

## مقایسه میزان هوموسیستئین تام پلاسما در مبتلایان به بیماری عروق کرونر و افراد شاهد\*

فرامرز دارابی<sup>۱</sup>، دکتر بمانعلی جلالی<sup>۲</sup>، دکتر منصور رفیعی<sup>۳</sup>

### چکیده

- **مقدمه:** هوموسیستئین نوعی آمینواسید است که یک گروه آزاد تیولی دارد. اخیراً غلظت بالای این آمینواسید در پلاسما به عنوان عامل خطرزای مهمی برای آترواسکلروز و بیماریهای قلبی - عروقی مورد توجه بوده است. با توجه به بالا بودن شیوع بیماریهای قلبی - عروقی در کشور، مطالعه و تحقیق در مورد عوامل خطرآفرین این بیماریها اهمیت زیادی خواهد داشت. هدف از این مطالعه مقایسه میزان هوموسیستئین تام پلاسما در یک گروه از افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر با گروهی دیگر از افراد بدون ضایعه کرونری به عنوان شاهد بود.
- **مواد و روشها:** در این مطالعه مورد-شاهد، گروه مورد شامل ۵۰ فرد مبتلا به بیماری عروق کرونر و گروه شاهد شامل ۵۰ فرد سالم بود. تشخیص بیماری عروق کرونر بر اساس نتایج آنژیوگرافی صورت گرفت و برای سنجش هوموسیستئین از روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. برای مقایسه میانگین هوموسیستئین تام پلاسما در دو گروه مورد مطالعه از برنامه نرم افزاری SPSS و آزمون آماری Student's T-test استفاده شد.
- **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین هوموسیستئین تام پلاسما در مبتلایان به بیماری عروق کرونر ( $20/59 \mu \text{mol/L}$ ) بطور معنی داری از افراد شاهد ( $12/78 \mu \text{mol/L}$ ) بالاتر می‌باشد ( $p=0.001$ ).
- **نتیجه گیری:** افزایش غلظت هوموسیستئین تام پلاسما با بیماریهای قلبی - عروقی ارتباط دارد و ممکن است عامل اصلی در ایجاد این بیماری باشد.
- **واژه‌های کلیدی:** هوموسیستئین تام پلاسما، بیماریهای قلبی - عروقی، عوامل خطرزا

\* تاریخ وصول مقاله: ۸۳/۴/۲۷ - تاریخ پذیرش مقاله ۸۴/۳/۱۰

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی (مؤلف مسؤول) ✉ اراک، بیمارستان ولی عصر، آزمایشگاه ☎ ۳۶۷۶۰۳۸

۲- استادیار گروه قلب دانشگاه علوم پزشکی یزد

۳- دانشیار گروه قلب دانشگاه علوم پزشکی یزد

## مقدمه

هوموسیستئین یک اسید آمینه گوگرددار است که در ساختمان پروتئینها وجود ندارد؛ اما در متابولیسم متیونین نقش واسطه‌ای ایفا می‌کند. افزایش هوموسیستئین پلاسما معمولاً ناشی از نقص آنزیمهای دخیل در متابولیسم هوموسیستئین و یا کمبود ویتامینهایی که کوفاکتور این آنزیمها هستند، می‌باشد. عواملی از قبیل ویتامین B12، اسید فولیک، غلظت کراتینین پلاسما و عمل کلیه‌ها میزان هوموسیستئین تام پلاسما را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱). ویتامین B6 نیز در ترانس سولفوراسیون و کاتابولیسم هوموسیستئین نقش دارد و با میزان هوموسیستئین پلاسما در ارتباط است (۲).

با این که در دهه‌های اخیر به علت پیشرفتهای چشمگیر در علوم پزشکی، میزان مرگ و میر ناشی از بیماریهای قلبی تا حدودی کاهش یافته است، هنوز هم این نوع بیماریها مهمترین عامل مرگ و میر در اغلب کشورها می‌باشند (۳). در سالهای گذشته مطالعات اپیدمیولوژیکی متعددی صورت گرفته که نشان می‌دهند نوعی رابطه مستقیم بین افزایش غلظت هوموسیستئین تام پلاسما و بروز زودرس آترواسکلروز و بیماریهای عروق کرونر وجود دارد و امروزه این ترکیب به عنوان یک عامل خطرزای جدید برای بیماریهای قلبی- عروقی مطرح شده است (۴ و ۵).

