تأثیر مرکزی هیستامین بر درد فرمالینی در خرگوش: نقش سیستم اپیوئیدی

دکتر اسماعیل تمدنفرد[1]* دکتر ارفین عظیم پوران[2] دکتر بابک بهجت[2]

دریافت مقاله: ۱۶ اردیبهشت ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱۶ آبان ماه ۱۳۸۳

هدف: مطالعه اثر تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین بر درد ناشی از تزریق فرمالین به گوش چپ خرگوش و همچنین اثر امین بر بی‌دردی ناشی از مرفین و تشدید درد ناشی از نالوکسان.

طرح مطالعه: مطالعه تجربی.

حیوانات: شصت وشش قطعه خرگوش سفید نیوزیلندی نر با وزن بین ۲/۰۶۴/۱۶ کیلوگرم.

روش: قراردادن کانول استانلیس استیل شماره ۲۱ و به طول ۱۸ میلیمتر در داخل بطن جانبی راست خرگوش، انجام تزریقات داخل بطنی مغزی نرمال سالین (کنترل)، هیستامین در مقادیر ۲۲/۵، ۴۵ و ۹۰ میکروگرم، مرفین و نالوکسان در مقادیر مساوی ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم، هیستامین (۴۵ میکروگرم) قبل از مرفین (۵۰ میکروگرم) و هیستامین (۹۰ میکروگرم) پس از نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) بوسیله سرنگ هامیلتون ۲۵ میکرولیتری، تزریق زیرجلدی نرمال سالین (کنترل) و یا فرمالین (۱۰۰ میکرولیتر، ۵ درصد) درسطح خارجی گوش چپ خرگوش بوسیله سرسوزن تزریقی شماره ۲۹، ثبت پاسخهای درد شامل مدت زمان حرکات سر و گوشها و خاراندن گوش در فواصل پنج دقیقه‌ای به مدت یکساعت.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز واریانس یکطرفه و با اندازه‌گیری مکرر، آزمون دانکن.

نتایج: تزریق نرمال سالین به گوش خرگوش پاسخ معنی‌داری ایجاد نکرد در حالی‌که تزریق فرمالین موجب ایجاد پاسخ درد برای مدت کوتاهی (۱۰ دقیقه) پس از تزریق شد. هیستامین در مقدار ۲۲/۵ میکروگرم بر مدت زمان حرکات سر و گوشها و خاراندن گوش اثر نگذاشت اما در مقادیر ۴۵ و ۹۰ میکروگرم پاسخهای درد را تضعیف نمود. مرفین در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم موجب مهار و نالوکسان در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم موجب تشدید پاسخهای دردشد. تزریق هیستامین (۴۵ میکروگرم) قبل از مرفین (۵۰ میکروگرم) موجب افزایش اثر ضددرد مرفین شد و تزریق هیستامین (۹۰ میکروگرم) بعد از نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) تشدید درد ناشی از نالوکسان را تخفیف داد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان مطرح نمود که فعال شدن هیستامین مغزی موجب کاهش درد می‌شود. مرفین بعنوان یک داروی ضد درد، اثر ضددردی ایجاد می‌کند ولی نالوکسان موجب تشدید درد می‌شود. هیستامین اثر ضددردی مرفین را تقویت می‌کند و تشدید درد ناشی از نالوکسان را کاهش می‌دهد. اثر کاهش دهنده درد توسط هیستامین احتمالاً بطور مستقل از سیستم اپیوئیدی انجام می‌گیرد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۱، ۹۰-۸۳.

واژه‌های کلیدی: مغز، هیستامین، مرفین، نالوکسان، درد فرمالینی، خرگوش.

حس درد پاسخ یک قسمت و یا کل سیستم عصبی به تحریکات آسیب رسان

۱) گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه- ایران.
۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز- ایران.
*) نویسنده مسؤول: e_tamaddonfard@yahoo.com

Central Effect of Histamine on Formalin - Induced Pain in Rabbits : Role of Opioid System

Tamaddonfard, E.[1], Azimpouran, A.[2], Behjat, B.[2]

[1]Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran. [2]Graduated from Faculty of Veterinay Medicine, Tabriz Islamic Azad University, Tabriz-Iran.

Objective: To investigate the effect of intracerebroventricular injection of histamine on pain induced by subcutaneous injection of formalin in the left ear of rabbit and the effect of the amine on morphine analgesia and naloxone hyperalgesia.

Design: Experimental study.

Animals: Sixty - six male New Zealand white rabbits weighing 2.64 0.16 Kg.

Procedure: Intracerebroventricular injections of the following drug solutions were done: normal saline (control), histamine (22.5, 45μg and 90μg), morphine and naloxone (50μg and 100 μg), histamine (45μg) before morphine (50μg) and histamine (90μg) after naloxone (100μg).For induction of Pain Subcutaneous injections of normal saline (control) and formalin (100, 5%) were done Responses including the durations of head and ear movements and ear scratching were recorded in the five min intervals for 1h.

Statistical analysis: One-way ANOVA, repeated measures ANOVA and Duncan's test.

Results: While normal saline produced any significant response, formalin injection induced a short-lasting (10 min) pain response. Histamine at the dose of 22.5μg had no effect on head and ear movements and scratching durations, but at the doses of 45 and 90μg suppressed the pain response. Morphine (50 and 100μg) and Naloxone (50 and 100μg) induced antinociception and hyperalgesia, respectively, while I.c.v. injection of histamine (45μg) before morphine (50μg) increased the antinociceptive effect of morphine Moreover, at the dose of (90μg) after naloxone (100μg) attenuated the naloxone induced hyperalgesia.

