اثر تیتانیم بر جذب اسید اولئیک در آنتروسیتهای EGS رت

محسن آنی[1]، سید علی اصغرمشتاقی[1]، حسن احمدوند[2]
1- استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
2- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره نهم / شماره 4 / زمستان 86 / مسلسل 34

چکیده

دریافت مقاله:86/6/15، **پذیرش مقاله**: 86/10/3

Ø مقدمه: عناصر مختلف قادر به تداخل با جذب اسیدهای چرب هستند. املاح تیتانیم امروزه به عنوان رنگدانه رنگ سفید در ساخت بسیاری از محصولات صنعتی از جمله پلاستیک، جوهر کاغذ، سرامیک، داروها، مواد آرایشی، غذاها و رنگسازی بکارمیرود. اخیرا عوارض جانبی این عنصر بر متابولیسم سلولی مشخص و گزارشات متعددی از اثرات سمی این ماده منتشر گردیده است.

Ø مواد و روش‌ها: ابتدا از روده کوچک رات نژاد ویستار به مقدار کافی (EGS) Everted Gut Sac تهیه گردید. سپس EGS تهیه شده در محلول انکوباسیون حاوی اسیداولئیک در شرایط مختلف از نظر ph دما و غلظتهای مختلف تیتانیم قرار گرفته و اسیداولئیک انتقال یافته از غشاء EGS به داخل به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری گردید. اطلاعات بدست آمده با نرم افزار SPSS وآزمون ttest ارزیابی شد

Ø یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان میدهد که عواملی چون غلظت اسید اولئیک، زمان انکوباسیون و phبر روی انتقال اسید اولئیک از غشاء مؤثر بوده است. بر اساس نتایج بدست آمده غلظتهای 0/5، 1، 1/5، 5، 10 میکرومولار تیتانیم در حضور کلرید سدیم بترتیب باعث کاهش 14,6%، 31,6%، 38,6% و 54,5% جذب اسید اولئیک می شود. استفاده از غلظتهای 0,5، 1، 1,5و 10 میکرومولار تیتانیوم در عدم حضور کلرید سدیم بترتیب باعث کاهش 3/5%، 28%، 29% و 39% جذب اسید اولئیک می شود.

Ø بحث و نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان میدهد که عواملی چون غلظت اسید اولئیک، زمان انکوباسیون و ph بر روی انتقال اسید اولئیک از غشاء مؤثر بوده است. بر اساس نتایج بدست آمده تیتانیم باعث کاهش جذب اسید اولئیک از غشاء انتروسیتها شده است. این نتیجه در مورد افرادی که در معرض غلظتهای بالای این عنصر قرار می گیرند مهم بوده وباید همواره مد نظر قرار گیرد.

Ø کلید واژه‌ها: اسید اولئیک، تیتانیم، انتروسیت

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کمالوند، مجتمع آموزشی پردیس، دانشکده پزشکی

پست الکترونیک: hassan-a46@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

مقدمه

با توجه به نقش اسیدهای چرب حاصل از تجزیه چربیهای موجود در رژیم غذایی و اهمیت آن در متابولیسم انرژی در مورد چگونگی جذب آن تحقیقات زیادی صورت گرفته است و عوامل مؤثر بر سیستم انتقال اسیدهای چرب در آنتروسیتها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. وجود پروتئینهای انتقال دهنده اسید چرب در سلولهای کبد و سلولهای چربی قبلاً به اثبات رسیده است(1،2،3) و وجود پروتئینهای مشابه نیز در آنتروسیت‌ها نشان داده شده است. این مکانیسمهای انتقال تحت تأثیر بسیاری از عناصر قرار می گیرد که در این مورد کادمیم و منگنز بعنوان مهارکننده جذب مشخص شده است یکی دیگر از عناصری که بر جذب اسیدهای چرب تأثیر می گذارد تیتانیم است (10-4).

تیتانیم بطورنسبی 0/63% پوسته زمین را تشکیل میدهد و به عنوان نهمین عنصر فراوان میباشد و از طرفی به عنوان دومین عنصر انتقالی(transition) بعد از آهن می باشد. تیتانیم در مقایسه با اکثر فلزات سنگین سمیت کمتری دارد. سمیت ترکیبات تیتانیم وابسته به خواص فیزیکوشیمیایی(مثلاً حلالیت در آب) و فعالیت شیمیایی این ماده میباشد. تیتانیم به عنوان عنصر غیر ضروری برای انسان است(11).

