مقاله پژوهشی

اثر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین و تیوپرامید بر درد تونیک ناحیه دهانی - صورتی در موش صحرایی

امیر عرفان پرست[۱]، اسماعیل تمدن فرد[۲*]، امیر عباس فرشید[۳]، عماد خلیل زاده[٤]، صونا سید نژاد[٥]

تاریخ دریافت ۹۰/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش ۹۰/۰۳/۱۲

چکیده

پیش زمینه و هدف: هیستامین مغزی ازطریق گیرنده‌های H_3 نقش مهمی را در دریافت مرکزی درد بازی می‌کند. در این مطالعه اثر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین و تیوپرامید (آنتاگونیست گیرنده H_3 هیستامین) بر درد تونیک ناحیه دهانی - صورتی در موش‌های صحرایی بررسی شد.

مواد و روش کار: در تعداد ۷۲ سر موش صحرایی کانول‌های راهنما به صورت دوطرفه درداخل هیپوکامپ پشتی قرارداده شدند. درد تونیک ناحیه دهانی- صورتی با تزریق زیرجلدی ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۱درصد در کنارسمت راست لب بالا ایجاد و مدت زمان مالیدن ناحیه تزریق شده در فواصل زمانی ۳ دقیقه‌ای برای ۴۵ دقیقه ثبت شد.

یافته‌ها: تزریق زیرجلدی فرمالین در لب بالا موجب ایجاد پاسخ درد دو مرحله‌ای (مرحله اول: دقایق صفر تا ۳ و مرحله دوم: دقایق ۱۵ تا ۳۳) شد. شدت درد در مراحل اول و دوم درد با تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین (۱و۲ میکروگرم، ۰/۵ میکرولیتردر هر سمت) و تیوپرامید (۲/۵ و ۵ میکروگرم، ۰/۵ میکرولیتردر هرسمت) به طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) کاهش یافت. پیش تزریق تیوپرامید قبل از هیستامین موجب افزایش اثر کاهش دهنده هیستامین بر درد شد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان دادند که تزریق هیستامین و تیوپرامید به داخل هیپوکامپ پشتی شدت مراحل اول ودوم درد تونیک ناحیه دهانی- صورتی را تضعیف نمود. مهار گیرنده H_3 هیستامین با تیوپرامید اثر کاهش دهنده هیستامین بر درد را افزایش داد.

کلید واژه‌ها: هیپوکامپ، هیستامین، تیوپرامید، درد تونیک، ناحیه دهانی- صورتی، موش صحرایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره سوم، ص ۲۲۲-۲۱۲، مرداد وشهریور ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده سرو، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۹۱۴۹۸

Email: e_tamaddonfard@yahoo.com

مقدمه

هیپوکامپ بخش مهمی از مغز است که در تنظیم مغزی اعمالی مثل پاسخ به استرس، اخذ غذا، وزن بدن، یادگیری و حافظه نقش به سزایی دارد (۳-۱). مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژیک مشخص کرده‌اند که هیپوکامپ در دریافت مرکزی درد نیز دخالت می‌کند. در همین رابطه، تزریق MK801 (آنتاگونیست رقابتی گیرنده NMDA) به داخل هیپوکامپ پشتی شدت مرحله دوم درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین را کاهش داده است (۴). همچنین تزریق داخل هیپوکامپی استیل کولین و پیلوکارپین[۶]؛ آگونیست‌های سیستم کولینرژیک موجب کاهش و افزایش فعالیت الکتریکی به ترتیب در نورون های تحریک کننده و مهار کننده درد شده است (۵). به‌غیر از سیستم‌های گلوتاماترژیک و کولینرژیک، سایر میانجی‌های عصبی در مغز مثل اپیوئیدها و GABA نیز در پردازش درد به وسیله هیپوکامپ نقش دارند (۶).

[۱] دستیار تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۲] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

[۳] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

[٤] دستیار تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[٥] کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

[۶] pilocarpine and acetylcholine

هیستامین مغزی از طریق گیرنده‌های پس سیناپسی H_1 و H_2 و پیش سیناپسی H_3 در تنظیم مغزی بسیاری از اعمال فیزیولوژیک بدن از جمله اخذ غذا، اخذ آب، درجه حرارت بدن، اعمال قلبی - عروقی، پاسخ‌های استرس، تهییج مغز، یادگیری و حافظه و پذیرش مرکزی درد دخالت می‌کند (۷،۸). در اتباط با نقش هیستامین مغزی و گیرنده‌های آن در درد، مشخص شده است که تزریق همزمان تملاستین[۱] و یا تیوتیدین[۲] با هیستامین به داخل هسته‌های مغزی کنترل کننده درد مثل ناحیه خاکستری اطراف قنات سیلویوس و هسته رافه از اثر کاهش دهنده درد هیستامین جلوگیری می‌کنند (۹). در مدل درد تریژمینال حاد موش‌های صحرایی، تزریق رانیتیدین[۳] قبل از هیستامین به داخل بطن جانبی مغز، از اثر کاهش درد ناشی از هیستامین جلوگیری کرد، درحالی که کلرفنیرامین[۴] آن را مهار نکرد (۱۰). تزریق داخل بطنی مغزی تیوپرامید[۵] و ار- آلفا متیل هیستامین[۶] به ترتیب موجب کاهش و افزایش درد شده‌اند (۱۱).

اندام‌های صورت و دهان شامل پوست و عضلات صورت، دندان‌ها، زبان، لب‌ها، مفصل گیجگاهی - فکی می‌توانند منشاء بسیاری از دردهای حاد، مزمن و رجوعی مثل اختلالات مفصل گیجگاهی - فکی، دردهای دندانی و درد نوروپاتیک تری ژمو باشند (۱۴-۱۲). این اعضا اطلاعات حسی از جمله درد را به طور عمده از طریق عصب سه قلو (تری ژمو) به نواحی و هسته‌های نخاع و مغز شامل هسته حسی تریژمینال، هسته دستجات منزوی، ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس، تالاموس، هیپوکامپ، استریاتوم و قشرمغز منتقل می‌کنند (۱۴-۱۲). در ارتباط با نقش هیپوکامپ در دریافت دردهای ناحیه دهانی - صورتی مشخص شده است که تحریک الکتریکی هیپوکامپ، فعالیت الکتریکی عضله دوبطنی را در هنگام تحریک پولپ دندانی کاهش می‌دهد (۱۵).

