مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۵، شمـاره‌ی ۱۰۹، خـرداد و تیر ۱۳۹۶، صفـحات ۱ تا ۱۰

بررسی دخالت گیرنده‌ی ۱ اورکسین در محرومیت غذایی حاد روی رفتارهای دردی ناشی از آزمون صفحه‌ی داغ در موش بزرگ آزمایشگاهی نر

نیما حیدری اورنجقی[۱]، دکتر حسن اژدری زرمهری[۲]، المیرا قاسمی داشکسن[۳]، دکتر مهین گنج‌خانی[٤]

نویسنده‌ی مسئول: گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان ghanjkhani@zums.ac.ir

دریافت: ۹۵/۲/۴ پذیرش: ۹۵/۶/۱

چکیده

زمینه و هدف: *محرومیت از غذا باعث افزایش بیان ژن گیرنده‌ی ۱ اورکسین در هیپوتالاموس می‌شود. از سوی دیگر محرومیت حاد از غذا منجر به بی‌دردی شده و اورکسین هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای در تعدیل درد دارد. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین اثـر آنتاگونیـست گیرنـده‌ی ۱ اورکسین بر بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی حاد (۱۲ ساعته) در موش بزرگ آزمایشگاهی نر توسط آزمون صفحه داغ انجام شد.*

روش بررسی: *موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به ۵ گروه هشت تایی شامل: گروه‌های کنترل، محرومیت غذایی بـدون جراحـی و گـروه‌هـای تحت جراحی استریوتاکسی شامل گروه حلال، محرومیت غذایی و حلال، محرومیت غذایی و انتاگونیـست گیرنـده‌ی اورکـسین تقـسیم شـدند. ۱۲ ساعت قبل از آزمون، غذا از دسترس حیوانات گروه‌های محرومیت غذایی خارج شد اما آب به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار داشت. تمامی گروه‌ها تحت آزمایش با صفحه داغ قرار گرفتند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمـون آمـاری* ***one-way ANOVA*** *بـا تـست تعقیبـی* ***Tukey*** *استفاده گردید.*

یافته‌ها: *مطابق نتـایج ایـن تحقیـق، تزریـق آنتاگونیـست گیرنـده‌ی ۱ اورکـسین بـروز رفتارهـای دردی در آزمـون صـفحه داغ را در زمـان‌هـای ۵ (P<۰/۰۵)، ۱۵ (P<۰/۰۵)، ۳۰ (P<۰/۰۱)، و ۶۰ (P<۰/۰۰۱) دقیقه افزایش داد.*

نتیجه‌گیری: *اورکسین در تعدیل درد ناشی از اثر محرومیت غذایی نقش دارد براساس نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که تغییر رفتارهـای دردی در جوندگان به دنبال محرومت غذایی می‌تواند مربوط به افزایش میزان اورکسین یا افزایش بیان ژن گیرنده‌ی۱ اورکسین باشد.*

واژگان کلیدی: ***محرومیت غذایی، اورکسین، SB-334867، آزمون صفحه داغ، موش صحرایی***

مقدمه

تعدیل درد در زمان غذا خوردن و محرومیت از غـذا در برخی مطالعه‌ها بررسی شده است (۳-۱). اگرچه نقش ماده‌ی خاکستری دور قنات مغزی و قسمت سری شکمی میانی پیاز مغـز در تعـدیل درد بـه‌طـور کامـل مـشخص نـشده اسـت، ولی ورودی‌های آمیگدال و هیپوتالاموس به این منـاطق حـائز اهمیت می‌باشند (٤). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که طیف وسیعی از شرایط محیطی از جمله تنش، محرومیت از غـذا و آب قـادر بـه ایجـاد بـی‌دردی هـستند ولـی مکانیـسم ایجـاد

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۲- دکترای فیزیولوژی، استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
٤- دکترای فیزیولوژی، دانشیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

