Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
جلد چهار، شماره چهار- ب، زمستان ۱۳۸۴، ۳۰۵-۳۰۰

مقایسه سیستم آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی با گروه شاهد و ارتباط آن با سرولوپلاسمین

دکتر احمد غلامحسینیان[۱]، دکتر غلامعباس محمدی[۲]، دکتر محمود یگانه[۳]، مهدیه نظری[۴]، دکتر نوذر نخعی[۵]، دکتر حامد زحمتکش[۳]

دریافت مقاله: ۱۳۸٤/۲/۳ اصلاح نهایی: ۱۳۸٤/۱۰/۷ پذیرش مقاله: ۱۳۸٤/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های قلبی عروقی به ویژه ایسکمی قلبی به علت آتروسکلروز عمده‌ترین علت مرگ در جوامع صنعتی می‌باشند. در جریان ایسکمی استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد. این یافته توسط مطالعات in vitro که تغییر غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها را حین ایسکمی نشان داده‌اند، تأیید شده است. امّا وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی و ارتباط آن با سرولوپلاسمین به عنوان یک فاکتور خطر بررسی نشده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی این وضعیت انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی روی ۹۹ مرد ۳۵ تا ۵۵ ساله انجام گرفت.دو گروه شامل ۲۹ بیمار مبتلا به ایسکمی قلبی با تنگی عروق کرونر بالای ۷۰ درصد که توسط تست ورزش و آنژیوگرافی تأیید شده بود و ۷۰ فرد سالم بدون سابقه بیماری قلبی، دیابت و فشار خون بالا مورد بررسی قرار گرفتند. از هر یک، نمونه خون صبحگاهی گرفته شد و سپس فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و غلظت آنتی‌اکسیدان کل سرم (TAS)، سرولوپلاسمین و مالون دی‌آلدهید به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: مقدار TAS، فعالیت آنزیم‌های SOD و کاتالاز در بیماران به ترتیب ۰/۹±۰/۰۴ میلی‌مولار، ۱۲۲۴±۲۱/۴۰ و ۵۶۵۷±۲۹۰/۶۰ واحد در گرم هموگلوبین به دست آمد که نسبت به مقدار همین عوامل در گروه کنترل ۱/۶±۰/۰۲ میلی‌مولار، ۱۴۸۸±۱۳/۰۳ و ۷۵۴۶±۱۷۶/۸۰ واحد در گرم هموگلوبین به طور معنی‌داری کمتر بود ($p<0/05$). غلظت سرولوپلاسمین و مالون دی آلدهید در بیماران ۳۶±۰/۹۲ میلی گرم در دسی‌لیتر و ۲۷۷±۶/۹۰ نانومول در گرم هموگلوبین و در گروه کنترل به ترتیب ۲۹±۰/۶۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و ۲۴۷±۴/۲۰ نانومول در گرم هموگلوبین بود که اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). بین آنتی‌اکسیدان‌ها و سرولوپلاسمین در این گروه‌ها ارتباط آماری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی کمتر از گروه شاهد است که این امر می‌تواند افزایش پراکسیداسیون لیپیدی را در بیماران توجیه کند. هم‌چنین نمی‌توان از روی مقدار سرولوپلاسمین، شدت پراکسیداسیون لیپیدی را پیش گویی کرد زیرا رابطه‌ای بین آن‌ها مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: سیستم آنتی‌اکسیدان، پراکسیداسیون لیپیدی، بیماری ایسکمی قلبی و سرولوپلاسمین

۱- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
تلفن: ۳۲۲۱۶۶۰-۰۳۴۱، فاکس: ۳۲۲۱۶۷۱-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: agnajar@yahoo.com
۲- استادیار گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳- مدیر اداره بهداشت کار، مجتمع مس سرچشمه
۴- کارشناس ارشد گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۵- استادیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018

مقدمه

بیماری‌های قلبی- عروقی اولین علت مرگ و میر زنان و مردان در جوامع صنعتی و در حال توسعه است. در ایران نیز اولین و شایع‌ترین علت مرگ در تمام سنین و در هر دو جنس، بیماری‌های قلبی- عروقی به خصوص بیماری‌های عروق کرونر می‌باشد و از کل ۷۰۰ تا ۸۰۰ مورد مرگ، روزانه ۳۱۷ نفر به علت این بیماری می‌میرند که ۱۶۶ مورد آن به علت سکته قلبی است [۱].

