

## بررسی نقش سیستم اورکسینرژیک در اثر مرفین بر مصرف غذا و آب در موش‌های صحرایی نر

محمد صوفی آبادی<sup>۱</sup> (Ph.D)، صمد ناظمی<sup>۲</sup> (Ph.D)، الهه ارمی<sup>۳</sup> (M.Sc)، حسن اژداری زرمهری<sup>۳، ۱</sup> (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی

۲- دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی

۳- گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه

### چکیده

سابقه و هدف: سلول‌های عصبی اورکسین هیپوتالاموس جانبی، نقش مهمی بر مصرف غذا دارند و در آن‌ها گیرنده مواپیوئیدی بیان می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی نقش سیستم اورکسین بر اثر تغذیه‌ای و آب‌نوشی مرفین در موش‌های صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: از ۴۰ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات جراحی استرئوتاکسی شده و پس از یک هفته دوره بهبودی، به گروه‌های زیر تقسیم شدند: ۱. کنترل، ۲. حلال، ۳. تزریق مرفین، ۴. تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین، ۵. تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین + مرفین، داروها بعد از ۱۲ ساعت محرومیت غذایی تزریق و سپس تا ۴ ساعت بعد، میزان تغذیه و آب‌نوشی موش‌ها محاسبه گردید. یافته‌ها: تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب افزایش مصرف غذا و تعداد مراجعه به ظرف غذا گردید که استفاده از آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB334867) این اثر مرفین را تضعیف نمود ولی بر میزان مصرف آب به وسیله مرفین تاثیری نداشت. تزریق مرفین سبب کاهش مصرف آب گردید ولی تعداد مراجعه به ظرف آب را افزایش بخشید. تزریق SB334867 از این اثر مرفین جلوگیری کرد. نتیجه‌گیری: این احتمال می‌رود که حداقل یکی از مسیرهای اثر اوپیوات‌ها بر میزان مصرف غذا و آب، سیستم اورکسینرژیک باشد.

واژه‌های کلیدی: گیرنده‌های اورکسین، مرفین، آشامیدن، خوردن، موش‌های صحرایی

### مقدمه

شکمی، پهلویی و شکمی هیپوتالاس یافت می‌شوند [۳، ۲، ۱، ۴]. اورکسین A پپتیدی ۳۳ اسید آمینه‌ای است و از پیش‌ساز ۱۳۱-۱۳۰ اسید آمینه‌ای پری‌پرواورکسین مشتق و دارای گیرنده جفت‌شونده با پروتئین G می‌باشد. پژوهش‌های ریخت‌شناسی ثابت کرده است که نورون‌های اورکسین در مناطق گوناگون مغزی کنترل‌کننده تغذیه گسترده شده‌اند [۵] و

هیپوتالاموس مرکز اصلی کنترل اعمال مهم از جمله رفتار تغذیه‌ای است و خاست‌گاه اصلی سیستم اورکسینی هم محسوب می‌شود. اورکسین هم نقش اساسی و شناخته شده‌ای بر کنترل تغذیه دارد. اورکسین A و اورکسین B (هیپوکرتین ۱ و هیپوکرتین ۲) در نورون‌های پری‌فورنیکال، قسمت پشتی -

## مواد و روش‌ها

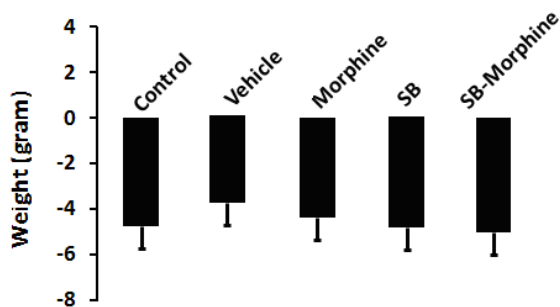
در این مطالعه تجربی که در سال ۹۲-۱۳۹۱ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد از موش‌های نر صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد که در حیوان‌خانه دانشگاه به صورت گروه‌های ۶ تایی در قفس‌های فایبرگلاس نگاه‌داری و به‌طور آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند و طول دوره روشنائی ۱۲ ساعت و تاریکی نیز ۱۲ ساعت بود. در این آزمایشات روش تزریق کلیه داروها به صورت ریزتزریق درون بطن جانبی مغز بود لذا ابتدا کانول‌های تزریق و راهنما برای همه موش‌ها تعبیه گردید. برای کانول‌گذاری، حیوان پس از بی‌هوش شدن در دستگاه استرئوتاکسی مستقر و پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده و پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف نواحی برگما و لامبدا شناسایی شد و با توجه به فاصله آن‌ها و نسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس با این مشخصه:

RLV= (1.5 mm caudal, 2 mm lateral from the Bregma, 6 mm ventral from the skull surface)

