Archive of SID

بررسی اثردیفن هیدرامین بر انتقال عصبی-عضلانی عضله دو بطنی گردن جوجه

داوود فرزین (Ph.D.)* رونـاك سعـادتـي (Phrm.D.) **

چکیده

سابقه و هدف: دیفن هیدرامین، مشتق اتانل آمین و آنتاگونیست گیرندهٔ H1 هیستامینی است. این دارو کاربرد زیادی در تخفیف علایم واکنش های حساسیتی از جمله اختلالات خارش دار پوستی، التهاب ملتحمهٔ چشم و مخاط بینی، تهوع و استفراغ، بیماری حرکت ، سرگیجه، بی خوابی، درمان علامتی سرفه و سرماخوردگی دارد و دارای خاصیت بی‌حس کنندهٔ موضعی است. دیفن هیدرامین عوارض جانبی مهمی از جمله خستگی، اختلال در هماهنگی حرکتی و کم شدن قابلیت حرکتی دارد. این عوارض ممکن است از طریق اثر بر سیستم عصبی مرکزی و یا به واسطه اثر مستقیم بر عضلات اسکلتی ایجاد شوند. مطالعات گسترده ای در رابطه با اثر مرکزی دیفن هیدرامین صورت گرفته است ولی در مورد چگونگی اثر مستقیم آن بر عضلات اسکلتی گزارش چندانی در دسترس نیست. این پژوهش در راستای تعیین اثر و مکانیسم دیفن هیدرامین بر عضلهٔ اسکلتی دو بطنی گردن جوجه طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش‌ها : عضلهٔ دو بطنی پس از جدا سازی از گردن جوجه ای با سن سه هفته ، در دستگاه حمام عضو قرار گرفت. جهت حفظ سلامتی عضله و برقراری شرایط فیزیولوژیک، محلول تیرود ۳۷ درجه سانتیگراد به همراه اکسیژن وارد ظرف یا vessel دستگاه حمام عضو با حجم ۷۰ میلی لیتر گردید. پس از کنترل نهایی با استفاده از دستگاه محرک ، تحریک الکتریکی با فرکانس ۰/۱ هرتز، ولتاژ ۵ الی ۱۰ ولت و مدت زمان تحریک (duration) ۰/۵ میلی ثانیه ایجاد شد و فعالیت انقباضی به‌صورت کشش ناگهانی(Twitch) از طریق دستگاه مبدل به دستگاه تندنگار منتقل و ثبت گردید.

یافته ها : دیفن هیدرامین در غلظت های بالاتر از ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر، واکنش کشش ناگهانی نسبت به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم را کاهش داد. واکنش انقباضی نسبت به استیل‌کولین اگزوژن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین افزایش یافت.

واکنش انقباضی نسبت به استیل کولین اگزوژن و کرباکول در حضور غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین مهار شد. اثر مهاری دیفن هیدرامین توسط فیزوستیگمین یا ۴-آمینوپیریدین خنثی نشد.

منحنی های واکنش وابسته به دوز استیل کولین و کرباکول در حضور دیفن هیدرامین ۱ و ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر با کاهش اثر، به سمت راست تغییر یافت.

استنتاج : در غلظت های درمانی، دیفن هیدرامین دارای اثر مهاری بر عملکرد عصب-عضله به همراه اثر آنتی کولین استرازی است؛ به طوری که در این رابطه، واکنش کشش ناگهانی تغییر نکرد. در غلظت های سمی، دیفن هیدرامین اثر مهاری شدید بر روی واکنش کشش ناگهانی ایجاد نمود که احتمالاً مربوط به اثر تثبیت غشایی می باشد.

واژه هاي كليدي: عضلهٔ دو بطنی گردن، دیفن هیدرامین، هیستامین، جوجه

* متخصص فارماکولوژی، عضو هیئت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران ✉ ساری: بلوار خزر، دانشکدهٔ پزشکی، آزمایشگاه فیزیولوژی- فارماکولوژی

** داروساز دانشکده داروسازی ساری

تاریخ دریافت:۸۲/۱۰/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۳/۱/۱۵ تاریخ تصویب: ۸۳/۳/۱۳

