

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Kronik Olarak İntraserebroventriküler Enjekte Edilen Histamin ve Antagonistlerinin Hipotalamo-Hipofizer-Aks Üzerindeki Etkisi

Burçin ALTINBAŞ^{1,3}, Gökçen GÜVENÇ BAYRAM^{2,3}, Murat YALÇIN³

¹ SANKO Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Merkezi sinir sistemi içerisinde nörotransmitter ve nöromodülatör etkiye sahip histamin, davranış durumunun, biyolojik ritmin, vücut ağırlığının, enerji metabolizmasının, termoregülasyonun, sıvı dengesinin, stresin ve üremenin düzenlenmesinde anahtar role sahiptir. Histaminin merkezi akut enjeksiyonlarının hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aks içerisinde etkili olduğunu ve histaminin merkezi H₁ ve H₂ reseptörlerinin bu etkiye aracılık ettiğini gösterdik. Fakat çalışmalarda, histaminin ve histamin reseptör antagonistlerinin uzun süreli merkezi tedavilerinin HPG aks içerisinde etkilerine dair açıklayıcı bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmada, kronik olarak intraserebroventriküler (i.s.v.) enjekte edilen histamin ve antagonistlerinin hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aksta rol oynayan, gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH), folikül stimüle edici hormonun (FSH), lüteinleştirici hormonun (LH) ve testosteron hormonunun plazma seviyelerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma Sprague-Dawley ırkı sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Histamin (100 nmol), histaminerjik H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol), histaminerjik H₂ reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol) veya histaminerjik H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid (100 nmol) i.s.v. olarak 7 gün boyunca enjekte edilmiştir. Histamin ve antagonistlerinin kronik enjeksiyonu GnRH'nın plazma seviyelerinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Kronik histamin veya klorfeniramin tedavisi sonucu plazma FSH seviyelerinde artış (p<0,05) ve LH ve testosteron (p<0,05) seviyelerinde ise bir düşüş gözlenmiştir. Kronik ranitidin veya tiyoperamid tedavisi ise plazma FSH düzeylerinde bir etki oluşturmamış fakat LH ve testosteron seviyelerinde artışlara neden olmuştur (p<0,05). Sonuç olarak elde edilen veriler, histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonistinin uzun süreli tedavisinin, LH ve testosteron seviyeleri üzerinde inhibe edici etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bunun yanında, merkezi H₂ ve H₃/H₄ reseptör antagonistleri ile yapılan kronik tedavinin üremenin düzenlenmesine katkı sağlayabileceği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Histamin. Histamin antagonistleri. Merkezi Sinir Sistemi. Hipotalamo-hipofizer-gonadal aks. İntraserebroventriküler.

The Effect of Chronically Intracerebroventricular Injected Histamine and Its Antagonists on the Hypothalamic-Pituitary-Axis

ABSTRACT

Histamine, which has neurotransmitter and neuromodulatory effects in the CNS, has a key role in regulating behavioral state, biological rhythm, body weight, energy metabolism, thermoregulation, fluid balance, stress, and reproduction. We have shown that acute central injections of histamine are effective in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis and that histamine central H₁/H₂ receptors mediate this effect. However, there is no explanatory information about the effects of long-term central treatments of histamine and histamine receptor antagonists in the HPG axis in studies. In the study, the effects of chronically intracerebroventricular (i.c.v.) injected histamine and its antagonists on plasma levels of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and testosterone hormone, which play a role in the HPG axis, were investigated. Studies were performed in male Sprague-Dawley rats. Histamine (100 nmol), histaminergic H₁ receptor antagonist chlorpheniramine (100 nmol), H₂ receptor antagonist ranitidine (100 nmol), or H₃/H₄ receptor antagonist thioperamide (100 nmol) was injected i.c.v. for 7 days. Chronic injection of histamine and its antagonists did not make a significant difference in plasma levels of GnRH. Chronic histamine or chlorpheniramine treatment increased plasma FSH levels (p<0,05) and decreased LH/testosterone levels (p<0,05). Chronic ranitidine or thioperamide treatment did not have an effect on plasma FSH levels but caused increases in LH and testosterone levels (p<0,05). The resulting data suggest that long-term treatment of histamine and central H₁ receptor antagonist has inhibitory effects on LH and testosterone levels. Besides, it appears that chronic treatment with central H₂, H₃/H₄ receptor antagonists can contribute to the regulation of reproduction.

Key Words: Histamine. Histamine Antagonists. Central Nervous System. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Intraserebroventricular.

Geliş Tarihi: 06.Mayıs.2021
Kabul Tarihi: 22.Haziran.2021

Dr. Burçin ALTINBAŞ
SANKO Üniversitesi,

İncilipınar Mah. Gazimuhtarpaşa
Bulvarı No: 36
Şehitkamil / Gaziantep
Tel.: 0506 230 55 02
E-posta: altinbasburcin@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Burçin ALTINBAŞ: 0000-0002-9534-736X
Gökçen GÜVENÇ BAYRAM: 0000-0002-1413-3651
Murat YALÇIN: 0000-0002-5600-8162

Hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aks, üremenin düzenlenmesinde görev yapan, birbiriyle bağlantılı nöral ve endokrin sistemlerin humoral bir bileşenidir¹. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronları GnRH üretimi yoluyla hipofiz gonadotropin üzerindeki bir membran reseptörüne bağlanır. Böylece folikül uyarıcı hormonun (FSH) ve luteinize edici hormonun (LH) biyosentezini ve salgılanmasını uyarak bu aksta merkezi düzenleyici bir rol oynar². Hipotalamustan GnRH salınımı her saatte bir veya günde birkaç kere olacak şekilde pulzatif olarak gerçekleşir. Koyunlarda hipotalamo-hipofizer portal sistemden direkt olarak GnRH ölçümleri, aralıklı GnRH salınımlarının, her plazma LH artışından hemen önce gerçekleştiğini göstermektedir³. Bu nedenle pulzatif bir hormon olduğundan LH artışlarının GnRH artışlarını göstermek açısından önemli bir kanıt olabileceğine inanılmaktadır. FSH ve LH testiküler fonksiyonun kontrolünde önemli rollere sahiptir. LH, testislerde Leydig hücrelerinden testosteronun üretimini uyarak sırasıyla seksüel ve anabolik olayların gerçekleşmesine ve ayrıca sertoli hücreleri üzerindeki parakrin etkisiyle spermatogenezin korunmasına katkıda bulunur⁴. Sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan çalışmalar, testosteronun spermatogenez için çok önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmalar testosteronun, erkek genitallerinin farklılaşması ve büyümesi için gerekli olduğunu da ortaya koymaktadır⁴. FSH, ergenlik öncesi dönemde sertoli hücre çoğalmasını uyarır ve testislerin boyutu ile spermatogenezin miktarı dahil olmak üzere apoptozu kısıtlayan bir faktör olarak işlev görür⁵. Bu nedenle FSH'nin ana etkisi, testosteronun yanı sıra sperm üretiminin artmasına katkıda bulunmaktadır⁴. Testis hormonları, GnRH hormon salınımını düşürerek veya GnRH stimülasyonunda hipofizer duyarlılığı düşürerek FSH ve LH salınımını azaltır. Erkeklerde ekzojen olarak testosteron uygulanmasının, GnRH salınımının sıklığını önemli ölçüde azalttığı, FSH ve LH salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir^{6,7}. HPG aksın fonksiyonuna bağlı bu hormonal düzenleme, merkezi sinir sisteminde nörotransmisyon tarafından kontrol edilmektedir. Bu nörotransmisyonda şimdiye kadar aracılığı olan birçok nörotransmitter ve/veya nöromodülörün etkisi gösterilmiştir.

Histamin, hem sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak hem de sinir dışı dokularda bir sinyal molekülü olarak bilinmektedir⁸. Mast hücrelerinin testiste periferik histaminin ana kaynağı olduğu gösterilmiştir⁹. Testislerden salınan histaminin testiste steroidojenik aktiviteyi düzenlediği¹⁰ ve hem periferik H₁ hem de H₂ reseptörlerinin aracılığı ile Leydig hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir¹¹. Bu çalışmalar, periferik histaminin erkek üremesinde çok önemli bir role sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Beyindeki histaminin ana kaynağı ise nöronlar ve mast hücreleridir¹². Histaminerjik reseptörler aracılığıyla bir nörotransmitter görevi gören merkezi hista-

minin, enerji dengesi, susama, ağrı, öğrenme ve hafıza, dolaşım ve solunum sisteminin düzenlenmesi gibi çok sayıda merkezi sinir sistemi fonksiyonunu modüle ettiği gösterilmiştir¹²⁻¹⁶. Histaminerjik nöronların hücre gövdeleri, arka hipotalamusun tuberomamiller çekirdeğinde bulunmaktadır^{8,17} ve bu bölgeden çıkan histaminerjik lifler GnRH nöronlarının bulunduğu mediobazal hipotalamus ve medial preoptik alana kadar uzanmaktadır. Yine bu bölgelerde bol miktarda histaminerjik reseptörün varlığı da bildirilmiştir^{8,18,19}. Merkezi histamin, hipotalamusta bir nörotransmitter olarak önemli bir role sahiptir ve adrenokortikotropik hormon²⁰, beta-endorfin²¹, alfa-melanosit uyarıcı hormon¹⁸ ve prolaktin²² dahil olmak üzere hipotalamik aktivasyon yoluyla hipofiz hormonlarının nöroendokrin regülasyonunu dolaylı olarak modüle ettiği raporlanmıştır^{18,19,23,24}. Ayrıca, vazopressin ve oksitosin sekresyonlarının da histamin tarafından uyarıldığı ortaya konmuştur²⁵. Bunun yanında, merkezi histaminerjik reseptörlerin, özellikle merkezi H₁ reseptörlerinin, histamin tarafından düzenlenen nöroendokrin kontrole katkıda bulunduğu bilinmektedir. Çalışmalar ayrıca, histaminin HPG aksın düzenlenmesinde de görev aldığını göstermektedir. Bununla birlikte, merkezi histaminin, kadınlarda GnRH salınımının nöroendokrin kontrolünde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir^{18,26}. Çalışmalarda, histaminin kadınlarda GnRH üzerinden LH salınımını artırdığı ve ayrıca östrojen kaynaklı LH salınımına H₁ reseptörleri üzerinden aracılık ettiği bildirilmiştir^{18,19,27}.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler göz önüne alınarak yakın zamanda laboratuvarımızda gerçekleştirdiğimiz bir çalışmada, akut olarak merkezi uygulanan histaminin plazma üreme hormonları (GnRH, LH, FSH, testosteron) seviyelerini artırdığını ve bu artışlara merkezi histaminin H₁ ve H₂ reseptörlerinin aracılık ettiğini gösterdik. Ortaya koyduğumuz bu sonuçlar akut olarak uygulanan egzogen histaminin etkilerinin aydınlatılmasına yönelik olup, kronik olarak uygulanan histamin veya antagonistlerinin üremede görevli hormonları nasıl etkileyeceğine dair bir kanıt üretmemektedir. Bu veriler ışığında literatürdeki bu eksiği gidermek adına bu çalışmamızda, kronik olarak merkezi yolla uygulanan histamin ve antagonistlerinin endojen histamin manipülasyonuna bağlı üreme hormonları üzerindeki olası etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 250-300 g ağırlığında Sprague-Dawley türü 35 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Laboratuvar ortamına adaptasyonları için sıçanlar, uygulamalardan bir hafta önce deney hayvanları merkezinden alındı ve her kafeste 3