Clinical implication: Activation of brain histamine produces antinociception. Morphine induces analgesia and naloxone produces hyperalgesia. Histamine potentiates the morphine analgesia and attenuates naloxone hyperalgesia. The antinociceptive effect of histamine may be independent of opioid system. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,1:83-90,2006.***

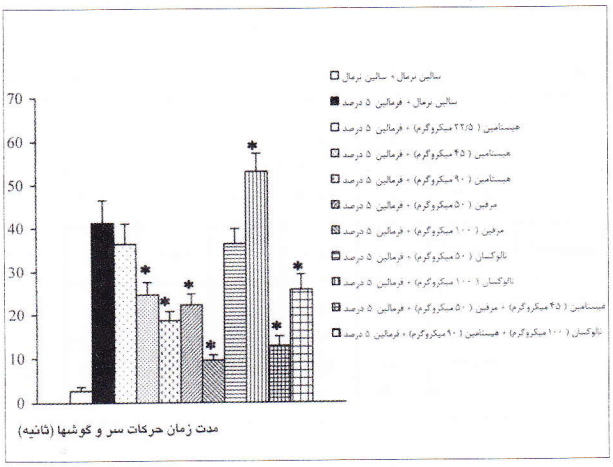
Keyword: brain, histamine, morphine, naloxone, formalin pain, rabbit.

Corresponding author's email: e_tamaddonfard@yahoo.com

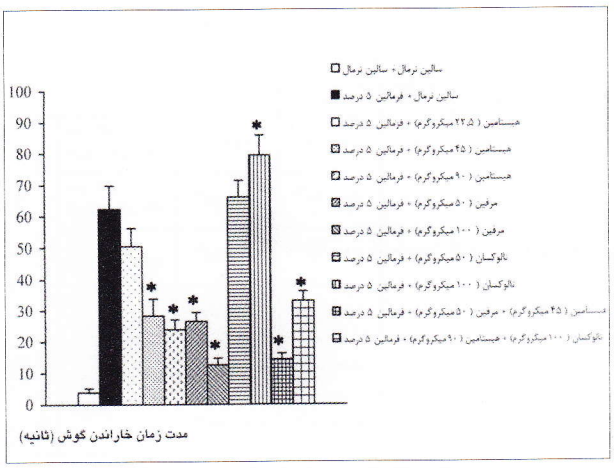
است و شامل چهار روند فیزیولوژیک تبدیل، انتقال، تنظیم و درک سیگنال های عصبی است. در روند تبدیل، انرژی محرک آسیب رسان در گیرنده های درد، به فعالیت الکتریکی تبدیل می شود. در انتقال، امواج عصبی بوسیله سیستم عصبی محیطی منتقل می شوند. تنظیم از راه سیستم نزولی ضددرد داخلی اعمال می شود که پردازش محرک ها را در داخل سلول های شاخ پشتی نخاع کنترل می کند و درک درد آخرین مرحله در تجربه آگاهانه درونی و عاطفی درد بوده و نتیجه آن تغییر رفتار طبیعی حیوان و بروز نشانه های درد است (۴۳). درک درد در سیناپس های هسته های مختلف مغز از جمله هسته های عدسی شکل (Lenticular nucleus)، دارکشوئیچ (Darkschewitsch nucleus)، کاجال (Cajal Nucleus)، اینترکولیکولوس (Interciolliculus nucleus)، گوه ای شکل (Cuneiform nucleus)، ادینجر - وستفال (Edinger-Westphal nucleus)، کوادیت (Caudate nucleus)، لوکوس سرولئوس (lucus caeroleus)، پارابراکیالیس (Parabrachialis nucleus)، ژیگانتوسلولاریس (Gigantocellularis nucleus)، راف (Raphe nucleus) ، ناحیه خاکستری دورقنات سیلویوس (Periaqueductal grey matter: PAG)، آمیگدال (Amigdala) انجام می گیرد (۴۵، ۳۳). در عمل سیناپسی هسته های مذکور تعدادی از میانجی های عصبی شامل گابا، سروتونین، نورآدرنالین، پپتیدهای اپیوئیدی، هورمون محرک ملانوسیتی آلفا و غیره دخالت می کنند (۱۵). یکی از میانجی های عصبی کلیدی مغز هیستامین است که در تنظیم مغزی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مثل خواب و بیداری، تحریک مغز، درجه حرارت بدن، پاسخهای قلبی و عروقی، کنترل نوروآندوکرین و فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک نقش دارد (۴،۱۰). همچنین در ایجاد و کنترل رفتارهای مختلف مثل رفتار غذا و آب خوردن، رفتار نظافت و جستجوگری، رفتار حرکتی، یادگیری و حافظه، اضطراب و اختلالات رفتاری دخالت می کند (۳۱، ۱۰، ۳، ۲، ۱). در سال های اخیر مشخص کرده اند که هیستامین مغزی در درک درد نیز دخالت می کند چون تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد در آزمونهای حرارتی و مکانیکی درد در موشهای سوری و رت شده است (۲۵). همچنین تزریق داخل بطن مغزی هیستامین یک اثر مهاری در کنترل درد ناشی از تزریق کف پایی کاراجینان ایجاد کرده است (۳۰). بعلاوه تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در موشهای سوری شده است (۳۹). اثر هیستامین مغزی در کاهش درد ممکن است بطور غیرمستقیم از طریق تداخل با سایر میانجی های عصبی از جمله اپیوئیدها انجام بگیرد چون تزریق عمومی مرفین باعث آزاد شدن هیستامین در ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس شده است و مطرح کرده اند که بخشی از اثر کاهش درد ناشی از مرفین می تواند در ارتباط با فعال شدن هیستامین نورونی مغز باشد (۸). بعلاوه مشخص شده است که هیستامین نورونی مغز و گیرنده H2 آن در تقویت بی دردی ناشی از مرفین و استرس شرکت می کنند (۱۸). با توجه به یافته های مذکور و مشخص بودن انتشار نورونهای هیستامینرژیک در مغز خرگوش (۲۳)، در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل بطن مغزی هیستامین بر پاسخ درد ناشی از تزریق زیرجلدی فرمالین به گوش خرگوش و تداخل عمل سیستم اپیوئیدی و هیستامین با تزریقات داخل بطن مغزی آگونیست (مرفین) و آنتاگونیست (نالوکسان) گیرنده بر درد مذکور بررسی شده است.