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیفن هیدرامین یک آنتی‌هیستامین مهارکننده H1 با اثرآرام‌بخشی قوی است(۱). این دارو بدون نسخه(OTC) در موارد بالینی مختلف نظیر درمان علایم واکنش‌های حساسیتی از جمله اختلالات خارش دار پوستی ، ادم عروقی(۳،۲)، التهاب بینی و التهاب ملتحمه (۵،۴) ، تهوع و استفراغ خصوصا" در بیماری حرکت (۷،۶) ، اختلالات خواب، سرفه و سرماخوردگی(۸)، زخم ها و آفت دهانی به عنوان دهان شویه(۹) مورد استفاده قرار می‌گیرد. دیفن‌هیدرامین عوارض جانبی متنوعی نظیر اختلال در هماهنگی حرکتی، کم شدن قابلیت حرکتی و القاء خستگی دارد. این عوارض ممکن است از طریق مرکزی و یا از طریق اثر مستقیم بر عضلات اسکلتی ایجاد شوند. مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با اثرات سداتیو و مرکزی دیفن‌هیدرامین صورت‌گرفته است، ولی‌گزارش قابل استناد در ارتباط با اثر مستقیم دیفن‌هیدرامین بر عضلات اسکلتی در دسترس نیست. نظر به این‌که دیفن هیدرامین به عنوان یک آنتی هیستامین OTC، استفادهٔ گسترده‌ای در ایران و دیگر کشورها دارد، بررسی اثر آن بر عملکرد عضلهٔ اسکلتی ضروری به نظر می‌رسد. این پژوهش در راستای تعیین اثر و مکانیسم دیفن‌هیدرامین بر عضلهٔ اسکلتی دو بطنی گردن جوجه طراحی و اجرا شده است.

مواد وروش ها

جوجه‌ای با سن ۳ هفته ابتدا با اتر بیهوش و بعد کشته شد. سپس پرهای پشت گردن حیوان چیده و در امتداد خط وسط از جمجمه تا زیر قاعدهٔ گردن، بریدگی ایجاد گردید. پوست ناحیهٔ بریده شده با احتیاط کنار زده شد به‌طوری‌که عضلات آسیب نبینند. در این صورت دو عضلهٔ دو بطنی در دو طرف خط وسط بر روی گردن قابل مشاهده بود. پس از جدا کردن عضله، یک نخ به انتهای فوقانی تاندون عضله بسته و حلقه‌ای در آن قسمت ایجاد گردید تا عضله بهتر در دستگاه سوار شود. نخ دیگر به انتهای تحتانی عضله بسته شد. سپس عضله به گونه ای از بدن جوجه جدا شد که آسیبی به آن نرسد. نخ مربوط به انتهای فوقانی و تاندون عضله ابتدا از داخل الکترود عبور داده و سپس به قلاب vessel دستگاه حمام عضو (هاروارد، انگلستان) وصل گردید. الکترود طوری تنظیم می شد که به تاندون‌های فوقانی عضله متصل باشد، بدون این‌که در حین انقباض عضله، مانع حرکت آن شود. نخ مربوط به انتهای تحتانی عضله به دستگاه مبدل تندنگار (هاروارد، انگلستان) به گونه ای متصل گردید که کشش نخ، معادل ۱ گرم باشد. جهت حفظ سلامتی عضله و برقراری شرایط فیزیولوژیک، محلول تیرود ۳۷ درجه سانتیگراد به همراه اکسیژن وارد vessel شد. پس از کنترل نهایی با استفاده از دستگاه محرک (هاروارد، انگلستان) تحریک الکتریکی با فرکانس ۰/۱ هرتز، ولتاژ ۵ الی ۱۰ ولت و مدت ۰/۵ میلی ثانیه ایجاد و واکنش کشش ناگهانی، ثبت گردید(۱۰).

بررسی فعالیت آنزیم کولین استراز به روش رنگ سنجی Ellman:

استیل تیوکولین توسط کولین استراز به تیوکولین و استات تبدیل می شود. تیوکولین حاصل، طی واکنش با معرف DTNB آنیون زرد رنگ ۲- نیتروبنزوات ایجاد می کند. این آنیون رنگ زردی به محیط می دهد که جذب آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری می شود. برای بررسی خاصیت آنتی کولین استرازی داروها، کافی است آن‌ها را به محیط اضافه کرده و جذب را اندازه گیری نماییم. داروهای آنتی کولین استراز، با مهار آنزیم، واکنش هیدرولیز استیل

www.SID.ir

Archive of SID

تیوکولین را کاهش می دهند. این عمل با کاهش تولید رنگ زرد، جذب کم‌تری ایجاد می‌کند(۱۱).

محلول ها :

الف- بافر فسفاتی، ۰/۱ مولار و pH 8

ب- استیل تیوکولین آیوداید ۰/۰۱۵ مولار

ج- معرف DTNB ۰/۰۱ مولار

تهیه سوسپانسیون خونی :

جهت تهیه سوسپانسیون‌خونی بافرفسفاتی۰/۱ مولار با pH 8 تهیه شد. در این بافر خون به نسبت ۱:۶۰۰ رقیق گردید. دقیقا" ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون خونی به داخل سل ریخته شد. سپس از معرف DTNB به میزان ۲۵ میکرولیتر به سل اضافه می گردید. سل در داخل فتومتر قرارگرفته و جذب آن در۴۱۲ نانومتر صفرگردید. سپس استیل تیوکولین به میزان ۲۰ میکرولیتر به سل اضافه و تغییرات جذب در مدت ۶ دقیقه ثبت شد (۱۱).