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi

hayvan olacak şekilde yem ve su alımları *ad libitum* olarak yapıldı. Hayvanların bulunduğu odanın ısı 20-24°C, nemi %60-70 değerlerinde sabit tutuldu. Oda 12 saat aydınlık/12 saat karanlık (07:00–19:00 saatleri arası aydınlık) döngüsüyle aydınlatıldı. Çalışmadaki tüm cerrahi ve deneysel uygulamalar, Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurul Komitesi tarafından 2021–03/06 Karar No ile onaylandı.

Genel Hazırlık ve Cerrahi İşlemler

Sıçanlar, sevofluran (%2–4 / %100 O₂) ile anestezi altına alındı. Anestezi altında, sıçanların kafatasları stereotaksik alete yerleştirilerek sabitlendi ve kafa derisi orta hattın kesilip kemik net bir şekilde ortaya çıkarıldı. İntraserebroventriküler (i.s.v) yolla ilaçların verilmesi için Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası'nda belirtilen koordinatlara göre bregmanın 1,0 mm posterioru, orta hattın 1,5 mm lateralinde kafatasına bir delik açılarak, 22 G'lık paslanmaz çelik iğneden hazırlanmış kafatasından itibaren 4,5 mm vertikal olarak lateral ventriküle doğru itildi. Bu şekilde i.s.v için yerleştirilen kılavuz kanül dişçi akriliği ile kafatasına tutturuldu. Kılavuz kanül kullanılmadığında, kılavuz kanülün içinden sterilize edilmiş 28 G'lık paslanmaz çelik tıkaçı bir kanül geçirildi. Daha sonra sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirildi ve 1 gün boyunca anestezi etkisinin ortadan kalkması için beklenildi. Cerrahi işlemlerin ardından sıçanlar, çalışma boyunca her gün penisilin (0,3 mg / kg; kas içi) ve ayrıca buprenorfin (25 µg / kg; deri altı) ile tedavi edildi.

Deneysel Protokol

Çalışmada kronik olarak uygulanacak histamin ve antagonistlerinin GnRH, FSH, LH ve testostere hormonları üzerine etkisini göstermek için hayvanlar 5 gruba ayrıldı. Her gruba ayrı bir ilaç enjeksiyonu yapıldı. Bu doğrultuda hayvanlara i.s.v yolla %0,9'lük tuzlu su (5 µL; n=7), histamin (100 nmol; n=7), histaminerjik H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol; n=7), histaminerjik H₂ reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol; n=7) veya histaminerjik H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid (100 nmol; n=7) enjeksiyonları yapıldı. Enjeksiyonlar 7 gün boyunca her gün sabah 09:00-10:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Enjeksiyonların ardından plazma hormon düzeylerinin belirlenmesi için 30. dakikada orbital sinus punksiyonu yoluyla hayvanlardan 250 µL kan örneği toplandı. 7. gün deneysel çalışmaların bitiminde hayvanlara derin anestezi altında dekapitasyon işlemi uygulandı.

Kan Örneklerinin Toplanması

Sıçanlar, sevofluran (%2–4/%100 O₂) ile anestezi edildi. Anestezi altında, plazma hormon düzeylerinin belirlenmesi için gerekli kan örneklerinin toplanabilmesi amacıyla sıçanlardan heparinli kapiller tüpler kullanılarak orbital sinus punksiyonu yapıldı. Orbital

sinus punksiyonu için kapiller tüp gözün iç açısından yavaşça çevrilerek göz yuvarlağı doğrultusunda damarlara doğru ilerletildi ve tüpün damarları yırtması sonucu oluşan kanama ile kan ince pipetin kapillaritesi sayesinde dışarı alındı. Çalışmaya 7 gün boyunca devam edildi ve hergün için aynı deneysel protokole bağlı kalınarak uygulama gerçekleştirildi. Kan toplanan bölgede meydana gelebilecek hasarlanmayı en aza indirmek için kan örnekleri, hergün aynı sıçanda farklı bir göz kullanılarak alındı. Sıçanların her birinden günlük 250 µL kan toplandı. Kanlar, içerisinde EDTA içeren soğuk polipropilen tüplere alındı ve hemen ardından +4°C'de 14,000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar ölçüm gününe kadar -20°C'de saklandı.

Plazma GnRH, FSH, LH ve Testosteron Seviyelerinin Belirlenmesi

GnRH (Cat.No.: E-EL-0071), LH (Cat.No.: E-EL-R0026), FSH (Cat.No.: E-EL-R0391), ve testosteronun (Cat.No.: E-EL-0155), plazma konsantrasyonları, enzim immunoassay (ELISA) yöntemi kullanılarak kitlerde belirtilen talimatlara uygun şekilde sırasıyla pg/mL, mIU/mL, ng/mL ve ng/mL olarak ölçüldü. Tüm sıçan kitleri Elabscience Biyoteknoloji Co, Ltd. Wuhan, PCR'den satın alındı.

