

بررسی ارتباط سطح سوپراکسید دیسموتاز سرم و گلبول‌های قرمز با سطح هوموسیستئین سرم بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد

دکتر حمیدرضا جوشقانی^۱ - دکتر آزاده شفیی^۲

چکیده

زمینه و هدف: گزارشات فراوانی در مورد احتمال ارتباط بین رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش هوموسیستئین با پاتوژنز آترواسکلروز منتشر شده‌اند؛ مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط افزایش هوموسیستئین سرم با تغییرات سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) پس از سکته قلبی انجام شد.

روش تحقیق: این مطالعه توصیفی-تحلیلی و مقطعی در سال ۱۳۸۵ بر روی ۴۸ فرد بیمار (آزمون) و ۴۸ فرد سالم (شاهد) کمتر از ۷۶ سال انجام شد. نمونه خون از افراد هر دو گروه در شرایط ناشتا گرفته شد. بر روی نمونه‌ها آزمایش هوموسیستئین به روش ELISA توسط کیت IBL، میزان فعالیت SOD گلبول‌های قرمز توسط کیت راندوکس و میزان فعالیت SOD سرم با استفاده از کیت شرکت Cayman chemical انجام شد.

یافته‌ها: میانگین غلظت هوموسیستئین در گروه آزمون $5/3 \pm 30/3$ میکرومول بر لیتر و در گروه شاهد $3/1 \pm 11/1$ میکرومول بر لیتر بود که بیانگر تفاوت معنی‌داری بین دو گروه است ($P < 0/001$). میانگین فعالیت SOD گلبول‌های قرمز در گروه آزمون 2705 ± 2078 U/g Hb و در گروه شاهد 2509 ± 2450 U/g Hb به دست آمد؛ همچنین میانگین فعالیت SOD سرم در گروه آزمون $47/8 \pm 25/6$ U/mL و در گروه شاهد $44/8 \pm 24/6$ U/mL بود. بین دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه افزایش سطح هوموسیستئین سرم و SOD سرم و گلبول‌های قرمز در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد مشاهده شد؛ هر چند افزایش SOD از نظر آماری معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد افزایش SOD به علت آسیب سلولی است و به دنبال آن این آنزیم موجب مهار رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های وارده به سلول می‌گردد.

کلید واژه‌ها: سکته قلبی؛ هوموسیستئین؛ بیماری قلبی-عروقی؛ سوپراکسید دیسموتاز؛ آنتی‌اکسیدان

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۳؛ شماره ۱؛ بهار سال ۱۳۸۶)

دریافت: ۱۳۸۶/۱/۲۲ اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۸/۳ پذیرش: ۱۳۸۶/۸/۲۰

^۱ نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی علوم آزمایشگاهی، آموزشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان
آدرس: گرگان- بلوار هیرکان- ابتدای جاده شصت کلا- دانشگاه علوم پزشکی گلستان- آموزشکده پیراپزشکی- گروه علوم آزمایشگاهی
تلفن: ۴۴۲۱۶۶۴-۰۱۷۱. شماره: ۴۴۲۳۶۳۰-۰۱۷۱. پست الکترونیکی: hr_joshaghani@yahoo.com
^۲ پزشک عمومی؛ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مقدمه

با وجود تلاشها و موفقیت‌هایی که در درمان‌های دارویی و غیردارویی به منظور کاهش خطر بیماری‌های کرونری قلب صورت گرفته است، هنوز بیماری‌های کرونری قلب و انفارکتوس میوکارد علت عمده مرگ و میر در بیشتر کشورهای توسعه یافته محسوب می‌شوند (۱).

انفارکتوس میوکارد زمانی روی می‌دهد که جریان خون کرونری در اثر انسداد یک سرخرگ کرونری (که از قبل به علت آترواسکلروز تنگ شده) ناگهان کاهش یابد (۱).

مطالعه بر روی میزان آنتی‌اکسیدان‌ها تحت شرایط پاتولوژی ممکن است منجر به فهم بهتر نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در حفظ و حمایت میوکارد شود (۲).

سیستم جذب اکسیژن از آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC 1.15.1.1)، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز تشکیل شده است (۳). در این مجموعه SOD یک آنزیم کلیدی است؛ زیرا در اولین مرحله حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد (۴).

سه ایزوآنزیم SOD شناسایی شده‌اند که شامل SOD سیتوزولی (Cu/Zn SOD)، SOD میتوکندریایی (Mn-SOD) و SOD خارج سلولی (EC-SOD) می‌باشند (۵).