این بی‌دردی هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. اورکسین A و اورکسین B دو پپتید هیپوتالاموسی هستند که در قسمت پهلویی هیپوتالاموس یافت می‌شوند. این دو نوع اورکسین بر روی دو نوع گیرنده‌ی جفت شونده با G پروتئین به نام گیرنده‌ی ۱ و گیرنده‌ی ۲ اورکسین عمل می‌کنند (٦و ٥). نورون‌ها و فیبرهای اورکسینی در مناطق مغزی موثر در تعدیل درد از جمله هیپوتالاموس، هیپوکامپ، شاخ پشتی نخاع، تشکیلات مشبک، لوکوس سرولئوس، قسمت میانی و جانبی رافه، قسمت سری شکمی میانی پیاز مغز و ماده‌ی خاکستری دور قنات مغزی یافت شده‌اند (۱۰-۷). نقش اورکسین در تنظیم عملکردهای بدنی و مغزی گوناگون از قبیل تغذیه، هموستاز انرژی، هوشیاری، نوراندوکرین، قلب و عروق، خواب، حرکت، مهار تون عضله، پاداش و اعتیاد به خوبی شناخته شده است (۱۵-۱۱). برخی گزارشات حاکی از آن است که اورکسین A باعث بی‌دردی در آزمون صفحه‌ی داغ و انواع مختلف مدل‌های درد التهابی می‌شود (۲۳-۱٦). همچنین اورکسین A در بی‌دردی ناشی از تنش نقش دارد و آنتاگونیزه کردن آن، جلوی تحمل و وابستگی به مرفین را می‌گیرد (۲٦-۲٤). از طرفی مشخص شده است که هیپوتالاموس جانبی در بی‌دردی، تعدیل درد و همچنین در اعمال دیگر مغز از جمله حالت‌های تغذیه‌ای دخیل است (۲۸و ۲۷). محرومیت از غذا باعث افزایش میزان اورکسین، افزایش بیان ژن گیرنده‌ی اورکسین ۱ و سیگنالینگ در هیپوتالاموس می‌شود (۲۹). از سوی دیگر محرومیت از غذا باعث بی‌دردی نیز می‌شود و اورکسین هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای در تعدیل درد دارد (۳۱و ۳۰). بدین ترتیب با توجه به اینکه نقش هیپوتالاموس جانبی در بی‌دردی و تعدیل درد شناخته شده و از سوی دیگر هیپوتالاموس جانبی در اعمال دیگر مغزی از جمله حالت‌های تغذیه‌ای نیز نقش دارد و از طرفی اورکسین هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای در تعدادی از این حالات دارد و در زمان محرومیت از غذا مقدارش افزایش پیدا می‌کند، بنابراین ممکن است اورکسین در تعدیل درد در بعضی حالات تغذیه‌ای از جمله محرومیت غذایی حاد نقش داشته باشد. مطالعه‌ی حاضر به منظور تعیین نوع گیرنده‌ی آن با استفاده از آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین (SB-334867) و بررسی اثر آن بر بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی ۱۲ ساعته در موش آزمایشگاهی توسط آزمون صفحه‌ی داغ انجام شده است.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی بعد از تصویب در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زنجان با کد (ZUMS.REC.1393.40)، ٤٠ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و در ۵ گروه مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و به آب و غذای مناسب دسترسی داشتند. به‌طور کلی نحوه‌ی نگهداری، بیهوشی و در نهایت از بین بردن حیوانات براساس پروتکل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد، به‌طوری که آزار و اذیتی را متحمل نشوند.