تا به حال گزارشی مبنی بر نقش گیرنده‌های H_3 هیستامین در هیپوکامپ در پذرش درد ارائه نشده است؛ لذا در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین و تیوپرامید بر درد تونیک حاصل از تزریق زیر جلدی فرمالین در ناحیه لب بالا بررسی شده است. درد تونیک ناحیه دهانی - صورتی در موش صحرایی به وسیله Clavelou و همکاران (۱۶،۱۷) معرفی و تکمیل شده و برای بررسی نقش مغز در درد ناحیه صورتی - دهانی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۰-۱۸).

مواد و روش کار

۱- حیوانات

در این مطالعه از تعداد ۷۲ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن بین ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در اتاق پرورش و نگهداری موش‌های صحرایی وابسته به آزمایشگاه فیزیولوژی به تعداد شش سر در هر قفس (به ابعاد ۵۵ × ۴۰ × ۳۰ سانتی متر) با دسترسی آزادانه به آب و غذا و دمای محیط ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت (شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) نگهداری شدند. قبل از شروع آزمایشات و در طول دوره سازگاری، موش‌ها به مدت ۴ روز با شرایط کار به ویژه مقید کردن آشنا شدند. در هر آزمایش از تعداد شش سر موش استفاده شد. همه آزمایش‌ها بین ساعات ۱۱ تا ۱۵ انجام شدند.

۲ - محلول‌های دارویی

در این مطالعه از پودرهای هیستامین دی هیدروکلراید و تیوپرامید مالئات، تهیه شده از شرکت دارویی سیگما - آلدریچ آمریکا، استفاده شد. محلول فرمالین ۱درصد از محلول فرمالین ۳۷/۵درصد شرکت دارویی مرک آلمان تهیه شد. برای تهیه و رقیق نمودن محلول‌های دارویی از سالین نرمال استریل استفاده شد. محلول‌های دارویی نیم ساعت قبل از تزریقات داخل هیپوکامپی تهیه شدند.

۳- روش کانول گذاری در هیپوکامپ پشتی

به منظور تزریق داخل هیپوکامپی محلول‌های دارویی، در هر حیوان دو عدد کانول راهنما به طور دوطرفه به ترتیب در هیپوکامپ پشتی راست وچپ قرار داده شدند. برای کاشتن کانول‌ها، هرکدام از موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۸۰ mg/kg) و گزیلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش و سر حیوان با قراردادن میله‌های گوش در داخل کانال خارجی گوش، میله دهانی در بین دندان‌های پیشین و میله بینی بر روی بینی در داخل دستگاه استرئوتاکسی (Stoelting, Wood Lane, IL, USA) ثابت شد. برای ایجاد سطح موازی بین سر و نوک بینی،

[۱] temelastine: آنتاگونیست گیرنده H_1

[۲] tiotidine: آنتاگونیست گیرنده H_2

[۳] ranitidine: آنتاگونیست گیرنده H_2

[۴] chlorpheniramine: آنتاگونیست گیرنده H_1

[۵] thioperamide: آنتاگونیست گیرنده H_3 هیستامین

[۶] R-α-:methylhistamine آگونیست گیرنده H_3 هیستامین

درجه میله دندانی در بین صفر تا ۵ درجه قرار داده شد. شکافی به طول دو سانتی‌متر از وسط خط فرضی بین زوایای خلفی چشم‌ها به طرف عقب سر داده شد. پوست از بافت‌های همبند زیر آن جدا و ناحیه جراحی با متصل کردن شش عدد قلاب به لبه‌های پوست گشاد گردید. ضریع روی استخوان‌ها برای مشخص شدن برگما (محل اتصالی استخوان‌های آهیانه و پیشانی) با روژین تراشیده شد. با استفاده از متـه دندانپزشکی، دو تا سوراخ به قطر یک میلی‌متر در دوطرف برگما و در مختصات ۳/۴ تا ۳/۸ میلی‌متر به طرف خلف برگما و ۲/۳ تا ۲/۵ میلی متر به دوطرف خط میانی (۲۱) و به منظور بستن پیچ ریز سه تا سوراخ دیگردر استخوان‌های پیشانی و آهیانه ایجاد گردید. کانول استانلیس استیل شماره ۲۳ و به طول ۱۲ میلی متربه محور عمودی دستگاه متصل و از سطح سوراخ استخوان جمجمه تا عمق ۲/۵ تا ۲/۷ میلی‌متری مغز در داخل هیپوکامپ پشتی (ناحیه CA1) قرار داده شد (۲۱). دور کانول‌ها و پیچ‌ها با سیمان دندانپزشکی پرشد. دو عدد سیم استانلیس استیل هم قطر با قطر داخلی کانول‌های راهنما به عنوان استایلت (stylet) در داخل کانول‌ها قرار داده شدند. پس از بخیه زدن پوست، به حیوانات مقدار mg/kg ۱۰۰۰۰ پنی سیلین جی پتاسیم به روش داخل عضلانی تزریق شد. تا قبل از شروع تزریقات داخل هیپوکامپی، یک دوره استراحت ۱۴ روزه به حیوانات داده شد.

۴ - روش تزریق به داخل هیپوکامپ پشتی

برای تزریق داخل هیپوکامپی سالین نرمال (کنترل)، هیستامین (۰/۰،۰/۲۵/۱،۵،۲ میکروگرم)، تیوپرامید (۰/۱،۰/۷۵/۲،۲۵/۵،۵ میکروگرم)، تیوپرامید (۰/۷۵ میکروگرم) قبل از هیستامین (۰/۲۵ میکروگرم) و تیوپرامید (۲/۵ میکروگرم) قبل از هیستامین (۱ میکروگرم)، یک طرف یک لوله پلی اتیلنی به طول ۳۰ سانتی متر به سرسوزن تزریقی شماره ۲۸ و سر دیگر آن به سرنگ هامیلتون ۵ میکرولیتری متصل شد. استایلت ها از داخل کانول‌های راهنما برداشته شدند. سرسوزن تزریقی شماره ۲۸ در داخل کانول راهنما قرارداده شد. هرکدام از محلول‌های دارویی به حجم ۰/۵ میکرولیتر در مدت زمان ۶۰ ثانیه در هردو هیپوکامپ (راست و چپ) تزریق شد. به منظور انتشار محلول دارویی در هیپوکامپ،۶۰ ثانیه دیگر سر سوزن در داخل کانول ماند. تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین و تیوپرامید به ترتیب ۵ و ۱۰ دقیقه قبل از ایجاد درد انجام شد. مقادیر استفاده شده از هیستامین و تیوپرامید در مطالعه حاضر نزدیک به مقادیری هستند که سایر محققین استفاده کرده‌اند (۲۲،۲۳).

