

## اثر آگونیزت ها و آنتاگونیزت های مختلف گیرنده هیستامینی بر آستانه درد ایجاد شده با صفحه داغ و Writhing شکمی درموش ها

مهوش نوروزی \*\*

لادن اصغری \*\*

داوود فرزین (Ph.D.) \*

### چکیده

سابقه و هدف: هیستامین یک نوروترانسمیتر در مغز پستانداران می باشد که از طریق تحریک سه نوع گیرنده ( $H_1$ ،  $H_2$  و  $H_3$ ) اثرات فیزیولوژیک خود را بر سلول های هدف اعمال می کند. امروزه گزارشاتی وجود دارد که نشان می دهد هیستامین در تعدیل انتقال درد نقش دارد. برای مشخص کردن نقش گیرنده های هیستامینی در تعدیل روند درد مطالعه حاضر طراحی گردید.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر اثر آگونیزت ها و آنتاگونیزت های مختلف گیرنده هیستامینی بر آستانه درد در موش ها با استفاده از تست های حرارتی (صفحه داغ) و شیمیایی (Writhing ایجاد شده توسط اسید استیک) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: تزریق داخل مغزی آگونیزت گیرنده  $H_1$  هیستامینی، HTMT (۵۰ میکروگرم/موش) موجب یک Hypernociception معنی دار در تست های صفحه داغ و Writhing شد. این دوز از HTMT فاقد اثر معنی دار بر هماهنگی حرکتی در تست Rota rod بود. تزریق داخلی صفاقی آنتاگونیزت های گیرنده  $H_1$  هیستامینی، دکس کلرفنیرآمین (۳۰ و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) و دیفن هیدرامین (۲۰ و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) موجب یک Antinociception وابسته به دوز در هر دو تست صفحه داغ و Writhing گردید ولی از آنجایی که تمام دوزهای دیفن هیدرامین به کار گرفته شده در این آزمایش موجب اختلال حرکتی در تست Rota rod شد، به نظر می رسد که اثر ضد دردی دیفن هیدرامین یک اثر ضد دردی واقعی نمی باشد. تزریق HTMT در ترکیب بادکس کلرفنیرآمین (۲۰ میلی گرم / کیلوگرم، داخل صفاقی) آستانه درد در تست صفحه داغ را تغییر نداد. آگونیزت گیرنده  $H_2$  هیستامینی، Dimaprit (۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم / موش، داخل مغزی) و آنتاگونیزت های گیرنده  $H_2$  هیستامینی، رانیتیدین (۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم / موش، داخل مغزی) آستانه درد ایجاد شده توسط صفح داغ و اسید استیک را افزایش دادند. آگونیزت گیرنده  $H_3$  هیستامینی، Imetit (۲۵ و ۵۰ میلی گرم / کیلو گرم، داخل صفاقی) و آنتاگونیزت گیرنده  $H_3$  هیستامینی، Thioperamide (۲۵ و ۵۰ میلی گرم / کیلو گرم، داخل صفاقی) به ترتیب آستانه درد در تست صفحه داغ را کاهش یا افزایش دادند. تزریق Thioperamide (۲۵ میلی گرم / کیلو گرم، داخل صفاقی) به طور معنی داری اثر Hyperalgesia ایجاد شده با Imetit را آنتاگونیزه نمود.

استنتاج: این نتایج پیشنهاد می کنند که مکانیسم های گیرنده های هیستامینی بر روند درد ایجاد شده توسط صفحه داغ نقش تعدیلی دارند.

واژه های کلیدی: درد، تست صفحه داغ، تست Writhing، تست Rota rod، هیستامین، موش

✉ ساری - بلوار خزر، دانشکده پزشکی

\* متخصص فارماکولوژی، استادیار فارماکولوژی دانشکده پزشکی

\*\* دانشجوی رشته پزشکی دانشکده پزشکی ساری

## مقدمه

هیستامین یک نوروترانسمیتر در مغز پستانداران می باشد (۲،۱). هیستامین اثرات فیزیولوژیک خود را بر روی سلول های هدف از طریق تحریک سه دسته از گیرنده ها موسوم به گیرنده های  $H_1$ ،  $H_2$  و  $H_3$  مستقر بر غشاء سیتوپلاسمی اعمال می کند (۳،۴،۵).

امروزه گزارشاتی وجود دارد که نشان می دهد هیستامین در تعدیل انتقال درد نقش دارد. برای مثال، تزریق داخل مغزی هیستامین تولید اثرات Antinociceptive یا Hypernociceptive وابسته به دوز یا محل تزریق می کند. تزریق داخل مغزی دوزهای پایین هیستامین ایجاد Hyperalgesia می نماید، در صورتی که دوزهای بالای آن ایجاد Analgesia می کند (۶،۷). تزریق هیستامین به Dorsal raphe nucleus و نواحی Periaqueductal grey ایجاد اثر ضد دردی می کند، در صورتی که تزریق آن به Median raphe nucleus آستانه درد را پایین می آورد (۸). این نتایج پیشنهاد می کند که اثرات متضاد مرکزی هیستامین بر روی آستانه درد ممکن است ناشی از تحریک گیرنده های مختلف هیستامین باشد (۵،۹،۷،۹). این مطالعه به منظور تعیین نقش گیرنده های مختلف هیستامینی در تعدیل روند درد ایجاد شده توسط صفحه داغ و Writhing ایجاد شده توسط اسید استیک صورت گرفته است.

## مواد و روش ها

### حیوانات

همه آزمایشات بر روی موش های نر Swiss-Webster با وزن ۲۰ الی ۲۵ گرم انجام گرفت. حیوانات به صورت ۹ تایی در قفس های پلاستیکی در حیوانخانه دانشکده پزشکی با درجه حرارت  $21 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری می شدند. غذا و آب همیشه به جز در هنگام آزمایشات

در اختیار حیوان قرار می گرفت. از هر حیوان نیز فقط یکبار استفاده می شد.