محاسبات :

مول /min per RBC = (4.41) (10^{-14}) ΔA/RBC

استیل تیوکولین هیدرولیز شده

4.14×10^{-14} : فاکتور رقت

ΔA : تغییر جذب در دقیقه

RBC : شمارش گلبول قرمز

در دو حالت آزمایش انجام می‌گرفت:

الف – بدون حضور دارو(گروه شاهد)

ب – در حضور دارو

بدین منظور ۲۰ میکرولیتر از محلول دارویی که در سل، غلظت مورد نظر از دارو را ایجاد می کرد، در سل وارد شد که در این صورت به میزان ۲۰ میکرولیتر از بافر فسفات تشکیل دهندهٔ سوسپانسیون خونی کسر می‌گردید. در نمونهٔ شاهد به جای دارو از ۲۰ میکرولیتر بافر استفاده شد. منحنی میزان جذب در مقابل زمان، جهت هر دو نمونه رسم و تغییر مکان منحنی در حضور دارو بررسی شد(۱۱).

تهیه محلول تیرود:

برای تهیه ۱۰ لیتر محلول تیرود مواد زیر به ترتیب در آب مقطر حل و سپس به حجم رسید.

NaCl (مرک، آلمان) ۸۰ گرم، محلول KCl ۱۰ درصد (مرک، آلمان) ۲۰ میلی لیتر، محلول MgSO4 ۱۰درصد (مرک، آلمان) ۲۶ میلی لیتر، محلول NaH2PO4 ۵ درصد (مرک، آلمان) ۱۳ میلی لیتر، گلوکز (مرک، آلمان) ۱۰ گرم، NaHCO3(مرک، آلمان) ۱۰ گرم،محلول CaCl2 مولار (مرک، آلمان) ۱۸ میلی لیتر

داروها:

داروهای زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

استیل کولین کلراید (Sigma,USA) ۴-آمینوپیریدین (Merck, Germany)، دیفن هیدرامین هیدروکلراید (RBI, USA)، کرباکول (Sigma,USA)، گالامین (Sigma,USA)، فیزوستیگمین سالیسیلات (Sigma,USA)، کافئین (ICN,UK)، استیل تیوکولین آیوداید (Merck,Germany)، DTNB (Merck, Germany).

دستگاه‌ها:

Universal Oscillograph(Harvard,UK),Stimulator (Harvard,UK),Double Tissue Bath(Harvard,UK), Spectrophotometer (NOVASECT,UK)

برای تجزیه و تحلیل آماری، از تحلیل مکرر واریانس (Repeated measures ANOVA) و متعاقب آن از Newman-Keuls test استفاده شد. تفاوت

www.SID.ir

Archive of SID

با P<۰/۰۵ در هر نقطه، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

یافته ها

اثر دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی عضلهٔ دو بطنی گردن جوجه:

در Vessel عضلهٔ دوبطنی گردن جوجه، غلظت‌های افزایش یابنده دیفن هیدرامین ایجاد گردید. غلظت‌های ایجاد شده در وسل شامل ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر بود. در غلظت ۳۲ میکروگرم/ میلی لیتر و بالاتر، دیفن‌هیدرامین توانست واگنش کشش ناگهانی و اثر استیل کولین اگزوژن را مهار کند. این مهار در مدت ۱۵دقیقه پس از شست و شوی عضله، به‌تدریج از بین رفت تصویر شماره ۱ اثر غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین را بر واکنش کشش ناگهانی واستیل کولین اگزوژن نشان می‌دهد. با توجه به این‌که غلظت درمانی دیفن هیدرامین کم‌تر از ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر است(۱۲)، غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر، غلظت سمی دیفن‌هیدرامین محسوب می‌شود.

غلظت‌های ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر دیفن‌هیدرامین، پاسخ استیل کولین اگزوژن را بدون تاثیر بر واکنش کشش ناگهانی تقویت نمود (تصویر شماره ۲). نتایج مشابهی نیز با غلظت ۵۰ نانوگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین به‌دست آمد.

تصویر شماره ۱: اثر دیفن‌هیدرامین (۳۰μg/ml) بر پاسخ کشش ناگهانی و استیل کولین اگزوژن

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر شماره ۲: اثر دیفن‌هیدرامین (۱۰۰μg/ml) بر پاسخ کشش ناگهانی و استیل کولین اگزوژن

اثر دیفن هیدرامین بر واکنش کرباکول:

واکنش انقباضی ناشی از کرباکول (۱ میکروگرم/ میلی لیتر) توسط غلظت ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین کاهش یافت غلظت ۴۰ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین ، علاوه بر مهار واکنش کشش ناگهانی، پاسخ کرباکول را نیزکاملا" مهار کرد (تصویر شماره ۳).