نواحی سطح جمجمه متعلق به بطن جانبی مشخص و بعد از علامت‌گذاری منطقه فوق با استفاده از مته‌های دندان پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه قطر کانول راهنما، که معمولاً از سر سرنگ نمره ۲۳ است، ایجاد شد و کانول راهنما به اندازه مشخص در درون مغز مستقر شد و قسمت رویی آن در روی جمجمه به وسیله سیمان دندان‌پزشکی ثابت گردید. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به وسیله درپوش خاصی مسدود بود و فقط در زمان‌های تزریق دارو برداشته می‌شد. یک کانول نازک‌تر که معمولاً از سوزن نمره ۳۰ بود به اندازه‌ای که ۲ میلی‌متر بیش‌تر از نوک کانول راهنما باشد تهیه شد و از یک طرف به یک لوله نازک پلی‌اتیلن وصل می‌گردید. سر دیگر لوله پلی‌اتیلنی به سیستم تزریق دقیق وصل شده و مقدار مشخص حجم ماده تزریقی در قسمت نوک کانول تزریق وارد می‌گردید. بعد از اتمام جراحی موش‌ها یک هفته دوره بهبودی را طی کردند.

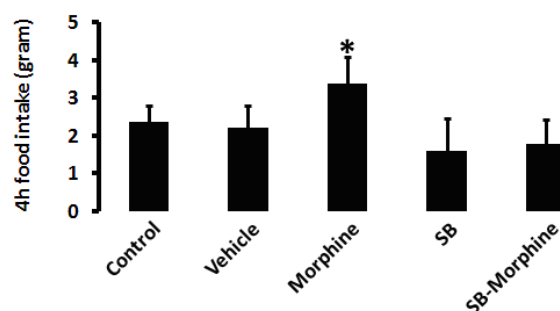
علاوه بر کنترل تغذیه در تنظیم اعمال مهم گوناگون دیگر از قبیل هومئوستاز انرژی [۳،۴،۶،۷]، استرس و درد [۱۰،۹،۸،۱۲،۱۱] هم نقش دارند. از سوی دیگر اپیوئیدها هم بر سیستم عصبی، غدد درون‌ریز و لوله گوارش اثرگذار بوده و گیرنده‌های اپیوئیدی در بسیاری از بخش‌های مغز که با تغذیه مرتبط است وجود دارند. بنابراین اپیوئیدها می‌توانند در کنترل و تنظیم تغذیه نقش داشته باشند. برای مثال، تزریق مرفین باعث افزایش فعالیت الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک مسیر VTA به هسته آکومبیس برای مدت طولانی می‌شود که این مسیر، مسیر اصلی پاداش در مغز بوده و در موش صحرایی باعث افزایش مصرف غذا می‌گردد [۴،۵،۶]. همچنین تجویز عمومی درون مغزی آنتاگونیست‌های اپیوئیدی موجب کاهش مصرف غذا در موش صحرایی می‌شود [۲]. در همین زمینه گزارش شده است که تزریق مرفین به داخل هیپوتالاموس جانبی سبب افزایش تغذیه شده و تزریق آنتاگونیست آن میزان تغذیه را به‌طور چشم‌گیری کاهش می‌دهد [۴،۵،۶]. مطالعات متعدد بافت‌شناسی وجود گیرنده مو اپیوئیدی را در سلول‌های عصبی اورکسینینی هیپوتالاموس جانبی که نقش اصلیرا در تحریک اشتها و مصرف مواد غذایی و هومئوستاز انرژی دارند نشان می‌دهد [۴،۵،۶]. لذا به نظر می‌رسد رابطه مهمی بین سیستم اورکسینرژیک و سیستم اپیوئیدی در تنظیم رفتار تغذیه‌ای وجود داشته باشد. البته وجود این رابطه و تداخل در برخی از رفتارهای غیرتغذیه‌ای این دو سیستم نشان داده شده است، برای مثال مشاهده شده که پیش‌درمانی با آنتاگونیست اورکسین مانع از توسعه تحمل به مورفین شده و بیش‌تر علائم جسمی ناشی از قطع مصرف مرفین را در حیوانات وابسته کاهش می‌دهد [۱۳]. نیز گزارش شده که مهار گیرنده ۱ اورکسین باعث سرکوب اکتساب و بیان شرطی شدن ناشی از مرفین در موش‌های عادی می‌شود [۱۴]. با توجه به این شواهد این احتمال می‌رود که سیستم اورکسینرژیک در مکانیسم اثر تغذیه‌ای اپیوئیدها هم دخالت داشته باشد، هدف از این مطالعه بررسی نقش اورکسین A بر اثر مرفین بر مصرف غذا و آب در موش‌های صحرایی نر بود.

