اثرات تزریق داخل بطن مغزی بلوکر H_1 هیستامین و هیستامین بر پاسخ درد فرمالینی در خرگوش

دکتر اسماعیل تمدن‌فرد[۱]*،دکتر سیامک محمدزاده ریحانی[۲]

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق داخل بطن مغزی هیستامین و آنتاگونیست گیرنده H_1 آن بر پاسخ درد فرمالینی در خرگوش بررسی شده است. تزریقات داخل بطن مغزی هیستامین (۹۰ میکروگرم)، کلرفنیرامین (۱۸۰ میکروگرم) و کلرفنیرامین (۱۸۰ میکروگرم) قبل از هیستامین (۹۰ میکروگرم) از طریق کانول راهنمای کاشته شده در بطن جانبی مغز انجام شد. درد با تزریق زیرجلدی فرمالین (۱۰۰ میکرولیتر، ۵ درصد) در گوش حیون ایجاد و پاسخ درد شامل تعداد تکانهای سر و گوش، در فواصل پنج دقیقه‌ای به مدت یک ساعت ثبت شد. نتایج نشان دادند که فرمالین تعداد تکانهای سر و گوش را در فواصل زمانی مشخص پس از تزریق افزایش داد. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین و کلرفنیرامین پاسخ درد را کاهش دادند و پیش تزریق کلرفنیرامین از کاهش درد ناشی از هیستامین جلوگیری نکرد. با توجه به نتایج می‌توان استنباط نمود که فعال شدن سیستم هیستامینرژیک مغز خرگوش اثر تضعیفی بر روی درد ایجاد می‌کند و این اثر تضعیفی از طریق گیرنده H_1 مرکزی آن به انجام نمی‌رسد.

واژه‌های کلیدی *: هیستامین مغز، بلوکر H_1 هیستامین، درد فرمالینی، خرگوش.*

Intracerebroventricular injection effects of Histamin and H1-antagonist on formalin induced pain response in rabbit

Tamaddon Fard.E[1],Mohammadzadeh Reyhani,S[2]

1-Department of Basic Sciences,Faculty of Veterinary Medicine,Urumie University,Urumie,Iran
2-Graduated of Veterinary Medicine,Islamic Azad University,Tabriz Branch,Tabriz,Iran

In this study the effects of intracerebroventricular (ICV) injection of histamine and its H_1 antagonist was investigated on the formalin-induced pain response in rabbits. ICV injections of histamine (90 μg), chlorpheniramine (180 μg) and chlorpheniramine (180 μg) before histamine injection (90 μg) was performed through a guide cannula which was surgically implanted into the lateral ventricle of brain. Pain induction was performed by subcutaneous injection of formalin (100 μl, 5%) in the ear of the animal, and pain response including the number of head and ear shaking, was recorded at five minute intervals for a total of 1 hours. The results showed that the formalin increased the number of head and ear shaking at the certained post-injection intervals. ICV injection of histamine and chlorpheniramine decreased the pain response and pretreatment with chlorpheniramine did not prevent the histamine-induced antinociception. It is concluded that the activation of brain histaminergic system in rabbits produces a suppressive effect on pain and this suppression is not mediated through its central H_1 receptor.

Key words : *Brain histamine, Histamine H_1- blocker, Formalin-induced pain, Rabbits.*

مقدمه

سیستم هیستامینرژیک مغز از طریق گیرنده‌های H1، H2 و H3 در کنترل بسیاری از اعمال هماهنگ‌کننده و رفتار از جمله بالانس مایعات بدن (٦)، اخذ غذا (۸ و ۱)، عملکرد قلبی – عروقی (۵)، خواب و بیداری (۱۳)، رفتار و اختلالات رفتاری (۱۸ و ۲) دخالت می‌کند. گیرنده‌های H4 هیستامین به تازگی شناخته شده و نقش آن تحت بررسی است (١٦).

