



Effect of dexamethasone on the convulsive behavior induced by hyperthermia: possible role of histamine

Peyman Gholipoor¹, Ehsan saboory^{2*}, Mohammad Hasan Khademansari³

1. Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

2. Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

3. Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Received: 30 Jul 2012

Accepted: 2 Sept 2012

Abstract

Introduction: Febrile seizures are the most common seizure disorder in childhood and its prevalence is estimated to be 2 to 5 percent. There is a relationship between the use of corticosteroids and seizures. This study investigated the effects of dexamethasone pretreatment on convulsive behavior caused by hyperthermia.

Methods: In this study, 24 rats aged 19-20 days were divided into 3 groups (n=8) as control, hyperthermia and dexamethasone. In the hyperthermia group, rats were placed in the chamber for 30 min and warm wind was blown on them. In the dexamethasone group, the rats received intraperitoneal dexamethasone before hyperthermia. The body temperature of the rats was continuously recorded via a rectal probe throughout the experiment. During 30 min of hyperthermia, behavior of each rat was carefully observed and recorded. Blood sampling was done from the heart and samples were used to measure histamine blood levels.

Results: All the rats that were exposed to hyperthermia showed convulsive behavior. Dexamethasone potentiated seizure intensity and significantly increased the rate of tonic-clonic seizure (5.62 ± 1.05 in dexamethasone and 1.37 ± 0.46 in hyperthermia) ($p=0.02$). Hyperthermia decreased histamine blood levels and dexamethasone potentiated this reduction ($p<0.001$).

Conclusion: At least one of the ways that hyperthermia leads to seizure is through the reduction of histamine blood level. Since histamine has an anticonvulsant effect, reduction of histamine blood level is one reason of hyperthermia-induced seizure. Dexamethasone leads to a decrease in histamine blood level and potentiates hyperthermia-induced seizure.

Key words: seizure, glucocorticoids, histamine, hyperthermia, rat

* Corresponding author e-mail: saboory@umsu.ac.ir
e.saboory@yahoo.com

Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر دگزامتازون بر رفتارهای تشنجی ناشی از هیپرترمی: نقش احتمالی هیستامین

پیمان قلی پور^۱، احسان صبوری^{۲*}، محمد حسن خادم انصاری^۳

۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

۳. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

پذیرش: ۱۲ شهریور ۹۱

دریافت: ۹ مرداد ۹۱

چکیده

مقدمه: تب تشنج شایع‌ترین اختلال تشنجی دوران کودکی بوده و شیوع آن ۲ تا ۵ درصد برآورد شده است. بین استفاده از کورتیکواستروئیدها و تشنج رابطه‌ای وجود دارد. هدف این مطالعه بررسی اثر پیش درمانی با دگزامتازون بر رفتارهای تشنجی ناشی از هیپرترمی بود.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موشها صحرایی ۱۹-۲۰ روزه به ۳ گروه (n=8) کنترل، هیپرترمی و دگزامتازون تقسیم شدند. در گروه هیپرترمی، حیوان ۳۰ دقیقه در محفظه قرار گرفت و باد گرم بر روی آن دمیده شد. در گروه دگزامتازون، حیوان قبل از قرار گرفتن در محفظه دگزامتازون داخل صفاقی دریافت کرد. دمای بدن موشها بطور مداوم از طریق یک پروب رکتال در سراسر آزمایش ثبت شد. در مدت ۳۰ دقیقه که موش در محفظه هیپرترمی بود رفتار آن بدقت مشاهده و ثبت شد. بعد از اتمام هیپرترمی خونگیری از قلب به عمل آمد. نمونه‌های خون برای سنجش هیستامین استفاده شدند.

یافته‌ها: تمام موشهایی که دچار هیپرترمی شدند رفتارهای تشنجی نشان دادند. دگزامتازون باعث تشدید تشنج شد و تعداد تشنجهای تونیک-کلونیک $5/62 \pm 1/06$ در گروه دگزامتازون و $1/37 \pm 0/46$ در گروه هیپرترمی) را بطور معنی داری افزایش داد ($p=0.02$). هیپرترمی باعث کاهش هیستامین خون شد و دگزامتازون کاهش هیستامین خون را تشدید کرد ($p<0.001$).

نتیجه گیری: حداقل یکی از راههای که هیپرترمی منجر به تشنج می‌شود کاهش هیستامین بدنال هیپرترمی است. از آنجا که هیستامین اثر ضد تشنجی دارد کاهش هیستامین می‌تواند یکی از راههای ایجاد تشنج ناشی از هیپرترمی باشد. دگزامتازون با تشدید کاهش هیستامین باعث تشدید رفتارهای تشنجی ناشی از هیپرترمی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تشنج، گلوکوکورتیکوئیدها، هیستامین، هیپرترمی، موش صحرایی

مقدمه

قلبی نداشته و فقط با افزایش دمای بدن، ارتباط داشته باشد [۱۵]. تب تشنج شایع‌ترین اختلال تشنجی دوران کودکی بوده و در مطالعات متعدد شیوع آن ۲ تا ۵ درصد برآورد شده است [۱۷]. در مطالعات گذشته نگر و اپیدمیولوژیک انسانی تب تشنج (بویژه نوع طولانی آن) به عنوان فاکتور خطر گسترش صرع لب گیجگاهی به حساب می‌آید. در واقع ۳/۵ درصد افراد با صرع لب گیجگاهی سابقه تشنج ناشی از تب طولانی مدت را در دوران کودکی داشتند [۲۸]. مطالعات نشان داده که

