

اثر تزریق داخل صفاقی هیستیدین بر میزان دفع مدفوع در خرگوش

غلامرضا وفائی سیاح^{۱*} اسماعیل تمدنفر^۲

(۱) گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر، ابهر - ایران.

(۲) گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۳ خرداد ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۱۰ آبان ماه ۱۳۸۵)

چکیده

تزریق داخل صفاقی هیستیدین در ساعات ۷ و ۱۹، در مقادیر ۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن اثر معنی داری ایجاد نکرد. تزریق در ساعت ۷ به مقدار ۱۲۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، تعداد پلت های مدفوع را تا ۸ ساعت و در مقادیر ۲۴۰ و ۴۸۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، تعداد پلت های مدفوع را تا ۲۴ ساعت پس از تزریق کاهش داد. تزریق در ساعت ۱۹ در مقادیر ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، تعداد پلت های مدفوع را به ترتیب در ۲، ۸ و ۲۴ ساعت پس از تزریق کاهش داد. اثر کاهش دهنده هیستیدین در دوره روشنائی نسبت به دوره تاریکی شدیدتر و طولانی تر بود. میانگین تعداد پلت ها برای هر مور قبل از انجام هرگونه مطالعه مداخله گر به عنوان کنترل منفی ثبت گردید.

واژه های کلیدی: هیستیدین، پلت های مدفوع، خرگوش.

مواد و روش کار

در این مطالعه تعداد ۱۶ قطعه خرگوش سفید نیوزیلندی نر با وزن بین ۲/۵ - ۲ کیلوگرم، تهیه شده از موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی ایران، به طور انفرادی در قفس های متابولیک در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۱ درجه سانتیگراد و چرخه روشنائی - تاریکی ۱۲ ساعت (دوره روشنائی ۷ تا ۱۹ و دوره تاریکی ۱۹ تا ۷) برای مدت یک ماه تا قبل از شروع آزمایش به منظور سازگاری با شرایط محیط نگهداری شدند. غذا و آب به طور آزاد در دسترس حیوانات قرار داشت. برای انجام آزمایش خرگوش ها به دو گروه هشت قطعه ای تقسیم شدند. در یک گروه هشت قطعه ای تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن در ساعات ۷ و در گروه هشت تایی دیگر، تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر مذکور در ساعت ۱۹ انجام شد. از تزریق داخل صفاقی سالین نرمال به عنوان کنترل استفاده شده و پودر هیستیدین تهیه شده از شرکت دارویی مرک برای تزریق داخل صفاقی در سالین نرمال حل شد. حجم محلول برای تزریق داخل صفاقی یک و نیم میلی لیتر به ازا هر کیلوگرم وزن بدن و فاصله زمانی بین تزریقات داخل صفاقی در هر حیوان چهار روز بود (۴). در هر دو گروه پس از تزریقات داخل صفاقی سالین نرمال و یا هیستیدین، پلت های مدفوع به روش زیر جمع آوری و شمارش شد: در کف قفس متابولیک، توری مشبک فلزی با سوراخ هایی به اندازه هشت میلی متر و در زیر آن با فاصله چهار سانتیمتری توری مشبک دیگر با سوراخ هایی به اندازه دو میلی متر قرار داده شده بود. از توری اول پلت های مدفوع و ادار به آسانی عبور کردند ولی از توری دوم فقط ادار عبور کرد. توری دوم به صورت کشویی ساخته شده بود و در زمان های یک، دو، چهار، هشت و ۲۴ ساعت پس از تزریق، توری بیرون آورده شده، پلت های مدفوع جمع آوری و شمارش شد. همچنین به منظور بررسی اثر تزریق داخل صفاقی بر میزان دفع مدفوع، در

