



Role of Orexin-A receptors within the Locus Coeruleus in the antinociception induced by microinjection of carbachol into the lateral hypothalamus

Mir-Shahram Safari¹, Abbas Haghparast², Saeed Semnanian^{1*}, Abolhassan Ahmadiani²

1. Dept. Physiology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 23 Aug 2010

Accepted: 14 Oct 2010

Abstract

Introduction: Previous studies have shown that stimulation of lateral hypothalamus (LH) produces antinociception. Orexin-A (OXA) receptor is strongly expressed in the nucleus locus coeruleus (LC) and orexinergic fibers densely project from LH to LC. In this study, we assessed the role of LC and its OXA receptors in antinociceptive response induced by LH chemical stimulation in the rat.

Methods: The cholinergic agonist carbachol (125nmol/0.5μl saline) and lidocaine (2%; 0.5μl) were unilaterally microinjected into the LH with the concurrent LC inactivation. In another set of experiments, SB-334867 an OXA selective antagonist or its vehicle were unilaterally infused in LC to study its effect on LH stimulation-induced antinociception. Antinociceptive responses were obtained by the tail flick test and were presented as maximal possible effect (MPE) at 5, 10, 15, 20, 30 and 60 min after drug administrations.

Results: The results showed that microinjection of carbachol into the LH significantly induced antinociception at 5 and 10 min ($p < 0.001$). This effect was significantly blocked by microinjection of lidocaine into the LC. Additionally, intra-LC administration of SB-334867 (4.5 μg) could suppress the LH stimulation-induced antinociception by carbachol at 5 and 10 min post-injection times ($p < 0.001$).

Conclusion: Our findings showed that analgesic response induced by LH stimulation is mediated in part by the subsequent activation of LC neurons and results from the activation of orexinergic inputs into the LC that can modulate the pain processing.

Key words: Locus coeruleus, Lateral hypothalamus, Orexin, Carbachol, Pain

* Corresponding author e-mail: ssemnan@modares.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

نقش گیرنده های اورکسینی نوع A هسته لوکوس سروئوس در بی دردی حاصل از تجویز کارباکول در هیپوتالاموس جانبی

میرشهرام صفری^۱، عباس حق پرست^۲، سعید سمنانیان^{۱*}، ابوالحسن احمدیانی^۲

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. مرکز تحقیقات اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۲۲ مهر ۸۹

دریافت: ۱ شهریور ۸۹

چکیده

مقدمه: تحریک هیپوتالاموس جانبی (LH) می تواند موجب اثرات بی دردی شود. با توجه به عصب دهی غنی اورکسینرژیک از این ناحیه به هسته لوکوس سروئوس (LC) و فراوانی گیرنده های اورکسینی نوع A در LC در این مطالعه ما به بررسی نقش این هسته و گیرنده اورکسینی نوع A آن در بی دردی حاصل از تحریک شیمیایی LH پرداخته ایم.

روش ها: برای تحریک LH داروی کارباکول (125 nmol/0.5 μl saline) به عنوان داروی آگونیست کولینرژیک به صورت یک طرفه به ناحیه LH تزریق شده و به طور همزمان با تزریق ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲٪ فعالیت LC مهار می گردید. در قسمت دیگری از مطالعه SB-334867-A به عنوان آنتاگونیست گیرنده های اورکسین A در هسته LC تزریق شد. پاسخهای بی دردی بوسیله آزمون پس کشیدن دم اندازه گیری شده به صورت درصدی از حداکثر اثر ممکن (MPE%) در دقایق ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ بعد از تزریق دارو به دست آمد.

یافته ها: نتایج نشان داد که تزریق کارباکول به داخل LH منجر به ایجاد پاسخ بی دردی در دقایق ۵ و ۱۰ بعد از تزریق شده ($p < 0.001$) این اثر به طور معنی داری با تزریق لیدوکائین به داخل هسته LC از بین می رود. تزریق SB-334867-A داخل LC منجر به از بین رفتن پاسخ بی دردی کارباکول می گردد ($p < 0.001$).
نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که حداقل قسمتی از بی دردی حاصل از تحریک ناحیه LH ناشی از فعال شدن نورونهای LC بوده و بواسطه مسیری اورکسینی است که در تعدیل فرآیند پردازش درد در LC موثر است.

واژه های کلیدی: لوکوس سروئوس، هیپوتالاموس جانبی، اورکسین، کارباکول، درد

مقدمه

باشد. تحریک الکتریکی LH با مهار رفلکس نخاعی پس کشیدن دم [۲] و انتقال پیام درد [۷] مرتبط است. نشان داده شده است که تزریق کارباکول به عنوان داروی آگونیست کولینرژیک به داخل LH (تحریک شیمیایی LH) می تواند تاخیر پاسخ در هر دو آزمون پس کشیدن دم و پا را ایجاد کند [۱۶]. اخیرا مطالعاتی در رابطه با مکانیسم اثرات بی دردی LH انجام شده است. به نظر می رسد بی دردی ناشی از تحریک هیپوتالاموس جانبی بواسطه هسته های ساقه مغزی باشد.

