

تأثیر ایزوپروترونول بر الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های غدد بزاقی خرگوش

دکتر مهدی صائب^۱، سکینه شفیعا^۲ و دکتر جواد ساجدیان فرد^۳

خلاصه

ایزوپروترونول یکی از داروهای بتا-آدرنرژیک بسیار قوی می‌باشد که در این پژوهش اثر آن بر روی غدد بزاقی خرگوش نر نژاد سفید مورد بررسی قرار گرفته است. دو گروه پنج‌تایی خرگوش با میانگین وزن حدود یک کیلوگرم (1000 ± 300 گرم) به مدت ۱۵ روز از طریق داخل صفاقی تحت تجویز روزانه 20 mg/kg ایزوپروترونول قرار گرفتند و یک گروه پنج‌تایی با همان محدوده وزنی نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. در یکی از گروه‌های آزمایشی علاوه بر غذای معمولی (خشک) از غذای مایع نیز جهت تغذیه حیوانات استفاده شد. میزان افزایش وزن غده بناگوشی در گروه‌های آزمایشی، در مقایسه با گروه کنترل پنج برابر بیشتر بود ($P < 0/01$). افزایش واضحی نیز در میزان پروتئین تام غده در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که این افزایش در حدود ۱۲ برابر بود ($P < 0/01$). در غده تحت فکی، افزایش وزن غده در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0/01$) ولی به اندازه غده بناگوشی نبود. افزایش میزان پروتئین تام غده تحت فکی در گروه آزمایشی که رژیم خشک دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل حدود $2/5$ برابر بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0/01$). علی‌رغم افزایش پروتئین تام در گروهی که رژیم مایع دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل، این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود و افزایش وزن غده تحت فکی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0/01$). در غده زیربانی فقط افزایش وزن غده در گروه آزمایشی که رژیم خشک دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0/01$)، در حالی که این افزایش در مورد پروتئین تام غده زیربانی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های غدد بزاقی با استفاده از سدیم دو دسیل سولفات روی ژل پلی آکریل آمید نشان داد که در غده بناگوشی، پروتئین‌های با وزن ملکولی حدود ۱۴، ۴۴، ۵۸، ۹۶ و ۹۸ کیلودالتون در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابند. در غده تحت فکی گروه‌های آزمایشی، باندهای پروتئینی در حدود ۲۰ کیلودالتون در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می‌گردد که به احتمال زیاد نوع خاصی از پروتئین‌های غنی از پرولین می‌باشند. از آنجا که ایزوپروترونول تأثیر چندانی بر غده زیربانی نداشت، تغییر واضح در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های آن نیز مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: ایزوپروترونول، غدد بزاقی، پروتئین‌های غنی از پرولین، خرگوش

۱- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز ۲- مربی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی زاهدان

۳- مربی، گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

مقدمه

دالتون دارا می‌باشند (۳). علی‌رغم شباهت‌های موجود بین PRPs در گونه‌های مختلف حیوانی، اختلافات نسبتاً قابل ملاحظه‌ای بین این گونه‌ها، غدد و حتی نژاد حیوانات موجود می‌باشد که این اختلافات مربوط به تغییرات ساختمانی ترکیبات گلیکوزیده شده نسبت به میزان PRPs اسیدی به قلبیایی می‌باشد (۳،۱۳،۲۸). PRPs اسیدی با اتصال به یون کلسیم و هیدروکسی آپاتیت به ترتیب باعث حفظ غلظت آن در بزاق و جلوگیری از تشکیل ناخواسته هیدروکسی آپاتیت اضافی در سطح دندان‌ها می‌شود (۳،۱۲). هم چنین PRPs در پلیکل اکتسابی دندان (Acquired Pellicle) به مقدار زیاد یافت می‌شوند که با آگلوتینه کردن میکروارگانسیم‌ها میزان چسبندگی آنها را به سطح دندان پایین می‌آورند (۶). با توجه به نقش و اهمیت پروتئین‌های غنی از پرولین و اثراتی که آگونیست‌های مختلف بتا بر روی غدد بزاقی پستانداران دارا می‌باشند و در نتیجه باعث بروز تغییرات کمی و کیفی در میزان پروتئین‌های این غدد و نهایتاً ترکیب بزاق می‌شوند، لذا در تحقیق حاضر سعی شده است که اثرات یکی از آگونیست‌های بتا (ایزوپروترونول) همراه با رژیم غذایی جامد و مایع بر الگوی پروتئینی غدد بزاقی خرگوش مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش کار

مواد شیمیایی مورد نیاز جهت انجام آزمایشات الکتروفورز از کمپانی سیگما و داروی ایزوپروترونول از کمپانی مرک خریداری گردید. خرگوش نر سفید آزمایشگاهی از انستیتو تحقیقات رازی تهیه گردید. دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از درجه خلوص بالایی برخوردار بودند.

