

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

داوود فرزین (Ph.D.)*

روناک سعادت (Ph.D.)**

چکیده

سابقه و هدف: دیفن هیدرامین، مشتق اتانل آمین و آنتاگونیست گیرنده H1 هیستامینی است. این دارو کاربرد زیادی در تخفیف علائم واکنش های حساسیتی از جمله اختلالات خارش دار پوستی، التهاب ملتحمه چشم و مخاط بینی، تهوع و استفراغ، بیماری حرکت، سرگیجه، بی خوابی، درمان علامتی سرفه و سرماخوردگی دارد و دارای خاصیت بی حس کننده 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 عضله اسکلتی دو بطنی گردن جوجه طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش ها: عضله 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 تیروید 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 به صورت کشش ناگهانی (Twitch) از طریق دستگاه مبدل به دستگاه تندنکار 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 استیل کولین اگزوزن در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین افزایش یافت.

واکنش انقباضی نسبت به استیل کولین اگزوزن 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 های کلیدی: عضله دو بطنی گردن، دیفن هیدرامین، هیستامین، جوجه

* متخصص فارماکولوژی، عضو هیئت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران ☐ ساری: بلوار خزر، دانشکده 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

مقدمه

دیفن هیدرامین یک آنتی هیستامین مهارکننده H1 با اثر آرام بخشی قوی است (۱). این دارو بدون نسخه (OTC) در موارد بالینی مختلف نظیر درمان علائم واکنش های حساسیتی از جمله اختلالات خارش دار پوستی، ادم عروقی (۳،۲)، التهاب بینی و التهاب ملتحمه (۵،۴)، تهوع و استفراغ خصوصاً در بیماری حرکت (۷،۶)، اختلالات خواب، سرفه و سرماخوردگی (۸)، زخم ها و آفت دهانی به عنوان دهان شویه (۹) مورد استفاده قرار می گیرد. دیفن هیدرامین 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 گسترده ای در ارتباط با اثرات سداتیو و مرکزی دیفن هیدرامین صورت گرفته است، ولی گزارش قابل استناد در ارتباط با اثر مستقیم دیفن هیدرامین بر عضلات اسکلتی در دسترس نیست. نظر به این که دیفن هیدرامین به عنوان یک آنتی هیستامین OTC، استفاده گسترده ای در ایران و دیگر کشورها دارد، بررسی اثر آن بر عملکرد عضله اسکلتی ضروری به نظر می رسد. این پژوهش در راستای تعیین اثر و مکانیسم دیفن هیدرامین بر عضله اسکلتی دو بطنی گردن جوجه طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش ها

جوجه ای با سن ۳ هفته ابتدا با اتر بیهوش و بعد کشته شد. سپس پره های پشت گردن حیوان چیده و در امتداد خط وسط از جمجمه تا زیر قاعده گردن، بریدگی ایجاد گردید. پوست ناحیه بریده شده با احتیاط کنار زده شد به طوری که عضلات آسیب نبینند. در این صورت دو عضله 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 حلقه ای

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 الکتروود عبور داده و سپس به قلاب vessel دستگاه حمام عضو (هاروارد، انگلستان) وصل گردید. الکتروود طوری تنظیم می شد که به تاندون های فوقانی عضله متصل باشد، بدون این که 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 تیروید 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- نیترو-۵- مرکاپتو بنزوات 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 آن ها را به محیط اضافه کرده و جذب را اندازه گیری نماییم. داروهای آنتی کولین استراز، با مهار آنزیم، واکنش هیدرولیز استیل

تیوکولین را کاهش می دهند. این عمل با کاهش تولید رنگ زرد، جذب کم تری ایجاد می کند (۱۱).

محلول ها:

الف- بافر فسفات، ۰/۱ مولار و pH 8

ب- استیل تیوکولین آیوداید ۰/۰۱۵ مولار

ج- معرف DTNB ۰/۰۱ مولار

تهیه سوسپانسیون خونی:

جهت تهیه سوسپانسیون خونی بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH 8 تهیه شد. در این بافر خون به نسبت ۱:۶۰۰ رقیق گردید. دقیقاً 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 قرار گرفته و جذب آن در ۴۱۲ نانومتر صفر گردید. سپس استیل تیوکولین به میزان ۲۰ میکرولیتر به سل اضافه و تغییرات جذب در مدت ۶ دقیقه ثبت شد (۱۱).