آزمون ایجاد نکرد نیز میزان تغییرات وزن در گروه‌ها آزمایش نسبت به گروه کنترل آماری نداشت ( $p < 0.05$ ).



شکل ۱. مقایسه تغییر وزن حیوانات در ۴ ساعت بعد از تزریق در گروه‌های آزمون. نسبت تغییرات وزن گروه‌های آزمایش به گروه کنترل معنی‌دار نبود. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

۲- مقایسه میزان مصرف غذا در گروه‌های مختلف آزمون. تجویز مرفین از طریق بطن جانبی سبب افزایش مصرف غذا در موش صحرائی در ۴ ساعت بعد از تزریق گردید ( $p < 0.05$ ) استفاده از آنتاگونیست گیرنده اورکسین A یعنی SB334867 سبب جلوگیری از افزایش تغذیه مرفین شد که بر تداخل این دو سیستم در تنظیم میزان مصرف غذا دلالت دارد (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه میانگین میزان مصرف غذا در گروه‌های مختلف آزمون. تزریق مرفین مصرف غذا را در مقایسه با گروه کنترل و شمش افزایش داد، آنتاگونیست اورکسین این اثر مرفین را مهار کرد ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با کنترل. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

۳- مقایسه میزان مصرف آب در گروه‌های مختلف آزمون. تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب کاهش مصرف آب در موش صحرائی در ۴ ساعت بعد از تزریق

روش اجرای آزمون. ۲۴ ساعت قبل از تست، موش‌ها به منظور عادت کردن با شرایط محیط به محل آزمایش منتقل شده و به مدت ۴ ساعت در قفس متابولیک گذاشته تا با شرایط آزمایش تطابق یابند. سپس به قفس عادی منتقل و ۱۲ ساعت مانده به آزمایش، از غذا محروم می‌شدند. روز آزمون ابتدا با ترازوی دقیق توزین گردیده و سپس دارو به صورت داخل بطنی تزریق و هر حیوان به‌طور جداگانه به درون یک جعبه مخصوص متابولیک از جنس پلکسی‌گلاس در ابعاد  $20 \times 20 \times 20$  جهت مشاهده بهتر و ثبت دقیق تر گذاشته می‌شد که حاوی ظروف آب مدرج و غذای توزین شده بود و میزان مصرف غذا از روی توزین ظرف غذا، میزان مصرف آب از روی درجه ظرف آن، تاخیر در رجوع به ظرف غذا و آب و نیز تعداد مراجعه به ظرف غذا و آب طی ۴ ساعت پس از تزریق از روی بازبینی فیلمی که توسط دوربین دیجیتال ثبت شده بود محاسبه گردید.

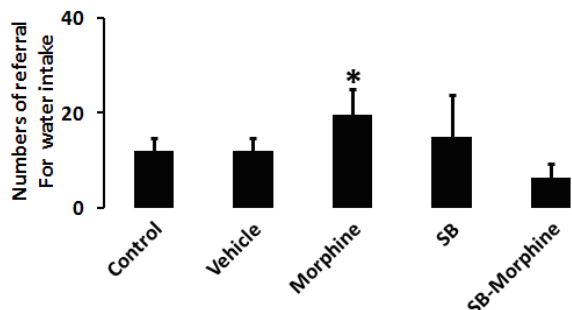
تعداد نمونه مورد مطالعه در هر گروه ۸ سر حیوان بود که به صورت تصادفی به ۵ گروه مساوی زیر تقسیم شدند: گروه اول: کنترل، گروه دوم: شمش (تزریق حلال)، گروه سوم: تزریق مرفین (۳۰ میکروگرم)، گروه چهارم: تزریق آنتاگونیست اورکسین A (۳۰ میکروگرم)، گروه پنجم: ابتدا تزریق آنتاگونیست اورکسین A (SB، ۳۰ میکروگرم) و پس از ۵ دقیقه تزریق مرفین (۳۰ میکروگرم) داخل بطن جانبی. حجم تزریق در کلیه موارد ۵ میکرولیتر برای هر حیوان بود [۱۵].

روش تحلیل داده‌ها. داده‌های جمع‌آوری شده در گروه‌های مختلف توسط آزمون ANOVA یک طرفه و به دنبال آن تست تعقیبی توکی مقایسه و تحلیل آماری شد و مقدار  $p$  کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان حد معنی‌دار تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

