

Effects of endogenous opioidergic system interaction with orexin on eating in rats

H. Azhdari-Zarmehri*

M. Sofiabadi**

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

** Associate Professor of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Abstract

Background: Lateral hypothalamus (LH) that produces orexin has a major role in energy homeostasis. Hypothalamic endogenous opioidergic system participates in the regulation of nutritional behaviors. There are several interactions between orexin and opioid systems.

Objective: The aim of this study was to determine the effects of endogenous opioidergic system interaction with orexin on eating in rats.

Methods: In this experimental study, 40 male rats were randomly divided into 5 equal groups: control, vehicle (saline), orexin A (30µg/rat), naloxone (30µg/rat) and naloxone and orexin A. Guide cannula was implanted by stereotaxy in the lateral ventricle of all rats. After drugs or vehicle injection into the lateral ventricle, each rat were placed into metabolic box individually and food intake, delay time for food consumption and number of approaches to food container were recorded and calculated up to 4 hours after injection. Data were analyzed using One-way ANOVA and Tukey's test.

Findings: Administration of orexin A increased food intake in rats. Naloxone administration 5 min prior to orexin A injection, decreased food consumption compared to the orexin A group.

Conclusion: With regards to the results, the opioidergic system may play a role in mediating the nutritional effects of Orexin.

Keywords: Orexins, Naloxone, Eating

Corresponding Address: Mohammad Sofiabadi, Department of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran

Email: mohasofi@yahoo.com

Tel: +98-281-3336001

Received: 7 Sep 2013

Accepted: 24 Nov 2013

اثر تداخل سیستم اویپوئیدرژیک درون‌زاد با اورکسین بر تغذیه در موش

دکتر محمد صوفی‌آبادی**

دکتر حسن اژدری زرمهری*

* استادیار فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

** دانشیار فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤل: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن ۰۲۸۱-۳۳۳۶۰۰۱

Email: mohasofi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۱۶

* چکیده

زمینه: هیپوتالاموس جانبی که تولیدکننده اورکسین است، نقش مهمی در هموستاز انرژی دارد. سیستم اویپوئیدرژیک درون‌زاد هیپوتالاموس در تنظیم رفتار تغذیه‌ای شرکت می‌کند و بین این دو تداخل‌های متعددی وجود دارد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر تداخل سیستم اویپوئیدرژیک درون‌زاد با اورکسین بر تغذیه در موش‌های صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند: شاهد، حلال (تزریق ۵ میکرولیتر سالین)، اورکسین A (۳۰ میکروگرم/موش)، نالوکسان (۳۰ میکروگرم/موش) و اورکسین A به همراه نالوکسان. کانول راهنما با روش استرنوتاکسی در بطن جانبی همه موش‌ها تعبیه شد. پس از تزریق داروها یا حلال در داخل بطن جانبی، هر حیوان به طور جداگانه به درون جعبه متابولیک منتقل و میزان مصرف غذا، مدت تأخیر در شروع تغذیه، تعداد مراجعه به ظرف غذا تا ۴ ساعت پس از تزریق ثبت و محاسبه شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه و توکی تحلیل شدند.

یافته‌ها: تجویز اورکسین A میزان مصرف غذا را در موش‌ها افزایش داد. تزریق نالوکسان ۵ دقیقه قبل از تجویز اورکسین A باعث کاهش مصرف غذا در مقایسه با گروه اورکسین A شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، احتمالاً سیستم اویپوئیدی نقش واسطه‌ای را در بروز اثر تغذیه‌ای اورکسین ایفا می‌کند.

