● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره دهم، شمارهٔ ۲، خرداد – تیر ۱۳۸۷، صفحه ۱۱-۷

مقادیر پروتئین تام بزاق قبل و بعد از حرکت ارتودنتیک دندانها

ولی اله آرش[*۱]، سلیمان محجوب[۲]، محمود حاجی احمدی[۳]، طاهره پادگانه[۴]

۱- استادیار گروه ارتودنسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- دانشیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- عضو هیئت علمی گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی بابل۳- دندانپزشک عمومی

سابقه و هدف: استرس های مکانیکال باعث تغییر غلظت پروتئین های ترشحی در سطوح موضعی استخوان و حفره دهان می شود. شناسایی این پروتئین ها و نقش آنها در حرکت دندان یا تشخیص تخریب نسجی از اهمیت بسزایی برخوردار است. این مطالعه به منظور بررسی تغییر غلظت این پروتئین ها در بزاق کامل افراد تحت درمان ارتودنسی با دستگاه ثابت انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی بزاق ۴۰ بیمار جوان و نوجوان که در هر دو فک نیاز به درمان اردتودنسی ثابت داشتند، انجام شد. از همه افراد قبل از درمان، یک روز بعد و یک هفته بعد از قراردادن جدا کننده ها (Separators) نمونه بزاق تهیه شد. سپس مقادیر پروتئین به روش اسپکترو فتومتری اندازه‌گیری و مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین مقادیر پروتئین تام قبل، یک روز و یک هفته بعد از قرارگیری جدا کننده بترتیب: ۱۲۷/۳، ۱۳۵/۱ و ۱۳۱/۶ میلی گرم در دسی لیتر بود. در حقیقت مقادیر پروتئین تام در روز پس از قرارگیری جداکننده‌ها افزایش یافت و پس از آن در روز هفتم به مقادیر اولیه نزدیک‌تر شده بود ($p<0/001$). ارتباطی بین جنس و تغییرات مقادیر پروتئین تام دیده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، نیروهای ارتودنتیک باعث افزایش غلظت پروتئین تام در بزاق کامل افراد تحت درمان ارتودنسی می گردد. بنابراین شاید بتوان با آنالیز بزاق بعضی از شاخص های جدید پروتئینی آزاد شده به دنبال اعمال نیرو را شناسایی و ارتباط آن را با اثر درمانی ارتودنسی بررسی کرد.

واژه های کلیدی: *پروتئین تام، آلبومین، بزاق کامل، حرکت دندان.*

دریافت: ۸۶/۱۲/۱۹، ارسال جهت اصلاح: ۸۷/۲/۱۸، پذیرش: ۸۷/۴/۱۹

مقدمه

درمان ارتودنسی غلظت پروتئین‌های ترشحی را در سطوح موضعی استخوان و حفره دهان تغییر می‌دهد. اما اثرات سیستمیک اعمال نیرو به خوبی شناخته نشده است (۱). پاسخ سیستمیک به کاربرد موضعی نیروی ارتودنسی، ۲۴ ساعت پس از اعمال آن، قادر به افزایش ظهور Fosprotein در مغز قدامی رتها (۲) یا باعث حضور فسفو پروتئین های عاج در سرم و شیار مایع لثه ای که نشانه تحلیل ریشه است، می باشد (۳). این پاسخ سیستمیک ممکن است در سنتز پروتئین‌های ترشحی بزاق کامل نیز منعکس شود (۱). بزاق کامل حاوی بزاق ترشح شده از غدد اصلی و فرعی بزاقی، مایع شیار لثه‌ای و سایر ترکیبات موجود در محیط دهان است (۴). ترکیب بزاق توسط رژیم غذایی، تغییرات هورمونی و سرمی به میزان بسیار اندکی تغییر می کند (۴)، اما با افزایش سن، عفونت و بیماریهای سیستمیک تغییرات بارزی نشان می دهد (۵). اعمال نیرو در درمان‌های ارتودنسی سبب پاسخ سلول‌های پریودنشیوم می شود و در این مورد طریقهٔ اعمال نیرو اهمیت چندانی ندارد، بلکه فعالیت سلولها بر مبنای فشار و کشش و تغییرات جریان خون موجود در محیط مهم است (۶). این نیروها نوعی مکانیسم تحریک خارجی هستند که پاسخ‌های بیولوژیک را برمی‌انگیزند (۷). ملکول‌های

■ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۱۳۸۲۳۷۱۳۸ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی بابل تامین شده است.