### تست صفحه داغ

اثر داروها بر روند درد ایجاد شده با صفحه داغ به وسیله دستگاه Hot plate ساخت کارخانه Harvard انگلستان مورد بررسی قرار می گرفت. درجه حرارت صفحه داغ به صورت اتوماتیک توسط ترموستات دستگاه در  $52/5 \pm 0/5$  درجه سانتی گراد تنظیم شده بود. موش ها به طور انفرادی بر روی صفحه داغ قرار داده می شدند و latency لیسیدن یا لگد زدن پا توسط حیوان در زمان های مختلف قبل یا پس از تزریق داروها توسط دستگاه ثبت می گردید. یک Cut-off time چهل و پنج ثانیه ای برای اجتناب از صدمه بافتی برای حیوان در نظر گرفته شد.

### تست Writhing

در این تست محلول اسید استیک ۰/۶ درصد با حجم ۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم از راه داخل صفاقی به موش ها تزریق می شد. سپس تعداد Writhes به مدت ۳۰ دقیقه پس از تزریق اسید استیک ثبت می گردید.

### تست Rota rod

همانگی حرکتی حیوانات بر اساس زمان تحمل حیوان روی میله دوار با یک دستگاه Rota rod (Harvard, UK) در سرعت ۱۶ دور در دقیقه ثبت می گردید. یک روز قبل از آزمایش، حیوانات برای تطابق با دستگاه دوبار روی میله دوار قرار می گرفتند. در روز آزمایش فقط موش هایی که قادر بودند به مدت ۱۰۰ الی ۳۰۰ ثانیه (Cut-off time) روی میله دوار تعادل

خود را حفظ نمایند انتخاب می گردیدند. زمان تحمل حیوان قبل و بعد از تجویز داروها اندازه گیری می شد.

### تزریق داخل مغزی

تزریق داخل مغزی برطبق روش (Haley and McCormick) با حجم محلول ۵ میکرولیتر انجام می گرفت.

### داروها

داروهای زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

دکس کلرفنیل آمین (Dimapirt, (RBI,USA)  
دیفن هیدرامین (HTMT, (RBI,USA)  
Imetit, (Tocris Cookson,UK), (ICN,UK), رانیتیدین  
(Sigma,UK) و تیوپراماید (ICN,UK).

در تمام موارد دوز داروها برای Base آنها گزارش شده است. داروها همگی در سالیन حل شدند به جز HTMT که در یک قطره از اتانول حل و سپس با سالین رقیق شد. کنترل حامل در این مورد اتانول در سالین بود. داروهای که از راه داخل صفاقی به کار گرفته می شدند همگی در حجم ۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم تزریق می گردیدند. به علت گزارشاتی مبنی بر نفوذ کم مشتقات تری فلورومتیل هیستامین به داخل مغز (۱۲،۱۱)، راه داخل مغزی برای تجویز آگونیست گیرنده  $H_1$  هیستامینی، HTMT (۱۳،۱۲) به کار گرفته شد. دوز تجویزی HTMT براساس دوزهایی از هیستامین هیدروکلراید که ایجاد درد یا اثر ضد دردی می نمود، تنظیم شده است (۷). از آنجایی که بیشتر لیگندهای  $H_2$  ترکیبات قطبی هستند و به طور ضعیفی وارد مغز می شوند (۱۴) بنابراین راه داخل مغزی برای رانیتیدین و Dimapirt مورد استفاده قرار گرفت. برای تیوپراماید و Imetit راه داخل صفاقی در نظر گرفته شد زیرا پس از تجویز محیطی، این داروها می توانند از

سد خونی- مغزی عبور نمایند و متعاقباً گیرنده های  $H_3$  هیستامینی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۵،۱۶). به طور کلی دوز و زمان تزریق داروها براساس گزارشات مختلف در رابطه با مؤثر بودن این داروها از نظر فارماکولوژیکی تنظیم شده است (۲۰،۱۹،۱۸،۱۷،۱۶،۱۵،۹،۷،۶).

### آنالیز آماری

نتایج به دست آمده در تست Writhing با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و نتایج حاصل از تست های صفحه داغ و Rota rod با استفاده از آنالیز مکرر واریانس (Repeated measures ANOVA) و متعاقب آن با تست Newman-Keuls مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار می گرفت. تفاوت با  $P < 0.05$  بین گروه های آزمایشی در هر نقطه از نظر آماری معنی دار تلقی می شد.

### نتایج

#### اثر HTMT، دکس

کلرفنیل آمین و دیفن- هیدرامین بر آستانه درد در آزمایش صفحه داغ، دوز داخل مغزی ۵۰ میکرو گرم/موش از HTMT یک پاسخ Hypernociceptive ایجاد نمود ( $F(7,5) = 6.689$ ,  $P < 0.0001$ ). در صورتی که دوز ۱۰۰ میکروگرم/موش از این دارو ( $F(7,5) = 1.901$ ,  $P > 0.0980$ ) تغییر معنی داری در پاسخ درد ایجاد نکرد (جدول شماره ۱). در تست Writhing تجویز دوز ۵۰ میکروگرم/موش نیز آستانه درد را کاهش داد ( $F(2,15) = 4.280$ ,  $P < 0.338$ ) (تصویر شماره ۱). دوز ۵۰ میکروگرم/موش از HTMT در تست Rota rod تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نکرد ولی دوز ۱۰۰

