

بررسی میکروسکوپی اثر مسمومیت با مس بر بافت‌های نرم و سخت دهانی موش سوری نر

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۲۱

ایمان فاطمی^۱، زکیه حسن‌شاهی^۲، طاهره اسلامیش^۳، مصطفی صادقی^۴، سمیه سالاری‌صدیق^{۵*}، الهام حکیمی‌زاده^۶ ا. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرم‌سیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ۲. دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران ۳. استادیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران ۴. استاد، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران ۵. استادیار پریودنтолوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران ۶. مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: از آنجا که سولفات مس به عنوان کوفاکتور آنزیم‌ها عمل می‌کند، می‌تواند بر روی بافت‌های دهان و دندان اثر بگذارد. بنابراین هدف از این مطالعه تجربی، تعیین میکروسکوپی اثر محلول سولفات مس بر بافت‌های نرم و سخت دهان بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۱۴ سر موش صحرایی نر (۲۵۰ - ۲۰۰ گرم) استفاده شد، موش‌ها به دو گروه کنترل و درمان تقسیم شدند، گروه درمان سولفات مس خوارکی (۲۰۰ mg/kg) به مدت ۸۰ روز دریافت کردند. پس از بیهوشی با اتر و خون‌گیری از قلب، زبان و فک آنها نیز برای بررسی میکروسکوپی جدا شد. آنزیم‌های کبدی سرم خون اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های بافتی از نظر میزان التهاب، تعداد عروق خونی در واحد سطح، درصد بافت فیبروتیک، نکروز، زخم مخاطی، آتروفی و هایپرپلازی اپی‌تیلیوم سطحی، خونریزی و کلسيفيکاسيون پالپ دندان بررسی شدند. داده‌ها با SPSS نسخه ۲۲ و با استفاده از آزمون تی مستقل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی داری ۵٪ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: آنزیم‌های AST و ALT تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ($p < 0.001$)؛ اما آنزیم ALP تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد. تعداد عروق خونی در لثه و زبان تفاوت معناداری را نشان داد. التهاب، فیبروتیک شدن، نکروز، زخم مخاطی، خونریزی، آتروفی و هایپرپلازی اپی‌تیلیوم سطحی و کلسيفيکاسيون پالپ دندان در هیچ‌کدام از نمونه‌های زبان و فک وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: مسمومیت با سولفات مس میزان آثربوئنر را در بافت‌های دهان و دندان افزایش داد و در به وجود آمدن التهاب، خونریزی، آتروفی یا زخم اپی‌تیلیال، نکروز بافت فیبروتیک در مخاط دهان و بافت زبانی و کلسيفيکاسيون پالپ دندان نقشی نداشت.

کلیدواژه‌ها: آثربوئنر، مس، التهاب

*نویسنده مسئول: استادیار پریودنтолوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

نمبر: ۰۳۴۳۴۲۸۰۰۰۸

تلفن: ۰۳۴۳۴۲۸۰۰۳۱

ایمیل: ssalarisedigh@gmail.com

مقدمه

دقیقی از میزان شیوع مسمومیت فقط با مس یافت نشده است. انتقال مس در سرم به صورت اولیه با بند با آلبومین و سپس سروپلاسمین و ترانس‌کوپرین می‌باشد. مس به عنوان کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم‌ها عمل می‌کند. مس موجود در لیزیل-اکسیداز برای ساخت کلژن و الاستین که از پروتئین‌های بافت پیوندی هستند، ضروری است و همراه با سروپلاسمین در آنژیوئن نقش دارد. همچنین بر روی فعالیت آنزیم ماتریکس متالپروتئیناز که یک آنزیم وابسته به فلز می‌باشد تأثیر می‌گذارد (۱۰-۷).

