

تحقیقی

ارزیابی تأثیر نروپیتید بومبیزین بر القاء واکنش‌های اضطرابی در موش سوری

چکیده

زمینه و هدف: بومبیزین یک نروپیتید ۱۴ اسید آمینه است که در سیستم عصبی پستانداران به طور وسیعی یافت می‌شود و آثار بیولوژیکی متعددی دارد که از آن جمله ممکن است در تعدیل واکنش‌های اضطرابی موثر باشد. هدف این مطالعه تعیین اثرات این پپتید بر واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به‌علاوه‌ای مرتفع در موش سوری بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی موش‌های سوری نر ($n=60$) به وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. بومبیزین در مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به‌ازاء هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی یا سالیین ۱۰ دقیقه قبل از انجام تست‌های مورد نظر در گروه‌های مختلف تزریق شد. سپس موش‌ها در جهت افزایش فعالیت حرکتی و حس کنجکاوی به مدت ۵ دقیقه در یک جعبه با دیواره‌های مشکی قرار داده شدند و پس از آن در فواصل زمانی تنظیم شده به ماز به‌علاوه‌ای منتقل گردیدند و به مدت ۵ دقیقه شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب (تعداد ورود و زمان صرف شده روی بازوی باز) از طریق مشاهده در آنها بررسی و ثبت گردید. برای بررسی آماری داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی استفاده شد.

یافته‌ها: بومبیزین وابسته به دوز باعث افزایش علائم اضطراب شد. در مقایسه با گروه کنترل حیوانات تعداد ورود و درصد زمان کمتری را روی بازوی باز طی نمودند و بررسی آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$)، ولی بومبیزین با دوز ۱/۲۵ میکروگرم اثر معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که پپتید بومبیزین وابسته به دوز نقش مهمی در القاء واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع دارد.

کلید واژه‌ها: اضطراب - بومبیزین - ماز به‌علاوه‌ای مرتفع - موش سوری

دکتر عباسعلی وفایی

دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان
مرکز تحقیقات فیزیولوژی

دکتر عباسعلی طاهریان

عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان
مرکز تحقیقات فیزیولوژی

دکتر علی رشیدی پور

استاد گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان
مرکز تحقیقات فیزیولوژی

نویسنده مسئول: دکتر عباسعلی وفایی

پست الکترونیکی: aavaf43@yahoo.com

نشانی: سمنان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۳۲۰۸۰

نمابر: ۳۳۳۱۵۵۱

وصول مقاله: ۸۵/۹/۱۳

اصلاح نهایی: ۸۶/۴/۱۰

پذیرش مقاله: ۸۶/۴/۳۰

مقدمه

اضطراب هسته اصلی و مرکزی اختلالات نوروپیتیک و یک احساس منتشر بسیار ناخوشایند و اغلب مبهم همراه با دل‌واپسی است که به فرم یک علامت هشداردهنده خیر از خطری قریب‌الوقوع می‌دهد و موجود زنده را برای مقابله آماده می‌سازد (۱). این اختلال واکنش موجود زنده نسبت به یک تهدید درونی است که از انگیزه‌های غریزی برمی‌خیزد و در اصل یک حالت ذهنی است که همه ما آن را بارها تجربه کرده‌ایم و می‌تواند از یک سطح طبیعی و یا از شدت پاتولوژیک برخوردار باشد (۲).

از دیدگاه فیزیولوژیک اضطراب و استرس واکنش‌های پیچیده‌ای در ارگانیسم هستند که به دنبال یک آبشار حوادث بیوشیمی و آندوکراین به وسیله استرسورها در نتیجه رفتارهای کوتاه‌مدت و بلندمدت شروع می‌شود (۳). مطالعات قبلی نشان داده که سه عامل نوروترانسمیتری اساسی با اضطراب ارتباط دارند که شامل نوراپی‌نفرین، سروتونین و گاما‌آمینوبوتیریک اسید می‌باشد. به طوری که استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های این سیستم‌ها توانسته بر واکنش‌های اضطرابی اثر تعدیلی داشته باشد (۴).