روش جراحی و کانول گذاری: تزریق دارو درگروه‌های مختلف به روش ریز تزریق انجام گردید. بدین منظور، کانول راهنما در بطن چپ تعبیه شد و حیوان پس از بیهوش شدن (کتامین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در دستگاه استرئوتاکسی مستقر گردید و پوست ناحیه‌ی سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما ولامبدا شناسایی شده و بر اساس مختصات ذکرشده در اطلس پاکسینوس، نواحی سطح جمجمه مربوط به بطن جانبی راست (AP:-.9, L:2, H:4.3) مشخص شد. بعد از علامت گذاری نقطه‌ی مورد نظر، منفذی با استفاده از مته‌های دندان پزشکی

به اندازه‌ی قطر کانول راهنما (ساخته شده از سرسرنگ نمره‌ی ۲۳) ایجاد شد و کانول راهنما به اندازه‌ی مشخص در درون مغز مستقر و قسمت رویی آن در روی جمجمه به وسیله‌ی سیمان دندان پزشکی ثابت گردید. یک پیچ کوچک در استخوان جمجمه تعبیه و با سیمان دندان پزشکی پوشیده شد. این پیچ در حکم مسلح سازی سیمان بود و از جدا شدن کانول راهنما از سطح جمجمه جلوگیری می‌نمود. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به وسیله‌ی درپوش خاصی مسدود شده و فقط در زمان‌های تزریق دارو برداشته شد. بعد از اتمام جراحی و طی دوره بهبودی به مدت یک هفته، از تزریق یک کانول نازکتر که معمولا از سوزن نمره‌ی ۳۰ بوده، به طوری که ۲ میلی‌متر درازتر از کانول راهنما باشد، استفاده شد که از یک طرف به یک لوله‌ی نازک پلی‌اتیلن وصل گردید. سر دیگر لوله پلی‌اتیلن به سیستم تزریق (سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتر) وصل شد و مقدار مشخص (۵ میکرولیتر) حجم ماده‌ی تزریقی در قسمت نوک کانول تزریق وارد گردید. حرکت حباب کوچک در طول لوله پلی اتیلن نشانه‌ی تزریق صحیح بود. بعد از بیرون آوردن کانول تزریق، بیرون آمدن مقداری مایع مغزی نخاعی از نوک کانول راهنما، تایید بر قرار داشتن کانول تزریق در بطن بود. در پایان آزمایشات، موش‌ها به‌طور عمیق بیهوش شده و تحت عمل ترانس کاردیال قرار گرفتند. رنگ پنتامین اسکای بلو ۰/۲ درصد به حجم ۵ میکرولیتر به محل تزریق شده و بعد از خارج کردن مغز، برش‌های بافتی کرونال گرفته شد. در این بررسی، داده‌های حاصل از نمونه‌هایی که محل تزریق آنها درست نبود، از آزمایش حذف شدند.

روش انجام محرومیت از غذا: قبل از شروع آزمایش، حیوانات آزمایشگاهی به آب و غذا دسترسی کامل داشتند. در مدل ایجاد محرومیت حاد، حیوانات آزمایشگاهی به مدت ۱۲ ساعت از غذا به طور کامل محروم شدند، ولی به آب دسترسی آزاد داشتند (۳۱).

روش آماده کردن و تجویز دارو: آنتاگونیست گیرنده‌ی اورکسین ۱ (SB-334867) خریداری شده از شرکت سیگما آلدریچ (CAS 792173-99-0) در محلول DMSO با غلظت ۱۰ میلی‌مول حل شده و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. در روز آزمایش با محلول نرمال سالین استریل قابل تزریق رقیق و آماده گردید. برای گروه حلال از محلول ۰/۰۱ درصد DMSO محلول در نرمال سالین استریل قابل تزریق استفاده می‌شد. حداکثر غلظت استفاده از DMSO در این آزمایش ۰/۰۱ درصد بود.

داروها در روز آزمایش، با استفاده از سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری و لوله پلی‌اتیلن (PE-100) با کانول تزریق نمره ۳۰ و به حجم ۵ میکرولیتر از طریق کانول راهنمای تعبیه شده با استریوتاکس در طی یک دقیقه، تزریق شدند. زمان تزریق داروها، ۵ دقیقه قبل از انجام آزمون صفحه‌ی داغ بود.