کلیدواژه‌ها: اورکسین‌ها، نالوکسان، خوردن

* مقدمه

می‌تواند در کنترل و تنظیم تغذیه نقش داشته باشد.^(۱۳و۱۴) به عنوان مثال نشان داده شده است که تزریق مرفین سبب افزایش فعالیت نورون‌های دوپامینی نواحی مختلف مغز می‌شود. این نورون‌ها جزء اصلی مدار اصلی پاداش مغز هستند و لذا بر میزان مصرف غذا اثرگذار خواهند بود.^(۱۵) همچنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تحریک سیستم اویپوئیدی در موش صحرایی باعث افزایش مصرف غذا می‌شود و تزریق آنتاگونیست‌های آن، مصرف غذا را در موش صحرایی کاهش می‌دهد.^(۱۴-۱۶) گیرنده‌های اویپوئیدی در بسیاری از بخش‌های مرتبط با تغذیه مغز وجود دارند و باتوجه به گستردگی سیستم اویپوئیدی و

در دهه‌های اخیر تلاش پژوهش‌گران برای درک عوامل مؤثر بر اشتها و تغذیه و کنترل چاقی، فزونی یافته است. به خوبی شناخته شده است هیپوتالاموس جانبی (LH) که سلول‌های عصبی اورکسین در آن وجود دارد، نقش مهمی در مصرف مواد غذایی و هموستاز انرژی دارند و تزریق داخل بطنی اورکسین موجب افزایش مصرف غذا در موش می‌شود.^(۱-۶) همچنین اورکسین در عملکردهای دیگری از قبیل پردازش درد، تنش و تحمل اویپوئیدها نقش دارد.^(۷-۱۲) از طرف دیگر، سیستم اویپوئیدی بر بسیاری از بخش‌های بدن از جمله سیستم عصبی، اعمال درون‌ریز و لوله گوارش اثرگذار است و بنابراین

قزوین انجام شد. از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به ۵ گروه تقسیم شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. طول دوره روشنایی و تاریکی هر کدام ۱۲ ساعت بود. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: شاهد (بدون تزریق)، حلال (تزریق ۵ میکرولیتر سالین)، تزریق ۳۰ میکروگرم اورکسین A، تزریق ۳۰ میکروگرم نالوکسان و گروه تزریق نالوکسان به همراه تزریق اورکسین A، ۵ دقیقه بعد.

ابتدا کانول راهنمای تزریق در بطن جانبی راست تعبیه گردید. بدین صورت که موش پس از بی‌هوشی، در دستگاه استرئوتاکسی مستقر و با توجه به اطلس پاکسینوس کانول راهنما به اندازه ۱/۸ میلی‌متر در درون مغز مستقر و در روی جمجمه آن‌ها ثابت شد. بعد از یک هفته دوره بهبودی، موش‌ها ۱۲ ساعت قبل از کار به محل آزمایش منتقل و در این مدت از غذا محروم می‌شدند. لازم به ذکر است که موش‌ها قبل از شروع آزمون با ترازوی دقیق توزین و دارو به صورت داخل بطنی به آن‌ها تزریق می‌شد. سپس هر موش جداگانه به درون جعبه متابولیک گذاشته می‌شد که حاوی ظرف غذای توزین شده بود. ۴ ساعت پس از تزریق، میزان مصرف غذا، مدت تأخیر در شروع تغذیه، تعداد مراجعه به ظرف غذا و وزن حیوان قبل و بعد از تغذیه محاسبه می‌شد.

داده‌ها با آزمون‌های آنوای یک طرفه و توکی تحلیل و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان حد معنی‌دار تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

* یافته‌ها:

تزریق اورکسین مانع از کاهش وزن موش‌ها در شرایط آزمایش شد ($P < 0/01$)، ولی استفاده از نالوکسان از بروز این اثر اورکسین جلوگیری کرد. همچنین اورکسین سبب افزایش مصرف غذا در موش‌های صحرایی ۴ ساعت بعد از تزریق شد ($P < 0/05$)، ولی

