View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Sabzevar University of Medical Sciences Electronic Publications

اثرات بومبزین بر میزان ترشح آمیلاز غدد پاروتید در موش صحرایی

نادر شاهرخی *
دکتر احمدرضا دهپور ♠
دکتر هوشنگ فرمند •

بومبزین پپتیدی است که برای اوّلین بار از پوست قورباغه Bombina به دست آمده و تاکنون اثرات متعدّدی از آن گزارش شده است و نشان داده شده که بومبزین می‌تواند ، موجب تغییر فعّالیّت ترشّحی قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش گردد . در مطالعهٔ حاضر ، اثرات بومبزین بر میزان ترشّح آمیلاز غدد بزاقی پاروتید موش صحرایی در محیط Invitro بررسی شده است . از موش‌های صحرایی نر ، به وزن ۲۵۰ – ۲۰۰ گرم استفاده شده است . بومبزین در مقادیر (10^{-7} M ، 10^{-6} M) در مقایسه با ایزوپرن و محلول سالین ، بکار رفته است . نتایج نشان می‌دهد که بومبزین تغییرات واضحی در میزان ترشّح آمیلاز بوجود می‌آورد و به نظر می‌رسد که رسپتورهای بومبزین نقش مهمّی در ترشّح آمیلاز پاروتید موش صحرایی به عهده داشته باشند .

واژه‌های کلیدی: ***بومبزین ؛ آمیلاز ؛ غدد پاروتید ؛ موش صحرایی .***

مقدمه

موادّی که به عنوان دارو مورد مصرف قرار می‌گیرند؛ اثر خود را از طریق دخالت در مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سلول‌های مورد نظر به انجام می‌رسانند. بسیاری از این مواد، می‌توانند سیستم‌های آنزیمی و یا پاسخ‌های فیزیولوژیکی سلّول هدف را تغییر دهند، بخصوص هنگامی که با مقادیر مؤثّر بکار برده شوند.

یکی از راههای دست‌یابی به مجهولات، انجام آزمایشات و بررسی‌های گوناگون و مستمر در زمینه‌های مختلف بیولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌باشد و یکی از زمینه‌هایی که تاکنون بطور جدّی و پیگیر تحقیقات نسبتاً وسیعی در آن انجام شده و نتایج کاملاً واضحی را بدست داده است؛ بررسی‌های فارماکولوژیکی و فیزیولوژیکی می‌باشد؛ یعنی تشخیص اثر و

* عضو هیأت علمی دانشکده پرستاری جیرفت
♠ دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
• استاد دانشگاه تهران

مکانیسم‌های احتمالی، طریقهٔ عمل یک دارو یا یک مادّهٔ طبیعی موجود در بدن، بـر روی اعضـاء و انـدام‌هـای مختلـف حیوانـات آزمایشگاهی می‌باشد و تاکنون محقّقان مختلف در این زمینه به دست‌آوردهای بزرگی نائل گشته‌اند. امّا از آنجا کـه اسـرار هسـتی، چیزی در حدّ بـی‌نهایـت مـی‌بـاشـد؛ لذا در راه شناسایی عمل موادّ متعدّد سـاخته شـده در سلّول‌های بدن و خصوصـاً در زمینـهٔ اثـر داروهـــای مختلف و اثـرات متعدّد آنـهـا، ابهامات بسیاری موجود می‌باشد که امید است با پیگیریهای اهل علم و متخصصّـین کشورمان، پا به پا، همراه با دیگر محقّقان، در راه رسیدن به این ابهامات، همچون همیشه کوشا باشیم.