۵- روش ایجاد وثبت درد ناحیه دهانی - صورتی

برای ایجاد درد در ناحیه دهانی- صورتی، ابتدا موش‌ها در داخل جعبه‌هایی از جنس شیشه نشکن (شرکت حصارک رازی راد، تهران) به ابعاد ۲۵ × ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر قرارداده شدند. جعبه‌ها بر روی یک چهارچوب‌هایی از جنس شیشه نشکن ودارای یک آینه با زاویه ۴۵ درجه گذاشته شدند. نیم ساعت پس از سازگاری، حیوان به آرامی مقید و فرمالین با غلظت ۱درصد به حجم ۵۰ میکرولیتر با استفاده از سر سوزن تزریقی شماره ۳۰ در زیر پوست سمت راست لب بالا تزریق شد. بلافاصله پس از تزریق حیوان به داخل جعبه برگردانده شد و پاسخ حیوان شامل مالیدن ناحیه تزریق شده با اندام حرکتی قدمی همان سمت در فواصل زمانی سه دقیقه‌ای برای مدت ۴۵ دقیقه ثبت شد. با توجه به این که تزریق زیر جلدی فرمالین در غلظت‌های بین ۰/۲ تا ۱۰ درصد در نواحی مختلف دهان و صورت شامل زبان، لب بالا، بالشتک سبیل یک درد دو مرحله‌ای مشخص ایجاد می‌کند (۱۷،۲۴)، لذا در مطالعه حاضر رفتار حیوان در فواصل زمانی صفر تا ۳ دقیقه و ۱۵ تا ۳۳ دقیقه به ترتیب به عنوان مراحل اول و دوم درد درنظر گرفته شد (۱۷،۲۵).

۶- روش تعیین صحت محل کانول‌ها درهیپوکامپ

در یک تجربه اولیه در تعداد ۱۰ سر موش صحرایی، پس از قراردادن کانول‌ها در داخل هیپوکامپ، محلول رنگی متیلن بلو به حجم ۰/۲۵ تا ۱ میکرولیتر در داخل هردو هیپوکامپ راست و چپ تزریق شد. مغزها بیرون آورده شده ودرداخل فرمالین ۱۰ درصد انداخته شدند. سه روز بعد، از مغزها برش‌های عرضی از یک میلی‌متری قدم تا یک میلی‌متری خلف سوراخ‌های کانول‌های راهنما با ضخامت ۵۰ تا ۱۰۰ میکرومتر تهیه و در زیر لوپ آزمایشگاهی وجود جوهر در هیپوکامپ بررسی و با مقاطع مغزی اطلس مغز موش صحرایی Paxinos and Watson (۲۱) مقایسه شدند. در تعداد ۹ سر موش کانول‌ها در محل درست (در داخل هیپوکامپ) قرار داشتند. در مطالعه اصلی، پس از پایان هر آزمایش بررسی صحت کانول‌ها در داخل هیپوکامپ با روش مذکور ولی با تزریق متیلن بلو به حجم ۰/۲۵ میکرولیتر انجام شد. داده‌های مربوط به قرار نگرفتن صحیح کانول‌ها در هیپوکامپ از تجزیه و تحلیل آماری حذف شدند.

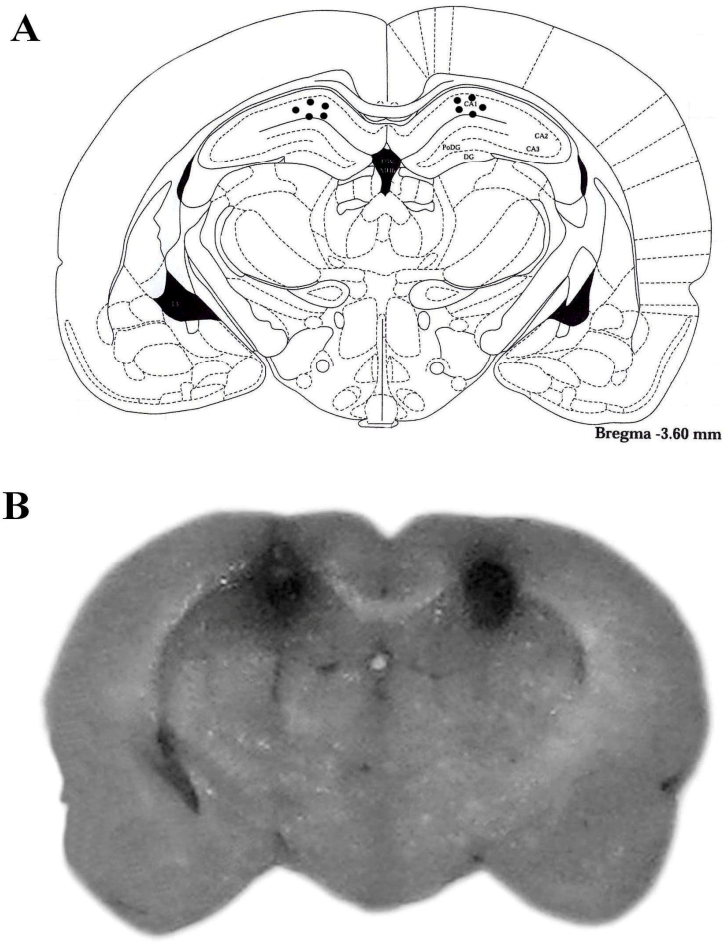
۷- روش تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از تزریق زیر جلدی سالین نرمال (کنترل) و فرمالین در ناحیه لب بالا با روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) عاملی وسپس آزمون دانکن و داده‌های حاصل از تزریق داخل هیپوکامپی سالین نرمال (کنترل) ومحلول های دارویی با روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و

سپس آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند. در نمودارها، داده‌ها به صورت mean ± SEM آورده شده‌اند. سطح معنی‌دار، $p < ۰/۰۵$در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به صحت محل کانول‌ها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. شکل شماره ۱-A از اطلس مغز موش صحرایی Paxinos and Watson (۲۱) استخراج شده است. دایره‌های توپر نشان دهنده محل‌های تزریق داخل هیپوکامپی در تحقیق حاضر است. شکل شماره ۱ -B محل کانول‌ها را پس از تزریق داخل هیپوکامپی متیلن بلو نشان می‌دهد. به جز پنج مورد، صحت محل همه کانول‌هادر داخل هیپوکامپ با تزریق محلول رنگی تایید شد (شکل شماره ۱ - A, B).



