

## Effect of Orexin receptor-1 antagonist in acute food deprivation on formalin test

E. Ghasemi\*

B. Salehi\*\*

H. Nakhost\*\*\*

M. Sofiabdi\*\*\*\*

E. Erami\*\*\*\*\*

H. Azhdari Zarmehri\*\*\*\*\*

\*B.Sc. Student of Anesthesiology, School of Health and Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*B.Sc. Student of Nursing, School of Nursing and Midwifery, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*B.Sc. Student of Anesthesiology, School of Health and Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*\*Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*\*\*Instructor of Nursing, School of Nursing and Midwifery, Torbate heydariyeh University of Medical Sciences, Torbate heydariyeh, Iran

\*\*\*\*\*Assistant Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

### \*Abstract

**Background:** Orexin-A and orexin-B are novel hypothalamic peptides which have a role in the regulation of feeding behaviour and pain modulation.

**Objective:** The purpose of this study was to investigate the role of Orexin-A receptor antagonist (SB334867) on the analgesia produced by 12-14 h of food deprivation in rats.

**Methods:** This experimental study was performed on 32 Male rats weighing 220-300gr in Qazvin University of Medical Science in 2010. Animals underwent stereotaxic surgery and a guide cannula was inserted into the lateral ventricle of their brain. One week after surgery, food was withdrawn 12-14 h prior to performing the formalin test, but water continued to be available ad libitum. Formalin was injected subcutaneously into the dorsal surface of the right hindpaw and their pain behaviors observed and recorded for 90 minutes. SB334867 or vehicle (5  $\mu$  l, icv) were injected 5 min before formalin injection. Data were analyzed by T-test and one way ANOVA.

**Findings:** Formalin injection into the right foot caused pain responses in two phases; first phase and second phase were separated with an interphase in which pain behavior was decreased to single and transient responses. 12-14 h starvation reduced pain behavior (analgesia) but Orexin antagonist injection prevent from the reduction of pain behaviors caused by acute food deprivation.

**Conclusion:** The results of this study suggest that the orexinergic system has a role in the modulation of the pain following food deprivation.

**Keywords:** Food Deprivation, Formalin Test, Orexin-A

**Corresponding Address:** Hassan Azhdari Zarmehri, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Email:** hasan.azhdari@gmail.com

**Tel:** +98-912-4801826

**Received:** 19 May 2012

**Accepted:** 7 Nov 2012

## اثر آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین بر محرومیت غذایی حاد در آزمون فرمالین

المیرا قاسمی\*      بقیه اله صالحی\*\*      حدیثه نخست\*\*\*      دکتر محمد صوفی آبادی\*\*\*\*  
 الهه ارمی\*\*\*\*\*      دکتر حسن اژداری زرمهری\*\*\*\*\*

\* دانشجوی کارشناسی هوشبری دانشکده بهداشت و پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\* دانشجوی کارشناسی پرستاری دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\* دانشجوی کارشناسی هوشبری دانشکده بهداشت و پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\*\* استادیار فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\*\*\* مربی پرستاری دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه  
 \*\*\*\*\* استادیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤل: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۰۹۱۲۴۸۰۱۸۲۶

Email: hasan.azhdari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۳۰      تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۱۷

### \* چکیده

**زمینه:** اورکسین A و B پپتیدهای هیپوتالاموسی جدیدی هستند که در تنظیم رفتار تغذیه‌ای و در تعدیل درد نقش دارند.  
**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثرات آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB334867) بر بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی ۱۲ تا ۱۴ ساعته در موش‌ها انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه علوم پزشکی بر روی ۳۲ موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۳۰۰ گرم انجام شد. حیوانات تحت عمل جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و یک کانول راهنما درون بطن جانبی آن‌ها قرار داده شد. یک هفته بعد از جراحی، غذا از دسترس موش‌ها خارج شد (۱۲ تا ۱۴ ساعت قبل از آزمون فرمالین)، اما آب بدون محدودیت در دسترس آن‌ها بود. فرمالین به صورت زیرجلدی به کف پای راست موش‌ها تزریق و رفتارهای درد آن‌ها به مدت ۹۰ دقیقه بررسی شد. SB334867 یا حلال آن ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تزریق شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی و آنوای یکطرفه تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تزریق فرمالین به کف پای راست موجب پاسخ‌های درد در دو مرحله شد؛ مرحله اول و دوم با یک مرحله اینترفاز جدا می‌شدند که رفتارهای درد به صورت تکی و گذرا دیده می‌شدند. ۱۲ تا ۱۴ ساعت محرومیت غذایی سبب کاهش رفتارهای درد شد که تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین از این کاهش رفتارهای درد به دنبال محرومیت غذایی حاد جلوگیری کرد.  
**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که اورکسین در تعدیل درد به دنبال محرومیت غذایی نقش دارد.