اثر دیفن هیدرامین بر تقویت کشش ناگهانی ناشی از ۱۰ برابر کردن مدت زمان تحریک:

دیفن هیدرامین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر و ۱ میکروگرم/میلی‌لیتر) اثرچندانی برتقویت کشش ناگهانی ناشی از ۱۰ برابر کردن مدت زمان تحریک نداشت. در صورتی‌که غلظت ۳۰میکروگرم/میلی‌لیتر دیفن‌هیدرامین واکنش کشش ناگهانی ناشی از ۱۰ برابر کردن مدت زمان تحریک را کاهش داد (تصویر شماره ۴).

تصویر شماره ۳: اثر دیفن‌هیدرامین (۴۰μg/ml) بر پاسخ کشش ناگهانی و واکنش انقباضی کرباکول

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر شماره ۴ : اثر دیفن‌هیدرامین (۳۰μg/ml) بر تقویت کشش ناگهانی ناشی از ۱۰ برابر کردن مدت تحریک

بررسی اثر تثبیت غشایی دیفن هیدرامین:

برای بررسی این اثر، از تحریکات مستقیم برای ایجاد کشش ناگهانی در حضور یک شل کنندهٔ غیردپلاریزان استفاده شد. شل کنندهٔ غیر دپلاریزان به‌کار رفته در این آزمایش، گالامین بود. برای ایجاد تحریک الکتریکی مستقیم از ولتاژ ۱۰۰ ولت ، مدت زمان تحریک ۰/۵ میلی ثانیه و فرکانس ۰/۱ هرتز استفاده شد. محل قرارگیری الکترود در قسمتی از عضله قرار داشت که می توانست به‌خوبی این تحریکات را به بافت عضلانی منتقل نماید. سپس در محیط آماده سازی غلظت ۱ نانوگرم/ میلی لیتر گالامین ایجاد گردید.

گالامین در این غلظت، گیرنده های نیکوتینی عضلات اسکلتی را مهار می کند که شاهد این مدعا اثر گالامین ۱ میکروگرم/ میلی لیتر بر کشش ناگهانی ناشی از تحریکات الکتریکی غیر مستقیم با ولتاژ ۵ ولت می باشد که در تصویر شماره ۵ مشهود است. این غلظت از گالامین در تحریکات مستقیم با ولتاژ ۱۰۰ ولت واکنش کشش ناگهانی را تحت تاثیر قرار نمی دهد، زیرا این کشش ناگهانی مستقل از عملکرد گیرنده های نیکوتینی ایجاد می‌شود. دیفن‌هیدرامین در غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی لیتر کشش ناگهانی ناشی از تحریکات الکتریکی مستقیم را کاملا" خنثی کرد (تصویر شماره ۶) که این اثرمستقل از عملکرد گیرنده‌های نیکوتینی بوده و مربوط به اثر تثبیت غشایی آن می باشد(۱۴). برای تائید بیشتر این نتیجه اثر دیفن هیدرامین بر روی تتانوز ایجاد شده با فرکانس ۲۰ هرتز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد دیفن هیدرامین تتانوز و تسهیل بعد از تتانوز را کاهش داد.

اثر دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی در حضور ۴-آمینوپیریدین و فیزوستیگمین:

۴-آمینوپیریدین (۵ میکروگرم/ میلی لیتر) و فیزوستیگمین (۱۰ میکروگرم/میلی لیتر) اثر مهاری دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی را خنثی نکردند.

تصویر شماره ۵ : اثر گالامین (G 1 μg/ml) بر پاسخ کشش ناگهانی ناشی از تحریکات غیرمستقیم

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر شماره ۵: اثر دیفن هیدارمین (۳۰μg/ml) در حضور گالامین (۱μg/ml) بر پاسخ کشش ناگهانی ناشی از تحریکات مستقیم

اثرکافئین بر عملکرد مهاری دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی:

کافئین از طریق تحریک کانال های کلسیمی و آزاد کردن‌کلسیم، واکنش‌کشش ناگهانی را افزایش می‌دهد. کافئین در غلظت ۲۰۰ میکروگرم/میلی لیتر پاسخ مهاری دیفن‌هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی را خنثی نکرد.

واکنش‌وابسته‌به دوز استیل‌کولین درحضور دیفن‌هیدرامین:

منحنی واکنش وابسته به دوز استیل‌کولین در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین به سمت چپ، (بدون کاهش اثر) تغییر یافت غلظت ۱ و ۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر دیفن‌هیدرامین منحنی واکنش وابسته به دوز استیل کولین را به سمت راست(با کاهش اثر) منتقل کرد (تصویر شماره ۷). این اثر برای غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین برجسته تر بود؛ به‌طوری‌که پاسخ استیل کولین را کاملا" خنثی نمود

تصویر شماره ۷: منحنی واکنش وابسته به دوز استیل‌کولین درحضور و عدم حضور دیفن‌هیدرامین (۳۰،۱μg/ml) نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین گزارش شده است. (n=٤)

واکنش وابسته به دوز دوز کرباکول در حضور دیفن‌هیدرامین:

www.SID.ir

Archive of SID

منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول در حضور دیفن هیدرامین (۵۰ و۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر) به‌طور ناچیزی به سمت راست تغییر یافت در غلظت ۱ میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین، منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول با کاهش اثر، به سمت راست منتقل شد و در این رابطه غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین، اثر کرباکول را کاملا" خنثی کرد (تصویر شماره ۸).