مواد و روش کار

در این تجربه از تعداد ۶۶ قطعه خرگوش سفید نیوزیلندی نر با وزن ۲/۰۶۴/۱۶ کیلوگرم استفاده شد. خرگوش ها 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 نگهداری شدند و غذای پلتی تجارتی و آب بطور آزاد دریافت کردند. این تجربه در دو مرحله انجام شد: در مرحله اول در تعداد ۶ قطعه خرگوش سالم (بدون کانول بطنی مغزی) اثر تزریق زیرجلدی نرمال سالین و فرمالین ۵ درصد به حجم ۱۰۰ میکرولیتر در سطح خارجی گوش حیوان بررسی شد و متعاقباً در همین ۶ قطعه خرگوش پس از کانول گذاری داخل بطنی مغزی، اثر تزریق زیرجلدی فرمالین آزمایش شد. مرحله دوم در تعداد ۱۰ گروه ۶ قطعه ای خرگوشهای کانول گذاری شده در داخل بطن جانبی راست اثرات تزریق داخل بطن مغزی محلولهای مورد آزمایش بر رفتار درد حیوان انجام شد. جهت تزریقات داخل بطن مغزی، خرگوشها با تزریق داخل عضلانی مخلوطی از کتامین (۴۰ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۵ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. طی یک عمل جراحی استریل کانول استانلیس استیل شماره ۲۱ بطول ۱۸ میلیمتر در داخل بطن جانبی مغز قرار داده شد (۴). خروج مایع مغزی نخاعی از انتهای کانول دلیل بر صحت قرار گرفتن کانول در داخل بطن مغز بود. خرگوشها پس از تزریق ۶۰۰۰۰ واحد پنی سیلین به هر کیلوگرم وزن بدن به داخل عضله ران (۱۱) به قفسهای نگهداری برگردانده شدند. در این تجربه پودر هیستامین دی هیدروکلراید (مرک، آلمان) در نرمال سالین حل و در مقادیر ۲۲/۵، ۴۵ و ۹۰ میکروگرم، آمپول سولفات مرفین (تولیدارو) با نرمال سالین رقیق و در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم، پودر نالوکسان هیدروکلراید (تولیدارو) در نرمال سالین حل و در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به هر خرگوش، به حجم ۵ میکرولیتر توسط سرنگ هامیلتون ۲۵ میکرولیتری متصل به سرسوزن تزریقی شماره ۲۸ بداخل بطن مغز تزریق شدند. برای پی بردن به تداخل عمل هیستامین و سیستم اپیوئیدی، تزریقات داخل بطن مغزی هیستامین (۴۵ میکروگرم) قبل از مرفین (۵۰ میکروگرم) و هیستامین (۹۰ میکروگرم) بعد از نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) انجام شد. از نرمال سالین بعنوان کنترل، حلال و رقیق کننده استفاده شد. برای ایجاد و بررسی پاسخهای درد، ابتدا غذا و آب از قفس برداشته شد. نیم ساعت بعد، فرمالین ۵ درصد به حجم ۱۰۰ میکرولیتر در حدود ۱۰ دقیقه پس از یک بار و ۲۰ دقیقه پس از دو بار تزریقات داخل بطن مغزی، بصورت زیرجلدی در سطح خارجی گوش تزریق شد. پاسخهای رفتاری شامل حرکات سر و گوشها و خاراندن گوش بعنوان پاسخهای درد (۴۰)



نمودار ۱- اثرات تزریق داخل بطن مغزی هیستامین، مرفین، نالوکسان، هیستامین قبل از مرفین و بعد از نالوکسان بر مدت زمان حرکات سر و گوشها در مدت ۱۰-۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین به گوش خرگوش.
*) در مقایسه با سایر گروهها ($P<0/05$)، تعداد: ۶ قطعه در هر گروه.



نمودار ۲- اثرات تزریق داخل بطن مغزی هیستامین، مرفین، نالوکسان، هیستامین قبل از مرفین و بعد از نالوکسان بر مدت زمان خاراندن گوش در مدت ۱۰-۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین به گوش خرگوش.
*) در مقایسه با سایر گروهها ($P<0/05$)، تعداد: ۶ قطعه در هر گروه.

برای مدت یکساعت پس از تزریق از بالای قفس فیلمبرداری شد. سپس توسط افرادی‌که هیچ‌گونه آشنایی با نوع درمان نداشتند پاسخهای درد بصورت مدت زمان آنها در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای از روی فیلم‌ها قرائت و یادداشت شد. داده‌ها در مرحله اول با آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر و در مرحله دوم با آنالیز واریانس یکطرفه و سپس تست دانکن تجزیه و تحلیل شدند(۳۲). داده‌ها در جدول و نمودارها Mean±SEM آورده شده‌اند و در سطح معنی‌دار ($P<0/05$) ارزیابی گردیده‌اند.

نتایج

تزریق نرمال سالین به گوش خرگوشهای سالم، فقط در ۵ دقیقه اول پاسخ بسیار ضعیف ایجاد کرد. تزریق فرمالین به گوش خرگوشهای سالم موجب افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) مدت زمان حرکات سر و گوشها و خاراندن گوش در ۵ دقیقه‌های اول و دوم نسبت به نرمال سالین و سایر ۵ دقیقه‌ها شد. اثر مذکور در حیوانات کانول‌دار نیز متعاقب تزریق فرمالین ایجاد شد و بین حیوانات بدون کانول و دارای کانول اختلاف معنی‌دار در پاسخهای درد مشاهده نشد. مدت زمان خاراندن گوش نسبت به مدت زمان حرکات سر و گوشها، در ۵ دقیقه اول افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) نشان داد (جدول ۱).