İlaçlar ve İntraserebroventriküler Yolla İlaç Uygulanması

Çalışmada kullanılan histamin, klorfeniramin, ranitidin ve tiyoperamid Sigma-Aldrich Co. (Deisenhofen, Almanya) firmasından temin edildi. İlaç solüsyonları deney gününde %0,9'lük tuzlu su içinde taze olarak hazırlandı. İlaçların dozları önceki çalışmalarımızdan seçilmiştir^{14-16,28}.

İntraserebroventriküler yolla ilaç enjeksiyonları toplam 5 µL içinde yapıldı ve bu miktar sıvı 60 saniye boyunca yavaş infüzyon tarzında uygulandı.

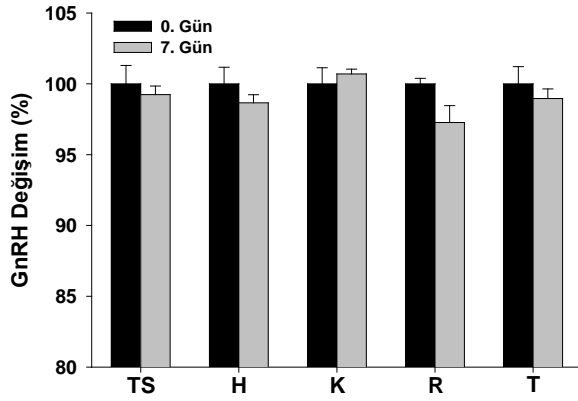
İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki tüm sonuçlar 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapılmıştır. $p < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı sayılmıştır.

Bulgular

Histamin ve Antagonistlerinin Plazma GnRH, FSH, LH ve Testosteron Hormon Seviyelerine Etkisi

Kronik olarak uygulanan merkezi enjeksiyonların 7. gününün sonunda alınan kan örneklerinden yapılan ELISA testlerinde histamin ve antagonistlerinin plazma GnRH hormon seviyesi üzerinde herhangi bir anlamlı yanıt oluşturmadığı görülmüştür (Şekil 1).



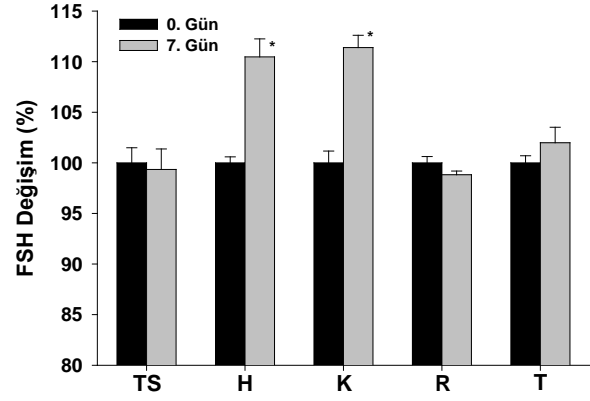
Şekil 1.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma GnRH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, GnRH; gonadotropin salgılatıcı hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

7. gün sonunda kronik olarak merkezi uygulanan histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonrası bazal değerlere göre plazma FSH hormonu seviyelerinde artışlar oluşmuştur (Şekil 2). Merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid enjeksiyonları ise plazma FSH hormon seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 2).

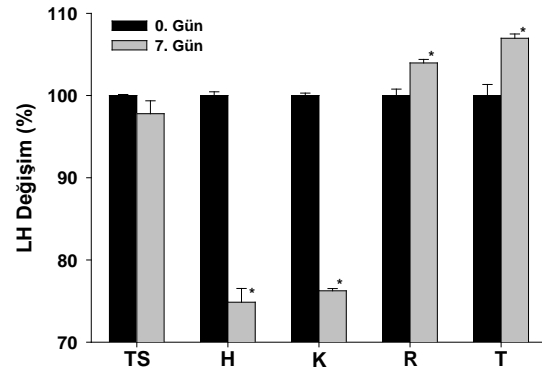
Plazma LH hormon seviyelerinde ise uzun süreli merkezi enjeksiyonlar sonrasında histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonrasında bazal değerlere göre plazma LH hormon seviyelerinde azalma görülürken merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin, merkezi H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid enjeksiyonları sonrası plazma LH hormon miktarlarında artışlar meydana gelmiştir (Şekil 3).

Yine kronik i.s.v. enjeksiyonlar sonrasında plazma testosteron seviyeleri üzerinde histamin ve H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin bazal değerlere göre plazma testosteron hormon seviyelerinde azalma oluştururken merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin, merkezi H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid uygulanan gruplarda plazma testosteron hormon miktarlarında artışlar gözlemlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 2.

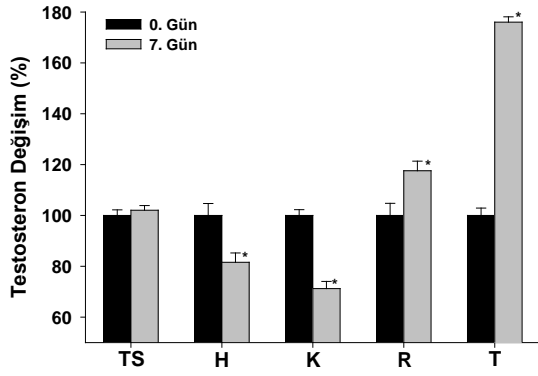
*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma FSH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, FSH; folikül stimüle edici hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*



Şekil 3.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma LH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, LH; Lüteinleştirici hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi



Şekil 4.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma Testosteron Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

Tartışma ve Sonuç

Çalışmanın sonuçları, kronik olarak merkezi uygulanan histamin ve antagonistlerinin plazma GnRH hormon seviyeleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Diğer taraftan kronik olarak i.s.v. uygulanan histaminin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonucunda plazma FSH hormon seviyelerinde tuzlu su grubuna göre sırasıyla %11 ve %12 oranında artışlar oluşurken, plazma LH seviyelerinde sırasıyla %17 ve %19, plazma testosteron seviyelerinde ise sırasıyla %21 ve %31 oranında azalmaların olduğu görülmüştür. Ayrıca, merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamidin uzun süreli merkezi enjeksiyonlarının sonucunda plazma LH seviyelerinde sırasıyla %10 ve %15, testosteron seviyelerinde ise sırasıyla %15 ve %74 oranında artışların olduğu ancak plazma FSH hormon seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığı görülmektedir.

Hipotalamik GnRH hipofizden gonadotropinlerin sentezini ve sekresyonunu kontrol eden bir dekapetittir²⁹. GnRH hormonu hipotalamik nörosekretuar hücrelerden pulzatil olarak salgılanıp hipofize özelleşmiş bir portal sistem aracılığıyla adenohipofize taşınarak burada LH ve FSH hormonlarının sentezini

ve sekresyonunu uyarmaktadır^{29,30}. Hipofiz üzerindeki oluşturduğu bu etki ile dolaylı olarak gametogenez ve steroidogenez üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır²⁹. Testis hormonları, hem GnRH üretimini azaltarak hem de hipofiz gonadotropininin GnRH stimülasyonuna duyarlılığını azaltarak gonadotropin salınımı üzerinde negatif geri bildirim neden olmaktadır. Bu durumla uyumlu olarak, egzogen testosteron uygulamasının erkeklerde GnRH pulzasyon frekansında belirgin bir yavaşlamayı indüklediği⁶ ve doğrudan hipofiz etkisi ile LH ve FSH salınımını engellediği gösterilmiştir⁷. Erkeklerde LH, Leydig hücrelerinden testosteron sentezini uyarırken FSH, spermatogenez uyararak sertoli ve germ hücrelerine etki etmektedir. Ayrıca LH, intra-testiküler testosteron salınımını da uyararak dolaylı olarak spermatogenez teşvik eder³¹. FSH, sertoli hücrelerindeki reseptörlerine ve testisteki spermatogonial membranlara bağlanır ve spermatogenezin başlangıcında ve normal sperm üretiminde önemlidir³¹.

Histaminin üremenin kontrolünde önemli bir role sahip olduğu bildirilmektedir^{18,19}. Merkezi histaminin, muhtemelen seks steroidlerine olan duyarlılığı ve HPG aks ile olan etkileşimi nedeniyle, cinsiyete özgü çeşitli gelişimsel, üreme ve davranışsal beyin işlevlerinde rol oynadığı görülmektedir⁸. Erkek sıçanlarda yapılan çalışmalar, kastrasyonun hipotalamik histamin düzeylerini artırdığını göstermektedir³². Bunun yanı sıra, histamin eksikliği olan (HDC-KO) farelerin yüksek testis ve serum androjen seviyelerine sahip olduğu, ancak testis ağırlığının azaldığı ve çiftleşme davranışları ve cinsel uyarılmalarının da güçlü bir şekilde bozulduğu bildirilmiştir³³. Yakın zamanda erkek sıçanlar üzerinde yaptığımız bir çalışmada histaminin akut olarak merkezi uygulanmasının HPG aksta görevli GnRH, FSH, LH ve testosteron hormonlarının plazma seviyelerinde artışlara yol açtığını gösterdik³⁴. Şimdiki çalışmada ise uzun süreli merkezi histamin enjeksiyonları sonucunda GnRH hormonunun plazma seviyelerinde herhangi bir değişimin olmadığını, FSH hormonunun plazma seviyelerinde ise artışların olduğunu ortaya koyduk. Ayrıca, kronik olarak merkezi histamin uygulaması sonrası LH ve testosteron hormonlarının plazma seviyelerinde azalmaların olduğunu gösterdik. Çalışmalarda merkezi histamin uygulamasının, ön hipofiz bezinden FSH ve LH hormonu salgılanması üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olmadığı, supraoptik çekirdekte lüteinleştirici hormon salgılatıcı hormon (LHRH) salgılayan nöronların uyarılması yoluyla HPG aksı uyardığı ortaya konmuştur^{35,36}. Bununla birlikte, bir başka çalışmada ise uzun süreli LHRH reseptör agonisti tedavisinin erkek sıçanların serum LH seviyelerinde azalmalara yol açtığı görülmüştür³⁷. GnRH analogunun kronik olarak uygulandığı bir başka çalışmada ise uzun süreli GnRH uyarılmasının FSH ve LH hormon üretimlerini baskıladığı gösterilmiştir³⁸. Bu çalışmaların sonuçları,

