

## ارزیابی تزریق سیستمیک بومبیزین بر تعدیل دردهای حاد در موش سوری

عباسعلی وفاپی\* (Ph.D)، عباسعلی طاهریان (M.D)، علی رشیدی پور (Ph.D)

دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

### چکیده

سابقه و هدف: بومبیزین یک پپتید چهارده اسید آمینه است که به طور وسیعی در سیستم عصبی پستانداران وجود دارد. با توجه به وجود این پپتید در مسیرهای کنترل درد، هدف این مطالعه بررسی اثرات این پپتید بر درد حاد در موش سوری (کوچک آزمایشگاهی) بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موش‌های سوری نر به وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. بومبیزین در مقادیر (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی)، ۵ دقیقه قبل از انجام تست‌های اندازه‌گیری درد، به گروه‌های مختلف تزریق شد. درد حاد با استفاده از دو مدل استاندارد (HP (Hot plate) و TF (Tail flick) ارزیابی شد و واکنش‌ها نسبت به درد بر اساس ملاک‌های استاندارد ارزیابی درد در تست‌های مورد نظر صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که تزریق محیطی بومبیزین به صورت وابسته به دوز آستانه درد حاد را در هر مدل HP و TF به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد ( $P < 0/01$ ). نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهد که پپتید بومبیزین نقش مهمی در کنترل درد حاد دارد، که برای پی‌بردن به مکانیسم اثر آن نیاز به مطالعات بیش‌تری احساس می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: بومبیزین، درد حاد، موش کوچک آزمایشگاهی

### مقدمه

نخاعی، در شبکه متراکم رشته‌ها و پایانه‌های لایه ۱ و ۲ یافت می‌شود [۳]. در یک مطالعه نشان داده شد که در ستون خلفی نخاع، بعد از قطع یک رشته عصبی مقدار پپتیدهای شبه بومبیزینی کاهش می‌یابد. این موضوع نشان می‌دهد که منشأ آن‌ها از نرون‌های حسی اولیه است که از عقده حسی وارد نخاع می‌شوند. این مسأله و وجود فعالیت ایمینوهیستوشیمیایی شبه بومبیزینی در نرون‌های حسی طناب نخاعی دلالت بر نقش احتمالی این پپتیدها در انتقال پیام حسی از جمله حس درد در ستون پستی طناب نخاع دارد [۵،۴].

وجود این پپتید در رشته‌های عصبی در بعضی عقده‌های

حس درد به دو فرم حاد (زودگذر) و مزمن (طولانی مدت) دیده می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده است که سیستم‌های نوروترانسمیتری متعددی در مغز در تعدیل دردهای حاد و مزمن دخالت دارند [۱]. یکی از این ترکیبات، پپتید بومبیزین است. بومبیزین یک پپتید چهارده اسید آمینه است که ابتدا از پوست قورباغه‌ای موسوم به بومبینا جدا سازی و تخلیص شد. مطالعات بعدی نشان داد که پپتیدهای شبه بومبیزینی در سیستم عصبی مرکزی پستانداران به طور وسیعی توزیع شده‌اند [۲]. در مغز موش‌ها غلظت‌های بومبیزین به میزان زیاد در هیپوتالاموس و نواحی مزولیمبیک و نیز در ستون پستی طناب

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۳۲۰۸۰، ۰۲۳۱-۳۳۳۱۵۵۱، ۰۲۳۱. E-mail: aavaf43@yahoo.com

سانتی متر این صفحه را محصور می‌کند. در این آزمایش درجه گرمای صفحه، ۵۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. حیوان را روی صفحه داغ قرار داده زمان‌سنج را روشن می‌کنیم و زمانی که حیوان شروع به لیسیدن پاهای جلویی و یا بالا بردن پاهای عقبی (پرش) می‌کند، به عنوان نقطه پایان و شاخص درد (Latency) در نظر گرفته می‌شود و فوراً زمان‌سنج متوقف می‌گردد. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر درد بعد از ۲۰ ثانیه (Cut off) آزمایش را خاتمه می‌دهیم و حیوان را از روی صفحه داغ برمی‌داریم. قبل از تست، موش‌ها دو بار با فاصله زمانی نیم ساعت و هر بار به مدت ۳۰ ثانیه به منظور عادت سازی محیط و کاهش تأثیر استرس، بر روی صفحه سرد قرار داده شدند. نیم ساعت پس از دومین آموزش موش‌ها به طور تصادفی محلول بومبیزین یا سالین از راه داخل صفاقی دریافت داشتند.