شکل شماره (۱): مقاطع عرضی از مغز موش صحرائی. شکل (A) از اطلس Paxinos and Watson (۲۱) اقتباس شده است و محل‌های تزریق داخل هیپوکامپی را که با دایره‌های توپر مشخص شده اند را نشان می دهد. شکل (B) محل تزریق داخل هیپوکامپی باتزریق متیلن بلو مشخص شده است. CA1، CA2، CA3: بخش‌های مختلف هیپوکامپ. DG: برجستگی دندانه‌دار

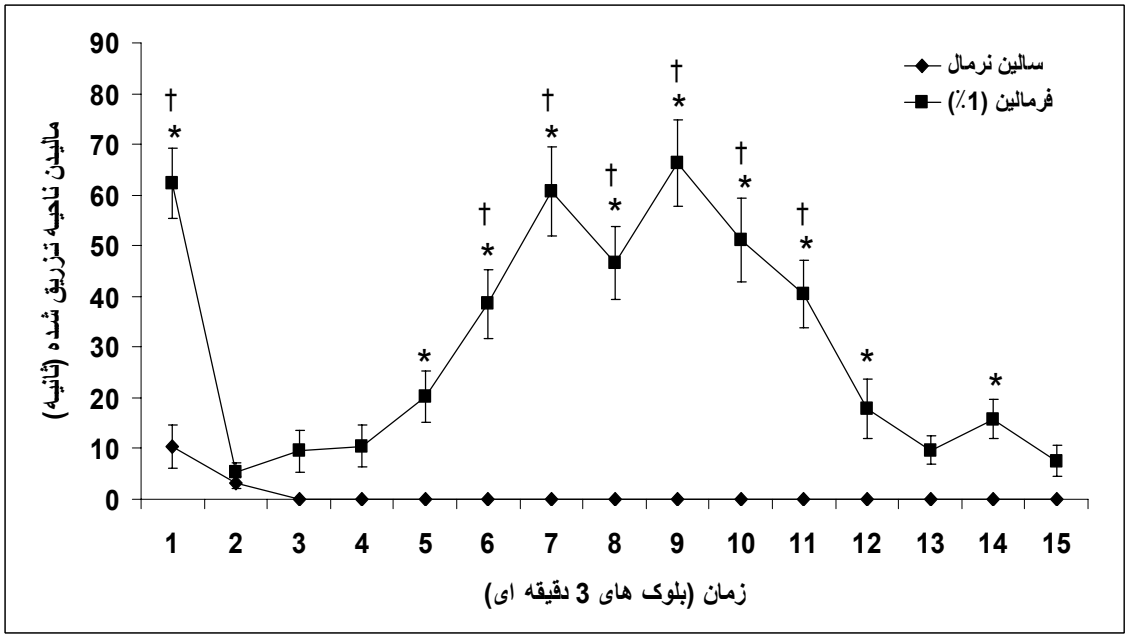
نمودار شماره ۱ منحنی‌های مربوط به پاسخ درد را پس از تزریق زیرجلدی سالین نرمال (کنترل) و فرمالین به سمت راست لب بالا نشان می‌دهد. تزریق زیر جلدی سالین نرمال به لب بالا یک پاسخ بسیار ضعیفی از مالیدن ناحیه تزریق شده در سه دقیقه اول پس از تزریق ایجاد کرد. تزریق زیرجلدی فرمالین در لب بالا موجب ایجاد پاسخ درد در سه دقیقه اول و در سه دقیقه‌های چهارم تا دوازدهم ودر سه دقیقه چهاردم در مقایسه با سالین نرمال شد. در بین سه دقیقه‌های گروه دریافت کننده فرمالین، اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) بین فواصل زمانی سه دقیقه‌ای اول و ششم تا یازدهم بافواصل زمانی سه دقیقه‌ای دوم تا پنجم و دوازدهم تا پانزدهم شد. به عبارت دیگرتزریق زیرجلدی فرمالین به لب بالا یک درد دو مرحله‌ای ایجاد کرد که مرحله اول آن بلافاصله

پس از تزریق شروع و به مدت سه دقیقه ادامه یافت. مرحله دوم از دقیقه ۱۵ شروع و به مدت ۱۸ دقیقه تا پایان دقیقه ۳۳ ادامه یافت.

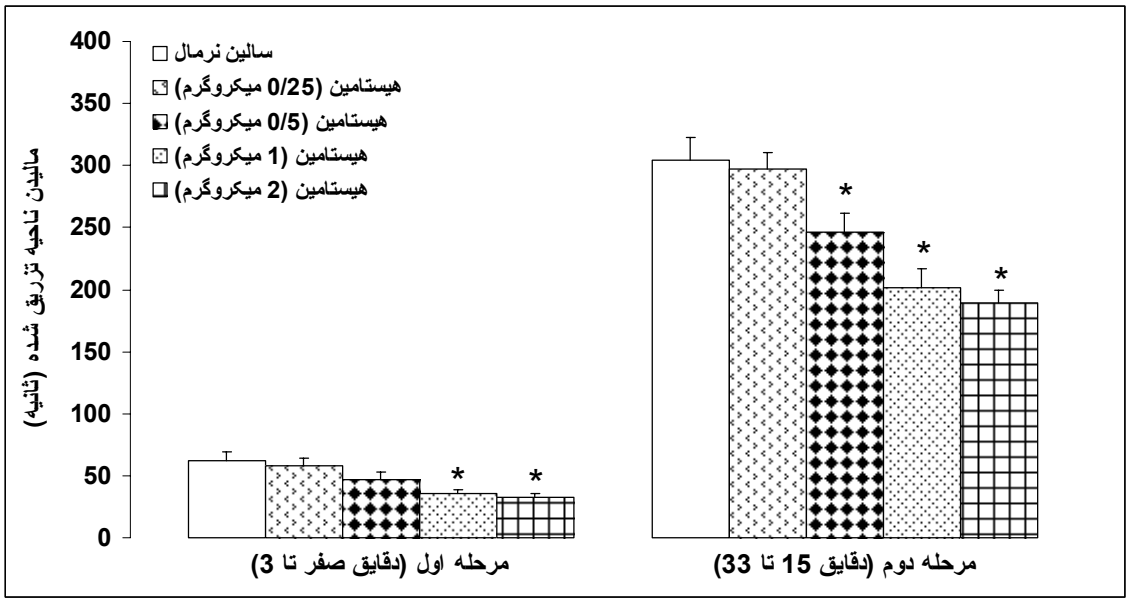
نمودار شماره ۲ اثر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین بر مراحل درد دهانی - صورتی ناشی از فرمالین را نشان می‌دهد. هیستامین در مقادیر ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم اثر معنی‌داری بر مرحله اول درد ایجاد نکرد، در حالی که در مقادیر ۱ و ۲ میکروگرم، هیستامین به‌طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) مدت زمان مالیدن ناحیه تزریق شده را در مرحله اول کاهش داد. مرحله دوم درد دهانی - صورتی ناشی از فرمالین با تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم، ولی نه در مقدار ۰/۲۵ میکروگرم به‌طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) کاهش یافت (نمودار شماره ۲).