با توجه به نتایج مندرج در جدول ۱، در نمودارها، اثرات بطنی مغزی محلولهای دارویی در مدت ۱۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین بررسی شده‌اند تزریق داخل بطن مغزی هیستامین در مقدار ۲۲/۵ میکروگرم بر مدت زمان حرکات سر و گوشها متعاقب تزریق فرمالین اثر نگذاشت در حالی‌که در مقادیر ۴۵ و ۹۰ میکروگرم پاسخ مذکور بطور معنی‌دار ($P<0/05$) کاهش یافت. هیستامین در مقدار ۹۰ میکروگرم اگرچه کاهش شدید در پاسخ درد ایجاد کرد ولی از نظر آماری با پاسخ هیستامین (۴۵ میکروگرم) اختلاف معنی‌دار نشان نداد. تزریق داخل بطن مغزی مرفین در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم موجب کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) در پاسخ درد شد. اثر کاهش‌دهنده درد مرفین (۱۰۰ میکروگرم) نسبت به مرفین (۵۰ میکروگرم) و هیستامین ۴۵ و ۹۰ میکروگرم معنی‌دار ($P<0/05$) بود. تزریق داخل بطن مغزی نالوکسان در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم پاسخ درد ناشی از فرمالین را بطور معنی‌دار ($P<0/05$) تشدید نمود و اثر نالوکسان ۱۰۰ میکروگرم بطور معنی‌دار ($P<0/05$) شدیدتر از اثر نالوکسان ۵۰ میکروگرم بود. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین (۴۵ میکروگرم) قبل از مرفین (۵۰ میکروگرم) بطور معنی‌دار ($P<0/05$) موجب کاهش پاسخ درد شد و پاسخ ایجاد شده نسبت به تزریق به تنهایی هیستامین (۴۵ میکروگرم) و یا مرفین (۵۰ میکروگرم) بطور معنی‌دار ($P<0/05$) شدید بود. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین (۹۰ میکروگرم) پس از نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) بطور معنی‌دار ($P<0/05$) تشدید درد ناشی از نالوکسان را تخفیف داد (نمودار ۱).

تزریق داخل بطن مغزی هیستامین در مقدار ۲۲/۵ میکروگرم بر مدت زمان خاراندن گوش ناشی از فرمالین در مدت ۱۰ دقیقه پس از تزریق اثر نگذاشت در حالی‌که در مقادیر ۴۵ و ۹۰ میکروگرم پاسخ مذکور را بطور معنی‌دار ($P<0/05$) کاهش داد. بین اثر هیستامین در مقادیر مذکور اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. تزریق داخل بطن مغزی مرفین در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم موجب کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) پاسخ درد شد و بین اثر مرفین ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) ایجاد شد. تزریق داخل بطن مغزی نالوکسان در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بطور معنی‌دار ($P<0/05$) درد فرمالینی را افزایش داد و اثر نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) بطور معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به اثر نالوکسان (۵۰ میکروگرم) شدیدتر بود. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین (۴۵ میکروگرم) قبل از مرفین (۵۰ میکروگرم) شدیداً موجب کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) در پاسخ درد شد. پاسخ ایجاد شده نسبت به اثر تزریق به تنهایی هیستامین (۴۵ میکروگرم) و یا مرفین (۵۰ میکروگرم) بطور معنی‌دار ($P<0/05$) شدید بود. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین (۹۰ میکروگرم) بعد از نالوکسان (۱۰۰ میکروگرم) افزایش درد ناشی از نالوکسان را

جدول۱- اثرات تزریق نرمال سالین و فرمالین به گوش خرگوشهای بدون کانول بطنی مغزی و تزریق فرمالین به گوش خرگوشهای دارای کانول بطنی مغزی بر مدت زمان حرکات سر و گوشها و خاراندن گوش.

		بلوک‌های زمانی ۵ دقیقه‌ای											مدت زمان یکساعت
		۰-۵	۵-۱۰	۱۰-۱۵	۱۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۳۰	۳۰-۳۵	۳۵-۴۰	۴۰-۴۵	۴۵-۵۰	۵۰-۵۵	۵۵-۶۰	دقایق ۱۰-۰	
مدت زمان حرکات سر و گوشها (ثانیه)	بدون کانول (تزریق سالین نرمال)	۱/۵± ۰/۸	۰/۲± ۰/۲	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰/۲± ۰/۲	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۱/۷± ۰/۹	۱/۹± ۱/۱
	بدون کانول (تزریق فرمالین ۵٪)	۲۳/۷± ۲/۵*†	۱۴/۸± ۲/۴*†	۰± ۰	۱± ۰/۵	۰/۶± ۰/۴	۴/۴± ۱/۶	۳± ۱	۱/۳± ۰/۱۶	۰± ۰	۰± ۰	۰/۷± ۰/۱۵	۰± ۰	۳۸/۵± ۴/۱*	۴۴/۸± ۵/۷*
	کانول دار (تزریق فرمالین ۵٪)	۲۷/۲± ۳/۱*†	۱۶/۲± ۱/۸*†	۰/۶± ۰/۳	۰/۷± ۰/۷	۱/۴± ۰/۱۵	۵/۲± ۱/۱	۴/۲± ۱/۶	۱± ۰/۴	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۴۱/۲± ۵/۳*	۵۱/۵± ۴/۹*
مدت زمان خراشیدن گوش (ثانیه)	بدون کانول (تزریق سالین نرمال)	۲/۴± ۱/۷	۰/۵± ۰/۵	۰± ۰	۰± ۰	۰/۳± ۰/۳	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۲/۹± ۱/۳	۳/۴± ۱/۵
	بدون کانول (تزریق فرمالین ۵٪)	۴۰/۵± ۵/۴*†×	۱۵/۷± ۳/۱*†	۲/۶± ۱/۴	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۵۶/۲± ۶/۲*×	۵۸/۸± ۶/۲*
	کانول دار (تزریق فرمالین ۵٪)	۴۴/۹± ۶/۵*†×	۱۷/۳± ۳/۸*†	۳± ۲/۱	۰/۷± ۰/۴	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۰± ۰	۶۲/۲± ۷/۶*×	۶۵/۹± ۷/۶*

*) در مقایسه با بدون کانول (تزریق نرمال سالین) ($P<0/05$)، †) در مقایسه با سایر بلوک‌های ۵ دقیقه‌ای ($P<0/05$)، ×) در مقایسه با مدت زمان حرکات سر و گوشها ($P<0/05$).