براساس مدارکی پیشنهاد کرده‌اند که هیستامین مغز در مکانیسم‌های درد نیز شرکت می‌کند. تزریق هیستامین در داخل بطن مغز، موجب کاهش پاسخ درد در آزمونهای صفحه داغ (hot plate) و تلنگر دمی (tail flick) و فرمالین شده است (۲۱ و ۹). اثر هیستامین مغزی بر درد از طریق گیرنده‌های H_1، H_2 و H_3 مرکزی آن صورت می گیرد. تزریق داخل بطن مغزی ۲ و ۳-تری‌فلوئوروتیل‌فنیل هیستامین (آگونیست H_1) باعث افزایش پاسخ درد در آزمونهای درد صفحه داغ و فشار بر پنجه پا شده است

۱- بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه – ایران (*نویسنده مسئول (E-tamaddonfard@yahoo.com)
۲- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز – ایران

(۱۰). با مهار کردن گیرنده‌های H_1 مرکزی توسط ReN 1869 (آنتاگونیست H1 قابل عبور از سد خونی – مغزی) در آزمونهای شیمیایی و نه حرارتی درد، کاهش پاسخ مشاهده شده است (۱۷).

تزریق زیر جلدی زولانتیدین (آنتاگونیست H_2 قابل عبور از سد خونی – مغزی) اثر ضد درد متوسط در آزمون صفحه داغ موشهای رت ایجاد کرده است (١٤) و تزریق داخل بطن مغزی دیماپریت (آگونیست گیرنده H_2) آستانه درد در آزمون صفحه داغ موش‌های رت را افزایش داده است (۱۵).

تزریق داخل صفاقی تیوپرامید (آنتاگونیست H_3 قابل عبور از سد خونی – مغزی) موجب کاهش درد در موشهای رت شده است (۹). اکثر تحقیقات درد در موشهای رت و سوری انجام شده است.

با توجه به وجود تفاوت در پاسخهای درد بین گونه‌های مختلف حیوانی (۲۳ و ۲۲) و با در نظر گرفتن انتشار نورونهای هیستامینرژیک در مغز خرگوش (۷)، در مطالعه حاضر اثر مرکزی هیستامین و آنتاگونیست H_1 آن، کلرفنیرامین، بر پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به گوش خرگوش بررسی شده است.

مواد و روش کار

در این تجربه از تعداد ۳۰ قطعه خرگوش سفید نیوزیلندی نر با وزن ۳-۲/۵ کیلوگرم استفاده شد.

خرگوشها از مرکز پرورش و نگهداری و تحقیقاتی پیام مرند تهیه و بطور انفرادی در قفسهای آلومینیومی استاندارد در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی – تاریکی ۱۲ ساعت (شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) نگهداری شدند و غذای پلتی تجارتی و آب بطور آزاد دریافت کردند.

حیوانات به ۵ گروه ٦ قطعه‌ای تقسیم و تزریقات زیر با رعایت فاصله زمانی ده دقیقه بین تزریقات، انجام شد:

در گروه اول تزریق داخل بطن مغزی سالین نرمال دوبار و سپس تزریق سالین نرمال به گوش انجام شد.

گروه دوم تزریق داخل بطن مغزی سالین نرمال دو بار و سپس تزریق فرمالین به گوش را دریافت کردند.

در گروه سوم ابتدا تزریق داخل بطن مغزی سالین نرمال و بعد تزریق داخل بطن مغزی هیستامین (۹۰ میکروگرم) و سپس تزریق فرمالین به گوش انجام شد.

گروه چهارم ابتدا کلرفنیرامین (۱۸۰ میکروگرم) و بعد سالین نرمال را به روش داخل بطن مغزی و سپس تزریق زیر جلدی فرمالین به گوش را دریافت کردند.

در گروه پنجم ابتدا کلرفنیرامین (۱۸۰ میکروگرم) و بعد هیستامین (۹۰ میکروگرم) را به روش داخل بطن مغزی و سپس فرمالین به روش زیر جلدی در گوش تزریق شد.

جهت تزریقات داخل بطن مغزی، کانولی از جنس فولاد زنگ نزن(بطول ۱/۸ میلیمتر و به شماره ۲۳) به روش زیر در داخل بطن جانبی مغز قرار داده شد:

پس از بیهوش کردن حیوانات با تزریق داخل عضلانی مخلوطی از کتامین (٤٠ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، سر حیوان در دستگاه استریوتاکسی مغز ثابت شد.

سپس شکافی بطول سه سانتیمتر از وسط خط اتصالی زوایای خلفی چشم‌ها به طرف حیوان بر روی پوست سر داده شد.