همچنین مطالعات قبلی نشان داده که در کنار عوامل نوروترانسمیتری، نروپیتیدهای فراوانی در مغز یافت شده‌اند که می‌توانند بر تعدیل واکنش‌های اضطرابی دخیل باشند (۵). یکی از پیتیدهایی که پیشنهاد شده و احتمالاً می‌تواند در این اثرات دخالت داشته باشد، بومبازین می‌باشد (۹). بومبازین یک پیتید ۱۴ اسید آمینه است که ابتدا از پوست قورباغه‌ای موسوم به بومبینا جداسازی و تخلیص شد. مطالعات بعدی نشان داد که پیتیدهای شبه‌بومبازینی در سیستم عصبی مرکزی پستانداران به طور وسیعی توزیع شده‌اند (۶). در مغز موش‌ها غلظت‌های بومبازین به میزان زیاد در هیپوتالاموس نواحی مزولیمیک و نیز در ستون پشتی طناب نخاعی در شبکه متراکم رشته‌ها و پایانه‌های لایه ۱ و ۲ یافت می‌شود (۷). انجام آزمایشات ایمینو هیستوشیمیایی با کمک مواد شبه‌بومبازینی روی نرون‌های حسی طناب نخاعی دلالت بر نقش احتمالی این پیتیدها در انتقال پیام حسی در ستون پشتی طناب نخاع دارد (۸و۵). همچنین نشان داده شده که رشته‌های عصبی در بعضی

عقد‌های سمپاتیکی نیز حاوی پیتیدهای بومبازینی است و دیده شده که حضور این پیتیدها در عقد‌های سمپاتیکی از اجسام یاخته‌ای واقع در دیواره دستگاه گوارش ناشی می‌شود (۹). در هسته سجافی پشتی دسته جداگانه‌ای از نرون‌ها حساس به سروتونین مشاهده شده‌اند که به بومبازین حساسند و بیان شد که پیتیدهای شبه‌بومبازینی با غلظت بالایی در هیپوتالاموس میانی شکمی، هسته کمانی و اجسام یاخته‌ای نرون‌های هسته مجاور بطنی، هسته منزوی و نواحی مزولیمیک (آمیگدال، هسته اکومینس و پایانه استریاتوم) وجود دارد (۵).

از طرفی تاکنون یک‌سری آثار بیولوژیک بومبازین از قبیل تاثیر بر تنظیم درجه حرارت، ترشحات معدی و لوزالمعده‌ای، میزان گلوکز پلاسما، رفتار تغذیه‌ای و تاثیر بر سیستم هیپوتالاموسی - هیپوفیزی نشان داده شده است (۱۰). با توجه به توزیع وسیع پیتیدهای شبه‌بومبازینی در سیستم عصبی مرکزی و اثرات متقابل آنها با سیستم‌های نوروترانسمیتری دخیل در اضطراب به ویژه سروتونین (بومبازین موجب افزایش سطح سروتونین مغزی می‌شود). احتمال می‌رود که این پیتید بتواند به صورت مستقیم یا واسطه‌ای بر رفتارهای اضطرابی تاثیر داشته باشد (۱۱). ضمناً از آنجا که در این زمینه در برخی از مقالات اثرات متناقضی برای بومبازین مطرح شده است (۶)، هدف این مطالعه ارزیابی اثر آن بر القاء اضطراب در مدل ارزیابی ماز به علاوه‌ای مرتفع بود.

روش بررسی

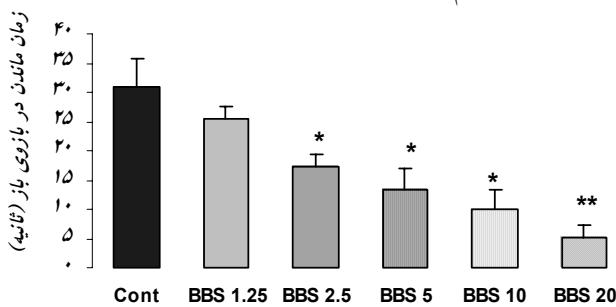
حیوانات: این مطالعه تجربی در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان طی سال ۱۳۸۵ انجام شد. در این تحقیق از ۶۰ سر موش سوری سفید آزمایشگاهی نر آلینو در محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم، و از هر حیوان فقط یک‌بار استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۵ تایی با سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان آب و غذای کافی نگهداری شدند.

