

تأثیر کلسیم، ویتامین D، بورون و فلوراید بر مقاومت مکانیکی بافت استخوان در موش صحرائی

زهرا گل آور^۱، سید همایون صدرائی*^۱، غلامرضا کاکا^۲، محمد رضا نقی‌ئی^۳، گیتی ترکمان^۴، قادر غنی‌زاده^۵، محمد حسین اسدی^۱، محمود مفید^۱

^۱ گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)
^۲ مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)،
^۳ گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)
^۴ گروه فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
^۵ گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

چکیده

سابقه و هدف: تغذیه احتمالاً نقش مهمی در استحکام و سلامت استخوان دارد و برای دستیابی به یک استخوان سالم و مقاوم نیاز به یک رژیم غذایی متنوع و متعادل می‌باشد. در تحقیق حاضر، تأثیر مواد مغذی انتخابی (کلسیم، ویتامین D و بورون) (B و Ca ، D و F) و مصرف فلوراید (F) بر مقاومت مکانیکی بافت استخوان در موش صحرائی بررسی گردید.

روش بررسی: تحقیق به روش تجربی روی ۳۱ سر موش صحرائی نر از نژاد *Albino Wistar* در پنج گروه انجام گرفت. گروه اول شاهد، گروه دوم فلوراید (F)، گروه سوم فلوراید و بورون ($F+B$)، گروه چهارم فلوراید و کلسیم و ویتامین D ($F+Ca+D$) و گروه پنجم فلوراید و بورون و کلسیم و ویتامین D ($F+B+Ca+D$) بودند که به مدت ۸ هفته تغذیه گردیدند. بورون به میزان ۱mg، ویتامین D به میزان ۵۵IU، کلسیم ۲۱۰mg و فلوراید به میزان ۰/۷mg در رژیم غذایی گروه‌ها اضافه گردید. در پایان ۸ هفته و پس از انجام آزمایشات، نتایج تست‌های بیومکانیک استخوان‌های فمور و مهره‌های کمری میان گروه‌های مختلف مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته‌ها: میزان سفتی استخوان فمور در گروه $F+B$ نسبت به گروه‌های شاهد، F و $F+B+Ca+D$ افزایش معنی‌داری داشت. استحکام فمور در گروه‌های $F+B$ و $F+B+Ca+D$ نسبت به گروه شاهد نیز افزایش معنی‌داری را نشان داد. تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام در پنجمین مهره کمری در همه گروه‌ها در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش داشته و در گروه $F+B+Ca+D$ نیز نسبت به گروه‌های F ، $F+B$ و $F+Ca+D$ از افزایش معنی‌داری برخوردار بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثر دو عنصر فلوراید و بورون بر روی سفتی و استحکام استخوان در مقایسه با کلسیم و ویتامین D بیشتر باشد.

واژگان کلیدی: فلوراید، بورون، کلسیم، ویتامین D، استخوان، موش صحرائی.

مقدمه

استخوان یکی از سخت‌ترین بافت‌های همبند، زنده، پرعروق و در حال تغییر دائمی است. بازسازی استخوان یک فرآیند مادام‌العمر است. اسکلت نقش ساختمانی حیاتی در تحمل وزن دارد و ضعف استخوان منجر به شکستگی آن می‌شود (۱). تغذیه نقش مهمی در استحکام و سلامت استخوان دارد و برای دستیابی به یک استخوان سالم و مقاوم نیاز به یک رژیم غذایی متنوع و متعادل می‌باشد (۲،۱). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ۲۰ تا ۵۰ درصد از میزان تراکم استخوان وابسته به شیوه زندگی که در راس

استخوان یکی از سخت‌ترین بافت‌های همبند، زنده، پرعروق و در حال تغییر دائمی است. بازسازی استخوان یک فرآیند مادام‌العمر است.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، دکتر سید همایون صدرائی (e-mail: ih_sadraie@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۸/۳۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۴/۳۰

گروه ۴ (F+Ca+Vit D): غذای طبیعی + آب آشامیدنی + فلورايد + کلسیم + ویتامین D
 گروه ۵ (F+B+Ca+Vit D): غذای طبیعی + فلورايد + بورون + کلسیم + ویتامین D
 دوز کلسیم مصرفی به صورت روزانه ۲۱۰ mg (۱۱۰ mg از طریق غذای عادی و ۱۰۰ mg از طریق مکمل سازی آب)، ویتامین D به میزان ۵۵ IU (۴۰ IU از طریق مکمل سازی آب و ۱۵ IU از طریق غذای عادی)، بورون به میزان ۱ mg از طریق مکمل سازی آب و فلورايد ۰/۷ mg در آب مصرفی به ازای هر موش در روز بود. دوز مصرفی تمامی مواد مغذی مورد مطالعه به آب آشامیدنی افزوده شده و در اختیار موش ها جهت نوشیدن قرار گرفت.



