‌ها در هر گروه محاسبه شدند و برای تحلیل آن‌ها از آزمون کروسکال -والیس[28] استفاده گردید. پس از معنی‌دار شدن نتایج آزمون کروسکال -والیس، از آزمون من -ویتنی[29] برای مقایسهٔ دو گروه مورد نظر استفاده شد. در تمام مقایسه‌های آماری، سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

آستانهٔ واکنش به درد در موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی افزایش یافت.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که زمان واکنش به درد در آزمون صفحهٔ داغ بر حسب MPE٪ بین گروه‌های آزمایشی کنترل (۳/۹۸ ± ۱۹/۷۵-)، شم (۱/۸۵ ± ۲۰/۹۷-) و گروه با انسداد مجرای صفراوی (۴/۷۳ ± ۲۴/۷۵) تفاوت معنی‌داری داشت ($F(۲، ۲۱)=۴۸/۹۶$، $P<۰/۰۰۱$). آزمون توکی مشخص نمود که زمان واکنش به درد در گروه‌های کنترل و شم تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($P=۰/۹۷$)، اما زمان واکنش به درد در گروه با انسداد مجرای صفراوی در مقایسه با گروه شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۱$) -(نمودار ۱).



شفای خاتم

نمودار ۱- تغییرات آستانهٔ واکنش به درد در آزمون صفحهٔ داغ در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و با انسداد مجرای صفراوی در زمان ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی. هر گروه شامل هشت موش صحرایی بود. هر یک از ستون‌ها نمایانگر Mean ± SEM داده‌های مربوط به هر گروه آزمایشی می‌باشد. ***$P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شم می‌باشد.

[26] Gel documentation system
[27] Tukey's test
[28] Kruskal-Wallis test
[29] Mann-Whitney U test

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

نتایج تغییرات درصد وزن کبد به کل بدن پس از انسداد مجرای صفراوی در سه گروه آزمایشی

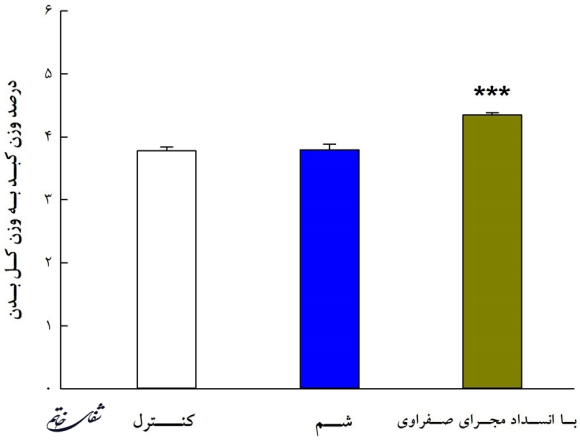
نتایج مربوط به وزن کبد و وزن کل بدن به صورت درصد وزن کبد به کل بدن محاسبه شد و از آن به عنوان معیاری برای نشان دادن اثر انسداد مجرای صفراوی بر بافت کبد استفاده گردید. نتایج آنالیز واریانس یکطرفهٔ مربوط به داده‌های درصد وزن کبد به کل بدن تفاوت معنی‌داری را برای این معیار، بین گروه‌های آزمایشی نشان داد ($F(۲، ۲۱)=۲۲/۳۹$، $P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون توکی مشخص نمود که در ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی، درصد وزن کبد به کل بدن در گروه با انسداد مجرای صفراوی (۰/۰۴ ± ۴/۳۵ درصد) در مقایسه با گروه شم (۰/۰۹ ± ۳/۸ درصد) افزایش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۰۱$)-(نمودار ۲).

سطوح سرمی بیلی‌روبین و نیتروژن اورهٔ خون در گروه با انسداد مجرای صفراوی افزایش یافت.