یکی از راههای بررسی اهمّیّت و اثرات موادّ صناعی و طبیعی بر سلّول‌های بدن، بررسی‌های آزمایشگاهی ترکیبات متعـدّد بـر روی حیوانات زنده و یا بافت‌ها و اندامهای زندهٔ آنها در خارج از بدن می‌باشـد. در ایـن زمینـه، محقّقـان احتیـاج بـه نمونـه‌هـای آزمایشگاهی خاص دارند که حتّی‌المقدور مکانیسم بدنی آنها، مشابه و نزدیک به مکانیسم بدن انسان باشد، همچنین دومـین عامـل مؤثّر در انتخاب نمونه‌های آزمایشگاهی، فراوانی و سهولت دستیابی به آنها می‌باشد؛ چرا که برای یک آزمایش و رسیدن بـه نتـایج دقیق‌تر، اغلب اوقات به تعداد زیادی نمونه احتیاج می‌باشد.

ثانیاً برای انجام هر آزمایش و تحقیقی وجود یک انگیزه لازم می‌باشد، لذا انگیزه‌ای که ما را بـر آن داشـت تـا ایـن تحقیـق را انجام دهیم؛ اوّلاً، اثرات ناشناختهٔ بومبزین ، که به طور طبیعی در بدن نیز موجود می‌باشد، بـر روی غـدد بزاقـی اسـت. اگـر چـه، مطالعات متعدّدی با این مادّه بر روی ترشّحات خارجی پانکراس و بر قسمت‌های متعدّد دستگاه گوارشی و اندام‌هـای دیگـر بـدن انجام گرفته است؛ ولی در مورد اثر آن، بر غدد بزاقی، با اطّلاعاتی که ما از منابع متعدّد بدست آوردیم؛ انجام نگرفته است.

بنابراین؛ بر آن شدیم که اثرات این مادّه روی غدد بزاقی و ترشّح بـزاِ را مـورد مطالعـه قـرار دهـیم تـا بتـوان مـوارد مصـرف داروهای پرقدرتی همچون بومبزین را بر اعمال دستگاه گوارش بطور مطلوب‌تری بیان کنیم و همچنین تا حـدودی مکانیسـم‌هـای احتمالی این مادّه بر اندام‌های دیگر بدن روشن‌تر گردد.

روش پژوهش

در این آزمایش، از موش‌های نر با وزن ۲۵۰ – ۲۰۰ گـرم اسـتفاده مـی‌شـد. ابتـدا حیـوان را از قفـس‌هـای دسـته جمعـی در حیوانخانهٔ مرکزی جدا کردیم و به محلّ کار انتقال دادیم (کلّیهٔ موش‌ها در شرایط کاملاً طبیعـی پـرورش و نگهـداری مـی‌شـدند). سپس آنها را وزن می‌کردیم (اوزان ۲۵۰–۲۰۰ گرم برای آزمایش انتخاب می‌شد). حیوان برای خارج کـردن غـدد بناگوشـی آمـاده بود. برای خارج نمودن غدد بناگوشی حیوان، ابتدا با دادن شوک که توسّط ضربه‌ای به سـر حیـوان وارد مـی‌شـد؛ حیـوان بیهـوش می‌گشت، حتّی' در برخی موارد مبادرت به نخاعی کردن حیوان می‌کردیم.

سپس با قرار دادن حیوان روی تختهٔ مخصوص و ثابت کردن آن، با دقّت خاصّی مبادرت به خارج کردن غدد بناگوشی حیوان می‌کردیم و غدّه‌های جدا شده را در ظروف محتوی مقدار کمی از "مدیا" قرار می‌دادیم.

برای هر بار آزمایش، حدود ٦ – ٤ غدّهٔ بناگوشی مورد آزمایش قرار می‌گرفت. پس از جدا نمودن غدد مـذکور، مبـادرت بـه تمیزکردن آنها می‌نمودیم و سپس غدّه‌های تمیز شده را به قطعات کوچکی تقسیم مـی‌کـردیم و بـه میـزان کـاملاً مسـاوی از ایـن قطعات در سه ویال محتوی "مدیا" وارد می‌کردیم. از این سه ویال، با بر چسب، یکی را بـرای کنتـرل، یکـی را بـرای ایزوپـرین (IPR) و دیگری را برای بومبزین (بعنوان تجربه) مشخّص می‌نمودیم.

