



Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin-induced nociceptive behaviors.

Hassan Azhdari Zarmehri, Saeed Semnanian*, Yaghoub Fathollahi

Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 28 May 2008

Revised: 23 Sep 2008

Accepted: 12 Oct 2008

Abstract

Introduction: Orexin-A and B (Hypocretin 1 and 2) are neuropeptides that are mostly expressed in the posterior and lateral hypothalamus (LH). Intracisternal (ICV) and intratechal (IT) injections of orexin-A (hypocretin-1) have been shown to elicit analgesic responses in formalin test. However, the locations of central sites that may mediate these effects have not been clearly elucidated. Orexin-containing fibers are projected to periaqueductal gray matter (PAG), which is involved in pain modulation.

Methods: Behavioral study was done on male Sprague Dawley rats (200-300 g) in formalin induced nociceptive behaviour.

Results: Intra-PAG microinjection of orexin-A produced a dose-dependent inhibition of formalin-evoked behaviour in interphase and phase 2, but not in phase 1, indicating an antinociceptive role of exogenous orexin-A in the PAG. Analgesic effect of orexin-A was less than and specific to inter- and late phase of formalin test, when compared with that of morphine (5 µg/0.5µl) after intra-PAG administration.

Conclusion: The obtained results suggest that orexin-A plays an anti-nociceptive role in PAG, on the interphase and late phase of formalin test in rats. So it is possible that orexin-A might be involved in the mechanisms of inter- and last phases of formalin induced behaviours.

Keywords: orexin-A, analgesic, periaqueductal gray matter, formalin test, morphine

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

مقایسه اثر بی‌دردی ناشی از تزریق اورکسین A و مرفین بداخل ماده خاکستری دورقنات بر رفتار القا شده توسط فرمالین

حسن اژدری زرمهری، سعید سمنانیان*، یعقوب فتح الهی

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت: ۸ خرداد ۸۷ بازبینی: ۲ مهر ۸۷ پذیرش: ۲۱ مهر ۸۷

چکیده

مقدمه: اورکسین A و B (هیپوکرتین ۲۱) در هیپوتالاموس جانبی بیان می‌شوند و بی‌دردی ناشی از اورکسین A بعد از تزریق داخل بطن مغزی و تزریق داخل نخاعی نشان داده شده است، ولی هسته‌ها و مراکز مغزی که این بی‌دردی را وساطت می‌کنند، مشخص نشده است. چندین مطالعه ارتباط اورکسینرژیک بین هیپوتالاموس جانبی با ماده خاکستری دورقناتی را نشان داده است. بنابراین در این مطالعه اثرات تزریق داخل ماده خاکستری دورقناتی اورکسین A را روی پاسخ رفتاری به درد در آزمون فرمالین بررسی و با مرفین مقایسه شد.

روش‌ها: مطالعه رفتاری در مدل درد التهابی بوسیله فرمالین در موش‌های صحرایی سفید، نژاد Sprague Dawley و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم، تهیه شده از انستیتو رازی، انجام شد.

یافته‌ها: تزریق داخل ماده خاکستری دورقناتی اورکسین A سبب کاهش رفتارهای درد در مرحله اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شد (دوز ۵ و ۱۰ و ۲۰ نانومول)، در حالی که روی مرحله ۱ تأثیری نداشت. تزریق داخل ماده خاکستری دورقناتی مرفین رفتارهای درد را در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شدیداً کاهش داد. در مقایسه با مرفین، اورکسین A تأثیر کمتری در مرحله فاز ۲ و ۱ آزمون فرمالین داشت. تزریق جانبی‌تر نسبت به ماده خاکستری دورقناتی اورکسین A هیچ تأثیری روی رفتارهای درد آزمون فرمالین نداشت.

نتیجه‌گیری: تزریق داخل ماده خاکستری دورقناتی اورکسین A سبب کاهش رفتارهای درد در مرحله اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شد. ممکن است اورکسین A سبب با مکانیسم‌های رفتارهای درد در مرحله اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین درگیر باشد.