نمودار شماره ۳ اثرتزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید بر مراحل درد دهانی- صورتی ناشی از فرمالین را نشان می‌دهد. تیوپرامید در مقادیر ۰/۷۵ و ۱/۲۵ میکروگرم اثر معنی‌داری بر مرحله اول درد ایجاد نکرد، درحالی که در مقادیر ۲/۵ و ۵ میکروگرم، تیوپرامید به‌طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) مدت زمان مالیدن ناحیه تزریق شده را در مرحله اول کاهش داد. مرحله دوم درد دهانی- صورتی ناشی از فرمالین با تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید در مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم، ولی نه در مقدار ۰/۷۵ میکروگرم، به‌طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) کاهش یافت (نمودار شماره ۳).

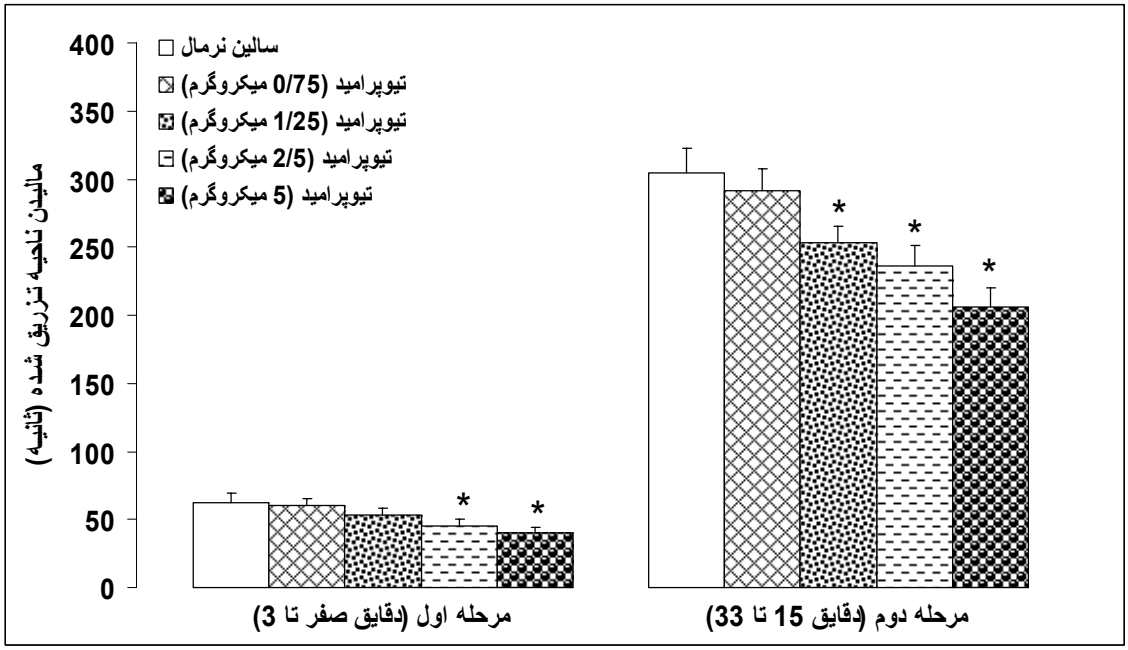
نمودار شماره ۴ اثر پیش تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید و هیستامین رابر مراحل درد دهانی - صورتی ناشی از فرمالین نشان می‌دهد. تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید (۰/۷۵ میکروگرم) قبل از هیستامین (۰/۲۵ میکروگرم) در مقایسه با سالین نرمال، تیوپرامید (۰/۷۵ میکروگرم) به تنهایی و هیستامین (۰/۲۵ میکروگرم) به تنهایی، بدون اثر بر شدت درد مرحله اول، شدت درد مرحله دوم را کاهش داد. تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید (۲/۵ میکروگرم) قبل از هیستامین (۱ میکروگرم) در مقایسه با سالین نرمال، تیوپرامید (۲/۵ میکروگرم) به تنهایی و هیستامین (۱ میکروگرم) به تنهایی موجب کاهش شدت درد هم در مرحله اول و هم در مرحله دوم شد. (نمودار شماره ۴).



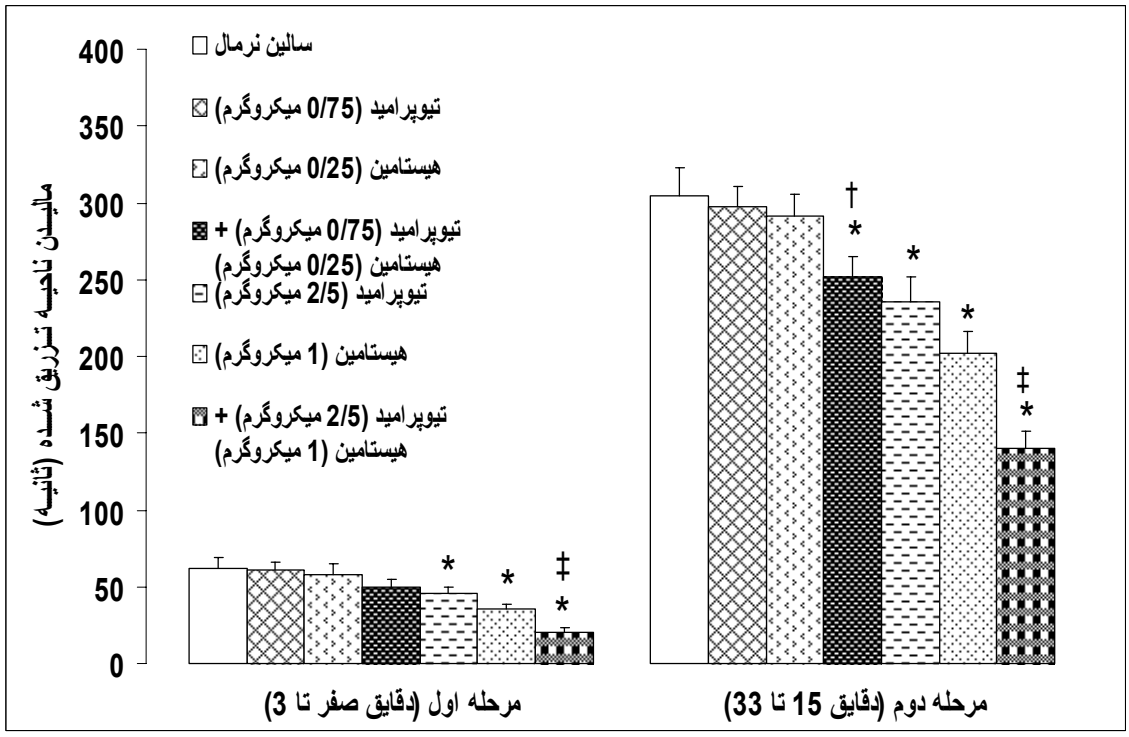
نمودار شماره (۱): پاسخ درد ایجاد شده متعاقب تزریق زیرجلدی سالین نرمال و فرمالین به لب بالا در موش صحرایی. داده‌ها به صورت mean ± SEM ارائه شده‌اند. تعداد موش در هر گروه شش سر می‌باشد. $p < ۰/۰۵$ * : در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال اختلاف معنی‌دار است. $p < ۰/۰۵$ † : در مقایسه با سایر سه دقیقه‌ها اختلاف معنی‌دار است.