شکل ۱- انجام تست Cantilever bending بر روی فمور

در پایان ۸ هفته، موش ها در گروه های مختلف با استنشاق زیاد اثر کشته شدند و بلافاصله استخوان های فمور چپ و پنجمین مهره کمری از بدن آنها جدا شدند و پس از جدا کردن بافت های نرم از استخوان ها، نمونه ها در محلول سالین ۰/۹٪ در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. مقاومت مکانیکی استخوان ها با استفاده از دستگاه Zwick (Materials testing-machine-Z, Germany) بررسی شد. بدین ترتیب که مقاومت مکانیکی گردن استخوان فمور با انجام تست خمشی (Cantilever bending test) (شکل ۱) و مقاومت مکانیکی پنجمین مهره کمری با انجام تست فشاری (Axial compression test) بررسی شدند. در پایان هر آزمون، پارامترهای مکانیکی هر استخوان شامل سفتی (Stiffness) (برحسب نیوتن بر میلی متر)، حداکثر استحکام (Fmax) (بر حسب نیوتن)، انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام (بر

آن تغذیه قرار دارد، می باشد (۳). بافت استخوان عمدتاً از کلسیم و مواد معدنی تشکیل شده است و فرآیند بازسازی استخوان (Remodeling) یعنی جذب و تشکیل مجدد استخوان در سال اول زندگی تقریباً ۱۰٪ و در بالغین حدود ۱۰٪ در سال اتفاق می افتد. عدم تعادل در تنظیم فرآیند بازسازی استخوان منجر به بروز بیماری های متابولیک استخوان نظیر استئوپروز می شود (۴). تغذیه کافی و مناسب نقش مهمی در پیشگیری و درمان استئوپروز دارد. از مهم ترین ریز مغذی های مطرح در حفظ سلامت استخوان می توان به کلسیم، فسفر و ویتامین D اشاره کرد که اثرات سودمندی بر تراکم استخوانی در تمام سنین دارند (۵).

بورون (پنجمین عنصر در جدول تناوبی عناصر) دارای خواص مهمی است که از نظر بالینی توجه زیادی را به خود معطوف داشته است و به عنوان عنصر مکمل از تاثیر کلسیم، منیزیم و ویتامین D حمایت می کند (۶،۷).

فلوئور مهم ترین عنصری است که با غلظت های مختلف موجب تغییرات در ساختمان استخوان ها و دندانها می شود (۹،۸). نتایج حاصل از مطالعات Armstrong TA و همکاران (۲۰۰۱) و نقی ثی و همکاران (۲۰۰۶) نشان دهنده نقش مفید و مثبت مکمل سازی بورون به تنهایی بر خواص مکانیکی استخوان است (۱۰،۱۱). همچنین مطالعه Nielsen FH (۲۰۰۹) نشان دهنده کاهش حداکثر استحکام فمور به دنبال کمبود بورون است (۱۲). اما با توجه به تجربیات کم و ناکافی بودن تجربیات فعلی و به ویژه تجربیات آن در کشور و به منظور تعیین تأثیر بورون همراه با مواد مغذی دیگر بر مقاومت مکانیکی بافت استخوان، این تحقیق روی موش صحرائی انجام گرفت.

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. در این تحقیق، ۳۱ سر موش صحرائی نر ۳۰ روزه از نژاد wistar با وزن 150 ± 30 گرم انتخاب شدند. موش ها به طور تصادفی در ۵ گروه تقسیم شدند. یک گروه شاهد و ۴ گروه تجربی در شرایط استاندارد دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد و نور با تناوب روشن-خاموش ۱۲:۱۲ به مدت ۸ هفته نگهداری شدند. در این مدت، موش ها به آب و غذا آزادانه دسترسی داشتند. تغذیه موش ها در گروه های مختلف به شرح زیر بود:

گروه ۱ (شاهد): غذای طبیعی + آب آشامیدنی

گروه ۲ (F): غذای طبیعی + آب آشامیدنی + فلورايد

گروه ۳ (F+B): غذای طبیعی + آب آشامیدنی + فلورايد + بورون

حسب نیوتن در میلی‌متر) و تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام (D Fmax) (بر حسب میلی‌متر) توسط کامپیوتر اندازه گیری و ثبت گردید.