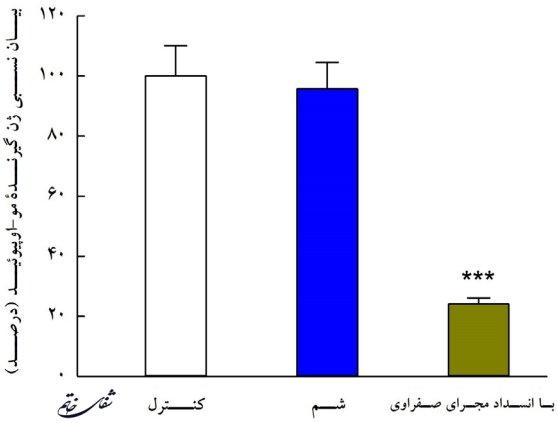
تحلیل آماری به کمک آزمون کروسکال-والیس نشان داد که بیلی‌روبین کل[30] سرم بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشت ($X^{۲}(۲)=۱۶/۶$، $P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون من-ویتنی، افزایش معنی‌داری را در میزان بیلی‌روبین کل، در گروه موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی در مقایسه با گروه شم، در ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی نشان داد ($P<۰/۰۰۱$)-(جدول ۴). نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که نیتروژن اورهٔ خون نیز بین گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری داشت ($F(۲، ۲۱)=۱۰/۳$، $P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون توکی، افزایش معنی‌داری را در نیتروژن اورهٔ خون در گروه موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی در مقایسه با گروه شم، در ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی نشان داد ($P<۰/۰۱$)-(جدول ۴).

بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئید در کبد، ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی کاهش یافت.

تصویر ژل الکتروفورز مربوط به بررسی بیان ژن MOR1 نسبت به بتا اکتین در تصویر ۲ مشاهده می‌شود. شدت باندهای به دست آمده به مقادیر کمّی تبدیل شد و مقادیر کمّی به دست آمده برای بیان ژن MOR1 در هر موش نسبت به بتا اکتین طبیعی گردید و بیان ژن در گروه کنترل به عنوان ۱۰۰ درصد بیان نسبی ژن MOR1 در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به بیان ژن MOR1 در گروه شم و گروه با انسداد مجرای صفراوی نسبت به ۱۰۰ درصد بیان نسبی ژن MOR1 در گروه کنترل محاسبه شدند. سپس مقایسه‌ها و تحلیل آماری برای بررسی تغییرات در بیان ژن MOR1 در گروه‌های آزمایشی انجام شد. نتایج مربوط به کمّی‌سازی باندهای بیان ژن در بافت کبد در هر سه گروه آزمایشی در نمودار ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۲- تغییرات درصد وزن کبد به کل بدن در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و با انسداد مجرای صفراوی پس از ۲۱ روز از انسداد مجرای صفراوی. هر یک از ستون‌ها نمایانگر Mean ± SEM داده‌های مربوط به هشت موش صحرایی در هر گروه آزمایشی می‌باشد. ***$P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شم می‌باشد.



نمودار ۳- مقایسه تغییرات نسبی بیان ژن MOR1 در کبد سه گروه آزمایشی کنترل، شم و با انسداد مجرای صفراوی پس از ۲۱ روز از انسداد مجرای صفراوی. هر یک از ستون‌ها نمایانگر Mean ± SEM داده‌های کمّی شدهٔ مربوط به بیان ژن در بافت کبد چهار موش صحرایی در هر گروه آزمایشی می‌باشد. ***$P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شم می‌باشد.

جدول ۴- تغییرات سطوح بیلی‌روبین و نیتروژن اورهٔ خون در گروه‌های آزمایشی، ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی.

گروه‌های آزمایشی	سطح بیلی‌روبین سرم (میلی‌گرم/دسی لیتر)			سطح نیتروژن اوره خون (میلی‌گرم/دسی لیتر)
	چارک ۷۵٪	میانه	چارک ۲۵٪	Mean ± SEM
کنترل	۰/۶۴	۰/۶۲	۰/۵۷	۱۶/۰۹ ± ۰/۴۷
شم	۰/۶۱	۰/۵۶	۰/۴۹	۱۶/۹۴ ± ۰/۶۹
با انسداد مجرای صفراوی	۵/۷۴	۵/۱***	۴/۴۱	۱۹/۸۷ ± ۰/۶۷**

**$P<۰/۰۱$ و ***$P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شم.

[30] Total bilirubin

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]



تصویر ۲- تصویر ژل الکتروفورز مربوط به بیان ژن MOR1 و بتا اکتین در گروه‌های آزمایشی. نوشته‌ها و اعداد روی چاهک‌ها مشخص کنندهٔ نمونهٔ محصول PCR بارگذاری شده در آن چاهک است. در این تصویر، حداقل برای یکی از نمونه‌های آزمایشی، کنترل NRT (کنترل بدون استفاده از آنزیم رونویسی معکوس در تبدیل RNA به cDNA) و کنترل NTC (نمونهٔ کنترل بدون استفاده از cDNA در انجام PCR) در چاهک‌های اول و دوم بارگذاری شده است. علامت M نشان‌دهندهٔ نشانگر یا خط‌کش ژنی ۱۰۰ جفت بازی و اعداد ۱ تا ۴ بر روی چاهک‌ها مشخص کنندهٔ شمارهٔ نمونه‌ها در هر گروه آزمایشی می‌باشد. محل باندهای ژن MOR1 و بتا اکتین، در کنار باندها مشخص شده است.

