

## ارزیابی ارتباط افزایش سطح غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید پس از وقوع سکته‌ی قلبی با میزان بیان ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و مهار کننده‌ی بافتی آن

فائزه حسینی<sup>۱</sup>، شیما تولایی<sup>۲</sup>، محسن موهبتی<sup>۳</sup>، مریم موسوی<sup>۴</sup>، فاطمه کلالی‌نیا<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** سکته‌ی قلبی (MI یا Myocardial infarction)، یکی از مهم‌ترین مشکلات سلامت در دنیای حاضر است. طبق مطالعات قبلی، افزایش هورمون پاراتیروئید (PTH یا Parathyroid hormone) بعد از وقوع MI منجر به بهبود قابل توجه عملکرد میوکارد می‌شود. در برخی بیماران، دیده شده است که به هم خوردن تعادل میان ماتریکس متالوپروتئینازها (Matrix metalloproteinases یا MMPs) و مهار کننده‌های بافتی متالوپروتئینازها (Tissue inhibitors of metalloproteinases یا TIMP) پس از وقوع MI باعث بروز نتایج ناخواسته‌ای همانند مرگ قلبی ناگهانی می‌شود. در این مطالعه، وجود ارتباط بین سطح سرمی PTH با MMP-9 و TIMP-1 پس از وقوع MI مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** مطالعه بر روی ۶۲ بیمار MI که در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ به بیمارستان قائم مشهد مراجعه نموده بودند (گروه مورد) و ۶ فرد سالم (گروه شاهد) انجام شد و نتایج مقایسه گردید. نمونه‌های خونی، ۷۲ ساعت پس از وقوع MI دریافت و بخش سرمی آن‌ها جداسازی شد. سپس، عوامل MMP-9، TIMP-1 و PTH سرمی آن‌ها، با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) تعیین مقدار گردیدند.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، سطح سرمی MMP-9 و PTH در گروه مورد (به ترتیب  $۴/۳۰ \pm ۸/۰۷$  نانوگرم/میلی‌لیتر و  $۴۰/۴۴ \pm ۶۱/۹۴$  پیکوگرم/میلی‌لیتر) در مقابل گروه شاهد (به ترتیب  $۲/۸۳ \pm ۰/۴۴$  و  $۶/۵۹ \pm ۳۰/۹۳$  پیکوگرم/میلی‌لیتر) افزایش قابل توجهی نشان داد. این افزایش در سطح سرمی TIMP-1 در نمونه‌های گروه مورد ( $۱/۳۶ \pm ۶/۲۱$  نانوگرم/میلی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد ( $۵/۶۰ \pm ۰/۵۷$  نانوگرم/میلی‌لیتر) به صورت جزئی‌تر مشاهده شد. با این وجود، بررسی‌های آماری نشان داد که افزایش سطح PTH بعد از MI ارتباطی با افزایش MMP-9 ( $P = ۰/۴۷۷$ ) یا TIMP-1 ( $P = ۰/۳۷۴$ ) ندارد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اطلاعات به دست آمده در این مطالعه، گمان می‌رود که PTH و MMP-9 دو عامل مستقل در حوادث پس از MI به حساب می‌آیند.

**واژگان کلیدی:** سکته‌ی قلبی، ماتریکس متالوپروتئیناز، مهار کننده‌های بافتی متالوپروتئینازها، هورمون پاراتیروئید

**ارجاع:** حسینی فائزه، تولایی شیما، موهبتی محسن، موسوی مریم، کلالی‌نیا فاطمه. ارزیابی ارتباط افزایش سطح غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید پس از وقوع سکته‌ی قلبی با میزان بیان ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و مهار کننده‌ی بافتی آن. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۵): ۱۱۶۳-۱۱۵۶

تغییرات بسافتی در بطن چپ اتفاق می‌افتد که در مجموع Left ventricular remodeling (LV remodeling) نامیده می‌شود و به تغییراتی در اندازه، شکل و عملکرد قلب منجر می‌گردد (۳). این تغییرات، در نتیجه‌ی پاسخ‌های سلولی و پاسخ‌های ماتریکس خارج سلولی شکل می‌گیرد که ماتریکس متالوپروتئینازها (Matrix metalloproteinases یا MMPs) در هر دو دسته‌ی پاسخ‌ها نقش دارند (۱).

### مقدمه

سکته‌ی قلبی یا نارسایی حاد میوکارد (MI یا Myocardial infarction) در نتیجه‌ی مرگ سلول‌های میوکارد و ایسکمی طولانی مدت اتفاق می‌افتد (۱). بیماری‌های ایسکمیک قلب، رتبه‌ی اول علت مرگ و میر در دنیا را به خود اختصاص می‌دهند که نشان دهنده‌ی اهمیت یافتن راه‌کارهای درمانی جدید و مؤثر برای آن‌ها می‌باشد (۲). بعد از وقوع MI،

۱- دکترای داروسازی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- مرکز تحقیقات سندرم متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

۴- متخصص داروسازی بالینی، مرکز تحقیقات مصرف منطقی دارو، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- استادیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: فاطمه کلالی‌نیا

Email: kalaliniaf@mums.ac.ir

PTH می‌تواند در افراد مبتلا به بیماری‌های ایسکمیک قلب، کاربرد درمانی داشته باشد.