**کلیدواژه‌ها:** محرومیت غذایی، آزمون فرمالین، گیرنده ۱ اورکسین

### \* مقدمه:

شده پیچیده است و موجود زنده میان نیازهای درونی و بیرونی و رفتارهای دردزا حق تقدم قایل می‌شود. یک نمونه از رفتارهای دفاعی سازمان‌بندی شده در بر گیرنده بی‌دردی، جهت آماده کردن حیوان برای رفتارهای جنگ و گریز است. همچنین تعدیل درد در زمان غذا خوردن و محرومیت از غذا در برخی مطالعه‌ها بررسی شده است.<sup>(۲-۴)</sup> اگرچه نقش ماده خاکستری دور کاریز مغزی و

مطالعه درد و نقش مراکز عصبی گوناگون در انتقال، پردازش و تعدیل آن از دیرباز مورد توجه پژوهشگران بوده است. در مفهوم مهار پنجره‌ای درد که از ۳۰ سال پیش شناخته شده است، اطلاعات مربوط به پوست، احشاء و دیگر بافت‌ها که به شاخ پشتی نخاع می‌رسند، دست نخورده به مناطق بالاتر انتقال پیدا نمی‌کنند.<sup>(۱)</sup> از این منظر مهار درد جزئی از اجزای رفتارهای سازمان‌بندی

مشخص شده است که هیپوتالاموس پهلویی در بی‌دردی، تعدیل درد و همچنین در اعمال دیگر مغز از جمله حالت‌های تغذیه‌ای دخیل است. محرومیت از غذا باعث بی‌دردی می‌شود و اورکسین هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای در تعدیل درد دارد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB334867) بر بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی ۱۲ تا ۱۴ ساعته در موش‌ها انجام شد.

### \* مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی از ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم (انستیتو رازی) استفاده شد. قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به آب و غذا دسترسی کامل داشتند و در مدل ایجاد محرومیت حاد و مزمن، موش‌ها به ترتیب به مدت ۱۲ تا ۱۴ ساعت به طور کامل از غذا محروم شدند. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: ۱- گروه شاهد (۸ سر موش) ۲- گروه حلال (۵ میکرولیتر حلال SB334867 با استفاده از کانول راهنما به درون بطن جانبی موش‌ها تزریق می‌شد) و به آب و غذا دسترسی کامل داشتند (۶ سر موش). ۳- گروه‌های محروم از غذا به مدت ۱۲ تا ۱۴ ساعت و آزمون فرمالین (۶ سر موش) ۴- گروه‌های محروم از غذا به مدت ۱۲ تا ۱۴ ساعت به علاوه حلال SB334867 و آزمون فرمالین (۶ سر موش) ۵- گروه‌های محروم از غذا به مدت ۱۲ تا ۱۴ ساعت به علاوه تزریق داخل بطنی SB334867 و آزمون فرمالین (۶ سر موش).