گاهی به دلیل دریافت بیش از اندازه مس، بدن دچار مسمومیت ناشی از آن می‌شود. در این صورت فرد دچار سردرد، حالت تهوع، کاهش قند خون و افزایش ضربان قلب می‌شود. کبد مخزن اصلی مس در بدن است، مس اضافی در مغز و کبد رسوب کرده، به کلیه‌ها صدمه می‌زند و مانع تولید ادرار می‌شود. طبق نظر سازمان بهداشت جهانی وجود بیش از سه میلی‌گرم مس در لیتر خون، باعث ایجاد علائم گوارشی شامل تهوع، اسهال و استفراغ می‌شود. مصرف مقدار زیادی از نمک‌های مس که بیشتر شامل سولفات مس است، ممکن است باعث نکروز کبدی و مرگ شود. افزایش مس در کودکان عوارضی مانند اختلال در یادگیری خواندن و نوشتن، بیشفعالی و مشکلات شنوایی را به دنبال خواهد داشت. این عارضه در جوانان و افراد بزرگسال ممکن است سبب افسردگی، پرخاشگری، عصبانیت، تحریک‌پذیری زیاد، تغییرات شخصیتی و توهم شود (۵).

بیشترین سلول در بافت لتهای، فیبروبلاست و در بافت استخوانی، استئوپلاست می‌باشد که در ساخت کلژن نقش مهمی دارند. مس برای تولید کلژن و الاستین یک عنصر ضروری است و با توجه به این نقش حیاتی متعاقباً بر روی تخریب بافت‌های پریودنتال، لیکن پلان دهانی، پوسیدگی‌های سطح ریشه دندان، اسکواموس سل کارسینوما و کاهش استخوان و غضروف تأثیر مهمی دارد (۱۱).

با توجه به اثرات تجمعی و توکسیک مس در بدن و عوارضی چون سردرد، تهوع، کاهش قند خون، پوسیدگی‌های سطح ریشه، اسکواموس سل کارسینوما و کاهش استخوان و غضروف، این مطالعه به بررسی میکروسکوپی اثر محلول خوارکی سولفات مس بر بافت‌های نرم و سخت دهانی موش سوری نر پرداخته است.

مخاط دهان شامل لته، بافت پوشش دهنه کام سخت، زبان و مخاطی که سایر نواحی دهان را پوشش می‌دهد، می‌باشد. لته هسته‌ای مرکزی از بافت همبند است. عروق خونی لته از شریانچه‌هایی از پریوست سطوح فاسیال و لینگوال استخوان آلوئول، ناحیه کرست استخوان بین دندانی و عروق لیگامان پریودنتال تأمین می‌شوند (۱). زبان، توده‌ای از عضله مخطط است که توسط مخاط پوشیده شده است. سطح تحتانی زبان، نرم و دارای مخاط پوشاننده می‌باشد. سطح پشتی زبان نامنظم است که بر روی دو سوم قدامی آن صدها عدد از انواع پایپلا قرار دارد (۲). هر دندان دارای دو قسمت تاج و ریشه است. ریشه در استخوان آلوئول قرار گرفته است. بیشتر دندان از یک ماده کلسیفیه دیگری به نام عاج تشکیل شده که حفره بالپ را احاطه می‌کند (۲).

سمیت سیستمیک عناصر فلزی می‌تواند مشکلاتی در اندام‌های مختلف بدن ایجاد نماید. مس یک عنصر فلزی ضروری برای بدن می‌باشد، ولی وجود بیش از حد مجاز آن باعث مسمومیت سیستمیک و بروز عوارض ناشی از آن می‌شود. اندام‌های اصلی بدن مانند مغز، کبد و کلیه‌ها تحت تأثیر مسمومیت ناشی از مس قرار می‌گیرند. مطالعات آزمایشگاهی، حیوانی و انسانی متعددی جهت بررسی نقش و سمیت مس انجام شده است، ولی تاکنون مطالعه‌ای به بررسی سمیت مس بر روی بافت‌های دهان و دندان نپرداخته است. کبد یکی از اندام‌هایی است که تحت تأثیر مسمومیت سیستمیک مس به ارزیابی آنزیم‌های کبدی می‌پردازند (۳).