چندین مطالعه، به بررسی تأثیر PTH بر بیان و عملکرد MMPها و نقش آن‌ها به ویژه در شکل‌گیری استخوان پرداخته‌اند. نتایج به دست آمده در مورد تأثیر PTH بر ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ و ۹ متفاوت و متناقض بوده است (۱۶-۱۴). از این رو، در مجموع، نقش PTH بر بیان و عملکرد MMP نوع ۲ و ۹ به طور دقیق مشخص نیست و بررسی‌های بیشتری در بافت‌های مختلف لازم است. در این مطالعه، به بررسی سطح MMP-9 و TIMP-1 در نمونه‌های بیماران مبتلا به MI در سه روز اول بعد از MI پرداخته شد تا با بررسی ارتباط آن با سطح سرمی PTH این بیماران، نکات بیشتری در مورد مکانیسم عمل PTH در حوادث بعد از MI مشخص شود.

### روش‌ها

**جمع‌آوری نمونه‌ها:** این مطالعه، از نوع بررسی مقطعی بود که در جمعیت ۶۲ نفری بیماران (گروه مورد) و ۶ فرد سالم (گروه شاهد) انجام شد. بیماران، افراد بالای ۱۸ سال بودند که در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴، با تشخیص MI به بیمارستان قائم مشهد مراجعه نموده بودند. بیمارانی وارد مطالعه شدند که قبل از ۲۴ ساعت از شروع علائم وارد بیمارستان شده بودند و تظاهرات بالینی MI نظیر علائم ایسکمیک طول کشیده، درد قفسه‌ی سینه، حداقل یک Electrocardiography (EKG) با بالا رفتن یا پایین افتادن قطعه‌ی ST در ۲ لید یا بیشتر را داشتند. ضمن بستری شدن بیمار در بیمارستان، اطلاعات پایه‌ای بیمار نظیر سن، جنس، سابقه‌ی فامیلی، اعتیاد و غیره و نیز اطلاعات بالینی مشتمل بر Low density lipoprotein، سطح کلسترول، (FBS) Fast blood sugar، Triglyceride، (LDL) High density lipoprotein، (HDL) و (TG) و ST-Elevation myocardial infarction (STEMI) در قالب پرسش‌نامه‌ی استاندارد ثبت گردید.

تمام بیماران، مطابق راهنمای انجمن قلب آمریکا، داروهای مورد نیاز پس از حمله‌ی قلبی را دریافت کردند. در این مطالعه، بیمارانی که دچار نارسایی کبدی، ریوی، کلیوی، بیماری‌های عفونی، خودایمی یا التهابی بودند و یا از داروهای کلسیم-دی، روکاترول و همچنین، داروهای نظیر فسفات‌ها، داروهای ضد تشنج، استروئیدها، ایزونیازید، لیتیم و ریفامپین استفاده می‌کردند، به علت اثر این عوامل بر غلظت PTH سرمی، از مطالعه حذف شدند (۲۲-۱۷).

حدود ۷۲ ساعت بعد از سکت، از بیماران نمونه‌ی خون دریافت و در لوله‌ی خشک (فاقد ماده‌ی ضد انعقاد سیترات و Ethylenediaminetetraacetic acid یا EDTA به دلیل تداخل با مواد کیت) ریخته می‌شد. زمان نمونه‌گیری بین ساعات ۸-۷ صبح

MMPها، خانواده‌ی بزرگی از پروتئازهای وابسته به روی هستند که گستره‌ی وسیعی از سوسترها دارند. به طور کلی، MMPها در بافت‌های سالم در حال استراحت بیان نمی‌شوند و افزایش فعالیت انواع خاص MMPها در گستره‌ی وسیعی از بیماری‌ها و بافت‌های التهابی مشاهده می‌شود. MMPها، به عنوان گروه اصلی آنزیم‌های پروتئولیتیک دخیل در Remodeling شناخته شده‌اند (۲). MI حاد، همراه با افزایش پاسخ‌های التهابی است که شامل آزادسازی انواع مختلفی از واسطه‌های التهابی و نفوذ لکوسیت‌ها به درون میوکاردیوم می‌باشد. این واسطه‌های التهابی وارد شده به میوکاردیوم، منبع اصلی تولید MMPها به خصوص MMP-9 هستند (۴). مطالعات نشان داده‌اند بیمارانی که در اثر مشکلات قلبی-عروقی پس از وقوع MI فوت کرده‌اند، در مقایسه با سایر بیماران، سطح بالاتری از MMP-2 و MMP-9 پلاسمایی داشته‌اند (۵، ۲).