معمولاً افزایش غلظت هوموسیستئین تام پلاسما به بیش از  $15 \mu \text{mol/L}$  بعنوان عامل خطرزای مستقل برای بیماریهای قلبی- عروقی در نظر گرفته می‌شود (۶).

تاکنون مکانیسمی که با قاطعیت بتواند اثر هوموسیستئین را در ایجاد بیماریهای قلبی- عروقی توجیه کند به اثبات نرسیده؛ با این حال برخی محققین تداخل عمل هوموسیستئین با فاکتورهای انعقادی و برخی دیگر اثر آن در اکسید کردن LDL را عامل ایجاد آترواسکلروز معرفی نموده‌اند (۳).

بطور کلی ارتباط بین افزایش هوموسیستئین تام پلاسما و ابتلا به بیماریهای قلبی- عروقی مورد شک و تردید است؛ اما برخی مطالعات آینده‌نگر افزایش هوموسیستئین تام پلاسما را بعنوان عامل خطرزای مستقل برای بیماریهای قلبی- عروقی معرفی می‌کنند (۷). دیگر مطالعات مؤید چنین نظری نیستند (۸).

ایران کشوری در حال توسعه است؛ اما CAD در بعضی مناطق آن شیوع بالائی دارد (۹) و در این راستا چنین شیوع بالا نمی‌تواند بوسیله عوامل خطرزای سنتی به تنهایی توجیه شود. از آنجا که میزان هوموسیستئین پلاسما تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و شرایط محیطی قرار می‌گیرد (۱۰ و ۱۱) و گروههای جمعیتی مختلف با عاداتهای تغذیه‌ای و روش زندگی متفاوت در ایران وجود دارد، افزایش غلظت هوموسیستئین تام پلاسما ممکن است نقش مهمی در بروز آترواسکلروز در این جمعیت داشته باشد.

در این مطالعه میزان هوموسیستئین تام پلاسما در یک گروه از افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر با یک گروه از افراد بدون ضایعه کرونری به عنوان شاهد مورد مقایسه قرار گرفته است. هدف ما تعیین وضعیت هوموسیستئین تام پلاسما و ارتباط آن با بیماریهای قلبی- عروقی در جمعیت شهر یزد می‌باشد.

## مواد و روشها

در این مطالعه مورد- شاهد، ۵۰ نفر بعنوان گروه مورد (۲۳ زن و ۲۷ مرد) و ۵۰ نفر بعنوان شاهد (۲۵ زن و ۲۵ مرد) در نظر گرفته شد. حجم نمونه نیز با توجه به مطالعات مشابه در سایر کشورها تعیین شد. نمونه‌های مورد مطالعه از بین کسانی که برای آنژیوگرافی کرونر به مرکز قلب بیمارستان افشار شهرستان یزد مراجعه می‌کردند و از طریق نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند.

براساس نتایج آنژیوگرافی کسانی که نتیجه آنژیوگرافی مثبت داشتند (یعنی دارای درجاتی از تنگی

**یافته‌ها**

میانگین سن در گروه مورد که شامل ۲۳ زن و ۲۷ مرد بودند،  $57 \pm 10$  سال بود. از این افراد ۲۰ نفر سابقه قلبی ابتلا به سکته قلبی داشتند.

نتایج آنژیوگرافی نشان داد که ۱۲ نفر دارای تنگی در یک رگ قلبی ۱۴ نفر دارای تنگی در دو رگ قلبی و ۲۴ نفر دارای تنگی در سه رگ قلبی بودند. میانگین سن در گروه شاهد شامل ۲۵ زن و ۲۵ مرد،  $55 \pm 10$  سال بود. میانگین هوموسیستئین تام پلاسما در مبتلایان به بیماری عروق کرونر ( $20/59 \mu\text{mol/L}$ ) بطور معنی‌داری از افراد شاهد ( $12/78 \mu\text{mol/L}$ ) بالاتر بود ( $P=0.001$ ). سایر یافته‌ها در مورد هوموسیستئین تام پلاسما در هر دو گروه بیمار و شاهد در جدول ۱ خلاصه شده است.