یکی دیگر از عوامل خطر بیماری‌های کرونری قلب که مورد بررسی قرار گرفته است، هوموسیستئین (HC) سرم بیماران در معرض خطر می‌باشد. Wilson و Mcully برای اولین بار در سال ۱۹۷۵ تئوری ارتباط بین آترواسکلروزیس و HC را مطرح نمودند (۶). در سال‌های اخیر مطالعات فراوانی بر روی ارتباط افزایش هوموسیستئین با بیماری قلبی - عروقی انجام شده است (۷). Schwartz و همکاران، نشان دادند که سطوح بالای هوموسیستئین به طور قابل توجهی با خطر انفارکتوس میوکارد و مرگ ناشی از بیماری‌های کرونری قلب ارتباط دارد (۸). نتایج مطالعات انجام شده روی بیماران قلبی - عروقی نشان می‌دهند که سطوح بالاتر هوموسیستئین با ضخامت و پلاک دیواره انتیمای میانی شریان کاروتید مرتبط است؛ اگرچه در مطالعات اخیر رابطه علیتی بین افزایش متوسط هوموسیستئین و خطر بیماری‌های عروقی و آترواسکلروز گزارش نشده است. از سوی دیگر انتظار می‌رود افزایش هوموسیستئین در آسیب سلولی نقش داشته باشد که این امر می‌تواند بر افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها

تاثیرگذار باشد.

با توجه به موارد فوق بر آن شدیم تا میزان سوپراکسید دیسموتاز را در سرم و گلبول‌های قرمز و هوموسیستئین سرم را در بیماران مبتلا به انفارکتوس حاد میوکارد و افراد سالم به عنوان گروه شاهد مورد مقایسه قرار دهیم.

روش تحقیق

این مطالعه توصیفی-تحلیلی و مقطعی در سال ۱۳۸۵ بر روی ۴۸ بیمار کمتر از ۷۶ سال مراجعه‌کننده به بیمارستان پنجم آذر گرگان پس از معاینه توسط پزشک متخصص و تایید بیماری انجام شد.

میزان ۱۰ میلی لیتر خون در دو لوله حاوی EDTA و فاقد ضد انعقاد در شرایط ناشتا گرفته شد. پس از جداسازی سرم و پلاسما بر روی نمونه‌ها، آزمایشات هوموسیستئین به روش ELISA، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز گلبول‌های قرمز (rSOD) توسط کیت راندوکس به صورت دوپلیکیت به روش رنگ‌سنجی با استفاده از گزانتین و گزانتین اکسیداز و میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سرم (sSOD) با استفاده از کیت شرکت Cayman Chemical انجام شد؛ این آزمایشات برای افراد هم‌تراز شده با گروه بیماران (آزمون) که توسط پزشک متخصص معاینه شده و از نظر بیماری قلبی - عروقی سالم تشخیص داده شدند و بیماری زمینه‌ای مانند چاقی، افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید خون و دیابت نداشتند (گروه شاهد) نیز انجام شد. سطح اطمینان برای تمامی آزمون‌ها ۹۵٪ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در گروه آزمون از ۴۸ بیمار مورد مطالعه، ۳۶ نفر مرد و ۱۲ نفر زن و در گروه شاهد ۲۹ نفر مرد و ۱۹ نفر زن بودند. میانگین سنی در گروه آزمون $52/5 \pm 9/1$ و در گروه شاهد $48/6 \pm 6/8$ سال بود. میانگین سنی مردان بیمار و زنان بیمار به ترتیب $51/5 \pm 9/3$ و $55/5 \pm 8/1$ سال بود.

میانگین غلظت HC در گروه آزمون $30/3 \pm 5/3$ میکرومول بر لیتر و در گروه شاهد $11/1 \pm 3/1$ میکرومول بر لیتر بود که بیانگر تفاوت معنی‌داری بین دو گروه است ($P < 0/001$). میانگین فعالیت rSOD در گروه آزمون 2705 ± 2078 U/g Hb و در گروه

علائم، یک افزایش خفیف و در مرحله دوم ۱۰۸ ساعت پس از شروع علائم افزایش شدید این آنزیم گزارش شد (۹)؛ همچنین در مطالعه Usui و همکاران نیز بر روی ۱۸ بیمار مبتلا به سکته قلبی حاد، غلظت SOD در بدو بستری شدن در بیمارستان $80 \mu\text{g/L}$ و پس از چهار روز به $260 \mu\text{g/L}$ رسید که در مقایسه با افراد سالم ($77/5 \mu\text{g/L}$) افزایش نشان داد (۱۰).