فعالیت MMPها توسط دو نوع اصلی از مهارکننده‌های اندوژن شامل α2-ماکروگلوبولین (یک پروتئین پلاسمایی و مهارکننده‌ی عمومی پروتئازها) و مهارکننده‌های بافتی متالوپروتئینازها (Tissue inhibitors of metalloproteinases یا TIMPs) مهار می‌شود (۶). افزایش بیان و عملکرد TIMP-1 و TIMP-2 در مراحل اولیه بعد از وقوع MI، در چندین مطالعه نشان داده شده است. همچنین، مشخص شده است که کاهش عملکرد کترلی آن در وقوع LV remodeling نقش دارد (۹-۷). تغییر در میزان بیان MMP و TIMP پس از وقوع MI در مطالعات مختلفی بررسی شده است (۱۰). بر هم خوردن تعادل میان MMP و TIMP، ممکن است باعث بروز نتایج ناخواسته‌ای شود که منجر به شکل‌گیری مشکلات مختلفی همانند مرگ قلبی ناگهانی، پارگی در بطن چپ (LV rupture) یا توسعه‌ی نارسایی احتقانی قلب شود. بنابراین، حفظ تعادل عملکرد MMPها، اهداف بالقوه‌ای در درمان پس از وقوع MI محسوب می‌شوند (۱).

پاراتیروئید هورمون (Parathyroid hormone یا PTH)، یک هورمون پپتیدی است که از غده‌ی پاراتیروئید ترشح می‌شود و نقش اصلی آن، تنظیم کلسیم سیستمیک است. هورمون PTH در سه روز اول بعد از MI افزایش قابل توجهی دارد (۱۱). نشان داده شده است که PTH با کاهش ورود کلسیم به داخل سلول، باعث گشاد شدگی عروق می‌شود (۱۲) و تجویز روزانه‌ی آن، به بهبود قابل توجه عملکرد میوکارد بعد از MI، از طریق کاهش نازک شدگی دیواره‌ی بطن چپ و کاهش گسترش اسکار، کمک می‌کند (۱۳). از سوی دیگر، تجویز این هورمون، باعث افزایش حرکت و لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی استخوانی در بافت آسیب دیده‌ی قلب می‌شود (۱۲). بر اساس این نتایج، محققان پیشنهاد کردند که تجویز هورمون

**یافته‌ها**

بررسی غلظت سرمی عوامل اصلی مورد مطالعه: در ابتدا، طبیعی بودن جمعیت مورد بررسی با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov نشان داده شد. نتایج بررسی آماری مشخصات پایه‌ای و بالینی بیماران تحت مطالعه، به ترتیب در جداول ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۱. مشخصات پایه در افراد تحت مطالعه

گروه شاهد	گروه مورد	
	مثبت (%)	تعداد
جنس (مرد)	۲ (۳۳/۳)	۶
سابقه‌ی خانوادگی	۱ (۱۶/۷)	۶
ورزش	۲ (۳۳/۳)	۶
اعتیاد	۰ (۰)	۶
مصرف سیگار	۰ (۰)	۶
STEMI	۰ (۰)	۶

STEMI: ST-Elevation myocardial infarction

جهت اندازه‌گیری غلظت سرمی MMP-9 و TIMP-1 با روش ELISA، در ابتدا نمودار استاندارد هر کیت با استفاده از غلظت‌های مشخص محلول‌های استاندارد و جذب‌های خوانده شده حاصل از حداقل دو چاهک مربوط به نمونه‌های استاندارد رسم شد. همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، ضریب همبستگی نمودار استاندارد کیت ELISA برای MMP-9 و TIMP-1 به ترتیب معادل ۰/۹۵۸ و ۰/۹۵۴ بود. در ادامه، تغییرات غلظت سرمی MMP-9، TIMP-1 و PTH مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، برای هر نمونه‌ی مجهول، حداقل ۲-۳ چاهک ELISA در نظر گرفته شد. بررسی آماری نتایج (جدول ۳)، افزایش معنی‌داری را در غلظت MMP-9، در نمونه‌های گروه مورد نسبت به گروه شاهد نشان داد (P = ۰/۰۰۵).

بود. سپس، طی مدت کمتر از ۱ ساعت، نمونه‌ها با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه طی ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون آن‌ها جدا شد. نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری آنالیز شدند و یا برای آنالیزهای بعدی در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. دقت شد که نمونه‌ها بیش از دو مرتبه تحت چرخه‌های انجماد و ذوب قرار نگیرند.

**اندازه‌گیری سطح سرمی MMP-9، TIMP-1 و PTH کیت**

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) برای MMP-9 (Human) با شماره‌ی کاتالوگ KA3090 و کیت ELISA (Human) برای TIMP-1 با شماره‌ی کاتالوگ KA3112 از شرکت Abnova و همچنین، کیت ELISA برای Intact PTH با شماره‌ی کاتالوگ K013566 از شرکت Siemens خریداری شد. هر سه کیت مورد استفاده، بر اساس تکنولوژی Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay استوار بودند. اندازه‌گیری سطح سرمی MMP-9 و TIMP-1 مطابق دستورالعمل کیت اختصاصی آن، انجام شد. در پایان، چگالی رنگ زرد ایجاد شده در هر نمونه، در ۴۵۰ نانومتر توسط ELISA reader (Stat Fax-2100) خوانده شد و غلظت سرمی هر عامل، با استفاده از نمودار استاندارد آن محاسبه گردید. اندازه‌گیری سطح سرمی PTH توسط آزمایشگاه پردیس مشهد انجام شد.