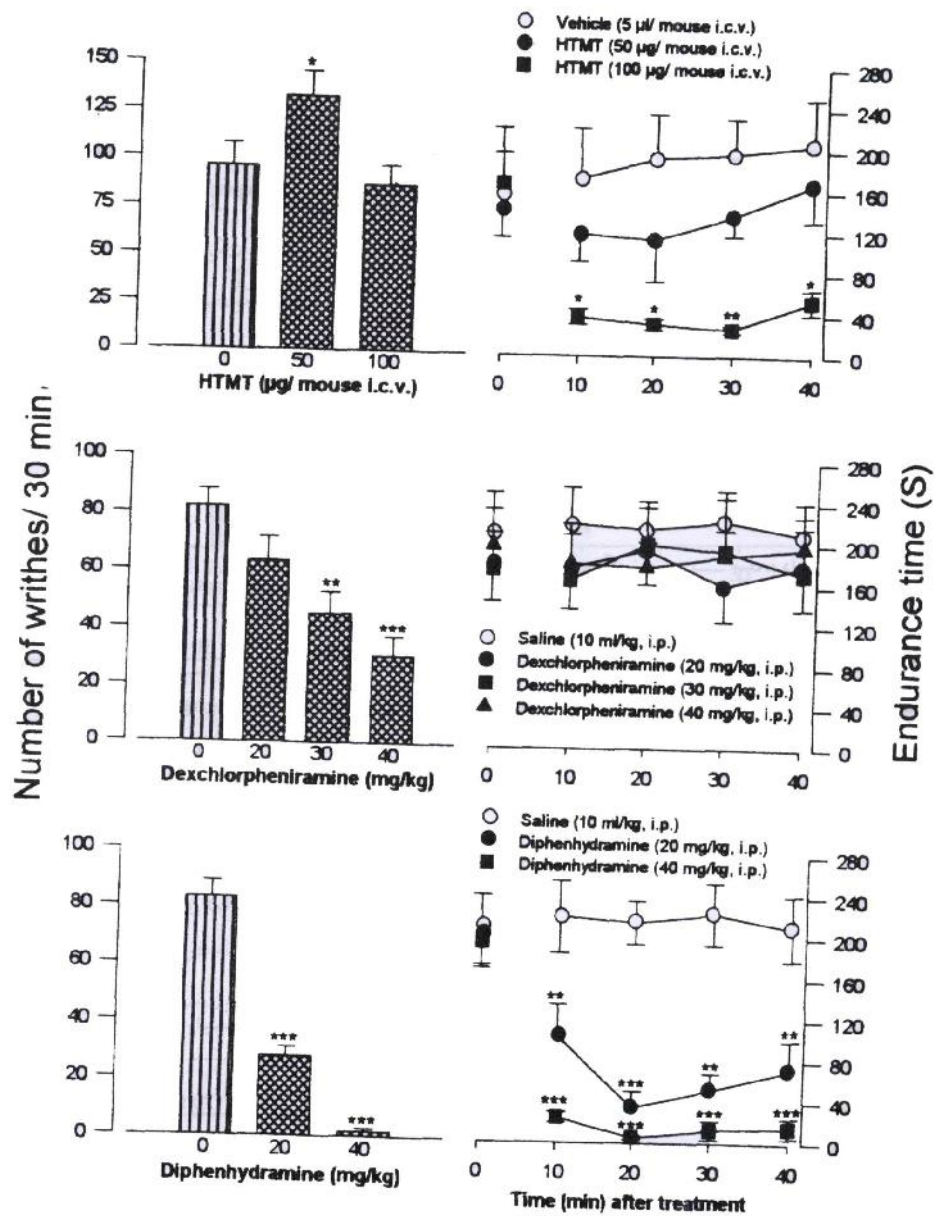
میکروگرم/ موش آن موجب اختلال فعالیت حرکتی گردید (F(7,5)=10.309,P<0.0001) (تصویر شماره ۱).  
 در تست صفحه داغ، تزریق داخل صفاقی دوزهای ۳۰ (F(7,7)=14.832,P<0.0001) و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم (F(7,7)=19.959,P<0.0001) از دکس کلرفنیرآمین یا دوزهای ۲۰ (F(7,7)=6.634,P<0.0001) و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم (F(7,7)=27.712,P<0.0001) از دیفن هیدرامین آستانه درد را افزایش دادند. دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم دکس کلرفنیرآمین فاقد اثر ضد دردی بود (F(7,7)=0.672,P>0.649) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: اثر HTMT، دکس کلرفنیرآمین (DEX) و دیفن هیدرامین (DIP) بر روی latency لیسیدن و لگد زدن در تست صفحه داغ

| Licking or kicking latency (s) |   |            |               |               |               |
|--------------------------------|---|------------|---------------|---------------|---------------|
| Treatment                      | n | Pretest    | 20 min        | 30 min        | 40 min        |
| $\mu\text{g i.c.v.}$           |   |            |               |               |               |
| Vehicle                        | ۶ | ۱۴/۷ ± ۰/۸ | ۱۵/۵ ± ۲/۲    | ۱۶/۶ ± ۳/۵    | ۱۷/۶ ± ۲/۸    |
| HTMT 50                        | ۶ | ۱۳/۵ ± ۰/۷ | ۷ ± ۰/۶*      | ۷/۲ ± ۰/۶**   | ۶/۵ ± ۰/۷**   |
| HTMT 100                       | ۶ | ۱۲/۳ ± ۱/۵ | ۱۰/۷ ± ۱      | ۱۰/۲ ± ۰/۸    | ۱۲ ± ۱/۳      |
| $\text{mg/kg, i.p.}$           |   |            |               |               |               |
| Saline                         | ۸ | ۱۲/۷ ± ۱/۴ | ۱۳/۷ ± ۱/۶    | ۱۲/۵ ± ۱/۱    | ۱۲ ± ۱/۸      |
| DEX 20                         | ۸ | ۱۲ ± ۱/۸   | ۲۲/۵ ± ۴/۸    | ۲۳/۲ ± ۴/۳    | ۲۱/۶ ± ۴      |
| DEX 30                         | ۸ | ۱۲/۳ ± ۱/۱ | ۳۰ ± ۵/۶***   | ۳۷ ± ۴/۷***   | ۳۴/۶ ± ۴/۳*** |
| DEX 40                         | ۸ | ۱۱/۴ ± ۱/۲ | ۳۷/۲ ± ۳/۳*** | ۳۸ ± ۳/۳***   | ۳۲/۱ ± ۴***   |
| DIP 20                         | ۸ | ۱۱/۳ ± ۱   | ۲۶/۶ ± ۴/۵**  | ۲۶ ± ۳/۸*     | ۲۷/۲ ± ۴**    |
| DIP 40                         | ۸ | ۱۳/۱ ± ۱/۷ | ۳۷/۱ ± ۳***   | ۳۴/۷ ± ۳/۵*** | ۳۴/۱ ± ۳/۴*** |

نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است.  $P<0.001$ \*\*\*,  $P<0.01$ \*\* ,  $P<0.05$ \* تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

در تست Writhing تزریق داخل صفاقی دکس- کلرفنیرآمین (F(3,26) = 10.752, P<0.0001) به طور وابسته به دوز و بدون تأثیر بر فعالیت حرکتی حیوان در تست Rota rod آستانه درد را افزایش داد ( تصویر شماره ۱). تزریق دوزهای مختلف دیفن هیدرامین (۲۰ و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) نیز آستانه درد را در تست Writhing افزایش داد ( تصویر شماره ۱). در تست Rota rod تمام دوزهای دیفن هیدرامین هماهنگی عضلانی حیوانات را به طور معنی داری کم کردند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: اثر HTMT، دکس کلرفنیر آمین و دیفن هیدرامین بر روی آستانه درد در تست Writhing و زمان تحمل در تست Rota rod. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شده است (گروه / موش  $n=6$ ). \* $P<0.05$ ، \*\* $P<0.01$ ، \*\*\* $P<0.001$  تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

تزریق داخل صفاقی یک دوز بی اثر دکس کلرفنیرآمین در تست صفحه داغ یا Rota rod به طور معنی داری پاسخ Hypernociceptive دوز داخل مغزی ۵۰ میکروگرم/ موش HTMT را آنتاگونیزه نمود (جدول شماره ۲).

#### اثر Dimaprit و رانیتیدین بر آستانه درد

در تست صفحه داغ، دوز داخل مغزی ۱۰۰ میکروگرم / موش از Dimaprit موجب بروز یک اثر ضد دردی (F(7,5)=4.945, P<0.0006) همراه بایک اختلال در روند هماهنگی حرکتی گردید (جدول شماره ۳، تصویر شماره ۲). تزریق دوز ۵۰ میکروگرم/ موش Dimaprit از طریق داخل مغزی بر آستانه درد ایجاد

شده توسط صفحه داغ و فعالیت حرکتی حیوان در تست Rota rod تغییر معنی داری ایجاد نکرد (تصویر شماره ۲). تجویز داخل مغزی دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم/ موش Dimaprit به حیوانات در تست Writhing آستانه درد را افزایش داد (F(2,15)=3.379, P<0.0324). تزریق داخل مغزی دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم/ موش از رانیتیدین آستانه درد در تست های صفحه داغ و Writhing را افزایش داد (جدول شماره ۳ و تصویر شماره ۲).

در دوز ۱۰۰ میکروگرم/ موش، رانیتیدین فعالیت حرکتی حیوان در تست Rota rod را (F(7,5)=8.274, P<0.0001) به طور معنی داری کاهش داد (تصویر شماره ۲).

جدول شماره ۲: اثر تجویز همزمان HTMT با دکس کلرفنیرآمین (DEX) بر روی latency لیسیدن و لگد زدن در تست صفحه داغ

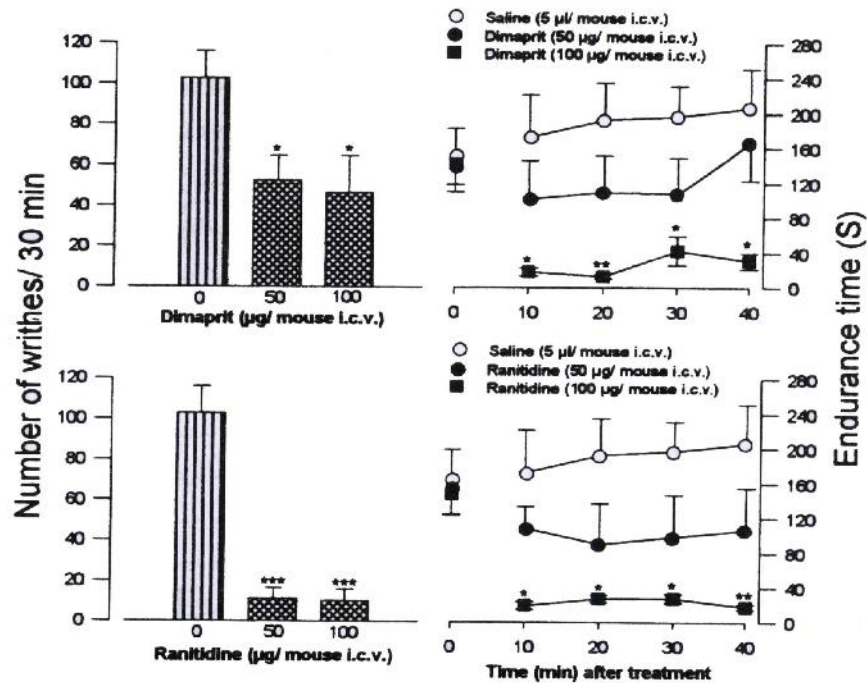
| Treatment                                   | n | Licking or kicking latency (s) |            |            |            |
|---------------------------------------------|---|--------------------------------|------------|------------|------------|
|                                             |   | Pretest                        | 20 min     | 30 min     | 40 min     |
| µg i.c.v. + mg/kg, i.p.<br>Vehicle + saline | ۶ | ۱۵/۳ ± ۱                       | ۱۵/۲ ± ۱/۸ | ۱۴/۲ ± ۱/۱ | ۱۴/۳ ± ۱/۹ |
| Vehicle + DEX20                             | ۶ | ۱۴/۸ ± ۱/۲                     | ۲۱/۷ ± ۳/۲ | ۲۲/۵ ± ۳/۳ | ۲۰/۵ ± ۲/۶ |
| HTMT50 + saline                             | ۶ | ۱۳/۸ ± ۱/۵                     | ۸/۳ ± ۰/۷* | ۸ ± ۰/۹*   | ۸/۲ ± ۰/۶* |
| HTMT50 + DEX20                              | ۶ | ۱۴/۲ ± ۱/۳                     | ۱۰/۲ ± ۰/۹ | ۱۲/۵ ± ۲/۲ | ۱۱/۳ ± ۱/۳ |

نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است. \*P<0.01 تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

جدول شماره ۳: اثر Dimaprit (DIM) و رانیتیدین (RAN) بر روی latency لیسیدن و لگد زدن در تست صفحه داغ

| Treatment           | n | Licking or kicking latency (s) |              |              |             |
|---------------------|---|--------------------------------|--------------|--------------|-------------|
|                     |   | Pretest                        | 20 min       | 30 min       | 40 min      |
| µg i.c.v.<br>Saline | ۶ | ۱۵/۸ ± ۰/۹                     | ۱۴/۵ ± ۱/۴   | ۱۵ ± ۱/۶     | ۱۶/۳ ± ۰/۵  |
| DIM 50              | ۶ | ۱۴/۳ ± ۲/۱                     | ۱۴/۸ ± ۲/۵   | ۱۱/۲ ± ۱/۲   | ۱۱ ± ۱/۹    |
| DIM 100             | ۶ | ۱۳/۷ ± ۱/۳                     | ۱۹ ± ۱/۶     | ۲۲ ± ۲/۱*    | ۲۲/۲ ± ۲/۲* |
| RAN 50              | ۶ | ۱۵/۵ ± ۱/۵                     | ۳۰/۲ ± ۴/۸*  | ۳۲/۲ ± ۵/۸*  | ۳۱/۳ ± ۵/۹* |
| RAN 100             | ۶ | ۱۶ ± ۱/۱                       | ۴۱/۲ ± ۲/۸** | ۴۳/۸ ± ۱/۲** | ۴۴ ± ۱**    |

نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است. \*P<0.05 , \*\*P<0.001 تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.



تصویر شماره ۲: اثر Dimaprit و رانیتیدین بر روی آستانه درد در تست Writhing و زمان تحمل در تست Rota rod. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شده است (گروه/ موش:  $n=6$ ).  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$  تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

### اثر Imetit و Thioperamide بر آستانه درد

در تست صفحه داغ، تزریق داخل صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم از Imetit که در تست Rota rod فاقد اثر بود آستانه درد را کاهش داد ( $F(7,6)=17.2$ ) ( $P<0.0001$ ) (جدول شماره ۴ و تصویر شماره ۳).

تزریق داخل مغزی Dimaprit (۵۰ میکروگرم/ موش) به همراه رانیتیدین (۵۰ میکروگرم/ موش) آستانه درد در هر دو تست را تغییر معنی داری ندادند (نتایج نشان داده نشده است).

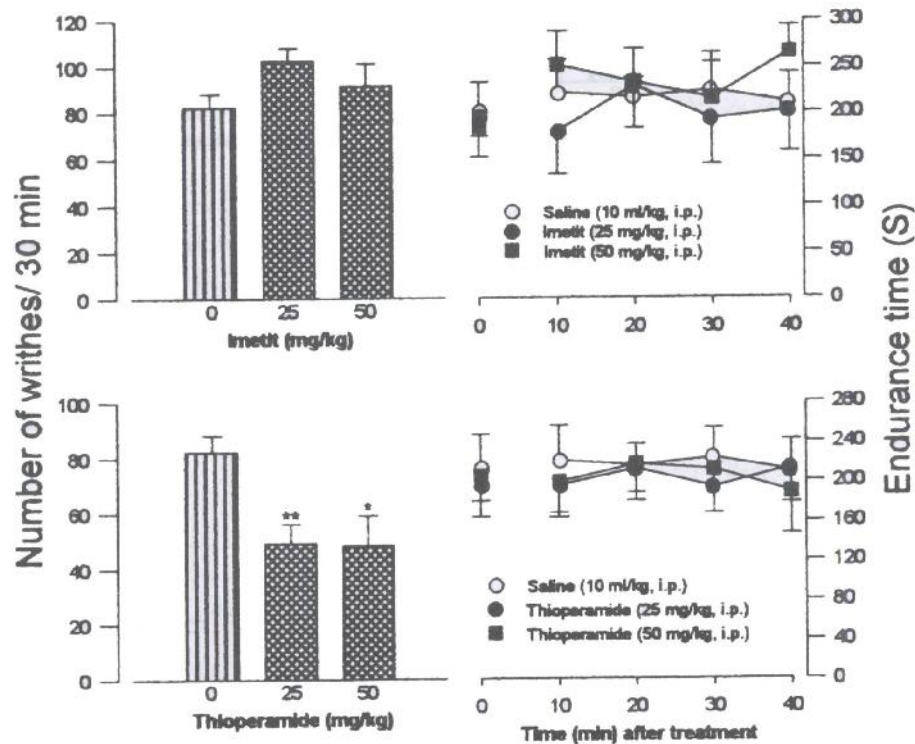
جدول شماره ۴: اثر Imetit (IME) و تیوپراماید (THI) بر روی latency لیسیدن و لگد زدن در تست صفحه داغ

| Treatment<br>mg/kg, i.p. | n | Licking or kicking latency (s) |             |             |              |
|--------------------------|---|--------------------------------|-------------|-------------|--------------|
|                          |   | Pretest                        | 20 min      | 30 min      | 40 min       |
| Saline                   | ۷ | ۱۲/۶ ± ۱/۱                     | ۱۳/۴ ± ۱/۲  | ۱۳/۶ ± ۰/۸  | ۱۴/۱ ± ۱/۳   |
| IME 50                   | ۷ | ۱۳ ± ۱                         | ۱۱/۸ ± ۱/۳  | ۱۰/۶ ± ۲/۲  | ۹ ± ۲/۲      |
| IME 100                  | ۷ | ۱۲/۳ ± ۰/۶                     | ۶/۷ ± ۱/۳** | ۷ ± ۰/۵**   | ۶/۸ ± ۰/۵**  |
| THI 50                   | ۷ | ۱۲/۲ ± ۱/۹                     | ۱۵ ± ۱/۸    | ۱۵/۶ ± ۲/۲  | ۱۶/۱ ± ۱/۷   |
| THI 100                  | ۷ | ۱۱/۹ ± ۱/۷                     | ۱۷/۴ ± ۱/۴  | ۱۹/۴ ± ۱/۲* | ۲۱/۵ ± ۰/۹** |

نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است.  $P < 0.001$  \*\*,  $P < 0.01$  \* تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

ولی تزریق داخل صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم /  
 کیلوگرم از Thioperamide که در تست Rota rod فاقد  
 اثر بود آستانه درد را افزایش داد،  $(F(7,6)=9.398, P<0.0001)$  (جدول شماره ۴ و تصویر شماره ۳).  
 تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف Imetit (۲۵ و  
 ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) به حیوانات اثری بر آستانه  
 درد در تست Writhing نداشت (تصویر شماره ۳) ولی  
 Thioperamide به طور معنی داری اثر تضعیفی Imetit  
 بر آستانه درد را آنتاگونیزه نمود (جدول شماره ۵).





تصویر شماره ۳: اثر Imetit و تیوپراماید بر روی آستانه درد در تست Writhing و زمان تحمل در تست Rota rod. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شده است (گروه / موش  $n = 6$ ).  $P < 0.05$  \*،  $P < 0.01$  \*\* تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

جدول شماره ۵: اثر تجویز همزمان Imetit (IME) و تیوپراماید (THI) بر روی latency لیسیدن و لگد زدن در تست صفحه داغ

| Treatment<br>mg/kg, i.p. | n | Licking or kicking latency (s) |                |                |                |
|--------------------------|---|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                          |   | Pretest                        | 20 min         | 30 min         | 40 min         |
| Saline + saline          | 7 | 13/3 $\pm$ 1/0                 | 12/7 $\pm$ 1/1 | 12/3 $\pm$ 0/8 | 13/7 $\pm$ 0/9 |
| IME 50+ saline           | 7 | 11/7 $\pm$ 0/3                 | 7/1 $\pm$ 0/5* | 7/2 $\pm$ 0/4* | 6 $\pm$ 0/3    |
| THI 25 + saline          | 7 | 12/5 $\pm$ 1/7                 | 13/7 $\pm$ 1/3 | 14/8 $\pm$ 1/9 | 17/3 $\pm$ 1/0 |
| IME 50+ THI 25           | 7 | 11/1 $\pm$ 0/6                 | 12/5 $\pm$ 1   | 12/8 $\pm$ 1/3 | 14 $\pm$ 0/9   |

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شده است.  $P < 0.01$  \* تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

## بحث

تست های صفحه داغ و Writhing مورد بررسی قرار گرفت. نتایج عمده به دست آمده به شرح زیر می باشد:

در مطالعه حاضر اثر آگونیست ها و آنتاگونیست های مختلف گیرنده های هیستامینی بر آستانه درد در

که با این سیستم های واکنش می دهند قادر نیستند اثر ضد دردی آنتاگونیست های گیرنده  $H_1$  را مهار نمایند (۱۱)، بنابراین دخیل بودن سیستم های کولینرژیک، سروتونینرژیک و کاتکول آمینرژیک در اثرات ضد دردی تولید شده توسط آنتاگونیست های گیرنده  $H_1$  غیرمحمّل می باشد. HTMT علاوه بر تحریک گیرنده-های  $H_1$ ، با تمایل کم (ثابت مهار: ۳ میکرومولار) به گیرنده های  $H_3$  هیستامینی در بافت مغزی متصل می شود و فعالیت آن را مهار می کند (۱۲). بنابراین به منظور این که نشان دهیم دوز داخل مغزی ۵۰ میکروگرم/موش HTMT از طریق گیرنده های  $H_1$  هیستامینی اثر Hyperalgesia خود را اعمال می کند، به حیوانات دریافت کننده HTMT، دکس کلرفنیرآمین (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی، دوز بی اثر در تست های صفحه داغ، Rota rod و Writhing) به عنوان آنتاگونیست گیرنده  $H_1$  هیستامینی (۱۸) تزریق شد. از آنجایی که دکس کلرفنیرآمین به طور معنی داری اثر HTMT در کاهش آستانه درد را آنتاگونیزه نمود، بنابراین احتمال دارد که مکانیسم های گیرنده  $H_1$  هیستامینی در تعدیل پاسخ های درد دخیل باشند.

نتایج حاضر نشان می دهد که تزریق داخل مغزی آگونیست گیرنده  $H_2$  هیستامینی، Dimaprit (۲۱) (۱۰۰ میکروگرم/موش) یا آنتاگونیست گیرنده  $H_2$  هیستامینی، رانتیدین (۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم/موش) به طور معنی داری آستانه درد را در هر دو تست صفحه داغ و Writhing افزایش داد. دوز ۱۰۰ میکروگرم/موش، Dimaprit و رانتیدین در تست Rota rod موجب اختلال فعالیت حرکتی شد. این نتایج دلیل دیگری برای اثر مرکزی هیستامین می باشد هرچند Dimaprit اثر آنتاگونیستی بر روی گیرنده های  $H_3$  هیستامینی دارد (۳) و بعضی از  $H_2$  آنتاگونیست ها نیز تولید اثرات ضد دردی غیر-هیستامینرژیک می کنند (۲۲). Dimaprit در مغز به گیرنده-

الف) آگونیست گیرنده  $H_1$  هیستامینی، HTMT در هر دو تست ایجاد Hyperalgesia کرد در صورتی که دکس کلرفنیرآمین به طور معنی داری کاهش آستانه درد ایجاد شده توسط HTMT را آنتاگونیزه نمود.

ب) آگونیست یا آنتاگونیست گیرنده  $H_2$  هیستامینی، Dimaprit یا رانتیدین به طور معنی داری آستانه درد در هر دو تست را افزایش دادند.