پس از مشخص کردن برگما (نقطه تلاقی درزهای استخوانهای پیشانی و آهیانه‌ای) (نگاره ۱) و براساس مختصات بطن جانبی مغز خرگوش (قدامی خلفی: صفر، جانبی: ٤-۳/۵ و ارتفاع از سطح بیرونی جمجمه: ٦/۵-٤/۵ میلیمتر)، کانول راهنما به آرامی در داخل بطن مغز قرار داده شد. سپس دو عدد پیچ ریز استانلیس استیل در اطراف

کانول در استخوان جمجمه پیچ شد و روی پیچ‌ها و اطراف کانول با سیمان دندانپزشکی پر شد.

خروج مایع مغزی نخاعی ضربان‌دار از نوک کانول دلیل بر صحت کانول گذاری بود.

به منظور جلوگیری از خروج بیشتر مایع مغزی نخاعی و بسته شدن سطح داخلی کانول، یک تکه سیم استانلیس استیل به طول ۱/۹ میلیمتر در داخل کانول قرار داده شد.

پس از بخیه کردن پوست تزریق آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۶۰۰۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) انجام شد.

در روزهای تجربه، نیم‌ساعت قبل از تزریق داخل بطن مغزی، آب و غذا از قفس حیوان برداشته شد.

سپس تزریق داخل بطن مغزی هر بار به حجم سه میکرولیتر با سر سوزن شمارهٔ ۲۸ متصل به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری انجام شد.

درد با تزریق زیر جلدی فرمالین ۵ درصد به حجم ۱۰۰ میکرولیتر در سطح خارجی گوش و نزدیکی شریان مرکزی گوش با سرسوزن شمارهٔ ۲۹ ایجاد و پاسخ درد شامل تکانهای سر و گوش برای مدت یکساعت فیلمبرداری و توسط افراد بی اطلاع از نوع تزریقات در فواصل پنج دقیقه ای مشاهده و یادداشت شد.

تعداد تکانهای سر و گوش در فواصل پنج دقیقه‌ای متوالی با آنالیز واریانس مکرر و سپس تست دانکن و در فواصل زمانی ۵-۰، ۱۰-۵، ۳۰-۲۵ و کل یک ساعت با آنالیز واریانس یکطرفه و سپس تست دانکن تجزیه و تحلیل شدند (۱۹).

نمودارها بر اساس $\text{mean} \pm \text{SEM}$ رسم و داده‌ها در سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ ارزیابی شده‌اند.

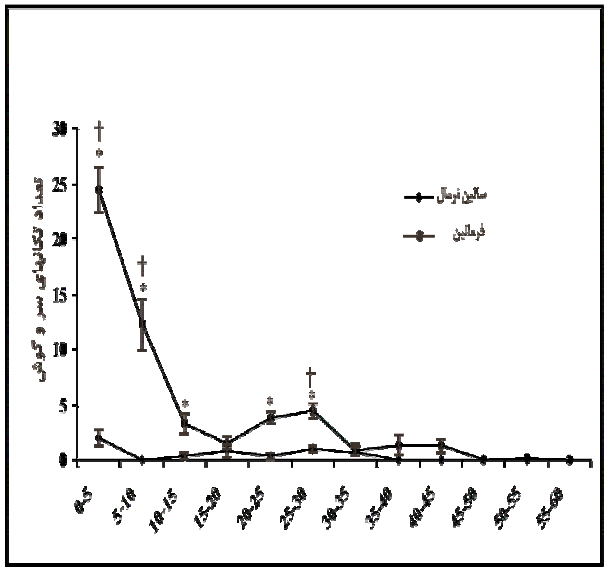
نتایج

تزریق سالین نرمال به گوش خرگوش پاسخ درد قابل ملاحظه‌ای ایجاد نکرد در حالیکه متعاقب تزریق فرمالین به سطح خارجی گوش، پاسخهای درد در فواصل زمانی ۵-۰، ۱۰-۵، ۱۵-۱۰، ۲۵-۲۰، ۳۰-۲۵ دقیقه و یک ساعت تمام در مقایسه با سالین نرمال بطور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت.