bulgularımızla bağlantılı olacak şekilde kronik histamin uygulamasının GnRH ve/veya LHRH reseptörlerinde duyarsızlığa neden olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, histaminin GnRH üzerinde anlamlı bir etki oluşturmamasını ve plazma LH ve buna bağlı plazma testosteron seviyelerinin azalmasını açıklar niteliktedir. Antiserum enjeksiyonu yapılan sıçanlarda GnRH inhibisyonu sonucunda LH salınımının baskılandığı fakat GnRH inhibisyonunun FSH üzerinde herhangi bir etkiye yol açmadığı bildirilmiştir^{39,40}. Bu çalışmanın yanında, LH salınımının tamamen GnRH salgılanmasına bağlı olduğu bilgisini güçlendiren ve GnRH'nin, FSH salınımını tek düzenleyicisi olmayabileceğini düşündüren çalışmalar da mevcuttur^{41,42}. Yine LHRH'nin de FSH salgısının sürdürülmesinde etkili olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmanın sonucu da, LHRH'nin FSH salgılanmasında gerekli olduğunu ancak LHRH'nin de FSH salınımının tek düzenleyicisi olmayabileceğine işaret etmektedir⁴³. Bu nedenden dolayı FSH salınımını seçici olarak düzenleyen ayrı bir FSH salgılatan hormonun varlığı da düşünülebilir. Bu çalışmalar da, yine kronik histamin uygulanmasının, plazma FSH hormonu seviyelerinde oluşan artışların kendi reseptörleri aracılığıyla yada başka bir mekanizmayı aktif etmesi yoluyla olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mast hücreleri ve bazofillerden salınan histamin, rinit, ürtiker, astım ve sistemik anafilaksi dahil tüm alerjik hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır⁴⁴. Astım/rinitli hastalarda yapılan çalışmalar bu hastalarda düşük testosteron seviyelerinin olduğunu göstermektedir⁴⁵. Bu çalışmalar da yine çalışmamızla uyumlu olarak uzun süreli histamin tedavisinin LH ve testosteron hormonları üzerindeki baskılayıcı etkiyi açıklayabilir.

Çalışmamızın diğer aşamasında kronik uygulanan histamin antagonistlerinin GnRH, FSH, LH ve testosteron üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Daha önce yaptığımız çalışmanın sonucunda histaminin akut enjeksiyonunun GnRH, FSH, LH ve testosteron hormonları üzerinde oluşturduğu artışlara histaminin merkezi H₁ ve H₂ reseptörlerinin aracılık ettiğini rapor ettik³⁴. Bu çalışmada ise kronik olarak uygulanan histaminin merkezi H₁ reseptörlerinin, kronik histamin tedavisiyle aynı sonuçlara sahip olduğu verisine ulaştık. Çalışmamızda da klorfeniraminin reseptör bağlayıcı etkisiyle endojen histaminin bu reseptörlere bağlanmadığı ve buna bağlı olarak GnRH salınımını uyaramadığı ve paralelinde LH ve testosteron seviyelerinde düşüşlerin yaşandığı düşünülebilir. FSH'nin de önceden belirtildiği gibi salınımında birkaç faktörün olabileceğinin ortaya konması^{41,42}, uzun süreli klorfeniramin enjeksiyonu sonrası görülen FSH artışlarında klorfeniramin bağımlı ve/veya bağımsız etkinin olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, klorfeniraminin beyinde merkezi H₁ reseptörlerini yüksek oranda bloke etmesi⁴⁴ LH ve testosteron hormonlarının salınımındaki azalmayı açıklayabilmekte-

dir. Bunun yanında, hamilelik sırasında, nazal alerjisi olan deneklerde nazal epitel tabakasından alınan örneklerde histaminin H₁ reseptörünün mRNA seviyesinde artışların olduğu gösterilmektedir. Histaminin, hedef organları uyarma kabiliyetinin önlenmesi amacıyla klinikte H₁ reseptör antagonistleri sıkça kullanılmaktadır. H₁ reseptör antagonistleri, histaminin H₁ reseptörü ile etkileşimini rekabetçi bir şekilde inhibe eder, böylece histaminin vazodilatör etkilerini ortadan kaldırarak ödem, alevlenme ve kabarıklığın oluşumunu önler⁴⁶. Bu tip hastalıklara sahip kişilerin tedavide uzun süreli H₁ reseptör antagonisti kullanmaları kişilerin üreme faaliyetlerinde aksaklıkların oluşmasına yol açabilir. Son olarak ranitidin ve tiyoperamidin uzun süreli tedavilerinde GnRH ve FSH seviyelerinde anlamlı bir değişimin olmadığını, LH ve testosteron seviyelerinde ise artışların oluştuğunu ortaya koyduk. Yapılan birkaç çalışmada erkek hastalara intravenöz veya oral yolla kısa veya uzun süreli yapılan ranitidin tedavisinin HPG aksta görevli üreme hormonlarının plazma seviyelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı ortaya konmaktadır^{47,48}. Bu yüzden, GnRH'nin aralıklı salınımına sahip olması^{3,29,30} nedeniyle ranitidin enjeksiyonları sonrası GnRH seviyelerinde bir değişimin olmadığı düşünülebilir. Fakat LH ve testosteron hormon seviyelerindeki artışların muhtemelen GnRH salınımı sonrası^{41,42} ortaya çıktığı yada ranitidin merkezi tedavisinin bir etkisi olduğu kanısına varmak mümkündür. Yine aynı ajanın FSH salınımında da anlamlı bir etkisinin olmaması FSH'nin de salınımının farklı faktörlere bağlı⁴¹⁻⁴³ olmasından dolayı olabileceği düşünülebilir. Son olarak, merkezi sinir sistemi içerisinde histaminin H₃/H₄ reseptörlerinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda, H₃/H₄ reseptörlerinin endojen histaminin inhibisyonunda görevli otoresepörler olarak çalıştıkları görülmektedir^{49,50}. Bununla birlikte, H₃/H₄ reseptör antagonistlerinin intrahipotalamik ve subkutan enjeksiyonlarının hipotalamik histamin salınımını artırdığı da gösterilmiştir⁵¹. Bu veriler ışığında, kronik tioperamid enjeksiyonları sonrası LH'de oluşan artış ile testosteronda oluşan %74'lük yüksek orandaki artışların önceki çalışmalarla uyum gösterdiği görülmektedir.

