

اثرات سدیم فلوراید بر فعالیت آنزیم ترانس آمینازوغلظت پروتئین تام سرم موش صحرایی

دکتر دردی قوجق^۱، بردیا لقایی^۲، عبدالرضا محمدقلیپور^۳، نورالدین سلیمانی^۴، شعبان حسن زاده^۵

Title: Effect of sodium fluoride on serum total protein levels and transaminase activity in rats.

Authors: Qujeq D.¹, Laghaie B.², Mohammedgholipour A.³, Solimani N.⁴, Hasenzadeh Sh.⁵,

Abstract : Sodium fluoride may effect on the protein metabolism. This study was designed to determine the effects of sodium fluoride on total serum protein and transaminase activity in rats. Transaminase activity and serum total protein level were tested in adult male Spragu-Dawley rats (210-250g) after treating with sodium fluoride at 10-30 mg/kg dose level daily for 90 days. Transaminase activity was measured by determination of NAD at 340 nm by spectrophotometer. Serum total protein was measured by sepectrophotometer at 750 nm. After ingestion of sodium fluoride for 90 days the average serum total protein level of the rats in the treatment group was decreased significantly compared to that in the control group [1.9 +/-0.1 (mean +/-SD,n=140) vs. 3.1+/-0.2] mg/dl. Serum transaminase activity in the treatment group was increased compared to that in the control [5.3 +/- 0.4 (mean+/-SD) ,n=14) vs. micro mol/min/ml. The average total serum protein level of the rats in the treatment group was decreased significantly compared to that in the control, also serum transaminase activity in the treatment group was increased compared to that in the control.

Keywords: Sodium fluoride, Serum total protein, Transaminase.

1- Department of Biochemistry and Biophysics, Babol University of Medical Sciences, Babol, IRAN

2- General Physition.

3- Laboratory Staff.

4- Laboratory Staff.

5- Laboratory Staff.

۱- دانشیار دانشگاه علوم پزشکی بابل .

۲- پزشک.

۳- کارشناس آزمایشگاه.

۴- کارشناس آزمایشگاه.

۵- کارشناس آزمایشگاه.

خلاصه

مصرف مقدار زیاد سدیم فلوراید ممکن است باعث تغییر متابولیسم پروتئین های بدن شود. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات مصرف سدیم فلوراید بر میزان پروتئین تام و فعالیت آنزیم ترانس آمیناز در سرم موش صحرائی است. فعالیت آنزیم ترانس آمیناز و غلظت پروتئین تام سرم در موش صحرائی با مصرف سدیم فلوراید با دوز ۳۰-۱۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن موش صحرائی به مدت ۹۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. غلظت پروتئین تام سرم هر یک از نمونه ها با استفاده از روش لوری اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین تام هر یک از نمونه ها محاسبه گردید. فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم با استفاده از روش تبدیل کوآنزیم NADH به کوآنزیم NAD^+ اندازه گیری شد، بطوریکه مقدار NAD^+ متناسب با مقدار فعالیت آنزیم بود. یافته های حاصل نشان دادند که مصرف سدیم فلوراید فعالیت آنزیم ترانس آمیناز را در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل افزایش می دهد ($5/3 \pm 0/4$ در مقابل $3/2 \pm 0/3$ بر حسب میکرومول در دقیقه در میلی لیتر). همچنین غلظت پروتئین تام سرم نیز در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد ($1/9 \pm 0/1$ در مقابل $3/1 \pm 0/2$ بر حسب گرم در دسی لیتر). سدیم فلوراید در دوز های بالا میزان مصرف غذا، وزن بدن و میزان پروتئین تام سرم موش صحرائی را کاهش داده و فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم را افزایش می دهد.