تحلیل آماری داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یکطرفه، کاهش معنی‌داری را در میزان نسبی بیان ژن بین گروه‌های آزمایشی نشان داد ($P<۰/۰۰۱$، $F(۲، ۹)=۲۹/۴۷$).

نتایج آزمون توکی مشخص نمود که میزان بیان ژن MOR1 بین گروه‌های کنترل (۱۰ ± ۱۰۰ درصد) و شم (۹ ± ۹۶ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=۰/۹۲$)، اما میزان بیان ژن MOR1 در گروه با انسداد مجرای صفراوی (۲/۱ ± ۲۴ درصد) در مقایسه با گروه شم (۹ ± ۹۶ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

انسداد مجرای صفراوی و تجمع نمک‌های صفراوی در کبد به تدریج منجر به نارسایی کبدی می‌شود که به نوبهٔ خود با افزایش مواد سمی در بدن، موجب تغییر در عملکرد مغز نیز می‌شود که به آن انسفالوپاتی کبدی گفته می‌شود (۱).

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که انسداد مجرای صفراوی موجب افزایش سطح اوپیوئیدهای درون‌زاد نیز می‌شود (۹). علت افزایش در سطح اوپیوئیدهای درون‌زاد پس از انسداد مجرای صفراوی به خوبی شناخته نشده است، اما ممکن است مربوط به روند خود بیماری و یا درد و التهاب ناشی از بیماری باشد (۶). نتایج یک تحقیق جدید در آزمایشگاه ما نیز نشان داد که بیان ژن گیرندهٔ مو-اوپیوئید در مغز موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی کاهش می‌یابد که این تنظیم کاهشی گیرنده‌ها می‌تواند بر سطوح افزایش یافتهٔ اوپیوئیدهای درون‌زاد دلالت داشته باشد (۱۷). این احتمال وجود دارد که تغییر در اوپیوئیدهای درون‌زاد با تغییر دادن بیان گیرنده‌های مو-اوپیوئیدی در کبد و مغز زمینه را برای القای آپوپتوز و به دنبال آن نارسایی کبدی و انسفالوپاتی کبدی فراهم کنند. در مطالعهٔ دیگری گزارش شده است که نالتروکسان[31] که آنتاگونیست گیرنده‌های مو-اوپیوئیدی است، موجب جلوگیری از القای فیبروز کبدی در موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی می‌شود (۲۰).

نتایج تحقیق حاضر در مورد تغییرات واکنش به درد با استفاده از آزمون صفحهٔ داغ نشان داد که آستانهٔ واکنش به درد در گروه با القاء انسفالوپاتی کبدی، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه شم داشت. افزایش زمان واکنش به درد در موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی در فواصل ۶، ۸ و ۱۰ روز پس از انسداد مجرا در مطالعات قبلی نیز گزارش شده بود (۲۱). در این مطالعه نیز نتایج به دست آمده از آزمون صفحهٔ داغ نشان داد که در مدل انسفالوپاتی کبدی ناشی از انسداد مجرای صفراوی، احتمالاً تغییراتی در مدارهای عصبی در سیستم عصبی مرکزی رخ می‌دهد که در نهایت، موجب تغییراتی در پردازش‌های حسی به صورت افزایش زمان واکنش به درد و ایجاد بی دردی معنی‌دار در ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی می‌شود. در توجیه اثرات بی‌دردی ناشی از انسداد مجرای صفراوی، گزارش شده است که سطح پایهٔ اوپیوئیدهای درون‌زاد افزایش می‌یابد و از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی در مسیرهای درد باعث القای بی‌دردی می‌شود (۲۲، ۲۳).

تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که در انسفالوپاتی کبدی، بیلی‌روبین از طریق سد خونی -مغزی که آسیب دیده است، به نورون‌ها می‌رسد و در نهایت مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را تحریک می‌کند (۲۴). به طور کلی، تأخیر در واکنش به درد در مدل موش صحرایی با انسفالوپاتی کبدی

[31] Naltrexone

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

می‌تواند منعکس کنندهٔ کندی پاسخ‌های حسی -حرکتی در اثر اختلالات ناقلین عصبی ناشی از بیماری باشد. این احتمال نیز وجود دارد که افزایش اوپیوئیدها در مدل انسفالوپاتی کبدی القاء شده با انسداد مجرای صفراوی، نوعی پاسخ هومئوستازی سیستم عصبی به تغییرات تخریبی ایجاد شده باشد که در نتیجهٔ آن، پردازش اطلاعات حسی مانند درد نیز ممکن است به کندی رخ دهد.