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه گردیده و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی LSD با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۸ تحلیل شدند. سطح معنی داری برای تمام گروه‌ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

(جدول ۱).

میزان شاخص‌های فوق در پنجمین مهره کمری در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه گردیده و نشان می‌دهد که میزان این متغیر در گروه F+B+Ca+D نسبت به گروه‌های F (P=0/035)، (P=0/027) F+B و (P=0/013) F+Ca+D از افزایش معنی داری برخوردار بود (جدول ۲).

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که میزان سفتی استخوان فمور در گروه F+B نسبت به گروه‌های شاهد F و F+B+Ca+D افزایش معنی داری داشت، که بیانگر این است که با افزودن مواد مغذی بورون، کلسیم، ویتامین D و فلوراید در دوز مشخص و کنترل شده سفتی استخوان افزایش یافته است. همچنین در تمام گروه‌های تجربی مشاهده شد که فلوراید با دوز مشخص (0/7mg/day) نه تنها باعث کاهش مقاومت استخوان نگردیده، بلکه سفتی و استحکام استخوان فمور را نیز افزایش داده است. همسو با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه Brun و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش معنی دار حجم استخوانی رت‌ها پس از تیمار با سدیم فلوراید مشاهده شد.

یافته‌ها

میزان سفتی، انرژی جذب شده و تغییر شکل در گروه‌های مختلف بر حسب متغیرهای بیومکانیک در جدول ۱ ارائه گردیده است و نشان می‌دهد که سفتی (Stiffness) استخوان فمور در گروه F+B نسبت به گروه‌های شاهد F (P=0/002)، (P=0/035) F+B+Ca+D و (P=0/048) F+B+Ca+D افزایش معنی داری داشت. همچنین میزان حداکثر استحکام فمور (F max) در گروه‌های F+B (P=0/023) و F+B+Ca+D (P=0/028) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشت. از سوی دیگر تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام در پنجمین مهره کمری در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر بود.

جدول ۱- میزان پارامترهای مقاومت مکانیکی استخوان فمور بر حسب گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها و متغیرها	شاهد	F	F+B	F+Ca+D	F+B+Ca+D
سفتی استخوان	150±28*	152±25/3	220±7/6 a,b,c	201±11/7	175±28/7
حداکثر استحکام	90±14/5	88±10/4	104±9/2 a	89±4/7	107±17/0 a
انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام	100±46/9	97±26/0	135±29/3	97±22/9	136±44/2
تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام	1/7±0/63	1/7±0/31	2/0±0/05	1/5±0/09	1/8±0/28

* میانگین ± انحراف معیار

(a) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه شاهد؛ (b) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه F؛ (c) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه F+B+Ca

جدول ۲- میزان پارامترهای مقاومت مکانیکی استخوان مهره کمری بر حسب گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها و متغیرها	شاهد	F	F+B	F+Ca+D	F+B+Ca+D
سفتی استخوان	333±97/8*	320±61/3	341±19/8	323±93/9	349±87/5
حداکثر استحکام	256±39/2	302±49/5	291±11/9	255±24/0	291±20/0
انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام	197±64/3	157±18/1	232±122/2	185±74/4	238±68/8
تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام	1/9±0/27	2/2±0/29	2/2±0/20	2/1±0/26	2/5±0/23 a

* میانگین ± انحراف معیار

(a) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه شاهد؛ (b) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه F؛ (c) نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه F+B+Ca+D

(۱۷،۱۶). به نظر می‌رسد این عنصر برای سنتز ویتامین D مورد نیاز باشد (۱۶).

یکی دیگر از یافته‌های تحقیق حاضر آن است که میانگین سفتی استخوان در پنجمین مهره کمری در گروه‌های F+B و F+B+Ca+D بیشتر از گروه‌های دیگر بود و مشخص است که عامل استحکام در این دو گروه به طور ویژه مصرف بورون می‌باشد. لذا اثر حمایتی بورون از دیگر مواد مغذی مشخص‌تر و با نتیجه مطالعه نقی‌ئی و همکاران (۲۰۰۶) همسو می‌باشد (۱۰).