## نتایج

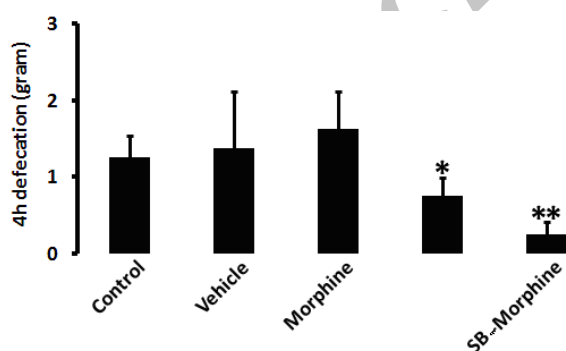
۱- مقایسه تغییرات وزن موش‌ها قبل و ۴ ساعت بعد از آزمون. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود تزریق مرفین تغییر معنی‌داری در وزن حیوانات قبل و ۴ ساعت بعد از

افزایش تعداد مراجعه به ظرف حاوی آب در موش صحرایی شد ( $p < 0.05$ ). تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین این اثر مرفین را تضعیف نمود که به تداخل این دو سیستم در تنظیم میزان آب‌نوشی دلالت دارد (شکل ۵).



شکل ۵. مقایسه تعداد مراجعه به بطری آب در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل. تعداد مراجعات به آب در گروهی که مرفین تزریق شد نسبت کنترل افزایش یافت. تزریق SB334867 سبب جلوگیری از افزایش تعداد مراجعه به ظرف آب ناشی از مرفین شد ( $p < 0.05$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

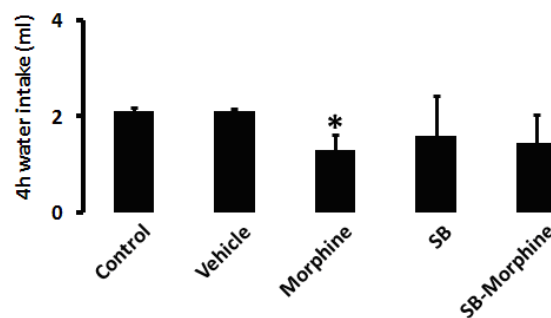
۶- مقایسه میزان دفع مدفوع در گروه‌های مختلف آزمون. میزان دفع مدفوع در گروه مرفین با کنترل تفاوتی نداشت ولی پیش تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب کاهش مدفوع در گروهی که مرفین گرفتند شد ( $p < 0.01$ ) (شکل ۶).



شکل ۶. مقایسه میزان دفع مدفوع در گروه‌های مختلف. میزان دفع مدفوع در گروهی که به تنهایی آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین دریافت کردند و نیز در گروهی که مرفین گرفتند کاهش معنی‌داریافت ( $p < 0.05$ ) و ( $p < 0.01$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

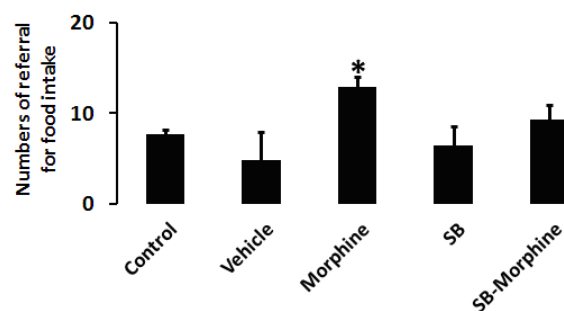
۷- مقایسه میزان دفع ادرار در گروه‌های مختلف آزمون:

شد ( $p < 0.05$ ). آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین تغییری در کاهش مصرف آب به وسیله مرفین ایجاد نکرد (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین میزان مصرف آب در گروه‌های مختلف آزمون. تزریق مرفین سبب کاهش معنی‌دار مصرف آب در موش صحرایی شد ( $p < 0.05$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

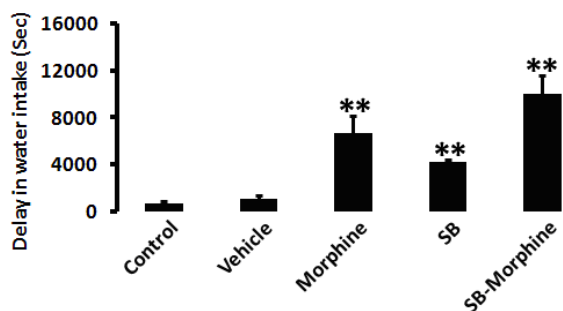
۴- مقایسه میزان تعداد مراجعه به ظرف غذا در گروه‌های مختلف آزمون. مرفین سبب افزایش تعداد مراجعات موش‌ها به ظرف غذا هم‌راستا با افزایش مصرف آن در ۴ ساعت بعد از تزریق گردید ( $p < 0.05$ ). استفاده از آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین از این اثر مرفین جلوگیری نمود که به تداخل این دو سیستم در تنظیم میزان تغذیه دلالت دارد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه تعداد مراجعه به ظرف غذا در ۴ ساعت بعد از آزمون در گروه‌های مختلف. تزریق مرفین تعداد مراجعه به ظرف غذا را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد و SB334867 این اثر مرفین را مهار کرد ( $p < 0.05$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

۵- مقایسه میزان تعداد مراجعه به ظرف آب در گروه‌های مختلف آزمون. تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب

از تزریق آن در مقایسه با گروه کنترل و شم گردید ( $p < 0.01$ ). استفاده از آنتاگونیست نتوانست این اثر را مهار سازد (شکل ۹).