سلامت ساختارهای بدن از جمله بافت‌های دهانی تحت تأثیر جذب عناصر مختلف (مس، آهن، روی، کبات، ید و ...) به میزان معین می‌باشد. در صورت کمبود یا افزایش بیش از حد، عملکرد این ساختارها دچار اختلال و بیماری می‌شود. ترکیبات فلزی می‌توانند از طریق هوا، آب، خاک و غذا وارد بدن انسان شوند (۴). از جمله این ترکیبات، مس می‌باشد که یک فلز ضروری است و نقش بسیاری در عملکردهای بیولوژیکی ایفا می‌کند. میزان مس موجود در هوا ناچیز و متابع بالقوه مواجهه با مس شامل آب، غذا و آلدگی‌های عمومی می‌باشد. میزان مناسب دریافت روزانه مس در بالغین بین ۰/۹ تا ۰/۲ میلی‌گرم و در کودکان ۰/۰ تا ۰/۸ میلی‌گرم می‌باشد (۳، ۵، ۶). آمار

موج معین به عنوان معیاری جهت اندازه‌گیری استفاده می‌شود.

مطالعات بافت‌شناسی

جهت تهیه لام نمونه‌ها پس از یک هفته از فرمالین خارج شدند. سپس به منظور دهیدراتاسیون، نمونه‌ها در یک توالی درجه‌بندی شده الكل قرار گرفتند. سپس جهت دکلسفیفه شدن بافت استخوانی، وارد ترکیب شیمیایی چهار درصد ساخت کشور آلمان شدند^۴). دو بار در هفته محلول EDTA تعویض شد و پس از دو ماه، نرم شدن کامل بافت استخوانی با چاقوی جراحی امتحان شد. نمونه‌ها به منظور انجام مرحله آبگیری و شفاف‌سازی وارد دستگاه Sakura Fine Tissue Processor (Sakura Fine Tissue Processor Fechnical, Japan) شدند. نمونه‌ها در ظرف‌های مخصوص و با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. پس از سرد شدن، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون توسط میکروتوم (SIEE,Germany) تهیه شد. در مراحل تهیه لام، وجود گلbul قرمز، خارج از رگ خونی و در سایر بافت‌ها به عنوان خونریزی در نظر گرفته شد (به عنوان مثال، وجود گلbul قرمز در بافت عضلانی). سپس برای بررسی بافت‌شناسی، نمونه‌های بافتی توسط هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. بررسی هیستولوژیک اسلامیدها توسط یک پاتولوژیست از نظر میزان التهاب، تعداد عروق خونی (در سه فیلد میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰)، درصد بافت فیبروتیک، نکروز، زخم مخاطی، آتروفی و هیپرپلازی اپیتلیوم سطحی، خونریزی و کلسفیکاسیون پالپ انجام شد.

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ شدند و داده‌های کمی به صورت انحراف میانگین \pm میانگین گزارش شدند. برای مقایسه گروه‌های درمان و شاهد از آزمون آماری تی مستقل استفاده گردید. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمایشات بیوشیمیایی

نتایج حاکی از آن بود که بین گروه مورد و شاهد از نظر مقدار آنزیم ALP تفاوت معناداری وجود نداشت ($p=0/998$)

⁴ Ethylenediaminetetraacetic acid

روش کار

جهت انجام این مطالعه، از ۱۴ سر موش صحرایی نر، با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان خریداری شدند. حیوانات در قفس، در شرایط استاندارد با دسترسی آزاد به آب و غذا، تحت دمای اتاق ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در حیوان خانه دانشکده پزشکی نگهداری شدند. موش‌ها پیش از شروع مطالعه، برای اطمینان از سلامت عمومی توسط دامپزشک معاینه شدند. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه هفت‌تایی تقسیم شدند که شامل گروه اول (گروه شاهد) که هیچ مداخله‌ای در آن انجام نشد و گروه دوم (گروه درمان) که موش‌های این گروه محلول سولفات‌مس (شرکت سیگما، آمریکا) خوارکی را با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸۰ روز دریافت کردند (۳). سولفات‌مس در آب آشامیدنی حیوانات حل شد.