مقدمه

هیستیدین یک اسید آمینه نیمه ضروری است و در انتقال مس و آهن، جذب و انتقال روی، جذب کلیسم، دخالت در مکانیسم های انعقادی، تحریک تولید گلبول های قرمز و سفید، افزایش جریان خون به ارگان های جنسی نقش دارد. ولی مهمترین استفاده بدن از هیستیدین، تبدیل آن هیستامین است (۲۲). هیستامین دارای اعمال مختلف در بدن می باشد از جمله تحریک ترشح اسید، شرکت در التهاب، تنظیم پاسخ های ایمنی و تنظیم عمل سمپاتیک و غیره (۱۳). اخیراً مشخص شده است که تزریق داخل صفاقی یک بار و یا مکرر هیستیدین در مقادیر بالا موجب افزایش میزان هیستامین نورونی مغز می شود (۷، ۸). براین اساس مطرح شده است که برخی از اثرات هیستیدین محیطی در مقادیر بالا ناشی از فعال شدن سیستم هیستامینرژیک مغز است (۶، ۷، ۱۶، ۲۰، ۲۱). سیستم هیستامینرژیک مغز نقش مهمی در کنترل اعمال حرکتی دستگاه گوارش دارد چون تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین موجب مهار حرکات پیش برنده روده های موش سوری شده است (۱۰). همچنین تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین در مقدار ۱۰۰ میکروگرم موجب ناپدید شدن مرحله III و کاهش مرحله II کمپلکس میو الکتریک مهاجر (Myoelectric Complex MMC: Migrating) در موش های صحرایی شده است (۱۱). مطرح کرده اند که میزان دفع مدفوع با شمارش پلت های مدفوع می تواند بیانگر حرکات کولون باشد (۳). در خرگوش گزارش شده است که در شروع دوره تاریکی میزان دفع مدفوع بیشتر و در شروع دوره روشنائی میزان آن کمتر از سایر مواقع دوره روشنائی - تاریکی است (۵، ۱۷). باتوجه به نکات مذکور، در این مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی هیستیدین در شروع دوره روشنائی - تاریکی بر میزان دفع مدفوع با شمارش تعداد پلت های مدفوع در خرگوش بررسی شده است.



جدول ۱- تعداد پلت های تجمعی مدفوع در خرگوش های تزریق نشده و تزریق شده به روش داخل صفاقی سالیین نرمال و هیستیدین در ساعت های ۷ و ۱۹. $p < 0.05$: * در مقایسه با بدون تزریق و تزریق داخل صفاقی سالیین نرمال در هر ستون عمودی معنی دار است، $p < 0.05$: † در مقایسه بین ساعت های ۷ و ۱۹ معنی دار است، تعداد: هشت قطعه برای تزریق ساعت ۷ و هشت قطعه برای تزریق ساعت ۱۹.