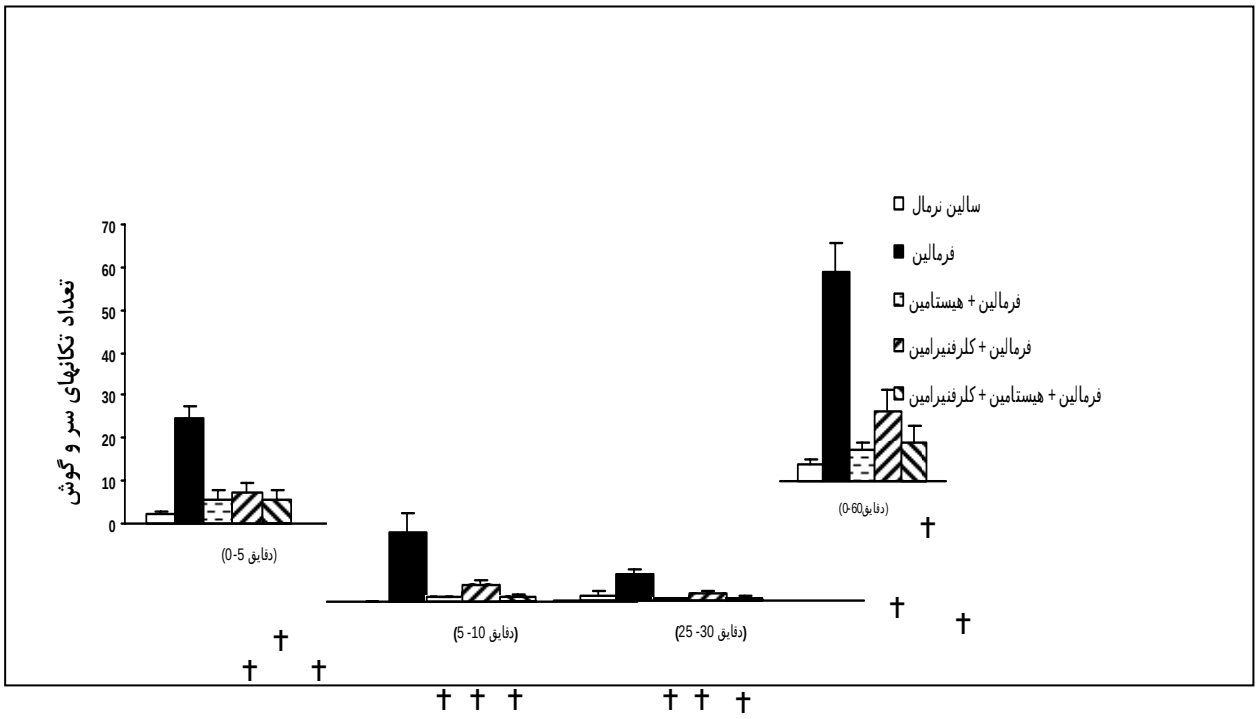
در مقایسه پنج دقیقه های متوالی با همدیگر، تزریق فرمالین باعث افزایش معنی دار ($p<۰/۰۵$) پاسخ درد در دقایق ۵-۰، ۱۰-۵، ۳۰-۲۵ و کل یک ساعت پس از تزریق شد (نمودار ۱).

بر اساس نتایج نمودار ۱، نتایج اثر هیستامین و کلرفنیرامین در دقایق ۵-۰، ۱۰-۵، ۳۰-۲۵ و کل یکساعت تجزیه و تحلیل شده‌است.