ایسکمی قلبی به علت تنگی عروق کرونر یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قلبی است. سال‌هاست چند عامل خطر اصلی (فشار خون بالا، کشیدن سیگار، هیپرلیپیدمی، دیابت و چاقی) برای این بیماری شناخته شده است و مطالعات برای یافتن عوامل موثر دیگر ادامه دارد [۳-۲] به طوری که بر اساس نتایج مطالعات اخیر لیپوپروتئین a، هموسیستئین و ترکیبات اکسیژن‌دار فعال مانند رادیکال‌های سوپر اکسید (O_2) و پراکسی‌نیتریت (ONOO) نیز به عنوان عوامل خطر جدید مطرح شده‌اند [۶-۴]. منابع سلولی تولید کننده این ترکیبات کاملاً مشخص نشده است امّا به نظر میرسد که میلو پراکسیداز و NADPH اکسیداز نوتروفیلی، گزانتین اکسیداز اندوتلیال از جمله مهم‌ترین این منابع باشند. به منظور دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد تولید شده، سیستم آنتی‌اکسیدان به ویژه آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز وارد عمل می‌شوند [۷]. مطالعاتin vitro نشان داده‌اند که این ترکیبات می‌توانند با بیومولکول‌ها واکنش کنند و سبب ایجاد تغییراتی مانند نیتراسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها شوند که پراکسیداسیون لیپیدی با تشکیل پلاک در عروق ارتباط دارد [۸-۷]. از سوی دیگر مطالعات اپیدمیولوژیکی بیماری ایسکمی قلبی نشان داده‌اند که سرولوپلاسمین یکی از ریسک فاکتورهای بیماری قلبی عروقی و سکته قلبی است در حالی که نقش این پروتئین در اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها و گسترش ضایعات آترواسکلروتیک به صورت in vivo بررسی نشده است [۹]. در برخی از بررسی‌های in vitro مشخص شده که سرولوپلاسمین توانایی اکسیداسیون LDL را دارد و این اثر به اتم مس موجود در ساختمان این پروتئین نسبت داده شده در حالی که در مطالعات دیگر برای آن اثر آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است [۱۰]. با توجه به تناقضات موجود به نظر می‌رسد که بررسی نقش سرولوپلاسمین و سیستم آنتی‌اکسیدان به صورت in vivo و در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی مفید باشد. بدین منظور مطالعه حاضر انجام گرفت و در آن وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدان و مقدار سرولوپلاسمین در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی بررسی و با گروه شاهد مقایسه شد و سپس ارتباط بین این دو فاکتور در هر دو گروه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به صورت توصیفی انجام گرفت دو گروه شامل ۲۹ فرد مبتلا به بیماری ایسکمی قلبی و ۷۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. تمام افراد مورد مطالعه مرد بودند و ۳۵ تا ۵۵ سال سن داشتند. بیماران تحت نظر پزشک متخصص و با توجه به نتایج تست ورزش و آنژیوگرافی انتخاب شدند به طوری که همه آن‌ها تنگی عروق کرونر بالای ۷۰٪ داشتند. گروه شاهد هم تحت نظر پزشک انتخاب شد به نحوی که هیچ یک از آن‌ها سابقه بیماری قلبی-عروقی، دیابت (قند خون ناشتا بالای ۱۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)، و فشار خون بالا (بیش از ۱۴۰/۹۰mmHg) نداشتند.