محاسبات:

$$\Delta A / RBC = (4.41) (10^{-14}) \text{ min per RBC} \text{ مول}$$

استیل تیوکولین هیدرولیز شده

$$4.14 \times 10^{-14} \text{ فاکتور رقت}$$

ΔA : تغییر جذب در دقیقه

RBC: شمارش گلبول قرمز

در دو حالت آزمایش انجام می گرفت:

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 دهنده سوسپانسیون خونی کسر

می گردید. در نمونه 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 تیروید:

برای تهیه ۱۰ لیتر محلول تیروید 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 $MgSO_4$ ۱۰ درصد (مرک، آلمان) ۲۶ میلی لیتر، محلول NaH_2PO_4 ۵ درصد (مرک، آلمان) ۱۳ میلی لیتر، گلوکز (مرک، آلمان) ۱۰ گرم، $NaHCO_3$ (مرک، آلمان) ۱۰ گرم، محلول $CaCl_2$ مولار (مرک، آلمان) ۱۸ میلی لیتر

داروها:

داروهای زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

استیل کلرولین 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).

دستگاه ها:

Universal Oscilloscope (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

با $P < 0.05$ در هر نقطه، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

یافته ها

اثر ديفن هيدرامين بر واكنش ككش ناگهانی عضله دو بطني گردن جوجه:

در Vessel عضله دو بطني گردن جوجه، غلظت های افزايش يابنده ديفن هيدرامين ايجاد گرديد. غلظت های ايجاد شده در وسل شامل ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ ميكروگرم در ميلي ليتر بود. در غلظت ۳۲ ميكروگرم/ميلي ليتر و بالاتر، ديفن هيدرامين توانست واكنش ككش ناگهانی و اثر استيل كولين اگزوزن را مهار كند. اين مهار در مدت ۱۵ دقيقه پس از شست و شوی عضله،

به تدریج از بین رفت تصویر شماره ۱ اثر غلظت ۳۰ ميكروگرم/ميلي ليتر ديفن هيدرامين را بر واكنش ككش ناگهانی واستيل كولين اگزوزن نشان می دهد. با توجه به اين كه غلظت درمانی ديفن هيدرامين كم تر از ۱۰۰ نانوگرم/ميلي ليتر است (۱۲)، غلظت ۳۰ ميكروگرم/ميلي ليتر، غلظت سمی ديفن هيدرامين محسوب می شود. غلظت های ۱۰۰ نانوگرم در ميلي ليتر ديفن هيدرامين، پاسخ استيل كولين اگزوزن را بدون تاثير بر واكنش ككش ناگهانی تقويت نمود (تصوير شماره ۲). نتايج مشابهی نیز با غلظت ۵۰ نانوگرم/ميلي ليتر ديفن هيدرامين به دست آمد.

تصوير شماره ۱: اثر ديفن هيدرامين ($30 \mu\text{g/ml}$) بر پاسخ ككش ناگهانی واستيل كولين اگزوزن

تصویر شماره ۲: اثر دیفن هیدرامین ($100 \mu\text{g/ml}$) بر پاسخ کشش ناگهانی و استیل کولین اگزوزن

اثر دیفن هیدرامین بر واکنش کرباکول:
واکنش انقباضی ناشی از کرباکول (1 میکروگرم/ میلی لیتر) توسط غلظت 50 و 100 نانوگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین کاهش یافت غلظت 40 میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین ، علاوه بر مهار واکنش کشش ناگهانی، پاسخ کرباکول را نیز کاملاً مهار کرد (تصویر شماره ۳).

اثر دیفن هیدرامین بر تقویت کشش ناگهانی ناشی از 10 برابر کردن مدت زمان تحریک:
دیفن هیدرامین (50 و 100 نانوگرم/ میلی لیتر و 1 میکروگرم/ میلی لیتر) اثر چندانی بر تقویت کشش ناگهانی ناشی از 10 برابر کردن مدت زمان تحریک نداشت. در صورتی که غلظت 30 میکروگرم/ میلی لیتر دیفن هیدرامین واکنش کشش ناگهانی ناشی از 10 برابر کردن مدت زمان تحریک را کاهش داد (تصویر شماره ۴).