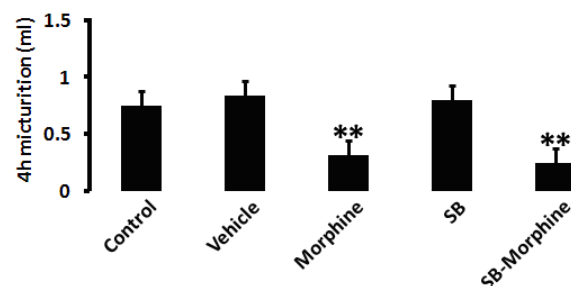
شکل ۹. مقایسه میزان تاخیر در مصرف آب. تزریق مرفین باعث افزایش تاخیر در شروع مصرف آب گردید. ( $p < 0.01$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

## بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که تزریق مرفین و آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین، تغییر معنی داری در وزن حیوانات ایجاد نمی کند. همچنین تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب افزایش مصرف غذا و تعداد رجوع به ظرف غذا شد که با استفاده از آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین این اثرات مرفین تضعیف شد. این یافته ها به نقش اورکسین در اثر تنظیمی مرفین در امر تغذیه و آب دلالت دارد. تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب افزایش تعداد رجوع به ظرف آب شد که با تزریق آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین، از این اثر مرفین نیز جلوگیری شد. همچنین تزریق مرفین و آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین به داخل بطن جانبی سبب افزایش تاخیر در مصرف غذا و آب شد.

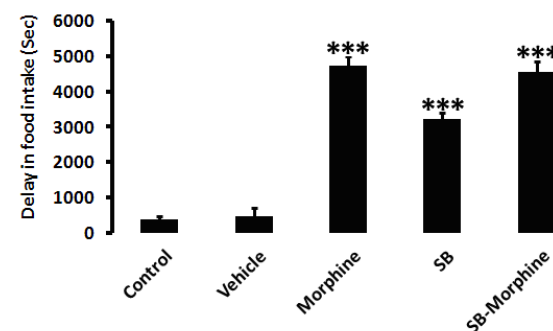
هم راستا با مطالعه ما، تحقیقات زیادی نقش اورکسین را در تغذیه را نشان داده اند و ثابت شده که تزریق اورکسین به داخل بطن و یا به درون بخش های مختلف هیپوتالاموس سبب افزایش تغذیه در موش می شود [۱۶، ۲، ۳] و تزریق داخل صفاقی آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB-334867) باعث کاهش تغذیه پایه، مهار افزایش وزن طبیعی در پاسخ به تزریق

تزریق داخل بطنی مرفینبه تنهایی و یا به همراه SB334867 موجب کاهش میزان دفع ادرار موش ها شد ( $p < 0.01$ ) (شکل ۷).



شکل ۷. مقایسه میزان دفع ادرار در گروه های مختلف آزمون. حجم ادرار دفع شده به طور معنی داری در گروهی که مرفین و یا مرفین + SB334867 دریافت کردند کم شد ( $p < 0.01$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

۸- مقایسه میزان تاخیر در مصرف غذا. تزریق مرفین به تنهایی و یا به صورت توام با آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب افزایش تاخیر در اولین مصرف غذا در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0.001$ ). در این زمینه SB-334867 تاثیری بر اثر تاخیری مرفین نداشت (شکل ۸).



شکل ۸. تاثیر تزریق مرفین و SB-334867 بر تاخیر مصرف غذا در مقایسه با گروه کنترل. تاخیر در اولین مصرف غذا در موش هایی که تزریق مرفین و یا آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین و یا هر دو آن ها را داشتند در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ( $p < 0.001$  در مقایسه با کنترل). نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار برای ۸ سر موش در هر گروه بیان شده است.

۹- مقایسه تاخیر در مصرف آب. تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب افزایش تاخیر در شروع به مصرف آب بعد

آن، و این اثر توسط آنتاگونیست‌های انتخابی  $\mu$  مسدود می‌شود [۲۶-۲۸].

از طرف دیگر، این دو سیستم می‌توانند سیستم دوپامینرژیک مغز که در کنترل تغذیه هم نقش دارد را درگیر ساخته و غیر مستقیم بر تغذیه تاثیر بگذارند [۲۳، ۲۴]. مرفین چرخه زیستی دوپامین را در نقاط متعددی از جمله مرتبط با تغذیه افزایش می‌دهد و تجویز ال-دوپا به موش‌ها باعث افزایش تحرک و مصرف غذا در آن‌ها می‌شود [۲۹].