**آنالیز آماری:**

برای توصیف مشخصات نمونه‌های پژوهش، از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده گردید. طبیعی بودن جمعیت مورد بررسی با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. مقایسه‌ی میانگین بین گروه مورد و گروه شاهد، با استفاده از آزمون‌های آماری Independent sample t یا One-way ANOVA انجام شد. جهت تعیین میزان همبستگی تغییرات دو متغیر، از ضریب همبستگی Pearson و در نهایت، جهت پیش‌بینی وابستگی تغییرات متغیر وابسته به تغییرات متغیرهای پیش‌بین، از تحلیل رگرسیون استفاده شد.  $P < ۰/۰۵۰$  از نظر آماری معنی‌دار تلقی گردید.

جدول ۲. مشخصات بالینی افراد تحت مطالعه

متغیر	گروه شاهد (n = ۵)		گروه مورد (n = ۴۳)	
	کمینه	بیشینه	کمینه	بیشینه
FBS (mg/dl)	۷۵	۹۶	۷۵	۳۲۳
Total cholesterol (mg/dl)	۱۷۶	۲۳۴	۸۲	۲۸۳
LDL (mg/dl)	۱۱۲	۱۴۰	۳۳	۱۹۱
HDL (mg/dl)	۳۵	۶۲	۱۳	۱۳۷
TG (mg/dl)	۷۲	۱۸۰	۳۰	۳۰۴

FBS: Fasting blood sugar; LDL: Low density lipoprotein; HDL: High density lipoprotein; TG: Triglyceride

جدول ۳. سطح سرمی (MMP-9) Matrix metalloproteinase-9، (TIMP-1) Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 و (PTH) Parathyroid hormone

نشانهگر	گروه شاهد	گروه مورد
	دامنه	میانگین ± انحراف معیار
MMP-9 (ng/ml)	۲/۴۷-۳/۵۰	۲/۸۳ ± ۰/۴۴
TIMP-1 (ng/ml)	۵/۱۸-۶/۵۷	۵/۶۰ ± ۰/۵۷
PTH (ng/ml)	۲۱-۳۹	۳۰/۹۳ ± ۶/۵۹
		دامنه
		میانگین ± انحراف معیار
		۸/۰۷ ± ۴/۳۰ **
		۶/۲۱ ± ۱/۳۶
		۶۱/۹۴ ± ۴۰/۴۴*
		۱/۳۶-۱۴/۸۸
		۲/۹۰-۸/۳۸
		۱۰/۶۰-۱۸۲/۰۰

MMP-9: Matrix metalloproteinase-9; TIMP-1: Tissue inhibitor of metalloproteinases-1; PTH: Parathyroid hormone

\* معنی دار در سطح  $P < 0.05$ ; \*\* معنی دار در سطح  $P < 0.01$

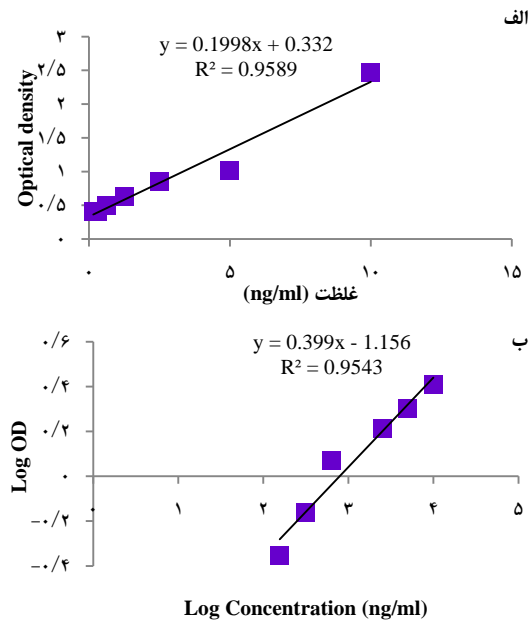
( $P = 0.252$ ). همچنین، نتایج بررسی‌ها نشان داد که غلظت سرمی PTH به طور معنی داری در گروه مورد بیش از گروه شاهد بود ( $P = 0.050$ ).

**بررسی ارتباط سطح سرمی MMP-9 و TIMP-1 با PTH**

جهت تعیین میزان همبستگی تغییرات MMP-9 و TIMP-1 به PTH، آنالیز آماری ضریب همبستگی Pearson انجام شد (جدول ۴). نتایج این بررسی نشان داد که بین تغییرات غلظت سرمی PTH با غلظت سرمی MMP-9 و غلظت سرمی TIMP-1 ارتباط معنی داری وجود ندارد. در حالی که ارتباط معنی داری بین میزان تغییرات سرمی MMP-9 و غلظت سرمی TIMP-1 مشاهده شد.