تصویر شماره ۳: اثر دیفن هیدرامین ($40 \mu\text{g/ml}$) بر پاسخ کشش ناگهانی و واکنش انقباضی کرباکول

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 می شود. دیفن هیدرامین در غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی لیتر کشش ناگهانی ناشی از تحریکات الکتریکی مستقیم را کاملاً خنثی کرد (تصویر شماره ۶) که این اثر مستقل از عملکرد گیرنده های نیکوتینی بوده و مربوط به اثر تثبیت غشایی آن می باشد (۱۴). برای تائید بیشتر این نتیجه اثر دیفن هیدرامین بر روی تناوز ایجاد شده با فرکانس ۲۰ هرتز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد دیفن هیدرامین تناوز و تسهیل بعد از تناوز 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 ۴: اثر دیفن هیدرامین ($30 \mu\text{g/ml}$) 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 کننده غیردیپلاریزان استفاده شد. شل کننده غیر دیپلاریزان به کار 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 به خوبی این تحریکات را به بافت عضلانی منتقل نماید. سپس در محیط آماده سازی غلظت ۱ نانوگرم/ میلی لیتر گالامین ایجاد گردید.

تصویر شماره ۵: اثر گالامین ($1 \mu\text{g/ml}$) بر پاسخ کشش ناگهانی ناشی از تحریکات غیرمستقیم

تصویر شماره ۵: اثر دیفن هیدرامین ($30 \mu\text{g/ml}$) در حضور گالامین ($1 \mu\text{g/ml}$) 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 کردن کلسیم، واکنش کشش ناگهانی را افزایش می دهد. کافئین در غلظت 200 میکروگرم/میلی لیتر پاسخ مهاری دیفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی را خنثی نکرد.

واکنش وابسته به دوز استیل کولین در حضور دیفن هیدرامین: منحنی واکنش وابسته به دوز استیل کولین در حضور غلظت های 50 و 100 نانوگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین به سمت چپ، (بدون کاهش اثر) تغییر یافت غلظت 1 و 30 میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین منحنی واکنش وابسته به دوز استیل کولین را به سمت راست (با کاهش اثر) منتقل کرد (تصویر شماره ۷). این اثر برای غلظت 30 میکروگرم/میلی لیتر دیفن هیدرامین برجسته تر بود؛ به طوری که پاسخ استیل کولین را کاملاً خنثی نمود

تصویر شماره ۷: منحنی واکنش وابسته به دوز استیل کولین در حضور و عدم حضور دیفن هیدرامین ($30 \mu\text{g/ml}$) نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار از میانگین گزارش شده است. ($n=4$)

واکنش وابسته به دوز دوز کرباکول در حضور دیفن هیدرامین:

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

منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول در حضور دیفن هیدرامین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر) به طور 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 کاملاً خنثی کرد (تصویر شماره ۸).

تصویر شماره ۹: اثر دیفن هیدرامین بر فعالیت آنزیم کولین استراز توتال خون. دیفن هیدرامین (۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ ، ۵۰، ۱ $\mu\text{g/ml}$) به طور وابسته به غلظت، تعداد مول های هیدرولیز شده استیل تیو کولین توسط استیل کولین استراز ارتیروسیت ها و کولین استراز پلاسمایی را کاهش داد. این نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار از میانگین گزارش شده است ($n=4$).
* $P<0.05$ و ** $P<0.01$ تفاوت از گروه شاهد را نشان می دهد.

بحث

در این مطالعه، اثر دیفن هیدرامین بر عملکرد انقباضی عضله دو بطنی گردن جوجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در این تحقیق به شرح زیر می باشد:

تصویر شماره ۸: منحنی واکنش وابسته به دوز کرباکول در حضور و عدم حضور دیفن هیدرامین (۳۰، ۱ $\mu\text{g/ml}$) نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار از میانگین گزارش شده است. ($n=4$)

اثر دیفن هیدرامین بر فعالیت استیل کولین استراز ارتیروسیت ها و کولین استراز پلاسمایی:

- دیفن هیدرامین در غلظت‌های بالا (۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر)، واکنش کشش ناگهانی به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم را کاهش داد.

- واکنش انقباضی به استیل کولین اگزوزن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین، افزایش یافت در صورتی که غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین واکنش انقباضی به استیل کولین اگزوزن را کاملاً مهار کرد.