کل واژه گان : سدیم فلوراید، پروتئین تام سرم ، فعالیت آنزیم ترانس آمیناز

مقدمه

شده است که سدیم فلوراید در مکانیسم عمل هورمونها بطریقه مختلف مانند فعال نمودن G-proteine غشاء سلولی و یا از طریق مهار فعالیت تیروزین فسفاتاز دخالت می کند (۴). مطالعات انجام یافته بر روی خصوصیات مهاری سدیم فلوراید در مکانیسم بیوسنتز پروتئین ها در رتیکولوسیت های خرگوش حاکی از این بود که افزایش سدیم فلوراید سبب عدم تشکیل ریبوزوم به دلیل ممانعت از اتصال زیر واحد بزرگ ریبوزوم به زیر واحد کوچک آن می شود (۵). فیلاوی و همکارانش نشان دادند که تجویز مقدار ۵/۲ میلی گرم فلوراید در هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرائی به مدت ۳۵ روز باعث کاهش وزن بدن موش، برداشت غذایی آنها و همچنین شمارش گلبولهای سرخ، پروتئین تام و آلبومین،

به دلیل نقش محافظتی سدیم فلوراید از پوسیدگی دندانها، این ترکیب به مقدار ۰/۷ تا ۱/۲ میلی گرم در لیتر به آب آشامیدنی اضافه می شود (۱). اما مصرف مقدار زیاد سدیم فلوراید علایم مسمومیت را نشان می دهد. آب های سنگین حاوی مقدار زیاد فلوراید از مقدار ۱ تا ۲۵ میلی گرم در لیتر می باشد (۲). محققان گزارش داده اند که افزایش غلظت سدیم فلوراید در بدن، اثرات سوء بر ساختمان و عمل بافت های نرم بدن دارد (۳). همچنین محققان نشان داده اند که افزایش سدیم فلوراید با غلظت ۶۰-۴۰ میلی مول در لیتر فعالیت آنزیم پروستاگلاندین H سنتتاز را در سلولهای اندوتلیال سرخرگ نشخوارکنندگان افزایش می دهد. گزارش

۲۵ درصد، کربوهیدرات ۳۵ درصد و پودر سلولز ۱۵ درصد) استفاده کردند. موش های صحرایی در شرایط ۲۵-۱۸ درجه و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی پرورش داده شدند. حیوان آزمایشگاهی به دو گروه تقسیم شدند:

گروه مورد مطالعه به تعداد ۳۶ سر که به مدت ۹۰ روز با افزودن سدیم فلوراید با دوز ۳۰-۱۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی و غذای استاندارد تغذیه شدند.

گروه کنترل: تعداد ۳۶ سرموش های صحرایی گروه کنترل با شرایط استاندارد و بدون مصرف سدیم فلوراید تغذیه شدند (چربی ۱۵ درصد، مخلوط مواد معدنی و ویتامین ۱۰ درصد، پروتئین ۲۵ درصد، کربوهیدرات ۳۵ درصد و پودر سلولز ۱۵ درصد).

پس از هفته اول به مدت ۸۳ روز، وزن بدن موش های آزمایشگاهی و مصرف غذای هر دو گروه اندازه گیری می شد و در هر هفته، نمونه خون از دم موش تهیه می گردید.

روش ها

غلظت توتال پروتئین سرم با روش لوری در آزمایشگاه بیوشیمی اندازه گیری شد (۹). با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین تام هر یک از نمونه ها محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم با روش رج اندازه گیری شد (۱۰). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ترانس آمیناز از روش تبدیل کوآنزیم NADH به کوآنزیم NAD⁺ استفاده شد، بطوریکه مقدار NAD⁺ متناسب با مقدار فعالیت آنزیم بود. برای انجام پژوهش به مقدار ۲ میلی لیتر از معرف آنزیمی ۲۰۰ میکرولیتر از

کلسترو و گلوکز و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم و ترانس آمیناز می شود (۶). مونسور و همکارانش نشان دادند که تجویز مقدار ۲۰ میلی گرم سدیم فلوراید در هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی، بر غلظت آلبومین و توتال گلوبولین ها تاثیر قابل توجهی ندارد (۷). مطالعات مختلف نشان داده است که غلظت کم سدیم فلوراید تاثیری بر روی سنتز پروتئین و آنزیمهای شرکت کننده در مسیر کاتابولیسم پروتئینها، ترانس آمیناز ها، در لوله آزمایش ندارد (۸). با توجه به مصرف سدیم فلوراید برای جلوگیری از پوسیدگی دندانها باید اثرات سمی افزایش غلظت سدیم فلوراید در بدن بر ساختمان و عمل بافت ها، فعالیت هورمونها و آنزیم ها، مورد بررسی و توجه قرار گرفته و افزایش غلظت آن در آب و مواد غذایی کنترل شود. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات افزایش غلظت سدیم فلوراید بر میزان پروتئین تام و فعالیت آنزیم ترانس آمیناز در سرم موش صحرایی است.