روش انجام آزمون صفحه‌ی داغ یا Hot-Plate: در این آزمون، موش درون محفظه استوانه شکل با جداره‌ی مرئی و بر روی صفحه‌ی فلزی سیاه رنگ قابل گرم شدن قرار داده شد. در زمان انجام آزمایش، پس از روشن کردن دستگاه، دما در ۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم گردید. موش بعد از احساس درد ناشی از داغی، پای خود را از روی صفحه برداشته یا می‌پرید که به محض پریدن کلید stop توسط پژوهشگر فشرده شده و زمان متوقف می‌شد. این آزمون قبل از تزریق دارو دو بار به فاصله ۱۵ دقیقه، و سپس در زمان‌های ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق دارو انجام می‌شد. حداکثر زمان ماندن حیوان روی صفحه‌ی داغ ۵۰ ثانیه بود که اگر حیوان در این مدت عکس العملی نشان نمی داد، برداشته می‌شد (۳۲). تمام آزمایشات توسط یک پژوهشگر و به روش کورسازی انجام گردید (جدول ۱).

جدول ۱: انواع تیمارهای انجام شده بر روی موش‌ها

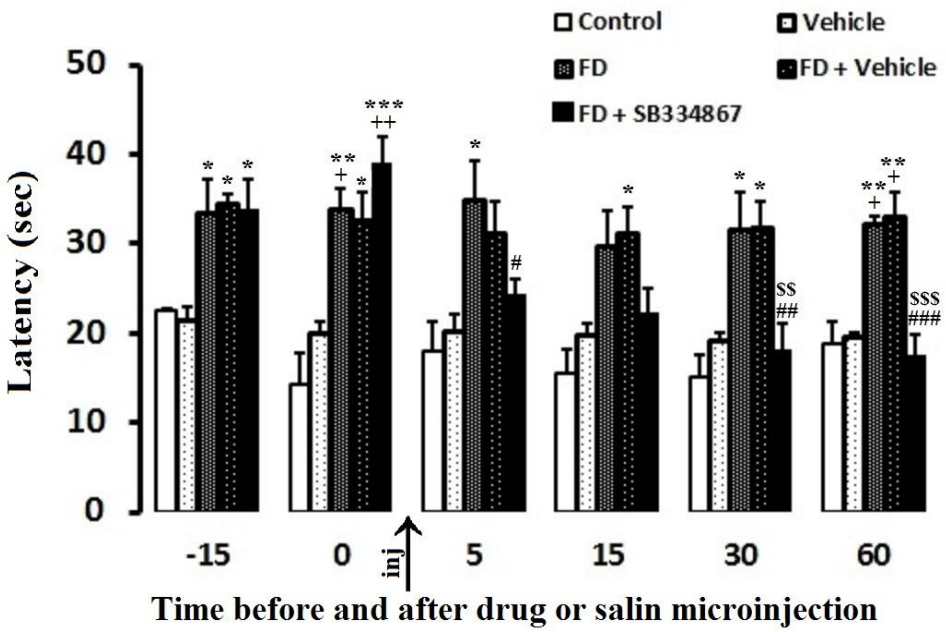
گروه‌ها (۸ سر)	نوع تیمار
کنترل	آزمون صفحه داغ
حلال (vehicle)	تزریق حلال µl ۵ داخل بطن جانبی- آزمون صفحه داغ
محرومیت غذایی (FD)	محرومیت غذایی حاد (۱۲ ساعت)- آزمون صفحه داغ
حلال- محرومیت غذایی (FD + Vehicle)	محرومیت غذایی حاد (۱۲ ساعت)- تزریق حلال µl ۵ داخل بطن جانبی- آزمون صفحه داغ
آنتاگونیست اورکسین - محرومیت غذایی (FD + SB-334867)	محرومیت غذایی حاد (۱۲ ساعت)- تزریق SB-334867 µl ۵ داخل بطن جانبی- آزمون صفحه داغ

روش تجزیه و تحلیل آماری: پس از وارد کردن اطلاعات در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) برای مقایسه‌ی گروه‌ها از آزمون آماری ANOVA One-way با تست تعقیبی Tukey استفاده گردید. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SEM) نشان داده شد و مقادیر P< ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار تلقی گردید.