- واکنش انقباضی کرباکول در حضور دیفن هیدرامین، تضعیف یا کاملاً مهار شد.

- منحنی‌های واکنش وابسته به دوز استیل کولین و کرباکول در حضور غلظت ۱ میکروگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین به سمت راست تغییر یافت و غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین، کاملاً پاسخ‌های استیل کولین و کرباکول را مهار نمود.

نتایج فوق یک اثر آنتی کولین استرازی و یک اثر مهار پی‌سی‌سی‌پی برای دیفن هیدرامین پیش‌بینی می‌کند. اثر آنتی کولین استرازی مربوط به افزایش واکنش انقباضی استیل کولین اگزوزن و عدم تغییر یا کاهش پاسخ کرباکول در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین می‌باشد. نظر به این که 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 اگزوزن را افزایش دهد که این افزایش پاسخ در آماده سازی عضله دو بطنی گردن جوجه در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین کاملاً مشهود است. بنابراین احتمالاً دیفن هیدرامین در غلظت‌های مذکور دارای اثر آنتی کولین استرازی است. اگر اثر آنتی کولین استرازی دیفن هیدرامین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر را بپذیریم، چگونه عدم تغییر واکنش

کشش ناگهانی در حضور دیفن هیدرامین قابل توجه است؟. در پاسخ به این سؤال، می‌توان اذعان نمود که احتمالاً دیفن هیدرامین یک اثر پی‌سی‌سی‌پی مهار می‌کند. شاهد این مدعا کاهش پاسخ کرباکول می‌باشد. منحنی‌های واکنش وابسته به دوز استیل کولین و کرباکول در حضور دیفن هیدرامین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/ میلی‌لیتر) نیز یافته‌های فوق را تأیید می‌کند؛ 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/ میلی‌لیتر دیفن هیدرامین به صورت وابسته به غلظت، فعالیت استیل کولین استراز اریتروسیت‌ها و کولین استراز پلاسمایی را مهار می‌کند که این مهار به‌صورت کاهش تعداد مول‌های 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 گلبول‌های 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/ میلی‌لیتر، اثر آنتی کولین استرازی دیفن هیدرامین معادل اثر مهار پی‌سی‌سی‌پی می‌باشد که در این حالت واکنش کشش ناگهانی تغییر نمی‌کند. ولی در غلظت ۳۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و بالاتر، اثر پر قدرت پی‌سی‌سی‌پی دیفن هیدرامین موجب مهار شدید واکنش کشش ناگهانی می‌شود. شاهد این مدعا، بی‌اثر بودن ۴-آمینوپیریدین و فیزوستیگمین و مهار کامل

پاسخ استیل کولین و کرباکول در منحنی‌های واکنش وابسته به دوز است. ۴-آمینوپیریدین با مهار کانال‌های پتاسیم، آزادسازی استیل کولین از پایانه‌های 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 دهنده اثر پس سیناپسی مهاری دفن هیدرامین در غلظت‌های بالا (۳۰ میکروگرم/میلی لیتر و بالاتر) است که این اثر می‌تواند 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. دفن 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 دفن هیدرامین بر کانال‌های کلسیمی یا اثر تثبیت غشایی مستقل از مهار گیرنده‌های نیکوتینی است. برای تایید این فرضیه، اثر دفن 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 شل‌کننده 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 کاملاً مهار می‌کند. این تحریک الکتریکی، استیل کولین را از پایانه‌های اعصاب حرکتی آزاد می‌نماید. 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 می‌شود که شاهد این مدعا، بی‌اثر بودن گالامین بر واکنش کشش ناگهانی است. دفن هیدرامین (۳۰ میکروگرم/میلی لیتر) واکنش کشش ناگهانی ناشی از تحریکات الکتریکی مستقیم در حضور گالامین را کاملاً مهار کرد که نشان دهنده اثر تثبیت غشایی یا مهار کانال‌های کلسیمی رتیکولوم سارکوپلاسمیک می‌باشد. نتایج مربوط به تناوز و تسهیل بعد از تناوز نیز این یافته را تایید می‌کند. برای بررسی اثر مهاری دفن هیدرامین بر کانال‌های کلسیمی رتیکولوم سارکوپلاسمیک، از کافئین به‌عنوان یک محرک کانال استفاده گردید. در این آزمایش، کافئین نتوانست اثر مهاری دفن هیدرامین را خنثی نماید بنابراین مهار کانال‌های کلسیمی در پاسخ مهاری دفن هیدرامین غیرمحمول است و احتمالاً اثر مهاری غلظت‌های بالای دفن هیدرامین بر واکنش کشش ناگهانی، به اثر تثبیت غشایی آن بستگی دارد. اثر تثبیت غشایی و یا بی‌حس‌کنندگی موضعی دفن هیدرامین در مطالعات *in vivo* بر روی انسان بررسی شده است؛ به‌طور مثال گروه Ernest و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند دفن هیدرامین ۵ درصد به همراه اپی نفرین اثر بی‌حس‌کنندگی قوی‌تری نسبت به لیدوکائین ۱ درصد دارد؛ در صورتی که لیدوکائین ۱ درصد بافره شده با اپی نفرین از ترکیب دفن هیدرامین ۵ درصد بافره شده با اپی نفرین قوی‌تر است (۱۷).