ساعت ۲۴ (تعداد پلت)	هشت ساعت (تعداد پلت)	چهار ساعت (تعداد پلت)	دو ساعت (تعداد پلت)	یک ساعت (تعداد پلت)		
۱۱۲±۱۰/۸	۳/۸±۰/۹	۱±۰/۳	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	بدون تزریق
۱۲۰±۱۱/۵	۸۰/۶±۱۰/۶†	۵۲/۲±۸/۷†	۲۵/۶±۴/۸†	۱۱/۲±۳/۸†	ساعت ۱۹	
۱۳۲±۱۳/۲	۴/۵±۱/۳	۱/۴±۰/۵	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	سالیین نرمال
۱۲۳±۱۴/۸	۸۳/۲±۱۲/۳†	۴۵/۶±۹†	۲۷/۶±۵/۳†	۱۳±۳/۲†	ساعت ۱۹	
۱۱۸±۱۱/۴	۵±۰/۹	۱/۲±۰/۳	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	هیستیدین (۳۰mg/Kg)
۱۱۲±۱۲/۶	۹۴/۶±۱۱/۸†	۵۷/۲±۸/۳†	۲۴/۲±۵/۲†	۱۴/۵±۴/۱†	ساعت ۱۹	
۱۲۵±۱۲/۶	۶/۲±۱/۵	۱±۰/۴	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	هیستیدین (۶۰mg/Kg)
۱۱۴±۱۱/۹	۸۸/۲±۱۲/۶†	۴۹±۱۰/۶†	۲۰/۴±۴/۹†	۱۰/۸±۳/۵†	ساعت ۱۹	
۱۰۹±۱۳/۴	۱/۲±۰/۴*	۰±۰	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	هیستیدین (۱۲۰mg/Kg)
۹۶±۱۰/۲	۷۷/۵±۸/۹†	۳۷/۸±۸/۵†	۱۳/۶±۳/۲*†	۳/۹±۱/۴*	ساعت ۱۹	
۷۴/۲±۸/۶*	۰±۰*	۰±۰	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	هیستیدین (۲۴۰mg/Kg)
۱۰۰±۱۲/۹	۴۹/۳±۵/۶*†	۱۸/۹±۴/۳*†	۹/۴±۲/۲*†	۳±۰/۹*	ساعت ۱۹	
۵۲/۶±۶/۳*	۰±۰*	۰±۰	۰±۰	۰±۰	ساعت ۷	هیستیدین (۴۸۰mg/Kg)
۶۹±۶/۷*	۳۴±۴/۶*†	۱۱±۲/۴*†	۷/۱±۲/۵*†	۳/۶±۰/۶*	ساعت ۱۹	

معنی دار مذکور متعاقب تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر ۲۴۰، ۱۲۰، ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در یک ساعت پس از تزریق مشاهده نشد.

روز ۲۵ دوره سازگاری، جمع آوری و شمارش پلت های مدفوع در زمان های مشخص قید شده در بالا، بدون تزریق داخل صفاقی انجام شد. داده ها با آنالیز واریانس چند عاملی تجزیه و تحلیل شدند (۱۲) و در سطح معنی دار $p < 0.05$ ارزیابی و در جدول به صورت $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$ آورده شده اند.

بحث

نتایج مطالعه نشان دادند که (۱) میزان دفع مدفوع خرگوش در دوره تاریکی بسیار بیشتر از دوره روشنایی بود. (۲) تزریق داخل صفاقی سالیین نرمال بر میزان دفع مدفوع اثر نگذاشت. (۳) هیستیدین در مقادیر کم در میزان دفع مدفوع تغییری ایجاد نکرد در حالی که در مقادیر زیاد، میزان دفع مدفوع را کاهش داد. (۴) اثر کاهش دهنده هیستیدین بر میزان دفع مدفوع در دوره روشنایی نسبت به دوره تاریکی، شدید و طولانی بود. به طور کامل مشخص شده است که خرگوش حیوانی با فعالیت شبانه است چون فعالیت های مربوط به رفتار تغذیه ای، اخذ آب، دفع مدفوع، زایمان و شیردهی به نوزادان را در شب انجام می دهد (۱۷، ۱۵، ۱۴، ۲۰). در تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی از سالیین نرمال با روش های مختلف تزریق به عنوان کنترل استفاده می شود و در حجم تزریقی مشخص شده متعاقب تزریق در حیوانات آزمایشگاهی، بر فرآیندهای فیزیولوژیک اثر نمی گذارد (۱۶).