۱- روش کار

خرگوش‌ها به سه گروه پنج‌تایی تقسیم گردیدند. وزن تقریبی خرگوش‌ها به طور متوسط 1000 ± 300 گرم بود و به طور مجزا در یک اتاق نگهداری شدند. به حیوانات گروه کنترل (گروه ۱) و یکی از گروه‌های آزمایش (گروه ۲) غذای معمولی و به حیوانات گروه سوم غذای خشک که در آب حل شده و به صورت رقیق و مایع در آورده شده بود، داده شد که این خود علاوه بر تأثیر دارو، تأثیر جویدن را نیز بر روی الگوی پروتئینی می‌تواند مشخص نماید. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. به گروه‌های آزمایش به مدت ۱۵ روز از طریق داخل صفاقی روزانه ۲۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن ایزوپروترونول در آب مقطر استریل، تزریق گردید. به گروه کنترل نیز طی این مدت آب

ایزوپروترونول جزء داروهای بتا-آدرنرژیک بسیار قوی و از خانواده کاتکول آمین‌ها می‌باشد. تزریق ایزوپروترونول به موش صحرائی تغییرات کمی و کیفی بسیاری را در پروتئین‌های ترشحات غده بناگوشی به وجود می‌آورد (۲۴،۳۱). تزریق اولیه دارو باعث هیپرپلازی و نهایتاً هیپرتروفی غده می‌گردد که طی آن گرانول‌های سلول‌های ترشحات آسینار افزایش می‌یابند (۱۱،۲۵). مشخص گردیده است که پاسخ هیپرپلاستیک اولین جزء تغییرات ایجاد شده در غدد بزاقی بناگوشی و تحت فکلی ناشی از افزایش سنتز mRNA، DNA و تجمع پروتئین می‌باشد (۱،۸،۲۴). تجویز ایزوپروترونول به مدت بیش از یک هفته به موش صحرائی، وزن خالص غده بناگوشی را تا حدود چهار برابر افزایش می‌دهد، درحالی که محتوی DNA و پروتئین غده حدود سه برابر افزایش می‌یابند (۱۰،۲۴). با قطع تزریق دارو تغییرات مورفولوژیکی و ستوشیمیایی غدد بزاقی پس از ۱۰ تا ۱۴ روز به حال طبیعی بر می‌گردند (۱۹). نشان داده شده است که تزریق واحد ایزوپروترونول در موش صحرائی و موش آزمایشگاهی عامل تولید بزاق می‌باشد که اساساً موجب تخلیه غدد بناگوشی و تحت فکلی از گرانول‌های زیموژن می‌گردد (۹،۲۴). هم چنین مشخص شده است که در این دو حیوان تجویز ایزوپروترونول سبب القای سنتز پروتئین‌های غنی از پرولین (PRPs یا Proline-rich proteins) در غدد بناگوشی و تحت فکلی می‌شود (۲،۱۹،۲۱). تنظیم سنتز پروتئین‌های غنی از پرولین توسط یک سیستم مولتی‌ژنیک با واسطه AMP حلقوی صورت می‌گیرد (۳۲).

غدد بزاقی اکثر گونه‌های پستانداران، پروتئین‌های خاصی را سنتز می‌نمایند که حاوی مقدار زیادی اسیدهای آمینه پرولین، گلیسین و گلوتامیک می‌باشند و در اکثر گونه‌ها، اسیدهای آمینه فوق حدود ۷۰ تا ۸۸ درصد اسیدهای آمینه پروتئین‌های مزبور را تشکیل می‌دهند (۱۹،۲۰). این گروه پروتئینی به نام پروتئین‌های غنی از پرولین نامیده می‌شوند که به سه گروه عمده اسیدی، قلبیایی گلیکوزیده و قلبیایی غیرگلیکوزیده تقسیم می‌گردند که به ترتیب ۱۷،۳۰ و ۲۳ درصد پروتئین‌های ترشحات در غده بناگوشی انسان و ۷۰ درصد پروتئین‌های نام بزاقی این غده را تشکیل می‌دهند (۱۶،۲۳). تاکنون یازده نوع PRPs قلبیایی در غدد بناگوشی تحریک نشده انسانی گزارش گردیده است (۱۳). تعدادی از PRPs اسیدی جدا شده دارای وزن ملکولی بین ۶۱ تا ۹۹ کیلو دالتون می‌باشند. گلیکوپروتئین‌های غنی از پرولین نیز در غدد بزاقی یافت می‌شوند که وزن ملکولی در حدود ۲۷ تا ۶۶ کیلو

مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده می‌شوند و سپس در هر یک از چاهک‌های ژل به میزان ۴۰-۵۰ میکروگرم پروتئین نمونه قرار داده می‌شود. از مخلوط پروتئین تهیه شده از شرکت سیگما نیز به عنوان استاندارد پروتئین استفاده گردید. دستگاه الکتروفورز مدل LKB.M.۲۰۰۳ روی شدت جریان ثابت ۲۵ میلی‌آمپر تنظیم و پس از حدود چهار ساعت که رنگ شاخص برموفنل به نزدیک انتهای ژل رسید، جریان برق از روی ژل برداشته می‌شود. رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی بلو ۰/۲ درصد که حاوی اسید استیک و متانول می‌باشد صورت می‌گیرد. از مخلوط اسید استیک ۷/۵ درصد و متانول ۴ درصد به عنوان محلول رنگ بر ژل استفاده می‌شود.

۳- آنالیز آماری

جهت بررسی اختلاف میانگین وزن و میزان پروتئین تام غدد در هر یک از گروه‌های آزمایشی و کنترل از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA one-Way) و Duncan's multiple range test) استفاده گردید. نتایج بر حسب Mean±SD گزارش شده است. مقادیر P کمتر از ۰/۰۱ معنی‌دار می‌باشد.

نتایج

در جدول ۱ و نمودارهای ۲ و ۱ مقایسه میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) وزن و پروتئین تام در غدد بناگوشی، تحت

مقطر استریل تزریق شد. بعد از ۱۵ روز تجویز دارو غذای حیوانات قطع شد (آب قطع نمی‌شود) و بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، حیوانات توسط بیهوشی با اترکشته شدند. غدد بزاقی سریعاً خارج و از بافت‌های اطراف جدا شده و پس از توزین در فریزر ۵۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از شماره‌گیری یک گرم از غدد مورد نظر پس از قطعه‌قطعه شدن تحت تأثیر نیتروژن مایع و در هاون چینی ساییده شد و سپس با چهار حجم بافر فسفات ۰/۰۲۵ مولار با pH=۷/۲ مخلوط و سپس در ۴۰۰۰×g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. از مایع رویی به عنوان عصاره بافتی استفاده شد (۵).

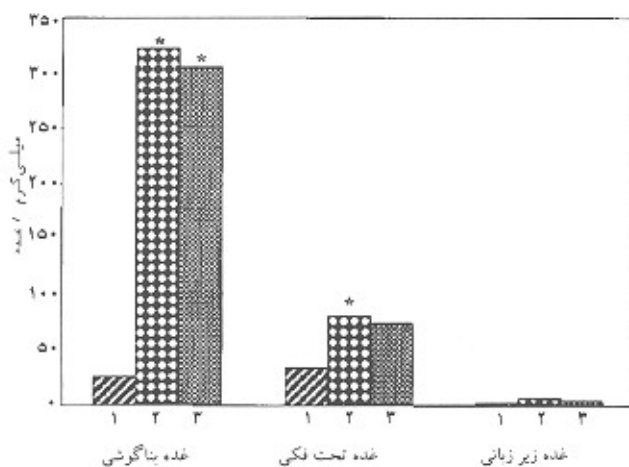
۲- آزمایشات بیوشیمیایی

پروتئین تام با روش لوری سنجش شد (۱۵). SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) به روش لاملی انجام گردید (۱۴). غلظت آکریل آمید و بیس آکریل آمید در این آزمایش به ترتیب ۳۰ درصد و ۰/۸ درصد می‌باشد. در این سیستم دو لایه ژل به کار گرفته می‌شود. یکی ژل پایینی یا ژل جداکننده با غلظت ۱۰٪ و دیگری ژل بالایی یا ژل متراکم کننده که غلظت آن ۵٪ می‌باشد. بافر ژل جداکننده تریس - اسید کلرید ریک ۱/۵ مولار با pH=۸/۸ و بافر ژل متراکم کننده تریس - اسید کلرید ریک ۰/۵ مولار با pH=۶/۸ با غلظت سدیم دو سولفات ۱ درصد می‌باشد. عصاره‌های غدد مورد نظر با بافر نمونه که حاوی ۲- مرکاپتواتانول به میزان ۵ درصد می‌باشد

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار وزن و پروتئین تام در غدد بناگوشی، تحت فکسی و زیربانی تحت تأثیر ایزوپروتنول در خرگوش