پراکندگی گیرنده‌های آن در مغز، تأثیر اوبیوئیدها بر عمل تغذیه می‌تواند چندگانه باشد.^(۱۷) اورکسین (هیپوکرتین) که در بیش‌تر مهره‌داران یافت می‌شود، ناقل عصبی نوروپپتیدی است که به طور عمده در هیپوتالاموس وجود دارد.^(۱۸) با این حال، آکسون این نورون‌ها در سراسر مغز و نخاع گسترش یافته و دو نوع گیرنده برای اورکسین شناسایی شده است. اورکسین A با میل ترکیبی برابر، به دو گیرنده OXR1 و OXR2 اتصال می‌یابد.^(۱۸) اورکسین A در تنظیم عملکردهای گوناگون بدن از قبیل تنظیم فعالیت قلب و عروق، بی‌دردی، نوراندوکراین، خواب و بیداری، پاداش و اعتیاد درگیر است.^(۱۹) همچنین اورکسین اشتها را تحریک می‌کند و در هموستاز و مصرف انرژی نقش دارد.^(۴-۶) هیپوتالاموس (مرکز اصلی دخیل در اعمال مهم مغزی از جمله رفتار تغذیه‌ای) خاستگاه اصلی سیستم اورکسینی است و اورکسین A هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای در رفتار تغذیه‌ای دارد.^(۲۱-۲۳) ارتباط وسیعی بین اورکسین و اوبیوئیدها وجود دارد و مطالعه‌ها نشان داده‌اند که اورکسین میزان ترجیح مکانی شرطی شده مرفین را افزایش می‌دهد. همچنین بیان عامل رونویسی موسوم به c-Fos در نورون‌های اورکسینی به هنگام ترجیح مکانی مرفین و غذا تغییر می‌کند.^(۲۴-۲۶) گیرنده مو به مقدار زیادی در هیپوتالاموس جانبی وجود دارد. بنابراین نورون‌های اورکسینی تحت تأثیر مرفین قرار می‌گیرند و به آن پاسخ می‌دهند.^(۲۶) همچنین مشاهده شده است که در شرایط وابستگی به مرفین و سندرم ترک، پری پرو- اورکسین در موش‌های حذف شده ژنی کاهش می‌یابد.^(۲۶) کنترل تغذیه پدیده پیچیده‌ای است و به نظر می‌رسد دو سیستم اورکسینی و اوبیوئیدی در تنظیم میزان مصرف غذا با هم تداخل داشته باشند، لذا این مطالعه با هدف تعیین اثر تداخل سیستم اوبیوئیدرژیک درون‌زاد با اورکسین بر تغذیه در موش‌های صحرایی انجام شد.

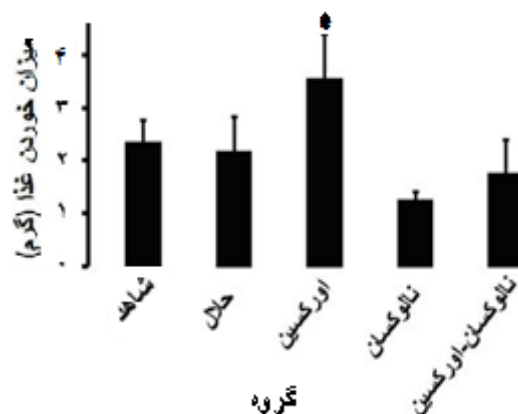
* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه علوم پزشکی

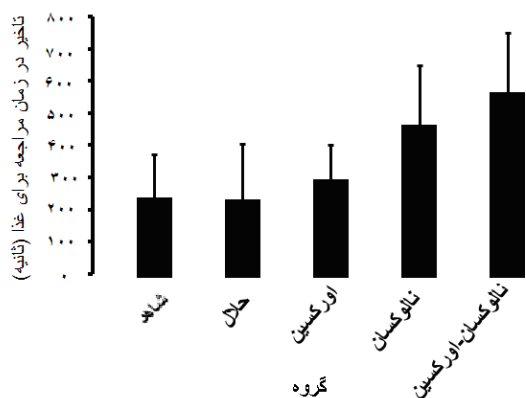
استفاده از نالوکسان از افزایش مصرف غذا به وسیله اورکسین جلوگیری کرد (نمودار شماره ۱).