آزمون فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار برآمده از یک محرک شیمیایی است که می‌توان اثرات درد حاد را نیز طی مرحله نخست آن بررسی کرد. در این آزمون به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر و از جنس پلکسی گلاس استفاده می‌شود. برای مشاهده پنجه پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف آئینه‌ای تعبیه شده

قسمت سری شکمی میانی پیاز مغز در تعدیل درد به طور کامل مشخص نشده است، ولی ورودی‌های آمیگدال و هیپوتالاموس به این مناطق مهم هستند.<sup>(۵)</sup>

علی‌رغم نقش شبکه عصبی در ماده خاکستری دور کاریز مغزی و قسمت سری شکمی میانی پیاز مغز درگیر در تعدیل درد، انتقال دهنده‌های عصبی درگیر و چگونگی عملکرد آن‌ها بر روی این شبکه مشخص نشده است. احتمالاً شناختن این انتقال دهنده‌های عصبی می‌تواند درک‌های متفاوت از یک محرک درد را در حالت‌های روحی- روانی گوناگون توجیه کند. تحقیق‌ها نشان داده‌اند طیف وسیعی از شرایط محیطی از جمله تنش، محرومیت از غذا، محرومیت از آب و محرومیت توأم آب و غذا قادر به ایجاد بی‌دردی هستند که مکانیسم ایجاد این بی‌دردی هنوز به طور کامل مشخص نشده است. اورکسین A و اورکسین B (هیپوکرتین ۱ و هیپوکرتین ۲) بیش‌تر در قسمت پهلویی هیپوتالاس یافت می‌شوند.<sup>(۷،۶)</sup> اورکسین A پپتیدی ۳۳ اسید آمینه‌ای و اورکسین B پپتیدی ۲۸ اسید آمینه‌ای است که هر دو از پیش‌ساز ۱۳۱-۱۳۰ اسید آمینه‌ای پری پرواورکسین مشتق شده‌اند. ساکوری و همکاران در سال ۱۹۹۸ دو گیرنده اورکسین جفت شونده با پروتئین G را توصیف کردند. پژوهش‌های ریخت‌شناسی ثابت کرده‌اند که نورون‌ها و فیبرهای اورکسین در مناطق مغزی درگیر در تعدیل درد به شرح زیر پخش شده‌اند: شاخ پشتی نخاع، هیپوکامپ، هیپوتالاموس، کورتکس مغزی، قسمت سری شکمی میانی پیاز مغز و ماده خاکستری دور کاریز مغزی.<sup>(۸-۱۱)</sup> اورکسین در تنظیم عملکردهای بدنی و مغزی گوناگون از قبیل تغذیه، هموستاز انرژی، نوراندوکراین، قلب و عروق، خواب، حرکت، مهار تون عضله، پاداش و اعتیاد دخالت دارد.<sup>(۱۲-۱۸)</sup> گزارش شده است که اورکسین A باعث بی‌دردی در آزمون صفحه داغ و انواع مختلف مدل‌های درد التهابی می‌شود.<sup>(۱۹-۲۴)</sup> همچنین در بی‌دردی ناشی از تنش نقش دارد و آنتاگونیزه کردن آن، جلوی تحمل و وابستگی به مرفین را می‌گیرد.<sup>(۲۵-۲۷)</sup>

علامت‌گذاری مناطق فوق با استفاده از مته‌های دندان‌پزشکی منفذی به اندازه قطر کانول راهنما سرسوزن شماره ۲۳ ایجاد شد و کانول راهنما به اندازه مشخص در درون مغز مستقر و قسمت رویی آن در روی مجموعه به وسیله سیمان دندان‌پزشکی ثابت شد. دو پیچ کوچک در استخوان مجموعه تعبیه و در درون سیمان دندان‌پزشکی فرو برده شد. این دو پیچ در حکم مسلح‌سازی سیمان بودند و از جدا شدن آن از سطح مجموعه جلوگیری کردند. منفذ کانول راهنما در بیرون مجموعه به وسیله درپوش خاصی مسدود و فقط در زمان‌های تزریق دارو برداشته شد. بعد از اتمام جراحی، موش‌ها یک هفته دوره بهبودی را طی کردند.

در روز تزریق، به کمک یک کانول نازک‌تر (سرسوزن نمره ۳۰) که ۲ میلی‌متر بلندتر از نوک کانول راهنما بود و یک سر آن به یک لوله نازک پلی‌اتیلن و سر دیگر آن به سیستم تزریق (سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتر) وصل شده بود، ۵ میکرولیتر آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین یا ناقل آن (سالین) به درون بطن‌های جانبی تزریق شد.

آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB-33467) در دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) در حداکثر غلظت ۱۰ میلی‌مول حل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس در روز آزمایش با سالین رقیق شد و ۵ دقیقه قبل از آزمون فرمالین در بطن جانبی چپ تزریق شد. حداکثر غلظت استفاده از DMSO در این آزمایش ۰/۰۱ درصد بود.

همان گونه که ذکر شد، به دنبال تزریق فرمالین به رفتارهای موش‌ها در هر ۱۵ ثانیه نمره صفر تا ۳ داده و تا ۹۰ دقیقه رفتارهای درد ثبت شد. میانگین زمان در دقیقه و هر ۳ دقیقه محاسبه شد. همچنین مرحله حاد (۷ دقیقه اول) و مرحله مزمن (۷۵ دقیقه پایانی) محاسبه و میانگین گرفته شد. داده‌ها بین دو گروه با آزمون‌های آماری تی و برای چند گروه با آزمون آماری آنوای یکطرفه تحلیل شدند.

است و به همین علت درد حاصله، درد آئینه‌ای نامیده می‌شود. در این آزمون، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد با یک سر سوزن شماره ۳۰ به زیر پوست پنجه پای حیوان تزریق می‌شود. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القا شده با فرمالین و رفتارهای خود به خودی را نشان می‌دهد که به آن نمره صفر تا ۳ داده می‌شود: نمره صفر- پای حیوان به طور طبیعی روی زمین است، نمره یک- پای حیوان مختصری روی زمین است، نمره دو- پای حیوان از زمین کنده است و نمره سه- حیوان پایش را گاز می‌گیرد یا لیس می‌زند.

تزریق فرمالین سبب رفتارهای درد شد که در بازه زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند. این رفتارها از دو مرحله تشکیل شده بودند که توسط مرحله میانی از یکدیگر جدا می‌شدند. مرحله اول از دقیقه صفر تا ۷ بود. طی مرحله میانی، رفتارهای درد از دقیقه ۸ تا ۱۴ کاهش پیدا می‌کردند. سپس مرحله دوم (از دقیقه ۱۵ تا ۹۰) به دو قسمت تقسیم شد: 2A که از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و 2B که از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ بود. (۲۳ و ۲۲)

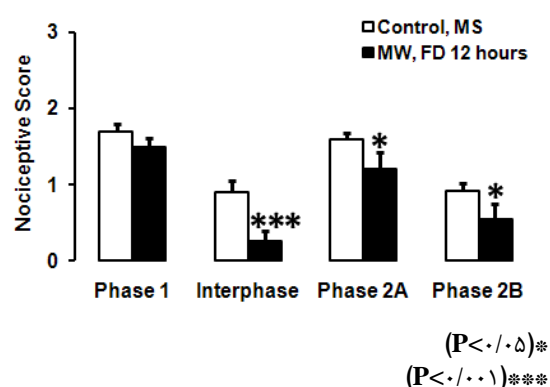
برای ریز تزریق داروها، ابتدا کانول گذاری در بطن‌های جانبی براساس مختصات آن در اطلس پاکسینوس انجام شد (AP: -0/9, L:2, H:4/3) و پس از بهبودی (یک هفته بعد) موش‌ها برای آزمون رفتاری آماده شدند. (۲۸) در روز آزمایش، داروها در هر گروه با استفاده از سرنگ هامیلتون (۱۰ میکرولیتر) و لوله پلی‌اتیلن (PE-100) با کانول گیج ۲۳ (۵ میکرولیتر بر دقیقه) تزریق و بعد از آن آزمون فرمالین انجام شد.