پروتئین تام میلی‌گرم/غده	وزن غده گرم	فاکتور	
		گروه	غده
۲۵/۳۹±۱۳/۵۱	۰/۶۳۴±۰/۱۴۷	کنترل (۱)	بناگوشی
۳۲۲/۰۵±۱۷۰/۱۳*	۳/۴۳±۰/۴۷*	تست (۲)	
۳۰۴/۸۲±۷۳/۱*	۳/۳۵±۰/۸*	مایع تست (۳)	
۲۳/۸۴±۶/۱۳	۰/۵۲±۰/۰۵۸	کنترل (۱)	تحت فکی
۸۰/۲۵±۱۸/۴۱*	۰/۸۳±۰/۱۲*	تست (۲)	
۷۳/۹۴±۳/۶۷*	۰/۷۳±۰/۱۱*	مایع تست (۳)	
۲/۸۸±۱/۳۶	۰/۱۱±۰/۰۴۲	کنترل (۱)	زیربانی
۶/۳±۳/۱۱	۰/۲۶±۰/۰۹۴*	تست (۲)	
۴/۹۶±۱/۰۷	۰/۲±۰/۰۳	مایع تست (۳)	

P<۰/۰۱*



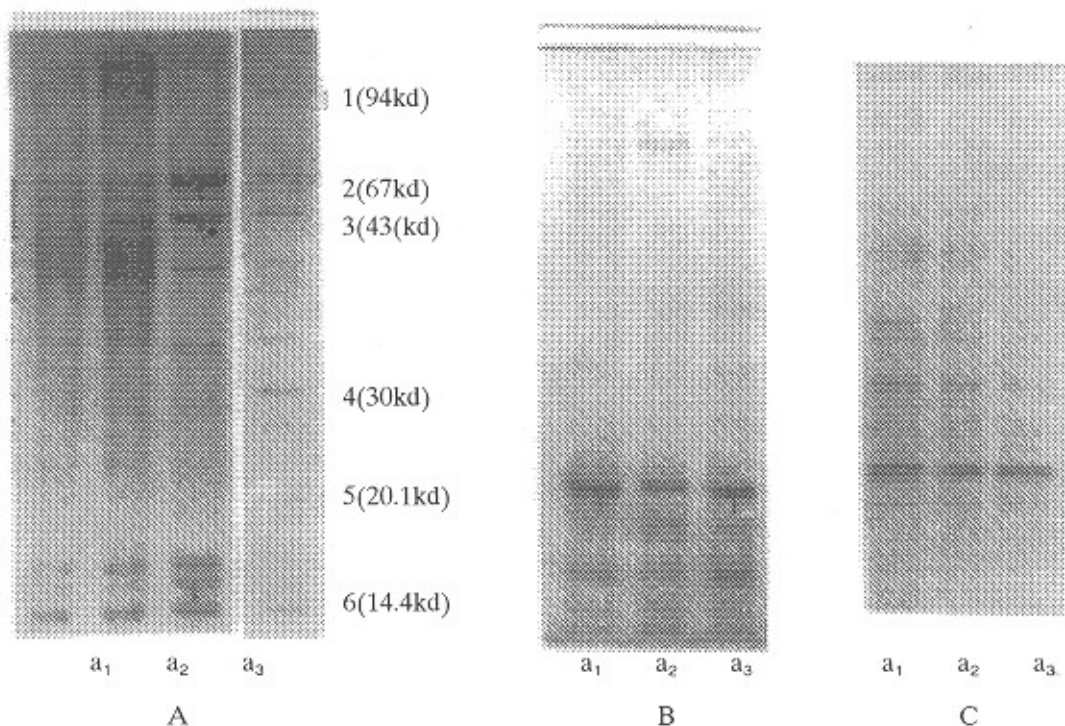
* $P < 0.01$ (غذای مایع) تست - ۳ (غذای جامد) تست - ۲ کنترل - ۱

نمودار ۲: مقایسه میانگین میزان پروتئین تام (میلی‌گرم/گرم) تحت تأثیر تجویز ایزوپروتینول در غدد بزاقی خرگوش



* $P < 0.01$ (غذای مایع) تست - ۳ (غذای جامد) تست - ۲ کنترل - ۱

نمودار ۱: مقایسه میانگین وزن (گرم) غدد بزاقی تحت تأثیر تجویز ایزوپروتینول در غدد بزاقی خرگوش



شکل ۱: مقایسه الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های غدد بزاقی خرگوش