**(۲) Tail flick (TF).** به منظور ارزیابی اثر ضددردی در مدل درد حاد، دستگاه TF (شرکت پویای ارمغان مشهد) مورد استفاده قرار گرفت. شدت نور مورد استفاده برابر ۵۰ بود و از زمان ۱۳ ثانیه به عنوان زمان قطع نوردهی (Cut off time) به منظور ممانعت از آسیب بافتی استفاده شد. مدت زمان تأخیر در کشیدن دم (Latency) به عنوان پاسخ به درد حاد اندازه‌گیری شد.

روش‌های آماری. داده‌ها به صورت Mean  $\pm$  SEM ارائه شد. برای بررسی آماری از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در مواردی که مقدار F به دست آمده معنی‌دار بود، تست توکی انجام شد.  $P < 0.05$  به عنوان ملاک معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

## نتایج

**(الف) تست HP.** شکل ۱ اثرات بومبیزین را بر درد حاد در تست HP نشان می‌دهد. آنالیز آماری حاکی از اثرات معنی‌دار پیتید است ( $F_{5,42} = 5.492$ ;  $P < 0.001$ ). آزمون

سمپاتیکی، در هسته سجافی پشتی، در هیپوتالاموس میانی شکمی، هسته کمائی و اجسام یاخته‌ای نرون‌های هسته مجاور بطنی، هسته منزوی و نواحی مزولمبیک (آمیگدال، هسته اکومینس و پایانه استریاتوم) به اثبات رسیده است [۳،۴،۶،۷]. با توجه به این‌که ساختارهای عصبی فوق در کنترل درد نقش دارند و با توجه به توزیع وسیع پیتیدهای شبه‌بومبیزینی در سیستم عصبی مرکزی، احتمال می‌رود که این پیتید بر روی انتقال پیام حسی و احساس درد به صورت اصلی یا واسطه‌ای تأثیر داشته باشد [۶،۷]. از این رو هدف این مطالعه، بررسی اثرات بومبیزین بر دردهای حاد در مدل‌های ارزیابی Hot plate و Tail flick بود.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات.** در این مطالعه ۱۲۰ سر موش سوری نر آلبینو با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. موش‌ها به صورت گروه‌های ده‌تایی در قفس‌های پلاستیکی و در اتاقی با شرایط محیطی و درجه حرارت حدود  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در حالی که غذا و آب به طور آزادانه در اختیار داشتند نگاه‌داری شدند.

**روش تزریق دارو.** بومبیزین (شرکت سیگما) در مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم استفاده شد. یودر این دارو ابتدا در سالین حل گردید و سپس به صورت داخل صفاقی ۵ دقیقه قبل از انجام تست‌های مورد نظر در گروه‌های مختلف تزریق شد و گروه‌های کنترل هم مقادیر مساوی محلول سالین دریافت کردند.

## روش ارزیابی درد.

**(۱) Hot plate (HP).** این دستگاه برای سنجش حساسیت نسبت به درد حاد استفاده می‌شود. دستگاه شامل یک صفحه به قطر ۱۹ سانتی‌متر که از طریق مقاومت الکتریکی داغ می‌شود و مجهز به زمان‌سنج و ترموستات می‌باشد. دیواره‌ای از جنس پلکسی‌گلاس به ارتفاع ۲۲

TF افزایش می‌دهد و حداکثر اثر بی‌دردی در دوز ۵ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن حیوان اعمال می‌گردد.

مطالعات قبلی نشان داده است که تزریق بومیزین در شیار خاکستری دور بطنی موجب اثرات ضد‌دردی در مدل‌های ارزیابی درد HP و TF می‌شود، که با دادن نالوکسان مهار نمی‌شود [۷]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که تزریق داخل مغزی بطنی راناتسین به عنوان یک پپتید شبه‌بومیزینی موجب اثرات ضد‌دردی وابسته به دوز در مدل HP می‌شود و پیشنهاد شده است که اثرات ضد‌دردی راناتسین ممکن است به‌وسیله میانجی‌گری دوپامین (بیش‌تر گیرنده D<sub>2</sub> آن)، در داخل سیستم اعصاب مرکزی واسطه‌گری شود [۸]. یافته‌های این مطالعه با شواهد فوق هم‌خوانی دارند و نشان می‌دهند که بومیزین یکی از ترکیباتی است که در کنترل درد شرکت می‌کند.