بطور معنی داری ($P<0/05$) کاهش داد (نمودار۲).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق زیرجلدی فرمالین ۵درصد به حجم ۱۰۰ میکرولیتر به سطح خارجی گوش خرگوش پاسخ درد ایجاد کرد. پاسخ درد ایجاد شده در ۵دقیقه اول پس از تزریق بسیار شدید، در ۵دقیقه دوم نسبتاً شدید و از ۵ دقیقه سوم به بعد پاسخ درد بسیار ضعیف بود. در نتیجه متعاقب تزریق فرمالین به گوش خرگوش یک پاسخ کوتاه مدت ۱۰ دقیقه‌ای ایجاد شد. از محلول فرمالین بعنوان یک محرک دردزا، به منظور مطالعه مکانیسم‌های دردهای پیکری و احشایی در انواع مختلف حیوانات شامل موشهای سوری، رت، خوکچه هندی، خرگوش، گربه، گوسفند و پرندگان استفاده شده است. در همه مطالعات مذکور غلظت‌های مختلف فرمالین (۱۰-۰/۰۱درصد) به حجم‌های مختلف (۱۰۰-۲۰ میکرولیتر) در قسمت‌های مختلف بدن حیوانات تزریق وواکنشهای رفتاری از آنها ثبت شده است (۴۱،۴۴، ۴۰، ۳۵، ۲۹، ۲۲، ۱۲، ۹، ۵). در موشهای سوری و رت متعاقب تزریق زیرجلدی فرمالین به کف پا پاسخهای رفتاری بصورت دو مرحله‌ای بروز کرده‌اند که مرحله اول آن بلافاصله پس از تزریق شروع و برای مدت ۵-۳ دقیقه و مرحله دوم آن از ۲۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق شروع و به مدت ۴۰-۳۰ دقیقه ادامه داشته است و بین دو مرحله مذکور یک فاصله زمانی ۱۵-۵دقیقه‌ای بصورت کاهش واکنشهای درد رخ داده است (۴۱، ۱۲، ۵). در حالی‌که پس از تزریق زیرجلدی فرمالین به کف پنجه پا در پرندگان و خرگوش و به داخل فضای بین انگشتی گوسفند پاسخ درد بصورت یک مرحله‌ای و برای مدت کوتاهی پس از تزریق ایجاد شده است (۲۲، ۹، ۶). در خرگوش و گوسفند متعاقب تزریق زیرجلدی فرمالین به گوش پاسخ درد یک مرحله‌ای کوتاه مدت گزارش شده است (۴۰). براساس یافته‌های مذکور بطور کامل مشخص می‌شود که پاسخ درد فرمالینی به نوع حیوان استفاده شده و محل تزریق بستگی دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعال شدن سیستم هیستامینرژیک مغز خرگوش با تزریق داخل بطن مغزی هیستامین برون‌زاد یک اثر کاهش دهنده پاسخهای درد ایجاد کرد. هیستامین در سراسر بدن بعنوان یک پیامبر شیمیایی عمل می‌کند و بوسیله انواع مختلفی از سلولها شامل ماست سل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها، سلول‌های شبه آنتروکرومافین، سلول‌های آندوتلیال و نورونها ساخته می‌شود (۳۴). اجسام سلولی نورونهای هیستامینرژیک در هیپوتالاموس خلفی و در هسته توبروماميلاری متمرکز و از آنجا اکسونهای هیستامینرژیک تقریباً به تمام نقاط مغز از جمله نقاط درگیر در مکانیسم‌های درد فرستاده شده‌اند (۳۷). اثر کاهش دهنده درد ناشی از هیستامین با تزریق آمین بداخل بطنهای مغزو یا هسته‌های مغزی درگیر در مکانیسم‌های درد، در مدل‌های مختلف درد تا حدودی مشخص شده است. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش پاسخهای درد در آزمونهای حرارتی (hot plate) و مکانیکی (Paw pressure) درد در موشهای سوری و رت شده است (۲۵). در یک مطالعه دیگر، هیستامین تزریق شده بداخل بطن مغز موجب کاهش تورم پنجه پا، درد و غلظت پروتئین در مایع تورم ناشی از تزریق فرمالین در موشهای رت شده است (۱۳). بعلاوه گزارش شده است که تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین موجب کاهش درد حاصل از تزریق کف پایی کاراجینان درموشهای رت شده است (۳۰). در موشهای سوری، تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین موجب کاهش پاسخ هر دو مرحله درد ناشی از تزریق کف پایی فرمالین شده است (۳۹). با تزریق هیستامین بداخل ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس و قسمت پشتی هسته راف کاهش پاسخهای درد در آزمون صفحه داغ مشاهده شده است (۴۲). با تغییر دادن سطح هیستامین مغز نیز اثر کاهش دهنده درد ایجاد می‌شود چون تزریق داخل بطن مغزی مهارکننده‌های هیستامین N-متیل ترانسفراز و در نتیجه افزایش دهنده‌های هیستامین مغزی مثل SKF 91488 و BW 301 U، کاهش واکنشهای درد در آزمونهای درد حرارتی و مکانیکی گزارش شده است (۲۶). تزریق داخل صفاقی هیستیدین (اسید امینه پیش‌ساز هیستامین) در مقادیر بالا پاسخهای درد حرارتی و مکانیکی را در موشهای سوری و رت کاهش داده است (۲۵). همچنین تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر بالا و نه در مقایر پایین پاسخهای درد ناشی از تزریق