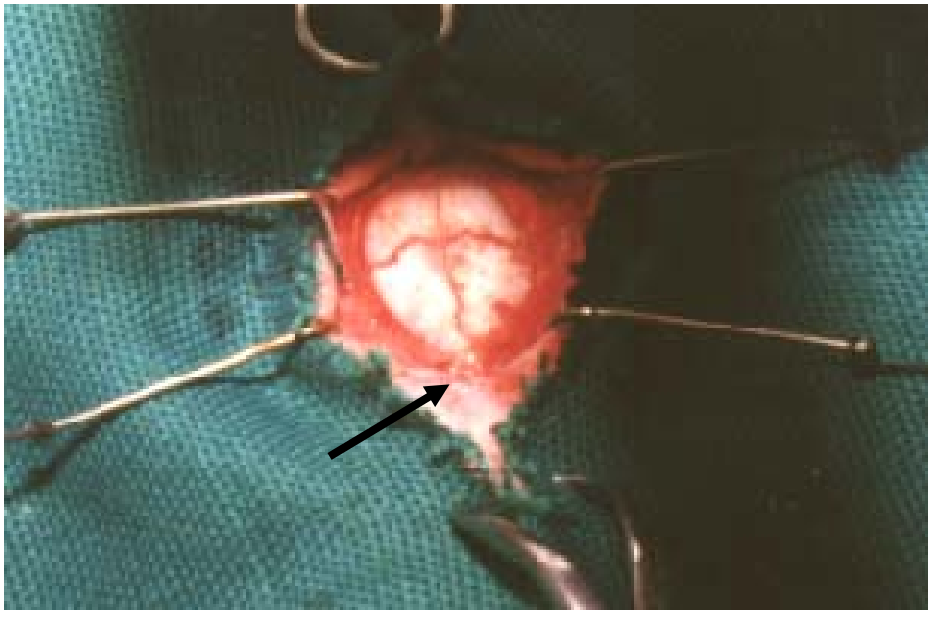
تزریق داخل بطن مغزی هیستامین و کلرفنیرامین موجب کاهش معنی دار ($p<۰/۰۵$) پاسخ درد در فواصل زمانی ۵-۰، ۱۰-۵، ۳۰-۲۵ دقیقه و کل یکساعت پس از تزریق شد. تزریق داخل بطن مغزی کلرفنیرامین قبل از هیستامین از کاهش درد هیستامینی در هیچیک از فواصل زمانی مذکور جلوگیری نکرد(نمودار ۲).



نمودار ۱- پاسخ درد (تعداد تکانهاي سر و گوش) متعاقب تزریق زیرجلدي سالین نرمال و فرمالین به سطح خارجي گوش خرگوش$p<۰/۰۵$: * در مقایسه با سالین نرمال،$p<۰/۰۵$: † در مقایسه با سایر پنج دقیقه‌ها ،n : ۵ قطعه خرگوش در هر گروه .



نمودار ۲- اثر تزریق داخل بطن مغزي هیستامین و کلرفنیرامین و کلرفنیرامین قبل از هیستامین بر پاسخ درد (تعداد تکانهاي سر و گوش) ناشي از تزریق زیر جلدي فرمالین به گوش خرگوش.
p<۰/۰۵ : * در مقایسه با سالین نرمال ،p<۰/۰۵ : † در مقایسه با فرمالین ،n : 5 قطعه خرگوش در هر گروه .



نگاره ۱ - محل جراحي که در آن برگما (محل تلاقي درزهاي استخوانهاي پیشاني و آهیانهاي) با پیکان توپر نشان داده شده است.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش دادن میزان فعالیت سیستم هیستامینرژیک مغز متعاقب تزریق برون‌زاد هیستامین، اثر کاهش دهنده درد در مدل التهابی درد در خرگوش ایجاد می شود. این اثر از طریق گیرنده‌های H_1 هیستامین واسطه‌گری نشد چون پیش تزریق کلرفنیرامین (آنتاگونیست H_1) از کاهش درد هیستامین جلوگیری نکرد