روش تزریق دارو: در ابتدا حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های آزمون و کنترل تقسیم گردیدند. سپس به گروه‌های آزمون بومبازین (شرکت سیکما) در مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، ده‌دقیقه قبل از ارزیابی اضطراب تزریق شد و به موش‌های

نتایج مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و $P < 0.05$ به عنوان ملاک معنی دار بودن در نظر گرفته شد. برای بررسی آماری از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه چند گانه از آزمون توکی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد از میانگین ($Mean \pm SEM$) ارائه شد.

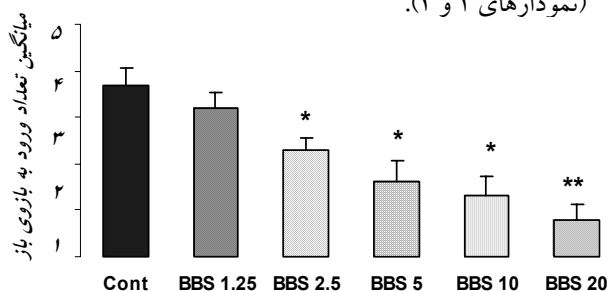
یافته‌ها

نتایج این مطالعه نشان داد که بومیزین با دوزهای ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمون‌های مورد نظر باعث افزایش رفتارهای اضطرابی شده است. به طوری که در مقایسه با گروه کنترل تعداد ورود کمتر و درصد زمان کمتری را روی بازوی با طی نمودند و بررسی آماری تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). در حالی که بومیزین با دوز ۱/۲۵ میکروگرم تاثیر آماری معنی داری نداشت.



نمودار ۱: مدت زمان حضور در بازوی باز به دنبال تزریق داخل صفاقی بومیزین در مقایسه با گروه کنترل BBS: بومیزین، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$

این نتایج نشان می‌دهد که نروپتید بومیزین وابسته به دوز نقش مهمی در القاء واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به‌علاوه‌ای دارد. به طوری که بین دوز بالا و دوز پائین در اثر بر اضطراب تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$) (نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار ۲: میانگین تعداد ورودهای حیوان به بازوی باز به دنبال تزریق بومیزین در مقایسه با گروه کنترل BBS: بومیزین، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$

گروه کنترل هم حجم آن سالین (وهیکل بومیزین) تزریق شد. دوزهای بالاتر بومیزین به دلیل عوارض حرکتی و مرگ و میر و در نتیجه اختلال در ارزیابی اضطراب مورد استفاده قرار نگرفت. ضمناً مطالعات قبلی نشان داده که بومیزین به راحتی از سد خونی مغزی عبور می‌کند (۱۰).

دستگاه ارزیابی سطح اضطراب: برای ارزیابی اضطراب از دستگاهی به نام ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated plus-maze) که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل دو بازوی باز (هر یک 50×5 سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک $50 \times 5 \times 40$ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (5×5 سانتی‌متر) است که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اطاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد (۱۲ و ۱۳).

روش آزمایش: در صبح روز آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل و داروی مورد نظر در دوزهای مختلف ۱۰ دقیقه قبل از ارزیابی اضطراب و در فواصل زمانی مشخص به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. سپس هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اطاق کار منتقل و در جعبه‌ای به ابعاد $30 \times 40 \times 30$ سانتی‌متر قرار می‌گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. آنگاه به مدت ۵ دقیقه در ماز (قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شده و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آنها بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه ثبت می‌شد. افزایش ورود به بازوهای باز و افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شد. همچنین قضاوت در مورد اختلاف معنی دار سطح اضطراب بدین صورت بود که اگر هم‌زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت سپری شده در آنها) در یک راستا کاهش و یا افزایش می‌یافت و حداقل یکی از آنها تفاوت معنی داری با گروه کنترل می‌داشت، به عنوان تغییر معنی دار سطح اضطراب تلقی می‌شد.