تشنج ناشی از تب، به تشنجی اطلاق می‌شود که معمولاً در کودکان بین سنین سه ماه تا پنج سالگی رخ داده با تب همراه بوده قرائتی بر عفونت درون جمجمه ای یا سابقه ای از تشنج

saboory@umsu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

رابطه عکس وجود دارد. بطوریکه Diaz و همکاران گزارش کردند افزایش سطح گلوکوکورتیکوئیدهای سرمی باعث تنظیم کاهشی تعداد مست سلها در جداره صفاق می شوند [۹]. گزارش شده که گلوکوکورتیکوئیدها باعث کاهش طول عمر مست سلهای فعال شده و القای آپوپتوز در آنها را افزایش می دهد [۳۲]. همچنین گلوکوکورتیکوئیدها باعث کاهش هیستامین خون می شوند، بطوریکه مصرف کردن در انسان یا حیوانات سالم باعث کاهش تعداد بازوفیلها در گردش خون و کاهش سطح هیستامین خونی می شود [۲۵]. مطالعات بسیاری در مورد نقش گلوکوکورتیکوئیدها در تشنج و مکانیسم تسهیل تشنج انجام شده که هیچ کدام در مورد تشنج ناشی از تب نبوده و نقش احتمالی هیستامین را در تب تشنج بررسی نکرده است. با توجه به نقش گلوکوکورتیکوئیدها در تشنج و ارتباط بین گلوکوکورتیکوئیدها و سطح هیستامین خون و فعال شدن مست سلها و با توجه به این که مست سلها محل ذخیره هیستامین هستند که در اثر افزایش دما می توانند دگرانوله شده و هیستامین ذخیره ای خود را آزاد کنند ما فرض کردیم که تزریق دگزامتازون قبل از فرایند هیپرترمی می تواند با اثر بر روی هیستامین خونی در بروز یا در شدت تشنج ناشی از هیپرترمی تأثیر گذار باشد. بدین ترتیب مطالعه حاضر طراحی شد تا اثر دگزامتازون بر هیستامین خون و رفتارهای تشنجی در تشنج ناشی از هیپرترمی را در موشهای صحرایی شیرخوار مطالعه نماید.

مواد و روش ها

موش های صحرایی نژاد ویستار از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تهیه شد. در تمام مراحل نگهداری موشها و انجام آزمایشات دستورالعمل کمیته نگهداری و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (معاهده هلسینکی) رعایت شد. در ضمن این مطالعه توسط کمیته اخلاق در پژوهش های علوم پزشکی مستقر در دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تصویب شد. روز تولد موشها روز ۱ در نظر گرفته شد. در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موشها صحرایی نژاد ویستار ۱۹-۲۰ روزه به ۳ گروه تقسیم شد: (در هر گروه ۸ موش):

۱- گروه کنترل، حیوان به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه

رابطه ای بین استفاده از کورتیکواستروئیدها و مستعد بودن به تشنج وجود دارد. به طوری که Maxson و Sze که اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر روی تشنج را مطالعه می کردند نشان دادند که متوپرون که یک مهارکننده سنتز گلوکوکورتیکوئیدهای اندوزن است باعث کاهش استعداد ابتلا به تشنج ناشی از صدا (audiogenic seizure) در موش های ۱۹ روزه شد [۲۱]. لی و همکاران نشان دادند که تزریق دگزامتازون در موشهای صحرایی باعث تقویت و تشدید شدت تشنج ناشی از تزریق کابینک اسید شد. البته در چندین مطالعه به اثرات ضد تشنجی گلوکوکورتیکوئیدها نیز اشاره شده است [۲۰، ۱]. نشان داده شده که استرس شنای اجباری اثرات ضد تشنجی داشته و احتمالاً گلوکوکورتیکوئیدها مسئول این اثر هستند [۲۵]. یکی از مواردی که به نظر می رسد در فرایند تشنج ناشی از تب نقش داشته باشد هیستامین مغزی است. هیستامین مغزی از اسید آمینه هیستیدین توسط آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز در داخل ماست سلهای مغزی و هسته توبرومامیلاری هیپوتالاموس خلفی تولید می شود [۳۱]. در مورد نقش ضد تشنجی هیستامین و نورونهای هیستامینرژیک، اولین بار چرچیل و گامون گزارش کردند که آنتی هیستامینهای H₁ نسل اول مثل دیفن هیدرامین و تریپلن آمین امواج تشنجی را بر روی نوار مغزی برخی از افراد ظاهر می کنند [۳۱]. یا همچنین نشان داده شده که تزریق هیستامین در کالیکولوس تحتانی (محل اصلی به راه انداختن تشنج القا شده توسط صدا) باعث کاهش شدت و سرکوب تشنج القا شده توسط صدا می گردد [۳۰]. یکی از منابع هیستامین در مغز، مست سلها می باشند. گرانولهای مست سلها حاوی پروتئینها و مدياتورهای لیپیدی و آمینهای وازواکتیو از جمله هیستامین هستند ولی فعالیت این هیستامین کوتاه مدت است چون به وسیله سیستمهای انتقالی مختص آمین، به سرعت از محیط برداشته می شوند [۲]. دگرانولاسیون مست سلها ناشی از آسیب های کوچک مغزی یا ترکیباتی مثل Compound 48/80، یا ناشی از التهابات، محتوای هیستامین مغزی را افزایش می دهند [۲۷]. همچنین از مدت ها پیش نشان داده شده بود که دمای گرم یا سرد می تواند باعث دگرانوله شدن مست سلها بدون نیاز به حضور آنتی بادی IgE شوند [۳۵]. بین گلوکوکورتیکوئیدها و سطح هیستامین خون و تعداد مست سلها

متصل بود تا اگر دما از حد مورد نیاز بالاتر رفت آن را قطع کند و وقتی از بازه تعریف شده پایین تر آمد آن را روشن کند و بدین ترتیب دمای داخل محفظه را در یک بازه ثابت نگه دارد. دمای داخل محفظه در عرض ۵ دقیقه به ۴۸ درجه سانتی گراد رسید و سعی شد در طول آزمایش بالاتر از ۵۱ درجه سانتی گراد نرود. دمای حیوان نیز از حد پایه (حدود ۳۶) به حدود ۴۳ درجه رسید و سعی شد در طول آزمایش از آن بالاتر نرود. تغییرات رفتاری ناشی از افزایش دما طبق جدول رفتاری زیر مرحله بندی شد [۲۸].