مهمترین ترکیب تیتانیم در صنعت بصورت TiO_2 و تیتانیم تتراکلرید است که ماده اولیه برای دیگر ترکیبات تیتانیم می باشد. در پزشکی تیتانیم برای کاشت های (implants) جراحی استفاده می شود، چون بوسیله بافت مجاور بنحوی قابل تحمل است. دیگر ترکیبات تیتانیم از قبیل دی اکسید سالیسیلات (salicylatedioxide) و تانات (tannate) بطور وسیع در داروسازی ومحصولات دارویی و آرایشی استفاده می شود (14-11).

با توجه به اثرات سمی تیتانیم و کاربرد وسیع املاح تیتانیم در صنعت و در پزشکی در این مطالعه تأثیر تیتانیم بر روی جذب اسید اولئیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

در این مطالعه از رات با وزن 250-200 گرم استفاده گردید. حیوانات بیهوش گردیده وپس از جراحی روده آ نها خارج وجهت آزمایش از قسمت ژژنوم، (Everted Gut Sac) EGS تهیه گردید(15).

برای مطالعه ارتباط غلظت اسیداولئیک با میزان جذب آن غلظتهای مختلف اسید اولئیک تهیه وجذب آن در زمانهای مختلف تا 100دقیقه بررسی شد. جهت مشخص شدن تأثیر دما اندازه‌گیری میزان جذب اسید اولئیک در چهار دمای متفاوت 4، 25، 37 و 45 درجه سانتیگراد انجام گردید. مقدار اسید چرب داخل EGS بوسیله روش تغییر یافته Felix و Bauer به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از منحنی استاندارد اندازه‌گیری شد (16). در مراحل بعد بافر انکوباسیون حاوی اسید اولئیک به همراه کلرید تیتانیم با غلظت‌های متفاوت تهیه و انتقال اسید چرب در مجاورت کلرید تیتانیم نیز تعیین و با کنترل مقایسه گردید. در ادامه جهت ساخت بافر انکوباسیون از کولین کلراید بجای NaCL استفاده شد تا نقش سدیم در انتقال اسید چرب و تأثیر تیتانیم بر محیط فاقد سدیم مشخص گردد.

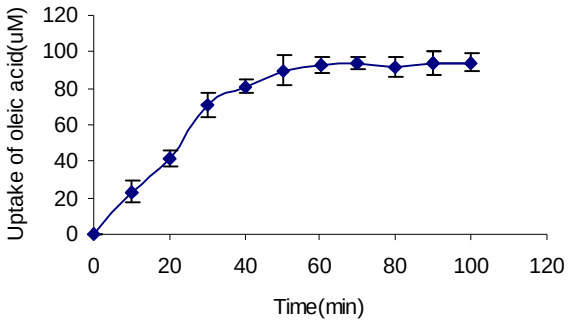
نتایج بدست آمده بصورت میانگین + انحراف معیار بیان شده اند. معنی دار بودن نتایج از نظر آماری و اختلاف بین گروهها بوسیله تست t استودنت نشان داده شده است.

یافته ها

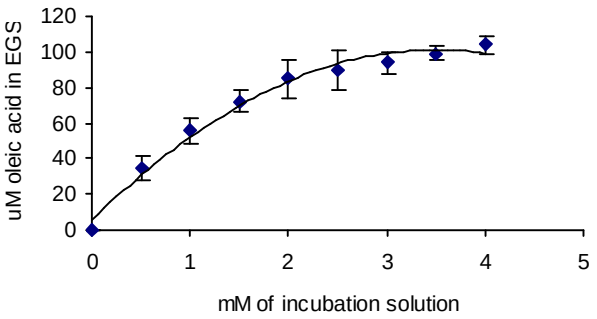
نتایج حاصل از آزمایشات نشان میدهد که پس از حدود 30 دقیقه میزان جذب اسید اولئیک به حد ماکزیمم رسید و پس از آن تغییر محسوسی در میزان جذب به چشم نمی خورد و تقریبا ثابت مانده است (نمودار 1). همانگونه که در نمودار شماره 2 مشاهده می‌گردد بدنبال افزایش غلظت اسید اولئیک در بافر انکوباسیون میزان جذب آن نیز افزایش می‌یابد و منحنی بصورت خطی نبوده بلکه حالت هیپربولیک بخود

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

می‌گیرد. مدت زمان مناسب آزمایش 30 دقیقه و دما 37 درجه سانتیگراد در نظر گرفته شد.