از مطالعات گذشته چنین بر می آید که ناحیه هیپوتالاموس جانبی به عنوان قسمتی از مراکز دخیل در سیستم نزولی تعدیل کننده انتقال پیامهای درد در سطح طناب نخاعی دخالت داشته

ssemnan@modares.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

اورکسینی نوع A به نام SB-334867-A به طور کامل مهار می شود [۱۲، ۲۹، ۱۵]. اثرات بی دردی اورکسین در تزریقات داخل بطن مغزی (icv) و داخل صفاقی (it) در مدل های درد حاد و مزمن گزارش شده است [۳۳، ۲۲، ۴]. هدف ما در این مطالعه بررسی تاثیر مهار برگشت پذیر LC بر بی دردی ایجاد شده در اثر تحریک LH و بررسی دخالت گیرنده های اورکسینی واقع در LC در این پاسخ بوده است.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشگاهی و روش جراحی: تعداد ۷۲ موش صحرایی نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۸۰-۳۳۰ گرم که به تعداد ۳ عدد در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می شدند مورد بررسی قرار گرفتند. سیکل روشنایی و تاریکی به صورت ۱۲ ساعت به ۱۲ ساعت تنظیم شده و دمای اطاق در 23 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری می شد. تمامی آزمایشات منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (موسسه ملی بهداشت آمریکا، شماره نشر ۲۳-۸۰، تجدید نظر ۱۹۹۶) رعایت شده و کلیه روشها مورد تایید کمیته اخلاق تحقیق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بوده است. گروههای آزمایشی مورد جراحی استریوتاکسی قرار گرفته به صورت یک طرفه کانول تزریق (سر سوزن شماره ۲۳) ۵ الی ۷ روز قبل از انجام آزمایش در سر حیوان کاشته می شد. موشها با تزریق داخل صفاقی کتامین ۱۰ در صد (100mg/kg) و زایلازین ۲٪ (10mg/kg) بیهوش شده و کانول در فاصله ۱ میلی متری بالای LC یا LH کاشته می شد. مختصات این نواحی با استفاده از اطلس پاکسینوس واتسون ۲۰۰۷ [۲۴] تعیین شد این مختصات برای LC از برگما $AP = -9.8$ $DV = -7.2$ $Lat = +1.3$ mm از خط وسط، از سطح جمجمه $DV = -7.2$ mm و برای LH $AP = -2.8$ $Lat = +1.2$ $DV = -8.6$ mm بوده است.

کانول تزریق با استفاده از ۲ پیچ استیل و سیمان دندانپزشکی در سطح جمجمه تثبیت می شد. در دوره بهبودی یک در پوش استیل داخل کانول تزریق گذاشته شده و جلوی انسداد کانول گرفته می شد. پنی سیلین G به میزان 200000 IU/ml به میزان (۰/۳-۰/۲ ml/rat) به صورت داخل عضلانی

برای مثال تحریک الکتریکی LH منجر به بی دردی می شود که تا حدی بواسطه نورونهای نواحی خاکستری اطراف قنات مغزی (PAG) [۳] و هسته رافه (NRM) [۱] واسطه گری می شود. تحریک LH می تواند منجر به پاسخ بی دردی از طریق سیستم گلوتاماترژیک به نواحی PAG و NRM گردد که نهایتا منجر به فعال شدن مسیرهای نزولی نورآدرنژیک مهار درد می شود [۱۶، ۱۱، ۹، ۸، ۳، ۱]. همچنین ثابت شده است که تحریک الکتریکی LH باعث افزایش پاسخهای بی دردی شده [۲] که بواسطه تزریق داخل نخاعی آگونیستهای α_2 آدرنژیک معکوس می شود [۱۶] همین گروه نشان داده اند که اثر بی دردی ایجاد شده توسط فعال شدن نورونهای LH تا اندازه ای بواسطه تحریک نورونهای ناحیه RVM که به نخاع عصب دهی می کنند ایجاد می شود [۱۷].

اگر چه مطالعات گذشته نشان داده است LH فیبر عصبی به شاخ خلفی نخاع ارسال می کند هیچ کدام از این فیبرهای ارسالی به سطح نخاع حاوی نورآدرنالین نیستند [۳۴، ۱۹، ۸]. همچنین نورونهای حاوی نورآدرنالین در سطح نخاع شناسایی نشده است [۶].

چند مطالعه نشان داده است که نورونهای نور آدرنژیک در ساقه مغز در بی دردی حاصل از تحریک LH دخیل هستند [۲۶، ۲۰، ۱۸، ۱۶]. طناب نخاعی به واسطه دسته جات نورونهای آدرنژیک در هسته های بصل نخاع و نواحی پل مغزی نظیر هسته LC یا ناحیه A6 عصب دهی می شود [۲۱]. نورونهای LC در پل مغزی محل اصلی جسم سلولی نورونهای نورآدرنژیک در مغز هستند [۳۱]. نشان داده شده است که تحریک الکتریکی یا شیمیایی LC منجر به بروز پاسخ بی دردی می شود که می تواند توسط تزریق آنتاگونیست گیرنده های آلفا ۲-آدرنژیک در نخاع مهار گردد [۲۶، ۲۰]. محرکهای دردناک منجر به افزایش فعالیت الکتریکی [۱۴] و رهائش نوروترانسمیترها در LC شده [۲۸، ۲۷]. و تخریب دو طرفه آن باعث تسهیل انتقال درد در مدل های درد التهابی و نه در حیوان سالم می گردد [۳۰]. از سوی دیگر LH محل اصلی تجمع نورونهای اورکسینرژیک است [۲۵، ۲۳]. و بیشترین میزان عصب دهی اورکسینی را به LC دارد [۲۵، ۱۳، ۱۰]. اورکسین به طور انتخابی منجر به رهائش نور اپی نفرین از برشهای مغزی شده و این رهائش با کاربرد آنتاگونیست انتخابی گیرنده های

گروه‌های آزمایشی و روشهای آماری: در این مطالعه ۹ گروه (n=8 برای هر گروه) مورد بررسی قرار گرفتند. (۴-۱) گروههای کنترل شامل گروههای سالم، sham و سالین و DMSO برای بررسی میزان TFL در گروههای سالم، دستکاری جراحی و بررسی اثر حجم تزریق و حلال، مورد مطالعه قرار گرفتند. (۵) گروه تحریک LH که ۱۲۵ نانومول کارباکول [۱۶،۱۸] به صورت یک طرفه در LH تزریق می‌شد. (۶) گروه غیرفعال سازی LC که به صورت یک طرفه ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲٪ داخل LC تزریق می‌شد. (۷) گروه تحریک LH و مهار LC که ۵ دقیقه بعد از تزریق کارباکول در LH لیدوکائین در LC تزریق می‌گردید. (۸) گروه SB-334867 که ۴/۵ μg از این دارو به صورت یک طرفه در LC تزریق می‌شد و (۹) گروه تحریک LH و تزریق SB-334867 داخل LC که ۵ دقیقه بعد از تزریق کارباکول در LH داروی SB-334867 در LC تزریق می‌شد. در کلیه گروههای کنترل و آزمایشی TFL در زمانهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تک تزریق یا تزریق دوم سالین، کارباکول، SB-334867 یا لیدوکائین اندازه گیری شد.