بیوشیمیایی مختلفی از جمله مولکول‌های پروتئینی نظیر آنزیم‌ها و سیتوکاین‌ها با اعمال نیرو تغییر می‌کنند (۱۱-۸). Umatsu و همکارش افزایش مقادیر برخی پروتئین ها را در مایع شیار لثه ای گزارش کردند (۱۲). Burke و همکارش نیز تغییرات مقادیر پروتئینهای ترشحی در بزاق را گزارش نمودند (۱). به منظور بررسی تغییرات مقدار پروتئین تام در بزاق بدنبال اعمال نیرو، این مطالعه صورت گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ فرد با وضعیت سلامت خوب در محدودهٔ سنی نوجوان و جوان (۲۵-۱۲سال) با میانگین سنی ۱۷/۵ سال و تقریبا با عادات غذایی مشابه که هیچ دارویی دریافت نمی‌کردند و شرایط پریودنتال و بهداشت دهانی خوبی داشته و برای درمان ارتودنسی مراجعه کردند، انجام شد. از ۴۰ نفر (۱۳ نفر مذکر و ۲۷ نفر مؤنث) خواسته شد تا هنگام نمونه‌گیری دو بار دهانشان را با آب بشویند و دو تا سه جرعه آب بنوشند تا از آلودگی نمونه‌ها با ترشحات تنفسی جلوگیری شود. پس از آن از بیمار خواسته شد که حدود ۲ml از بزاقش را بدون اینکه فعالانه بخواهد بزاقش ترشح شود، در لولهٔ آزمایش بریزد. سپس با قرار دادن جداکننده‌ها نیروی ارتودنتیک به دندانها در هر چهار کوادران اعمال شد. ۲۴ ساعت بعد از جایگذاری جدا کننده و نیز بعد از گذشت هفت روز مجدداً تحت همان شرایط، نمونهٔ دوم و سوم از بزاق تهیه شد. مرحله نمونه‌گیری از بیماران مختلف در طی ۱۰ ماه ادامه یافت و در ماه مبارک رمضان نمونه‌گیری بعمل نیامد. نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکدهٔ پزشکی انتقال داده شدند و در فریزر $-۲۰^{o}c$ نگهداری شدند. هنگام انجام آزمایشات، نمونه‌ها از فریزر خارج شده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ (Clement 2000) شدند و پس از رسوب مواد نامحلول، مایع رویی توسط سمپلر به دقت خارج شده و به میکروتیوب های ایندورف یک بار مصرف منتقل گردید. غلظت پروتئین تام به روش تغییر یافته بایوره (Biuret) اندازه گیری شد. جذب نوری نمونه ها در مقابل بلانک و استاندارد کیت ها و در دستگاه اسپکتروفوتومتر Cecil 1020 خوانده شد. میزان جذب نوری برای پروتئین تام بدلیل ایجاد کمپلکس رنگی آبی مایل به بنفش از طریق اتصال پروتئین ها به محلول قلیایی مس در طول موج ۵۴۰ نانومتر ثبت گردید. سپس اطلاعات با استفاده از آزمون Paired t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میزان پروتئین تام بزاق بین سه نوبت نمونه‌گیری از۴۰ بیمار به ترتیب قبل از قرار دادن جدا کننده ۴۶/۵±۱۲۷/۳، یک روز بعد از قراردادن جدا کننده ۴۶/۵±۱۳۵/۱ و هفت روز بعد از قرار دادن جدا کننده ۴۴/۷±۱۳۱/۶ میلی گرم بر دسی لیتر بود ($p<۰/۰۰۱$). مقادیر پروتئین تام بزاق ۲۴ ساعت پس از قرار دادن جدا کننده افزایش داشت و پس از آن در روز هفتم به مقادیر اولیه قبل از جایگذاری جدا کننده نزدیک‌تر شده بود، اما در مجموع بالاتر از مقادیر اولیه بود.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه حرکت ارتودنتیک دندان باعث افزایش غلظت پروتئین تام در بزاق شده است. اکثر مطالعات انجام شده در زمینه فعالیت آنزیم‌ها و مدیاتورهای شیمیایی آزاد شده طی حرکات ارتودنتیک دندانی نیز افزایش سطوح ترکیبات بیوشیمیایی را بخصوص در روز اول بعد از اعمال نیرو در سرم، موضع و مایع شیار لثه ای نشان می‌دهند (۱۰-۸و۳). این ترکیبات بیشتر از دسته مواد پروتئینی و آنزیمی هستند. با توجه به اینکه سطح این ترکیبات پروتئینی در مایع شیار لثه، سطوح موضعی استخوان و سرم افزایش می‌یابد، انتظار می‌رود مقادیر پروتئین توتال نیز افزایش قابل توجهی نشان دهد. در تحقیق Lowney و همکاران در مورد مقادیر پروتئین تام در مایع شیار لثه (۱۳) و مطالعه Bruke در مورد تغییرات مقادیر پروتئین تام در بزاق و مایع شیار لثه یک روز پس از قرارگیری جداکننده ها و دستگاه‌ها، مقادیر پروتئین تام افزایش نشان داد. اما اختلاف آن با قبل از اعمال نیرو از نظر آماری معنی‌دار نبود (۱) که بر خلاف یافته‌های این مطالعه می باشد. ممکن است افزایش حجم نمونه‌ها و نیز افزایش زمان مطالعه و نمونه‌گیری در سه نوبت دلیلی برای معنی‌دار شدن این تغییرات آماری در تحقیق حاضر در زمینهٔ تغییر پروتئین تام باشد. دلیل دیگر، افزایش کلی جریان مایع شیار لثه‌ای است که در پاسخ به التهاب موضعی حاصل از اعمال نیروهای ارتودنتیک ایجاد می شود. این افزایش جریان مایع شیار لثه ای