از کلیه افراد مورد مطالعه حدود ۵ سی‌سی خون در حالت ناشتا (۱۲ ساعت) و با رعایت اصول بهداشتی گرفته شد. مقداری از این خون را جهت تهیه همولیزانت و اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین، در ظروف حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته و از مابقی جهت تهیه سرم استفاده شد. به منظور تهیه همولیزانت، خون حاوی ضدانعقاد سانتریفیوژ شد. سپس پلاسما و buffy coat به دقت جدا گردید. اریتروسیت‌های باقی‌مانده سه مرتبه با بافر فسفات نمکی (با غلظت ۰/۰۱ مولار و pH=۷/۴ که حاوی کلرور سدیم با غلظت ۰/۱۵ مولار بود) شستشو داده شدند و سپس با آب مقطر لیز گردیدند. نمونه‌های لیز شده تا زمان انجام آزمایش در فریزر با برودت ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

به جای اندازه‌گیری مستقیم گونه‌های فعال که نیمه عمر کوتاهی دارند فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان و غلظت

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018

محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی اندازه گرفته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی در اثر واکنش لیپیدها با رادیکال‌های آزاد و مواد اکسید کننده رخ می‌دهد و سنجش محصولاتی مانند مالون دی‌آلدهید معیاری از شدت پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. بدین منظور غلظت آنتی‌اکسیدان کل سرم و فعالیت آنزیم SOD در همولیزانت به روش رنگ سنجی و با استفاده از کیت شرکت RANDOX اندازه گرفته شد. هم‌چنین فعالیت آنزیم کاتالاز به روش رنگ سنجی با استفاده از کروموژن Purpald [۱۱] و غلظت مالون دی‌آلدهید به کمک تست تیو باربیتوریک اسید [۱۲] در همولیزانت مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. غلظت سرولوپلاسمین سرم به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و در حضور سوبسترای پارا فنیل دی‌آمین هیدروکلرید [۱۳] اندازه گرفته شد. غلظت قند خون ناشتا به روش رنگ سنجی آنزیمی با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور RA-1000 و کیت شرکت من و مقدار هموگلوبین نیز در خون حاوی ضد انعقاد EDTA و به وسیله دستگاه SYSMEX KX21 اندازه‌گیری شد. در پایان از نرم‌افزار SPSS و آنالیز کوواریانس جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده گردید و ارتباط بین آنزیم‌های مورد نظر، مالون دی‌آلدهید و آنتی‌اکسیدان کل با سرولوپلاسمین در هر گروه، با استفاده از همبستگی پیرسون بررسی شد. نتایج به صورت Mean±SEM گزارش گردید و سطح معنی‌داری با فرض $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه بر روی ۹۹ مرد ۵۵-۳۵ ساله شامل ۲۹ فرد مبتلا به ایسکمی قلبی و ۷۰ فرد سالم انجام گرفت. متغیرهای مورد مطالعه در جدول ۱ نمایش داده شده است. میانگین غلظت آنتی‌اکسیدان کل در گروه بیماران و شاهد به ترتیب ۰/۹±۰/۰۴ و ۱/۶±۰/۰۲ میلی‌مول در لیتر بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در گروه شاهد ۱۴۸۸±۱۳/۰۳ واحد در گرم هموگلوبین بود که با اختلاف معنی‌داری از گروه بیماران با میانگین ۱۲۲۴±۲۱/۴۰ واحد در گرم هموگلوبین بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه بیماران ۲۹۰/۶۰± ۵۶۵۷ و در گروه شاهد ۷۵۴۶±۱۷۶/۸۰ واحد در گرم هموگلوبین به دست آمد که تفاوت معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). میانگین غلظت مالون دی‌آلدهید در گروه بیماران ۲۷۷±۶/۹۰ و در گروه شاهد ۲۴۷±۴/۲۰ نانومول در گرم هموگلوبین بود که از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱: مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی مورد اندازه گیری در دو گروه شاهد و بیمار