در مطالعه ما تزریق مرفین به داخل بطن جانبی سبب کاهش مصرف آب گردید، با این وجود تعداد مراجعه به ظرف آب را افزایش بخشید. تزریق SB334867 از این اثر مرفین جلوگیری کرد. در مورد نقش تداخلی اورکسین و اوپیات‌ها در مصرف آب اطلاعات اندکی وجود دارد. احتمالاً مکانیسم تداخلی این دو در کنترل مصرف آب مشابه اثر تغذیه‌ای آن‌ها می‌باشد. همچنین افزایش و یا کاهش مصرف غذا به دنبال تحریک اولیه اورکسینیا مرفین بر مراکز تغذیه می‌تواند از طریق تغییر دادن میزان اسمولارینت مایعات بدن که اصلی‌ترین مکانیسم درگیر کنترل میزان آب‌نوشی است [۳۰، ۳۱] به‌طور ثانوی مصرف آب را هم متاثر سازد که برای رد و یا اثبات این فرضیات باید مطالعات بیشتری صورت گیرد. ما در این مطالعه نشان دادیم که مهار سیستم اورکسین بر تغییرات میزان مصرف آب توسط مرفین اثری ندارد ولی تغییرات القاشده مرفین بر وعده‌های مصرف آب را متاثر می‌سازد. هم‌اینک مشخص شده است که مهار گیرنده اورکسین A موجب کاهش مصرف آب القاشده توسط داروی کوئینی پرول می‌شود. لذا این دو سیستم در کنترل میزان مصرف آب نقش دارند [۳۲].

نتایج ما نشان داد که تزریق مرکزی مرفین تغییر مهمی را در میزان دفع مدفوع ایجاد نمی‌کند که علت آن احتمالاً کاهش حرکات لوله گوارش توسط اوپیات‌ها باشد [۳]. در این مورد، آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین سبب کاهش مدفوع شد که علت آن کاهش مصرف غذا ناشی از مهار سیستم اورکسین می‌باشد. هم‌چنین در مطالعه ما دفع ادرار در گروه‌هایی که

اورکسین در هیپوتالاموس می‌گردد [۱۷، ۱۸]. اورکسین نه تنها در تنظیم کلی تغذیه موثر است بلکه این سیستم در روند اولیه تغذیه و بر کنترل عبور غذا در دستگاه گوارش از طریق نورون‌های حسی، حرکتی و ترشحی نقش دارد [۱۹، ۲۰]. هم‌چنین مشخص شده که محرومیت غذایی سطح mRNA اورکسین مغز و گیرنده‌های مربوطه در هیپوتالاموس حیوانات را افزایش می‌دهد [۲۱، ۲۲]. مطالعات اخیر وجود ارتباطات وسیع بین سیستم اورکسینی و اعمال رفتاری اپیوئیدها را اثبات کرده‌اند، در همین رابطه گزارش شده است که نورون‌های اورکسین هیپوتالاموس جانبی که آکسون آن‌ها به ناحیه تگمنتوم شکمی هم می‌رود نقش مهمی در فرایندهای پاداش و رفتارهای اعتیاد آور و ترجیح مکانی شرطی شده مرفین دارند [۵] و تجویز آنتاگونیست اورکسین به‌طور معنی‌داری ترجیح مکانی شرطی شده مرفین را کاهش می‌دهد، هم‌چنین بیان FOS در نورون‌های اورکسینی به هنگام ترجیح مکانی مرفین و غذا دچار تغییر می‌شود [۲۳، ۲۴] که یافته‌های این مطالعات با نتایج ما هم‌خوانی داشته و بر نقش اورکسین در بروز آثار رفتاری مرفین تاکید می‌کند.

هم‌چنین گرجسکو و همکاران در سال ۲۰۰۳ با استفاده از بیان C-fos نشان داد که تجویز مرفین می‌تواند سبب رونویسی و شکل‌پذیری در نورون‌های اورکسینی هیپوتالاموس جانبی شود، در حالی که عملاً هیچ اثر القایی بر سلول‌های عصبی هورمون ملاتین ندارد [۲۵]. همان‌گونه که بیان شد گیرنده‌های  $\mu$  که به مرفین پاسخ می‌دهند به مقدار زیادی در هیپوتالاموس جانبی و به‌ویژه در نورون‌های سیستم اورکسینی وجود دارد بنابراین به نظر می‌رسد که علت نقش واسطه‌ای اوپیات‌ها بر اثر تغذیه‌ای اورکسین، وجود گیرنده‌های اپیوئیدی بر روی سلول‌های عصبی اورکسینیباشد که با تجویز مرفین متاثر شده و در نتیجه میزان مصرف غذا را متاثر می‌سازند لذا اگر این نورون‌ها را با آنتاگونیست اختصاصی مربوطه مهار کنیم خواهیم توانست تا حدود زیادی اثر تغذیه‌ای اوپیات‌ها را نیز مهار سازیم. در همین رابطه نشان داده شده که گیرنده‌های نقش اساسی را در اثر تغذیه‌ای مرفین داشته و نه سایر گیرنده‌های

matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain* 2011; 12:280-287.