تصویر شماره ۸: منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول در حضور و عدم حضور دیفن‌هیدرامین (۳۰،۱μg/ml) نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین گزارش شده است. (n=٤)

اثر دیفن‌هیدرامین بر فعالیت استیل‌کولین استراز اریتروسیت‌ها و کولین استراز پلاسمایی:

دیفن هیدرامین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر، ۱ میکروگرم/میلی لیتر) به‌طور وابسته به غلظت، تعداد مول های هیدرولیز شدهٔ استیل تیو کولین را کاهش داد که این اثر از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز و کولین استراز پلاسمایی واسطه گری می‌شود (تصویر شماره ۹).

تصویرشماره ۹: اثر دیفن‌هیدرامین برفعالیت آنزیم‌کولین استرازتوتال خون. دیفن‌هیدارمین (۱۰۰μg/ml ، ۵۰ ، ۱ μg/ml) به طور وابسته به غلظت، تعداد مول‌های هیدرالیز شده استیل تیوکولین توسط استیل کولین استراز ارتیروسیت‌ها و کولین استراز پلاسمایی را کاهش داد. این نتایج به‌صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین گزارش شده است (n=٤) .
*P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ تفاوت از گروه شاهد را نشان می‌دهد.

بحث

در این مطالعه، اثر دیفن هیدرامین بر عملکرد انقباضی عضلهٔ دو بطنی گردن جوجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق به شرح زیر می‌باشد:

www.SID.ir

Archive of SID

– دیفن‌هیدرامین درغلظت‌های بالا (۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر)،واکنش کشش ناگهانی به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم را کاهش داد.

– واکنش انقباضی به استیل کولین اگزوژن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین، افزایش یافت در صورتی‌که غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین واکنش انقباظی به استیل‌کولین اگزوژن را کاملا" مهار کرد.

– واکنش انقباظی کرباکول درحضور دیفن‌هیدرامین، تضعیف یا کاملا" مهار شد.

– منحنی های واکنش وابسته به دوز استیل کولین و کرباکول در حضور غلظت ۱ میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین به سمت راست تغییر یافت و غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین، کاملا" پاسخ‌های استیل کولین و کرباکول را مهار نمود.

نتایج فوق یک اثر آنتی کولین استرازی و یک اثر مهاری پس سیناپسی برای دیفن‌هیدرامین پیش‌بینی می‌کند. اثر آنتی‌کولین استرازی مربوط به افزایش واکنش انقباضی استیل کولین اگزوژن و عدم تغییر یا کاهش پاسخ کرباکول در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین می باشد. نظر به این‌که کرباکول، تحت تاثیر عملکرد تخریبی آنزیم کولین استراز قرار نمی‌گیرد، مهار یا عدم مهار آنزیم تغییری در واکنش کرباکول ایجاد نمی‌کند ولی مهار آنزیم کولین استراز می‌تواند پاسخ استیل کولین اگزوژن را افزایش دهد که این افزایش پاسخ در آماده سازی عضلهٔ دو بطنی گردن جوجه در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین کاملا" مشهود است. بنابراین احتمالا" دیفن هیدرامین در غلظت های مذکور دارای اثر آنتی‌کولین استرازی است. اگر اثر آنتی‌کولین استرازی دیفن هیدرامین در غلظت‌های ۵۰ و۱۰۰ نانوگرم/ میلی لیتر را بپذیریم، چگونه عدم تغییر واکنش کشش ناگهانی در حضور دیفن هیدرامین قابل توجیه است؟. در پاسخ به این سئوال، می توان اذعان نمود که احتمالا" دیفن هیدرامین یک اثر پس سیناپسی مهاری نیز دارد که اثر آنتی کولین استرازی آن را تضعیف می‌کند. شاهد این مدعا کاهش پاسخ کرباکول می‌باشد. منحنی‌های واکنش وابسته به دوز استیل کولین و کرباکول در حضور دیفن هیدرامین (۵۰ و۱۰۰ نانوگرم/ میلی لیتر) نیز یافته های فوق را تائید می کند؛ به‌طوری که منحنی واکنش وابسته به دوز استیل کولین بدون کاهش اثر، به سمت چپ و منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول، به سمت راست تغییر یافت. برای مطالعه دقیق‌تر فعالیت آنتی کولین استرازی دیفن هیدرامین، از روش رنگ سنجی Ellman استفاده شد(۱۱). در این مطالعه، مشخص گردید غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر و ۱ میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین به صورت وابسته به غلظت، فعالیت استیل کولین استراز اریتروسیت ها و کولین استراز پلاسمایی را مهار می کند که این مهار به‌صورت کاهش تعداد مول های استیل تیوکولین هیدرولیز شده توسط آنزیم تظاهر می‌کند. اثر آنتی کولین استرازی دیفن هیدرامین در بعضی مطالعات گزارش شده است. به‌طور مثال، گروه Weigand و همکاران (۱۹۷۶) گزارش کردند دیفن هیدرامین با اتصال به غشاء گلبول های قرمز گاو، فعالیت استیل کولین استراز را مهار می‌کند(۱۳). در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان استنتاج نمود در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر، اثر آنتی‌کولین استرازی دیفن هیدرامین معادل اثر مهاری پس سیناپسی می باشد که در این حالت واکنش کشش ناگهانی تغییر نمی‌کند. ولی در غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر و بالاتر، اثر پر قدرت پس سیناپسی دیفن هیدرامین موجب مهار شدید واکنش کشش ناگهانی می شود. شاهد این مدعا، بی اثر بودن ۴-آمینوپیریدین و فیزوستیگمین و مهار کامل