فاکتور بیوشیمیایی	گروه	میانگین	خطای معیار میانگین	مقدار p
آنتی‌اکسیدان کل mmol/L	شاهد	۱/۶	۰/۰۲	<۰/۰۰۱
	بیمار	۰/۹	۰/۰۴	
سوپراکسیددیسموتاز U/g Hb	شاهد	۱۴۸۸	۱۳/۰۳	<۰/۰۰۱
	بیمار	۱۲۲۴	۲۱/۴۰	
کاتالاز U/g Hb	شاهد	۷۵۴۶	۱۷۶/۸۰	<۰/۰۰۱
	بیمار	۵۶۵۷	۲۹۰/۶۰	
مالون دی‌آلدهید nmol/g Hb	شاهد	۲۴۷	۴/۲۰	<۰/۰۰۱
	بیمار	۲۷۷	۶/۹۰	
سرولوپلاسمین mg/dl	شاهد	۲۹	۰/۶۰	<۰/۰۰۱
	بیمار	۳۶	۰/۹۲	

مقدار p: اختلاف معنی‌دار بین میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در دو گروه مورد و شاهد را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

در تجزیه و تحلیل با استفاده از همبستگی پیرسون، در هیچ یک از گروه‌ها همبستگی معنی‌داری بین مقادیر آنتی‌اکسیدان کل، آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسیددیسموتاز و مالون دی‌آلدهید با مقدار سرولوپلاسمین مشاهده نشد. مقادیر r در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: ضریب همبستگی بین مقادیر آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، سوپر اکسیددیسموتاز، مالون دی‌آلدهید و مقدار سرولوپلاسمین در دوگروه شاهد و بیمار

فاکتور بیوشیمیایی	گروه	r	p
آنتی‌اکسیدان کل	شاهد	۰/۰۹۰	۰/۵
	بیمار	-۰/۰۷۲	۰/۷
سوپراکسیددیسموتاز	شاهد	۰/۰۰۱	۰/۹
	بیمار	-۰/۰۰۲	۰/۹
مالون دی آلدهید	شاهد	۰/۰۴۰	۰/۷
	بیمار	-۰/۱۰۰	۰/۶
کاتالاز	شاهد	۰/۱۴۴	۰/۲
	بیمار	-۰/۱۱۰	۰/۶

r: ضریب همبستگی پیرسون

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018

$p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهند که مقدار آنتی‌اکسیدان کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسیددیسموتاز در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در مطالعه مشابهی که توسط Lantos و همکارانش (۱۹۹۷) بر روی ۱۹ بیمار مبتلا به ایسکمی قلبی انجام گرفت مشخص شد که مقدار آنتی‌اکسیدان کل در گروه بیماران کمتر از گروه شاهد است [۱۴]. در مطالعه دیگری، Akkus و همکارانش (۱۹۹۶) نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی در بیماران عروق کرونر قلب کاهش یافته است. در این مطالعه مشخص شد که غلظت مالون دی‌آلدهید در گروه بیماران بیش از گروه شاهد است. با توجه به اینکه مالون دی‌آلدهید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است این یافته افزایش شدت استرس اکسیداتیو را در بیماران نشان می‌دهد [۱۵]. در مطالعه مشابهی Nand (۱۹۹۷) افزایش مقدار مالون دی‌آلدهید را در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی مزمن نشان داد [۱۶]. هم‌چنین Rabago و همکارانش (۲۰۰۰) در مطالعه‌ای دیگر نشان دادند که مقدار مالون دی‌آلدهید در دو گروه بیماران مبتلا به آنژین صدری و بیماران با سابقه انفارکتوس میوکارد اختلاف معنی‌داری ندارد در حالی که نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد [۱۷].