Çalışmanın sonuçları, uzun süreli merkezi histamin tedavisinin LH ve testosteron hormonları üzerinde inhibe edici etkilere neden olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, çalışmada kullanılan H₁ reseptör antagonisti klorfeniraminin, merkezi histamin reseptörlerinde oluşturduğu blokaja bağlı LH ve testostereon hormonlarının salınımında etki gösteremediği, H₂ reseptör antagonisti ranitidin merkezi HPG aksta etkili olmadığı ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamidin ise otoresepör özelliğine bağlı olarak üreme hormonlarından özellikle LH ve testosteron hormon salınımının uyarılmasında etkili olduğu görülmektedir.

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Onay Tarihi: 16.03.2021
Karar No: 2021-03/06

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım; M.Y., B.A.; Veri toplama ve işleme M.Y., B.A., G.G.B.; Analiz ve verilerin yorumlanması M.Y., B.A., G.G.B.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması M.Y., B.A.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Fink G. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: MEMOIR: Harris' neuroendocrine revolution: of portal vessels and self-priming. *J Endocrinol* 2015;226(2).
2. Amory JK, Bremner WJ. Regulation of testicular function in men: implications for male hormonal contraceptive development. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85,357-361.
3. Clarke I, Cummins J. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 1982;111,1737-9.
4. Huhtaniemi I. A short evolutionary history of FSH-stimulated spermatogenesis. *Hormones (Athens)* 2015;14,468-78.
5. Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003;125,769-784.
6. Matsumoto AM, Bremner WJ. Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58,609-14.
7. Shekter CB, Matsumoto AM, Bremner WJ. Testosterone administration inhibits gonadotropin secretion by an effect on the human pituitary. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68,397-401.
8. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the Nervous System. *Physiol Rev* 2008;88, 1183-241.
9. Badr FM. Effect of sexual maturation and androgens on prostaglandin levels in tissues of the male reproductive system in mice. *Endocrinology* 1976;98,1523-7.
10. Mayerhofer A, Bartke A, Amador AG, Began T. Histamine affects testicular steroid production in the golden hamster. *Endocrinology* 1989;125,2212-4.
11. Khan UW, Rai U. Differential effects of histamine on Leydig cell and testicular macrophage activities in wall lizards: precise role of H1/H2 receptor subtypes. *J Endocrinol* 2007;194,441-8.
12. Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol* 2001;63,637-72.
13. Fogel WA, Stasiak A, Lewinski A, Maksymowicz M, Jochem J. Satiety signalling histaminergic system system and brain-gut peptides in regulation of food intake in rats with portocaval anastomosis. *J Physiol Pharmacol* 2008;59,135-44.
14. Yalcin M, Savci V, Jochem J. Involvement of the cholinergic system in the central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60,133-7.
15. Altinbas B, Yilmaz MS, Savci V, Jochem J, Yalcin M. Centrally injected histamine increases posterior hypothalamic acetylcholine release in hemorrhage-hypotensive rats. *Auton Neurosci* 2015;187,63-9.
16. Altinbas B, Guvenc G, Erkan LG, Ilhan T, Niaz N, Yalcin M. Histamine restores hemorrhage induced hypotension by activating cholinergic neurons in nucleus tractus solitarius. *Brain Res* 2016;1649,132-40.
17. Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev* 1991;71,1-51.
18. Knigge U, Warberg J. Neuroendocrine functions of histamine. *Agents Actions Suppl* 1991a;33,29-53.
19. Knigge U, Warberg J. The role of histamine in the neuroendocrine regulation of pituitary hormone secretion. *Acta Endocrinol* 1991b;124,609-19.
20. Kjaer A, Knigge U, Bach FW, Warberg J. Histamine- and stress-induced secretion of ACTH and beta-endorphin: involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin. *Neuroendocrinology* 1992;56,419-28.
21. Mitsuma T, De-Heng S, Nogimori T, Chaya M, Hirooka Y, Ohtake K. Effect of histamine and its blockers on plasma beta-endorphin-like immunoreactivity in rats. *Endocrinol Exp* 1987;21,95-102.
22. Knigge UP. Histaminergic regulation of prolactin secretion. *Dan Med Bull* 1990;37,109-24.
23. Bugajski J, Janusz Z. Central histaminergic stimulation of pituitary-adrenocortical response in the rat. *Life Sci* 1983;33,1179-89.
24. Kjaer A, Larsen PJ, Knigge U, Warberg J. Histaminergic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 1994;135,1171-7.
25. Radacs M, Galfi M, Juhasz A, Varga C, Molnar A, Laszlo F, Laszlo FA. Histamine-induced enhancement of vasopressin and oxytocin secretion in rat neurohypophyseal tissue cultures. *Regul Pept* 2006;134,82-8.
26. Lee AW, Devidze N, Pfaff DW, Zhou J. Functional genomics of sex hormonedependent neuroendocrine systems: specific and generalized actions in the CNS. *Prog Brain Res* 2006;158,243-72.
27. Noris G, Hol D, Clapp C, Martinez- dela-Escalera G. Histamine directly stimulates gonadotropin-releasing hormone secretion from GT1-1 cells via H1 receptors coupled to phosphoinositide hydrolysis. *Endocrinology* 1995;136,2967-74.
28. Jochem J, Savci V, Filiz N, Rybus-Kalinowska B, Fogel WA, Yalcin M. Involvement of the histaminergic system in cytidine 5'-diphosphocholine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *J Physiol Pharmacol* 2010;61,37-43.
29. King JA, Millar RP. Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Cell Mol Neurobiol* 1995;15:5-23.
30. d'Anglemont-de-Tassigny X, Fagg LA, Carlton MBL, Colledge WH. Kisspeptin Can Stimulate Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Release by a Direct Action at GnRH Nerve Terminals. *Endocrinology* 2008;149,3926-32.
31. Matsumoto AM, Karpas AE, Bremner WJ. Chronic human chorionic gonadotropin administration in normal men: evidence that follicle stimulating hormone is necessary for the maintenance of quantitatively normal spermatogenesis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62,1184-92.
32. Orr EL, Quay WB. The effects of castration on histamine levels and 24 hour rhythm in the male rat hypothalamus. *Endocrinology* 1975;97,481-4.
33. Par G, Szekeres-Bartho J, Buzas E, Pap E, Falus A. Impaired reproduction of histamine deficient (histidine-decarboxylase knockout) mice is caused predominantly by a decreased male mating behavior. *Am J Reprod Immunol* 2003;50,152-8.
34. Niaz N, Guvenc G, Altinbas B, Tokar MB, Aydin B, Udum-Kucusen D, et al. Intracerebroventricular injection of histamine induces the hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation in male rats. *Brain Res* 2018;1699,150-7.
35. Miyake A, Ohtsuka S, Nishizaki T, Tasaka K, Aono T, Tanizawa O, et al. Involvement of H1 histamine receptor in basal