برای جراحی و کانول گذاری، حیوان پس از بی‌هوش شدن (زاپلازین و کتامین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم IP) در دستگاه استریوتاکسی (AP: -0/9, L:2, H:3/8) مستقر و پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما و لامبدا شناسایی شد و با نگرش به فاصله آن‌ها و نسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس، نواحی سطح مجموعه متعلق به بطن جانبی مغز مشخص شد. بعد از

**\* یافته‌ها:**

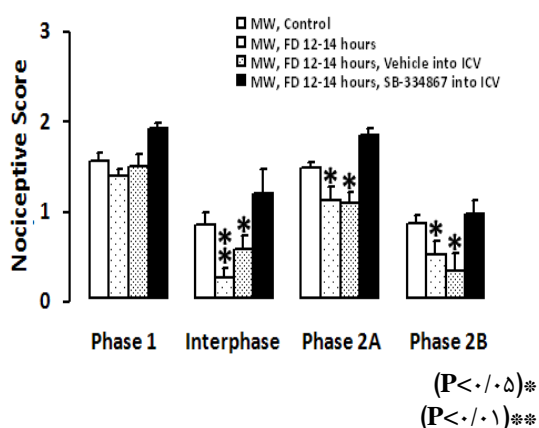
اثرات محرومیت غذایی (۱۲-۱۴ ساعت) بر رفتارهای درد برانگیخته شده توسط آزمون فرمالین کاهش محسوسی در رفتارهای درد بین گروه محروم از غذا نسبت به گروه شاهد در مرحله میانی ( $P < 0.01$ ) و مرحله B۲ ( $P < 0.05$ ) نشان داد (نمودار شماره ۱).

**نمودار ۱ - مقایسه میانگین نمره آزمون فرمالین در گروه‌های شاهد و محروم از غذا**



( $P < 0.01$ ) و مرحله ۲A ( $P < 0.05$ ) وجود داشت که تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب پیشگیری از این کاهش رفتارهای درد به دنبال محرومیت غذایی حاد شد (نمودار شماره ۳).

**نمودار ۳ - اثرات تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین به دنبال ۱۲-۱۴ ساعت محرومیت غذایی روی رفتارهای درد ناشی از تزریق فرمالین**

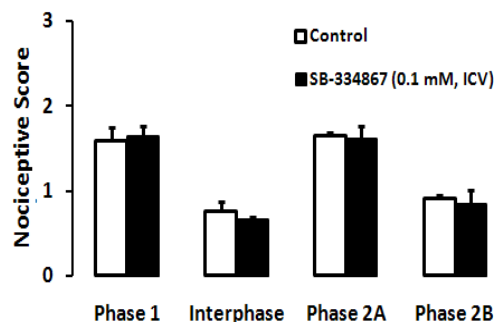
**\* بحث و نتیجه‌گیری:**

این مطالعه نشان داد به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت محرومیت غذایی، موش‌ها کاهش محسوسی در رفتارهای درد برانگیخته شده با آزمون فرمالین نسبت به گروه شاهد در مراحل میانی و ۲A از خود نشان دادند که تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب پیشگیری از این کاهش رفتارهای درد به دنبال محرومیت غذایی حاد شد. اکنون سؤالی که مطرح می‌شود این است که آیا بین محرومیت از غذا و سیستم اورکسین رابطه‌ای وجود دارد که تزریق داخل بطنی آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین توانست از بی‌دردی ایجاد شده به وسیله محرومیت غذایی جلوگیری کند.

شاید یکی از دلایل ایجاد بی‌دردی به وسیله محرومیت غذایی افزایش مقدار اورکسین و گیرنده‌های آن بر اثر محرومیت غذایی باشد که در این صورت، بی‌دردی از طریق بالا بودن اورکسین مغز قابل توجیه است. در تحقیق پانولا بر روی زبرافیش مشخص شد که

تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین به داخل بطن جانبی سبب تغییر رفتارهای درد در مراحل ۱، میانی و ۲ آزمون فرمالین نشد (نمودار شماره ۲).