نتایج مربوط به بررسی بیوشیمیایی سرم گروه‌های آزمایشی در این مطالعه مشخص نمود که انسداد مجرای صفراوی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح بیلی‌روبین و اورهٔ خون پس از ۲۱ روز شد. نتایج به دست آمده از این تحقیق همچنین نشان داد که ۲۱ روز پس از انسداد مجرای صفراوی، درصد وزن کبد به کل بدن افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شم داشت. افزایش درصد وزن کبد به کل بدن در گروه با انسداد مجرای صفراوی در مقایسه با گروه شم می‌تواند ناشی از کاهش وزن بدن و یا افزایش وزن کبد باشد. در مطالعهٔ حاضر، اگرچه کاهش در وزن بدن در گروه انسداد مجرای صفراوی در مقایسه با گروه شم معنی‌دار نبود، اما در توجیه تغییر درصد وزن کبد به کل بدن می‌توان گفت که وزن کبد در اثر تجمع ترکیبات صفراوی و سموم درونی، افزایش معنی‌داری داشته است. در مطالعات دیگری نیز در فواصل ۶، ۱۰ و ۱۴ روز پس از انسداد مجرای صفراوی، کاهش وزن بدن و افزایش سطح بیلی‌روبین خون در موش‌های صحرایی گزارش شده است (۲۱). افزایش معنی‌دار در سطوح بیلی‌روبین و اورهٔ سرم در گروه با انسداد مجرای صفراوی در این تحقیق، تأیید کنندهٔ انسداد مجرای صفراوی و تجمع محتویات آن در کبد و آسیب کبدی می‌باشد که به دنبال آسیب کبدی و نارسایی کبدی ناشی از آن، احتمال ایجاد بیماری انسفالوپاتی کبدی بسیار زیاد می‌شود.

در بخش دوم این تحقیق، بیان ژن گیرنده‌های مو-اوپیوئید در کبد موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی بررسی شد. نتایج نشان داد که کاهش معنی‌داری در بیان ژن گیرنده‌های مو-اوپیوئید در کبد موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی نسبت به گروه شم وجود داشت. گیرنده‌های مو-اوپیوئید، به طور گسترده در سیستم عصبی مرکزی از جمله در هستهٔ پوتامن[32]، مادهٔ خاکستری دور قناتی[33] و در هیپوتالاموس وجود دارند که در عملکردهای فیزیولوژیک مانند کنترل درد، تنظیم رفتارهای مربوط به خوشی و لذت از غذا خوردن و نیز در متابولیسم مؤثر هستند. همچنین توزیع این گیرنده‌ها در بافت‌های محیطی از جمله رودهٔ کوچک، رودهٔ بزرگ، کلیه، شش‌ها، تیموس، بیضه، تخمدان، معده و کبد نیز گزارش شده است (۲۶، ۲۵).

می‌توان پیشنهاد کرد که افزایش در سطوح اوپیوئیدهای درون‌زاد در اثر انسداد مجرای صفراوی، با یک مکانیسم بازتاب منفی، موجب تنظیم کاهشی گیرنده‌های اوپیوئیدی در کبد شده است. این کاهش در گیرنده‌های اوپیوئیدی، می‌تواند عامل القای آپوپتوز، نکروز و در نهایت نارسایی کبدی پس از انسداد مجرای صفراوی باشد. البته در این زمینه تحقیق زیادی انجام نشده است و نتیجهٔ تحقیق حاضر پیشنهاد می‌کند که برای روشن شدن ارتباط انسفالوپاتی کبدی القاء شده با بستن مجرای صفراوی و تغییرات مولکولی ناشی از آن در کبد و مغز مطالعهٔ بیشتری باید انجام شود.

منابع

1. Felipo V. Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. Nat Rev Neurosci. 2013; 14(12): 851-8.

2. Butterworth RF, Norenberg MD, Felipo V, Ferenci P, Albrecht J, Blei AT, et al. Experimental models of hepatic encephalopathy: ISHEN guidelines. Liver Int. 2009; 29(6): 783-8.

3. Butterworth RF. Pathophysiology of hepatic encephalopathy: The concept of synergism. Hepatol Res. 2008; 38 Suppl 1: 116-21.

4. Olde Damink SW, Jalan R, Dejong CH. Interorgan ammonia trafficking in liver disease. Metab Brain Dis. 2009; 24(1): 169-81.