شروع تغذیه شد که تفاوت پاسخها از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۳).

نمودار ۱- مقایسه میزان مصرف غذا در گروه‌های مختلف ۴ ساعت بعد از تزریق

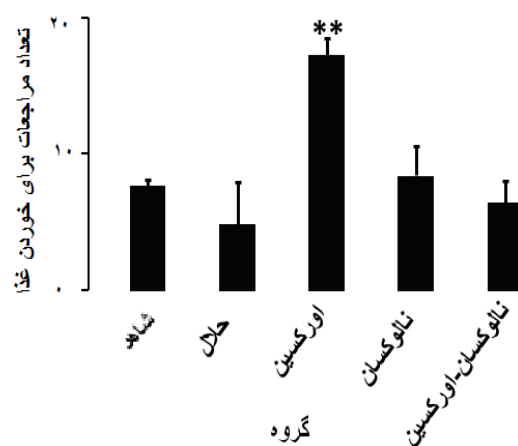


نمودار ۳- مقایسه تأثیر تزریق اورکسین بر تأخیر مصرف غذا در گروه‌های مختلف



اورکسین سبب افزایش تعداد مراجعه به ظرف غذا شد ($P < 0.01$) که نالوکسان این اثر اورکسین را تضعیف کرد (نمودار شماره ۲).

نمودار ۲- مقایسه تعداد مراجعه به ظرف غذا در گروه‌های مختلف ۴ ساعت بعد از آزمون



تزریق اورکسین تأثیری بر سرعت شروع تغذیه نداشت ولی استفاده از نالوکسان سبب افزایش زمان تأخیر

* بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد اورکسین موجب افزایش مصرف غذا در موش‌های صحرایی شد و تزریق نالوکسان، این اثر اورکسین را سرکوب کرد. نتایج مطالعه حاضر بر تأثیرپذیری نورون‌های اورکسین از سیستم اوپیوئیدی درون‌زاد تأکید می‌کند. گزارش‌ها نشان داده‌اند اورکسین در تعیین میزان مصرف غذا و تنظیم انرژی بدن نقش اساسی دارد.^(۲۸,۲۷) البته اورکسین A تنها در مناطق خاصی از هیپوتالاموس مؤثر است و اورکسین B در این زمینه فاقد اثر می‌باشد.^(۲۱) همچنین تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب کاهش تغذیه پایه و مهار افزایش وزن می‌شود.^(۲۹) به علاوه اورکسین بیان c-FOS را در مناطق درگیر در تنظیم انرژی مغز از جمله هیپوتالاموس افزایش می‌دهد.^(۳۰) مطالعه‌های جدید نشان داده‌اند که نورون‌های اورکسین قادر به نظارت بر شاخص‌های تعادل انرژی هستند و تغییر در غلظت قند خون سبب تغییرات الکتریکی این نورون‌ها می‌شود.^(۳۱) در همین زمینه گزارش شده است که بیان ژن اورکسین با سطح گلوکز