نتایج ما نیز نشان داد که میانگین حداکثر استحکام فمور (F max) در گروه‌های F+B و F+B+Ca+D نسبت به گروه شاهد دارای افزایش معنی‌دار آماری می‌باشد. از سوی دیگر مقایسه بین گروه F و گروه F+B، همچنین مقایسه میان گروه F+Ca+D و گروه F+B+Ca+D نشان داد که استحکام فمور در حضور بورون بیشتر است که با نتیجه مطالعات Nielsen (۲۰۰۹) و Armstrong (۲۰۰۱) که اثر مفید بورون در استحکام استخوان را بیان کردند همسو می‌باشد (۱۱،۱۲).

در یافته‌های ما مشاهده گردید که میانگین حداکثر استحکام پنجمین مهره کمری در گروه F نسبت به سایر گروه‌ها به خصوص گروه‌های شاهد و F+Ca+D افزایش غیر معنی‌دار یافته است. مقایسه گروه F+Ca+D با گروه شاهد نشان می‌دهد که با وجود فلوراید، هیچگونه تغییری در استحکام مهره پنجم کمری در گروه F+Ca+D مشاهده نگردید که بیانگر این است که کلسیم و ویتامین D تغییر چندانی در استحکام این مهره کمری ایجاد نکرده و احتمالاً تاثیر منفی بر عملکرد فلوراید نیز گذاشته است، زیرا در گروه دوم فلوراید به تنهایی استحکام پنجمین مهره کمری را بیشتر از گروه‌های دیگر افزایش داده است. همچنین میانگین حداکثر استحکام پنجمین مهره کمری در گروه‌های F+B و F+B+Ca+D که فلوراید و بورون دریافت کردند از گروه شاهد بیشتر بود، هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود. از این جهت نتیجه تحقیق حاضر با مطالعه Nielsen (۲۰۰۴) همسو می‌باشد. کاهش استحکام در موش‌های فاقد بورون می‌تواند ناشی از کاهش میزان کلسیفیکاسیون استخوان باشد، زیرا در زمان عدم حضور بورون غلظت کلسیم و فسفر کاهش یافته است (۱۸).

میزان انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام استخوان فمور در گروه‌های F+B و F+B+Ca+D بیشتر از گروه شاهد بود، ولی معنی‌دار نبود. همچنین این متغیر در پنجمین مهره کمری نیز در گروه‌های F+B و F+B+Ca+D بیشتر از گروه شاهد بود. بررسی این دو گروه نشان داد حضور بورون می‌تواند

این افزایش در حجم توده استخوانی ارتباط بین افزایش تعداد و ضخامت تراپکولار در استخوان اسفنجی را نشان می‌دهد (۱۳). مشابه یافته‌های ما، Yildiz (۲۰۰۶) در مطالعه خود نشان داد که فلونئور فعالیت متابولیک استخوان را افزایش می‌دهد و به تشکیل استخوان کمک می‌کند (۱۴).

تحقیق ما همچنین نشان داد که در همه گروه‌ها سفتی استخوان بیشتر از گروه شاهد بود، ولی در گروه سوم که موش‌ها فلوراید و بورون دریافت کرده بودند، سفتی استخوان فمور در آنها نسبت به گروه‌های دیگر به مراتب بیشتر بود که بیانگر هم‌افزایی این دو عنصر در افزایش مقاومت مکانیکی استخوان فمور است. مطالعه Nielsen و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داد که بورون نقش مهمی در شکل‌گیری و نگهداری استخوان دارد (۱۲).

در مطالعه نقی‌ئی و همکاران در اثر مکمل‌سازی با بورون خواص مکانیکی بهتری در استخوان‌ها مشاهده شد و نتایج به دست آمده از تست‌های بیومکانیکی بیانگر قدرت و استحکام مکانیکی بیشتر استخوان‌ها و همچنین سفتی استخوان‌های تیبیا، فمور و مهره کمری بود. افزایش حداکثر استحکام، سفتی و انرژی جذب شده استخوان‌ها در گروه بورون نسبت به گروه مکمل‌سازی کلسیم و ترکیب کلسیم و بورون مشهود بود گرچه ترکیب دو عنصر کلسیم و بورون اثر هم‌افزایی بر افزایش قدرت مکانیکی استخوان نداشته است. مقادیر زیاد کلسیم می‌تواند استحکام استخوان را کمتر نموده و آن را مستعد آسیب‌پذیری بیشتر نماید (۱۰).