یافته‌ها

نمودار۱ زمان بی‌دردی با استفاده از آزمون صفحه‌ی داغ، قبل و بعد از تزریق دارو یا حلال را در گروه‌های آزمایشی مختلف نشان می‌دهد. در زمان‌های ۰ و ۱۵ دقیقه قبل از تزریق دارو یا حلال، اختلاف معناداری (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۱) بین گروه‌هایی که تحت محرومیت غذایی حاد قرار گرفته بودند با گروه‌هایی که تحت محرومیت غذایی حاد قرار نگرفته بودند (کنترل و حلال) وجود داشت که نشان می‌دهد محرومیت غذایی حاد باعث بی‌دردی موش‌ها در آزمون صفحه‌ی داغ شده است. در این زمان‌ها بین گروه‌های کنترل و حلال اختلاف معنادار وجود نداشت و این امر مشخص کننده‌ی این است که تزریق داخل بطنی نرمال سالین اثری بر روی رفتارهای دردی در آزمون صفحه‌ی داغ ندارد. در زمان ۵ دقیقه پس از تزریق دارو یا حلال اختلاف معناداری (P<۰/۰۵) بین گروه محرومیت غذایی و گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین وجود داشت، لذا نشان دهنده‌ی این است که آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین جلوی بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی را گرفته است و آن را به سطح گروه کنترل رسانده است، چون اختلاف معناداری بین گروه کنترل و گروه محرومیت غذایی دریافت کننده آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین دیده نشد. در زمان ۱۵ دقیقه پس از تزریق نیز اختلاف معنادار (P<۰/۰۵) بین گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی حلال با گروه محرومیت غذایی دریافت کننده آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین دیده شد. در زمان ۳۰ دقیقه پس از تزریق اختلاف معنادار (P<۰/۰۱) بین گروه محرومیت غذایی با گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین دیده شد که در این زمان اختلاف معناداری بین گروه کنترل و گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین دیده نشد، پس نشان دهنده‌ی این است که آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین جلوی بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی را گرفته است و آن را به سطح گروه کنترل رسانده است. در زمان ۶۰

دقیقه پس از تزریق اختلاف بسیار معناداری (P<۰/۰۰۱) بین گروه محرومیت غذایی با گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین دیده شد که در این زمان نیز اختلاف معناداری بین گروه کنترل و گروه محرومیت غذایی دریافت کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین وجود نداشت، لذا نشان دهنده‌ی این است که آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین جلوی بی‌دردی ناشی از محرومیت غذایی را گرفته و آن را به سطح گروه کنترل رسانده است.



نمودار ۱: مقایسه‌ی زمان بی‌دردی با استفاده از آزمون صفحه‌ی داغ در گروه‌های آزمایشی کنترل (Control)، حلال (Vehicle)، محرومیت غذایی (FD)، محرومیت غذایی با دریافت حلال (FD + Vehicle)، محرومیت غذایی با دریافت آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین (FD + SB-334867). ۱۵: پانزده دقیقه قبل از تزریق (دارو یا حلال)، صفر: لحظاتی قبل از تزریق، ۵: پنج دقیقه پس از تزریق، ۱۵: پانزده دقیقه پس از تزریق، ۳۰: سی دقیقه پس از تزریق، ۶۰: شصت دقیقه پس از تزریق. + P<۰/۰۵ اختلاف معنادار با گروه کنترل، ++ P<۰/۰۱ اختلاف معنادار با گروه کنترل، * P<۰/۰۵ اختلاف معنادار با گروه حلال، ** P<۰/۰۱ اختلاف معنادار با گروه حلال، *** P<۰/۰۰۱ اختلاف معنادار با گروه حلال، # P<۰/۰۵ اختلاف معنادار با گروه FD، ## P<۰/۰۱ اختلاف معنادار با گروه FD ، ### P<۰/۰۰۱ اختلاف معنادار با گروه FD، $$ P<۰/۰۱ اختلاف معنادار با گروه FD+Vehicle ، $$$ P<۰/۰۰۱ اختلاف معنادار با گروه FD+Vehicle.

بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که محرومیت غذایی حاد سبب ایجاد بی‌دردی در آزمون صفحه‌ی داغ می شود که این بی‌دردی توسط آنتاگونیست گیرنده‌ی ۱ اورکسین تعدیل می‌گردد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که محرومیت از غذا باعث افزایش میزان اورکسین، افزایش میزان بیان ژن گیرنده‌ی اورکسین نوع A و سیگنالینگ در هیپوتالاموس می‌شود (۳۳و ۲۹). مطالعه‌ی قبلی ما نشان داد که محرومیت غذایی حاد ۱۲ ساعته می‌تواند اثر بی‌دردی قابل توجهی در آزمون فرمالین داشته باشد (۳۱). از طرفی مطالعات متعددی نقش

اورکسین در بی‌دردی را مورد مطالعه قرار داده‌اند به‌طوری که تزریق داخل وریدی و نه زیر جلدی اورکسین نوع A سبب بی‌دردی در مدل‌های درد صفحه‌ی داغ با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و پردردی القا شده Carrageenan در موش صحرایی گردید (۱۱). تزریق داخل نخاعی اورکسین A و نه اورکسین B سبب بی‌دردی در مدل درد فرمالین و صفحه‌ی داغ شد و این اثرات توسط پیش درمان با آنتاگونیست اختصاصی اورکسین A (SB-334867) آنتاگونیزه شده است. همچنین تزریق داخل نخاعی اورکسین A سبب توقف بیان fos توسط تزریق فرمالین در لامینای ۱۱-۱ قطعه L4-L5 نخاع شد (۲۱). تزریق داخل بطنی و داخل نخاعی اورکسین A سبب تضعیف سطح الودینای مکانیکی به وسیله‌ی گره زدن نسبی عصب سیاتیک و الودینای القا شده توسط برش شد (۳۴و ۱۶). تزریق داخل نخاعی اورکسین، زمان عقب کشیدن پا و پردردی برانگیخته شده توسط گرما در موش صحرایی توسط جراحی انسدادی مزمن را کاهش داد و آنتاگونیست اورکسین A این اثرات را برگرداند (۱۷). در یک مطالعه نشان داده شد تزریق اورکسین A در هیپوتالاموس پشتی سبب کاهش پاسخ فیبرهای A به تحریک الکتریکی سخت شامه و همچنین فعالیت خودبخودی نورون‌ها می‌شود و همچنین پاسخ به تحریک درد زا در پوست صورت کاهش می‌یابد (۳۵). در مطالعاتی دیگر تزریق داخل بطنی اورکسین A در موش سوری، اثرات ضد دردی در همه‌ی انواع مدل درد شامل: درد گرمایی (صفحه‌ی داغ- کشیدن پا و کشیدن دم)، مکانیکی (فشار دم)، شیمیایی (فرمالین و کاپسایسین) و کشش شکم داشته است، ولی زمانی که به صورت زیر جلدی تزریق شد اثری نداشت (۳۶). در کل مطالعه‌ی حاضر هم راستا با مطالعات قبلی نشان داد که محرومیت غذایی حاد بی‌دردی ایجاد می‌کند و موضوع جدید اینکه این بی‌دردی را می‌توان با مهار گیرنده‌ی ۱ اورکسین توسط SB-334867 آنتاگونیست آن برگرداند.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر مطرح می‌کند که قسمت اعظم بی‌دردی القا شده توسط محرومیت غذایی حاد ، ناشی از افزایش اورکسین است و با توجه به تعدیل بی‌دردی با مهار گیرنده ۱ اورکسین به نظر می‌رسد که این مهار به واسطه‌ی گیرنده ۱ اورکسین میانجی‌گری می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم پزشکی زنجان می‌باشد. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زنجان به جهت تامین بودجه‌ی مالی طرح، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1- Wylie LM, Gentle MJ. Feeding-induced tonic pain suppression in the chicken: reversal by naloxone. *Physiology Behav.* 1998; 64: 27-30.