واژه‌های کلیدی: اورکسین A، بی‌دردی، ماده خاکستری دورقناتی، آزمون فرمالین و مرفین

مقدمه

خاکستری دورقناتی (PAG) سبب بی‌دردی می‌شود. LH قسمتی از سیستم پایین رو به شاخ خلفی نخاع است و در تعدیل درد درگیر می‌باشد [۱۱، ۱۷، ۳۱]. مطالعات رفتاری نقشی را برای PAG در بی‌دردی القاء شده توسط LH پیشنهاد می‌کنند [۱۶، ۲۷، ۲۸]. علی‌رغم نقش شبکه عصبی درگیر در تعدیل درد در PAG، نورترانسمیترهای درگیر و چگونگی عملکرد آنها بر روی این شبکه مشخص نشده است. احتمالاً شناختن این

چندین سیستم تعدیل درد در سیستم اعصاب مرکزی (CNS)، پاسخ به تحریک دردزا را تعدیل می‌کنند. تحریک هیپوتالاموس جانبی (LH) از طریق رله اطلاعات به ماده

ssemnan@modares.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

پنجه پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه ای از رفتارهای القاء شده با فرمالین و رفتارهای خودبخودی را نشان داد که نمره ۰ تا ۳ داده شد:

- ۰- پای حیوان بطور طبیعی روی زمین بود، ۱- پای حیوان مختصری روی زمین بود، ۲- پای حیوان از زمین کنده بود و ۳- حیوان پایش را گاز می گرفت و یا لیس می زد.

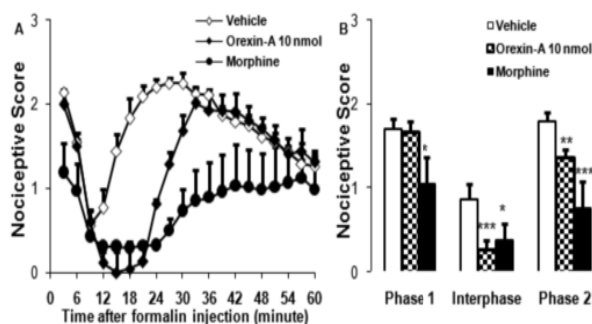
برای ریزتزریق داروها، ابتدا کانول گذاری هسته براساس مختصات آن در اطلس پاکسینوس [۱۹] انجام می شد و پس از بهبودی (یک هفته بعد) حیوانات برای تست رفتاری آماده می شدند. در روز آزمایش، داروها در هر گروه (که در زیر آمده است) با استفاده از سرنگ هامیلتون (Hamilton syringe) و لوله پلی اتیلن (PE-100) با کانول گیج ۳۰ (0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$) تزریق می شد. روش تزریق دارو در گروه های مختلف به صورت ریزتزریق بود. برای انجام تزریق داروها و ترکیبات، کانول های تزریق و راهنما در هسته مورد آزمایش تعبیه می شد. برای کانول گذاری، حیوان پس از بیهوش شدن در دستگاه استرنوتاکیسی مستقر می شد و پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده می شد. پس از کنار زدن بافت های پوششی اطراف نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و با توجه به فاصله آنها ونسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس [۱۹] نواحی سطح جمجمه متعلق به هسته مورد آزمایش مشخص می شد. بعد از علامت گذاری مناطق فوق با استفاده از مته های دندان پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه قطر کانول راهنما، که معمولاً از سرسنگ نمره ۲۳ است، ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه ۵ سانتی در درون مغز مستقر شده و قسمت رویی آن درروی جمجمه بوسیله سیمان دندان پزشکی ثابت می شد. دو پیچ کوچک (پیچ عینک) در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان دندان پزشکی فرو می رفت. این دو پیچ در حکم مسلح سازی سیمان بوده واز جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می کرد. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه بوسیله درپوش خاصی مسدود بود و فقط در زمان های تزریق دارو برداشته می شد. یک کانول نازکتر که از سوزن نمره ۳۰ بود به اندازه ای که ۲ میلی متر طویل تر از نوک کانول راهنما باشد تهیه واز یک طرف به یک لوله نازک پلی اتیلن وصل می شد. سر دیگر لوله پلی اتیلن به سیستم ریزتزریق وصل شده و مقدار مشخص حجم ماده تزریقی در قسمت نوک کانول تزریق وارد می کرد. بعد از اتمام جراحی موش یک هفته دوره بهبودی را طی می کرد.