البته در برخی گزارشات عکس نتایج فوق گزارش شده است. در مطالعه Senthil و همکاران سطح rSOD در افراد سالم $0/5 \pm 3/25 \text{ U/mg Hb}$ و در بیماران مبتلا به سکته قلبی حاد $0/34 \pm 0/96 \text{ U/mg Hb}$ گزارش گردید (۱۱). در تحقیق دیگری نیز غلظت SOD خارج سلولی در بیماران قلبی با سابقه سکته قلبی $7/5 \pm 76/1 \text{ ng/mL}$ و در بیماران قلبی بدون سابقه سکته قلبی $6/0 \pm 110/1 \text{ ng/mL}$ بود (۱۲). این دو مطالعه بیانگر کاهش سطح SOD در بیماران با سابقه سکته قلبی است.

بر اساس گزارش Kodama و همکاران، بین فعالیت SOD پلاسما و وسعت آسیب سلول‌های قلبی ارتباط معکوس وجود دارد (۴)؛ در حالی که برخی از محققان معتقدند که آسیب سلولی موجب رها شدن SOD از سلول‌های قلبی و افزایش آن در پلاسما می‌گردد.

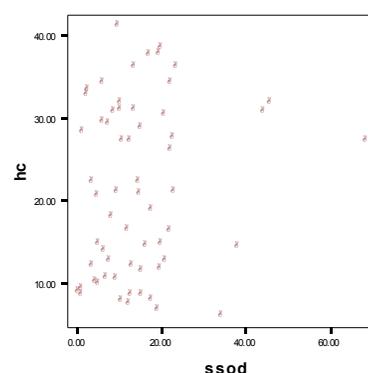
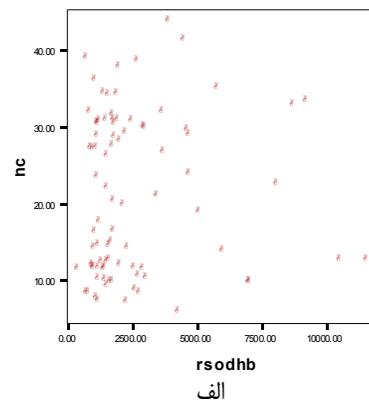
در مطالعه حاضر افزایش سطح هوموسیستئین سرم و sSOD و rSOD در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد مشاهده شد؛ ولی در گزارش Wang و همکاران، با وجود این که میانگین غلظت هوموسیستئین در افراد سالم $9/6 \mu\text{mol/L}$ و در بیماران مبتلا به سکته قلبی حاد $13/7 \mu\text{mol/L}$ به دست آمده بود، غلظت SOD پلاسما به طور محسوسی در بیماران مبتلا به سکته قلبی حاد کمتر از گروه شاهد بود ($44/3 \text{ ng/mL}$) در برابر $74/4 \text{ ng/mL}$. به عقیده این پژوهشگران، ممکن است کاهش سطح SOD در بیماران مبتلا به سکته قلبی حاد، پاسخی به افزایش آسیب‌های اکسیداتیو در طول سکته قلبی باشد (۱۳).

در مطالعه انجام شده بر روی SOD خارج سلولی، غلظت این آنزیم در روز اول پس از شروع علائم نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($10 \pm 148 \text{ ng/mL}$) در برابر $6 \pm 116 \text{ ng/mL}$ ؛ سپس این مقدار کاهش یافت و در روز هفتم به حدود طبیعی بازگشت (۵).

با توجه به این که فاصله زمانی نمونه‌گیری از شروع علائم

شاهد $2509 \pm 2450 \text{ U/g Hb}$ بود؛ همچنین میانگین فعالیت sSOD در گروه آزمون $47/8 \pm 25/6 \text{ U/mL}$ و در گروه شاهد $44/8 \pm 24/6 \text{ U/mL}$ به دست آمد. بین دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

بین افزایش هوموسیستئین با تغییرات SOD ارتباط معنی‌داری و نیز بین افزایش سن با تغییرات SOD ارتباط معنی‌دار آماری مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱- الف: ارتباط بین هوموسیستئین با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گلبول‌های قرمز
ب: هوموسیستئین با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم

بحث

در این مطالعه مشاهده شد که فعالیت SOD بیماران هم در سرم و هم در گلبول‌های قرمز در گروه آزمون بیشتر از گروه شاهد است؛ هر چند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای که بر روی ۲۹ بیمار مبتلا به سکته قلبی حاد انجام گردید، گزارش شد که بیماران طی دو مرحله افزایش در سطح Mn-SOD داشته‌اند. در مرحله اول ۱۶ ساعت پس از شروع

نقش داشته باشد. این حالت‌های متعدد که در پیش روی قرار دارند، بر اهمیت مطالعه بر روی فرایندهای احتمالی ارتباط هوموسیستئین و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌افزاید.

در مجموع از گزارشات گوناگونی که در مورد رابطه سکت قلبی و SOD وجود دارد، دو فرضیه را می‌توان استنباط کرد؛ یکی افزایش SOD به علت آسیب سلولی که این فرایند در اغلب آسیب‌های سلولی رخ می‌دهد و مشابه آن در افزایش سطح آنزیم‌های کراتین فسفوکیناز و لاکتات دهیدروژناز به دنبال سکت قلبی مشاهده می‌شود و فرضیه دوم این که افزایش SOD پاسخی به افزایش رادیکال‌های آزاد پس از سکت قلبی برای کاهش سطح آسیب‌های سلولی است. به نظر می‌رسد آنچه رخ می‌دهد، مجموعه‌ای از هر دو فرضیه باشد؛ به عبارت دیگر افزایش اولیه SOD به علت آسیب سلولی است و به دنبال آن، این آنزیم موجب مهار رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های وارده به سلول می‌گردد.

نتیجه‌گیری

از نتایج این مطالعه چنین بر می‌آید که با وجود افزایش بارز HC در بیماران مبتلا به سکت قلبی، تغییرات SOD در بیماران متفاوت است. این تفاوت‌ها می‌تواند به عواملی گوناگونی مانند وسعت سلول‌های آسیب‌دیده، زمان نمونه‌گیری و مداخلات پزشکی وابسته باشند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان، بخش CCU بیمارستان پنجم آذر گرگان و آزمایشگاه تحقیقات بیوشیمی بالینی آموزشکده پیراپزشکی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، کمال تشکر را داریم.

در میزان SOD پلاسما تأثیر دارد، شاید یکی از علل مهم اختلاف در گزارشات زمان نمونه‌گیری باشد. در مطالعه حاضر به علت این که تمام نمونه‌ها در کمتر از ۴ روز پس از شروع علائم گرفته شدند، شاید علت افزایش فعالیت SOD در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد نیز همین باشد؛ هر چند میزان SOD سرم و گلبول‌های قرمز در زنان گروه آزمون کمتر از گروه شاهد بود که با اطلاعات موجود این تناقض قابل توجیه نیست و نیاز به مطالعات تکمیلی با حجم نمونه بیشتر و سنجش غلظت ایزوآنزیم‌های مختلف SOD علاوه بر میزان فعالیت آن دارد.

Wang و همکاران گزارش کرده‌اند که غلظت SOD خارج سلولی به طور معنی‌داری با افزایش سن بالا می‌رود (۱۲)؛ اما در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین تغییرات SOD سرم و گلبول‌های قرمز با افزایش سن مشاهده نشد.

در طی مطالعه قوچق و همکاران در بابل، افزایش معنی‌دار HC در بیماران قلبی با سابقه سکت قلبی گزارش شد ($25/05 \pm 2/44$ در گروه آزمون در برابر $12/75 \pm 1/26$ در گروه شاهد) (۱۴).

در این تحقیق نیز میانگین غلظت HC در گروه بیمار به طور واضحی بیشتر از گروه شاهد بود که می‌تواند نشانگر تأثیر HC در بروز عوارض قلبی-عروقی و سکت قلبی باشد.

نتایج مطالعه Ng و همکاران، در سنگاپور، عکس مطالعه حاضر می‌باشد. در تحقیق این افراد که بر روی ۱۶۸ بیمار انجام شد، ارتباط معنی‌داری بین AMI و غلظت HC گزارش نشد (۱۵). با توجه به گروه تیول (SH) در اسید آمینه هوموسیستئین و تأثیر این عامل بر بسیاری از پروتئین‌ها، می‌تواند دو نوع اثر را برای افزایش هوموسیستئین تصور نمود. از یک سوی افزایش هوموسیستئین می‌تواند با تخریب سلولی و یا فعال‌سازی تخریب اکسیداتیو موجب افزایش فعالیت SOD گردد و از سوی دیگر ممکن است این اسید آمینه در مهار بیان یا فعالیت آنزیم SOD

منابع:

- 1- Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL. Harrison's principles of internal medicine. McGraw-Hill; New York; 2001.
- 2- Wattanapitayakul SK, Bauer JA. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications. Pharmacol Ther. 2001; 89 (2):187-206.
- 3- Hammond B, Hess ML. The oxygen free radical system: potential mediator of myocardial injury. J Am Coll Cardiol. 1985; 6 (1): 215-20.