علل کاهش میزان دفع مدفوع مشاهده شده در خرگوش متعاقب تزریق مقادیر زیاد هیستیدین را می توان در: (۱) اثر مستقیم هیستیدین بر حرکات

نتایج

در تعداد پلت های مدفوع شمارش شده در زمان های مشخص، بین حیوانات بدون تزریق و تزریق داخل صفاقی سالیین نرمال در ساعت های ۷ و ۱۹ اختلاف معنی دار مشاهده نشد. تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر ۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن (در ساعت های ۷ و ۱۹) اثری بر تعداد پلت های مدفوع نگذاشت. تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقدار ۱۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در ساعت ۷ موجب کاهش تعداد پلت های مدفوع تا هشت ساعت و در ساعت ۱۹ موجب کاهش آن تا دو ساعت شد. تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقدار ۲۴۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در ساعت ۷، تعداد پلت های مدفوع را تا ۲۴ ساعت و در ساعت ۱۹ آن را تا هشت ساعت کاهش داد. تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقدار ۲۴۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در ساعت های ۷ و ۱۹، موجب کاهش تعداد پلت های مدفوع تا ۲۴ ساعت شد. متعاقب انجام آزمایش در ساعت ۱۹ نسبت به ساعت ۷، در تعداد پلت های مدفوع شمارش شده در زمان های مشخص منهای ۲۴ ساعت، اختلاف معنی دار وجود داشت. اختلاف



می‌شود که تزریق توأمان محیطی هیستیدین و مرکزی هیستامین بر فعالیت‌های فیزیولوژیک مورد بررسی قرار بگیرد چون در مطالعه‌ای اثر تقویتی از هیستیدین محیطی بر هیستامین مرکزی در رفتار درد فرمالینی موش‌های سوری گزارش شده است (۱۶).

References

1. Fargeas, M.J., Fioramonti, J., Bneno, L. (1989) Involvement of different receptors in the central and peripheral effects of histamine on intestinal motility in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 41: 534-540.
2. Fukagawa, K., Sakata, T., Wada, H. (1989) Neuronal histamine modulates feeding behavior through H₁ receptor in rat hypothalamus. *Am. J. Physiol.* 256: R605-R611.
3. Gulpinar, M. A., Bozkurt, A., Cosken, T., Ulusoy, N. B. and Yegen, B. C. (2000) Glucagon - like peptide (GLP-1) is involved in the central modulation of fecal output in rats. *Am. J. Physiol.* 278: G924-G929.
4. Harcourt - Brown, F. (2002) *Textbook of rabbit medicine*, 1th Ed., Butterword Heinemann, Oxford, England, p. 1-18.
5. Jigle, B., Stahle, H. (1993) Restricted food access and light - dark impact of conflicting zeitgebers on circadian rhythms of the rabbit. *Am. J. Physiol.* 264: R708-R715.
6. Kasaoka, S., Tsuboyama, K. N., Kawahara, Y., Inoue, S., Okuda, H., Nakajima, S. (2004) Histidine supplementation suppresses food intake and fat accumulation in rats. *Nutrition.* 20: 991-996.
7. Lozeva, Y., Ahonen, P., Chatauret, N., Tuomisto, L. and Butterworth, R. F. (2004) Brain histamine in experimental acute liver failure: effects of L-histidine loading, *Inflamrn. Res.* 53: S55-S56.
8. Lozeva, Y., Tarhanen, J., Attila, M., Mannisto, P. T. and Tuomisto, L. (2003) Brain histamine and histamine H₃ receptors following repeated L-histidine administration in rats. *Life Sci.* 73: 1491-1503.
9. Morimoto, T., Yamamoto, T., Yamatodani, A. (2001) Brain histamine and feeding behavior. *Behav. Brain Res.* 124: 145-150.
10. Parolaro, D., Patrini, G., Massi, P., Sala, M. and Cori, E. (1989) Histamine as a central modulator of rat