جمع‌آوری نمونه

پس از پایان دوره ۸۰ روزه، موش‌ها توسط دی‌اتیل‌اتر (شرکت سیگما، آمریکا) در شرایط استاندارد بیهوش و ابتدا خون‌گیری از قلب آنها انجام شد و نمونه خون‌ها برای جداسازی سرم سانتریفیوژ شدند (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه). سرم‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌ها توسط گیوتین کشته و زبان و فک آنها برای بررسی میکروسکوپی جدا شد و در فرمالین ۱۰٪ با PH هفت فیکس شدند. مرحله کشتن حیوانات توسط گیوتین با رعایت کلیه پروتکل‌ها و روش‌های توصیه شده توسط کمیته حمایت و کاربرد علمی از حیوانات انجام شد.

مطالعات بیوشیمیایی

به منظور تأیید رخدادن مسمومیت ناشی از سولفات‌مس در موش‌ها، نمونه سرم‌ها برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی AST^۱ و ALT^۲ استفاده شدند. اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی توسط دستگاه اتوانالایزر (MindrayBS 400, China) انجام شد. در این روش از تفاوت بین جذب نوری در دو طول

¹ Aspartate Transaminase

² Alanine Aminotransferase

³ Alkaline Phosphatase

خونریزی و کلیسیفیکاسیون پالپ دندان‌ها نیز در هیچکدام از نمونه‌ها یافت نشد. تفاوت تعداد عروق خونی در لثه و زبان بین دو گروه درمان و شاهد، معنادار بود ($p<0.05$) (جدول ۲ و شکل ۱). نتایج بافت‌شناسی گروه شاهد نشان داد که در زیر مخاط زبان و لثه تعداد مویرگ‌ها کم و از نظر اندازه کوچک هستند. در گروه درمان با سولفات‌مس مویرگ‌ها در زیر مخاط زبان و لثه از نظر تعداد بیشتر و از نظر اندازه متسع و پرخون هستند.

جدول ۲. اثر مس بر روی تعداد عروق خونی در زبان و لثه گروه‌ها

گروه شاهد		گروه درمان	گروه	متغیر
Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	متغیر
۳/۴۲±۰/۲	۴/۴۲±۰/۲۹*	تعداد عروق خونی در لثه		
۳/۷۱±۰/۱۸	۴/۸۵±۰/۳۴*	تعداد عروق خونی در زبان		
* ($p<0.05$) در مقایسه با گروه شاهد				

(جدول ۱). ولی در مورد آنزیم‌های AST و ALT بین گروه‌های مورد و شاهد تفاوت معنادار بود ($p<0.001$) (جدول ۱).

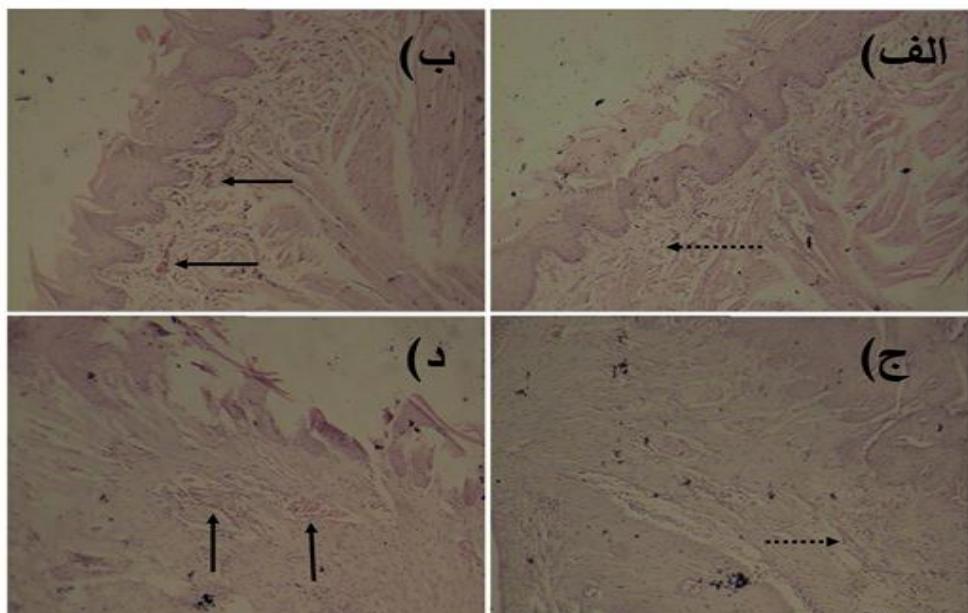
جدول ۱. اثر مس بر روی آنزیم‌های کبدی در گروه‌ها