2- Jurcovicova J, Stancikova M, Svik K, et al. Stress of chronic food restriction attenuates the development of adjuvant arthritis in male long evans rats. clinical and experimental rheumatology. 2001; 19: 371-6.

3- Khasar SG, Reichling DB, Green PG, Isenberg WM, Levine JD. Fasting is a physiological stimulus of vagus-mediated enhancement of nociception in the female rat. Neuroscience. 2003; 119: 215-21.

4- 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 Research. 2001: 17; 911: 27-36.

5- 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: 20; 92: 573-85.

6- de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1998: 6; 95: 322

7- 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 Research.* 2003 21; 991: 133-41.

8- Date Y, Mondal MS, Matsukura S, Nakazato M. Distribution of orexin-A and orexin-B (hypocretins) in the rat spinal cord. Neuroscience Letters 2000; 288: 87-90.

9- Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Guan XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Letters.* 1998; 438: 71-5.

10- van den Pol AN. Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. The Journal of neuroscience: the official journal of the society for neuroscience. 1999; 19: 3171-82.

11- Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, et al. Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties. Pain. 2001; 92: 81-90.

12- Sakurai T. Roles of biologically active peptide in regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 2003; 122: 236-42.

13- Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, et al. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neuroscience.* 2003: 15; 23: 3106-11.

14- Ohno K, Sakurai T. Orexin neuronal circuitry: role in the regulation of sleep and wakefulness. *Front Neuroendocrinol.* 2008; 29: 70-87.

15- Li J, Hu Z, de Lecea L. The hypocretins/orexins: integrators of multiple physiological functions. *Br J Pharmacol.* 2014; 171: 332-50.

16- Cheng JK, Chou RC, Hwang LL, Chiou LC. Antiallodynic effects of intrathecal orexins in a rat model of postoperative pain. *J Pharmacol Experimental Ther.* 2003; 307: 1065-71.

17- Suyama H, Kawamoto M, Shiraishi S, Gaus S, Kajiyama S, Yuge O. Analgesic effect of intrathecal administration of orexin on neuropathic pain in rats. *In Vivo.* 2004; 18: 119-23.

18- 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 Pharmacol.* 2008; 12: 188-93.

19- 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. *Pain.* 2011; 12: 280.

20- Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, Esmaeili MH, Semnanian S. Intra-paragigantocellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Research.* 2012

21- Yamamoto T, Saito O, Shono K, Aoe T, Chiba T. Anti-mechanical allodynic effect of intrathecal and intracerebroventricular injection of orexin-A in the rat neuropathic pain model. *Neuroscience Letters.* 2003 28; 347: 183-6.

22- 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; 105: 193-8.

23- Ghasemi E, Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Sadegh M. Repeated injections of orexin-A developed behavioral tolerance to its analgesic effects in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2015; 18: 1183-8.

24- Sofiabad M, Heidari N, Ghasemi E, et al. Assesment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol Pharmacol.* 2011; 15: 395-402.

25- Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Rahmani A, Ghasemi-Dashkhasan E, Semnanian S, Haghparast A. Blockade of orexin receptor 1 attenuates the development of morphine tolerance and physical dependence in rats. Pharmacol biochem Behav. 2012; 103: 212-9.

26- 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.* 2012; 103: 299-307.

27- Holden JE, Pizzi JA. Lateral hypothalamic-induced antinociception may be mediated by a substance P connection with the rostral ventromedial medulla. *Brain Research.* 2008; 1214: 40-9.