سپس بلافاصله در دقیقهٔ صفر، به ویال ایزوپرن مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول ایزوپرن یک میکرومـولار ($\acute{M}$ ۱) کـه از قبـل تهیّه شده بود؛ اضافه می‌کردیم. لازم به ذکر است که هر سه ویال را پس از وارد کـردن قطعـات غـدّه بـه بـن‌مـاری $37^{\circ}C$ انتقـال می‌دادیم و حدود ۱۰ دقیقه در این محیط، ویال‌ها را انکوبه می‌کردیم.

پس از ۱۰ دقیقه محتویات ویال‌ها را در سه پلیت جداگانه تخلیه می‌کردیم و با محلول "مدیا" کاملاً شستشو می‌دادیم و مجدداً آنها را به ویال‌های مخصوص خود انتقال داده و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از "مدیای" ساخته شده را به هر ویال اضافه می‌کردیم و بلافاصله یعنی دقیقهٔ صفر، بعد از این عمل از هر سه ویال به میزان ۲۰ میکرولیتر نمونه می‌گرفتیم و نمونه‌ها را در لوله‌های آزمایش مجزّایی قرار می‌دادیم و پس از این عمل، ویال‌ها را به بن ماری $37^{\circ}c$ منتقل می‌کردیم. سپس در دقیقهٔ ۵ نیز از هر ویال به میزان ۲۰ میکرولیتر نمونه می‌گرفتیم و در لوله‌های آزمایش مجزّایی (که با برچسب مشخّص بودند) وارد می‌کردیم.

در دقیقهٔ دهم به "ویال ایزوپرن" مقدار ۵۰ میکرولیتر محلول ایزوپرن ۱۰ میکرومولار که از قبل تهیّه شده بود؛ اضافه می‌کردیم و به ویال بومبزین مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های بومبزین (10^{-6} M، 10^{-7} M) مولار که از قبل تهیّه شده بودند، اضافه می‌کردیم و به ویال کنترل همین مقدار یعنی ۵۰ میکرولیتر سالین اضافه می‌کردیم و سپس ویال‌ها را به بن‌ماری منتقل می‌کردیم و بلافاصله از هر ویال، به مقدار قبلی، نمونه می‌گرفتیم (نمونه‌گیری در دقیقهٔ دهم). سپس نمونه‌گیری را در دقایق ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ ادامه می‌دادیم.

بومبزین باعث تحریک متابولیسم پولی فسفواینوزیتیدها شده و از این طریق، تولید دی‌اسیل گلیسرول و اینوزیتول‌تری فسفات را باعث می‌شود .

لازم به تذکّر است که در تمام طول آزمایش به ویال‌های محتوی غدد، اکسیژن وارد می‌کردیم. بعد از پایان هر بار آزمایش به طریق بالا، غده‌های محتوی هر ویال را ابتدا با کاغذ صافی خشک می‌کردیم و سپس آنها را وزن می‌نمودیم و وزنهای آنها را یادداشت می‌کردیم.

همچنین برای هر واحد مصرفی بومبزین تعداد آزمایشات به اندازه‌ای بود که گویای نتایج آماری باشد. حدّاقل تعداد آزمایشات برای هر واحد بومبزین پنج بار بود.

پس از اتمام نمونه‌گیری، جهت اندازه‌گیری میزان آمیلاز نمونه‌ها بایستی نمونه‌های گرفته شده را رقیق نمود. برای این کار، نمونه‌های گرفته شده تا دقیقهٔ ۱۵ را، ۲۰۰ بار و بقیّهٔ نمونه‌ها را، به میزان ۴۰۰ بار، رقیق نمودیم و سپس برای اندازه‌گیری میزان آمیلاز مورد استفاده قرار دادیم.