در مورد تاثیر بورون بر مقاومت مکانیکی استخوان مطالعات انجام شده با استفاده از دوزهای مختلف در حیوانات آزمایشگاهی با نتایج متفاوتی همراه بوده است.

نتایج حاصل از مطالعات Armstrong TA و همکاران (۲۰۰۱) و نقی‌ئی و همکاران (۲۰۰۶) نشان دهنده نقش مفید و مثبت مکمل‌سازی بورون به تنهایی بر خواص مکانیکی استخوان است (۱۱،۱۰). همچنین مطالعه Nielsen FH (۲۰۰۹) نشان دهنده کاهش حداکثر استحکام فمور به دنبال کمبود بورون است (۱۲).

چنین تصور می‌شود که بورون با مواد مغذی دیگر واکنش نشان داده و نقش تنظیمی در متابولیسم کلسیم و متعاقب آن استخوان ایفا می‌کند (۱۵). بورون اثرات تکمیلی و مفید دیگری بر متابولیسم استخوان به جای می‌گذارد که به عنوان حامی عامل پشتیبانی‌کننده و یا تسهیل‌کننده برای حفظ انسجام استخوان با تاثیر بر ویتامین D و کلسیم است

عامل موثری باشد که با مطالعه Nielsen و همکاران (۲۰۰۹) در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت که ترکیب فلوراید و بورون تاثیر بیشتری بر افزایش سفتی و استحکام استخوان در مقایسه با کلسیم و ویتامین D داشته و تحقیق بیشتر را توصیه می‌نماید.

REFERENCES

1. Cole JH, van der Meulen MC. Whole bone mechanics and bone quality. *Cline Orthop Relat Res* 2011; 469: 2139-49.
2. Hansma P, Yu H, Schultz D, Rodriguez A, Yurtsev EA, Orr J, et al. The tissue diagnostic instrument. *Rev Sci Instrum* 2009; 80: 054303.
3. Morgan SL. Calcium and vitamin D in osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27: 101-30.
4. Wheelless CR, Editor. Duke orthopedics: Wheelless' textbook of orthopaedics. Last updated by Data Trace Staff on Friday, November 18, 2011.
5. Nieves JW. Osteoporosis: the role of micronutrients. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: S1232-39.
6. Naghii MR, Samman S. Role of boron in nutrition and metabolism. *Prog Food Nutr Sci* 1993; 17: 331-49.
7. Miljkovic D, Miljkovic N, McCarty MF: Up-regulatory impact of boron on vitamin D function- does it reflect inhibition of 24-hydroxylase? *Med Hypotheses* 2004; 63: 1054-56.
8. Shafer WG, Hine MK, Lively BM, Editors. A textbook in oral pathology. 4th Ed. Philadelphia: WB Saunders; 1983. p.409-15.
9. Mc Donald R, Avery D, Editors. Dentistry for the child and adolescent. 7th Ed. St. Louis: The C.V. Mosby; 1999; p.219.
10. Naghii MR, Torkaman G, Mofid M. Effect of boron and calcium supplementation on mechanical properties of bone in rats. *Biofactors* 2006; 28: 195-201.
11. Armstrong TA, Spears JW. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. *J Anim Sci* 2001; 79: 3120-27.
12. Nielsen FH, Stoecker BJ. Boron and fish oil have different beneficial effects on strength and trabecular micro architecture of bone. *J Trace Elem Med Biol* 2009; 23:200-209.
13. Brun LR, Pera LI, Rigalli A. Bone morphometry and differences in bone fluoride containing compounds in rats treated with NAF and MFP. *Biomed Pharmacother* 2010; 64:1-6.
14. Yildiz M, Oral B. The effect of pregnancy and lactation on bone mineral density in fluoride-exposed rats. *Toxicol Ind Health* 2006; 22:217-22.
15. Naghii MR, Samman S. The role of boron in nutrition and metabolism. *Prog food Nutr Sci* 1993; 17:331-49.
16. Naghii MR, Samman S. The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats. *Nutr Res* 1997; 17: 523-32.
17. Hegsted M, Keenan MJ, Siver F, Wozniak P. Effect of boron on vitamin D deficient rats. *Biol Trace Elem Res* 1991; 28: 243-55.
18. Nielsen FH. Dietary fat composition modifies the effect of boron on bone characteristics and plasma lipids in rats. *Biofactors* 2004; 20:161-71.
19. Armstrong TA, Spears JW, Crenshaw TD, Nielsen FH. Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *J Nutr* 2000; 130: 2575-81.