www.SID.ir

Archive of SID

پاسخ استیل کولین و کرباکول در منحنی‌های واکنش وابسته به دوز است.۴-آمینوپیریدین با مهار کانال‌های پتاسیم، آزادسازی استیل کولین از پایانه های اعصاب حرکتی را افزایش می‌دهد(۱۴). فیزوستیگمین نیز با مهار آنزیم استیل کولین استراز، اثر استیل کولین آزاد شده بر سطح گیرنده‌های نیکوتینی را تشدید می‌کند(۱۵). یافته‌های فوق ، نشان دهندهٔ اثر پس سیناپسی مهاری دیفن هیدرامین در غلظت های بالا (۳۰ میکروگرم/میلی لیتر و بالاتر) است که این اثر می تواند مربوط به مهار گیرنده‌های نیکوتینی و یا مهار کانال‌های کلسیم رتیکولوم سارکوپلاسمیک و یا اثر تثبیت غشایی باشد. برای تفکیک این اثرات، ابتدا روش ۱۰ برابر کردن مدت زمان تحریک صورت گرفت. دیفن هیدرامین در غلظت ۳۰ میکروگرم/میلی لیتر واکنش کشش ناگهانی مربوط به ۱۰ برابر کردن مدت زمان تحریک را به‌طور چشم‌گیری مهار کرد که این یافته دال بر اثر مهاری دیفن هیدرامین بر کانال های کلسیمی یا اثر تثبیت غشایی مستقل از مهار گیرنده های نیکوتینی است. برای تایید این فرضیه، اثر دیفن هیدرامین (۳۰ میکروگرم/ میلی لیتر) بر واکنش کشش ناگهانی ناشی از تحریکات مستقیم با ولتاژ ۱۰۰ ولت، مدت زمان تحریک ۰/۵ میلی ثانیه و فرکانس ۰/۱ هرتز در حضور یک شل کنندهٔ غیردپولاریزان نظیر گالامین مورد بررسی قرار گرفت. گالامین در غلظت ۱ میکروگرم/ میلی لیتر، واکنش کشش ناگهانی ناشی از تحریکات غیرمستقیم با ولتاژ ۵ ولت، مدت زمان تحریک ۰/۵ میلی ثانیه و فرکانس ۰/۱ هرتز را کاملا" مهار می کند. این تحریک الکتریکی، استیل‌کولین را ازپایانه‌های اعصاب حرکتی‌آزادمی‌نماید. استیل کولین آزاد شده نیز با تحریک گیرنده‌های نیکوتینی واکنش کشش ناگهانی ایجاد می‌کند که این اثر توسط گالامین مهار می‌شود(۱۶). بر خلاف تحریک الکتریکی غیرمستقیم، در تحریکات الکتریکی مستقیم با ولتاژ ۱۰۰ ولت، واکنش کشش ناگهانی مستقل از عملکرد گیرنده‌های نیکوتینی ایجاد می شود که شاهد این مدعا، بی‌اثر بودن گالامین بر واکنش کشش ناگهانی است. دیفن هیدرامین (۳۰ میکروگرم/میلی لیتر) واکنش کشش ناگهانی ناشی از تحریکات الکتریکی مستقیم در حضور گالامین را کاملا" مهار کرد که نشان دهندهٔ اثر تثبیت غشایی یا مهار کانال‌های کلسیمی رتیکولوم سارکوپلاسمیک می‌باشد. نتایج مربوط به تتانوز و تسهیل بعد از تتانوز نیز این یافته را تایید می‌کند. برای بررسی اثر مهاری دیفن‌هیدرامین بر کاناهای کلسیمی رتیکولوم سارکوپلاسمیک، از کافئین به‌عنوان یک محرک کانال استفاده گردید. در این آزمایش، کافئین نتوانست اثر مهاری دیفن‌هیدرامین را خنثی نماید بنابراین مهار کانال‌های کلسیمی در پاسخ مهاری دیفن‌هیدرامین غیرمحتمل است و احتمالا" اثر مهاری غلظت‌های بالای دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی، به اثر تثبیت غشایی آن بستگی دارد. اثر تثبیت غشایی و یا بی‌حس کنندگی موضعی دیفن هیدرامین در مطالعات in vivo بر روی انسان بررسی شده است؛ به‌طور مثال گروه Ernest و همکاران(۱۹۹۶) گزارش کردند دیفن هیدرامین ۵ درصد به همراه اپی نفرین اثر بی حس کنندگی قوی‌تری نسبت به لیدوکائین ۱ درصد دارد؛ در صورتی‌که لیدوکائین ۱ درصد بافره شده با اپی نفرین از ترکیب دیفن هیدرامین ۵ درصد بافره شده با اپی‌نفرین قوی‌تر است(۱۷).