کف پایی فرمالین را کاهش داده است (۳۹). کلیه یافته‌های مذکور بر این نکته تأکید می‌کنند که فعال شدن هیستامین مغزی موجب کاهش پاسخهای درد می‌شود. در سطح نخاع، هیستامین، برادی کینین، گلوتامات و سایر میانجی‌های عصبی در همکاری با هم در تنظیم واکنشهای درد دخالت می‌کنند (۱۶). در همین رابطه تزریق داخل نخاعی هیستامین موجب افزایش پاسخ درد در آزمون tail flick در موشهای سوری شده است (۳۶). بر اساس یافته‌های مذکور می‌توان چنین مطرح نمود که اثر کاهش دهنده درد ناشی از هیستامین در سطح فوق نخاعی (supraspinal) انجام می‌گیرد. البته ذکر این نکته ضروری بنظر می‌رسد که فعال شدن هیستامین مغزی موجب برانگیخته شدن و تحریک مغز می‌گردد (۱۰) و از دیدگاه روانشناسی درد، تحریک مغز و ایجاد توجه، با بکارگیری مدارهای عصبی از لب پیشانی و آمیگدال و تأثیر آنها بر ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس واکنشهای درد را کاهش می‌دهد (۱۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق داخل بطن مغزی مرفین و نالوکسان به ترتیب موجب کاهش و افزایش واکنشهای درد شدند. سالهاست که از مرفین بعنوان ماده مهار کننده درد استفاده می‌شود (۲۴). مرفین فعال‌کننده سیستم ضددرد داخلی است و در این سیستم که از ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس به هسته راف و از هسته راف بر روی نخاع ختم می‌شود، تعدادی میانجی عصبی شامل نورآدرنالین، سروتونین، گابا و پپتیدهای اپیوئیدی عمل می‌کنند تا از نخاع انتقال اطلاعات درد به مراکز بالا را تغییر دهند (۱۵). سیستم اپیوئیدی شامل پپتیدهای لوسین - انکفالین، متیونین - انکفالین، بتا-اندورفین، دینورفین A و B، آلفا نئواندورفین، آندومرفین I و آندومرفین II می‌باشد و در قسمت‌های مختلف سیستم عصبی شامل آمیگدال، هیپوتالاموس، ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس، بصل النخاع و شاخ پشتی نخاع با اثر بر سه نوع گیرنده اپیوئیدی (MOR)، (DOR) و (KOR) در تنظیم درد دخالت می‌کنند (۱۵). گرایش پپتیدهای اپیوئیدی بر روی گیرنده‌ها متفاوت است. متیونین - انکفالین و لوسین - انکفالین به گیرنده، دینورفین‌ها به، بتا-اندورفین به و و آندومرفین‌ها به گرایش بیشتری نشان می‌دهند (۴۶، ۱۷). تزریق عمومی و یا داخل نخاعی مرفین باعث کاهش واکنشهای درد شده است اگرچه در درمان دردهای نوروپاتیک، چندان موثر نبوده است (۲۴). تزریق مرفین به داخل ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس موجب کاهش درد شده است (۲۸). و تزریق آنتاگونیست گیرنده اپیوئیدی، نالوکسان، به هسته مذکور اثر کاهش دهنده درد ناشی از تزریق عمومی اپیوئیدها را تخفیف داده است (۲۷). بهر حال در مطالعه حاضر، اثر کاهش دهنده مرفین، احتمالاً ناشی از اثر آن در ساختمانهای مغزی درگیر در تنظیم درد می‌باشد و اثر تشدید کننده درد ناشی از نالوکسان، به احتمال زیاد ناشی از بسته شدن گیرنده‌های توسط نالوکسان و اثر نکردن اپیوئیدهای درون‌زاد بر روی گیرنده‌های مذکور است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هیستامین اثر کاهش دهنده درد ناشی از مرفین را تقویت کرد و از تشدید درد ناشی از نالوکسان جلوگیری نمود. کاهش درد ناشی از مرفین با تزریق داخل بطن مغزی و یا داخل ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس آنتاگونیست‌های گیرنده H_2 هیستامین (سایمیتیدین و رانیتیدین) مهار شده است (۲۰، ۱۹). مشخص شده است که پیرپلامین (آنتاگونیست H_1، دارای قدرت عبور از سد خونی - مغزی) بی‌دردی ناشی از مرفین را تقویت کرده است در حالی‌که زولانیتیدین (آنتاگونیست H_2، قابل عبور از سد خونی - مغزی) بی‌دردی ناشی از مرفین را تضعیف نموده‌است. از طرف دیگر استامیزول و رانیتیدین، به ترتیب آنتاگونیست‌های H_1 و H_2، با عبور بسیار کم از سد خونی - مغزی بر بی‌دردی ناشی از مرفین تأثیری نگذاشته‌اند و مطرح کرده‌اند که هیستامین مغزی از طریق گیرنده‌های H_2 اثر ضددردی مرفین را تقویت و از طریق گیرنده‌های H_1 اثر ضددردی مرفین را تضعیف می‌کند (۳۸). مرفین در آزاد شدن هیستامین نورونی مغز نیز نقش دارد چون مشخص شده است که مرفین از طریق گیرنده و همچنین برخی از استرس‌ها موجب آزاد شدن هیستامین نورونی مغز شده‌اند (۲۱). همچنین مشخص کرده‌اند که در ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس آزاد شدن هیستامین وابسته به مرفین است (۷). بعلاوه مرفین در نورونهای هیستامینرژیک هسته توبروماميلاری موجب دپولاریزاسیون نورونها و افزایش تحریک پذیری آنها و آزاد شدن هیستامین شده است و مطرح کرده‌اند که هیستامین مغزی یک اثر ضددرد داشته و ممکن است در بی‌دردی ناشی از اپیوئیدها دخالت نماید (۱۴). در مطالعه حاضر علیرغم بسته شدن گیرنده‌های توسط نالوکسان، هیستامین کاهش درد ایجاد کرده است که نشان می‌دهد هیستامین مغزی بطور مجزا و غیروابسته به سیستم اپیوئیدی می‌تواند واکنشهای درد را کاهش دهد ولی بهر حال کاهش تشدید درد ناشی از نالوکسان بطور کامل انجام نگرفته است. در این رابطه می‌توان مطرح نمود که هیستامین در حضور مرفین، اثر ضددرد آنرا با اثر بر گیرنده H_2 تقویت می‌کند و در غیاب مرفین و یا در هنگام جلوگیری از عمل مرفین توسط نالوکسان، باز هم از طریق گیرنده H_2 کاهش درد ایجاد می‌کند البته به علت بسته شدن گیرنده آزاد شدن هیستامین توسط مرفین انجام نمی‌گیرد چون مشخص شده است که آزاد شدن هیستامین توسط مرفین در مغز از طریق گیرنده انجام می‌گیرد (۲۱) و این موضوع تأکیدی بر این قضیه است که در غیاب مرفین اثر کاهش دهنده درد هیستامین تضعیف می‌شود ولی از بین نمی‌رود و در حضور مرفین اثر کاهش دهنده درد مرفین توسط هیستامین تقویت می‌شود. این نکته روشن شده است که هیستامین نورونی مغز در هر دو نوع بی‌دردی وابسته و غیروابسته به اپیوئیدها نقش دارد و اخیراً مطرح کرده‌اند که اثر کاهش دهنده درد غیروابسته به سیستم اپیوئیدی هیستامین، احتمالاً در ارتباط با آزاد شدن گابا، سروتونین، نورآدرنالین توسط هیستامین مغزی باشد (۲۱).