نمودار شماره 1- میزان جذب اسید اولئیک در زمانهای مختلف در ph=7.5 اعداد بدست امده Mean+SD حاصل از 5 آزمایش



نمودار شماره 2- افزایش میزان جذب اسید اولئیک داخل EGS متعاقب افزایش غلظت آن در محلول انکوباسیون اعداد بدست آمده Mean ± SD حاصل از 5 آزمایش

به منظور مطالعه تأثیر دما بر روی جذب اسید اولئیک آزمایش درچهار دمای متفاوت انجام گرفت. نتایج حاصل از 5 بار آزمایش بصورت Mean+SD در جدول شماره 1 آمده است همانگونه که مشاهده میگردد افزایش دما تا 37 درجه سانتیگراد باعث افزایش جذب میگردد افزایش بیشتر دما جذب راکاهش می دهد.

پس از مشخص شدن شرایط آزمایش، میزان جذب اسید اولئیک در حضور ودر غیاب سدیم بررسی گردید وهمانگونه که در جدول شماره2 نشان داده شده است کلرید تیتانیم باعث کاهش جذب اسید چرب می گردد و این کاهش متناسب با غلظت کلرید تیتانیم در محیط می باشد.

در مطالعات قبلی مشخص شده است که جذب اسید چرب از انتروسیت ها وابسته به سدیم بوده بطوریکه حذف آن از محیط کاهش چشمگیری در میزان جذب دارد(4) لذابه منظور مطالعه نقش سدیم در جذب اسید اولئیک و تأثیر کلرید تیتانیم در غیاب سدیم بجای NaCL از کولین کلراید استفاده شد.

جدول شماره 1- تأثیر دما بر روی جذب اسید اولئیک

درجه سانتیگراد	میزان جذبmmol/L
4	38,25+2,4
25	55,8+4,6
37	81,2+4,2
45	59+10,8

جدول شماره2- تأثیرکلرید تیتانیم بر روی میزان جذب اسید اولئیک توسط EGS(در حضور کلرید سدیم)

تیتانیمmM	کاهش	جذبmmol/L
کنترل	-	101+6/3
0,5	%14,6	86/2+5/4
1	%31,6	69+7/2
4	%38,6	62+4/4
10	%54,5	46+7/1

نتایج (جدول شماره 3) نشان می دهد که در غیاب سدیم جذب اسید چرب بشدت کاهش می یابد و کلراید تیتانیم نیز نقش تداخلی خود را از دست میدهد. محاسبات آماری نشان می دهد که ارتباط معنی دار (p<0/05) بین غلظتهای مختلف با نمونه کنترل وجود ندارد.

جدول شماره3- تأثیر کلرید تیتانیم بر روی میزان جذب اسید اولئیک توسط EGS در محیط کولین کلراید(در غیاب سدیم)

تیتانیمmM	کاهش	جذبmmol/L	Pvalue
کنترل	-	28+7,8	-
0,5	%3,5	27+5,4	معنی دار نیست
1	%28	21+8,5	معنی دار نیست
4	%29	20+6,4	معنی دار نیست
10	%39	17+7,5	معنی دار نیست

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

بحث ونتیجه گیری

جذب بسیاری از مواد از جمله قندها واسیدهای امینه نیاز به پروتئین حامل غشایی(carrier) دارد و مطالعات انجام شده وجود این حاملها رادر غشاء ثابت کرده است(17). مطالعات انجام شده بر روی حاملهای گلوکز بسیار وسیع بوده و ثابت شده که گلوکز توسط پروتئینهای خاصی از غشاء سلولهای روده عبور می کند. پروتئین حامل گلوکز طی مراحل خاصی جدا گردیده و مطالعه شده است(27-18).

مکانیسم جذب اسیدهای چرب آزاد از روده هنوز بطور کامل مشخص نشده است و ورود اولیه آنها به انتروسیت اغلب به صورت غیر وابسته به انرژی توصیف شده است(19). ولی بهرحال مطالعات اخیر وجود مولکولهای ناقل اسید چرب بر روی بافت کبد L.FABP (Liver Fatty Acid Binding Protein) و بر روی بافت چربی A.FABP (Adipose Fatty Acid Binding Protein) را ثابت نموده است(20،21).

مطالعات صورت گرفته بر روی بعضی گونه های سلولی خصوصا در بافت چربی یک مکانیسم قابل اشباع را در جذب اسید های چرب آزاد (FFA) نشان میدهد(28،29).

فرایند انتقال (FFA) در روده نیز احتمالا روند مشابهی با جذب FFA در سلولهای کبد و سلولهای چربی را دارا است. نمودار شماره 1 و2 که تاثیر زمان و غلظت اسید اولئیک را در جذب نشان میدهد تایید کننده وجود پروتئین حامل در انتروسیت ها می باشد.