**بحث**

بیماری‌های قلبی نظیر نارسایی حاد میوکارد (Acute myocardial infarction یا AMI) رتبه‌ی اول مرگ و میر در دنیا را به خود اختصاص می‌دهند که نشان دهنده‌ی اهمیت یافتن راه‌کارهای درمانی جدید و مؤثر برای آن‌ها می‌باشد (۱). MMPها اغلب به صورت نهفته وجود دارند و در شرایط پاتولوژیک قلب، به مقدار زیاد فعال و بیان می‌شوند (۲۳). فعالیت MMPها توسط TIMPها کنترل می‌شود (۱) و کاهش عملکرد کنترل‌کننده TIMPها در وقوع LV Remodeling نقش دارد (۷، ۹).



شکل ۱. نمودار استاندارد الف) (MMP-9) Matrix metalloproteinase-9 (جذب-غلظت)، ب) (TIMP-1) (جذب-لگاریتم غلظت)

از سوی دیگر، اگر چه غلظت TIMP-1 در نمونه‌های بیماران بیش از افراد سالم بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود.

جدول ۴. بررسی همبستگی تغییرات سطح سرمی (MMP-9) Matrix metalloproteinase-9، (TIMP-1) Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 با (PTH) Parathyroid hormone در مجموع نمونه‌های گروه مورد و شاهد

نشانهگر	تعداد	ضریب همبستگی Pearson	مقدار P
PTH (pg/ml)	۶۸	۱	-
MMP-9	۵۴	۰/۰۹۹	۰/۴۷۷
TIMP-1	۶۸	۰/۱۰۹	۰/۳۷۴
MMP-9 (ng/ml)	۵۴	۰/۰۹۹	۰/۴۷۷
MMP-9	۵۴	۱	-
TIMP-1	۵۴	۰/۲۹۰	*۰/۰۳۴

MMP-9: Matrix metalloproteinase-9; TIMP-1: Tissue inhibitor of metalloproteinases-1; PTH: Parathyroid hormone

\* همبستگی معنی دار (2-tailed) در سطح  $P < 0.05$

با توجه به پیش‌بینی این که هورمون PTH با توجه به اثرات مفید درمانی پیش‌گفته، در آینده در درمان بیماران MI به کار گرفته خواهد شد، لازم است تا نکات بیشتری در مورد مکانیسم عمل PTH در حوادث بعد از MI مشخص شود. در این مطالعه، تلاش شد تا وجود ارتباط بین غلظت سرمی PTH با MMP-9 و TIMP-1 و احتمال بر هم خوردن تعادل بین آن‌ها در نتیجه‌ی افزایش غلظت PTH بررسی شود.

نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت MMP-9 به طور معنی‌داری در گروه مورد (افراد مبتلا به MI) نسبت به گروه شاهد (افراد سالم) افزایش یافته بود. تعداد دیگری از مطالعات نیز افزایش فعالیت و بیان MMP-9 را در انسان، موش صحرایی و خوک، در فرایندهای بعد از MI نشان داده‌اند (۲۳، ۱۰). همچنین، مشاهده شده است افرادی که بعد از MI فوت شده‌اند، سطح بسیار بالاتری از MMP-2 و MMP-9 داشته‌اند (۲). همچنین، در این مطالعه مشاهده شد که اگر چه غلظت سرمی TIMP-1 در بیماران نسبت به افراد سالم افزایش یافته است، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نیست. در مطالعه‌ی دیگری مشاهده شد که TIMP-1 از یک ساعت بعد از MI شروع به افزایش می‌کند و در حدود ۴۸ ساعت، به پیک می‌رسد (۳۱). در چندین مطالعه‌ی دیگر، مشاهده شده است که در سه روز اول بعد از MI، بیان TIMP-1 افزایش می‌یابد و در روز هفتم، به اوج می‌رسد (۷-۹). در نتیجه، به نظر می‌رسد در بیماران تحت مطالعه، TIMP-1 شروع به بیان و افزایش غلظت نموده است، اما با توجه به اندازه‌گیری غلظت سرمی در ۷۲ ساعت، هنوز به پیک غلظتی نرسیده است و از این رو، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

هم‌راستا با تحقیقات پیش‌گفته در مورد نقش PTH در حوادث پس از MI (۱۱-۱۳)، نتایج این تحقیق نیز افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی PTH در گروه مورد نسبت به گروه شاهد نشان داد، اما همبستگی بین افزایش PTH با MMP-9 و TIMP-1 دیده نشد. بررسی مطالعات مشابه نشان می‌دهد که نتایج به دست آمده در مورد تأثیر PTH بر MMP-9، متفاوت و متناقض بوده است. بررسی اثر PTH بر کشت کندروسیت‌های به دست آمده از خرگوش، افزایش بیان و عملکرد MMP-9 را نشان داد (۱۶). همچنین، تجویز PTH برای توسعه‌ی تکثیر سلول‌ی کندروسارکوما، باعث افزایش بیان MMP-9 می‌شود (۳۲). این در حالی است که تجویز PTH باعث کاهش عملکرد MMP-9 در تجزیه‌ی بافت پیوندی، مهار فعالیت MMP-9 در کندروسیت‌ها و کاهش بیان MMP-9 در طول فرایند ترمیم تاندون می‌گردد (۳۳، ۳۱، ۱۴). در مجموع، به نظر می‌رسد نقش PTH بر بیان و عملکرد MMP بسته به بافت‌های مختلف، متفاوت می‌باشد.