جهت بررسی پاسخ به درد حاد با توجه به مطالعات قبلی از روش استاندارد پس کشیدن دم با تزریق یک طرفه داروها استفاده گردید. مطالعه اولیه (pilot study) نیز نشان داد که تزریق یک طرفه داروها می‌تواند به طور معنی داری پاسخ به درد را در تحقیق حاضر تغییر دهد؛ از این رو برای کاهش استرس و عوارض ناشی از جراحی از مدل تزریق یک طرفه استفاده شد.

روشهای آماری: نتایج به صورت Mean±SEM (خطای استاندارد از میانگین) نشان داده شده است. و میانگین TFL ها یا MPE٪ در کلیه گروهها با ANOVA یک طرفه یا دو طرفه با تستهای متعاقب متناسب مورد تحلیل آماری قرار گرفته و مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی دار بودن آماری در نظر گرفته شدند.

تاییدیه بافتی: بعد از اتمام آزمایشات، حیوانات عمیقاً با استفاده از کتامین و زایلازین بیهوش شده، پرفیوژن نرمال سالین ۹٪ فرمالدئید و ۱۰ درصد از طریق قلب حیوان صورت گرفته و حیوانات در اثر خونریزی و اثرات سمی فرمالدئید در وضعیت بیهوشی عمیق کشته می‌شدند. بعد از برش گیری از

به همراه استامینوفن با غلظت ۱٪ در آب آشامیدنی به مدت ۴۸ ساعت بلافاصله بعد از جراحی به حیوان داده می‌شد.

استعمال داروها: تزریقات با پایین بردن کانول تزریق استیل (سر سوزن سایز ۳۰) با طول ۱ میلی متر بیشتر از کانول تزریق به داخل LH یا LC صورت می‌گرفت. کانول تزریق به یک سرنگ هامیلتون ۱μl بوسیله لوله پلی اتیلن شماره ۲۰ (PE-20) و نیم میکرولیتر محلول دارو یا حلال دارو در طول ۵۰ ثانیه تزریق شده و به مدت ۶۰ ثانیه بعد از تزریق کانول تزریق در محل نگهداری می‌شد. کارباکول (سیگما-آلدریج، امریکا) با دوز ۱۲۵ nmol و لیدوکائین (سیگما-آلدریج، امریکا) با نسبت غلظتی ۲ در صد در نرمال سالین حل شده و SB-334867 (توکریس بیوساینس، بریستول، انگلستان) با دوز 4.5μg/0.5μl در Dimethyl Sulfoxide (DMSO) حل شده کلیه داروها به صورت تازه و در همان روز تزریق آماده شده و با حجم ۰/۵ μl با سرعت ۰/۸ μl/10 sec تزریق می‌گردید. حرکت یک حباب هوا در لوله PE-20 جریان دارو را تایید می‌کرد. کلیه آزمایشات در زمانهای مشابهی از روز انجام می‌شد.

آزمون درد: آستانه درک درد بوسیله دستگاه آزمون پس کشیدن دم (دستگاه هاروارد امریکا) اندازه گیری شد. گرما در فواصل ۳، ۵ و ۷ سانتی متری انتهای دم اعمال می‌شد. زمان تاخیر تا پس کشیدن دم (TFL) به صورت میانگین ۳ بار آزمون TFL متوالی در هر نقطه زمانی اندازه گیری می‌شد. فاصله واکنش بین شروع محرک گرمایی و حرکت دادن دم توسط یک سنسور اتوماتیک به عنوان TFL ثبت می‌شد. شدت منبع نور به گونه ای تنظیم می‌شد که میزان TFL پایه در موشهای کنترل در حدود ۳-۴ ثانیه باشد (در حدود ۳۵ درصد حداکثر شدت نور). در صورتی که حیوان تا ۱۲ ثانیه به محرک گرمایی جواب نمی‌داد برای جلوگیری از آسیب دیدن دم حیوان تابش اشعه گرمایی قطع می‌شد (زمان cut-off). TFL ها یا به صورت داده خام یا درصد تاثیر احتمالی حداکثری (MPE٪) با استفاده از فرمول زیر ارائه می‌شد:

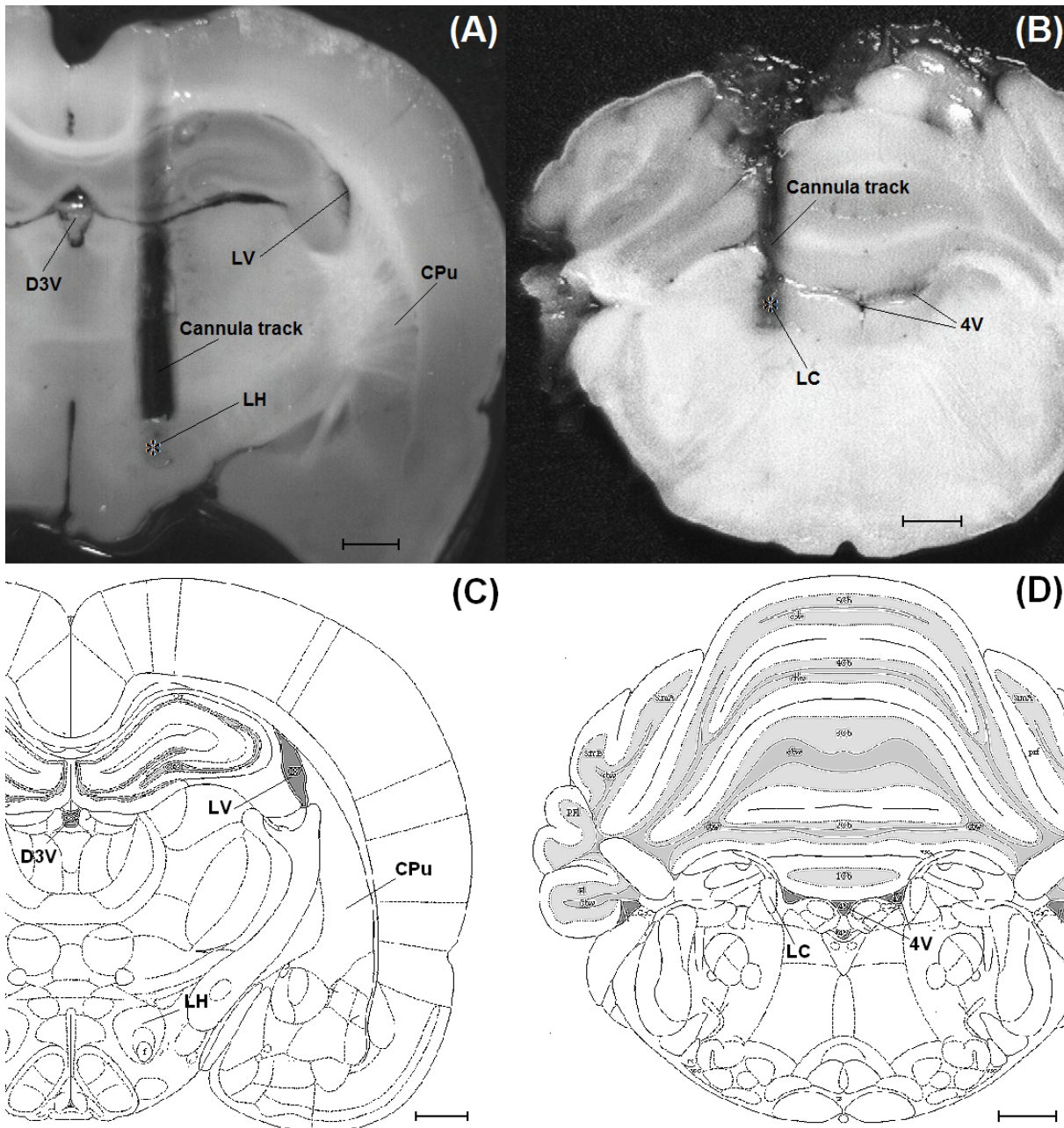
$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{زمان تاخیر پایه (sec)} - \text{زمان تاخیر بعد از تزریق دارو (sec)}}{\text{زمان تاخیر پایه (sec)} - \text{زمان Cut-off (sec)}} \times 100$$

گروه سالم در سه بار آزمایش $3/51 \pm 0/24$ بود. تحلیل آماری داده ها با روش ANOVA دو طرفه و تست متعاقب Tukey نشان داد که اختلاف معنی داری بین TFL در میان گروههای سالم، جراحی و سالین و DMSO در تمامی زمانهای مورد آزمایش وجود ندارد (نرمال سالین یا DMSO با حجم $0/5 \mu\text{l}$ به داخل LH و LC تزریق می شد. کلیه حیوانات مورد آزمایش با گروه سالین یا DMSO به عنوان گروه کنترل مقایسه شدند (شکل ۲).

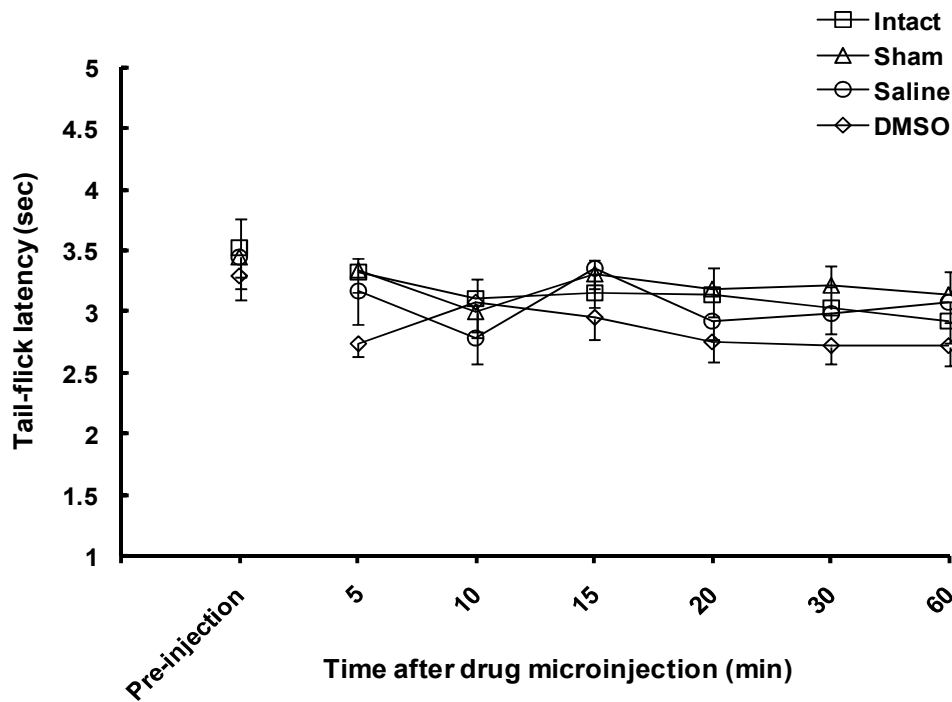
مغز محل آناتومیکی نوک کانول تزریق مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس اطلس پاکسینوس- واتسون ۲۰۰۷ [۲۴] تایید می شد. کلیه نتایج گزارش شده در این مقاله از حیواناتی است که محل تزریق در آنها صحیح بوده است. (شکل ۱)