* **مراجع:**

1. Hettes SR, Gonzaga WJ, Heyming TW, et al. Stimulation of lateral hypothalamic AMPA receptors may induce feeding in rats. *Brain Res* 2010 Jul 30; 1346: 112-20
2. Okumura T, Nozu T. Role of brain orexin in the pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *J Gastroenterol Hepatol* 2011 Apr; 26 Suppl 3: 61-6
3. Wise RA. Dual roles of dopamine in food and drug seeking: the drive-reward paradox. *Biol Psychiatry* 2013 May 1; 73 (9): 819-26
4. Cason AM, Smith RJ, Tahsili-Fahadan P, et al. Role of orexin/hypocretin in reward-seeking and addiction: implications for obesity. *Physiol Behav* 2010 Jul 14; 100 (5): 419-28
5. Tsujino N, Sakurai T. Role of orexin in modulating arousal, feeding, and motivation. *Front Behav Neurosci* 2013 Apr 18; 7: 28
6. Sakurai T. Roles of orexin/hypocretin in regulation of sleep/wakefulness and energy homeostasis. *Sleep Med Rev* 2005 Aug; 9 (4): 231-41
7. Azhdari-Zarmehri H, Reisi Z, Vaziri A, et al. Involvement of orexin-2 receptors in the ventral tegmental area and nucleus accumbens in the antinociception induced by the lateral hypothalamus stimulation in rats. *Peptides* 2013 Sep; 47: 94-8
8. Azhdari-Zarmehri H, Esmaeili MH, Sofiabadi M, et al. Orexin receptor type-1 antagonist SB-334867 decreases morphine-induced antinociceptive effect in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2013 Nov; 112: 64-70
9. 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 Dec; 103 (2): 212-9

پلازما تنظیم می‌شود. این پدیده برای رمزگذاری تغییرات سطح گلوکز که به طور طبیعی در بین وعده‌های غذایی عادی اتفاق می‌افتد، با ارزش است.^(۴-۶)

مطالعه حاضر نقش سیستم اوبیوئیدی درون‌زاد را بر فعالیت نورون‌های اورکسینی نشان داد. این نتایج با یافته مطالعه‌های مشابه همخوانی دارد؛ برای مثال، گزارش شده است که تزریق مرفین به داخل هیپوتالاموس جانبی سبب افزایش تغذیه می‌شود.^(۱-۳) با توجه به وجود گیرنده‌های ۱ا اوبیوئیدی در سلول‌های اورکسینی، شاید بتوان گفت که مهار این گیرنده‌ها بر مکانیسم عمل نورون‌های هیپوتالاموسی حساس به مرفین اثر منفی خواهد داشت.^(۳۲) در همین زمینه، نشان داده شده است که در تمام سلول‌های اورکسینی که گیرنده ۱ا بیان می‌شود و تجویز مرفین به شکل مزمن موجب تغییر در شکل‌پذیری نورون‌های اورکسینی می‌شود.^(۳۲) علاوه بر اثر مستقیم تداخلی دو سیستم اورکسینی و اوبیوئیدی، این دو می‌توانند در سطح سیستم دوپامینی مغز (که بر تغذیه هم اثرگذار است) تداخل کنند.^(۲۵،۲۴) دلایل زیادی وجود دارد که مرفین چرخه زیستی دوپامین را در نقاط متعددی از مغز افزایش می‌دهد و اورکسین نیز بر مسیر پاداش دوپامین مؤثر است.^(۲۵،۲۴) لذا مصرف آنتاگونیست اوبیوئیدی می‌تواند با کاهش فعالیت سیستم دوپامینرژیک مغز، بر میزان تغذیه ناشی از اورکسین اثر منفی داشته باشد.

به طور کلی، مطالعه حاضر نقش سیستم اوبیوئیدی درون‌زاد را در بروز اثر تحریکی اورکسین بر تغذیه نشان داد. احتمال می‌رود سیستم اوبیوئیدرژیک درون‌زاد یکی از مسیرهای اثرگذاری اورکسین بر رفتار تغذیه‌ای حیوان‌ها باشد.

* **سپاس‌گزاری:**

از شورای پژوهشی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی قدردانی می‌شود.