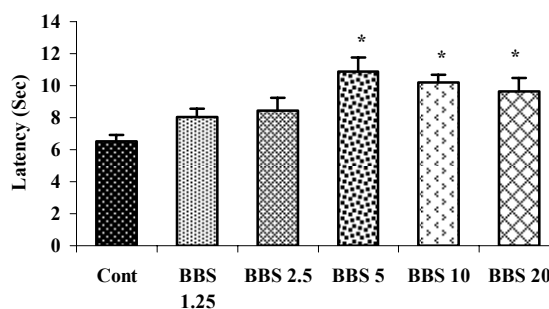
هر چند مکانیسم‌های ضد‌دردی بومیزین مشخص نیست، ولی مکانیسم‌های زیر را می‌توان پیشنهاد نمود:

#### ۱) مهار نوروپاتی انتقال‌دهنده درد در شاخ

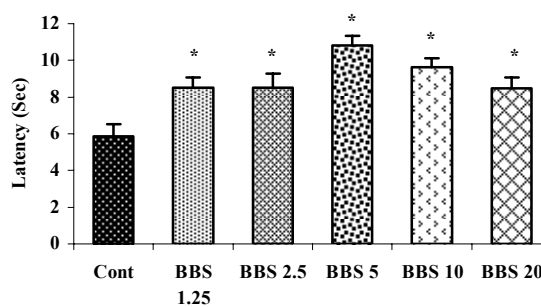
قدامی نخاع. نشان داده شده است که تزریق Iontophoreni بومیزین و نرومیدین C و B (به‌عنوان عوامل شبه‌بومیزینی) به داخل شاخ خلفی طناب نخاعی در گربه، نرون‌های فعال شده به وسیله محرک دردزا را مهار می‌کنند. این نتایج شواهد فیزیولوژیک برای نقش نرومیدین C و B در سطح نخاع مطرح می‌کند. بومیزین یک آگونیست قوی است که به‌طور انتخابی ممکن است گیرنده نرومیدین C را فعال کند [۹]. هم‌چنین نتایج مطالعات نشان می‌دهد که نرومیدین C می‌تواند اثرات مکانیکی دردزا را از طریق گیرنده‌های بومیزین در سطح نخاع تعدیل کند و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد این اثر ناشی از تعامل آن با میانجی‌گلوتامات است و از طریق گیرنده‌های NMDA اعمال می‌شود [۱۰]. بر این اساس احتمال می‌رود که در مطالعه حاضر هم، بومیزین از این مسیر و با اثر بر این واسطه‌ها در نخاع اثرات تعدیلی خود را بر درد اعمال کند.

توکی نشان می‌دهد که داروی بومیزین در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم، آستانه درد حاد را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داده است ( $P < 0.01$ ). البته این اثرات در دوز ۵ میکروگرم شاخص‌تر بود.

ب) تست TF. شکل ۲ اثرات بومیزین را بر درد حاد در تست TF نشان می‌دهد. آنالیز آماری حاکی از اثرات معنی‌دار پپتید است ( $F_{5,42} = 7.364; P < 0.001$ ). آزمون توکی نشان می‌دهد که داروی بومیزین در همه دوزهای مورد نظر، آستانه درد حاد را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داده است ( $P < 0.01$ ). البته این اثرات در دوز ۵ میکروگرم شاخص‌تر بود.



شکل ۱. اثرات بومیزین در دوزهای مختلف بر درد حاد در مدل ارزیابی HP. در مقایسه با گروه کنترل در موش کوچک آزمایشگاهی. محور عمودی نشان‌دهنده زمان پاسخ به درد برحسب ثانیه است.



شکل ۲. اثرات بومیزین در دوزهای مختلف بر درد حاد در مدل ارزیابی TF. در مقایسه با گروه کنترل در موش کوچک آزمایشگاهی. محور عمودی نشان‌دهنده زمان پاسخ به درد برحسب ثانیه است.