5. Savlan I, Liakina V, Valantinas J. Concise review of current concepts on nomenclature and pathophysiology of hepatic encephalopathy. Medicina (Kaunas). 2014; 50(2): 75-81.

6. Jover R, Rodrigo R, Felipo V, Insausti R, Saez-Valero J, Garcia-Ayllon MS, et al. Brain edema and inflammatory activation in bile duct ligated rats with diet-induced hyperammonemia: A model of hepatic encephalopathy in cirrhosis. Hepatology. 2006; 43(6): 1257-66.

7. Sheen JM, Huang LT, Hsieh CS, Chen CC, Wang JY, Tain YL. Bile duct ligation in developing rats: temporal

[32] Putamen nucleus
[33] Periaqueductal gray matter

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]

progression of liver, kidney, and brain damage. J Pediatr Surg. 2009; 45(8): 1650-8.

8. Bergasa NV, Rothman RB, Vergalla J, Xu H, Swain MG, Jones EA. Central mu-opioid receptors are down-regulated in a rat model of cholestasis. J Hepatol. 1992; 15(1-2): 220-4.

9. Thornton JR, Losowsky MS. Methionine enkephalin is increased in plasma in acute liver disease and is present in bile and urine. J Hepatol. 1989; 8(1): 53-9.

10. Rodriguez-Garay EA. Cholestasis: human disease and experimental animal models. Ann Hepatol. 2003; 2(4): 150-8.

11. Rodriguez-Munoz M, Sanchez-Blazquez P, Vicente-Sanchez A, Berrocoso E, Garzon J. The mu-opioid receptor and the NMDA receptor associate in PAG neurons: implications in pain control. Neuropsychopharmacology. 2012; 37(2): 338-49.

12. Wittert G, Hope P, Pyle D. Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 218(3): 877-81.

13. Bello NT, Patinkin ZW, Moran TH. Opioidergic consequences of dietary-induced binge eating. Physiol Behav. 2011; 104(1): 98-104.

14. Nogueiras R, Romero-Pico A, Vazquez MJ, Novelle MG, Lopez M, Dieguez C. The Opioid System and Food Intake: Homeostatic and Hedonic Mechanisms. Obes Facts. 2012; 5(2): 196-207.

15. Stein C. Opioid receptors on peripheral sensory neurons. Adv Exp Med Biol. 2003; 521: 69-76.

16. Hosseini N, Alaei H, Zarrindast MR, Nasehi M, Radahmadi M. Cholestasis progression effects on long-term memory in bile duct ligation rats. Adv Biomed Res. 2014; 3: 215.

17. Ahmadi S, Karami Z, Mohammadian A, Khosrobakhsh F, Rostamzadeh J. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain. Neuroscience. 2015; 284: 78-86.

18. Dehpour AR, Mani AR, Amanlou M, Nahavandi A, Amanpour S, Bahadori M. Naloxone is protective against indomethacin-induced gastric damage in cholestatic rats. J Gastroenterol. 1999; 34(2): 178-81.

19. Ossipov MH, Harris S, Lloyd P, Messineo E, Lin BS, Bagley J. Antinociceptive interaction between opioids and medetomidine: systemic additivity and spinal synergy. Anesthesiology. 1990; 73(6): 1227-35.

20. Ebrahimkhani MR, Kiani S, Oakley F, Kendall T, Shariftabrizi A, Tavangar SM, et al. Naltrexone, an opioid receptor antagonist, attenuates liver fibrosis in bile duct ligated rats. Gut. 2006; 55(11): 1606-16.

21. Georgiev P, Jochum W, Heinrich S, Jang JH, Nocito A, Dahm F, et al. Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. Br J Surg. 2008; 95: 646-56.

22. Nelson L, Vergnolle N, D'Mello C, Chapman K, Le T, Swain MG. Endogenous opioid-mediated antinociception in cholestatic mice is peripherally, not centrally, mediated. J Hepatol. 2006; 44: 1141-9.

23. Truong W, Cheng C, Xu QG, Li XQ, Zochodne DW. Mu opioid receptors and analgesia at the site of a peripheral nerve injury. Ann Neurol. 2003; 53: 366-75.

24. Sokolovic D, Bjelakovic G, Nikolic J, Djindjic B, Pavlovic D, Kocic G, et al. Effect of L-arginine on metabolism of polyamines in rat's brain with extrahepatic cholestasis. Amino Acids. 2010; 38: 339-45.

25. Janecka A, Fichna J, Janecki T. Opioid receptors and their ligands. Curr Top Med Chem. 2004; 4: 1-17.

26. Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. Pain Physician. 2008; 11: 133-53.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.3.1.1]