**نمودار ۲ - مقایسه میانگین نمره آزمون فرمالین در گروه‌های شاهد و آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین**



در گروه ناقل به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت محرومیت غذایی، کاهش محسوسی در رفتارهای درد برانگیخته شده با آزمون فرمالین بین گروه محرومیت غذایی داده شده با گروه محرومیت داده نشده در مرحله میانی

دردگرمایی (صفحه داغ- کشیدن پا و کشیدن دم)، مکانیکی (فشار دم)، شیمیایی (فرمالین و کاپسایسین) و کشش شکم اثر ضد دردی داشته، ولی تزریق زیرپوستی اثری نداشته است.<sup>(۳۴،۳۳)</sup>

اگر افزایش سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین و گیرنده‌های آن در مغز بعد از محرومیت غذایی مورد قبول واقع شود، ایجاد بی‌دردی از طریق سیستم اورکسین به دنبال محرومیت از غذا نیز قابل انتظار است و جلوگیری از این بی‌دردی از طریق تزریق داخل بطنی آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین نیز قابل توجه است.

یکی دیگر از دلایل ایجاد بی‌دردی به وسیله محرومیت غذایی از طریق سیستم اورکسین می‌تواند این باشد که محرومیت غذایی و به دنبال آن افزایش سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین و گیرنده‌های آن و همچنین مقدار اورکسین و گیرنده‌های آن در مغز باعث افزایش توجه حیوان به رفتارهای تغذیه‌ای شده و حیوان از رفتارهای درد ناشی از تزریق فرمالین غافل می‌شود و تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین می‌تواند این روند را معکوس کند و توجه حیوان به رفتارهای درد افزایش یابد. حتی این ماده می‌تواند باعث پُردردی شود که نتایج مطالعه حاضر تأییدی بر این فرضیه است.

در تحقیق تروپ و همکاران نیز تزریق داخل هیپوتالاموسی اورکسین ۱ باعث افزایش وابسته به دوز رفتارهای تغذیه‌ای شد. همین طور محرومیت غذایی برای ۲۴ ساعت یا تغذیه حیوان با غذاهای کم کالری نیز باعث افزایش رفتارهای تغذیه‌ای شد. آن‌ها نیز احتمال دادند محرومیت غذایی از طریق افزایش فعالیت سیستم اورکسینرژیک باعث توجه حیوان به رفتارهای تغذیه‌ای شده و از رفتارهای درد غافل مانده و به دنبال آن بی‌دردی بروز کرده است.<sup>(۳۶،۳۵)</sup>

تحقیق‌ها نشان داده‌اند که سیستم اورکسین به طور مستقیم و غیرمستقیم (از طریق سیستم گلوتامینرژیک Basal forebrain) میزان آزاد شدن استیل کولین در قشر مغز را تنظیم می‌کند و از این طریق، ارتباط

محرومیت غذایی سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک (mRNA) اورکسین مغز را افزایش می‌دهد. مطالعه نواک و همکاران نشان داد که محرومیت غذایی بیش از ۴۸ ساعت باعث کاهش فعالیت‌های حرکتی حیوان و همزمان باعث افزایش سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین مغز می‌شود.<sup>(۲۹)</sup>

در تحقیق کارتریز و همکاران مشخص شد که محرومیت غذایی باعث افزایش ۵ برابری سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین مغز و گیرنده‌های مربوطه در هیپوتالاموس و کاهش سطح گیرنده‌های اورکسین غده فوق کلیوی می‌شود.<sup>(۳۰)</sup>

فوجیکی و همکاران نشان دادند که محرومیت غذایی بیش از ۲۴ ساعت باعث افزایش سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین A در مایع مغزی نخاعی در مرحله تاریکی (فعال بودن حیوان) می‌شود، ولی به تدریج که حیوان به مرحله روشنایی (استراحت) نزدیک می‌شود سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین A در مایع مغزی نخاعی شروع به کاهش می‌کند. این بدان معنی است که بین نواخت (Rhythm) شبانه‌روزی و هوموستاز انرژی از طریق سیستم اورکسین رابطه وجود دارد.<sup>(۳۱)</sup>