در مطالعات انجام گرفته افزایش مقدار سرولوپلاسمین در بیماران مبتلا به بیماری قلبی- عروقی بویژه پس از انفارکتوس میوکارد مشاهده شده است. ابتدا این افزایش به نقش سرولوپلاسمین در پاسخ به فاز حاد التهاب نسبت داده شد اما مطالعات دیگر نشان دادند که سرولوپلاسمین فاکتور خطر مستقلی در بیماری قلبی عروقی است [۱۸]. در این مطالعه نیز غلظت بالای سرولوپلاسمین در بیماران مشاهده شد اما پس از بررسی ضریب همبستگی هیچ نوع ارتباط معنی‌داری بین سرولوپلاسمین و سیستم آنتی‌اکسیدان یا پراکسیداسیون لیپیدی در دو گروه مورد و شاهد به دست نیامد. در ضمن هیچ مطالعه مشابهی جهت بررسی این ارتباط مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی کاهش مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی که ممکن است به علت افزایش مصرف این ترکیبات باشد توان دفاعی بیماران را در برابر صدمات حاصل از اکسیداسیون بیومولکول‌ها به ویژه لیپیدها کاهش می‌دهد. ازسوی دیگر افزایش مقدار سرولوپلاسمین در بیماران، یک فاکتور خطر محسوب می‌شود اما این فاکتور مستقل از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان یا اکسیدان عمل می‌کند به طوری که از روی مقدار آن نمی‌توان شدت پراکسیداسیون لیپیدی را تعیین کرد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های اجرای این پژوهش مشترکاً به وسیله معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مجتمع مس سرچشمه کرمان تأمین گردیده است که سپاسگزاریم.

References

[۱] نقوی م. سیمای مرگ در هجده استان کشور در سال ۱۳۸۲. تهران، ایران، تندیس، تیرماه ۱۳۸۲.

[2] Braunwald E. Heart disease. 6th ed. W.B Saunders Company. Philadelphia. 2001; pp: 1010-38.

[3] Castelli WP. Lipids, risk factors and ischemic heart disease. *Atherosclerosis*. 1996; 124:1-9.

[4] Fujino A, watanabe T, Kunii H, Yamaguchi N, Yoshinari K, Watanabe Y, et al. Lipoprotein (a) is a potential coronary risk factor. *Jpn Circ J*, 2000; 64(1): 51-6.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018

[5] Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 2003; 108(16): 1912-16.

[6] Moselhy SS, Demerdash SH. Plasma homocysteine and oxidative stress in cardiovascular disease. *Dis Markers*, 2003-2004; 19(1): 27-31.

[7] Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part II: animal and human studies. *Circulation*. 2003; 108(17): 2034-40.

[8] Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2000; 3(5): 373-84.

[9] Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovasclar disease. *Free Radic Biol Med*. 2000; 28(12): 1735-44.

[10] Messerschmidt A, Huber R. The blue oxidases, ascorbate oxidase, laccase and ceruloplasminn. Modelling and stractural relationships. *Eur J Biochem*, 1990; 187(2): 341-52.

[11] Http: /www. Worthington-Biochem.com/t/ Default. Html.Catalase

[12] Lykkesfeldt J. Determination of malondiadehde as dithio barbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorecent detection: comparison with ultraviolet-visible spectrophotometry. *Clin Chem*, 2001; 47(9): 1725-7.

[13] Ghalambor MA. Experimental Biochemistry Vol.2, Pahlavi University Publications. Shiraz. 1971; pp: 169-73.

[14] Lantos J, Roth E, Czopf L, Nemes J, Gal I. Monitoring of Plasma total antioxidant status in different diseases. *Acta Chir Hung*, 1997; 36(1-4): 188-9.

[15] Akkus I, Saglam NI, Caglayan O, Varal H, Kalak S, Saglam M. Investigation of erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant defense systems of patients with coronary artery disease documented by angiography. *Clin Chim Acta*, 1996; 244(2): 173-80.

[16] Nand N, Budhiraja N, Singh GP, Sharma M, Aggarwal HK. Lipid peroxidation and vitamin E in ischemic heart disease. *J Assoc Physicians India*, 1997; 45(11): 839-42.

[17] Rabago M, Cortez H, Aguilar E, et al. Plasma malondialdehyde in patiens with type 2 diabetes mellitus and in patients with coronary disease. Gac Med Mex. 2000; 136: 23-30.

[18] Fox PL, Mukhopadhyay C, Ehrenwald E. Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. *Life Sci*, 1995; 56(21): 1749-58.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 20:25 IRDT on Thursday June 21st 2018