نوروترانسمیترها بتواند درک های متفاوت ناشی از یک محرک درد را در حالات روحی- روانی مختلف توجیه کند. اورکسین A و اورکسین B (هیپوکرتین ۱ و هیپوکرتین ۲) در نورون های پری فورنیکال، قسمت جانبی و شکمی هیپوتالاس یافت می شوند [۱۳،۴۰]. ساکورای (Sakurai) و همکارانش در سال ۱۹۹۸ دو گیرنده اورکسین جفت شونده با پروتئین G را توصیف کردند. مطالعات مورفولوژیکی ثابت کرده است که نورون ها و فیبرهای اورکسین در مناطق مختلف مغزی که درگیر در تعدیل درد هستند شامل: شاخ خلفی نخاع، هیپوکامپ، هیپوتالاموس، هسته رافه مگنوس (NRM)، LH، قشر مغزی، قسمت سری-شکمی بصل النخاع (RVM) و PAG توزیع شده است [۹،۱۲،۳۶،۳۸،۴۷،۴۹]. اورکسین در تنظیم عملکردهای بدنی و مغزی مختلف از قبیل تغذیه، هومئوستاز انرژی [۳۹،۴۶،۵۱]، نورواندوکراین، قلب و عروق، خواب [۱۰،۲۴،۴۱]، حرکت، کنترل تون عضله، پاداش و اعتیاد [۴۶،۱۴،۲۳،۲۵،۲۶،۳۷،۵۷] درگیر است. همچنین یافته های اخیر نقش اورکسین را در بی دردی نشان می دهند [۴۵]. با توجه به اینکه هیپوتالاموس جانبی، RVM و PAG به عنوان مناطق درگیر در بی دردی شناخته شده اند ولی نقش اورکسین A در تعدیل درد در این مناطق روشن نشده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات تزریق اورکسین A داخل PAG بر پاسخ رفتاری به درد در آزمون فرمالین می باشد. و به این سوالات پاسخ داده شود:

- آیا تزریق داخل PAG اورکسین A سبب بی دردی در مدل درد التهابی آزمون فرمالین می شود؟
- اثرات بی دردی تزریق داخل PAG اورکسین A در مقایسه با مرفین در مدل درد التهابی آزمون فرمالین چگونه است؟

مواد و روش ها

در این پژوهش از موش های صحرایی سفید، نژاد Sprague Dawley و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم، تهیه شده از انستیتو رازی، در مدل درد التهابی بوسیله فرمالین استفاده شد. در این آزمون به منظور مشاهده و بررسی رفتار های حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد 30×30×30 و از جنس Plexiglass استفاده شد. برای مشاهده پنجه پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف آئینه ای تعبیه شده است. در این تست، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست



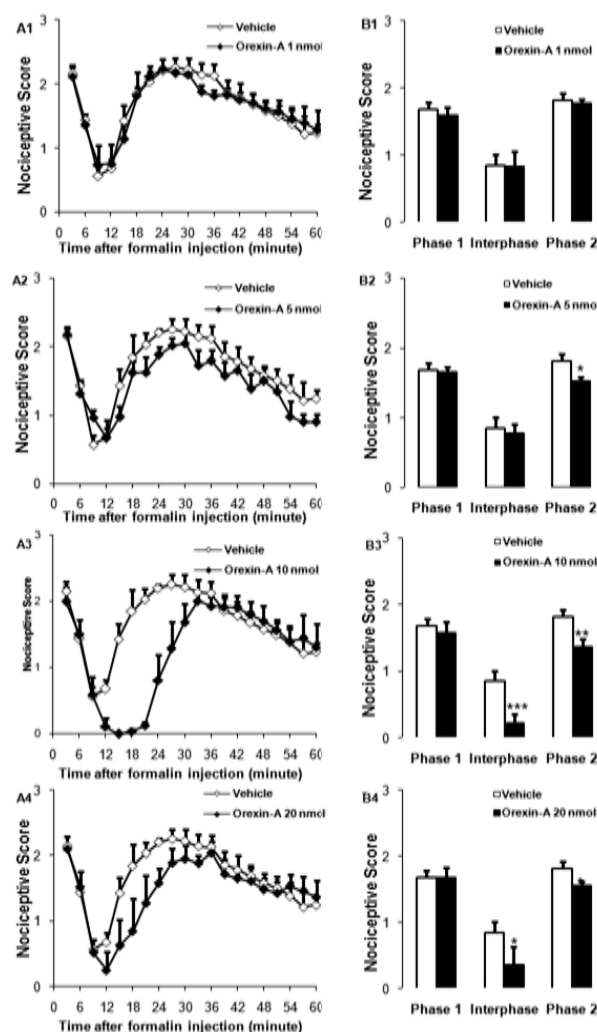
شکل ۳- مقایسه تزریق داخل PAG اورکسین A (۱۰ نانومول) و مرفین (۵ میکروگرم در حجم ۰/۵ میکرولیتر) روی رفتارهای درد آزمون فرمالین برای ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ (B). اختلاف معنی‌دار از سالین (۰/۵ میکرولیتر): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$ و در هر گروه ۵-۷ سر رت استفاده شده است.

یافته‌ها

تزریق فرمالین سبب رفتارهای درد شد که از دو فاز تشکیل شده است. تزریق سالین (۰/۵ میکرولیتر) به عنوان حلال به داخل هسته (ده دقیقه قبل از تزریق فرمالین) تغییری در رفتارهای درد فاز اول و دوم نداشت (شکل ۱).

تزریق داخل PAG اورکسین A در دوزهای ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومول روی رفتارهای درد آزمون فرمالین نشان می‌دهد که تزریق داخل PAG اورکسین A روی رفتارهای درد در فاز اول آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری با گروه حلال نداشتند، در دوز ۱ نانومول هم تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد. در دوز ۵ نانومول فقط سبب کاهش رفتارهای درد در فاز ۲ شد ($P < 0.05$). بهترین دوزی که سبب کاهش رفتارهای درد شد، دوز ۱۰ نانومول بود. اورکسین A سبب کاهش شدید اینترفاز شد ($P < 0.001$) و فاز ۲ را بطور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.01$). در هیچ دوزی تغییر معنی‌داری روی فاز ۱ مشاهده نشد (شکل ۲). در مطالعه بعدی دوز ۱۰ نانومول با مرفین مقایسه شد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود تزریق داخل PAG مرفین سبب کاهش شدید رفتارهای درد در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شده است. اورکسین A اثر کمتری نسبت به مرفین در مرحله ۲ و ۱ داشت ($P < 0.01$).

شکل ۱- مقایسه نمره آزمون فرمالین بین گروه کنترل و گروه حلال (سالین، ۰/۵ میکرولیتر) برای ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ (B).



شکل ۲- مقایسه نمره آزمون فرمالین بین گروه حلال و اورکسین A در دوزهای ۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومول در ۰/۵ میکرولیتر روی رفتارهای درد آزمون فرمالین برای ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ (B) برای وضوح بهتر دوزها بطور جدا نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار از سالین (۰/۵ میکرولیتر): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$ و در هر گروه ۵-۷ سر رت استفاده شده است.