در پایان، از آن جایی که همبستگی بین افزایش PTH، با

هیچ افزایشی در TIMP-1 در میوکارد سالم دیده نشده است؛ در حالی که افزایش بیان و عملکرد TIMP-1 و TIMP-2 در مراحل اولیه بعد از MI نشان داده شده است (۷) و افزایش غلظت پلاسمایی TIMP-1، می‌تواند به طور مستقل، پیش‌بینی کننده‌ی مرگ ناشی از MI باشد (۲۴). به طور کلی، مطرح شده است که بر هم خوردن تعادل میان MMP و TIMP ممکن است باعث بروز مشکلات پس از وقوع MI شود (۲۵، ۱).

به تازگی، مشاهده شده است که PTH، با افزایش رگ‌زایی و نجات سلولی، منجر به بهبود قلبی بعد از MI می‌شود. PTH باعث کاهش منطقه‌ی سکنه و افزایش مهاجرت سلول‌های بنیادی مغز استخوان به عضله‌ی قلب می‌شود که این به معنای کاربرد درمانی PTH در بیماران ایسکمی قلبی است (۲۶).

چندین مطالعه به بررسی تأثیر PTH بر بیان و عملکرد MMP‌ها و نقش آن‌ها به ویژه در شکل‌گیری استخوان پرداخته‌اند. بیشتر تحقیقات موجود در زمینه‌ی اثر PTH، بر بیان و عملکرد MMP-13 تمرکز داشته و در مجموع، نتایج آن‌ها دال بر تأثیر PTH در افزایش بیان و عملکرد MMP-13 بوده است (۲۸-۲۷، ۱۵). نتایج به دست آمده در مورد تأثیر PTH بر MMP-2 و MMP-9 متفاوت و متناقض بوده است. نتایج تحقیق Kawashima-Ohya و همکاران در بررسی اثر PTH و پپتیدهای مشابه به PTH بر کشت کندروسیت‌های به دست آمده از خرگوش، افزایش بیان و عملکرد MMP-2، MMP-3 و MMP-9 را نشان داد (۱۶). در حالی که Uchida و همکاران نشان دادند که تجویز PTH با دز ۱/۵ یا ۲/۰ نانومول/کیلوگرم/روز در موش صحرایی، تأثیری بر بیان MMP-1 ندارد (۱۵).

Marques و همکاران، با هدف بررسی نقش هورمون پاراتیروئید بر سطح بافتی MMP-9، MMP-2، و Interleukin-6 (IL-6) در پرودونیت مطالعه‌ای انجام دادند که نشان داد این هورمون، باعث کاهش MMP-2 و کاهش عملکرد MMP-9 می‌شود (۱۴).

Christensen و همکاران، سطح MMP-9 و چند عامل دیگر را در هایپرپاراتیروئیدسم اولیه و به دنبال آن پاراتیروئیدکتومی بررسی کردند. سطح MMP-9 و سایر عوامل انتهایی به طور واضحی افزایش یافت. همچنین، در طی ۶ ماه بعد از پاراتیروئیدکتومی، افزایش بیشتری پیدا کرد که احتمال می‌رود به دلیل عمل جراحی و اعمال ترمیمی بدن بوده باشد (۲۹). در مطالعه‌ی Lee و همکاران نیز مشخص شد در موش‌هایی که با PTH(1-34) درمان شده بودند، نسبت به گروه شاهد، افزایش بیان MMP-2 و MMP-14 محسوس بود؛ اما بیان MMP-9 کاهش یافته بود (۳۰). از این رو، در مجموع نقش PTH بر بیان و عملکرد MMP به طور دقیق مشخص نمی‌باشد و نیاز به بررسی‌های بیشتری در بافت‌های مختلف وجود دارد.

در بیماران MI بدون نگرانی از عوارض عملکرد MMPها، بهره برد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دانشجویی دوره‌ی دکتری عمومی داروسازی بوده است. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، به خاطر حمایت مالی از این طرح (گرنانت شماره‌ی ۹۴۰۱۱۶) سپاسگزاری می‌نمایند.