- and estrogen-stimulated luteinizing hormone-releasing hormone secretion in rats in vitro. *Neuroendocrinology* 1987;45,191–6.
36. Ojeda SR, McCann SM. Control of LH and FSH release by LHRH: influence of putative neurotransmitters. *Clin Obstet Gynaecol* 1978;5,283-303.
 37. Horvath JE, Bajo AM, Schally AV, Kovacs M, Herbert F, Kate G. Effects of long-term treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist Decapeptyl and the LHRH antagonist Cetrorelix on the levels of pituitary LHRH receptors and their mRNA expression in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99,15048-53.
 38. Swerdloff RS, Heber D, Bhasin S, Rajfer J. Effect of GnRH superactive analogs (alone and combined with androgen) on testicular function in man and experimental animals. *J Steroid Biochem* 1983;19,491-7.
 39. Culler MD, Negro-Vilar A. Pulsatile follicle-stimulating hormone secretion is independent of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH): pulsatile replacement of LHRH bioactivity in LHRH immunoneutralized rats. *Endocrinology* 1987;20,2011–21.
 40. Kovacs M, Koppa M, Mezo I, Teplan I, Flerko B. Antiovaratory doses of antagonists of LH- RH inhibit LH and progesterone but not FSH and estradiol release. *J Neuroendocrinol* 1993;5,603–8.
 41. Lumpkin MD, DePaolo LV, Negro-Vilar A. Pulsatile release of follicle-stimulating hormone in ovariectomized rats is inhibited by porcine follicular fluid (Inhibin). *Endocrinology* 1986;114,201–6.
 42. Mizunuma H, Samson WK, Lumpkin MD, Moltz JH, Fawcett CP, McCann SM. Purification of a bioactive FSH-releasing factor (FSHRF). *Brain Res Bull* 1983;10,623–9.
 43. Culler MD, Negro-Vilar A. Evidence that pulsatile follicle stimulating hormone secretion is independent of endogenous luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology* 1986;118,609–12.
 44. Church MK, Casale TB. Principles of pharmacotherapy. *Allergy* 2012;147–69.
 45. Lokaj-Berisha V, Gacaferri-Lumezi B, Berisha N, Gashi-Hoxha S. A Pilot Study on BMI, Serum Testosterone and Estradiol Levels in Allergic Male Patients. *Open Access Maced J Med Sci* 2015;3,595-600.
 46. Habibi A, Riley ET. Antihistamines: H1- and H2- Blockers. *Complications in Anesthesia* 2007;92–3.
 47. Knigge U, Dejgaard A, Wollesen F, Ingerslev O, Bennett P, Christiansen PM. The acute and long term effect of the H2-receptor antagonists cimetidine and ranitidine on the pituitary-gonadal axis in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1983;18,307-13.
 48. Corinaldesi R, Pasquali R, Paternico A, Stanghellini V, Paparo GF, Ricci Maccarini M, et al. Effects of short- and long-term administrations of famotidine and ranitidine on some pituitary, sexual and thyroid hormones. *Drugs Exp Clin Res* 1987;13,647-54.
 49. Prast H, Fischer HP, Prast M, Philippu A. In vivo modulation of histamine release by autoreceptors and muscarinic acetylcholine receptors in the rat anterior hypothalamus. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1994;350,599-604.
 50. Arrang JM, Garbarg M, Lancelot JC, Lecomte JM, Pollard H, Robba M, et al. Highly potent and selective ligands for histamine H3 receptors. *Nature* 1987;327,117-25.
 51. Jansen FP, Mochizuki T, Yamamoto Y, Timmerman H, Yamatodani A. In vivo modulation of rat hypothalamic histamine release by the histamine H3 receptor ligands, immepip and clobenpropit. Effects of intrahypothalamic and peripheral application. *Eur J Pharmacol* 1998;362,149-55.