در تمام نمونه‌های مورد مطالعه، در هر دو گروه شاهد و بیمار بطور جداگانه، میانگین هوموسیستئین تام پلاسما بطور معنی‌داری در مردان بیشتر از زنان بود. جدول ۲ مقایسه هوموسیستئین تام پلاسما بر حسب جنس را در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد.

با استفاده از فرمول «میانگین + دو برابر انحراف معیار ( $\text{mean}+2\text{SD}$ )» در گروه شاهد (۱۶) میزان هوموسیستئین  $17 \mu\text{mol/L}$  یا بالاتر به عنوان غلظت بالای هوموسیستئین تام پلاسما در نظر گرفته شد. با استفاده از این حد خطر مشخص گردید که ۵۶٪ افراد بیمار و ۱۴٪ افراد شاهد دارای غلظت بالای هوموسیستئین بودند.

عروق کرونر بودند)، بعنوان بیمار و کسانی که نتیجه آنژیوگرافی آنها طبیعی بود، بعنوان شاهد در نظر گرفته شدند. عواملی غیر از بیماری عروق- کرونر نظیر سن، جنس و وزن که ممکن است بر میزان هوموسیستئین پلاسما تأثیر بگذارد، در دو گروه یکسان شد.

با توجه به این که نارسایی کلیه و مصرف ویتامینهای گروه B میزان هوموسیستئین پلاسما را تحت تأثیر قرار می‌دهند، افرادی که دارای نارسایی کلیه بودند (کراتینین بیشتر از  $2 \text{ mg/dl}$ ) و نیز افرادی که ویتامینهای B2, B6, B12 و اسیدفولیک دریافت کرده بودند، از مطالعه خارج شدند.

نمونه خون در حالت ناشتا از افراد مورد مطالعه گرفته شد و در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. به فاصله ۳۰ دقیقه از زمان نمونه‌گیری، عمل سانتریفیوژ در  $3000 \text{ g}$  به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه صورت گرفت و پلاسما حاصل جداسازی گردید. نمونه‌های پلاسما تا زمان سنجش هوموسیستئین در  $70^\circ \text{C}$  - نگهداری شد.

هوموسیستئین تام پلاسما با روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) با دکتورفلورسانس بعد از احیای انواع هوموسیستئین پلاسما بوسیله تریس ۲- کاربوکسی اتیل فسفین (TCEP) و مشتق سازی با آمونیوم ۷- فلورو بنزو ۲- اکسا ۱- (۳- دیازول - ۴- سولفونات SBD-F) (مطابق روش Gilfix و همکاران مورد سنجش قرار گرفت (۱۲).

در این سنجش از دستگاه HPLC، ساخت شرکت Shimadzu مدل SPD-6A با یک پمپ مدل LC-6A و یک سیستم کنترل کننده حلال و فاز متحرک مدل FCV-3AL و دکتور فلورسانس (UV-VIS Spectrophotometric) استفاده شد.

برای مقایسه میانگین هوموسیستئین تام پلاسما در دو گروه مورد مطالعه، برنامه نرم افزاری SPSS و آزمون آماری Student's T-test مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱) هوموسیستئین تام پلاسما ( $\mu \text{ mol/L}$ ) در مبتلایان به بیماری عروق کرونر و افراد شاهد

p-value	گروه شاهد (n=50)	گروه بیمار (n=50)	
$>0.001$	۱۳	۲۰/۶	میانگین
	۴	۱۳	انحراف معیار
	۱۲/۸	۱۷/۳	میانه
	۶/۲	۶/۹	حداقل
	۴۲	۸۲	حداکثر

جدول ۲) هوموسیستئین تام پلاسما ( $\mu \text{ mol/L}$ ) در مبتلایان به بیماری عروق کرونر و افراد شاهد بر حسب جنس

p-value	گروه شاهد (n=50)	گروه مورد (n=50)	
	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
$0.005$	$13/9 \pm 4/42$	$24/1 \pm 16/2$	مرد
$0.001$	$11/6 \pm 2/93$	$16/54 \pm 6/22$	زن

## بحث

عوامل خطرزای سنتی بیماریهای قلبی و عروقی از قبیل کلسترول تام سرم، تری گلیسرید، LDL کلسترول و فشارخون بالا فقط ۵۰٪ از حوادث مربوط به بیماری عروق کرونر قلب را توجیه می کنند (۱۳)؛ لذا توجه به عوامل خطرزای جدید اهمیت زیادی خواهد داشت.