## بحث و نتیجه‌گیری

یافته اصلی این پژوهش این است که تزریق محیطی دوزهای مختلف بومیزین، آستانه درد حاد در دو مدل HP و

## تشکر و قدردانی

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

## منابع

- [1] Grubb BD. Peripheral and central mechanisms of pain. *Br J Anaesth*, 1998; 81(1):8-11.
- [2] 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.
- [3] 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):275-83.
- [4] Woodruff GN, Hall MD, Reynolds T, Pinnock RD. Bombesin receptor in the brain. *Ann N Y Acad Sci*, 1996; 780:223-43.
- [5] 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):429-37.
- [6] Panula P. Histochemistry and function of bombesin-like peptides. *Med Biol*, 1986; 64(4):177-92.
- [7] Pert A, Moody TW, Pert CB, Dewald LA, Rivier J. Bombesin: receptor distribution in brain and effects on nociception and locomotor activity. *Brain Res*, 1980; 193(1):209-20.
- [8] Zhu XZ, Ji XQ, Wu SX, Zou G. Sulpiride attenuates ranatensin-M-induced antinociception. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 1991; 12(4):291-3.
- [9] Cridland RA, Henry JL. Bombesin, neuromedin C and neuromedin B given intrathecally facilitate the tail flick reflex in the rat. *Brain Res*, 1992; 584(1-2):163-8.
- [10] Onogi T, Kagawa M, Minami M, Kuraishi Y, Satoh M. Intrathecal neuromedin C enhances mechanical nociception: possible involvement of NMDA receptors. *Eur J Pharmacol*, 1994; 262(1-2):163-6.
- [11] Carver-Moore K, Gray TS, Brown MR. Central nervous system site of Bombesin to elevate plasma concentration of catecholamine. *Brain Res*, 1991; 541(2):225-31.
- [12] Oroslo M, Rybarczyk MC, Rouch C, Cohen Y, Jatquot C. Cholecystokinin and Bombesin on vagotomized of intact and obese rats: effects of neurotransmitters in brain. *Neuropharmacology*, 1987; 26:575-9.
- [13] Dougherty PM, Staats PS. Intrathecal drug therapy for chronic pain: from basic science to clinical practice. *Anesthesiology*, 1999; 91:1891-918.
- [14] Banks WA, Kastin AJ. Peptide transport systems for opiates across the blood brain barrier. *Am J Physiol*, 1990; 259(1 Pt 1):E1-10.

(۲) اثر بر سیستم عصبی مرکزی. با توجه به عبور بومبیزین از سد خون مغز، احتمالاً بومبیزین می‌تواند در نواحی مختلفی از مغز موجب افزایش و فعال شدن سیستم‌های میانجی عصبی دخیل در درد گردد. برای مثال، تزریق آن به داخل هسته NTS موجب افزایش کاتکول‌آمین‌ها و نوراپی‌نفرین می‌شود [۱۱]. سیستم سروتونین هسته رافه به بومبیزین حساس است و یک ارتباط نزدیک بین فعالیت‌های بومبیزین و مسیر واگ وجود دارد [۱۲]. در مطالعه دیگری نشان داده شده که بومبیزین می‌تواند موجب فعال نمودن سیستم دوپامینی شود. در مطالعه دیگری دیده شده که بومبیزین، سروتونین و نورآدرنالین به شکل تنگاتنگی در هسته‌های لوکوس سروتوس و هسته سجافی با هم در ارتباط بوده و اثرات متقابل دارند [۴]. چون سیستم‌های نوترانسمیتری آدرنرژیک، سروتونرژیک، کولی‌نرژیک و دوپامینرژیک نقش مهمی در فرایند انتقال و احساس درد و مهار آن بازی می‌کنند [۱۳]، احتمالاً اثرات سیستمیک بومبیزین در مطالعه حاضر از طریق فعال نمودن این سیستم‌ها اعمال می‌گردد. البته در کنار این موضوع، از آن‌جا که بومبیزین قادر به عبور از سد خونی مغز می‌باشد [۱۴]، از این رو احتمال می‌رود که بومبیزین به صورت مستقیم بر سیستم عصبی مرکزی تأثیر بگذارد و سبب بی‌دردی شود.

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بومبیزین احتمالاً یکی از ترکیبات داخلی است که در کنترل درد حاد دخیل است. برای تعیین مکانیسم اثر آن، به مطالعات آتی نیاز است.