10. Erami E, Azhdari- Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, et al. Intra-paragigantocellularis 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
11. Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Haghparast A. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim- and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2012 Dec; 103 (2): 299-307
12. Sadeghi S, Reisi Z, Azhdari-Zarmehri H, Haghparast A. Involvement of orexin-1 receptors in the ventral tegmental area and the nucleus accumbens in antinociception induced by lateral hypothalamus stimulation in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2013 Apr; 105: 193-8
13. Nicklous DM, Simansky KJ. Neuropeptide FF exerts pro- and anti-opioid actions in the parabrachial nucleus to modulate food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003 Nov; 285 (5): R1046-54
14. Olson VG, Green TA, Neve RL, Nestler EJ. Regulation of morphine reward and feeding by CREB in the lateral hypothalamus. *Synapse* 2007 Feb; 61 (2): 110-3
15. Sharf R, Sarhan M, Dileone RJ. Orexin mediates the expression of precipitated morphine withdrawal and concurrent activation of the nucleus accumbens shell. *Biol Psychiatry* 2008 Aug 1; 64 (3): 175-83
16. Sofiabadi M, Esmaeili MH, Haghdoost Yazdy H, et al. Effect of chronic administration of morphine on male rats' feeding behavior. *SJIUMS* 2010; 4 (18): 20-6 [In Persian]
17. Lee J, Parish CL, Tomas D, Horne MK. Chronic cocaine administration reduces striatal dopamine terminal density and striatal dopamine release which leads to drug-seeking behavior. *Neuroscience* 2011 Feb 3; 174: 143-50
18. Xu TR, Yang Y, Ward R, et al. Orexin receptors: Multi-functional therapeutic targets for sleeping disorders, eating disorders, drug addiction, cancers and other physiological disorders. *Cell Signal* 2013 Dec; 25 (12): 2413-23
19. Azhdari-Zarmehri H, Semnianian 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; 12 (3): 188-93
20. Sofiabadi M, Heidari-Oranjaghi N, Ghasemi E, Esmaeili MH, Haghdoost-Yazdi H, Erami E, et al. Assessment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiology and Pharmacology* 2011; 12 (3): 188-93
21. Jiménez A, Caba M, Escobar C. Food-entrained patterns in orexin cells reveal subregion differential activation. *Brain Res* 2013 Jun 4; 1513: 41-50
22. Barson JR, Morganstern I, Leibowitz SF. Complementary roles of orexin and melanin-concentrating hormone in feeding behavior. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 983964
23. Van Wielendaele P, Dillen S, Zels S, et al. Regulation of feeding by Neuropeptide F in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem Mol Biol* 2013 Jan; 43 (1): 102-14
24. Aston-Jones G, Smith RJ, Moorman DE, Richardson KA. Role of lateral hypothalamic orexin neurons in reward processing and addiction. *Neuropharmacology* 2009; 56 Suppl 1: 112-21
25. Aston-Jones G, Smith RJ, Sartor GC, et al.

- Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. *Brain Res* 2010 Feb; 1314: 74-90
26. Laorden ML, Ferenczi S, Pintér-Kübler B, et al. Hypothalamic orexin-a neurons are involved in the response of the brain stress system to morphine withdrawal. *PLoS One* 2012; 7 (5): e36871
27. Lebold TP, Bonaventure P, Shireman BT. Selective orexin receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2013 Sep 1; 23 (17): 4761-9
28. Nair SG, Golden SA, Shaham Y. Differential effects of the hypocretin 1 receptor antagonist SB 334867 on high-fat food self-administration and reinstatement of food seeking in rats. *Br J Pharmacol* 2008 May; 154 (2): 406-16
29. Jupp B, Krivdic B, Krstew E, Lawrence AJ. The orexin₁ receptor antagonist SB-334867 dissociates the motivational properties of alcohol and sucrose in rats. *Brain Res* 2011 May 19; 1391: 54-9
30. Burdakov D, Karnani MM, Gonzalez A. Lateral hypothalamus as a sensor-regulator in respiratory and metabolic control. *Physiol Behav* 2013 Sep 10; 121: 117-24
31. Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, et al. Decreased intake of sucrose solutions in orexin knockout mice. *J Mol Neurosci* 2011 Feb; 43 (2): 217-24
32. Piccoli L, Micioni Di Bonaventura MV, Cifani C, et al. Role of orexin-1 receptor mechanisms on compulsive food consumption in a model of binge eating in female rats. *Neuropsychopharmacology* 2012 Aug; 37 (9): 1999-2011