یافته ها

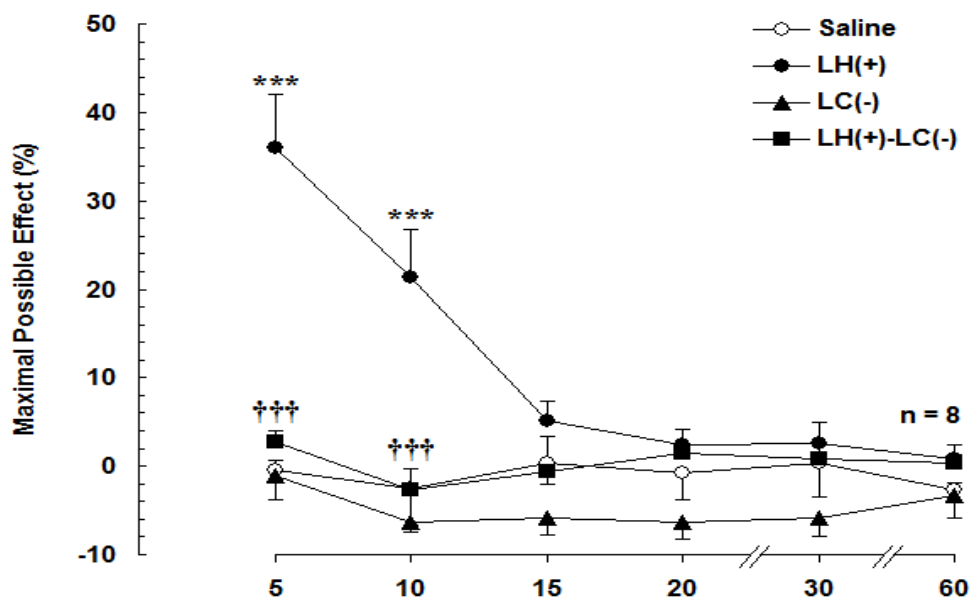
پاسخ به درد در موشهای کنترل: متوسط TFL پایه در



شکل ۱- فتومیکروگراف از یک برش ۵۰ میکرونی (A و B) و طرح شماتیک (C و D) در مقطع کروئال که مسیر کانولهای تزریق و محل تزریق (ستاره) را در نواحی هیپوتالاموس جانبی (A و C) در مقطع $2/76$ - از برگما و هسته لوکوس سرولتوس (B و D) در مقطع $9/84$ - از برگما نشان می دهند. 4V، بطن چهارم؛ D3V، بطن سوم خلفی؛ CPu، هسته دمدار (مخروطی)؛ LC، هسته لوکوس سرولتوس؛ LH، هیپوتالاموس جانبی؛ LV، بطن جانبی؛ مقیاس: ۱۰۰۰ میکرومتر



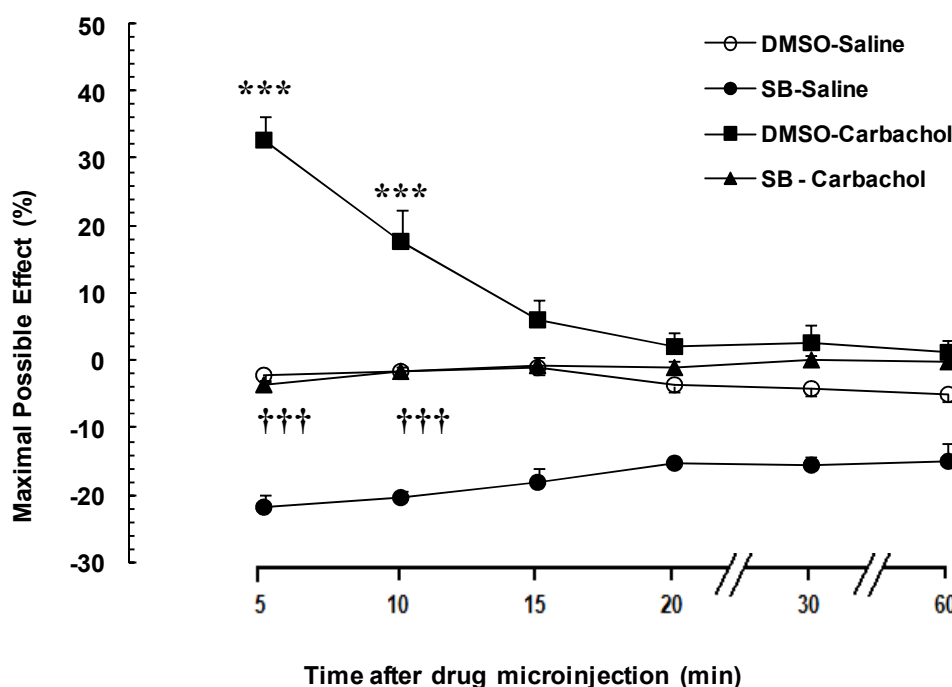
شکل ۲- میانگین زمان تاخیر پس کشیدن دم در گروه‌های کنترل intact، sham، سالین و DMSO. اختلاف معنی داری در زمان تاخیر پس کشیدن دم (TFL) بین گروه‌های فوق وجود نداشت. داده‌ها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده است.