اندازه‌گیری آمیلاز بناگوشی

این عمل را بوسیلهٔ کمیّت‌های آمیلاز خریداری شده انجام می‌دادیم که ابتدا محلول‌های مناسبی بر طبق کیت تهیّه می‌کردیم و پس از تهیّهٔ محلولهای ذکر شده، مبادرت به اندازه‌گیری مقدار آمیلاز، توسّط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر در مقابل آب مقطّر می‌خواندیم و اعداد خوانده شده برای هر نمونه را یادداشت نموده و با استفاده از رابطهٔ زیر، مقدار آمیلاز موجود در هر نمونه را بدست می‌آوردیم :

مقدار آمیلاز درصد میلی لیتر = ۸۰۰ * جذب بلانک جذب آزمایش – جذب بلانک

یافته‌ها

نتایج موجود در جدول شمارهٔ ۱، متوسّط مقدار آمیلاز ترشّح شده بر حسب واحد آمیلاز بر دقیقه، بر گرم وزن غدّه از غدد پاروتید را در In vitro و همچنین دو مقدار بومبزین (10^{-7} M و 10^{-6} M) را، در مقایسه با ایزوپرتونول و کنترل، در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که نتایج نهایی حاصله در نمودارهای (۱) و (۲) مشخّص شده است.

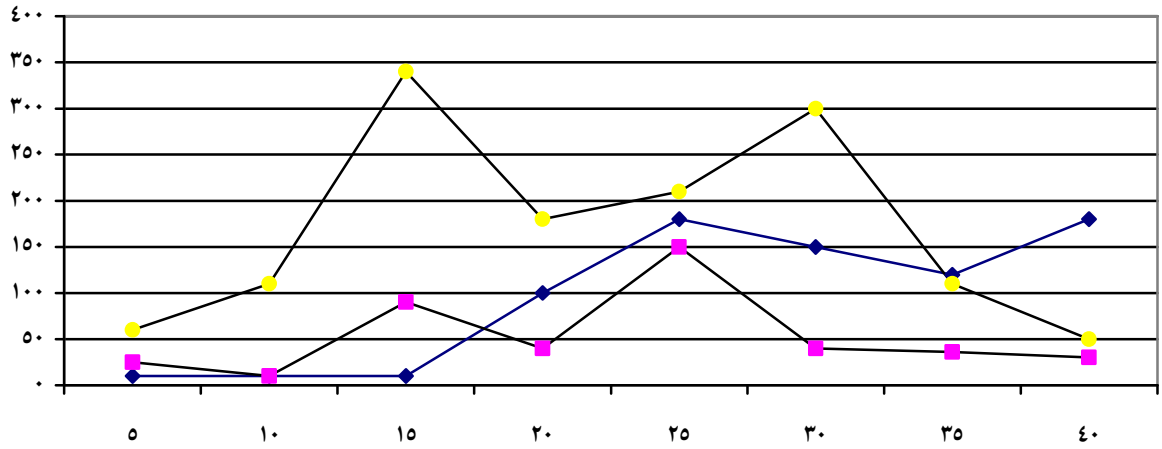
بحث

بومبزین با مقادیر استفاده شده (10^{-7} M, 10^{-6} M) در In vitro مقدار آمیلاز ترشّح شده در غدّد بزاقی پاروتید را افزایش می‌دهد (نمودارهای ۱ و ۲).

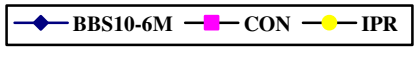
در ارتباط با اثر تحریکی بومبزین در ترشّح آمیلاز از غدّد پاروتیدی در In vitro چنین می‌توان بیان کرد که بومبزین باعث تحریک متابولیسم پولی فسفواینوزیتیدها شده و از این طریق، تولید دی‌اسیل گلیسرول (DAG) و اینوزیتول‌تری فسفات (IP3) را باعث می‌شود(۵،۷و۸). در این آزمایش نشان داده شد که پروتئین کیناز c (PKC) در ترشّح آمیلاز نقش دارد و فعّال شدن (PKC) بستگی به حضور DAG دارد (۵و۱۲) و از این طریق، می‌توان اثر تحریکی بومبزین در ترشّح آمیلاز در In vitro را توجیه نمود.