بحث

در این مطالعه اثر تزریق داخل PAG اورکسین A روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین بررسی شده است و این اثر ضددردی با اثر ضددردی مرفین مقایسه شد. تزریق داخل ماده خاکستری دور قناتی اورکسین A سبب کاهش رفتارهای دردی در مرحله اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شد، در حالی که روی مرحله ۱ تأثیری نداشت. تزریق داخل ماده خاکستری دور قناتی مرفین رفتارهای دردی را در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شدیداً کاهش داد، در مقایسه با مرفین، اورکسین A تأثیر کمتری در مرحله فاز ۲ و ۱ آزمون فرمالین داشت. تزریق جانبی تر نسبت به ماده خاکستری دور قناتی اورکسین A هیچ تأثیری روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین نداشت. آزمون فرمالین در این پژوهش به دلایل زیر استفاده شده است: ۱- آزمون فرمالین تحریک دردناک مناسبی را فراهم می کند. ۲- نسبت به مدل های درد حاد، تحریک دردناک در آزمون فرمالین بطور مداوم می باشد و از این جهت می تواند مشابه درد کلینیکی باشد. ۳- حیوان آزمایشگاهی استرس کمتری را تجربه می کند. ۴- آزمون فرمالین دارای دو فاز می باشد که هر فاز نوع متفاوتی از درد را نشان می دهد [۱، ۱۵].

تزریق اورکسین A به داخل PAG به عنوان یکی از مناطق تعدیل کننده درد، می تواند فرصتی را فراهم کند تا نقش اورکسین A در سیستم تعدیل کننده نزولی درد مورد مطالعه قرار گیرد. اورکسین A به مقدار زیادی در LH بیان می شود و معتقدند LH از طریق PAG سبب تعدیل درد می شود [۳]. اخیراً مطالعات نقش اورکسین را در تعدیل درد به دنبال تزریق سیستمیک (داخل بطن مغزی یا داخل نخاع) نشان داده است. بعنوان مثال: اورکسین A زمانی که بصورت داخل وریدی تزریق شده است سبب بی دردی در مدل های درد صفحه داغ در 50°C و پردردی القاء شده توسط کاراگینان (Carrageenan) در موش صحرایی شده است [5] و تزریق داخل نخاعی (i.t.) اورکسین A و نه اورکسین B سبب بی دردی در مدل درد فرمالین و صفحه داغ شده است و این اثرات توسط پیش درمان با آنتاگونیست اختصاصی اورکسین A (SB334867) آنتاگونیزه شده است [۵۴]. تزریق