جدول شماره 2 نیز تاثیر دما را بر جذب نشان میدهد. مشاهده می شود که کمترین مقداراسید چرب انتقال یافته مربوط به دمای 4 درجه سانتیگراد بوده و با افزایش دما تا 37 درجه سانتیگراد میزان جذب افزایش می یابد.

افزایش بیشتر دما باعث کاهش جذب شده که بیانگر این مطلب است که انتقال اسیدهای چرب مکانیسمی غیر از انتشار ساده را دارا می باشند زیرا در غیر اینصورت با افزایش دما انتظار افزایش انتقال از غشاء و در نتیجه افزایش جذب می رود اما در عمل دیده می شود که بیشترین میزان جذب مربوط به دمای 37 درجه سانتیگراد می باشد و با افزایش دما به بالاتر از 37 درجه سانتیگراد سبب تخریب و کاهش فعالیت انتقال دهنده ها میگردد.

بررسی نمودار شماره 2 نشان میدهد که افزایش غلظت اسید اولئیک در محیط انکوباسیون باعث افزایش مقدار جذب میگردد. منحنی افزایش جذب بصورت هیپربولیک میباشد ومؤید این مطلب است که انتقال دهنده های اسید اولئیک حالت اشباع شدن را دارا هستند و این مشابه انتقال دهنده های گلوکز از جدار روده است. حالت کینتیک اشباعی در مورد انتقال اسید اولئیک در انتروسیت ها با مطالعات قبلی مطابقت دارد(30).

بررسی نمودار شماره 1 نشان می دهد که افزایش جذب تا 30 دقیقه بصورت خطی بوده ولی پس از آن افزایش محسوسی در میزان جذب صورت نمیگیرد و نشان دهنده این مطلب است که گیرنده های اسید چرب در مدت 30 دقیقه اشباع شده و پس از این زمان عملا افزایش جذب مشاهده نمیگردد.

با توجه به جدول شماره 3 مشاهده می شود که افزودن کلراید تیتانیم به محلول انکوباسیون باعث کاهش انتقال اسیداولئیک به داخل EGS شده است. این کاهش وابسته به کلراید تیتانیم احتمالا از طریق اثر برناقلها (carrier) صورت میگیرد. این ناقلهای اسید چرب وابسته به سدیم هستند و مقایسه موارد کنترل در حضور ودر غیاب سدیم نشان میدهد که در غیاب سدیم انتقال اسید چرب تنها 30% موقعی است که سدیم در محیط وجود دارد که این وابستگی انتقال اسید چرب به سدیم را نشان می دهد.

از طرفی افزایش کلراید تیتانیم به محیط فاقد سدیم از لحاظ آماری تاثیر قابل ملاحظه ای بر جذب ندارد و بیانگر این مطلب میباشد که نقش تداخلی تیتانیم در جذب اسید

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

چرب از طریق تأثیر بر فعالیت مکانیسمهای حاصل اسید چرب بوده بطوریکه پس از حذف سدیم و فعال نبودن سیستم انتقال، تیتانیم نیز عملا بدون تأثیر می باشد.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

References

1. Li Cata VJ, Beernlohr DA. Surface properties of adipocyte-lipid binding-protein protein response to lipid binding and comparision with homologous proteins. Arch Biochem Biophys. 1998;359(2): 199-208
2. Zhu L, Kurian E, Prendergast FG, Kemple MD. Dinamics of palmitic acid complexed with rat entestinal fatty acid binding protein. Biochem. 1999;38(5): 1554-1561
3. Barthe L, Woodley JE, Kenworthy S, Houin G. An improved everted gut sac as a simple and accurate technique to measure paracellular transport across the small intestine. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 1998; 23(2): 313-323
4. Khemiss F, Ghoul-Mazgai S, Moshtaghie AA, Saidane D. Study of the effect of aqueous extract of Grewia tenax fruit on iron absorption by everted gut sac. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 103:90-98
5. Khanna SK, Das M, Tandon S. Effect of sanguinarine on the transport of essential nutrients in an everted gut sac model: role of Na+,K+ATPase. Nat Toxins. 1993; 1(4): 235-240
6. Singh S, Mariappan TT. Evidence of efflux-mediated and saturable absoption of rifampicin in rat intestine using the ligated loop and everted gut sac techniques.2004; 1(5): 363-367
7. Sims C, Wattanasirichaigoon S, Menconi MJ, Ajami AM, Fink MP. Ringer's ethyl pyruvate solution ameliorates ischemia/reperfusion-induced intestinal mucosal injury in rat.Official Journal of the society of critical care medicine. 2001; 29(8): 1513-1518
8. Sims EE, Ley RW, Attwood D, Collett H, Brown R. Influence of monocaprin on the permeability of a diacidic drug BTA-243 across Caco-2 cell monolayers and everted gut sacs. International Journal of Pharmaceutics. 2002; 245(1-2): 133-142
9. Ying C, Qineng P, Jianxin G, Wenli LV, Jing G. The absorption behavior of cyclosporin A lecithin vesicles in rat intestinal tissue. International Journal of Pharmaceutics. 2003; 261(1-2): 21-26
10. Kelvin C, Zhong QL, Zhi HJ, Hua Z, Yuen FW, Hong-Xi X, Liang L.The effects of sinomenine on intestinal absorption of paeoniflorin by the everted rat gut sac model. Journal of Ethnopharmacology. 2005; 17: 276-281
11. Habashi F, Leval U.Titanium compound. Handbook of Extractive metalogy, 1998; (6): 4969-4981
12. Mintz EA. Titanium: Organometallic Chemistry. 1994; (8): 4206-4224
13. Vanzillotta PS, Sader MS, Bastos IN, Almeida Soares GD. Improvement of in vitro bioactivity by three different surface treatments. Dental materials. 2005; 6: 1-8
14. Mcauliffe CA, Bricklebank N. Titanium: Inorganic and coordination chemistry. 1994; (8): 4197-4206
15. Wilson TH, Wiseman G.The use of sacs everted of small intestine for study of transference of substance from mucosal to serosal surface. The Journal of Physiology. 1954; 123: 116–125
16. Trout DL, Ester JR, Friedberg SJ. Titration of free fatty acid in plasma: A study of current methods and a new modification. J. Lipid Res. 1960; 1:199-202