در خاتمه بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان مطرح کرد که فعال شدن هیستامین مغزی در خرگوش یک اثر کاهش درد ایجاد می‌کند. کاهش درد ناشی از هیستامین در حضور مرفین افزایش می‌یابد و در غیاب مرفین کاهش پیدا می‌کند ولی از بین نمی‌رود از طرف دیگر تشدید درد ناشی از نالوکسان را

تضعیف می‌کند بعبارت دیگر کاهش درد ناشی از هیستامین احتمالاً از هر دو طریق وابسته و غیروابسته به سیستم اپیوئیدی انجام می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از آقایان رضی بهاورنیا و مهدی هراثی کارشناسان آزمایشگاه فیزیولوژی - فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز قدردانی و تشکر می‌گردد.

References

۱. تمدنفرد، ا.، باباپور، و. (۱۳۸۱): رفتار تغذیه‌ای در خرگوش متعاقب تزریق داخل بطن مغزی هیستامین و آنتاگونیست‌های H1 و H2 آن. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۷: ۱۸-۱۳.

۲. تمدنفرد، ا.، باباپور، و.، فرشید. ا. ا. (۱۳۸۰): اثرات تزریق داخل بطن مغزی هیستامین بر روی نسبت اخذ غذا به آب در خرگوش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۶: ۱۱۲-۱۰۷.

۳. تمدنفرد، ا.، حاجی اقراری، ن.، مرادی، ب. (۱۳۸۱): اثرات مرکزی هیستامین و آنتاگونیست‌های H1 و H2 آن بر رفتار در خرگوش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۷: ۵۴-۴۹.

۴. تمدنفرد، ا.، سیدنژاد، ص. (۱۳۸۱): تأثیر مرکزی هیستامین و آنتی هیستامین‌ها بر درجه حرارت بدن در خرگوش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۷: ۱۲-۷.

۵. تمدنفرد. ا.، مجتهدین. ع. (۱۳۸۳): اثر تزریق داخل صفاقی سایمتیدین بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موشهای سوری، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران (زیرچاپ).

6. Aloisi, A. M., Lupo, C. and Carli, G. (1993): Effects of formalin - induced pain on exploratory behaviour in rabbits. Neuroreport. 4: 733-742.

7. Barke, K. E., Hough, L. B. (1994): Characterization of basal and morphine - induced histamine release in the rat periaqueductal grey. J. Neurochem. 63: 238-244.

8. Barke, K. E., Hough, L. B. (1993): Simultaneous measurement of opiate - induced histamine release in the periaqueductal grey and opiate antinociception: an in vivo microdialysis study. J. Pharmacol. Exp. Ther. 266: 934-942.

9. Barnett, J. L., Hemsworth, P. H., Jongman, E. C. and Morris, J. P. (2000): EEG changes in 7-week-old lambs in response to castration, tail docking and mulesing. Aust Vet J. 78: 339-343.

10. Brown, R. E., Stevens, R. S., Haas, H. L. (2001): The physiology of brain histamine. Prog. Neurobiol. 63: 637-672.

11. Carpenter, J. W., Mashima, T. Y., Gentz, E. J. and Harrenstein, L. (1995): Caring of rabbit : An overview and formulary. Vet Med. 90: 340-364.

12. Choi, S. S., Lee, J. K., Suh, H. W. (2001): Antinociceptive profiles of aspirin and acetaminophen in formalin, substance P and glutamate pain models. Brain Res. 921: 233-239.

13. Dumka, U. K., Tandan, S. K., Tripathi, H. C. and Raviprakash, V. (1996): Central serotonergic and histaminergic modulation of peripheral inflammation and nociception in rats. Ind. J. Physiol. Pharmacol. 40: 163-166.

14. Eriksson, K. S., Stevens, D. R. and Haas, H. L. (2000): Opposite modulation of histaminergic neurons by nociceptin and morphine, Neuropharmacol. 39: 2492-2498.

15. Fields, H. L., Basbaum, A. I. (1999): Central nervous system mechanisms of pain, In: Textbook of pain, Wall, P. D. and Melzack, R., (editors), 4th edition, Churchill Livingstone, New York, USA, PP: 309-329.