پس از جمع‌آوری داده‌های گروه‌های آزمایشی مختلف،

بحث

در این مطالعه تاثیر بومبازین به عنوان یک نروپیتید مغزی بر القاء واکنش‌های اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تجویز بومبازین وابسته به دوز و در دوزهای بالاتر موجب کاهش بیشتر ورود حیوانات به بازوی باز و کاهش مدت زمان سپری شده در آن شد که بیانگر افزایش واکنش‌های اضطرابی می‌باشد. در حالی که با دوز پائین‌تر این اثرات به طور معنی‌داری دیده نشد. بنابراین یافته اصلی این پژوهش این بود که تزریق محیطی دوزهای مختلف بومبازین رفتارهای اضطرابی را افزایش می‌دهد و حداکثر اثر آن در دوز ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان اعمال می‌گردد. این نتایج بیانگر آن است که این واکنش‌ها می‌تواند تحت تاثیر پپتیدهای مغزی و بومبازین قرار گیرد.

طبق مطالعات گذشته (۱۰)، بومبازین می‌تواند در نواحی مختلفی از مغز موجب افزایش و فعال شدن سیستم‌های میانجی عصبی که در اضطراب دخیل هستند، شود. در این خصوص تزریق آن به داخل هسته (Nucleus Tractus Salitarius) موجب افزایش کاتکول‌آمین‌ها و نوراپی‌نفرین می‌شود (۶). همچنین سروتونین در هسته رافه به بومبازین حساس است و دیده شده که بومبازین موجب افزایش رهایش سروتونین می‌شود و دیگر این که ارتباط نزدیکی بین فعالیت‌های بومبازین و مسیر واگ وجود دارد (۱۱). در پژوهشی دیده شد که بومبازین می‌تواند موجب فعال نمودن سیستم دوپامینی شود و اشاره گردید که تزریق مرکزی بومبازین موجب افزایش گلوکز و گلوکاگون و کاهش انسولین و افزایش ترشح اپی‌نفرین از قشر مدولا و موجب افزایش دوپامین هیپوتالاموس می‌شود (۱۴). در تحقیقی دیده شد که بومبازین و سروتونین و نورآدرنالین به شکل تنگاتنگی در هسته‌های لوکوس سرتوس و هسته سجافی با هم در ارتباط بوده و اثرات متقابل دارند (۵).

از آنجا که سیستم‌های نورو ترانسمیتری آدرنژیک، سروتونژیک، کلسی‌نژیک و دوپامینژیک نقش فیزیولوژیک مهمی در فرایندهای تعدیل اضطراب بازی

می‌کنند (۱۵)، احتمالاً اثرات سیستمیک بومبازین در مطالعه حاضر از طریق فعال نمودن این سیستم‌ها اعمال می‌گردد و از آنجا که بومبازین قادر به عبور از سدخونی مغز می‌باشد، (۱۰ و ۱۶)، از این رو احتمال می‌رود که بومبازین مستقیماً بر سیستم عصبی مرکزی و مراکز که در اضطراب دخیل هستند، تاثیر بگذارد و سبب القاء اضطراب شود.

بومبازین از طریق دو مکانیسم که شامل افزایش سطح گلوکز و یا فعال‌سازی سیستم عصبی خودکار است، اثرات فیزیولوژیک خود را (اثر بر درجه حرارت، دستگاه گوارش و ...) اعمال می‌کند. نتایج مطالعات قبلی نشان داده که تزریق درون بطنی یا سیسترنال بومبازین باعث افزایش سریع و مداوم گلوکز پلاسما، گلوکاگون و کاهش انسولین می‌شود و این اثر با برداشتن غده آدرنال از بین می‌رود و دیده شده که در دستگاه اعصاب مرکزی بومبازین از طریق افزایش فعالیت سمپاتیک که به افزایش ترشح آدرنالین از مرکز غده فوق کلیوی می‌انجامد، باعث افزایش قند خون می‌شود (۱۷). علاوه بر این تزریق محیطی بومبازین در دوزهای بالا، گلوکز پلاسما را بالا می‌برد و دیده شده که رشته‌های عصبی در بعضی از عقده‌های سمپاتیک حاوی پپتیدهای شبه‌بومبازین هستند (۶).