شکل ۳- پاسخ به درد در تحریک شیمیایی هیپوتالاموس جانبی (LH) و غیر فعال سازی هسته لوکوس سرولئوس (LC) در طول ۶۰ دقیقه بعد از تزریق دارو. حیوانات گروه سالین به طور یک طرفه مورد تزریق سالین در LH و LC قرار گرفته اند. غیر فعال سازی برگشت پذیر LC منجر به رفع اثر بی دردی ناشی از تحریک LH می شود. داده‌ها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده است. LH(+): تحریک LH؛ LC(-): غیر فعال سازی LC؛ LH(+)-LC(-): تحریک LH به همراه غیر فعال سازی LC. *** نشانگر تفاوت معنی دار با گروه سالین، ††† نشانگر تفاوت معنی دار با p < 0.001 در مقایسه با گروه تحریک LH.

ANOVA دوطرفه با تست متعاقب Bonferroni نشان داد که اختلاف معنی داری در پاسخ بی دردی در اثر تزریق

اثر غیر فعال سازی برگشت پذیر هسته LC بر پاسخ بی دردی ناشی از تحریک ناحیه LH با کارباکول: آنالیز



شکل ۴- اثر تزریق آنتاگونیست اورکسین A (SB-33486) داخل لوکوس سرولتوس، بر پاسخ به درد در تحریک شیمیایی هیپوتالاموس جانبی در طول ۶۰ دقیقه بعد از تزریق دارو در آزمون پس کشیدن دم. حیوانات گروه Saline-DMSO به طور یک طرفه مورد تزریق سالین در LH و DMSO در LC قرار گرفته اند. تزریق SB-33486-A به داخل LC منجر به رفع اثر بی دردی ناشی از تحریک LH می شود. داده ها به صورت Mean \pm SEM نشان داده شده است. LC، هسته لوکوس سرولتوس؛ LH، هیپوتالاموس جانبی، *** نشانگر تفاوت معنی دار با گروه DMSO-Saline، ††† نشانگر تفاوت معنی دار با p < 0.001 در مقایسه با گروه DMSO-Carbachol.

تفاوت معنی داری را در پاسخ بی دردی به تزریق کارباکول به LH با تزریق همزمان SB-334867 به LC در مقایسه با گروه کنترل نشان داد [Factor treatment: $F(3,152)=72.24$, $p<0.0001$; Factor post-injection time: $F(6,152)=4.328$, $p=0.0005$ and Interaction: $F(18,152)=10.65$, $p<0.0001$]. شکل ۴ نشان می دهد که اثر بی دردی ناشی از کارباکول در اثر تزریق SB-334867 به داخل LC از بین می رود ($p<0.001$). نتایج به دست آمده نشان داد تفاوت معنی داری بین گروه کارباکول-SB-334867 و گروه کنترل در کلیه زمانها وجود ندارد. همچنین تفاوت معنی داری بین گروه کارباکول-SB-334867 وجود نداشت.

بحث

هدف این مطالعه بررسی دخالت LC در پاسخهای بی دردی ایجاد شده بوسیله تحریک LH در رت و دخالت

کارباکول به داخل LH بوجود می آید.

[Factor treatment: $F(3,134)=35.83$, $p<0.0001$; Factor post-injection time: $F(5,134)=7.268$, $p<0.0001$ and Interaction: $F(15,134)=6.06$, $p<0.0001$]

شکل ۳ نشان می دهد که تزریق به تنهایی کارباکول (125nmol/0.5 μ l) یک طرفه به داخل LH منجر به افزایش MPE (بی دردی ناشی از تحریک LH) در ۵ و ۱۰ دقیقه می شود. ($P<0.0001$). در ۵ و ۱۰ دقیقه بعد از تزریق اثر بی دردی ناشی از تزریق کارباکول بوسیله تزریق لیدو کائین به داخل LC (غیر فعال سازی برگشت پذیر) برطرف می گردد ($p<0.001$). تفاوت معنی داری مابین MPE گروه LH فعال شده و LC غیر فعال شده و گروه غیر فعال سازی LC در کلیه زمانها وجود نداشت.

اثر تزریق SB-334867 داخل هسته LC بر پاسخ بی دردی ناشی از تحریک ناحیه LH با کارباکول: آزمون ANOVA دوطرفه به همراه آزمون متعاقب Bonferroni

نشانه‌گر دخالت فیبرهای عبوری از پل مغزی، به جای وجود نورونهای آدرنژیک فیبر دهنده به سطح نخاع، به عنوان واسطه های ساقه مغزی بی دردی حاصل از تحریک الکتریکی LH هستند و قادر به پاسخگویی به مکانیسم اثر بی دردی توسط LH نیست [۱]. West و Proudfit [۳۲] نشان داده اند که برخی تفاوت‌های نژادی موشها در عصب دهی شاخ خلفی توسط LC یا ناحیه A7 مابین موشهای نژاد Sprague-Dawley با نژاد هارلان و یا بین نژاد Sprague-Dawley با نژاد Sasco وجود دارد. این گروه نشان داده اند که در موشهای هارلان، LC به شاخ خلفی نخاع و A7 به شاخ قدامی عصب دهی می کنند. در حالیکه در موشهای Sasco این موضوع برعکس است. در مطالعه Holden [۱۶] از موشهای نوع Sprague-Dawley مشتق از Sasco استفاده شده که سلولهای A7 به شاخ خلفی عصب دهی می کنند و در نتیجه پاسخ بی دردی در اثر تحریک LH در این مطالعه دیده شده است. در مطالعه Aimome [۱] از موشهای نژاد Sprague-Dawley استفاده شده است ولی اشتقاق نژادی مشخص نیست. به نظر می رسد این تفاوت‌های زیر نژادی همچنین جنسیتی ممکن است در وجود این تناقضات دخیل باشد. مطالعه ما بیانگر این موضوع است که ارتباطی بین LH و LC به شاخ خلفی نخاع در رتهای ویستار نر وجود دارد که این مسئله توسط یافته ای آناتومیک تایید شده است [۵]. همچنین ممکن است این تناقضات ناشی از فاکتورهای دیگری نظیر نوع تحریک LH (شیمیایی یا الکتریکی) و یا محل‌های تزریق لیدوکائین (نواحی LC و زیر LC و نه LC تنها) و مدل‌های آزمایشگاهی باشد. همچنین لازم به ذکر است مطالعه این دو گروه محققین در مدل‌های بیهوشی سبک انجام شده در حالی که مطالعه ما روی حیوان بیدار و هوشیار بوده است.