برای محاسبه نمره کل شدت تشنج از رابطه زیر استفاده کردیم.

مجموع نمره مراحل مختلف رفتاری + عکس زمان نهفته تشنج
تونیک کلونیک $\times 100 +$ تعداد تشنج تونیک کلونیک = نمره کل تشنج

برای این منظور مراحل رفتاری موجود در جدول ۱ برای هر موش حساب شد. مثلاً اگر موش تمام مراحل رفتاری را نشان داد نمره آن برابر $1+2+3+4=10$ شد. زمان لازم تا بروز اولین تشنج تونیک-کلونیک بر حسب دقیقه ثبت شد و معکوس این عدد در ۱۰۰ ضرب شده و در فرمول بالا قرار داده شد. بالاخره تعداد تشنج تونیک-کلونیک در مدت ۳۰ دقیقه آزمایش هیپرترمی شمرده شده و در فرمول بالا قرار داده شد.

موشها ۳۰ دقیقه در این محفظه با شرایط فوق قرار داشتند و پس از آن از محفظه خارج شدند. پس از خارج کردن از محفظه ابتدا پروب رکتال جدا شد و پس از آن موش با استفاده از آب ۲۵ درجه به مدت ۵ دقیقه خنک شده سپس با اتر بیهوش شده و خون گیری از قلب انجام شد. خون گرفته شده در لوله های اپندورف حاوی EDTA ریخته شد و در مخلوط آب و یخ

قرار گرفت ولی باد معمولی با دمای اتاق بر روی آن دمیده شد.

۲- گروه هیپرترمی، حیوان به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه قرار گرفت و باد گرم بر روی آن دمیده شد.

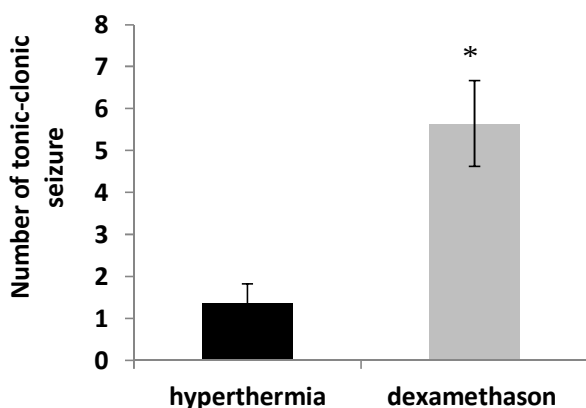
۳- پیش درمانی با دگزامتازون، حیوان همانند گروه هیپرترمی بوده ولی ۳۰ دقیقه قبل از قرار گرفتن در محفظه $1/2 \text{ mg/kg}$ دگزامتازون داخل صفاقی دریافت کرد.

تشنج ناشی از هیپرترمی طبق مدلی که قبلاً توسط Baram و همکاران توصیف شده بود، القا شد [۳]. بطور خلاصه، تمام حیوانات شیر خوار ۳۵ دقیقه قبل از قرار گرفتن در محفظه هیپرترمی مقدار نیم سی سی (۱۴ ml/kg) نرمال سالین داخل صفاقی دریافت کردند که مانع دهیدراتاسیون شدید حیوان در طی هیپرترمی می شد. موشها تا ۳۵ دقیقه قبل از آزمایش در کنار مادرشان نگهداری شدند. هر حیوان در ابتدا وزن شده و سپس سالین تزریق شد. قبل از آغاز هیپرترمی پروب لوبریکه شده رکتال در داخل رکتوم موش صحرائی قرار داده شد که این پروب به یک دماسنج دیجیتالی حساس متصل بود و دمای بدن موش را بطور مداوم نمایش می داد. پس از ثبت دمای پایه، حیوانات تک تک در محفظه هیپرترمی قرار گرفتند.

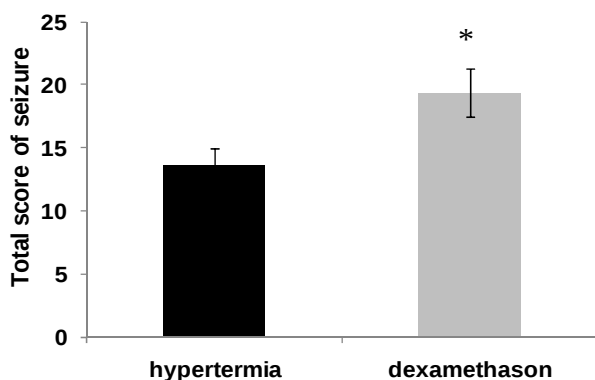
محفظه هیپرترمی: این دستگاه در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه طراحی و ساخته شد. در این محفظه جریان هوای گرم به صورت دوشی از هوای گرم با فاصله ۴۰ سانتی متر از بالای سر حیوان دمیده شد. دمای داخل محفظه به وسیله یک دماسنج دیجیتالی به کنترل کننده اتوماتیک دما

جدول ۱- تقسیم بندی رفتار موشهای صحرائی در محفظه هیپرترمی

مرحله	رفتار	توضیح و تعریف رفتار
۰	نرمال	رفتار نرمال کاوشگرانه
۱	بیش فعالی	رفتارهای بیش فعالی، پرش
۲	بی حرکتی	بی حرکتی کامل و ناگهانی به مدت ۳ تا ۱۰ ثانیه
	آناکسیا	عدم تعادل در حرکت
	حرکت دورانی	حرکت بر محور یک دایره
۳	لرزش	لرزش عمومی بدن
	تشنج کلونیک	انقباض و جمع شدن دست و پای حیوان با کاهش هوشیاری
۴	تشنج تونیک-کلونیک	تشنج ادامه دار تونیک-کلونیک به همراه کاهش هوشیاری