متغیر	گروه	گروه درمان	گروه شاهد	Mean±SD
ALP				۱۳۳±۳۳۳
AST				۶۰±۲۴۷
ALT				۱۵±۵۸

* ($p<0.001$) در مقایسه با گروه شاهد

آزمایشات بافت‌شناسی

نتایج این مطالعه نشان داد که در ارزیابی نمونه‌های زبان و فک (لثه و استخوان) در هر دو گروه مورد و شاهد، هیچکدام از نمونه‌ها، التهاب و فیبروتیک‌شدن را نشان ندادند. همچنین آتروفی و هیپرپلازی اپی‌تیلیوم سطحی، نکروز، زخم مخاطی،



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپی گروه‌های مختلف مورد مطالعه (بزرگنمایی ۱۰۰). (الف) تصویر میکروسکوپی زبان در گروه شاهد، (ب) تصویر میکروسکوپی زبان در گروه درمان، (ج) تصویر میکروسکوپی لثه در گروه شاهد، (د) تصویر میکروسکوپی لثه در گروه درمان. فلش‌های نقطه‌چین نشان‌دهنده مویرگ‌های سالم با اندازه طبیعی می‌باشند. فلاش‌های سیاه نشان‌دهنده مویرگ‌های متسع و پرخون می‌باشد.

بحث

VEGF مهم‌ترین فاکتور رشدی برای شروع روند آثیروژن Fibroblast Growth Factor 2 نقش مهمی در افزایش بقا و تکثیر سلول‌های اندوتیال دارد، مس باعث افزایش اثر این دو فاکتور می‌شود. مس به عنوان کوفاکتور متالوپروتئیناز شناخته شده که مهاجرت سلول‌های اندوتیال از ماتریکس خارج سلولی را افزایش می‌دهد و متعاقباً باعث می‌شود که فاکتورهای رشدی آزاد شده به ماتریکس خارج سلولی متصل شوند (۱۶). همچنین بیان شده است که با افزایش میزان مس، متصل شدن فاکتور رشدی آثیروژنین به سلول‌های اندوتیال بیشتر شده است و این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده افزایش میزان آثیروژن باشد (۱۷). Kumar و همکاران در بررسی یون‌های مس و سروپلاسمین و آثیروژن بر روی مویرگ‌های قرنیه خرگوش سفید نیوزلندری به این نتیجه رسیده که یون‌های مس در توالی اتفاقات رگ‌سازی نقش دارند (۱۰). در این مطالعه کلسیفیکاسیون پالپی در دندان‌ها مشاهده نشد و دلیل احتمالی آن، این است که موش‌ها در این مطالعه بالغ بودند و دندان‌ها به صورت کامل شکل گرفته بودند و دریافت سیستمیک محلول سولفات مس پس از بالغ شدن دندان‌ها بوده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات مس به صورت خوارکی باعث ایجاد مسمومیت سیستمیک موش شد. مسمومیت با سولفات مس میزان آثیروژن را در بافت‌های دهان و دندان افزایش داد ولی در به وجود آمدن التهاب، خونریزی، آتروفی یا زخم اپی‌تیال، نکروز بافت فیبروتیک در مخاط دهان و بافت زبانی و کلسیفیکاسیون پالپ دندان نقشی نداشت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کمک مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به شماره قرارداد IR.RUMS.REC.1398.060، با کد اخلاق ۳۱/۲۰/۱/۹۷۴۷۹ صورت پذیرفته است.