مواد و روش ها

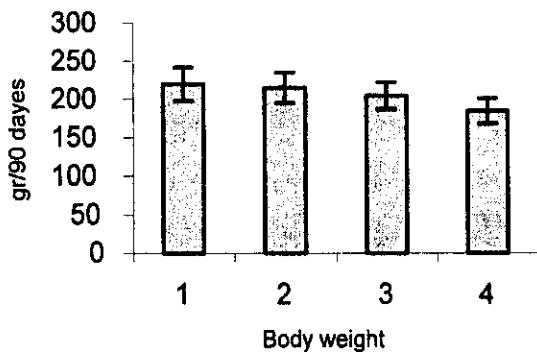
مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی استفاده شده در این تحقیق در حد آزمایشگاهی خالص بوده و از نمایندگی شرکت مواد شیمیایی سیگما خریداری شدند. همه محلولهای آزمایشگاهی با آب مقطر عاری از یون تهیه گردید.

حیوان آزمایشگاهی

تعداد ۷۲ سرموش صحرایی (Spragu-Dawley Rat) از جنس نر با وزن ۲۵۰-۲۱۰ گرم و سن ۱۲-۸ هفته، برای پژوهش استفاده شد. همه حیوانات مورد آزمایش سالم بودند. حیوان آزمایشگاهی در قفسه های شش تایی نگه داری شدند و آب و غذای استاندارد (چربی ۱۵ درصد، مخلوط مواد معدنی و ویتامین ۱۰ درصد پروتئین

نمودار ۱: اثرات سدیم فلوراید بر مقدار مصرف غذا موش صحرایی در دوز های مختلف سدیم فلوراید. گروه کنترل ستون (۱)، گروه مورد مطالعه با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۲)، گروه مورد مطالعه با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۳)، گروه مورد مطالعه با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۴). مدت بررسی ۹۰ روز. هر یک از ستونها بر حسب مقدار میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده است. $P < 0.05$ برای مقایسه گروههای مورد مطالعه با گروه کنترل در نظر گرفته شد.



نمودار ۲: اثرات سدیم فلوراید بر وزن بدن موش صحرایی در دوز های مختلف سدیم فلوراید. گروه کنترل ستون (۱)، گروه مورد مطالعه با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۲)، گروه مورد مطالعه با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۳)، گروه مورد مطالعه با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۴). مدت بررسی ۹۰ روز. هر یک از ستونها بر حسب مقدار میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده است. $P < 0.05$ برای مقایسه گروههای مورد مطالعه با گروه کنترل در نظر گرفته شد.

همچنین اثرات دوز های مختلف سدیم فلوراید بر وزن بدن موش صحرایی در مدت سه ماه نشان داده شده است (نمودار ۲). مقایسه یافته های ارائه شده در نمودار ۲ نیز نشان می دهند، که سدیم فلوراید در دوز های بالا میزان وزن بدن موش صحرایی را کاهش می دهد و اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و گروه مورد مطالعه مشاهده شد. (با $P < 0.05$ مقایسه بین گروهها انجام شد).