شکل ۱- اثر پیش درمانی با دگزامتازون بر تعداد تشنج تونیک-کلونیک در موشهای صحرایی ۱۹ تا ۲۰ روزه. موشها به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه هیپرترمی قرار گرفتند و تعداد تشنج تونیک-کلونیک شمرده شد. پیش درمانی با دگزامتازون (۳۰ دقیق قبل) بطور محسوسی باعث کاهش تعداد تشنجهای تونیک-کلونیک شد (Fisher exact test, $p=0.02$).



شکل ۲- اثر پیش درمانی با دگزامتازون بر نمره کل تشنج در موشهای صحرایی ۱۹ تا ۲۰ روزه. موشها به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه هیپرترمی قرار گرفتند و رفتارهای تشنجی ثبت شد. نمره کل تشنج از روی رفتارهای تشنجی موش در محفظه هیپرترمی محاسبه شد. پیش درمانی با دگزامتازون (۳۰ دقیق قبل) بطور محسوسی باعث افزایش نمره کل تشنج شد (t test, $p=0.025$).

می‌کرد و گاهی اوقات موشها از دیواره‌ها بالا می‌پریدند (مرحله ۱). رفته رفته که دما بالاتر می‌رفت کم کم حیوان بی حال شده و از سرعت حرکات کاسته می‌شد و یک لحظه به حالت بی حرکتی کامل درآمده و در گوشه‌ای کز می‌کرد (مرحله ۲). موشها گاهی در حین بی حالی، ناگهان حرکات سریعی را انجام می‌دادند. حیوانات این حرکات سریع را به صورت حرکت دایره‌وار بر روی یک محور فرضی انجام می‌دادند و ناگهان دوباره بی حال می‌شدند تا این مرحله، کار بین گروه هیپرترمی و دگزامتازون مشابه بود (مرحله ۳). بعداً رفتار تشنجی کلونیک که همراه با انقباض دست‌ها و پاهای حیوان بود، رخ داد (مرحله ۳). در برخی از این موشهای صحرایی کار در همین جا تمام می‌شد ولی در ۵ موش از ۸ موش گروه هیپرترمی تشنج با

نگهداری شد. بعداً با استفاده از سانتریفوژ یخچالدار با ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و پلاسما جدا شد. نمونه‌های پلاسما در فریزر ۷۰- نگهداری شده و با استفاده از کیت هیستامین (Histamine Elisa RE59221, IBL, Hamburg, Germany) سطح هیستامین اندازه‌گیری شد.

روش تحلیل داده‌ها: وزن، دما و زمان نهفته اولین

تشنج تونیک کلونیک، دمای اولین تشنج تونیک-کلونیک، نمره کل شدت تشنج و سطح هیستامین خون در بین تمام گروهها چون از توزیع نرمال برخوردار بودند از طریق آزمون ANOVA یک طرفه و تست تعقیبی Tukey در سطح اطمینان ۹۵٪ آنالیز شد. برای آنالیز داده‌های مربوط به تعداد تشنج تونیک-کلونیک، که از توزیع نرمال برخوردار نبود از آزمونهای غیر پارامتریک Fisher exact test, K2 استفاده شد. نتایج بصورت میانگین $\pm$ خطای معیار نشان داده شد.

یافته‌ها

دمای پایه رکتال موشها (قبل از عملیات گرمادهی) در گروه کنترل $36/47 \pm 0/27$ ، در گروه هیپرترمی $36/26 \pm 0/13$ و در گروه دگزامتازون $36/70 \pm 0/42$ درجه سانتی‌گراد بود که تفاوت محسوسی باهم نداشتند. موشهایی که هیپرترمی دریافت کردند در طول ۳۰ دقیقه که داخل محفظه هیپرترمی قرار داشتند، دما بدنشان افزایش یافت و در گروه هیپرترمی به $42/97 \pm 0/05$ و در گروه دگزامتازون $43/05 \pm 0/1$ درجه سانتی‌گراد رسید که تفاوت محسوسی بین دو گروه مشاهده نشد. هیچ کدام از موش‌های صحرایی در طول آزمایش تلف نشدند.

وزن موشها (بر حسب گرم) بلافاصله قبل از آزمایش در گروه کنترل $34/25 \pm 2/64$ ، در گروه هیپرترمی $36/28 \pm 2/36$ و در گروه دگزامتازون $32/85 \pm 3/75$ بود که تفاوت محسوسی باهم نداشتند.

از نظر مطالعات رفتاری موشها در دقایق ابتدایی رفتار کلیشه‌ای و مشابهی داشتند به طوری که در لحظات اول بعد از قرار گرفتن در محفظه هیپرترمی شروع به حرکات سریع و جستجوگرانه می‌کردند (مرحله ۰). در دقایق اول گرمادهی، گرما حرکات حیوان را سرعت می‌بخشید و حیوان را بیش فعال

تشنج تونیک کلونیک آن‌ها یک دقیقه بیش از کل زمان آزمایش (31 ± 1) در نظر گرفته شد.

آستانه دمایی تشنج تونیک-کلونیک در گروه هیپرترمی 42.74 ± 0.12 درجه سانتی‌گراد بود که به طور معنی داری از گروه پیش درمانی با دگزامتازون با آستانه دمایی 42.21 ± 0.13 درجه سانتی‌گراد بالاتر بود ($p=0.012$). موش‌هایی که تشنج تونیک کلونیک نداشتند آستانه دمایی اولین تشنج تونیک کلونیک آن‌ها، دمای پایان آزمایش در نظر گرفته شد.