(A) غده بناگوشی، a₁ گروه کنترل، a₂ گروه دریافت‌کننده ایزوپروتینول و رژیم مایع، a₃ گروه ایزوپروتینول تست (رژیم خشک)، S پروتئین‌های استاندارد (1) نسفر بلاز، b (2) آلومین، (3) او آلومین، (4) کربونیک ایندیه‌دراز، (5) مهارکننده تریپسین، (6) آلفا-لاکتا آلومین. در ردیف ج۱ باندهای پروتئینی با وزن ملکولی حدود ۹۸-۹۶ کیلودالتون و در ردیف a₃ پروتئین‌هایی با وزن ملکولی حدود ۵۸،۴۴،۱۴ کیلودالتون در مقایسه با ردیف a₁ افزایش نشان می‌دهند. (B) غده تحت فکی، a₁ گروه ایزوپروتینول تست، a₂ گروه کنترل، a₃ گروه دریافت‌کننده ایزوپروتینول و رژیم مایع، در a₁ و a₃ پروتئین‌هایی با وزن ملکولی حدود ۲۰ کیلودالتون در مقایسه با a₂ افزایش نشان می‌دهند. (C) غده زیر زبانی، a₁ گروه ایزوپروتینول تست، a₂ گروه دریافت‌کننده ایزوپروتینول و رژیم مایع، a₃ گروه کنترل. افزایش باند پروتئینی واضح در گروه C مشاهده نمی‌شود.

گزارش کرده‌اند که هیپرپلازی تنها در روزهای اولیه تزریق نقش مهمی را در بزرگ شدن غدد بزاقی بازی می‌کند و افزایش اصلی و بعدی وزن غدد در اثر هیپرتروفی سلولی می‌باشد (۲۲). تزاید سلول و افزایش پیش‌رونده در اندازه سلول در آسینی‌های ترش‌حی باعث افزایش وزن غدد در اثر تجویز ایزوپروتونول می‌شود (۲۷ و ۲۲ و ۱۸). از طرفی بزرگ شدن غدد بزاقی در پاسخ به عوامل آدرنژیک لزوماً وابسته به میزان فعالیت ترش‌حی ایجاد شده نیست. چرا که ایزوپروتونول حتی در دوزهایی که فعالیت ترش‌حی بسیار کمی را ایجاد می‌کند موجب بزرگ شدن غدد بزاقی می‌گردد (۲۵). با توجه به جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ در تحقیق حاضر افزایش وزن غده بناگوشی خرگوش در گروه‌های آزمایشی حدود پنج برابر گروه کنترل می‌باشد ($P < 0/01$). این افزایش وزن نیز به دلیل تأثیر شدید ایزوپروتونول بر غده بناگوشی می‌باشد. تأثیرپذیری وزن غدد تحت فکی و زیر زبانی در مقایسه با غده بناگوشی کمتر می‌باشد که این به دلیل کاهش تعداد گیرنده‌های بتا - آدرنژیک در این غده می‌باشد (۳۰).

میزان پروتئین تام غده بناگوشی در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل دوازده مرتبه بیشتر می‌باشد ($P < 0/01$) که این افزایش میزان پروتئین در مقایسه با غدد تحت فکی و زیر زبانی بیشتر می‌باشد. طبق داده‌های جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد که افزایش وزن غده و میزان پروتئین در حیواناتی که رژیم دارویی ایزوپروتونول را به صورت توأم با رژیم مایع دریافت داشته‌اند کمتر از حیواناتی است که دارو را با رژیم غذایی خشک دریافت کرده‌اند. احتمال دارد که افزایش کمتر در وزن غدد و در پروتئین در این گروه مربوط به رژیم مایع و تأثیر آن بر وزن غدد و تعداد سلول‌های آسینار در غدد بزاقی باشد. اسکات (Scott) گزارش نموده است که چنانچه موش‌های صحرایی تحت رژیم مایع قرار گیرند، آتروفی سریع غدد بزاقی را به دنبال دارد که این آتروفی با کاهش در وزن و اندازه سلول‌های آسینار مشخص می‌گردد (۲۶). افزایش کمتر در وزن غده و میزان پروتئین در گروه دریافت کننده رژیم مایع احتمالاً مربوط به اثر آتروفی دهنده رژیم مایع می‌باشد.

غدد بزاقی طبیعی انسان، میمون، خرگوش، موش آزمایشگاهی، موش صحرائی و هامستر حاوی مفادیر ناچیز PRPs می‌باشند (۳، ۱۸، ۱۹، ۲۰). در اثر تجویز ایزوپروتونول میزان PRPs تولید شده در غده بناگوشی افزایش می‌یابد. افزایش سنتر این پروتئین‌ها به حدی است که بعد از ۱۰ روز حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد از پروتئین‌های غده بزاقی موش صحرائی را تشکیل می‌دهند (۲۱ و ۲۰). چنانچه الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های