ج) در تست صفحه داغ، آستانه درد به طور معنی داری توسط آگونیست گیرنده  $H_3$  هیستامینی، Imetit کاهش یافت در صورتی که Thioperamide به طور معنی داری Hyperalgesia ایجاد شده توسط Imetit را آنتاگونیزه نمود.

تزریق داخل مغزی دوز ۵۰ میکروگرم / موش HTMT در هر دو تست صفحه داغ و Writhing ایجاد Hyperalgesia نمود. این دوز از HTMT در تست Rota rod فاقد هر گونه اثر معنی داری بود. دوز بالاتر HTMT (۱۰۰ میکروگرم/موش) اثر معنی داری بر آستانه درد ایجاد نکرد. از آنجایی که این دوز از HTMT در تست Rota rod موجب اختلال در هماهنگی حرکتی شد، بنابراین احتمال دارد که عدم توانایی این دوز در کاهش آستانه درد مربوط به اثر آن در تست Rota rod باشد. نتایج همچنین نشان می دهد که دکس-کلرفنیرآمین و دیفن هیدرامین آستانه درد در تست های صفحه داغ و Writhing را افزایش دادند. از آنجایی که دیفن هیدرامین در تمام دوزها هماهنگی حرکتی حیوانات در تست Rota rod را مختل نمود، بنابراین افزایش آستانه درد ناشی از اثر دیفن هیدرامین نمی تواند یک اثر ضد دردی واقعی باشد. مشخص شده است که آنتاگونیست های گیرنده  $H_1$  هیستامینی علاوه بر بلوک گیرنده های  $H_1$ ، قادر هستند گیرنده های موسکارتینی، سروتونینی و سیستم های Uptake آمین ها را مهار نمایند (۲،۱۱). از آنجایی که ترکیبات اختصاصی

کردن Hyperalgesia با استفاده از تست Writhing مشکل است زیرا موادی که قادر هستند ایجاد Hypernociception قوی درست های دیگر نمایند به طور غیرمنتظره ای تعداد Writhing ایجاد شده با اسید استیک را کاهش می دهند که علت این امر فعال شدن سیستم های اوپیویدی آندورژن برای کاهش دردی باشد (۹،۱۱). بر خلاف تست Writhing شکمی، Hyperalgesia ایجاد شده با محرک هایی با شدت پایین نظیر صفحه داغ با درجه حرارت ۵۲/۵ درجه سانتی گراد نه تنها به ما این اجازه را می دهد که افزایش آستانه درد را اندازه بگیریم بلکه این اجازه را نیز می دهد که هرگونه کاهش آستانه درد را ثبت نماییم. بنابراین، این موضوع می تواند تفاوت قابل توجه پاسخ های Imetit در تست های صفحه داغ و Writhing را توضیح دهد. نتایج حاضر نشان می دهد که آنتاگونیست گیرنده  $H_3$  هیستامینی، تیوپراماید (۲۷) (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) یک اثر ضد دردی معنی داری در تست های صفحه داغ و Writhing ایجاد نمود. در تست Rota rod هماهنگی حرکتی تحت تأثیر تیوپراماید قرار نگرفت. از آنجایی که تجویز داخل صفاقی دوز ۲۵ میلی گرم/کیلوگرم تیوپراماید به طور معنی داری اثر تقویتی Imetit در کاهش آستانه درد را آنتاگونیست نمود بنابراین احتمال دارد مکانیسم های گیرنده  $H_3$  هیستامینی در تعدیل پاسخ درد ایجاد شده با صفحه داغ، دخیل باشند.

های  $H_3$  متصل می شود و فعالیت آنها را آنتاگونیست می کند (۳). از آنجایی که نتایج ما نشان می دهد که تیوپراماید به عنوان آنتاگونیست گیرنده  $H_3$  هیستامینی به طور معنی داری اثر ضد دردی در تست های صفحه داغ و Writhing دارد، بنابراین اثر ضد دردی Dimaprit ممکن است از طریق گیرنده های  $H_3$  هیستامینی واسطه-گری شود. مطالعات مختلف نشان داده است که آنتاگونیست های گیرنده  $H_2$  هیستامینی اثرات مختلفی نظیر تقویت (۲۴،۲۳)، یا آنتاگونیست کردن (۲۵) اثر ضد دردی مرفین، اثر یا فقدان اثر بر روی آستانه درد زمانی که به تنهایی مصرف شوند (۲۲،۲۳،۲۵) و فقدان اثر بر روی عملکرد ضد دردی هیستامین (۶) دارند. این تنوع اثرات متضاد برای آنتاگونیست های گیرنده  $H_2$  ممکن است مربوط به مکانیسم های غیر وابسته به گیرنده های هیستامینی (۲۲) و یا تمایل به تمام سه نوع گیرنده  $H_1$ ،  $H_2$  و  $H_3$  هیستامینی باشد (۲۶). در حقیقت چنین اثرات متضادی برای  $H_2$  آنتاگونیست ها، مصرف آنها را به عنوان ابزارهای فارماکولوژیکی محدود می کند و پیشنهاد می کند اثر ضد دردی رانیتیدین و دیگر آنتاگونیست های گیرنده  $H_2$  ممکن نیست از طریق گیرنده های  $H_2$  واسطه-گری شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که آگونیست انتخابی گیرنده های  $H_3$  هیستامینی، Imetit (۱۵) (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) به طور معنی داری اثر ضد دردی در تست صفحه داغ اعمال نمود ولی در تست Writhing این دارو فاقد اثر بر آستانه درد بود. مشخص

### فهرست منابع

- 1- Prell GD, Green JP. Histamine as a neuroregulator. *Annu. Rev. Neurosci.* 1986; 9, 209-54.
- 2- Schwartz JC, Arrang JM, Bouthenet ML, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol. Rev.* 1991; 71, 1-51.
- 3- Arrang JM, Garbary M, Schwartz JC. Autoinhibition of brain histamine release