[11] Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, Esmacili MH, Semnianian S. Intra-paragigantocellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Res* 2012; 1478:16-23.

[12] 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; 103: 299-307.

[13] Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Rahmani A, Ghasemi-Dashkhasan E, Semnianian S, Haghparast A. Blockade of orexin receptor 1 attenuates the development of morphine tolerance and physical dependence in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 103: 212-219.

[14] Tabaeizadeh M, Motiei-Langroudi R, Mirbaha H, Esmacili B, Tahsili-Fahadan P, Javadi-Paydar M, et al. The differential effects of OX1R and OX2R selective antagonists on morphine conditioned place preference in naive versus morphine-dependent mice. *Beh Brain Res* 2013; 237:41-48.

[15] Smith RJ, Tahsili-Fahadan P, Aston-Jones G. Orexin/hypocretin is necessary for context-driven cocaine-seeking. *Neuropharmacology* 2010; 58: 179-184.

[16] Dube MG, Kalra SP, Kalra PS. Food intake elicited by central administration of orexins/hypocretins: identification of hypothalamic sites of action. *Brain Res* 1999; 842: 473-477.

[17] Haynes AC, Jackson B, Chapman H, Tadayon M, Johns A, Porter RA, Arch JR. A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regul Pept* 2000; 96: 45-51.

[18] Rodgers RJ, Halford JC, Nunes de Souza RL, Canto de Souza AL, Piper DC, Arch JR, et al. SB-334867, a selective orexin-1 receptor antagonist, enhances behavioural satiety and blocks the hyperphagic effect of orexin-A in rats. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 1444-1452.

[19] Zhang J, Luo P. Orexin B immunoreactive fibers and terminals innervate the sensory and motor neurons of jaw-elevator muscles in the rat. *Synapse* 2002; 44: 106-110.

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

[21] Panula P. Hypocretin/orexin in fish physiology with emphasis on zebrafish. *Acta Physiol* 2010; 198: 381-386.

[22] Karteris E, Machado RJ, Chen J, Zervou S, Hillhouse EW, Randeve HS. Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signaling in rat hypothalamus and adrenal cortex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E1089-E1100.

[23] Aston-Jones G, Smith RJ, Moorman DE, Richardson KA. Role of lateral hypothalamic orexin neurons in reward processing and addiction. *Neuropharmacology* 2009; 56:112-121.

[24] Aston-Jones G, Smith RJ, Sartor GC, Moorman DE, Massi L, Tahsili-Fahadan P, Richardson KA. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. *Brain Res* 2010; 1314:74-90.

[25] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, Mieda M, Willie JT, Eisch AJ, et al. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neurosci* 2003; 23: 3106-3111.

[26] Levine AS, Grace M, Portoghese PS, Billington CJ. The effect of selective opioid antagonists on butorphanol-induced feeding. *Brain Res* 1994; 637: 242-248.

[27] Silva RM, Rossi GC, Mathis JP, Standifer KM, Pasternak GW, Bodnar RJ. Morphine and morphine-6 glucuronide-induced feeding are differentially reduced by G-protein -subunit antisense probes in rats. *Brain Res* 2000; 876: 62-75.

[28] Leventhal L, Silva RM, Rossi GC, Pasternak GW, Bodnar RJ. Morphine-6-glucuronide-induced hyperphagia: Characterization of opioid action by selective antagonists and antisense mapping in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 287: 538-544.

تزریق داخل بطنی مرفین داشتند کاهش یافت که احتمالاً مکانیسم آن افزایش ترشح هورمون ضد ادراری می باشد [۳۳، ۳۱، ۳۰]. البته سایر ساز و کارهای فیزیولوژیک موثر بر دفع ادرار و مدفوع را نباید از نظر دور داشت که در مورد شناخت دقیق آن‌ها و نیز رد و یا قبول این فرضیات می بایست تحقیقات جداگانه‌ای صورت گیرد.

مطالعه حاضر نقش تداخلی سیستم اورکسینی را به ویژه بر رفتار تغذیه‌ای اوپیوئیدها نشان داد و حداقل یکی از مسیرهای اثر اوپیوات‌ها بر میزان مصرف غذا و آب سیستم اورکسینرژیک می باشد.

## تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و همه همکاران محترمی که در اجرای این پژوهش ما را یاری فرمودند تقدیر و تشکر به عمل می آوریم.