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]

17. Marcus K, Oreste A, Carlo S, Heini M, Martin M, Giargio SA. Modified procedure for the rapid preparation of efficiency transporting vesicles from small intestine brush border membranes. Biochem. Biophys. Acta. 1978; 506: 136-154
18. Shirazi SP, Bechey RB, Butter Worth PJ. Use of potent inhibitors of alkalin phosphatase to investigate the role of the enzyme in intestinal transport of organic phosphate. BBM. J. Bioenergy. Biomemb. 1988; 20: 273-288
19. Simmonds WJ, Rommend K, Geobell H. Uptake of fatty acid and monoglycerides in lipid absorption. Biochemical and clinical aspect. 1976; 2: 51-61
20. Stremme W, Strohmeyer G, Borchard F, Kochwa S, Berk PD. Isolation and partical characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. 1985; 82
21. Strommed W, Kochwa S, Berck PD. Studies of oleate binding to rat liver plasma membrane. Biochem. Biophys. Res Common. 1983; 112: 88-95
22. Tawadrous, ZS, Delude RL, Fink MP. Resuscitation from Hemorrhagic Shock with Ringer's Ethyl Pyruvate Solution Improves Survival And Ameliorates Intestinal Mucosal Hyperpermeability in Rats. Injury. 2002; 17(6): 473-477
23. Moshtaghie AA, Sabet-Jahromi M. Identification of transferrin in cytosol isolated from rat intestinal mucosal cells. Biochemical Society Transactions. 1992; 21: 71S
24. Moshtaghie AA, Taher M. Aluminium interference with iron absorption by everted gut sac. Journal of Islamic Academy of sciences. 1993; 6: 277-281
25. Wanitschke R, Ammon HV. Effects of dihydroxy bile acids and hydroxy fatty acids on the absorption of oleic acid in the human jejunum. J Clin Invest. 1978; 61 (1): 178–186.
26. Guo J, Q. Ping Q, Jiang G, Dong J, Qi S, Feng L, Li Z, Li C. Transport of leuprolide across rat intestine, rabbit intestine and Caco-2 cell monolayer.International Journal of Pharmaceutics. 2004; 278(2): 415-422
27. Wilson TH, Wiseman G.The use of sacs everted of small intestine for study of transference of substance from mucosal to serosal surface. The Journal of Physiology. 1954; 123: 116–125
28. Stremmel W, Hodtke R, Strohmeyer G, Berk D. Hepato cellular uptake in energy dependent, sodium coupled is inhibited by antibody to the liver plasma, membrane and FABP. Hepatology. 1984;4: 1067-1068
29. Samuel D, Paris S, Ailhaud G. Uptake and metabolism of fatty acids and analogoues by caltured cardiac cells. Eur. J. Biochem. 1976; 64: 583-595
30. Mahaderan S, Saver F. Effect of trypsin, phospholipase and membrane-impermable reagent on the fufpftake of palmitic acid by isolated rat liver cells. Arch. Biochem.Biophys. 1979; 164: 185-193

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-01-30]