مه‌ار برگشت پذیر LC به تنهایی توانست TFL را تحت تاثیر قرار دهد. نشان داده شده است که درجه فعالیت خود بخودی مسیره‌های نورآدرنژیک نزولی فعالیتی متوسط دارند. به هر حال به عنوان تابعی از محیط درونی یا بیرونی موجود زنده تغییرات در فعالیت LC سهم عمده ای در نوسانات شدت مه‌ار نزولی دارد [۲۱]. فقدان اهمیت در مه‌ار درد به دنبال غیر فعال سازی LC بدون فعال سازی LH، نشانگر این موضوع است که احتمالاً ورودیه‌های LC به شاخ خلفی به صورت تونیک در

گیرنده های اورکسینی نوع A در این پدیده بوده است، یافته‌های عمده این مطالعه بدین شرح است: (۱) تحریک شیمیایی LH بوسیله کارباکول منجر به اثر بی دردی در آزمون پس کشیدن دم می شود. (۲) تزریق لیدوکائین به داخل LC منجر به برطرف شدن اثر بی دردی ناشی از کارباکول شده (۳) تزریق لیدوکائین به داخل LC در غیاب اثرات بی دردی LH منجر به کاهش غیر معنی داری در پاسخ تاخیری در مقایسه با رت‌های دریافت کننده سالین می گردد. (۴) تزریق SB-334867 به داخل LC منجر به رفع اثر بی دردی ناشی از تحریک شیمیایی LH می گردد.

نتایج قسمت اول آزمایشات در این مطالعه با مطالعات قبلی انجام شده در این زمینه همخوانی داشته و نشان می دهد که تحریک LH می تواند منجر به ایجاد پاسخ بی دردی شود. اهمیت مطالعه اخیر در نشان دادن نقش LC در این پدیده است. بر اساس مطالعات قبلی تحریک الکتریکی LH یا تزریق کارباکول در این ناحیه منجر به پاسخ بی دردی می گردد که در اثر فعال شدن نورونهای نور آدرنژیک فیبر رسانی کننده به سطح نخاع است [۱۶، ۲]. مه‌ار رفلکس بی دردی پس کشیدن دم [۲] و انتقال درد نخاعی [۷] بوسیله تحریک الکتریکی در LH از نقش LH در سیستم مه‌ار نزولی درد در نخاع حمایت می کند. به هر حال تحریک LH باعث فعال شدن ۲ دسته نورون های نورآدرنژیک می شود که دارای ۲ دسته اثر متفاوت در سطح نخاع هستند. یکی از این دسته ها منجر به مه‌ار پاسخ درد با فعال شدن گیرنده های α_2 آدرنژیک شده در سطح شاخ خلفی نخاع شده و دیگری باعث تسهیل درد بواسطه گیرنده های α_1 می شود [۱۶].

از سوی دیگر نشان داده شده است که تزریق لیدوکائین به داخل نواحی ساقه مغزی منجر به افزایش معنی داری در آستانه تحریک در LH برای مه‌ار پاسخ در آزمون پس کشیدن دم می شود که این مسئله نشانگر وجود مسیره‌های عصبی واسطه‌گری کننده مه‌ار نزولی از LH در این نواحی هستند [۱].

برخی یافته‌های متناقض در رابطه با نقش نواحی نزدیک LC در بی دردی ناشی از LH وجود دارد برای مثال گزارش شده است که تزریق لیدوکائین در ناحیه خلفی جانبی پل مغزی در نزدیکی نواحی LC و هسته زیر LC نمی تواند آستانه تحریک در LH را تغییر دهد [۱]. یافته‌های این مطالعه

است که حداقل قسمتی از اثر بی دردی حاصل از تحریک ناحیه LH ناشی از فعال شدن نورونهایی از LC باشد که با ارسال پیام به نخاع با واسطه نورونهای نورآدرنژیک جلوی انتقال پیام درد را می گیرند، از سوی دیگر یافته های این تحقیق نشان می دهد مسیر فعال کننده ای که از LH به LC مسیری اورکسینی است که به عنوان تعدیل کننده در فرآیند پردازش درد در LC عمل می نمایند.

سپاسگزاری

این تحقیق به عنوان قسمتی از پایان نامه دوره دکترای فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس و با بودجه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به شماره طرح آ-۱۲۴۰-۸۶ انجام شده است.

References

- [1] Aimone LD, Bauer CA, Gebhart GF, Brain-stem relays mediating stimulation-produced antinociception from the lateral hypothalamus in the rat. *J Neurosci* 8 (1988) 2652-63.
- [2] Aimone LD, Gebhart GF, Spinal monoamine mediation of stimulation-produced antinociception from the lateral hypothalamus. *Brain Res* 403 (1987) 290-300.
- [3] Behbehani MM, Park MR, Clement ME, Interactions between the lateral hypothalamus and the periaqueductal gray. *J Neurosci* 8 (1988) 2780-7.
- [4] Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, Irving EA, Sammons MJ, Wyles M, et al., Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties. *Pain* 92 (2001) 81-90.
- [5] Bourgin P, Huitron-Resendiz S, Spier AD, Fabre V, Morte B, Criado JR, et al., Hypocretin-1 modulates rapid eye movement sleep through activation of locus coeruleus neurons. *J Neurosci* 20 (2000) 7760-5.
- [6] Carlsson A, Falck B, Fuxe K, Hillarp NA. Cellular localization of monoamines in the spinal cord. *Acta Physiol Scand* 60 (1964) 112-9.
- [7] Carstens E, Fraunhoffer M, Suberg SN, Inhibition of spinal dorsal horn neuronal responses to noxious skin heating by lateral hypothalamic stimulation in the cat. *J Neurophysiol* 50 (1983) 192-204.