در راستای بررسی و مقایسه اثر دگزامتازون بر تشنج ناشی از هیپرترمی تعداد تشنجهای تونیک-کلونیک در هر دو گروه شمرده شد. این نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است. پیش درمانی با دگزامتازون تعداد تشنج تونیک-کلونیک با از دست دادن وضعیت طبیعی بدن را به طور معنی داری افزایش داد (Fisher exact test, $p=0.02$).

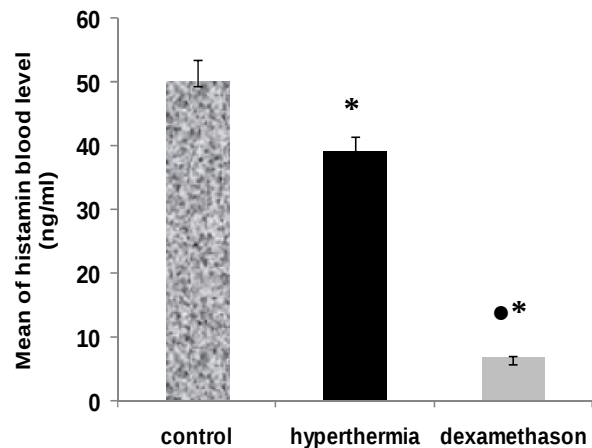
نمره کل تشنج: نتایج مربوط به نمره کل تشنج در گروه هیپرترمی و پیش درمانی با دگزامتازون در شکل ۲ نشان داده شده است. تفاوت معنی داری بین نمره کل تشنج دو گروه وجود دارد ($p=0.025$).

تغییرات هیستامین در گروه‌ها: میزان هیستامین در خون گروه‌های مختلف اندازه گیری شد. تفاوت هیستامین در تمامی گروه‌ها تفاوت معنی داری داشت. گرما باعث کاهش معنی دار هیستامین خون در مقایسه با موش‌های گروه کنترل شد ($p<0.001$). پیش درمانی با دگزامتازون هیستامین خون را بیشتر کاهش داد. نتایج مربوط به هیستامین خون در شکل ۳ نشان داده شده است.

بحث

مهم‌ترین نتایج این مطالعه عبارتند از: هیپرترمی در تمام موشهای تحت مطالعه رفتارهای تشنجی ایجاد کرده و سطح خونی هیستامین را کاهش داد. پیش درمانی با دگزامتازون رفتارهای تشنجی را تشدید کرده و سطح هیستامین خون را بیشتر کاهش داد.

برای القای تشنج طبق پروتوکی که قبلاً شرح داده شد [۳] از روش جریان هوای گرم استفاده شد. تشنج تونیک-کلونیک (مرحله ۴) در ۱۲ رت از ۱۶ رت گرما دیده رخ داد. دمای آستانه



شکل ۳- میزان هیستامین خون در موشهای ۱۹ تا ۲۰ روزه. گروه کنترل در معرض هیپرترمی قرار نگرفت ولی دو گروه دیگر به مدت ۳۰ دقیقه در معرض هیپرترمی قرار گرفتند. در گروه دگزامتازون موشها ۳۰ دقیقه قبل از هیپرترمی دگزامتازون دریافت کردند. هیپرترمی میزان هیستامین خون را در مقایسه با گروه کنترل بطور محسوسی کاهش داد و پیش درمانی با دگزامتازون در مقایسه با گروه هیپرترمی باعث کاهش بیشتری در میزان هیستامین خون شد. * نشان دهنده $p<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل و • نشان دهنده $p<0.001$ در مقایسه با گروه هیپرترمی است.

حرکات تونیک-کلونیک دست و پا و از دست دادن وضعیت تعادل حیوان ادامه یافت (مرحله ۴). پیش درمانی با دگزامتازون در مقایسه با گروه هیپرترمی تعداد موش‌های بیشتری (۷ موش از ۸ موش) را دچار تشنج تونیک-کلونیک کردن ولی از نظر آماری تفاوت معنی دار نبود ($P>0.05$). شاید اگر تعداد نمونه بیشتر بود تفاوت معنی دار در این مورد مشاهده می شد.

اثر گرمادهی بر رفتار موشها: بررسی و مقایسه مطالعات رفتاری در بین گروه‌ها، بر اساس مرحله بندی که در بالا ذکر شد، انجام گرفت. بدین منظور زمان نهفته تا اولین بی حرکتی کامل و ناگهانی (مرحله ۲)، زمان نهفته برای حرکت دورانی بر روی یک دایره فرضی (مرحله ۳) و زمان نهفته برای اولین تشنج تونیک-کلونیک (مرحله ۴) مقایسه شد. زمان نهفته تا آغاز اولین بی حرکتی ناگهانی (مرحله ۲) تفاوت معنی داری بین ۲ گروه گرما دیده نشان نداد ($P>0.05$) ولی پیش درمانی با دگزامتازون زمان نهفته برای حرکت دورانی (آغاز مرحله ۳) را از 15.38 ± 0.7 دقیقه در گروه هیپرترمی بدون پیش درمانی به 13 ± 0.68 دقیقه بطور معنی داری کاهش داد ($P=0.03$). همچنین پیش درمانی با دگزامتازون زمان نهفته تشنج تونیک-کلونیک (مرحله ۴) را از 27.12 ± 1.20 دقیقه در گروه هیپرترمی به 22.37 ± 1.14 دقیقه کاهش داد ($P=0.023$). موشهایی که تشنج تونیک کلونیک نداشتند زمان نهفته اولین

برای شروع تشنج تونیک کلونیک در موشهای هیپرترمی $42/74 \pm 0/12$ درجه سانتی گراد بود که با نتایج سایر محققین تفاوت داشت که شاید ناشی از سن بالاتر موشهای استفاده شده در این مطالعه باشد. به طوری که در آزمایشات مشابه از موشهای ۱۰ تا ۱۵ روزه بیشتر استفاده شده و آستانه تشنج دمای پایین تری را نشان داده است [۲۸] و همچنین آستانه دمایی تشنج در مطالعه ما با آزمایش Gulec و همکاران که از موشهای ۲۵ روزه استفاده کرده بودند همخوانی داشت [۱۶] که حاکی از وابسته به سن بودن فرایند تشنج ناشی از هیپرترمی است.