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

اثر بخشی دیفن هیدرامین ۲ درصد تفاوت معنی داری نسبت به دیفن هیدرامین ۱ درصد نداشت (۱۹). در یک مطالعه دوسوکور دیگر، اثر بی حس کنندگی موضعی دیفن هیدرامین با لیدوکائین مقایسه گردید و مشخص شد که دیفن هیدرامین مانند لیدوکائین اثر بی حس کنندگی موضعی دارد ولی میانگین مدت زمان بی حس موضعی لیدوکائین طولانی تر از مدت زمان بی حس دیفن هیدرامین می باشد. در این مطالعه تزریق زیر جلدی دیفن هیدرامین دردناک تر از تزریق لیدوکائین بود (۲۰). نتایج مشابهی نیز در مطالعه Xia (۲۰۰۲) و همکاران به دست آمده است؛ به طوری که دیفن هیدرامین ۱ درصد درد کمتری نسبت به دارونما در تزریق داخل جلدی ایجاد می کند، ولی این اثر ضعیف تر از اثر لیدوکائین ۱ درصد می باشد (۲۱). در مطالعه دیگر، اثر بی حس موضعی دیفن هیدرامین و پریلوکائین برای جراحی دهان مقایسه گردید (۲۲). در این مطالعه مشخص شد که دیفن هیدرامین می تواند بی حس کامل و مناسبی برای جراحی دهان ایجاد نماید و پیشنهاد گردید که دیفن هیدرامین می تواند به عنوان یک جایگزین، زمانی که بیماران به بی حس کنندگان موضعی حساسیت دارند، مورد استفاده قرار گیرد. اثر بی حس کننده موضعی دیفن هیدرامین احتمالاً به مهار انتقال

یون های سدیم اعصاب در وضعیت غیرفعال کانال سدیمی بستگی دارد (۲۳). این اثر مشابه مهار کانال های سدیمی نورون های حسی توسط بی حس کننده های موضعی است (۲۴). اثر مهار دیفن هیدرامین بر عملکرد انقباضی عضله بصورت *in vitro* و *in vivo* در حیوانات آزمایشگاهی نیز مورد بررسی قرار گرفته است؛ به طور مثال در مطالعه گروه Jose و همکاران (۱۹۵۹) در آماده سازی دیافراگم و عصب فرنیک جدا شده موش صحرایی، دیفن هیدرامین اثر شبه کوراری فلاکسیدیل را تقویت نمود. علاوه بر این، دوز ۱۵ میلی گرمی دیفن هیدرامین زمانی که به ورید پای عقب سگ و یا به صورت داخل صفاقی تزریق شد، به طور مشخصی پاسخ انقباضی عضله اسکلتی به تحریک الکتریکی هم در عضله طبیعی و هم در عضله فاقد عصب را تضعیف نمود (۲۵).

در مجموع نتایج حاضر نشان می دهد، دیفن هیدرامین در غلظت های درمانی اثر تضعیفی قابل ملاحظه ای بر عملکرد انقباضی عضله اسکلتی ندارد، زیرا اثر مهار 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.

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 rhinitis: newer treatment approaches. *Drugs*. 1993; 45: 518-527.
5. Ciprandi G. Drug treatment 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 preparations*, 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.

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.