اگر چه خود کلرفنیرامین پاسخ درد را کاهش داد. هیستامین در سراسر بدن بعنوان یک پیامبر شیمیایی عمل می‌کند و بوسیله انواع مختلفی از سلولها شامل ماست‌سل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها، سلولهای شبه آنتروکرومافین، سلولهای آندوتلیال و نورونها ساخته می‌شود (۲۰). اجسام سلولی نورونهای سازنده هیستامین در هیپوتالاموس خلفی و در هسته توبروماميلاری متمرکز و از آنجا آکسونهای هیستامینرژیک تقریباً به تمام نقاط مغز ازجمله نقاط درگیر در مکانیسم‌های درد فرستاده شده‌اند (٦). اثر کاهش‌دهنده درد ناشی از هیستامین با تزریق آمین به داخل بطنهای مغز و یا هسته‌های درگیر در مکانیسم‌های درد در مدل‌های مختلف درد تا حدودی مشخص شده است. تزریق هیستامین به داخل بطن مغز، موجب کاهش پاسخهای درد در آزمونهای حرارتی و مکانیکی درد در موشهای سوری و رت شده است (۹). در موشهای سوری، تزریق هیستامین به داخل بطن مغز موجب کاهش پاسخ هر دو مرحله درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است (۲۱). با تغییر دادن سطح هیستامین مغز نیز اثر کاهش دهنده درد ایجاد می‌شود چون تزریق داخل بطن مغزی مهار کننده‌های هیستامین – N – متیل ترانسفراز و در نتیجه افزایش دهنده‌های هیستامین مغزی مثل SKF 1488 و BW 301U کاهش واکنشهای درد حرارتی و مکانیکی گزارش شده است (۱۱).دیده شده است که تزریق داخل صفاقی هیستیدین (اسید آمینه پیش‌ساز هیستامین) در مقادیر بالا پاسخهای درد حرارتی و مکانیکی را در موشهای سوری و رت کاهش می دهد (۹). هم‌چنین تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر بالا،پاسخهای درد فرمالینی را کاهش و پیش تزریق آن موجب تقویت اثر کاهش دهنده درد هیستامین مغزی می شود (۲۱). ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که اثر کاهش دهنده درد هیستامین مغزی وابسته به سیستم اپیوئیدی است چون تزریق داخل بطن مغزی هیستامین اثر کاهش‌دهنده درد ناشی از مرفین را تقویت می کند(۳).بر اساس مطالعات انجام شده ونیز استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 هیستامین، مطرح کرده‌اند که گیرنده H_1 هیستامین در واکنشهای موضعی، انتقال و درک درد نقش دارد. تزریق زیرجلدی میپرامین (آنتاگونیست H_1) موجب کاهش درد در موشهای رت شده است و تزریق زیرجلدی ۲و۳-تری فلوئورومتیل فنیل هیستامین (آگونیست H_1) از کاهش درد ناشی از میپرامین جلوگیری می نماید (۱۰).با تزریق داخل صفاقی کلرفنیرامین پاسخ درد فرمالینی در موشهای سوری کاهش می یابد و اثر کاهش دهنده درد مرفین با کلرفنیرامین تقویت می شود (٤). متعاقب تزریق کف‌پایی کلرفنیرامین در موشهای رت در حدود ده روز پس از ایجاد ضایعه در عصب سیاتیک، از شدت درد حرارتی و مکانیکی کاسته می شود(٢٤). در موشهای سوری که ژن مسئول سنتز گیرنده H_1 آنها حذف شده است پاسخهای درد کمتری را در آزمونهای صفحه داغ، تلنگر دمی و فشار بر دم، به عقب کشیدن پنجه پا، فرمالین و انقباض شکم نشان می دهند (۱۲).در خاتمه براساس نتایج بدست آمده در این مطالعه و مقایسه آنها با مطالعات دیگران می‌توان مطرح نمود که گیرنده H_1 مرکزی هیستامین در واسطه‌گری مکانیسم‌های درد نقش دارد پس آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 آن می‌توانند بعنوان تغییر دهنده‌های پذیرش درد مورد توجه قرار بگیرند.

فهرست منابع

۱. تمدن‌فرد. ا و باباپور. و (۱۳۸۱) رفتار تغذیه‌ای در خرگوش متعاقب تزریقات داخل بطن مغزی هیستامین و آنتاگونیست‌های H_1 و H_2 آن، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۷: ۱۸-۱۳.

۲. تمدن‌فرد. ا حاجی‌اقراری. ن و مرادی. ب (۱۳۸۱) اثرات مرکزی هیستامین و آنتاگونیست‌های H_1 و H_2 آن بر رفتار در خرگوش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۷:

.٤٩-٥٤

٣. تمدن‌فرد. ا عظیم‌پوران. ا و بهجت. ب (١٣٨٤) تأثیر مرکزی هیستامین بر درد فرمالینی در خرگوش: نقش سیستم اپیوئیدی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ٦٠: (زیر چاپ).

٤. تمدن‌فرد. ا و مجتهدین. ع (١٣٨٤) مطالعه اثر کلرفنیرامین داخل صفاقی بر پاسخ درد ناشی از فرمالین و ارتباط آن با سیستم اپیوئیدی در موشهای سوری، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ٦٠: (زیرچاپ).