برای مقایسه اثر دگزامتازون بر تشنج ناشی از هیپرترمی یک سری از رفتارهای تشنجی با هم مقایسه شدند. رفتارهای تشنجی شامل مراحل بیش فعالی، بی حرکتی ناگهانی، حرکت دورانی و لرزش کل بدن، تشنج کلونیک و تشنج تونیک-کلونیک بود که مشابه همان مراحل است که توسط برام و همکاران قبلاً شرح داده شده است [۳]. بی حرکتی ناگهانی اولین رفتار تشنجی تشنج ناشی از تب محسوب می شد [۱۰]. حرکت دورانی در بیشتر موشهای صحرایی بعد از بی حرکتی ناگهانی اتفاق افتاد که احتمالاً به علت فعالیت تشنجی یک طرفه باشد [۲۸]. در انسان نیز حرکت دورانی در تشنج ژنرالیزه و فوکل می تواند اتفاق بیفتد که یکی از تابلوهای واضح این نوع تشنجها است [۱۳]. تشنج کلونیک و تونیک-کلونیک از مغز پیشین (forebrain) منشأ می گیرد [۳۰]. همان طور که نتایج نشان دادند دگزامتازون در مرحله ۳ و ۴ باعث افزایش استعداد تشنج ناشی از هیپرترمی در موشهای صحرایی شد. در مورد نقش گلوکوکورتیکوئیدها در انواع تشنجها تناقضهایی وجود دارد. بطوری که بسیاری از مطالعات نشان داده اند که گلوکوکورتیکوئیدها باعث افزایش استعداد ابتلا به تشنج از جمله تشنج ناشی از تزریق کاینیک اسید یا تشنج ناشی از صدا می شوند که شدت تشنج نیز در گروهی که تزریق گلوکوکورتیکوئیدها را داشتند نسبت به گروه کنترل از شدت بیشتری برخوردار بود [۳۳]. در حالی که تعدادی از مطالعات نشان دهنده نقش ضد تشنجی گلوکوکورتیکوئیدها بودند [۱۱]. به نظر می رسد که این تناقض ناشی از استفاده از دوزهای متفاوت گلوکوکورتیکوئیدها بوده است به طوری که گلوکوکورتیکوئیدها در فرایند وابسته به دوز یک نقش ضد

تشنجی داشته اند در حالی که در دوزهای بالاتر و پایین تر باعث افزایش استعداد ابتلا به انواع تشنج شده اند. Shorbagy و همکاران نشان دادند که تزریق دگزامتازون با دوز 5 mg/kg باعث کاهش زمان نهفته تشنج و افزایش شدت تشنج می شود در حالی که در دوز 10 mg/kg نقش ضد تشنجی در تشنج ناشی از تزریق لیتیم-پیلوکارپین داشته است [۱]. نتایج مطالعه ما نشان داد که تزریق دگزامتازون باعث کاهش معنی دار زمان نهفته تشنج و افزایش تعداد حرکات تونیک و کلونیک شد. پس تزریق دگزامتازون با دوز $1/2 \text{ mg/kg}$ باعث افزایش استعداد بروز تشنج ناشی از هیپرترمی می شود. مطالعات زیادی در زمینه مکانیسم اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر فرایند انواع تشنج و عوامل مستعد کننده یا بازدارنده از آن انجام شده است. ولی هیچ مطالعه ای به نقش احتمالی هیستامین و کاهش آن از طریق گلوکوکورتیکوئیدها نپرداخته است.

هیستامین یک نقش مهمی در اختلالات تشنجی از طریق گیرنده هایش دارد و این نقش مهمی در دوره تکامل مغزی بسیار برجسته تر است [۵]. گزارش شده که مستعد بودن به تشنج در طول تب با عدم افزایش متناسب هیستامین مایع مغزی نخاعی در کودکانی که دچار تشنج ناشی از تب بودند در مقایسه با کودکانی که تب داشتند ولی منجر به تشنج نشد، مرتبط است [۲۰]. به نظر می رسد هیستامین اثرات ضد تشنجی خود را از چندین طریق اعمال می کند:

۱- هیپرترمی اثرات مهمی و تحریکی بر مغز دارد که نتیجه نهایی به هم خوردن تعادل به نفع اثرات تحریکی است [۱۵]. نشان داده شده که غلظت گلوتامات در طول هیپرترمی در مایع مغزی نخاعی افزایش می یابد و این افزایش در گلوتامات می تواند از طریق رسپتور NMDA در القای تشنج نقش ایفا کند [۱۶]. هیستامین نیز از طریق رسپتور پیش سیناپسی H_3 خود باعث مهار سنتز و رها شدن یک سری نوروترنسمیترها می شود که احتمالاً این اثر را با کاهش ورود کلسیم به داخل نورونها از طریق مهار کانالهای کلسیمی نوع N واقع در انتهای عصبی انجام می دهد [۶]. بطوری که گزارش شده هیستامین از طریق این رسپتور باعث کاهش ترشح گلوتامات می شود ولی بر ترشح گابا اثری ندارد که مجموع این دو عمل پیش بردن تعادل به سمت مهمی است [۱۲].