نمودار شماره (۲): اثر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین بر پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به لب بالا در موش صحرایی. داده‌ها به صورت mean ± SEM ارائه شده‌اند. تعداد موش در هر گروه شش سر می‌باشد. ۰/۰۵ > p * : در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال اختلاف معنی‌دار است.



نمودار شماره (۳): اثر تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید بر پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به لب بالا در موش صحرایی. داده‌ها به صورت mean ± SEM ارائه شده‌اند. تعداد موش در هر گروه شش سر می‌باشد. ۰/۰۵ > p * : در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال اختلاف معنی‌دار است.



نمودار شماره (۴): اثر پیش تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید بر کاهش درد ناشی از تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین در درد ناشی از تزریق فرمالین به لب بالا در موش صحرایی.

داده‌ها به صورت mean ± SEM ارائه شده‌اند. تعداد موش در هر گروه شش سر می‌باشد. $p < ۰/۰۵$ *: در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال اختلاف معنی‌دار است. $p < ۰/۰۵$ †: در مقایسه با تیوپرامید (۰/۷۵ میکروگرم) و هیستامین (۰/۲۵ میکروگرم) اختلاف معنی‌دار است. $p <۰/۰۵$ ‡: در مقایسه با تیوپرامید (۲/۵میکروگرم) و هیستامین (۱میکروگرم) اختلاف معنی‌دار است.

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که تزریق زیرجلدی فرمالین در لب بالا یک پاسخ دومرحله ای ازمالیدن ناحیه تزریق شده را ایجاد کرد. از محلول‌های رقیق فرمالین (۰/۲ تا ۱۰ درصد) به عنوان یک ماده دردآور به منظوربررسی مکانیسم‌های دردتونیک با تزریق به نواحی مختلف بدن به ویژه کف پا و ناحیه صورت به کرات استفاده و رفتارهای درد را به صورت دو مرحله‌ای با یک مرحله سکون (اینترفاز) بین دومرحله گزارش کرده‌اند (۲۶-۲۴). معتقدند که مرحله اول با تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و مرحله دوم درد به علت اثر انواع مختلف میانجی‌های التهابی و متعاقبا انتقال پیام‌های درد به نخاع و مراکز مغزی ایجاد می‌شوند (۲۴،۲۶). مالیدن ناحیه تزریق شده با اندام حرکتی قدمی همان سمت، نظافت کردن یک طرف صورت (طرف تزریق شده) و خاراندن صورت با اندام حرکتی خلفی همان سمت از جمله رفتارهایی هستند که به دنبال تحریکات الکتریکی، حرارتی و شیمیایی (فرمالین و کاپسایسین) ناحیه دهانی - صورتی موش‌های صحرایی گزارش شده‌اند (۲۴-۱۶). به هرحال مالیدن ناحیه تزریق شده به وسیله اندام حرکتی قدمی همان سمت به عنوان یک رفتار اختصاصی بیان کننده درد ناشی از تزریق فرمالین به لب و بالشتک سبیل در موش‌های صحرایی محسوب شده است (۲۴).

در مطالعه حاضر تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین موجب کاهش هر دو مرحله اول و دوم درد ناشی از تزریق فرمالین به لب بالا شد. درخارج از مغز ودر بافت‌های محیطی و همچنین در نخاع، هیستامین در فرآیندهای مربوط به ایجاد و انتقال درد شرکت می‌کند (۲۹-۲۷). در همین رابطه گزارش شده است که هیستامین در ایجاد و انتقال درد مفصل گیجگاهی - فکی دارای نقش می‌باشد (۳۰). در داخل مغز، جسم سلولی نورون های هیستامینرژیک در هسته توبروماميلاری هیپوتالاموس قراردارند و آکسون‌هایی را به همه نقاط مغز از جمله هیپوکامپ می‌فرستند (۳۱). یکی از مهم‌ترین نقش‌های هیستامین در هیپوکامپ دخالت در فرآیندهای یادگیری و حافظه است (۷، ۸). به دلیل این که هیستامین از سد خونی - مغزی عبور نمی‌کند (۳۱)، در این

مطالعه از تزریق داخل هیپوکامپی آن استفاده شده است. البته در اکثر مطالعات مربوط به نقش هیستامین مغزی در فرآیندهای درد از روش‌های تزریق به داخل بطن‌های مغز و یا تزریق به هسته‌های درگیر در روندهای درد بهره جسته‌اند. تزریق داخل بطنی - مغزی هیستامین موجب کاهش پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش سفید کوچک آزمایشگاهی، موش صحرایی و خرگوش شده است (۳۴-۳۲). همچنین در آزمون درد احشائی ناشی از اسید استیک، تزریق داخل بطنی - مغزی هیستامین تعداد انقباضات دیواره شکم را کاهش داده است (۳۵). به علاوه، تزریق مرکزی هیستامین موجب کاهش پاسخ درد ناشی از چکاندن محلول سالین هیپرتونیک به سطح قرنیه در موش صحرایی شده است (۱۰). تزریق هیستامین به داخل ناحیه خاکستری دورقنات سیلویوس، هسته راف و برجستگی دندانه دار، شدت درد را در آزمون‌های درد حاد و تونیک کاهش داده است (۹،۲۳). همه این یافته‌ها مبین این نکته هستند که با فعال کردن هیستامین مغزی، پاسخ‌های درد کاهش می‌یابند.