فکی و زیرزبانی خرگوش تحت تأثیر ایزوپروتونول نشان داده شده است. در شکل ۱ نیز تغییرات الکتروفورزی غدد موردنظر نشان داده شده است. میانگین وزن غده بناگوشی در گروه‌های آزمایشی (۲ و ۳) در مقایسه با گروه کنترل (گروه ۱) بیشتر بوده و از نظر آماری نیز معنی‌دار می‌باشد ($2/23 \pm 0/47$ و $3/35 \pm 0/8$ در مقابل $0/634 \pm 0/147$ ، $P < 0/01$). میانگین پروتئین تام نیز در دو گروه مذکور در مقایسه با گروه کنترل بیشتر و معنی‌دار می‌باشد ($322/05 \pm 170/13$ و $304/82 \pm 73/1$ در مقابل $13/51 \pm 25/39$ با $0/01$ ، $P < 0/01$). میانگین وزن غده و پروتئین تام در غده تحت فکی کمتر از غده بناگوشی می‌باشد ولی در هر دو گروه آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بوده و از نظر آماری نیز با $P < 0/01$ معنی‌دار می‌باشد ($0/83 \pm 0/12$ و $0/73 \pm 0/11$ در مقابل $0/52 \pm 0/058$ و $8/025 \pm 18/41$ و $73/94 \pm 3/67$ در مقابل $6/13 \pm 33/84$). اگرچه میانگین وزن غده زیرزبانی در هر دو گروه آزمایشی در مقایسه با کنترل بیشتر می‌باشد ولی فقط در گروه دوم در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد ($0/26 \pm 0/094$ و $0/2 \pm 0/03$ در مقابل $0/11 \pm 0/042$ و $P < 0/01$). در مورد میانگین پروتئین تام غده زیرزبانی نیز اگرچه در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با کنترل بیشتر می‌باشد ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($6/3 \pm 3/11$ و $4/96 \pm 1/07$ در مقابل $2/88 \pm 1/36$).

بحث و نتیجه‌گیری

تزریق متوالی ایزوپروتونول به گونه‌های مختلف پستانداران باعث تغییرات مورفولوژیکی و هیستوشیمیایی مختلف به ویژه در غده بناگوشی می‌شود (۲۰، ۲۴، ۳۱). هنریکسون (Henricksson) گزارش نموده است که تجویز آگونیست‌های مختلف بتا باعث افزایش وزن و اندازه سلول‌های آسینی غدد بناگوشی و تحت فکی موش صحرائی می‌شود. هم‌چنین گزارش شده که تجویز آگونیست‌های بتا به مدت ده روز اثری بر روی وزن بدن ندارد در حالی که پرنالتول (مقلد سمپاتیک از نوع بتا یک) باعث افزایش وزن غده بناگوشی به میزان ۴۵ درصد و تجویز تربوتالین (از نوع بتا دو) باعث افزایش وزن غده بناگوشی به میزان ۲۵ درصد می‌شود (۷). تجویز ایزوپروتونول تا ۲۵۰ درصد باعث افزایش وزن این غده می‌شود (۸). داروی ایزوپروتونول (مقلد سمپاتیک با تأثیر توأم بر روی گیرنده‌های بتا - یک و بتا - دو) بسیار بیشتر از دو آگونیست دیگر باعث افزایش وزن غدد می‌شود. علت افزایش وزن غدد بزاقی هیپرتروفی و هیپرپلازی ذکر شده است (۲۷). نووی و باسرگا (Novi & Basserga)

(Mehansho) و همکاران نشان داده‌اند که در غده تحت فکی هامستر که تحت تأثیر تجویز طولانی مدت ایزوپروترونول قرار گرفته‌اند، PRPs با وزن مولکولی بین ۱۸ تا ۴۵ کیلودالتون افزایش می‌یابند. در غده تحت فکی گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل افزایش سنتز پروتئین‌هایی با وزن مولکولی حدود ۲۰ کیلودالتون مشاهده می‌شود که با توجه به مشاهدات قبلی احتمال داده می‌شود که نوع خاصی از PRPs در غده تحت فکی خرگوش باشد. از آنجائیکه ایزوپروترونول تأثیر چندانی بر غده زیرزبانی ندارد، تغییر واضح در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های غدد گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پروژه پژوهشی می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان در سال ۷۴-۱۳۷۳ انجام شده است. چا دارد که از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه مزبور به دلیل تخصیص اعتبار و همچنین مرکز تحقیقات این دانشگاه جهت همکاری لازم تشکر و قدردانی به عمل آید.