در مطالعهٔ دیگر، تزریق موضعی ۱۵ میلی گرم دیفن هیدرامین هیدروکلراید به ۳۷ نفر که نیاز به جراحی بر روی دندان نکروتیک خود داشتند، توانست بی حسی موضعی مشابه با کربوائین ۳ درصد ایجاد نماید (۱۸). در سال ۱۹۹۴، گروه Green و همکاران نشان دادند که تزریق داخل درمی ۰/۵ میلی‌لیتر از دیفن‌هیدرامین۱ یا ۲ درصد بی‌حسی موضعی معادل تزریق ۰/۵ میلی لیتر لیدوکائین ۱ درصد ایجاد می‌کند و در این رابطه،

www.SID.ir

Archive of SID

اثربخشی دیفن هیدرامین۲ درصد تفاوت معنی داری نسبت به دیفن هیدرامین ۱ درصد نداشت(۱۹). در یک مطالعهٔ دوسوکور دیگر، اثر بی‌حس کنندگی موضعی دیفن هیدرامین با لیدوکائین مقایسه گردید و مشخص شد که دیفن هیدرامین مانند لیدوکائین اثر بی‌حس کنندگی موضعی داردولی میانگین مدت زمان بی حسی موضعی لیدوکائین طولانی‌تر از مدت زمان بی حسی دیفن هیدرامین می باشد. در این مطالعه تزریق زیر جلدی دیفن هیدرامین دردناک‌تر از تزریق لیدوکائین بود(۲۰). نتایج مشابهی نیز در مطالعهٔ Xia (۲۰۰۲) و همکاران به‌دست آمده است؛ به‌طوری که دیفن هیدرامین ۱ درصد درد کم‌تری نسبت به دارونما در تزریق داخل جلدی ایجاد می‌کند، ولی این اثر ضعیف تر از اثر لیدوکائین۱ درصد می‌باشد(۲۱). در مطالعهٔ دیگر، اثر بی‌حسی موضعی دیفن هیدرامین و پریلوکائین برای جراحی دهان مقایسه گردید(۲۲). در این مطالعه مشخص شد که دیفن هیدرامین می تواند بی‌حسی کامل و مناسبی برای جراحی دهان ایجاد نماید و پیشنهاد گردید که دیفن هیدرامین می‌تواند به عنوان یک جایگزین، زمانی‌که بیماران به بی‌حس کنندگان موضعی حساسیت دارند، مورد استفاده قرار گیرد. اثر بی‌حس کنندهٔ موضعی دیفن هیدرامین احتمالاً" به مهار انتقال یون‌های سدیم اعصاب در وضعیت غیرفعال کانال سدیمی بستگی دارد (۲۳). این اثر مشابهٔ مهار کانال‌های سدیمی نورون‌های حسی توسط بی حس کننده‌های موضعی است(۲۴). اثر مهاری دیفن هیدرامین بر عملکرد انقباضی عضله بصورت in vitro و in vivo در حیوانات آزمایشگاهی نیز مورد بررسی قرار گرفته است؛ به‌طور مثال در مطالعهٔ گروه Jose و همکاران (۱۹۵۹) در آماده‌سازی دیافراگم و عصب فرنیک جدا شدهٔ موش صحرایی، دیفن هیدرامین اثر شبه کورارى فلاکسیدیل را تقویت نمود. علاوه بر این، دوز ۱۵ میلی گرمی دیفن هیدرامین زمانی‌که به ورید پای عقب سگ و یا به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد، به‌طور مشخصی پاسخ انقباضی عضلهٔ اسکلتی به تحریک الکتریکی هم در عضلهٔ طبیعی و هم در عضلهٔ فاقد عصب را تضعیف نمود(۲۵).