## منابع

- [1] de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 322-327.
- [2] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92: 573-585.
- [3] Sweet DC, Levine AS, Billington CJ, Kotz CM. Feeding response to central orexins. *Brain Res* 1999; 821: 535-538.
- [4] Sweet DC, Levine AS, Kotz CM. Functional opioid pathways are necessary for hypocretin-1 (orexin-A)-induced feeding. *Peptides* 2004; 25: 307-314.
- [5] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 1998; 18: 9996-10015.
- [6] Wolf G. Orexin: a newly discovered family of hypothalamic regulators of food intake. *Nutr Rev* 1998; 56:172-173.
- [7] Sakurai T. Roles of biologically active peptide in regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2003; 122: 236-242.
- [8] 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. *Psychopharmacology* 2008; 12: 188-193. (Persian).
- [9] Azhdari-Zarmehri H, Semnianian S, Fathollahi Y. Orexin A modulates rostral ventromedial medulla neuronal activity of rat in Vitro. *Neuro Res* 2010; 68: e102.
- [10] Azhdari-Zarmehri H, Semnianian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, Rohampour K. Intra-periaqueductal gray

derivatives: advantages over clinical opioid drugs. *Amino Acids* 2013; 45:171-178.

[32] Milella MS, Passarelli F, De Carolis L, Schepisi C, Nativio P, Scaccianoce S, Nencini P. Opposite roles of dopamine and orexin in quinpirole-induced excessive drinking: a rat model of psychotic polydipsia. *Psychopharmacology (Berl)* 2010; 211: 355-366.

[33] Vuong C, Van Uum SH, O'Dell LE, Lutfy K, Friedman TC. The effects of opioid and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocr Rev* 2010; 31:98-132.

[29] Rada P, Barson JR, Leibowitz SF, Hoebel BG. Opioids in the hypothalamus control dopamine and acetylcholine levels in the nucleus accumbens. *Brain Res* 2010; 1312:1-9.

[30] Kis GK, Molnár AH, Daruka L, Gardi J, Rákosi K, László F, et al. The osmotically and histamine-induced enhancement of the plasma vasopressin level is diminished by intracerebroventricularly administered orexin in rats. *Pflugers Arch* 2012; 463:531-536.

[31] Ribeiro MM, Santos SS, Sousa DS, Oliveira M, Santos SM, Heras M, et al. Side-effects of analgesic kyotorphin

Archive of SID



## Role of orexinergic system in the effects of morphine on food and water intake in male rat

Mohammad Sofiabadi (Ph.D)<sup>1</sup>, Samad Nazemi (Ph.D)<sup>2</sup>, Elaheh Erami (M.Sc)<sup>3</sup>, Hassan Azhdari-Zarmehri (Ph.D)<sup>\*1,3</sup>

1- Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2- Dept. of Physiology & Pharmacology, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

3- Dept. of Basic Sciences, TorbatHeydariyeh University of Medical Sciences, TorbatHeydariyeh, Iran

(Received: 9 Mar 2013; Accepted: 24 Nov 2013)

**Introduction:** Hypothalamic orexinergic neurons play an important role in food consumption and expresses  $\mu$ -opioid receptor. This study was investigated the interaction of orexinergic system on effects of morphine on food and water intake in male rats.

**Materials and Methods:** 40 male Wistar rats (250–300 g) were used in this study. The animals were operated stereotaxic and then after a week recovery period were divided into the following groups: 1. control; 2. vehicle injection; 3. morphine; 4. orexin receptor 1 antagonist; 5. orexin receptor 1 antagonist + morphine group. Drugs were injected into lateral ventricle (LV) after 12 hours food deprivation and then, the feeding and drinking behaviors were calculated 4h after injection.

**Results:** The injection of morphine into LV increased the amount of food intake and numbers of referral to feeding plate. Administration of orexin receptor1 antagonist (SB334867) attenuated significantly morphine-induced feeding, but had no effect on morphine induced water consumption. Morphine decreased water intake but increased numbers of referral for water bottle, which this effect was significantly attenuated by administration of SB334867.

**Conclusion:** It may be orexin is at least one of the pathways of opiates effects on food and water intake.

**Keywords:** Orexin receptor, Morphine, Drinking, Eating, Rat

\* Corresponding author: Fax: +98 281 3336004; Tel +98 9121140221  
hasan.azhdari@gmail.com

### How to cite this article:

Sofiabadi M, Nazemi S, Erami E, Azhdari-Zarmehri H. Role of orexinergic system in the effects of morphine on food and water intake in male rat. koomesh. 2014; 15 (3) :380-387

URL [http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a\\_code=A-10-1934-1&slc\\_lang=fa&sid=1](http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-1934-1&slc_lang=fa&sid=1)