دستگاه گوارش (۲۰) اثر غیر مستقیم هیستیدین در تبدیل آن به هیستامین در بافت‌های محیطی (۳) اثر غیر مستقیم هیستیدین در تبدیل آن به هیستامین در سیستم عصبی مرکزی جست‌وجو نمود. تا به حال از اثر مستقیم هیستیدین بر حرکات دستگاه گوارش مثل حرکات کولون و رفلکس دفع مدفوع گزارشی ارائه نشده است اگر چه در سگ متعاقب دادن هیستیدین از طریق فیستول معده‌ای، تأخیر در تخلیه معده مشاهده شده است (۱۴). همچنین بخشی از اثر کاهش دهنده هیستیدین متعاقب تجویز خوراکی آن بر اخذ غذای موش‌های رت را به اثرات آن در معده نسبت داده اند (۲۳). در مطالعه حاضر با توجه به اینکه هیستیدین در مقادیر کم اثری نگذاشته است پس احتمال اثر مستقیم هیستیدین بسیار کم می‌باشد. در ارتباط با اثر غیر مستقیم هیستیدین با تبدیل شدن به هیستامین در بافت‌های محیطی گزارشی ارائه نشده است با وجود این تزریق داخل صفاقی هیستامین موجب مهار کمپلکس میو الکتریک مهاجر در موش‌های رت شده است (۱). به نظر می‌رسد که بخش بزرگی از اثر کاهش دهنده هیستیدین بر میزان دفع مدفوع ناشی از اثر غیر مستقیم آن با تبدیل شدن به هیستامین نورونی مغزی باشد. چون از یک طرف مشخص شده است که تزریق داخل صفاقی یک بارو یا مکرر هیستیدین میزان هیستامین نورونی مغز را افزایش می‌دهد (۷، ۸، ۲۴) و از طرف دیگر تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین موجب افزایش مدت زمان انتقال روده‌ای و کاهش حرکات پیش برنده روده‌ها در موش‌های سوری شده است (۱۰). همچنین پس از تزریق داخل بطن مغزی هیستامین، کاهش فعالیت الکتریکی روده‌ها در موش‌های رت مشاهده شده است (۱). در تأیید این موضوع که هیستیدین محیطی با افزایش هیستامین نورونی مغز موجب کاهش میزان دفع مدفوع شده است می‌توان به اثر شدید و طولانی هیستیدین در تزریق آن در شروع دوره روشنایی نسبت به دوره تاریکی اشاره نمود. مشخص شده است که میزان هیستامین نورونی مغز دارای ریتم سیرکادین می‌باشد و میزان آن در دوره روشنایی نسبت به دوره تاریکی زیاد است (۲). همچنین هیستامین نورونی مغز نقش بسیار مهمی در ریتم سیرکادین پدیده‌های فیزیولوژیک مثل اخذ غذا، آب، خواب و بیداری، فعالیت و استراحت دارد (۱۸) و از نقطه نظر تغذیه‌ای میزان هیستامین مغزی رابطه معکوس با میزان اخذ غذا دارد (۹).

بخش دیگری از اثر کاهش دهنده هیستیدین بر میزان دفع مدفوع می‌تواند ناشی از اثر کاهش دهنده آن در اخذ غذا باشد. بر اساس مطالعه قبلی مشخص شده است که میزان اخذ غذا و دفع مدفوع در خرگوش در ساعات اولیه دوره روشنایی و تاریکی موازی می‌باشد (۱۷). از طرف دیگر طی مطالعه‌ای در خرگوش، متعاقب تزریق داخل صفاقی هیستیدین در مقادیر زیاد در شروع دوره تاریکی میزان اخذ غذا کاهش یافته است (۱۹). در خرگوش یک رفلکس معده‌ای - کولونی قوی وجود دارد و بر اساس این رفلکس به طور همزمان و پس از خوردن غذا، حرکات کولون شدید شده و دفع مدفوع انجام می‌گیرد (۴). در نتیجه احتمالاً هیستیدین با ایجاد بی‌اشتهایی مرکزی موجب مهار رفلکس دفع مدفوع در خرگوش شده است. به هر حال پیشنهاد