در مجموع نتایج حاضر نشان می دهد ، دیفن هیدرامین در غلظت‌های درمانی اثر تضعیفی قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد انقباضی عضلهٔ اسکلتی ندارد، زیرا اثر مهاری آن توسط اثر آنتی کولین استرازی، خنثی می شود ولی در غلظت های بالاتر از درمانی، اثر تضعیفی شدیدی بر قابلیت انقباضی عضله دارد که احتمالاً" مربوط به تثبیت غشاء سارکولم می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

1. Schwartz J.c. Histamine receptors in brain, a target for tricyclic antidepressants. ***TIPS***. 1981; 2: 133-125.
2. Advenier C, Queille-Roussel C. Rational use of antihistamines in allergic dermatological condition. ***Drugs***. 1989; 38: 634-644.
3. Mathews K.P. The urticarias: current concepts in pathogenesis and treatment. ***Drugs***. 1985; 30: 552-560
4. Horak F. Seasonal allergic rhinits: newer treatment approaches. ***Drugs***. 1993; 45: 518-527.
5. Ciprandi G. Drug treatmnt of allergic conjunctivitis: a review of evidence. ***Drugs***. 1992; 43: 154-176.
6. Inokuchi A. Effects of the antihistaminergic drugs diphenhydramine and zolantidine on vestibular-induced hypothalamic neuronal activity in the guinea pig. ***Eur.Arch.Otorhinolaryngology.*** 1999; 256: 522-526.
7. Reynold J.E.F. ***Martindale: the extra pharmacopoeia*** 31th edition, London: Royal pharmaceutical society, 1996: pp 427-443.
8. Hardman J.G, Limbird L.E, Molinoff P.B ***Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics***. 9th edition, New York. McGraw-Hill, 1996; pp 586-592.
9. Burgess J.A.Pharmacological management of recurrent oral mucosal ulceration. ***Drugs***. 1990; 39: 54-65.
10. Perry W.L.M.***Pharmacological experiments on isolated prepartions***, Second ed, London, Longman Group Limited, 1971; pp: 54-56.
11. Ellman G.L, Courtney D, Andres V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. ***Biochem. Pharmacol***. 1961; 7: 88-95.
12. Blyden G.T. Pharmacokinetic of diphenhydramine and demethylated metabolite following intravenous and oral administration. ***Clin. Pharmacol***. 1986; 26: 529-533.
13. Wiegand U.F. Interaction of some parasympatholytics and structurally related drugs with acetylcholinesterases: kinetic studies.***Biochem.Pharmacol***. 1976; 25: 1719-1726.
14. Pelhate M, Pichon Pelhate M, Pichon Y. Selective inhibition of potassium current in the giant axon of the cockroach. ***J. Physiol***. 1974; 242: 90-91.
15. Goyal R.K.Muscarinic receptor subtypes: physiology and implication. N. ***Eng. J. Med***. 1989; 321: 1022-1029.
16. Hunter J.M.New neuromuscular blocking drugs. ***N. Eng. J. Med***. 1995; 332: 1691-1699.
17. Ernest A.A. 1% lidocaine versus 0.5% diphenhydramine for local anesthesia in minor laceration repair. ***Ann. Emerg. Med.*** 1994; 23: 1328-1332.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Nevins A. Local prophylactic benadryl injections in an attempt to reduce postinstrumental pain. ***J. Endod.*** 1994; 20: 296-298.

19. Green S.M, Rothrock S.G, Gorchynski J. Validation of diphenhydramine as a dermal local anesthetic***. Ann. Emerg. Med***. 1994; 23: 1284-1289.

20. Dire DJ, Hogan D.E. Double-blind comparison of diphenhydramine versus lidocaine as a local anesthetic. ***Ann. Emerg. Med.*** 1993; 22: 1419-1422.

21. Xia Y, Chen E, Tibbits DL, Reilley TE, McSweeney TD. Comparison of effects of lidocaine hydrochloride, buffered lidocaine, diphenhydramine and normal saline after intradermal injection. J***. Clin. Anesth***. 2002; 14: 339-343.

22. Uckan S, Guler N, Sumet M. Local anesthetic efficacy for oral surgery: Comparison of diphenhydramine and prilocaine. Oral Surg. ***Oral. Med***. 1998; 86: 26-30.

23. Kuo CC, Huang RC, Lou BS. Inhibition of Na(+) current by diphenhydramine and other diphenyl compounds:molecular determinants of selective binding to the inactivated channels. ***Mol. Pharmacology***. 2000; 57: 135-143.

24. Kim YS, Shin YK, Lee C, Song J. Block of sodium currents in rat dorsal root ganglion neurons by diphenhydramine. ***Brain Research*** 2000; 881: 190-198.

25. Jose M. Neuromuscular action of synthetic antihistamines. ***Farm. Nueva***. 1959; 24: 543-546.

www.SID.ir