5. Bealer, S. L. (1999): Central neuronal histamine contributes to cardiovascular regulation, News Physiol. Sci., 14: 100-105.

6. Brown, R. F., Stevens, D. R., and Hass, H. L. (2001): The physiology of brain histamine, Prog. Neurobiol., 63: 637-672.

7. Iwase, M., Homma, I., Shioda, s. and Nakai, Y. (1993) Histamine immunoreactive neurons in the brain stem of the rabbit, Brain Res. Bull., 32: 267-272.

8. Lecklin, A., Etu–Seppala, P., Stark, H. and Tuomisto, L. (1998): Effects of intracerebroventricularly infused histamine and selective H_1 , H_2 and H_3 agonists on food and water intake and urine flow in wistar rats, Brains Res., 793: 279-288.

9. Malmberg, A. P., Lamberti, c., Ghelardinin, C., Giotti, A. and Bartolini, A. (1994): Role of histamine in rodent antinociception, Br. J. Pharmacol., 111: 1269-1279.

10. Malmberg, A. P., Lamberti, C., Ipponi, A., Bartolini, A. and Schunack, W. (1998): Evidence for hypernociception induction following H_1 receptor activation in rodents, Life Sci., 63: 463-467.

11. Malmberg, A. P., Lamberti, C., Ipponi, A., Ghelardini, C. and Bartolini, A. (1997): Effects of two histamine – N – methyltransferase inhibitors, SKF91488 and BW 301 U in rodent antinociception, Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol., 355: 354-360.

12. Mobarakeh, J. I., Sakurada, S., Katsuyama, S., Atsuo, K., Watanabe, T. and Yanai, K. (2000): Role of histamine H_1 receptor in pain perception; a study of the receptor gene knockout mice. Eur. J. Pharmacol., 391: 81-89.

13. Manti, J. M. (1993): Involvement of histamine in the control of waking state, Life Sci., 53: 1331-1338.

14. Nalwalk, J. W. and Hough, L. B. (1995): Importance of histamine H_2 receptors restraint – morphine interaction, Life Sci., 57: 153-158.

15. Netti, C., Guidobono, F., Sibilia, V., Villa, I., Cazzamlli, E. and Pecile, A. (1988): Central effects of histamine H_2 – receptor agonists and antagonists on nociception in the rat, Agents Actions, 23: 247-249.

16. Oda, T., Morikawa, N., Saito, Y., Masuho, Y. and Matsumoto, S. L. (2000): Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes, J. Biol. Chem., 275: 36781-36786.

17. Olsen, U. B., Eltrop, C., Ingvardsen, B. K., Jorgensen, T. K., Lundback, J. A., Thomsen, C. and Hansen, A. J. (2002): Ren 1869, a novel tricyclic antihistamine, is active against neurogenic pain and inflammation, Eur,J.Pharmacol., 435: 43-57.

18. Onodera, K., Yamatodani, A., Watanabe, T. and Wada H. (1994): Neuropharmacology of histaminergic neuron system in he brain and its relationship with behavioral disorders, Prog. Neurobiol., 42: 685-702.

19. Philips, S. D. (1978): Basic statistics for health science students, W. H. Freeman and Company, New York, USA, pp: 93-108.

20. Rangachari, P. K. (1992): Histamine: mercurial messenger in the gut, Am. J. Physiol., 262: G1-G13.

21. Tamaddonfard, E. and Rahimi, S. (2004): Central effect of histamine and

22. peripheral effect of histidine on the formalin-induced pain response in mice, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 31: 518-522.
23. Tamaddonfard, E., Roshanimeydan, M. and Dejhbakhsh, A. (2003): Behavioural responses associated with formalin injection into the ear fo sheep and rabbits, Ind. J. Anim. Sci., 73: 1245-1246.
24. Tjolsen, A., Berge, O. G. and Hunskaar, s. (1992): The formalin test: evaluation of the method, Pain 51: 5-17.
25. Zuo, Y., Perkins, N. M., Tracey, D. J. and Geczy, C. L. (2003): Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat: a key role of mast cells. Pain 105: 467-479.