16. Furst, S. (1999): Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res. Bull. 48: 129-141.

17. Goldstein, A., Naidu, A. (1989): Mutiple opioid receptors: ligand selectivity profiles and binding site signatures. Mol. Pharmacol. 36: 265-272.

18. Hough, L. B., Nalwalk, J. W. (1995): Role of stress in histamine - morphine interactions. Inflamm. Res. 44: S40-S41.

19. Hough, L. B., Nalwalk, J. W. (1992): Modulation of morphine antinociception by antagonism of H2 receptors in the periaqueductol grey. Brain Res., 588: 58-66.

20. Hough, L. B., Nalwalk, J. W. (1992): Inhibition of morphine antinociception by centrally administered histamine H2 receptor antagonists. Eur. J. Pharmacol. 215: 69-74.

21. Hough,. B., Nalwalk, J. W., Barnes, W. G., Leurs, R., Timmerman, H. and Wentland, M. (2000): A third life for burimamide: discovery and characerization of a novel class of non-opioid analgesics drived from histamine antagonists. Ann. N. Y. Acad. Sci. 909: 25-40.

22. Hughes, R. A., Sufka, K. J. (1991): Morphine hyperalgesic effect on the formalin test in domestic fowl (Galus gallus), Pharmacol. Biochem. Behav. 38: 247-252.
23. Iwase, M., Homma, I., Shioda, S. and Nakai, K. (1993): Histamine immunoreactive neurons in the brain stem of the rabbit. Brain Res. Bull. 32: 267-272.
24. MacPherson, R. D. (2000): The pharmacological basis of contemporary pain management, Pharmacol. Ther., 8: 163-185.
25. 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.
26. Malmberg, A. P., Lamberti, C., Ipponi, A., Hanninen, J., Chelardini, C. and Bartolini, A. (1997): Effects of two histamine - N - methyltransferase inhibitors, SK 91488 and BW 301 U, in rodent antinociception, Naunyn Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 355: 354-360.
27. Manning, B. H., Morgan, M. J. and Franklin, K. B. J. (1994): Morphine analgesia in the formalin test: evidence for forebrain and midbrain sites of action. Neurosci. 63: 289-294.
28. Manning, B. H., Franklin, K. B. J. (1998): Morphine analgesia in the formalin test:reversal by microinjection of quanternary naloxone into the posterior hypothalamic area or periaqueductal grey. Behav. Brain Res. 92: 97-102.
29. Miampamba, M., Chery - Croze, S., Gorry, F., Berger, F. and Chayvialle, J. A. (1994): Infalmmation of the colonic wall induced by formalin as a model of acute visceral pain. Pain. 57: 327-334.
30. Netti, C., Sibilia, V., Cuidobono, F., Villani, P., Pecile, A. and Braga, P. C. (1994): Evidence for an inhibitory role of central histamine on carrageenan - induced hyperalgesia. Neuropharmacol. 33: 205-210.
31. Onodera, K., Yamatodani, A., Watanabe, T. and Wada, H. (1994): Neuropharmacology of histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders. Prog. Neurobiol. 42: 685-702.
32. Phillips, D. S. (1978): Basic statistics for Healh Scinces Students, W. H. Freeman and Company, New York, USA, PP: 93-108.
33. Price, D. D. (2000): Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. Science. 288: 1769-1772.
34. Rangachari, P. K. (1992): Histamine: mercurial messenger in the gut, Am. J. Physiol., 262: G1-G13.
35. Ren, K., Dubner, R. (1999): Inflammatory models of pain and hyperalgesia, Inst. Lab. Anim. Res. J. 45: 111-118.
36. Sakurada, S., Orito, T., Sakurada, C., Sato, T., Mobarakeh,. I., Watanabe, T. and Sakurada, T. (2002): Possible involvement of tachykinin NK1 and NMDA receptors in histamine - induced hyperalgesia in mice. Eur. J. Pharmacol. 434: 29-34.
37. Schwartz, J. C., Arrang, J. M., Garbarg, M., Pollard, H. and Ruat, M. (1991):L Histaminergic transmission in the mammalian brain. Physiol. Rev. 71: 1-51.
38. Suzuki, T., Takamri, K., Takahashi, Y., Naria, M., Misawa, M. and Onodera, K. (1993): The differential effects of histamine receptor antagonists on morphine - and U-50, 488 H-induced antinociception in the mouse. Life Sci. 54: 203-211.
39. Tamaddonfard, E., Rahimi, S. (2004): Central effect of histamine and peripheral effect of histidine on the formalin-induced pain response in mice. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 31: 518-522.
40.Tamddonfard, E., Roshanimeydan, M. and Dejhbakhsh, A. (2003): Behavioural responses associated with formalin injection into the ear of sheep and rabbits. Ind J Anim Sci. 73: 1245-1246.
41. Tjolsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H. and Hole, K. (1992): The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 51: 5-17.
42. Thoburn, K. K., Hough, L. B., Nalwalk, J. W. and Mischler, S. A. (1994): Histamine - induced modulation of nociceptive responses. Pain. 58: 29-37.
43. Thurmon, J. C., Tranguilli, L. O. J., Beson, G. I. (1999): Essentials of small animal anaesthesia and analgesia, Lippincott, Williams and Wilkins, U.S.A. PP: 28-60.
44. Vos, B. P., Hans, G. and Andriaensen, H. (1998): Behavioral assessment of facial pain in rats: face grooming after painful and nonpainful sensory disturbances in the territory of the rat's infraorbital

nerve. Pain. 76: 173-178.

45. Willis, W. D., Westlund, K. N. (1997): Neuroanatomy of pain system and of pathways that modulate pain. J. Clin. Neurophysiol. 14: 2-31.
46. Zadina, J. E., Hackler, L., Ge, L. and Katin, A. J. (1997): A potent and selective endogenous agonist for the -opiate receptor. Nature. 389: 499-501.