- 4- Kodama K, Hirayama A, Komamura K. Human plasma superoxide dismutase (SOD) activity on reperfusion injury with successful thrombolysis in acute myocardial infarction. *Jpn J Med*. 1989; 28 (2):202-206.
- 5- Horiuchi M, Tsutsui M, Tasaki H, Morishita T, Suda O, Nakata S, et al. Upregulation of vascular extracellular superoxide dismutase in patients with acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24 (1): 106-11.
- 6- McCully KS, Wilson RB. Homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Atherosclerosis*. 1975; 22: 215-27.
- 7- Fach D, Chioloro A, Paccaud F. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about? *Swiss Med Wkly*. 2006; 136 (47-48): 745-56.
- 8- Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow MR, Rosendaal FR, Beverly RK, Hess DL, et al. Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation*. 1997; 96 (2): 412-17.
- 9- Suzuki K, Kinoshita N, Matsuda Y, Higashiyama S, Kuzuya T, Minamino T, et al. Elevation of immunoreactive serum Mn-superoxide dismutase in patients with acute myocardial infarction. *Free Radic Res Commun*. 1992; 15 (6): 325-34.
- 10- Usui A, Kato K, Tsuboi H, Sone T, Sassa H, Abe T. Concentration of Mn-superoxide dismutase in serum in acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1991; 37 (3): 458-61.
- 11- Senthil S, Veerappan RM, Ramakrishna Rao M, Pugalendi KV. Oxidative stress and antioxidants in patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta*. 2004; 348 (1-2): 131-37.
- 12- Wang XL, Adachi T, Sim AS, Wilcken DE. Plasma extracellular superoxide dismutase levels in an Australian population with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18 (12): 1915-21.
- 13- Wang G, Mao JM, Wang X, Zhang FC. Effect of homocysteine on plaque formation and oxidative stress in patients with acute coronary syndromes. *Chin Med J*. 2004; 117 (11): 1650-54.
- 14- Qujeq D, Omran TS, Hosini L. Correlation between total homocysteine, low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in the serum of patients with myocardial infarction. *Clin Biochem*. 2001; 34: 97-101.
- 15- Ng KC, Yong QW, Chan SP, Cheng A. Homocysteine, folate and vitamin B12 as risk factors for acute myocardial infarction in a Southeast Asian population. *Ann Acad Med Singapore*. 2002; 31 (5): 636-40.

Title: Correlation between serum and erythrocyte superoxide dismutase with serum homocysteine in myocardial infarction

Authors: HR. Joshaghani¹, A. Shafiee²

Abstract

Background and Aim: Despite of success in treatment of cardiovascular disease by drugs and other methods, cardiovascular disease and myocardial infarction are the most common causes of death in developing countries. Many reports spread about correlation between free radicals and increase of homocysteine with atherosclerosis pathogenesis. The aim of this research was study of correlation between elevations of homocysteine with changes of superoxide dismutase (SOD) activity after myocardial infarction.

Materials and Methods: This research was a descriptive cross-sectional study that performed in 2006. In fasting condition, blood was taken from 48 patients and 48 health people under 76 years. Serum homocysteine determined by ELISA method, erythrocyte SOD (rSOD) activity assayed by Randox company kit and serum SOD (sSOD) activity assayed by Cayman chemical company kit.

Results: In patients group was 36 men and 12 women; in controls group was 29 men and 19 women. The mean of homocysteine in patients were 30.3 ± 5.3 $\mu\text{mol/L}$ and in controls were 11.1 ± 3.1 $\mu\text{mol/L}$, that was significant differences between two groups ($P < 0.001$). The mean activity of sSOD in patients and controls were 2705 ± 2078 U/g Hb and 2509 ± 2450 U/g Hb, respectively. The mean activity of rSOD in patients and controls were 47.8 ± 25.6 U/mL, 44.8 ± 24.6 U/mL, respectively.

Conclusion: In this study was observed increase in homocysteine, sSOD and rSOD in patients compare to controls; however increase of SOD was not significant. To seem, elevation of SOD is due to cellular damages. This enzyme inhibits free radicals.

Key Words: Homocysteine; Myocardial infarction; Cardiovascular disease; Superoxide dismutase; Antioxidant

¹ Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Technology, School of Paramedicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran hr_joshaghani@yahoo.com

² Physician