اثرات دوز های مختلف سدیم فلوراید بر مقدار پروتئین تام سرم موش صحرایی در مدت سه ماه نشان داده شده است (نمودار ۳). همانگونه که نتایج بدست آمده در

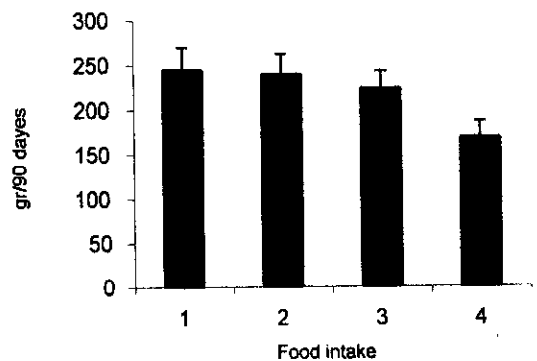
نمونه تهیه شده اضافه گردید و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از ترکیب آلفا-کتوگلو تارات اضافه شد و در فاصله هر ۳ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر جذب نوری هر یک از نمونه ها اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد فعالیت آنزیمی محاسبه گردید.

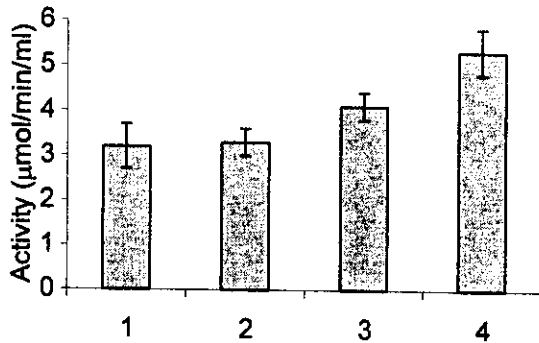
روش آماری

نتایج بر حسب میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شدند و برای مقایسه نتایج بین دو گروه از روش آماری Students t-test استفاده شد و اختلاف دو گروه کنترل و مورد مطالعه با $P < 0.05$ به عنوان معنی دار تلقی شد.

نتایج

اثرات دوز های مختلف سدیم فلوراید بر مقدار مصرف غذا در موش صحرایی در مدت سه ماه نشان داده شده است (نمودار ۱). مقایسه یافته های ارایه شده در نمودار ۱ نشان می دهند، که سدیم فلوراید در دوز های بالا میزان مصرف غذا را کاهش می دهد و اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و گروه مورد مطالعه مشاهده شد. (با $P < 0.05$ مقایسه بین گروهها انجام شد).



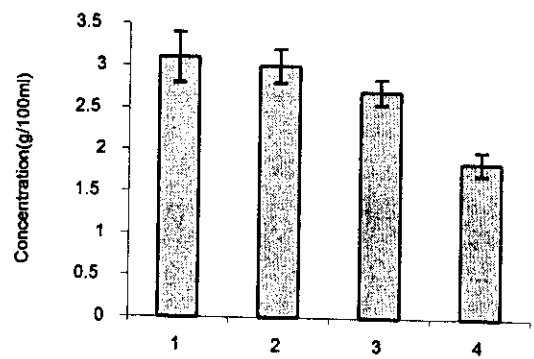


نمودار ۴: اثرات سدیم فلوراید بر فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم موش صحرائی در دوز های مختلف سدیم فلوراید. گروه کنترل ستون (۱)، گروه مورد مطالعه با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۲)، گروه مورد مطالعه با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۳)، گروه مورد مطالعه با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی ستون (۴) مدت بررسی ۹۰ روز. هر یک از ستونها بر حسب مقدار میانگین \pm انحراف معیارارایه شده است. $P < 0.05$ برای مقایسه گروههای مورد مطالعه با گروه کنترل در نظر گرفته شد.

بحث

نتایج این پژوهش نشان دادند، که میزان مصرف غذا، وزن بدن و غلظت پروتئین تام سرم در گروه موش های صحرائی که از سدیم فلوراید استفاده کرده اند به ترتیب تا ۲۳، ۲۱ و ۳۹ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد. یافته های این پژوهش با نتایج سایر محققان از جمله فیلاوی و همکارانش (۶) نشان دادند که تجویز مقدار ۵/۲ میلی گرم فلوراید در هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرائی به مدت ۳۵ روز باعث کاهش وزن بدن موش شده و، برداشت غذایی آنها ۲۰ تا ۲۵ درصد می شود، همچنین با گزارش سایر محققان که کاهش در مصرف غذا و وزن بدن و کاهش پروتئین تام را در اثر مصرف سدیم فلوراید گزارش کرده اند منطبق و قابل مقایسه است (۱۴-۱۱). در خصوص کاهش میزان پروتئین تام سرم در گروه کنترل دلایل مختلفی می توان