می‌تواند پروتئین‌ها را رقیق کند و در نتیجه در غلظت آنها تغییرات کمی ایجاد نماید (۱). اما در مورد بزاق تصور می‌شود افزایش یا کاهش و بطور کلی تغییر غلظت پروتئین‌ها بیشتر تحت تأثیر عوامل سیستمیک باشد و تأثیرات موضعی تنها در آن قسمت از بزاق کامل که حاوی مایع شیار لثه ای است مشاهده شود. آنالیز پروتئین‌های ترشحی در بزاق کامل می‌تواند شاخص جدیدی برای بررسی اثر درمان ارتودنسی و تغییرات بیوشیمیایی متعاقب آن باشد. مطالعات بیشتری لازم است تا ارتباط نزدیکتر بین حرکت ارتودنتیک دندانها و تغییرات مولکولی حاصل از آن در بزاق کامل قابل استناد باشد.

اگرچه به نظر می رسد که هنوز مایع شیار لثه ای از ارزش و اعتبار بیشتری نسبت به بزاق برخوردار باشد، اما شناسایی پروتئین ها و آنزیم های اختصاصی در بزاق به دلیل دسترسی بهتر و راحتتر را نمی توان نادیده گرفت.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از اعضا محترم شورای پژوهشی دانشگاه بدلیل تصویب طرح و خانم آقاجانی به دلیل همکاری در تهیه نمونه ها تقدیر و تشکر می گردد.

****

References

1. Burke JC, Evans CA, Crosby TR, Mednieks MI. Expression of secetory proteins in oral fluid after orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2002; 121(3): 310-15.

2. Yamashiro T, Satoh K, Nakagawa K, Moriyama H, Yagi T, Takada K. Expression of Fos protein in the rat forebrain following experimental tooth movement. J Dent Res 1988; 77(11): 1920-5.