ICV و IT اورکسین A سبب تضعیف سطح آلودینای مکانیکی بوسیله گر زدن نسبی عصب سیاتیک و آلودینای القاء شده توسط برش شده است [۸، ۵۵، ۵۶]. بعلاوه تزریق ICV اورکسین A در موش سوری، اثرات ضد دردی در همه انواع مدل های درد شامل: درد گرمایی (صفحه داغ - کشیدن پا و کشیدن دم)، مکانیکی (فشار دم)، شیمیایی (فرمالین و کاپسایسین) و کشش شکم نشان داده است. ولی زمانی که دارو زیر جلدی تزریق شد اثری نداشت [۲، ۳۴، ۳۵]. با توجه به اینکه در مطالعات یاد شده اثر بی دردی اورکسین به دنبال تزریق سیستمیک دیده شده است ولی مراکزی که این اثرات را وساطت می کنند، مورد سؤال است. در این مطالعه تزریق اورکسین A به داخل هسته PAG سبب کاهش رفتارهای دردی در اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شد ولی تأثیری بر رفتارهای دردی فاز اول نداشت. احتمالاً، اختلاف اثر اورکسین A در فاز ۱ و ۲ می تواند ناشی از تأثیر اورکسین A بر مکانیسم هایی باشد که در شکل گیری رفتارهای دردی فاز ۱ و ۲ آزمون فرمالین نقش دارند. فاز ۱ ناشی از فعالیت گیرنده های دردی و آوران های محیطی می باشد و فعالیت مسیرهای نزولی مهارری روی نخاع سبب ایجاد مرحله اینتر فاز می شود. فاز ۲ ناشی از فعالیت همزمان آوران های محیطی و تغییرات سیناپسی اعصاب مرکزی می باشد. فعالیت گیرنده های NMDA و NK1 و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی در نرون های شاخ خلفی سبب افزایش حساسیت می شود که در شکل گیری فاز ۲ آزمون فرمالین نقش دارند [۲۹، ۳۲، ۵۰، ۵۲، ۵۳]. ممکن است اورکسین A سبب فعال کردن نسبی و یا تأخیری سیستم تعدیل درد نزولی از طریق PAG شود و احتمالاً اورکسین A در کنترل درد حاد در PAG نقش نداشته باشد. همچنانکه در این مطالعه تزریق اورکسین A به داخل PAG اثری روی درد حاد ناشی از مرحله فاز ۱ آزمون فرمالین نداشت. قبلاً مرحله اینترفاز را به عنوان یک مرحله مهارری غیر فعال می شناختند و شاید به این دلیل مورد توجه زیاد قرار نگرفته بود در حالی که چندین مطالعه گزارش کرده اند که مرحله اینترفاز به صورت فعال ایجاد می شود و بطور درون زاد، نتیجه مکانیسم های متوقف کننده درد می باشد [۲۰-۲۲، ۳۰]. فرانکلین (Franklin) و همکارانش گزارش کردند که پنتوباریتال و دیازپام سبب مهار

منابع

- [1] Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 60 (1995) 91-102.
- [2] 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* 109 (2004) 367-378.
- [3] Behbehani MM, Park MR, Clement ME. Interactions between the lateral hypothalamus and the periaqueductal gray. *J Neurosci* 8 (1988) 2787-2780.
- [4] Bingham MJ, Cai J, Deehan MR. Eating, sleeping and rewarding: orexin receptors and their antagonists. *Curr Opin Drug Discov Devel* 9 (2006) 551-559.
- [5] Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, Irving EA, Sammons MJ, Wyles M, Jeffrey P, Cutler L, Riba I, Johns A, Porter RA, Upton N, Hunter AJ, Parsons AA. Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties. *Pain* 92 (2001) 81-90.
- [6] Boutrel B, Kenny PJ, Specio SE, Martin-Fardon R, Markou A, Koob GF, de LL. Role for hypocretin in mediating stress-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (2005) 19168-19173.
- [7] Chaplan SR, Malmberg AB, Yaksh TL. Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 280 (1997) 829-838.
- [8] Cheng JK, Chou RC, Hwang LL, Chiou LC. Antiallodynic effects of intrathecal orexins in a rat model of postoperative pain. *J Pharmacol Exp Ther* 307 (2003) 1065-1071.
- [9] Ciriello J, McMurray JC, Babic T, de Oliveira CV. Collateral axonal projections from hypothalamic hypocretin neurons to cardiovascular sites in nucleus ambiguus and nucleus tractus solitarius. *Brain Res* 991 (2003) 133-141.
- [10] Collier DA. Orexins, sleep and arousal. *Mol Psychiatry* 5 (2000) 10.
- [11] Dafny N, Dong WQ, Prieto-Gomez C, Reyes-Vazquez C, Stanford J, Qiao JT. Lateral hypothalamus: site involved in pain modulation. *Neuroscience* 70 (1996) 449-460.
- [12] Date Y, Mondal MS, Matsukura S, Nakazato M. Distribution of orexin-A and orexin-B (hypocretins) in