تعارض منافع

نویسندهای این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نتایج نشان داد که میزان آنزیم‌های ALT و AST به طور معناداری در گروه درمان افزایش بافته و آنزیم ALP تفاوت معناداری نداشت که مؤید بروز مسمومیت با مس است. برای ارزیابی آسیب‌های کبدی، آنزیم‌هایی که به طور روتین اندازه‌گیری می‌شوند، در موقعیت خاصی در داخل هپاتوسیت‌ها یافت می‌شوند. آنزیم‌های سیتوپلاسمی شامل ALT و AST می‌باشند. آنزیم‌های مجاری، مانند ALP در اثر فرایندهای انسدادی افزایش می‌باشد و بنابراین مارکری برای اختلال عملکرد صفوراوی می‌باشد و برخلاف آنزیم‌های سیتوپلاسمی، فعالیتشان در داخل هپاتوسیت کاملاً پایین است (۲، ۱۲).

Kumar و همکاران در مطالعه‌ای که به بررسی سمیت مس پرداخته شده، جهت تأیید سمیت کبد، آنزیم‌های ALT و AST را اندازه‌گیری نموده و این دو آنزیم به طور معناداری افزایش داشته‌اند (۳). با بررسی نتایج این مطالعه هیچ یک از موارد التهاب، خونریزی، نکروز بافت فیبروتیک در مخاط دهان و بافت زبانی مشاهده نشد که نتیجه بررسی ما با مطالعه Sudhahar و همکاران همخوانی داشت. Sudhahar و همکاران بیان کردند که خاصیت ضد التهابی مس به علت ویژگی آنتی اکسیدانتیو این فلز می‌باشد (۱۳). Contreras و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی سمیت سلولی کاتیون‌های فلزی بر روی سلول‌های کشت داده شده استئوپلاست موش انجام شد، نشان دادند که نقره و مس سمیت سلولی زیادی بر روی این سلول‌ها داشتند که نتایج این مطالعه در تضاد با نتایج مطالعه ما می‌باشد و دلیل آن به علت روش اجرای متفاوت دو مطالعه است. در مطالعه ما سمیت مس پس از جذب سیستمیک بررسی شده و در آن مطالعه، مس به صورت موضعی در تماس با سلول‌های کشت داده شده استئوپلاست موشی بوده است (۱۴). در مطالعه ما میزان آثیروژن در بافت‌های زیر مخاطی دهان در گروه درمان به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود. سولفات مس پیشروی مویرگ‌ها را به طور معناداری بیشتر می‌کند. شواهد نشان می‌دهد که مس باعث تحریک افزایش تکثیر سلول‌های اندوتیال و افزایش آثیروژن در مطالعات آزمایشگاهی می‌شود. در مطالعه مروری توسط Velnar و همکاران، سولفات مس سرعت ترمیم زخم را افزایش داده که این رویداد مربوط به افزایش بیان فاکتور رشد اندوتیالی عروقی در حاشیه زخم بوده است (۱۵).