در تحقیق حاضر، تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید نه تنها موجب کاهش درد شد بلکه کاهش درد ناشی از هیستامین را هم افزایش داد. این موضوع نشان می‌دهد که گیرنده H_3 هیستامین در عمل کاهش دهنده درد هیستامین هیپوکامپی می تواند دخالت کند. تیوپرامید توانایی عمل از طریق گیرنده‌های H_3 و H_4 با تمایل عمل بیشتربرگیرنده H_3 را دارد (۳۶) ولی به علت این که گیرنده H_4 و ژن بیان کننده آن در هیپوکامپ موش صحرایی یافت نشده است (۳۷) می‌توان گفت که اثر مشاهده شده از تیوپرامید در مطالعه حاضر ناشی از مهار کردن گیرنده H_3 است. گیرنده H_3 هیستامین در هیپوکامپ منتشر است و در یادگیری و حافظه و تهییج مغز نقش دارد (۳۸، ۳۹). گیرنده H_3 هیستامین در انتهای آکسونی نورون های هیستامینرژیک به عنوان اتورسپتور عمل کرده و فعال کردن این گیرنده با ایمپیپ[1]، ایمتیت[2] و آر- آلفا متیل هیستامین (آگونیست‌های گیرنده H_3 هیستامین) یا مهار کردن این گیرنده با تیوپرامید، سیپروکسیفان[3] و کلوبن پروپیت[4] (آنتاگونیست‌های گیرنده H_3 هیستامین) به ترتیب موجب کاهش و افزایش آزاد شدن هیستامین در سیناپس های هیستامینرژیک می‌شود (۷، ۸). همچنین در انتهای عصبی سایر سیستم‌های نوروترنسمیتری مثل کولینرژیک، گابا ارژیک، سروتونرژیک و گلوتاماترژیک، گیرنده H_3 هیستامین به عنوان هترورسپتور عمل کرده و در تحریک یا مهار آزاد شدن سایر میانجی‌های عصبی مانند استیل کولین، سروتونین دخالت می‌کند (۷،۸). بر این اساس این احتمال وجود دارد که در مطالعه حاضر کاهش درد ناشی از تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید با افزایش دادن هیستامین و یا سایر میانجی‌ها ارتباط داشته باشد. چون فعال کردن سیستم‌های کولینرژیک، گابا ارژیک در هیپوکامپ موجب کاهش درد شده است (۶). از طرف دیگر در مطالعه حاضر تیوپرامید موجب افزایش اثر کاهش دهنده هیستامین هیپوکامپی بر درد شده است که این خود تاییدی است بر اینکه هیستامین درون زاد مغز از طریق گیرنده H_3 در پذیرش درد می‌تواند نقش داشته باشد. البته باید متذکر شد که با فعال کردن و یا مهارکردن گیرنده H_3 در بافت‌های محیطی و در سطح نخاع اثرات معکوس با نتایج مطالعه حاضر گزارش شده است (۴۰،۴۱). دلایل این تناقض به این صورت مطرح شده‌اند که هیستامین آزاد شده ناشی از مهار گیرنده H_3 محیطی هیستامین، خود موجب تحریک گیرنده‌های درد می‌شود چون دخالت هیستامین موضعی در ایجاد درد فرمالینی در کف پا و ناحیه دهانی - صورتی مشخص شده است (۳۰،۴۲). همچنین هیستامین آزاد شده می‌تواند با فعال کردن پپتیدهای ایجاد کننده درد مثل ماده P در افزایش درد شرکت نماید (۴۱). از طرف دیگر در مغز به دنبال تزریق داخل بطنی مغزی تیوپرامید و آر- آلفا متیل هیستامین به ترتیب اثرات کاهش و افزایش دهنده درد گزارش شده است (۱۱). در همین رابطه تزریق تیوپرامید به داخل برجستگی دندانه دار، باعث کاهش شدت هر دو مرحله اول و دوم درد ناشی از تزریق کف پائی فرمالین در موش صحرایی شده است و اثر کاهش دهنده درد حاصل از تزریق هیستامین به داخل برجستگی دندانه دار را افزایش داده است (۲۳).

به‌طور کلی، بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که فعال کردن هیستامین درون زاد با تزریق داخل هیپوکامپی هیستامین برون زاد و یا با تزریق داخل هیپوکامپی تیوپرامید، موجب کاهش درد تونیک ناحیه دهانی - صورتی می‌شود. به عبارت دیگر هیستامین هیپوکامپی از طریق گیرنده‌های H3 در تغییر دریافت درد می‌تواند دخالت نماید.