MMP-9 و TIMP-1 مشاهده نشد، به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، به نظر می‌رسد که PTH و MMP-9 دو عامل مستقل در بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشند. از این رو، پس از انجام مطالعات کامل‌تر با بررسی ارتباط هورمون پاراتیروئید با MMPها در جمعیت وسیع‌تر بیماران و گروه شاهد و همچنین، بررسی سطح هورمون پاراتیروئید و MMPها بلافاصله قبل از MI و ارتباط آن با مقادیر بعد از MI، در صورت تأیید نتایج این مطالعه، می‌توان از اثرات مفید تجویز PTH

### References

1. Yabluchanskiy A, Li Y, Chilton RJ, Lindsey ML. Matrix metalloproteinases: Drug targets for myocardial infarction. *Curr Drug Targets* 2013; 14(3): 276-86.
2. Simova J, Skvor J, Slovak D, Mazura I, Zvarova J. Serum levels of matrix metalloproteinases 2 and 9 in patients with acute myocardial infarction. *Folia Biol (Praha)* 2013; 59(5): 181-7.
3. Vu DT, Martinez EC, Kofidis T. Myocardial restoration: Is it the cell or the architecture or both? *Cardiol Res Pract* 2012; 2012: 240497.
4. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 107(12): 1579-85.
5. Hojo Y, Ikeda U, Ueno S, Arakawa H, Shimada K. Expression of matrix metalloproteinases in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J* 2001; 65(2): 71-5.
6. Hobeika MJ, Thompson RW, Muhs BE, Brooks PC, Gagne PJ. Matrix metalloproteinases in peripheral vascular disease. *J Vasc Surg* 2007; 45(4): 849-57.
7. Lu L, Zhang JQ, Ramires FJ, Sun Y. Molecular and cellular events at the site of myocardial infarction: From the perspective of rebuilding myocardial tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320(3): 907-13.
8. Kawakami R, Saito Y, Kishimoto I, Harada M, Kuwahara K, Takahashi N, et al. Overexpression of brain natriuretic peptide facilitates neutrophil infiltration and cardiac matrix metalloproteinase-9 expression after acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 110(21): 3306-12.
9. Peterson JT, Li H, Dillon L, Bryant JW. Evolution of matrix metalloprotease and tissue inhibitor expression during heart failure progression in the infarcted rat. *Cardiovasc Res* 2000; 46(2): 307-15.
10. Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: A temporal and spatial window. *Cardiovasc Res* 2006; 69(3): 604-13.
11. Ljunghall S, Lundin L, Hvarfner A, Joborn H, Wide L. Serum electrolytes and parathyroid hormone concentrations in acute myocardial infarction. *Exp Clin Endocrinol* 1986; 88(1): 95-100.
12. Huber BC, Fischer R, Brunner S, Groebner M, Rischpler C, Segeth A, et al. Comparison of parathyroid hormone and G-CSF treatment after myocardial infarction on perfusion and stem cell homing. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298(5): H1466-H1471.
13. Zaruba MM, Huber BC, Brunner S, Deindl E, David R, Fischer R, et al. Parathyroid hormone treatment after myocardial infarction promotes cardiac repair by enhanced neovascularization and cell survival. *Cardiovasc Res* 2008; 77(4): 722-31.
14. Marques MR, dos Santos MC, da Silva AF, Nociti FH, Jr., Barros SP. Parathyroid hormone administration may modulate periodontal tissue levels of interleukin-6, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in experimental periodontitis. *J Periodontol Res* 2009; 44(6): 744-50.
15. Uchida M, Yamato H, Nagai Y, Yamagiwa H, Hayami T, Tokunaga K, et al. Parathyroid hormone increases the expression level of matrix metalloproteinase-13 in vivo. *J Bone Miner Metab* 2001; 19(4): 207-12.
16. Kawashima-Ohya Y, Satakeda H, Kuruta Y, Kawamoto T, Yan W, Akagawa Y, et al. Effects of parathyroid hormone (PTH) and PTH-related peptide on expressions of matrix metalloproteinase-2, -3, and -9 in growth plate chondrocyte cultures. *Endocrinology* 1998; 139(4): 2120-7.
17. Li J, Yang WJ, Huang LM, Tang CW. Immunomodulatory therapies for acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20(45): 16935-47.
18. Clark PM, Barth JH. Endocrine testing in acute and critical illness. In: Matfin G, editor. *Endocrine and metabolic medical emergencies: A clinician's guide*. Washington, DC: Endocrine Society; 2014. p. 18-28.
19. Capone F, Guerriero E, Colonna G, Maio P, Mangia A, Castello G, et al. Cytokine profile evaluation in patients with hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20(28): 9261-9.
20. Zakyntinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. *J Cardiol* 2009; 53(3): 317-33.
21. Pan MR, Hung WC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit matrix metalloproteinase-2 via suppression of the ERK/Sp1-mediated transcription. *J Biol Chem* 2002; 277(36): 32775-80.
22. Torres A, Lorenzo V, Hernandez D, Rodriguez JC, Concepcion MT, Rodriguez AP, et al. Bone disease in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: Evidence of a better bone response to PTH. *Kidney Int* 1995; 47(5): 1434-42.
23. Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ.

- Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: A new approach to prevent heart failure? *Circ Res* 2001; 89(3): 201-10.
24. Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, Yanamadala S, Eng C, Clark LT, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction. *Am Heart J* 2006; 151(5): 1101-8.
  25. Newby AC. Metalloproteinases promote plaque rupture and myocardial infarction: A persuasive concept waiting for clinical translation. *Matrix Biol* 2015; 44-46: 157-66.
  26. Huber B, Zaruba M, Brunner S, Deindl E, David R, Fischer R, et al. PTH treatment after myocardial infarction in mice attenuates late ischemic cardiomyopathy: Impact of bone marrow derived versus cardiac stem cells. *J Stem Cells Regen Med* 2007; 2(1): 108-9.
  27. Shah R, Alvarez M, Jones DR, Torrungruang K, Watt AJ, Selvamurugan N, et al. Nmp4/CIZ regulation of matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) response to parathyroid hormone in osteoblasts. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287(2): E289-E296.
  28. Fei Y, Shimizu E, McBurney MW, Partridge NC. Sirtuin 1 is a negative regulator of parathyroid hormone stimulation of matrix metalloproteinase 13 expression in osteoblastic cells: Role of sirtuin 1 in the action of PTH on osteoblasts. *J Biol Chem* 2015; 290(13): 8373-82.
  29. Christensen MH, Fenne IS, Nordbo Y, Varhaug JE, Nygard KO, Lien EA, et al. Novel inflammatory biomarkers in primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol* 2015; 173(1): 9-17.
  30. Lee DJ, Southgate RD, Farhat YM, Loisel AE, Hammert WC, Awad HA, et al. Parathyroid hormone 1-34 enhances extracellular matrix deposition and organization during flexor tendon repair. *J Orthop Res* 2015; 33(1): 17-24.
  31. Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix metalloproteinases and myocardial infarction. *Can J Cardiol* 2007; 23(9): 727-33.
  32. Xiang W, Jiang T, Guo F, Xu T, Gong C, Cheng P, et al. Evaluating the role of PTH in promotion of chondrosarcoma cell proliferation and invasion by inhibiting primary cilia expression. *Int J Mol Sci* 2014; 15(11): 19816-31.
  33. Wang ST, Gao YJ, Duan CC, Li DD, Tian XC, Zhang QL, et al. Effects of PTHrP on expression of MMP9 and MMP13 in sika deer antler chondrocytes. *Cell Biol Int* 2013; 37(12): 1300-7.

## Evaluation of the Effects of Increased Parathyroid Hormone (PTH) Following Myocardial Infarction on the Expressions Level of Matrix Metalloproteinase 9 and Tissue Inhibitor Metalloproteinase

Faezeh Hoseini<sup>1</sup>, Shima Tavallaie<sup>2</sup>, Mohsen Mouhebat<sup>3</sup>, Maryam Mousavi<sup>4</sup>, Fatemeh Kalalinia<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Myocardial infarction (MI) is one of the most important health problems around the world. Increased parathyroid hormone (PTH) following MI causes significant improvement in myocardial performance. On the other hand, the imbalance between matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor metalloproteinases (TIMPs) causes major health problems like sudden cardiac death. In this study, we tried to investigate the correlation between serum post-MI PTH levels with MMP-9 or TIMP-1.

**Methods:** 62 patients diagnosed with MI were enrolled the study between 2016 and 2017 as well as 6 normal persons as control group. Blood sample was collected 72 hours after MI and serum was separated. Serum levels of TIMP-1, MMP-9, and PTH were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) assay kit.

**Findings:** The serum levels of MMP-9 ( $8.07 \pm 4.30$  ng/ml) and PTH ( $61.94 \pm 40.44$  pg/ml) were significantly increased versus the control group ( $2.83 \pm 0.44$  ng/ml and  $30.93 \pm 6.59$  pg/ml, respectively). The serum level of TIMP-1 ( $6.21 \pm 1.36$  ng/ml) increased compared to the control group ( $5.60 \pm 0.57$  ng/ml), but the difference between them was not statistically significant. In total, statistical analysis showed that there was no significant correlation between the increased level of serum PTH with those of MMP-9 or TIMP-1.

**Conclusion:** These results proposed that PTH and MMP-9 or TIMP-1 are independent factors in post-MI events.

**Keywords:** Myocardial infarction, Matrix metalloproteinases, Tissue inhibitor of metalloproteinases, Parathyroid hormone

**Citation:** Hoseini F, Tavallaie S, Mouhebat M, Mousavi M, Kalalinia F. **Evaluation of the Effects of Increased Parathyroid Hormone (PTH) Following Myocardial Infarction on the Expressions Level of Matrix Metalloproteinase 9 and Tissue Inhibitor Metalloproteinase.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(445): 1156-63.

1- Pharm D, Biotechnology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

2- Metabolic Syndrome Research Center, Mashhad university of Medical Sciences, Mashhad, Iran

3- Associate Professor, Cardiovascular Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

4- Board Certified Pharmacotherapy Specialists, Research Center for Rational Use of Drugs, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Assistant Professor, Biotechnology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

**Corresponding Author:** Fatemeh Kalalinia, Email: kalaliniaf@mums.ac.ir