نمودار ۳ نشان می دهند، سدیم فلوراید در دوز های بالا میزان پروتئین تام سرم موش صحرائی را کاهش می دهد و تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و گروه مورد مطالعه مشاهده شد. (با $P < 0.05$ مقایسه بین گروهها انجام شد). اثرات دوز های مختلف سدیم فلوراید بر فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم موش صحرائی در مدت سه ماه نشان داده شده است (نمودار ۴). یافته های حاصل در نمودار ۴ نشان می دهند، که سدیم فلوراید در دوز های بالا میزان فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم موش صحرائی را افزایش می دهد. اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و گروه مورد مطالعه مشاهده شد. (با $P < 0.05$ مقایسه بین گروهها انجام شد). در این نمودارها گروه کنترل در ستون اول و گروههای مورد مطالعه با دوز مصرفی ۳۰-۱۰ میلی گرم سدیم فلوراید بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرائی به ترتیب در ستونهای دوم تا چهارم نشان داده شده است.



نمودار ۳: اثرات سدیم فلوراید بر مقدار توتال پروتئین سرم موش صحرائی در دوز های مختلف سدیم فلوراید. گروه کنترل (۱)، گروه مورد مطالعه با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی (۲)، گروه مورد مطالعه با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی (۳)، گروه مورد مطالعه با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش آزمایشگاهی (۴) مدت بررسی ۹۰ روز. هر یک از ستونها بر حسب مقدار میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده است. $P < 0.05$ برای مقایسه گروههای مورد مطالعه با گروه کنترل در نظر گرفته شد.

گزارش سایر محققان قابل مقایسه و منطبق است و به موازات یافته های قبلی، این پژوهش است (۱۷-۱۵). افزایش فعالیت آنزیم ترانس آمیناز با مصرف سدیم فلوراید در موش صحرایی ممکن است با تحریک مسیر کاتابولیسم پروتئین های سرم ارتباط داشته باشد، زیرا با تحریک مکانیسم کاتابولیسم پروتئین ها مقدار اسیدهای آمینه افزایش یافته و به موازات آن فعالیت ترانس آمیناسیون نیز افزایش می یابد. این یافته ها نیز با نتایج سایر محققان که افزایش فعالیت آنزیم های شرکت کننده در مسیر کاتابولیسم پروتئین ها را گزارش داده اند منطبق و قابل مقایسه است (۱۶ و ۱۷). با توجه به یافته های حاصل از این پژوهش، اگر چه سدیم فلوراید از پوسیدگی دندانها جلوگیری می کند، اما افزایش غلظت آن در آب و مواد غذایی می تواند اثرات سمی بر فاکتورهای بیوشیمیایی داشته باشد، بنابر این دوز مصرفی سدیم فلوراید بخصوص در اطفال باید کنترل شود، تا از عوارض جانبی آن جلوگیری گردد.

تقدیر و تشکر

از حمایت های معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی قدردانی می شود.

ذکر کرد. از جمله کاهش مصرف غذا، ممکن است سبب کاهش میزان پروتئین تام سرم در گروه مورد مطالعه، نسبت به گروه کنترل شود. مکانیسم دیگر، ممکن است سدیم فلوراید بر متابولیسم پروتئین ها تاثیر داشته باشد بطوریکه پروتئین های تام سرم از طریق تغییر و مهار مسیر بیوسنتز و یا تحریک تجزیه پروتئین ها کاهش یابد، با توجه به اینکه پروتئین های بافت های بدن بسیار حساس است، نقش این فاکتور ها در کاهش پروتئین تام سرم بیشتر است (۱۵). میزان پروتئین های تام سرم بیشتر در صورت مهار مسیر بیوسنتز پروتئین ها و یا تحریک مسیر کاتابولیسم، پروتئین ها کاهش می یابد. سدیم فلوراید آنزیم ATPase را که در مکانیسم جذب اسیدهای آمینه توسط بافت های بدن و همچنین در شرکت اسیدهای آمینه در مسیر بیوسنتز پروتئین ها نقش مهمی دارد، مهار می نماید. بنابراین با مهار این آنزیم، بیوسنتز پروتئین های بدن نیز مهار شده و در نهایت غلظت پروتئین های تام سرم کاهش خواهد یافت (۱۶ و ۱۷). همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده است که فعالیت آنزیم ترانس آمیناز سرم در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل به میزان ۶۵ درصد افزایش می یابد. این یافته ها نیز با