براین اساس در مطالعه حاضر هم ممکن است که بومبازین از طریق اثر بر سیستم خودکار سمپاتیکی اثرات القاء خود را بر اضطراب اعمال کند. البته هنوز هم سازکار اصلی تاثیر بومبازین روی اضطراب و مکان عمل آن مشخص نیست و مطالعه‌های آتی بیشتری برای بررسی مکانیسم اثر آن نیازاست.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که پیتید بومبازین وابسته به دوز نقش مهمی در القاء واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع دارد.

تشکر و قدردانی

از تمامی همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی به خصوص آقایان صادقی و محمدی که در انجام این تحقیق همکاری صمیمانه‌ای با ما داشتند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

- 1) Kaplan HI, Sadock BJ, Sadock VA. Comprehensive text book of Psychiatry. 7th Ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. Vol 1-2. 2000;pp: 520-30.
- 2) Kaplan HJ, Sadok BJ. Synapsis of psychiatry. 8th Ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 1998; pp: 582-628.
- 3) Nutt DJ. Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder. *J Clin Psychiatry*. 2001;62 Suppl 11:22-7.
- 4) Schramm NL, McDonald MP, Limbird LE. The alpha(2a)-adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety. *J Neurosci*. 2001;21(13):4875-82.
- 5) Woodruff GN, Hall MD, Reynolds T, Pinnock RD. Bombesin receptors in the brain. *Ann N Y Acad Sci*. 1996;780:223-43.
- 6) Carver-Moore K, Gray TS, Brown MR. Central nervous system site of action of bombesin to elevate plasma concentrations of catecholamines. *Brain Res*. 1991;541(2):225-31.
- 7) Wharton J, Polak JM, Bloom SR, Ghatei MA, Solcia E, Brown MR, et al. Bombesin-like immunoreactivity in the lung. *Nature*. 1978;273(5665):769-70.
- 8) Panula P, Yang HY, Costa E. Neuronal location of the bombesin-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat. *Regul Pept*. 1982;4(5):275-283
- 9) Zarbin MA, Kuhar MJ, O'Donohue TL, Wolf SS, Moody TW. Autoradiographic localization of (125I-Tyr4)bombesin-binding sites in rat brain. *J Neurosci*. 1985;5(2):429-437.
- 10) Rashidy-Pour A, Razvani ME. Unilateral reversible inactivations of the nucleus tractus solitarius and amygdala attenuate the effects of bombesin on memory storage. *Brain Research*. 1998; 814 (Issues 1-2): 127-32.
- 11) Orosco M, Rybarczyk MC, Rouch C, Cohen Y, Jacquot C. Cholecystokinin and bombesin in vagotomized or intact lean and obese rats: effects on neurotransmitters in brain. *Neuropharmacology*. 1987;26(6):575-9.
- 12) Wiley JL, Cristello AF, Balster RL. Effects of site-selective NMDA receptor antagonists in an elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Eur J Pharmacol*. 1995;294(1):101-7.
- 13) Yildiz F, Ulak G, Erden BF, Gacar N. Anxiolytic-like effects of 7-nitroindazole in the rat plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000;65(2):199-202.
- 14) Widerlöv E, Mueller RA, Frye GD, Breese GR. Bombesin increases dopamine function in rat brain areas. *Peptides*. 1984; 5(3):523-28.
- 15) Hodge CW, Raber J, McMahon T, Walter H, Sanchez-Perez AM, Olive MF, et al. Decreased anxiety-like behavior, reduced stress hormones, and neurosteroid supersensitivity in mice lacking protein kinase Cepsilon. *J Clin Invest*. 2002;110(7):1003-10.
- 16) Banks WA, Kastin AJ. Peptide transport systems for opiates across the blood-brain barrier. *Am J Physiol*. 1990; 259(1 Pt 1):E1-10.
- 17) Morley JE, Flood J, Silver AJ. Effects of peripheral hormones on memory and ingestive behaviors. *Psychoneuroendocrinology*. 1992; 17(4):391-9.