در تحقیق لویز و همکاران مشخص شد که محرومیت غذایی برای بیش از ۴۸ ساعت باعث افزایش سطح ریبونوکلئوتید اسید پیک اورکسین و گیرنده ۱ اورکسین در هیپوتالاموس موش صحرایی می‌شود و تزریق داخل بطنی ۱۰ میکروگرم لپتین می‌تواند از این افزایش جلوگیری کند.<sup>(۳۲)</sup>

تحقیق‌های تکمیلی نشان داده‌اند که افزایش اورکسین مغز (از طریق تزریق داخل بطنی یا تزریق داخل هیپوتالاموسی یا تحریک هیپوتالاموس جانبی) باعث بی‌دردی می‌شود.<sup>(۱۹-۲۴)</sup>

در یک مطالعه، تزریق گیرنده ۱ اورکسین در هیپوتالاموس پستی سبب کاهش پاسخ به تحریک دردزا در پوست صورت شد.<sup>(۳۳)</sup> تزریق داخل وریدی گیرنده ۱ اورکسین در موش سوری، در همه انواع مدل درد شامل

mediated enhancement of nociception in the female rat. *Neuroscience* 2003; 119 (1): 215-21

5. Holden JE, Naleway E. Microinjection of carbachol in the lateral hypothalamus produces opposing actions on nociception mediated by alpha(1)- and alpha(2)-adrenoceptors. *Brain Res* 2001; 911: 27-36

6. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998 Feb 20; 92 (4): 573-85

7. de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 Jan 6; 95 (1): 322-7

8. Ciriello J, McMurray JC, Babic T, de Oliveira CV. Collateral axonal projections from hypothalamic hypocretin neurons to cardiovascular sites in nucleus ambiguus and nucleus tractus solitarius. *Brain Res* 2003 Nov 21; 991 (1-2): 133-41

9. Date Y, Mondal MS, Matsukura S, Nakazato M. Distribution of orexin-A and orexin-B (hypocretins) in the rat spinal cord. *Neurosci Lett* 2000 Jul 14; 288 (2): 87-90

10. Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, et al. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Lett* 1998 Oct 30; 438 (1-2): 71-5

11. van den Pol AN. Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J Neurosci* 1999 Apr 15; 19 (8): 3171-82

12. Wolf G. Orexins: a newly discovered family of hypothalamic regulators of food intake. *Nutr Rev* 1998 Jun; 56 (6): 172-3

13. Sweet DC, Levine AS, Billington CJ, Kotz CM. Feeding response to central orexins. *Brain Res* 1999 Mar 13; 821 (2): 535-8

برانگیختگی و توجه را برقرار می سازد و برای ایجاد برانگیختگی و تنظیم متابولیسم انرژی به اورکسین نیاز است و فقدان آن موجب نارکولپسی و افزایش آن موجب برانگیختگی و افزایش مصرف غذا و رفتارهای تغذیه‌ای می‌شود.<sup>(۳۷)</sup>

در کل، این تحقیق نشان داد که محرومیت حاد غذایی باعث بی‌دردی می‌شود و تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین می‌تواند از این بی‌دردی جلوگیری کند. بنابراین سیستم اورکسین نیز در ایجاد این بی‌دردی نقش دارد و می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت سیستم اورکسین به دنبال بی‌غذایی باشد. افزایش فعالیت سیستم اورکسین، مشابه سیستم اوپیوئیدی، می‌تواند به طور مستقیم ایجاد بی‌دردی کند و به طور غیرمستقیم نیز از طریق افزایش رفتارهای تغذیه‌ای و کاهش رفتارهای درد، بی‌دردی ایجاد کند.

#### \* سپاس‌گزاری:

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت تأمین هزینه‌های این طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی تشکر می‌شود.