28- Charles JR, Duva MA, Ramirez GJ, Lara RL, Yang CR, Stanley BG. Activation of lateral hypothalamic mGlu1 and mGlu5 receptors elicits feeding in rats. *Neuropharmacology.* 2014; 79: 59-65.

29- Karteris E, Machado RJ, Chen J, Zervou S, Hillhouse EW, Randeva HS. Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signaling in rat hypothalamus and adrenal cortex. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288: E1089-100.

30- Hamm RJ, Knisely JS. The analgesia produced by food deprivation in 4-month old, 14-month old ,and 24-month old rats. *Life.* 1986 ; 39: 1509-15.

31- Sarookhani MR, Ghasemi-Dashkhasan E, Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami

E, Hosseini SS. Effect of food deprivation on formalin-induced nociceptive behaviors and beta-endorphin and sex hormone concentration in rats. *Iran Biomed J.* 2014; 18: 107-13.

32- Azhdari-Zarmehri H, Rahmani A, Puzesh S , Erami E, Emamjomeh M. Assessing the effect of lidocaine injection into the nucleus paragigantocellularislateralis on formalin test and hot plate test induced nociceptive behaviors in rats. *J Zanjan Univ Med Sci.* 2013; 21: 10-29.

33- Fujiki N, Yoshida Y, Ripley B, Honda K, Mignot E, Nishino S. Changes in CSF hypocretin-1 (orexin A) levels in rats across 24 hours and in response to food deprivation. *Neuroreport.* 2001; 12: 993-7.

34- Yamamoto T ,Saito O, Shono K, Hirasawa S. Activation of spinal orexin-1 receptor produces anti-allodynic effect in the rat carrageenan test. *Eur J pharmacol.* 2003; 481: 175-80.

35- Bartsch T, Levy MJ, Knight YE, Goadsby PJ. Differential modulation of nociceptive dural input to [hypocretin] orexin A and B receptor activation in the posterior hypothalamic area. *Pain.* 2004; 109: 367-78.

36- 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; 26: 767-77.

Assessment of the Involvement of Orexin Receptor 1 in Acute Food Deprivation on Nociceptive Behavior Induced by Hot Plate Test in Male Rats

Heidari Oranjaghi N[1], Azhdari Zarmehri H[2], Ghasemi Dashkasan E[3], Ganjkhani M[1]

[1]Dept. of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[2] Neuroscience Research Center, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

[3]Dept. of Physiology and Pharmacology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Ganjkhani M, Dept. of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran,

E-mail: ghanjkhani@zums.ac.ir

Received: 3 May 2016 **Accepted:** 22 Aug 2016

Background and Objective: Food deprivation increases the expression of orexin-1 receptor gene in the hypothalamus. On the other hand, food deprivation induces analgesia and orexin has a fundamental and well known role in pain modulation. This study aimed to determine the role of orexin receptor 1 antagonist in analgesic effect of acute food deprivation (12 h) by hot plate test in male rats.

Materials and Methods: Male Wistar rats were divided into 5 groups (n=8), control, food deprivation without surgery, stereotaxic surgery with vehicle, vehicle and food deprivation and food deprivation and orexin receptor 1 antagonist groups. 12 hours before the hot plate test, food was removed from the animals' proximity, but water was freely available. All groups were tested using the hot plate. Data were analyzed statistically by one-way ANOVA with Tukey post hoc test.

Results: According to our findings, orexin receptor 1 antagonist injection increased pain related behaviors at the time of 5($P<0.05$), 15($P<0.05$), 30($P<0.01$) and 60($P<0.001$) minutes in the hot plate test.

Conclusion: Orexin plays an important role in feeding state–induced pain modulation. Based on our results, change in pain behavior induced by food deprivation may be related to change in orexin expression or in orexin receptors density.

Keywords: Food Deprivation, Orexin, SB-334867, Hot Plate, Rat