3. James M, Neelanjani P. Dentine phosphoproteins in gingival curricular Flind during root resorption. Eur Orthod 2004; 26: 25-30.

4. Fergusen DB, Shuttleworth A, Wittaker DK. Oral bioscience, 1st ed, Edinburgh, Churchill Living Stone 1999; pp: 117, 125, 133, 135, 136, 148.

5. Yarta A, Akyuz S, Koc L, Erdem H, Emekli N. Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH, buffering capacity and caries indices in subjects with Down's syndrome. J Dent 1999; 27(2): 115-18.

6. Proffit WR, Fields HW. Contemporary Orthodontics, 3rd ed, ST Louis, Mosby Co 2000; pp: 9, 12: 297, 301-304, 306, 308, 392.

7. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers Jagtman AM. Optimum force magnitude for orhodontic tooth movement: a systematic literature review. Angle Orthod 2003; 73(1): 86-92.

8. Perinetti G, Paolantonio M, Tripodi D. Alkaline phosphatase activity in givgival cervicular fluid during orthodontic tooth movement. Am J Orthod Donofacial Orthop 2002; 122(5): 548-56.

9. Perinetti G, Paolantonio M, D' Archivio D, et al. Aspartate amino transferase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment. J Periodontal 2003; 74(2): 145-52.

10. Serra E, Perinetti G. Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid during orhodontic treatment. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2003; 124(2): 206-11.

11. Alhashimi N, Frithiof L, Brudrik P. Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2001; 119(3): 307-12.

12. Uematsu S, Mogi M. Interleukin (IL)- 1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor and 2-microglobulin levels are elevated in gingival cervicular fluid during human orthodontic tooth movement. J Dent Res 1996; 75(1): 562-7.

13. Lowney J, Norton A, Shafer DM, Rossomando EF. Orthodontic force increase tumor necrosis factor alpha in the human gingival sulcus. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1995; 108(5): 519-24.

*آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشکده دندانپزشکی، گروه ارتودنسی، تلفن: ۹-۲۲۹۱۴۰۸-۰۱۱۱

AMOUNTS OF SALIVARY TOTAL PROTEIN BEFORE AND AFTER ORTHODONTIC TOOTH MOVEMENT

V. Arash (DDs) [1*], S. Mahjoub (PhD) [2], M. Haji Ahmadi (MSc) [3], T. Padganeh (DDs) [4]

1. [*]Assistant Professor of Orthodontics, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran, vali_arash1344@ yahoo.com, 2. Associate Professor of Biochemistry & Biophysics, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran, 3. Academic Member of Social Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran, 4. Dentist

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Mechanical stress alters the secretory proteins concentration at the local level in bone and the oral cavity. Recognition of these proteins and their roles in teeth movement or tissue destruction diagnosis is very important. The aim of this study was to evaluate the changes of total protein concentration in whole saliva (WS) before and after orthodontic tooth movement.

METHODS: This experimental study was done on 40 adolescent and young patients who were in need of orthodontic treatment for both jaws. Samples of W.S. were collected once before the placement of orthodontic separators, and 1 day and 1 week after the placement of orthodontic separators. Total protein concentration was measured by spectrophotometric method.

FINDINGS: Total protein concentration before the placement of orthodontic separators, 1 day and 1 week after were 127.3, 135.1, 131.6 (mg/dl). Total protein concentration elevated after initial tooth movement (one day after the placement of orthodontic separators) and then, tended to the pretreatment levels at the 7th day, but it didn't exactly return to it ($p<0.001$). It was not found a correlation between total protein alterations and sex.

CONCLUSION: According to the results of this study, the application of force and the placement of separators increase the total protein in whole saliva. Therefore it may be possible that some of the new released protein index due to forcing is recognizable with analysis of saliva and its relationship with the effect of orthodontic treatment can be studied.

KEY WORDS: *Total protein, Albumin, Wholes saliva, Tooth movement.*

Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(2): 7-11

Received: March 9th 2008, Revised: May 7th 2008, Accepted: July 9th 2008