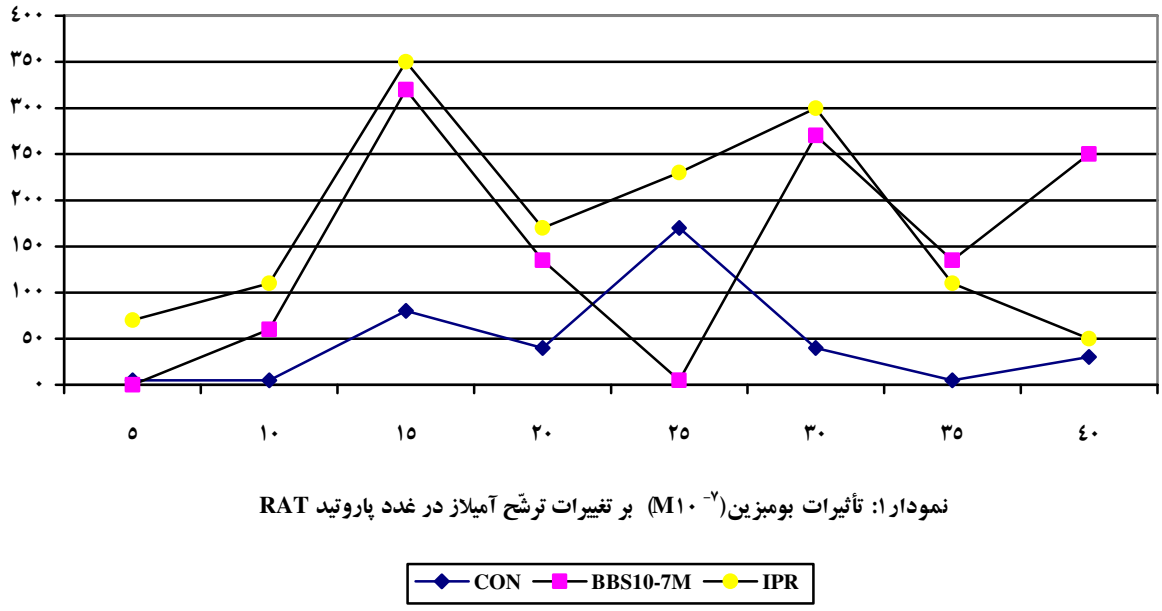
جدول ۱: مقادیر ترشّح آمیلاز در آزمایش In vitro از غدد پاروتید

بومبزین 10^{-7} M	بومبزین 10^{-6} M	ایزوپروترنول 10^{-5} M	کنترل (سالین)	زمان بر حسب دقیقه
۲۲/۹	۱۷/۸٤	۶۵/۳٤	۱۱/۳۶	۰-۵
۱۱/۳	۶۵/۰۲	۱۰۵/۵٤	۱٤/۷٤	۵-۱۰
۱۰/۸	۳۱۲/٤	۳۵۵/۵٤	۵۹/۵۱	۱۰-۱۵
۹۷/٤	۱۳۳/۰٤	۱۶۷/۲۹	٤۰/۵۶	۱۵-۲۰
۱۹٤/۸	۹/۸	۲۱۳/۶	۱۶۸/۵۹	۲۰-۲۵
۱۵۳/۷	۲۸۳/۳	۳۰۶	٤۲/۶۳	۱۵-۳۰
۱۱۲/٤	۱۲۵/۳۶	۱۰۲	۳۸/۱۳	۳۰-۳۵
۱۸۶/۵	۱۵۰/۹	۵۳	۲٤/۷	۳۵-٤۰