۲- هیپرترمی باعث هیپروتیلیاسیون و آلكالوز تنفسی

داده شده است که دگزامتازون باعث مهار تنظیم افزایشی رسپتور H_1 هیستامین در مخاط تنفسی موش صحرایی در شرایط هیپرسپانسیونس راههای هوایی می شود و از این طریق مانع پاسخ بیش از حد مخاط به هیستامین می شوند [۱۹]. نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعات موجود سازگار است. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، پیش درمانی با دگزامتازون باعث کاهش معنی دار هیستامین خون شد.

حداقل یکی از راههایی که هیپوترمی منجر به تشنج می شود کاهش هیستامین بدنال هیپوترمی است. از آنجا که هیستامین اثر ضد تشنجی دارد کاهش هیستامین می تواند یکی از راههای ایجاد تشنج ناشی از هیپوترمی باشد. دگزامتازون با تشدید کاهش هیستامین باعث تشدید رفتارهای تشنجی ناشی از هیپوترمی می شود. اگرچه دگزامتازون ممکن است از مکانیسمهای دیگری نیز به تشدید تشنج کمک کند ولی کاهش شدید در هیستامین خون بدنال تزریق دگزامتازون یک راه احتمالی جدید برای تشدید تشنج توسط گلوکوکورتیکوئیدها است.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ارومیه که امکان این تحقیق را فراهم نمود کمال تشکر و امتنان را داریم.

می شود و آلکالوز، تحریک پذیری نورونی را زیاد می کند و باعث القای تشنج می شود [۲۶]. هیستامین با اثر انقباضی خود بر روی مجاری تنفسی [۷]، خروج دی اکسید کربن را کمتر می کند و CO_2 در ریه ها به دام می افتد و آلکالوز دیرتر اتفاق می افتد و از این طریق هم می تواند نقش ضد تشنجی داشته باشد.

سطح هیستامین پلاسمایی به فعالیت مست سلها و بازوفیلها وابسته است [۲۴]. مست سلها به تعداد زیادی در مغز موش صحرایی وجود دارند و نقش مهمی در تعیین سطح هیستامین دارند به طوری که بیشتر از ۹۰ درصد هیستامین مغزی در قسمت تالاموس و بیش از ۵۰ درصد کل سطح هیستامین مغزی وابسته به مست سلهای مغزی است [۱۴]. بسیاری از انواع شوکها و استرسها از جمله شوک گرمایی باعث دگرانوله شدن مست سلها می شوند [۴] که این دگرانولاسیون باعث افزایش سطح هیستامین مغزی می شود که همان طور که بالاتر ذکر شد می تواند یک نقش ضد تشنجی را القا کند.

همچنین مطالعات اخیر نشان داده اند که گلوکوکورتیکوئیدها باعث تنظیم کاهشی mRNA آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز (آنزیمی که باعث سنتز هیستامین می شود) به طوری که پیش درمانی با دگزامتازون میزان تولید mRNA این آنزیم را ۷۳ درصد و میزان فعالیت این آنزیم را ۸۰ درصد کاهش داده است [۳۴]. در مطالعه ای دیگر نشان

References

- [1] Ahmadzadeh R, Saboory E, Roshan-Milani S, Pilehvarian AA, Predator and restraint stress during gestation facilitates pilocarpine-induced seizures in prepubertal rats. *Dev Psychobiol* 53 (2011) 806-12.
- [2] Al-Shorbagy MY, El Sayeh BM, Abdallah DM, Diverse effects of variant doses of dexamethasone in lithium-pilocarpine induced seizures in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 90 (2012) 13-21.
- [3] Baccari GC, Pinelli C, Santillo A, Minucci S, Rastogi RK, Mast cells in nonmammalian vertebrates: an overview. *Int Rev Cell Mol Biol* 290 (2011) 1-53.
- [4] Baram TZ, Gerth A, Schultz L, Febrile seizures: an

appropriate-aged model suitable for long-term studies.

Brain Res Dev Brain Res 98 (1997) 265-70.

- [5] Biran V, Cochois V, Karroubi A, Arrang JM, Charriaud-Marlangue C, Heron A, Stroke induces histamine accumulation and mast cell degranulation in the neonatal rat brain. *Brain pathology* 18 (2008) 1-9.
- [6] Chen Z, Li WD, Zhu LJ, Shen YJ, Wei EQ, Effects of histidine, a precursor of histamine, on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Acta Pharmacol Sin* 23 (2002) 361-6.
- [7] Chiba S, Itateyama E, Sakata T, Yoshimatsu H, Acute central administration of impenip, a histamine H_3 receptor agonist, suppresses hypothalamic histamine release and elicits feeding behavior in rats. *Brain Res Bull* 79 (2009) 37-40.