غده بناگوشی در حیوانات گروه آزمایشی نشان می‌دهد، پروتئین‌های با وزن مولکولی حدود ۵۸ و ۴۴ و ۱۴ کیلودالتون در گروهی که رژیم غذایی خشک دریافت داشته‌اند در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد. کنترل سنتز آمیلاز توسط تجویز طولانی مدت ایزوپروترونول و انباشته شدن آن در غده بزاقی بناگوشی موش صحرائی توسط اسپیر (Speirs) و همکاران مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۹). با توجه به گزارشات کارلسو (Carlsoo) و همکاران به احتمال زیاد باند ۵۸ کیلودالتونی مربوط به آنزیم آمیلاز می‌باشد که در غده تجمع یافته است (۴). با توجه به مطالعات منصور و همکاران و مونزر (Muenzer) و همکاران در موش آزمایشگاهی و موش صحرائی، احتمال داده می‌شود که باندهای پروتئینی ۱۴ و ۴۴ کیلودالتون نیز نوع خاصی از PRPs در غده بناگوشی خرگوش باشند (۲۱ و ۱۷). در گروهی که رژیم مایع دریافت داشته‌اند پروتئین‌های با وزن مولکولی حدود ۹۶ تا ۹۸ کیلودالتون در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان می‌دهند که احتمالاً نوع خاصی از PRPs می‌باشند. مهانشو

Summary

The Effect of Isoproterenol on Protein Electrophoretic Pattern of Rabbit Salivary Glands

M. Saeb, PhD¹; S. Shafia, MSc² and J. Sajedianfard, DVM³.

1. Associate professor of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran, 2. Instructor, Department of Physiology, Zahedan University of Medical Sciences, and Health Services, Zahedan, Iran, 3. Instructor, Department of Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Isoproterenol is a potent β -adrenergic agonist which its effect on rabbit salivary glands has been studied in this research. Two groups of male albino rabbits (five in each group with the mean weight of 1000 ± 300 gr) were injected with 20 mg/kg of isoproterenol intrapritoneally each day for fifteen days and one similar group ($n=5$) was chosen as control group. In one of the test groups in addition to normal diet (dry food) animals were fed by liquid diet. Increase in the weight of parotid salivary gland was five folds in test groups as compared to control group ($P<0.01$). Also, twelve folds increase in total protein content of the gland was observed in test groups as compared to control group ($P<0.01$). The increase in submandibular gland weight was significant but not as much as that in parotid gland ($P<0.01$). The total protein of submandibular glands of those experimental animals which were fed with solid diet was 2.5 folds as compared to control group ($P<0.01$). The total protein of the other test group fed with liquid diet showed a non-significant increase in comparison to control group. The increase in submandibular gland weight was significant in this group compared to control group ($P<0.01$). Regarding sublingual gland, there was just significant increase in weight of gland in the solid diet group ($P<0.01$). However, the increase in total protein content of sublingual glands of experimental groups was not significant compared to control group. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide gel Electrophoresis of parotid gland revealed

protein bands with molecular weights of about 14, 44, 58, 96 and 98 KD in experimental groups compared to control group. Electrophoretic pattern of submandibular gland of test groups showed protein bands with 20.KD which probably is a kind of Proline-rich Proteins. Since isoproterenol was not effective on sublingual gland, significant difference in its electrophoretic pattern was not observed.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1999; 6(3): 157-164

Key Words: Isoproterenol, Salivary gland, Proline-rich protein, Rabbit

References

1. Baba A, Taniguchi K, Motokawa W and Abe K. Fluid and protein secretion by the submandibular glands of weanling rats in response to various agonists. *Arch Oral Biol* 1994; 39(11): 979-984.
2. Bedi GS, The effect of adrenergic agonists and antagonists on the expression of proteins in rat submandibular and parotid glands. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4(3-4): 565-571.
3. Bennick A. Salivary proline rich proteins. *Mol Cell Biochem* 1982; 45: 83-99.
4. Carlsoo B, Danielsson A and Henriksson R. β_1 and β_2 -adrenoceptor mediated secretion of amylase from incubated rat parotid gland. *Acta Physiol Scand* 1984; 120(3): 429-435.
5. Haghighat M, Moetamed A, Vaseghi T, and Aminlari M. Isoprenaline induces biosynthesis of proline-rich proteins in the salivary glands of rat but not in sheep. *Comp Biochem Physiol* 1996; 115(2): 165-168.
6. Hay DI, Bennick A, Schlesinger DH, Minaguchi K, Madapallimattam G and Schluckebier SK. The primary structures of six human salivary acidic proline rich proteins. *Biochem J* 1988; 255(1): 15-21.
7. Henriksson R, Carlsoo B, Danielsson A, Hellstrom S and Idahl CA. Effects of neonatal sympathetic denervation on amylase secretion in the adult parotid gland: difference in β_1 , and β_2 -adrenoceptor response. *Eur J Pharmacol* 1982; 78(2): 195-200.
8. Henriksson R. β_1 and β_2 -adrenoceptor agonists have different effects on rat parotid acinar cells. *Am J Physiol* 1981; 242: 481-485.
9. Hully JR, Benton HP and Alison MR. Isoprenaline induced cell proliferation in mouse salivary glands: The effect of castration. *Virchows Arch* 1984; 47(2): 95-105.
10. Johnson DA. Differences in basic proline rich proteins in rat parotid saliva following chronic isoproterenol treatment or maintenance on a liquid diet. *Arch Oral Biol* 1983; 28: 549-554.
11. Johnson DA and Cortez JE. Chronic treatment with Beta adrenergic agonists and antagonists alters the composition of proteins in rat parotid saliva. *J dent Res* 1988; 67(8): 1103-1108.
12. Kauffman DL, Bennick A, Blum M and Keller PJ. Basic proline rich proteins from human parotid saliva. Relationships of the covalent structures of ten proteins from a single individual. *Biochem* 1991; 30(14): 3351-3356.
13. Kauffman DL and Keller PJ. The basic proline rich proteins in human parotid saliva from a single subject. *Arch Oral Biol* 1979; 24: 249-256.
14. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
15. Lowry DH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randall AJ. Protein measurement by Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.