- mediated by a novel class ( $H_3$ ) of histamine receptor. *Nature*. 1983; 302,832-7.
- 4- Ash ASF, Achild HO. Receptors mediating some actions of histamine. *Br. J. Pharmacol.* 1966; 27, 427-39.
  - 5- Black JW, Duncan WAM, Durant GJ, Ganellin CR, Parsons ME. Definition and antagonism of histamine  $H_2$ -receptors. *Nature*. 1972; 239, 385-90.
  - 6- Chung YH, Miyake H, Kamei C, Tasaka K. Analgesic effect of histamine induced by intracerebral injection into mice. *Agents Actions*. 1984; 15, 137-42.
  - 7- Malmberg-Aiello P, Lamberti C, Ghelardini C, Giotti A, Bartolini A. Role of histamine in rodent antinociception. *Br. J. Pharmacol.* 1994; 111, 1269-79.
  - 8- Glick SD, Crane LA. Opiate-like and abstinence -like effects of intracerebral histamine administration in rats. *Nature*. 1978; 273, 547-9.
  - 9- Lamberti C, Bartolini A, Ghelardini C, Malmberg-Aiello P. Investigation into the role of histamine receptors in rodent antinociception. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996; 53, 567-74.
  - 10- Haley TJ, McCormick WG. Pharmacological effects produced by intracerebral injections of drugs in the conscious mouse. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 1957; 12, 12-5.
  - 11- Malmberg-Aiello P, Lamberti C, Ipponi A, Bartolini A, Schunack W. Evidence for hypernociception induction following histamine  $H_1$  receptor activation in rodents. *Life Sci.* 1998; 63, 463-76.
  - 12- Qiu R, Melmon KL, Khan MM. Effects of histamine- trifluoromethyl- toluidide derivative (HTMT) on intracellular calcium in human lymphocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1990; 253, 1245-52.
  - 13- Khan MM, et al. The effects of derivatives of histamine on natural suppressor cells. *J. Immunol.* 1986; 137, 308-14.
  - 14- Hill SJ, et al. International union of pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. *Pharmacol. Rev.* 1997; 49, 253-78.
  - 15- Garbarg M, Arrang JM, Rouleau A, Lingneau X, Dam Trung Tuong M, Schwartz JC, Ganellin CR. S-[2-(4-imidazolyl) ethyl] isothiurea, a highly specific and potent histamine  $H_3$  receptor agonist. *J. Pharmacol. Ther.* 1992; 263, 304-10.
  - 16- Taylor SJ, Michel AD, Kilpatrick GJ. In vivo occupancy of histamine  $H_3$  receptors by thioperamide and (R)- $\alpha$ -methylhistamine measured using histamine turnover and an ex vivo labeling technique. *Biochem. Pharmacol.* 1992; 44, 1261-7.
  - 17- Netti C, Bossa R, Galatus I, Sibilia V, Pecile A. Antinociceptive effect of centrally administered cimetidine and dimaprit in the rat. *Pharmacology*. 1984; 28, 262-7.
  - 18- Oluyomi AO, Hart SL. Involvement of histamine in naloxone- resistant and naloxone-sensitive models of swim

- stress-induced antinociception in the mouse. *Neuropharmacology*. 1991; 30, 1021-7.
- 19- Rumore MM, Schlichting DA. Analgesic effects of antihistaminics. *Life Sci*. 1985; 36, 403-16.
  - 20- Sakai N, Onodera K, Maeyama K, Yanai K, Watanabe T. Effects of thioperamide, a histamine H<sub>3</sub> receptor antagonist, on locomotor activity and brain histamine content in mast cell- deficient w/w<sup>v</sup> mice. *Life Sci*. 1991; 48, 2397-404.
  - 21- Durant GJ, Ganellin CR, Parsons ME. Dimaprit [S- [3- (N, N- dimethylamino) propyl] isothioureia] a highly specific histamine H<sub>2</sub> receptor agonist. Part 2. Structure activity considerations. *Agents Actions*. 1977; 7, 39-43.
  - 22- Li By, Nalwalk JW, Barker LA, Cumming P, Parsons ME, Hough LB. Characterization of the antinociceptive properties of cimetidine and a structural analog. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1996; 276, 500-8.
  - 23- Bluhm R, Zsigmond EK, Winnie AP. Potentiation of opioid analgesia by H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> antagonists. *Life Sci*. 1982; 31, 1229-32.
  - 24- Robertson JA, Hough LB, Bodnar RJ. Potentiation of opioid and nonopioid forms of swim analgesia by cimetidine. *Pharmacology*. 1988; 31, 107-12.
  - 25- Gogas KR, et al. A role for histamine and H<sub>2</sub> receptors in opioid antinociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1989; 250, 476-84.
  - 26- Schwartz JC, Arrang JM, Bouthenet ML, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histamine receptors in brain. In: Uvnas B, (ed), *Handbook of experimental pharmacology, histamine and histamine antagonists*. Springer-Varlag, Berlin, pp. 1991b; 191-242.
  - 27- Hew RW, Hodgkinson CR, Hill SJ. Characterization of histamine H<sub>3</sub> receptors in guinea-pig ileum with H<sub>3</sub> selective ligands. *Br. J. Pharmacol*. 1990; 101, 621-4.
  - 28- Netti C, Guidobono F, Sibilia V, Villa I, Cazzamalli E, Pecile A. Central effects of histamine H<sub>2</sub>-receptor agonists and antagonists on nociception in the rat. *Agents Actions*. 1988; 23, 247-9.
  - 29- Hill SJ, Daum P, Young JM. Affinities of histamine H<sub>1</sub> antagonists in guinea-pig brain: similarity of values determined from [s; H<sub>3</sub>] mepyramine binding and from inhibition of a functional resapone. *J. Neurochem*. 1981; 37, 1257-1360.
  - 30- Thoburn KK, Hough LB, Nalwalk JW, Mischler SA. Histamine-induced modulation of nociceptive response. *Pain*. 1994; 58, 29-37.