- [8] Cockcroft DW, Murdock KY, Kirby J, Hargreave F, Prediction of airway responsiveness to allergen from skin sensitivity to allergen and airway responsiveness to histamine. *Am Rev Respir Dis* 135 (1987) 264-7.
- [9] Daeron M, Sterk AR, Hirata F, Ishizaka T, Biochemical analysis of glucocorticoid-induced inhibition of IgE-mediated histamine release from mouse mast cells. *J Immunol* 129 (1982) 1212-18.
- [10] Diaz-Atienza F, Gurpegui M, Environmental stress but not subjective distress in children or adolescents with alopecia areata. *J Psychosom Res* 71 (2011) 102-7.
- [11] Dube C, Vezzani A, Behrens M, Bartfai T, Baram TZ, Interleukin-1 β contributes to the generation of experimental febrile seizures. *Ann Neurol* 57 (2005) 152-5.
- [12] Edwards HE, Vimal S, Burnham WM, The effects of ACTH and adrenocorticosteroids on seizure susceptibility in 15-day-old male rats. *Exp Neurol* 175 (2002) 182-190.
- [13] Garduno-Torres B, Trevino M, Gutierrez R, Arias-Montano JA, Pre-synaptic histamine H3 receptors regulate glutamate, but not GABA release in rat thalamus. *Neuropharmacology* 52 (2007) 527-35.
- [14] Gastaut H, Aguglia U, Tinuper P, Benign versive or circling epilepsy with bilateral 3-cps spike-and-wave discharges in late childhood. *Ann Neurol* 19 (1986) 301-3.
- [15] Goldschmidt RC, Hough LB, Glick SD, Rat brain mast cells: contribution to brain histamine levels. *J Neurochem* 44 (1985) 1943-7.
- [16] Gonzalez-Ramirez M, Salgado-Ceballos H, Orozco-Suarez SA, Rocha L, Hyperthermic seizures and hyperthermia in immature rats modify the subsequent pentylenetetrazole-induced seizures. *Seizure* 18 (2009) 533-6.
- [17] Gulec G, Noyan B, Do recurrent febrile convulsions decrease the threshold for pilocarpine-induced seizures? Effects of nitric oxide. *Brain Res Dev Brain Res* 126 (2001) 223-8.
- [18] Hauser WA, The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia* 35 Suppl 2 (1994) S1-6.
- [19] Heida JG, Pittman QJ, Causal links between brain cytokines and experimental febrile convulsions in the rat. *Epilepsia* 46 (2005) 1906-1913.
- [20] Heshmatian B, Roshan-Milani S, Saboory E, Prenatal acute stress attenuated epileptiform activities in neonate mice. *Yakhteh Medical Journal* 12 (2010) 81-86.
- [21] Kitamura Y, Miyoshi A, Murata Y, Kalubi B, Fukui H, Takeda N, Effect of glucocorticoid on upregulation of histamine H1 receptor mRNA in nasal mucosa of rats sensitized by exposure to toluene diisocyanate. *Acta Otolaryngol* 124 (2004) 1053-8.
- [22] Kiviranta T, Tuomisto L, Airaksinen EM, Histamine in cerebrospinal fluid of children with febrile convulsions. *Epilepsia* 36 (1995) 276-280.
- [23] Maxson SC, Sze PY, Glucocorticoids and development of audiogenic seizure susceptibility in DBA/1Bg mice. *Behav Genet* 7 (1977) 323-326.
- [24] Miura T, Inagaki N, Yoshida K, Nakajima T, Nagai H, Koda A, Mechanisms for glucocorticoid inhibition of immediate hypersensitivity reactions in rats. *Jpn J Pharmacol* 59 (1992) 77-87.
- [25] Pericic D, Svob D, Jazvinscak M, Mirkovic K, Anticonvulsive effect of swim stress in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 66 (2000) 879-86.
- [26] Pipkorn U, Effect of topical glucocorticoid treatment on nasal mucosal mast cells in allergic rhinitis. *Allergy* 38 (1983) 125-9.
- [27] Ponvert C, Galoppin L, Paupe J, de Blic J, Le Bourgeois M, Scheinmann P, Blood histamine levels (BHL) in infants and children with respiratory and non-respiratory diseases. *Mediators Inflamm* 10 (2001) 7-11.
- [28] Saavedra-Delgado AM, Mathews KP, Pan PM, Kay DR, Muilenberg ML, Dose-response studies of the suppression of whole blood histamine and basophil counts by prednisone. *J Allergy Clin Immunol* 66 (1980) 464-71.
- [29] Schuchmann S, Schmitz D, Rivera C, Vanhatalo S, Salmen B, Mackie K, Sipila ST, Voipio J, Kaila K, Experimental febrile seizures are precipitated by a hyperthermia-induced respiratory alkalosis. *Nat Med* 12 (2006) 817-23.
- [30] Stokely ME, Orr EL, Acute effects of calvarial damage on dural mast cells, pial vascular permeability, and cerebral cortical histamine levels in rats and mice. *J Neurotrauma* 25 (2008) 52-61.
- [31] van Gassen KL, Hessel EV, Ramakers GM, Notenboom RG, Wolterink-Donselaar IG, Brakkee JH, Godschalk TC, Qiao X, Spruijt BM, van Nieuwenhuizen O, de

- Graan PN, Characterization of febrile seizures and febrile seizure susceptibility in mouse inbred strains. *Genes Brain Behav* 7 (2008) 578-586.
- [32] Vezzani A, Granata T, Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia* 46 (2005) 1724-43.
- [33] Vinogradova LV, Shatskova AB, Tuomisto L, Histaminergic modulation of acoustically induced running behavior in rats. *Brain Res* 1148 (2007) 198-204.
- [34] Yokoyama H, The role of central histaminergic neuron system as an anticonvulsive mechanism in developing brain. *Brain Dev* 23 (2001) 542-7.
- [35] Yoshikawa H, Tasaka K, Suppression of mast cell activation by glucocorticoid. *Arch Immunol Ther Exp* 48 (2000) 487-495.
- [36] Yu N, Di Q, Liu H, Hu Y, Jiang Y, Yan YK, Zhang YF, Zhang YD, Nuclear factor-kappa B activity regulates brain expression of P-glycoprotein in the kainic acid-induced seizure rats. *Mediators Inflamm* 2011 (2011) 670613.
- [37] Zahnow CA, Panula P, Yamatodani A, Millhorn DE, Glucocorticoid hormones downregulate histidine decarboxylase mRNA and enzyme activity in rat lung. *Am J Physiol* 275 (1998) 407-413.
- [38] Zhang D, Spielmann A, Wang L, Ding G, Huang F, Gu Q, Schwarz W, Mast-cell degranulation induced by physical stimuli involves the activation of transient-receptor-potential channel TRPV2. *Physiol Res* 61 (2012) 113-24.