16. Madapallimattam G and Bennick A. Phosphopeptides derived from human salivary acidic proline rich proteins. *Biochem J* 1990; 270(2): 297-304.
17. Mansouri H, Cope GH, Divecha N, McDonald CJ. Electron microscopic immunocytochemical localization of proline-rich proteins in normal mouse parotid salivary glands. *Histochem J* 1992; 24(10): 737-746.
18. Mansouri SH and Motamed A. Immunocytochemical localization of proline-rich proteins in isoprenaline-treated rat parotid salivary gland. *J Sci IR Iran* 1996; 7(2): 77-82.
19. Mehansho H, Clements S, Sheares BT, Smith S and Carlson DM. Induction of proline-rich glycoprotein synthesis in mouse salivary glands by isoproterenol and by tannins. *J Biol Chem* 1985; 260(7): 4418-4424.
20. Mehansho H, Ann DK, Butler LG, Rogler G and Carlson DM. Induction of proline-rich proteins in hamster salivary glands by isoproterenol treatment and an unusual growth inhibition by tannins. *J Biol Chem* 1987; 262(25): 12344-12350.
21. Muenzer J, Bildstein C, Gleason M and Carlson DM. Properties of proline-rich proteins from parotid glands of isoproterenol treated rats. *J Biol Chem* 1979; 254(31): 5629-5634.
22. Novi AM and Basserga R. Association of hypertrophy and DNA synthesis in mouse salivary glands after chronic administration of isoproterenol. *Am J Path* 1971; 62: 295-308.
23. Robinson R, Kauffman DL, Waye MM, Blum M, Bennick A and Keller PJ. Primary structure and possible origin of the non glycosylated basic proline rich protein of human submandibular sublingual saliva. *Biochem J* 1989; 263(2): 497-503.
24. Robinovith M, Murry R, Patricia J, Johnson DA, Iversen J and Kauffman D. Changes in rat parotid salivary proteins induced by chronic isoproterenol administration. *J Dent Res* 1977; 55: 687-692.
25. Schneyer CA. β -adernergic effects by autonomic agents on mitosis and hypertrophy in rat parotid gland. *Proc Soc Exp Biol Med* 1969; 131: 71-75.
26. Scott J and Gunn DL. Functional characteristics of atrophic parotid acinar cells from rats after liquid feeding. *J dent Res* 1994; 73(6): 1180-1186.
27. Selye H, Vielleux R and Cantin M. Excessive stimulation of salivary gland growth by isoproternol. *Science* 1961; 133: 44-45.
28. Spielman AI and Bennick A. Isolation and characterization of six proteins from rabbit parotid saliva belonging to a unique family of proline-rich proteins. *Arch Oral Biol* 1989; 34(2): 117-130.
29. Speirs RL and Hodyson C. Control of amylase secretion in the rat parotid gland during feeding. *Arch Oral Biol* 1979; 21: 539-544.
30. Takahama M and Barka T. Electron microscopic alteration of submaxillary gland produced by isoproterenol. *J Ultrastruct Res* 1967; 17: 452-474.
31. Vugman I and Hand AR. Quantitative immunocytochemical study of secretory protein expression in parotid glands of rats chronically treated with isoproterenol. *Microsc Res Tech* 1995; 31(2): 106-117.
32. Wright PS, Lenney C and Carlson DM. Regulation of proline-rich protein gene expression by cyclic AMP in primary cultures of hamster parotid gland. *J Mol Endocrinol* 1990; 4(1): 81-87.