رتهای ویستار فعالیت کمی دارند. این امر ممکن است ناشی از تفاوتهای زیر نژادی ذکر شده در این پدیده باشد. در مطالعات قبلی نشان داده اند که اورکسین دارای اثرات بی دردی می باشد [۳۳،۲۲،۴] حتی در تحقیقی نشان داده اند که توان ایجاد بی دردی اورکسین با مورفین برابری می کند [۴] با توجه به اینکه LH محل اصلی تجمع نورونهای اورکسینرژیک بوده [۲۵،۲۳] و بیشترین میزان عصب دهی اورکسینی را به LC دارد [۲۵،۱۳،۱۰] نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اورکسین علاوه بر اثرات بی دردی که در تزریق icv و it دارد به طور موضعی نیز می تواند در نواحی خاصی از مغز نظیر LC که در پردازش درد دخیلند اثرات بی دردی اعمال نماید. به طور خلاصه نتایج این تحقیق حمایت کننده این تئوری

- [8] Cechetto DF, Saper CB, Neurochemical organization of the hypothalamic projection to the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol* 272 (1988) 579-604.
- [9] Dafny N, Dong WQ, Prieto-Gomez C, Reyes-Vazquez C, Stanford J, Qiao JT, Lateral hypothalamus: site involved in pain modulation. *Neuroscience* 70 (1996) 449-60.
- [10] Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, et al., Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (1999) 748-53.
- [11] Franco AC, Prado WA, Antinociceptive effects of stimulation of discrete sites in the rat hypothalamus: evidence for the participation of the lateral hypothalamus area in descending pain suppression mechanisms. *Braz J Med Biol Res* 29 (1996) 1531-41.
- [12] Greco MA, Shiromani PJ, Hypocretin receptor protein and mRNA expression in the dorsolateral pons of rats. *Brain Res Mol Brain Res* 88 (2001) 176-82.
- [13] Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, et al., Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (1999) 10911-6.
- [14] Hirata H, Aston-Jones G, A novel long-latency response of locus coeruleus neurons to noxious stimuli: mediation by peripheral C-fibers. *J Neurophysiol* 71 (1994) 1752-

- 61.
- [15] Hirota K, Kushikata T, Kudo M, Kudo T, Lambert DG, Matsuki A, Orexin A and B evoke noradrenaline release from rat cerebrocortical slices. *Br J Pharmacol* 134 (2001) 1461-6.
- [16] 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* 911 (2001) 27-36.
- [17] Holden JE, Pizzi JA, Lateral hypothalamic-induced antinociception may be mediated by a substance P connection with the rostral ventromedial medulla. *Brain Res* 1214 (2008) 40-9.
- [18] Holden JE, Van Poppel AY, Thomas S, Antinociception from lateral hypothalamic stimulation may be mediated by NK(1) receptors in the A7 catecholamine cell group in rat. *Brain Res* 953 (2002) 195-204.
- [19] Jones SL, Descending control of nociception. In: Light AH (Ed.), *The Initial Processing of Pain and Its Descending Control: Spinal and Trigeminal Systems*, Vol: Pain and Headache, Karger, Basle, 1992, p. 201-95.
- [20] Jones SL, Descending noradrenergic influences on pain. *Prog Brain Res* 88 (1991) 381-94.
- [21] Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66 (2002) 355-474.
- [22] Mobarakeh JI, Takahashi K, Sakurada S, Nishino S, Watanabe H, Kato M, et al., Enhanced antinociception by intracerebroventricularly and intrathecally-administered orexin A and B (hypocretin-1 and -2) in mice. *Peptides* 26 (2005) 767-77.
- [23] Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K, Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res* 827 (1999) 243-60.
- [24] Paxinos G, Watson CR, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Elsevier Academic Press, San Diego, 2007.
- [25] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, et al., Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 18 (1998) 9996-10015.
- [26] Proudfit HK, Pharmacologic evidence for the modulation of nociception by noradrenergic neurons. *Prog Brain Res* 77 (1988) 357-70.
- [27] Sajedianfard J, Khatami S, Semnani S, Naghdi N, Jorjani M, In vivo measurement of noradrenaline in the locus coeruleus of rats during the formalin test: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 512 (2005) 153-6.
- [28] Singewald N, Philippu A, Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. *Prog Neurobiol* 56 (1998) 237-67.
- [29] Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Guan XM, Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Lett* 438 (1998) 71-5.
- [30] Tsuruoka M, Willis WD, Bilateral lesions in the area of the nucleus locus coeruleus affect the development of hyperalgesia during carrageenan-induced inflammation. *Brain Res* 726 (1996) 233-6.
- [31] Ungerstedt U, Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand* Suppl 367 (1971) 1-48.
- [32] West WL, Yeomans DC, Proudfit HK, The function of noradrenergic neurons in mediating antinociception induced by electrical stimulation of the locus coeruleus in two different sources of Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 626 (1993) 127-35.
- [33] 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* 137 (2002) 170-6.
- [34] Yeomans DC, Proudfit HK, Antinociception induced by microinjection of substance P into the A7 catecholamine cell group in the rat. *Neuroscience* 49 (1992) 681-91.