- intestinal transit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 249: 324-328.
11. Patrini, G., Massi, P., Rubino, T., Donin, L. and Parolaro, D. (1992) Further investigation on the antipropulsive effect of centrally administered histamine and its relation with morphine. *Eur. J. Pharmacol.* 210: 259-264.
 12. Philips, D. S. (1978) Basic statistics for health Science students. W. H. Freeman and Company, New York, USA, p. 98-103.
 13. Schwartz, J. C. Arrang, J. M., Garbarg, M., Pollard, H. and Ruat, M. (1991) Histaminergic transmission in the mammalian brain, *Physiol. Rev.* 71: 1-51.
 14. Stephens, J. R., Woolson, R. F., Cooke, A. R. (1975) Effects of essential and nonessential amino acids on gastric emptying in the dog. *Gastroenterol.* 69: 920-927.
 15. Tamaddonfard, E. (2005) Patterns of food intake in Laboratory caged rabbits. *Indian Vet. J.* 82: 65-67.
 16. Tamaddonfard, E., Rahimi, S. (2004) The central effects of histamine and peripheral effects of histidine on the formalin - induced pain response in mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 53: 518-522.
 17. Tamaddonfard, E., Vafaeyasaiah, G.R., Babapour, V. (2005) Light dark changes of feeding, drinking and defecation in Laboratory rabbits. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 60:173-176.
 18. Tuomisto, L., Lozeva, V., Valjakka, A., Lecklin, A. (2001) Modifying effects of histamine on circadian rhythms and neuronal excitability. *Behav. Brain Res.* 124: 129-135.
 19. Vafaeyasaiah, G.R., Tamaddonfard, E. (2003) Effects of intraperitoneal injection of histidine at the beginning of light-dark cycles on feeding behavior in rabbits. 16th Iranian Congress of Physiology and Pharmacology, May 9-13, Tehran, Iran, p.73.
 20. Vafaei Saiah, G., Tamaddonfard, E. (2004) Central effect of Histamine and peripheral effect of histidine on food intake in rabbits. 2nd FAONS Symposium May 16-19, Tehran - Iran, p. 132.
 21. Vafaei Saiah, G., Tamaddonfard, E., Seiednejhad, S. (2006) The effect of Histidine on food intake in rabbits. *Indian Vet. J.* 83: 807-808.
 22. Van Wouwe, J. P., Veldhuizen, M. (1996) Growth characteristics in laboratory animals fed zinc - deficient, copper - deficient, of histidine - supplemented diets. *Biol. Trace Elem. Res.* 55: 71-77.
 23. Vaziri, P., Dang, K., Anderson, G. H. (1997) Evidence for histamine involvement in the effect of histidine loads on food and water intake in rats. *J. Nutr.* 127: 1519-1526.
 24. Yoshimatsu, H., Chiba, S., Tajima, D., Akehi, Y. and Sakata, T. (2002) Histidine suppresses food intake through its conversion into neuronal histamine. *Exp. Biol. Med.* 227: 63-68.



THE EFFECT OF INTRAPERITONEAL INJECTION OF HISTIDINE ON DEFECATION RATE IN RABBITS

Vafaei saiah, G.^{1*}, Tamaddonfard, E.²

¹Department of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Abhar, Abhar - Iran.

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran.

(Received 27 April 2005 , Accepted 27 October 2006)

Abstract:

Histidine at the doses 30 and 60ml/kg had no effect when injected at 7 :00h, or at 19:00h. Histidine at the doses of 120, 240 and 480 mg / kg decreased defecation at the first 8 and 24 hours post injection, respectively, when injected at 07:00h. The amino acid at the doses of 120, 240 and 480 mg / kg decreased the number of fecal pellets at 2, 8 and 24 h post injection, respectively, when injected at 19:00h. Suppressive effect of histidine in the light period was more intense and lasted longer than that in the dark period. The mean number of pellets for each individual prior to the interventional study was recorded as interval negative control.

Key words: histidine, fecal pellets, rabbits.

*Corresponding author's email: vafaei@tabrizu.ac.ir, Tel: 0242-5223102, Fax: 0242-5235478