References

1. Klokkevold PR, Newman MG, Takei HH. Carranza's clinical periodontology: Elsevier Saunders; 2015: 60-90.
2. Junqueira LC, Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas/Anthony L. Mescher: New York [etc.]: McGraw-Hill Medical; 2013: 600-50.
3. Kumar V, Kalita J, Misra U, Bora H. A study of dose response and organ susceptibility of copper toxicity in a rat model. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2015;29:269-74.
4. Bhattacharya PT, Misra SR, Hussain M. Nutritional aspects of essential trace elements in oral health and disease: an extensive review. *Scientifica*. 2016.
5. Goyer RA, Clarkson TW. Toxic effects of metals. Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons, Fifth Edition, Klaassen, CD [Ed] McGraw-Hill Health Professions Division. 1996.
6. Soares FA, Fagundez DA, Avila DS. Neurodegeneration Induced by Metals in Caenorhabditis elegans. *Advances in Neurobiology*. 2017;18:355-83.
7. Nomi M, Miyake H, Sugita Y, Fujisawa M, Soker S. Role of growth factors and endothelial cells in therapeutic angiogenesis and tissue engineering. *Current Stem Cell Research and Therapy*. 2006;1(3):333-43.
8. Chen RR, Silva EA, Yuen WW, Brock AA, Fischbach C, Lin AS, et al. Integrated approach to designing growth factor delivery systems. *The FASEB Journal*. 2007;21(14):3896-903.
9. Feng W, Ye F, Xue W, Zhou Z, Kang YJ. Copper regulation of hypoxia-inducible factor-1 activity. *Molecular Pharmacology*. 2009;75(1):174-82.
10. Xiao Y, Wang T, Song X, Yang D, Chu Q, Kang YJ. Copper promotion of myocardial regeneration. *Experimental Biology and Medicine*. 2020;245(10):911-21.
11. De Souza A, Gerlach R, Line S. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dental Materials*. 2000;16(2):103-8.
12. Chou D. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. *JAMA*. 2007;297(16):200-50.
13. Sudhahar V, Das A, Horimatsu T, Ash D, Leanhart S, Antipova O, et al. Copper transporter ATP7A (copper-transporting P-Type ATPase/Menkes ATPase) limits vascular inflammation and aortic aneurysm development: role of microRNA-125b. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2019;39(11):2320-37.
14. Contreras RG, Sakagami H, Nakajima H, Shimada J. Type of cell death induced by various metal cations in cultured human gingival fibroblasts. *In Vivo*. 2010;24(4):513-7.
15. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of International Medical Research*. 2009;37(5):1528-42.
16. Gerard C, Bordeleau LJ, Barralet J, Doillon CJ. The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper. *Biomaterials*. 2010;31(5):824-31.
17. Gacche RN, Meshram RJ. Targeting tumor micro environment for design and development of novel anti-angiogenic agents arresting tumor growth. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2013;113(2):333-54.

Microscopic evaluation of the effect of copper sulfate on soft and hard oral tissues in male rats

Received: 11 Jul 2020

Accepted: 23 Jan 2021

Iman Fatemi¹, Zakeh Hassanshahi², Tahereh Eslammanesh³, Mostafa Sadeghi⁴, Somaye Salari Sedigh^{5*}, Elham Hakimizadeh⁶

1. Assistant professor, Research Center for Tropical and Infectious Diseases, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran 2. Undergraduate Student of Dentistry, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran 3. Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran 4. Professor, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Science, Rafsanjan, Iran 5. Assistant Professor, Department of Periodontology Dentistry, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran 6. Assistant Professor of Physiology, Physiology-Pharmacology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, School of Medicine Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Abstract

Introduction: As, copper sulfate acts as an enzyme cofactors, it can affect oral tissues. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of copper sulfate on soft and hard oral tissues.

Materials and Methods: This animal study was conducted on 14 male rats (200-250 gr). The rats were divided into two groups of treatment and control. The treatment group received oral copper sulfate in 80 days. The rats were anesthetized and blood samples were taken from their hearts. Then, their tongue and jaw were also removed for microscopic examination. Liver serum enzymes were measured. Tissue samples were examined for inflammation, number of blood vessels per unit area, percentage of fibrotic tissue, necrosis, mucosal ulcer, atrophy, and superficial epithelial hyperplasia, bleeding and pulp calcification. Data were analyzed by SPSS 22 using independent t-test ($p<0.05$).

Results: AST and ALT enzymes showed significant differences, but the ALP enzyme did not show any significant difference. The number of blood vessels in the gums and tongue showed a significant difference. Inflammation, fibroticization, necrosis, mucosal ulceration, hemorrhage, atrophy, and superficial epithelial hyperplasia and pulp calcification were not found in any of the tongue and jaw specimens.

Conclusion: Copper sulfate intoxication increased the amount of angiogenesis in the oral tissues and it had no role in inflammation, hemorrhage, atrophy or epithelial ulcer, fibrotic tissue, necrosis and pulp calcification.

Keywords: Angiogenesis, Copper, Inflammation

***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Periodontology Dentistry, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

Email: ssalarisedigh@gmail.com

Tel: +983434280031

Fax: +983434280008