نمودار۱: تأثیرات بومبزین(10^{-6}M) بر تغییرات ترشّح آمیلاز در غدد پاروتید RAT





نمودار۱: تأثیرات بومبزین($M10^{-7}$) بر تغییرات ترشّح آمیلاز در غدد پاروتید RAT

Abstract

The Effects of Bombesin upon Ratio of Parotid Glands' Secretion of Amylase by the Invitro Method in Rats

Bombesin (BBS - atatradecapeptide) , first isolated from the skin of the discoglosside frog Bombina Bombina , has been reported to have numerous effects . It has been demonstrated that the BBS can alter the secretion of alimentary tract at different regions . Within the present study , effects of the BBS upon the rats' parotid salivary glands' rate of secretion of amylase was investigated by the invitro method . Male Sprauge Dawley rats weighing 200 - 250 g were used in this study . BBS was used at doses of 10^{-7} M , 10^{-6} M in comparison with those for Isoprene and the Saline solution . Our results showed that the BBS caused a significant alteration in the amylase secretory rate and it seems that the BBS receptors might have played an important role in the rats' parotid secretion of amylase .

Key words: *Bombesin ; Amylase ; Rats Parotid Glands .*

منابع

1. Bronislaw L . Slomiany , shipra sengupta , Elzbieta piotrowski , Ramon A . Lopez and Amalia slomiany. Role of a drenergic and cholinergic meeiators in salivary phospholipids secretion . Biochimica et. Biophysica Acta. 1124. 1992. PP 171-177.
2. C. Dawes. Stimulus Effects on protein and Electrolyte Concentrations in parotid saliva . J . physiol; 346. 984. pp. 579-588 .
3. Colin A. Helman and Basil I. Hirschowitz . Divergent effects of bombesin and bethanechol on stimulated gastric secretion in duodenal ulcer and in normal men . Gastroenterology . 92 : 1987 . PP 1926 - 33 .
4. Cstock - Damge , Elhoste , M . Aprahamian and A pouss . Effect of chronic bombesin on pancreatic size , composition and secretory function in the rat . Gut . 28 . 1987 . si 1 - 7 .

5. C- Y. Wu - Wang , S - L . Wang , C . Lim , A . Slomi any and B . L . Slominay . Impairment by ethanol of prostaglandin production in rat salivary gland . Archs oral Biol . Vol . 36 . No . 1 . 1991 . pp 9 - 13 .
6. D. J. Hill and T. J. Mc Donald. Mitogenic action of gastrin - releasing polypeptide on isolated epiphyseal growth plate chondrocytes from the ovine fetus . Endocrinology . Vol 130 . No. 5 . 1992.pp 28ll - 2819 .
7. D. V. Gallacher , M . R . Hanley , O . H . Petersen , M . L . Roberts , L . G . Squire - pollard and D . I. Yule . substance p and bombesin elevate cytosolic ca by different molecular mechanisms in a rat pancretic acinar cell line . J. of physiology . 426 . 1990 . pp 193 - 207 .
8. Enrique Rozengurt . Bombesin stimulation of mitogenesis . AM Rev . Respir Dis ;142 : 1990 . PP 511 - 514 .
9. F . Hata and O . Yagaski . Re-evalution of the stimulatory effect of norepinephrine on the secretion of amylase in the parotid gland of the rat . Neuropharmacology . Vol . 28 . No 10 . 1989 . pp 1099-1105 .
10. Fred R . Butcher . James A . Gold man and Mark Neme rovski . Effect of adrenergic agents on a-amylase release and adenosine 3 , 5 - monophosphate accumulation in rat parotid tissue slices . Biochimica et Biophysica Acta 392 . 1975 . PP 82 - 94 .
11. Guit - Fangjin , MD , Yan - shi Guo , MD , and clifford W . Houston , PHD . Bombesin : an activator of specific aeromonas antibody secrection in rat intestine . Digestive Diseases and sciences . Vol 34 . No 11 . 1989 . pp 1708 - 1712 .