مرحله اینترفاز می‌شود و پیشنهاد کردند که آگونیست‌های GABA، سبب پرده‌برداری از درد مرحله اینترفاز می‌شوند [۱۸]. هنری (Henry) و همکارانش نشان دادند که دو تزریق پی در پی فرمالین به کف پای حیوان سبب کاهش ثانویه در نمره رفتارهای درد بعد از تزریق دوم فرمالین شد، در حالی که انتظار اثر جمعی دو تزریق پی در پی فرمالین به کف پای حیوان وجود داشت. نتیجه شده است که مکانیسم‌های مهارتی فعال مرحله اینترفاز سبب کاهش درد بعد از تزریق دوم فرمالین شده است. آنها این را به فرمی از بی‌دردی غیراپیوئیدی نسبت می‌دهند که از مناطق فوق نخاعی منشأ می‌گیرد و سبب کنترل مهارتی پایین‌رو در طی مرحله اینترفاز می‌شود. احتمالاً اورکسین A از طریق مسیر غیراپیوئیدی سبب افزایش مهار در فاز ۲ آزمون فرمالین شده است. در این تحقیق کاهش رفتارهای درد در قسمت اول فاز ۲ ممکن است طولانی شدن مرحله اینترفاز را منعکس کند. و یا ممکن است اثر مختصر اورکسین A روی رفتارهای درد در فاز ۲ آزمون فرمالین باشد همچنانکه تفاوت معنی داری در فاز ۲ دیده می‌شود. با توجه به اینکه گیرنده های NMDA و GABA در شکل‌گیری مرحله اینترفاز و فاز ۲ نقش دارند و تحقیقات ره‌ایش گلوآتامات و گابا در طی آزمون فرمالین گزارش شده است [۴۲، ۳۳، ۷-۴۴]. ممکن است اورکسین A از طریق تاثیر بر گیرنده های NMDA و GABA و یا تغییر ره‌ایش نوروترنسمیترها سبب کاهش رفتارهای درد در مرحله اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین شده است.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اورکسین از طریق فعال کردن گیرنده هایش در PAG سبب فعال کردن سیستم مهارتی پایین‌رو می‌شود و از این طریق با مکانیسم‌هایی که در شکل‌گیری اینترفاز و فاز دوم نقش دارند مداخله می‌کند و برای شناسایی چنین مکانیسم‌هایی نیاز به مطالعات بیشتر است.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

- [20] Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 958 (2002) 139-145.
- [21] Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 1052 (2005) 105-111.
- [22] Gaumond I, Spooner MF, Marchand S. Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neuroscience* 146 (2007) 366-374.
- [23] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, Mieda M, Willie JT, Eisch AJ, Yanagisawa M, Nestler EJ, DiLeone RJ. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neurosci* 23 (2003) 3106-3111.
- [24] Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, Benham CD, Taylor SG, Routledge C, Hemmati P, Munton RP, Ashmeade TE, Shah AS, Hatcher JP, Hatcher PD, Jones DN, Smith MI, Piper DC, Hunter AJ, Porter RA, Upton N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (1999) 10911-10916.
- [25] Harris GC, Ston-Jones G. Arousal and reward: a dichotomy in Orexin function. *Trends Neurosci* 29 (2006) 571-577.
- [26] Harris GC, Wimmer M, Ston-Jones G. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature* 437 (2005) 556-559.
- the rat spinal cord. *Neurosci Lett* 288 (2000) 87-90.
- [13] de LL, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg EL, Gautvik VT, Bartlett FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 (1998) 322-327.
- [14] DiLeone RJ, Georgescu D, Nestler EJ. Lateral hypothalamic neuropeptides in reward and drug addiction. *Life Sci* 73 (2003) 759-768.
- [15] Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4 (1977) 161-174.
- [16] Fields HL, Malick A, Burstein R. Dorsal horn projection targets of ON and OFF cells in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 74 (1995) 1742-1759.
- [17] 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) 1531-1541.
- [18] Franklin KB, Abbott FV. Pentobarbital, diazepam, and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABAA receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 46 (1993) 661-666.
- [19] G. Paxinos and C. Watson. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (4th and 6th edition), Academic Press, New York (1998 and 2007). 2005.