#### \* مراجع:

1. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 1965 Nov 19; 150 (3699): 971-9
2. Wylie LM, Gentle MJ. Feeding-induced tonic pain suppression in the chicken: reversal by naloxone. *Physiol Behav* 1998 Apr; 64 (1): 27-30
3. Jurcovicova J, Stancikova M, Svik K, et al. Stress of chronic food restriction attenuates the development of adjuvant arthritis in male Long Evans rats. *Clin Exp Rheumatol* 2001 Jul-Aug; 19 (4): 371-6
4. Khasar SG, Reichling DB, Green PG, et al. Fasting is a physiological stimulus of vagus-

14. Sakurai T. Roles of biologically active peptide in regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2003 Sep; 122 (3): 236-42
15. Collier DA. Orexins, sleep and arousal. *Mol Psychiatry* 2000 Jan; 5(1): 10
16. Siegel JM. Narcolepsy: a key role for hypocretins (orexins). *Cell* 1999 Aug 20; 98 (4): 409-12
17. Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, et al. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neurosci* 2003 Apr 15; 23 (8): 3106-11
18. Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, et al. Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties. *Pain* 2001 May; 92 (1-2): 81-90
19. Cheng JK, Chou RC, Hwang LL, Chiou LC. Antiallodynic effects of intrathecal orexins in a rat model of postoperative pain. *J Pharmacol Exp Ther* 2003 Dec; 307 (3): 1065-71
20. Yamamoto T, Nozaki-Taguchi N, Chiba T. Analgesic effect of intrathecally administered orexin-A in the rat formalin test and in the rat hot plate test. *Br J Pharmacol* 2002 Sep; 137 (2): 170-6
21. Suyama H, Kawamoto M, Shiraishi S, et al. Analgesic effect of intrathecal administration of orexin on neuropathic pain in rats. *In Vivo* 2004 Mar-Apr; 18 (2): 119-23
22. Azhdari Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, et al. Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain* 2011 Feb; 12 (2): 280-7
23. Azhdari Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y. Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin-induced nociceptive behaviors. *Physiology and Pharmacology*; 2008 Feb; 12 (3): 188-93 [In Persian]
24. Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, et al. Intra-paragiglan to cellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Res* 2012 Oct 10; 1478: 16-23
25. Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, et al. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim- and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2012 Aug; 103 (2): 299-307
26. Sofi-Abadi M, Heidari-Oranjaghi N, Ghasemi E, et al. Assesment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiology and Pharmacology [Article in Persian]* 2011 Aug; 12 (3): 188-93
27. Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Rahmani A, et al. Blockade of orexin receptor 1 attenuates the development of morphine tolerance and physical dependence in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2012 Aug 27; 103 (2): 212-9
28. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. New York: Academic Press; 2005. 15-20
29. Panula P. Hypocretin/orexin in fish physiology with emphasis on zebrafish. *Acta Physiol (Oxf)* 2010 Mar; 198 (3): 381-6
30. Karteris E, Machado RJ, Chen J, et al. Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signaling in rat hypothalamus and adrenal cortex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005 Jun; 288 (6): E1089-100
31. Fujiki N, Yoshida Y, Ripley B, et al.



Changes in CSF hypocretin-1 (orexin A) levels in rats across 24 hours and in response to food deprivation. *Neuroreport* 2001 Apr 17; 12 (5): 993-7

32. Lopez M, Seoane L, Garcia MC, et al. Leptin regulation of prepro-orexin and orexin receptor mRNA levels in the hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 Mar 5; 269 (1): 41-5

33. Bartsch T, Levy MJ, Knight YE, et al. Differential modulation of nociceptive dural input to [hypocretin] orexin A and B receptor activation in the posterior hypothalamic area. *Pain* 2004 Jun; 109 (3): 367-78

34. Mobarakeh JI, Takahashi K, Sakurada S, et al. Enhanced antinociception by intracerebroventricularly and intrathecally-

administered orexin A and B (hypocretin-1 and -2) in mice. *Peptides* 2005 May; 26 (5): 767-77

35. Thorpe AJ, Cleary JP, Levine AS, et al. Centrally administered orexin A increases motivation for sweet pellets in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2005 Oct; 182 (1): 75-83

36. Thorpe AJ, Teske JA, Kotz CM. Orexin A-induced feeding is augmented by caloric challenge. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005 Aug; 289 (2): R367-R372

37. Fadel J, Frederick-Duus D. Orexin/hypocretin modulation of the basal forebrain cholinergic system: Insights from in vivo microdialysis studies. *Pharmacol Biochem Behav* 2008 Aug; 90 (2): 156-62