References:

- 1-Yiamouyiannis,JA.: Water fluoridation and tooth decay:Results from 1986-1987 national survey of US school children .Fluoride 1990, 23:55-60.
- 2- WHO(world Health Organization): Environmental Health Criteria 36, Fluorine and Fluoride, Geneva,1984, 1:25-36.
- 3- Michael, M. Barot, V.V. Chinoy, NJ.: Investigation of soft tissue function in fluorotic individuals of north Gujarat.Fluoride. 1996, 29: 63-67.
- 4- Rosenstock, M. Danon, A. and Rimon, G.: Prostaglandin H synthase: Protein synthesis-independent regulation in bovine aortic endothelial cells.The American physiology Society1997, 1:1749-1755.
- 5- Hoerz, W. and McCarty, KS.: Initiation of protein synthesis in a rabbit reticulocyte lysate system. Biochim. Biophys. Acta . 1971, 228, 526-535.
- 6- Pillai, KS. Mathai, AT. Deshmukh, PB.: Effect of substance dosage of fluoride on male mice.Toxicol Lett. 1988, 44:21-29.
- 7- Monsour, PA. Kruuger, BJ.Smid, JR.: Effects of a single intravenous dose of sodium fluoride on plasma electrolytes and metabolites in rats , rabbits ,and cockerels.J. Dent.Res. 1985, 64: 1281-1285.
- 8-Kopp, JB. Robey, PG.: Sodium fluoride does not increase human bone cell proliferation or protein synthesis in vitro.Calcif Tissue Int. 1990, 47: 221-229.
- 9- Lowry, OH. Rosenbrough, NJ. Farr, LA. and Randall, RJ.: Protein measurement with the folin phenol. J. Biol.Chem.1951, 193:256-257.
- 10- Rej, R.: A convenient continuousrate spectrophotometric method for determination of amino acid substrate specificity of aminotransferases,application to isoenzymes of aspartate aminotransferases .Anal. Biochem. 1982, 119: 205-211.
- 11- Harrison, JE .Hitchman, A.J.W. Hasay, S.A. Hitchman, A.Tam,C.S.: The effect of diet calcium on fluoride toxicity in growing rats. Can.J. Physiol. Pharmacol. 1983, 62:259-264.
- 12-Pillai, KS. Mathai, AT. Deshmukh, PB.: Effect of subacute dosage of fluoride on male mice. toxicol. Lett. 1988, 44:21-25.
- 13- Shashi, A.Singh, JP.Thapar, SP.:Protein degradation in skeletal muscle of rabbit during experimental fluorosis.Fluoride.1992, 25:155-159.
- 14- Chinoy, NJ.Sharma, M.Michael, M.: Beneficial effects of ascorbic acid on reversal of fluoride toxicity in male rats.Fluoride. 1993, 26: 45-50.

15- Holland, I.: Fluoride inhibition of protein and DNA synthesis in cell in vitro. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1979, 45: 96-101.

16- Opat, L.J. Potter, H. Charnock, J.S.: The effect of anions on (Na-K)-activated ATPase. *Biochem.*

Biophys. Acta. 1966, 120: 159-164.

17- Hoertz, W. McCarty, K.S.: Inhibition of protein synthesis in a rabbit reticulocyte lysate system. *Biochem. Biophys. Acta.* 1971, 228: 526-530.