[1] immepip
[2] imetit
[3] ciproxifan
[4] clobenpropit

References

1. Lathe R. Hormones and the hippocampus. J Endocrinol 2001; 169(2): 205-31.
2. Bird CM, Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. Nat Rev Neurosci 2008; 9(3): 182-94.
3. Davidson TL, Kanoski SE, Schier LA, Clegg DJ, Benoti SC. A potential role for the hippocampus in energy intake and body weight regulation. Curr Opin Pharmacol 2007; 7(6): 613-6.
4. Soleimannejad E, Naghdi N, Semnanian S, Fathollahi Y, Kazemnejad A. Antinociceptive effect of intra-hippocampal CA1 and dentate gyrus injection of MK801 and AP5 in the formalin test in adult male rats. Eur J Pharmacol 2007; 562(1-2): 39-46.
5. Yang XF, Xiao Y, Xu MY. Both endogenous and exogenous ACh plays antinociceptive role in the hippocampus CA1 of rats. J Neural Transm 2008; 115(1): 1-6.
6. Favaroni-Mendes LA, Menescal-de-Oliveira L. Role of cholinergic, opioidergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. Life Sci 2008; 83(19-20): 644-50.
7. Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. Prog Neurobiol 2001; 63(6): 637-72.
8. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. Physiol Rev 2008; 88(3): 1183-241.
9. Thoburn KK, Hough LB, Nalwalk JW, Mischler SA. Histamine-induced modulation of nociceptive responses. Pain 1994; 58(1): 29-37.
10. Tamaddonfard E, Khalilzadeh E, Hamzeh-Gooshchi N, Seiednejhad-Yamchi S. Central effect of histamine in a rat model of acute trigeminal pain. Pharmacol Rep 2008; 60(2): 219-24.
11. Malmberg-Aiello P, Lamberti C, Ghelardini C, Giotti A, Bartolini A. Role of histamine in rodent antinociception. Br J Pharmacol 1994; 111(4): 1269-79.
12. Takemura M, Sugiyo S, Moritani M, Kobayashi M, Yonehara N. Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system. Arch Histol Cytol 2006; 69(2): 79-100.
13. Tenenbaum HC, Mock D, Gordon AS, Goldberg, MB, Grossi ML, Locker D, et al. Sensory and affective components of orofacial pain: is it all in your brain? Crit Rev Oral Biol Med 2004; 12(6): 455-68.
14. Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. Minerva Anestesiol 2005; 71(4): 117-36.
15. Sinha R, Sharma R, Mathur R, Nayar U. Hypothalamo-limbic involvement in modulation of tooth-pulp stimulation evoked nociceptive response in rats. Indian J Physiol Pharmacol 1999; 43(3): 323-31.
16. Clavelou P, Pajot J, Dallel R, Raboisson P. Application of the formalin test to the study of orofacial pain in the rat. Neurosci Lett 1989; 103(3): 349-53.
17. Clavelou P, Dallel R, Orliaquest T, Woda A, Raboisson P. The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. Pain 1995; 62(3): 295-301.
18. Ahn DK, Lee KR, Lee HJ, Kim SK, Choi HS, Lim EJ, et al. Intracisternal administration of chemokines facilitated formalin-induced behavioral response in the orofacial area of freely moving rats. Brain Res Bull 2005; 66(1): 50-8.
19. Choi HS, Lee HJ, Jung CY, Ju JS, Park JS, Ahn DK. Central cyclooxygenase-2 participates in interleukin-1 beta-induced hyperalgesia in the orofacial formalin test of freely moving rats. Neurosci Lett 2003; 352(3): 187-90.

20. Duale C, Sierralta F, Dallel R. Analgesia induced by morphine microinjected into the nucleus raphe magnus: effect on tonic pain. Curr Drug Deliv 2007; 4(3): 181-4.
21. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Compact 3rd Ed. San Diego: Academic Press; 1997.
22. Yu C, Shen Y, Xu L, Zhu Y, Zhuge Z, Huang Y, et al. Effect of endogenous histamine in the ventral hippocampus on fear memory deficits induced by scopolamine as evaluated by step-through avoidance response in rats. Physiol Behav 2006; 87(4): 687-93.
23. Khalilzadeh E, Tamaddonfard E, Farshid AA, Erfanparast A. Microinjection of histamine into the dentate gyrus produces antinociception in the formalin test in rats. Phamacol Biochem Behav 2010; 97(2): 325-32.
24. Raboisson P, Dallel R. The orofacial formalin test. Neurosci Biobehav Rev 2004; 28(2): 219-26.
25. Erfanparasrt A, Tamaddonfard E, Farshid AA, Khalilzadeh E. Antinociceptive effect of morphine microinjectuions into the dorsal hippocampus in the formalin-induced orofacial pain in rats. Vet Res Forum 2010; 1(2): 83-9.
26. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland GH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992; 51(1): 5-17.
27. Hong Y, Abbott FV. Behavioral effects of intraplantar injection of inflammatory mediators in the rat. Neuroscience 1994; 63(3): 827-36.
28. Sakurada S, Orito T, Furuta S, Watanabe H, Mobarake JI, Yanai K, et al. Intrathecal histamine induces spinally mediated behavioral responses through tachykinin NK_1 receptors. Pharmacol Biochem Behavior 2003; 74 (2): 487-93.
29. Tamaddonfard E, Erfanparast A. The effects of intraperitoneal injection of vitamin C on the pain and edema induced by formalin and histamine in rats. Iran Vet J 2009; 5(1): 15-24. (Persian)
30. Ting E, Roveroni RC, Ferrari LF, Lotufo CM, Veiga MC, Parade CA, et al. Indirect mechanism of histamine-induced nociception in temporomandibular joint of rats. Life Sci 2007; 81(9): 765-71.
31. Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Rouat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. Physiol Rev 1991; 71(1): 1-51.
32. Tamaddonfard E, Rahimi S. Central effect of histamine and peripheral effect of histidine on the formalin-induced pain response in mice. Clin Exp Pharmacol Physiol 2004; 31(8): 518-22.
33. Mojtahedin A, Tamaddonfard E, Zanbouri A. Antinociception induced by central administration of histamine in the formalin test in rats. Indian J Physiol Pharmacol 2008; 52(3): 249-54.
34. Tamaddonfard E. Central effect of exogenous histamine on pain induced by sub-plantar injection of formalin in rabbits. Vet Res Forum 2010; 1(1): 1-6.
35. Zanboori A, Tamaddonfard E, Mojtahedin A. The effect of intracerebroventricular injection of histamine in visceral nociception induced by acetic acid in rats. Indian J Pharmacol 2010; 42(5): 289-92.
36. Tiligada E, Zampeli E, Sander K, Stark H. Histamine H_3 and H_4 receptors and novel target drugs. Expert Opin Investig Drugs 2009; 18(10): 1519-31.
37. Strakhova MI, Nikkel AL, Manelli AM, Hesieh GC, Esbenshade TA, Brioni JD, et al. Localization of histamine H_4 receptors in the central nervous system of human and rat. Brain Res 2009; 1250: 42-8.
38. Pollard H, Moreau J, Arrange JM, Schwartz JC. A detailed authoradiographic mapping of histamine H3 receptors in rat brain areas. Neuroscience 1993; 52(1): 169-89.
39. Hajos M, Siok CJ, Hoffmann WE, Li S, Kocsis B. Modulation of hippocampal theta oscillation by

histamine H_3 receptors. J Pharmacol Exp Ther 2008; 324(10); 391-8.

40. Cannon KE, Leurs R, Hough LB. Activation of peripheral and spinal histamine H_3 receptors inhibits formalin-induced inflammation and nociception, respectively. Pharmacol Biochem Behav 2007; 88(1): 122-9.
41. Fernandez-Duenas V, Ciruela F, Gandia J, Sanchez S, Planas E, Poveda R. Histamine H_3 receptor activation potentiates peripheral opioid-mediated antinociception: substance P role in peripheral inflammation in mice. Eur J Pharmacol 2010 ; 638(1-3): 72-7.
42. Parada CA, Tambeli CH, Cunha FQ, Ferreira SH. The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytriptamine in formalin-induced nociception. Neuroscience 2001: 102(4); 937-44.