به هر حال مطالعات مورد-شاهد، غلظت بالای هوموسیستئین تام پلاسما را به عنوان یک عامل خطرزای جدید برای آترواسکلروز و بیماریهای قلبی-عروقی معرفی کرده اند (۱۴ و ۱۵ و ۱۶). با توجه به این که غلظت هوموسیستئین تام پلاسما تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، روش زندگی، عاداتهای غذایی و وضعیت ویتامینهای گروه B دارد (۱۰ و ۱۱)، پی بردن به وضعیت آن در مبتلایان به بیماریهای قلبی-عروقی در جمعیت ما از اهمیت زیادی برخوردار می باشد.

نتایج مطالعه ما نشان داد که در بیماران مبتلا به CAD غلظت هوموسیستئین تام پلاسما بطور معنی داری بالاتر از افراد شاهد است. این نتایج مشخص می کنند که بین افزایش غلظت هوموسیستئین پلاسما و CAD ارتباط وجود دارد. نتایج مشابهی بوسیله محققین در جمعیتهای مختلف گزارش شده است (۱۷ و ۱۸). در واقع بسیاری از محققین با قاطعیت غلظت بالای

هوموسیستئین پلاسما را بعنوان عامل خطرزای قوی برای بیماریهای قلبی-عروقی معرفی کرده اند (۱۴ و ۱۵ و ۱۶)؛ اما نظرات متضادی نیز در این رابطه وجود دارد. مثلاً Lolin در مطالعه خود ارتباط هوموسیستئین با بیماریهای قلبی-عروقی را رد می کند (۸).

میانگین غلظت هوموسیستئین تام پلاسما در مطالعه ما بیشتر از مطالعات مشابه در جمعیتهای دیگر بود (۱۹). این مسأله ممکن است بعلافتفاوت در روش اندازه گیری و یا بواسطه عوامل ژنتیکی و عاداتهای غذایی باشد.

درباره وضعیت ویتامینهای گروه B و بخصوص اسیدفولیک در جمعیت ما هیچ اطلاعی در دست نبود و این امکان وجود دارد که وقوع بالای بیماریهای قلبی با غلظت بالای هوموسیستئین و وضعیت ویتامینها در ارتباط باشد.

البته گزارشهایی وجود دارد که حاکی از شیوع بالای بیماریهای قلبی در جمعیت ما است (۹). دکتر کوچک و همکاران در مطالعه ای مورد-شاهد که در شمال ایران انجام داده اند نیز میزان بالای هوموسیستئین را در بیماران دچار حمله قلبی و نیز افراد شاهد گزارش کرده اند (۲۰). برخلاف مطالعه ما، Sastry و همکاران هیچ اختلاف معنی داری بین میانگین هوموسیستئین تام

Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324:1149-55.

7. Stampfer MJ, Malinow MR, Willet WC, Newcomer LM, Upson B, Ullman D, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268:877-81.

8. Lolin YI, Saderson JE, Cheng SK, et al, hyperhomocysteinemia and premature coronary artery disease in the Chinese. *Heart* 1996 Aug; 76(2):117-122.

9. Sarraf-Zadegan N, Sayed-tabatabaei FA, bashardoost N. The prevalence coronary artery disease in an urban population in Isfahan, Iran *Acta Cardiol*. 1999; 54; 257-63.

10. Verhoef P. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arteriosclerosis thrombosis and vascular Biology* 17:989-995.

11. Malinow MR. homocysteine, diet, and cardiovascular disease: A statement for heartache professionals from the nutrition committee, American heart association. *circulation* 99:174-182, 1999.

12. Gilfix BM, Blank DW, Rosenblatt DS. Novel reductant for determination of total plasma homocysteine. *Clin Chem* 1997; 43:687-688.

13. karsten rasmussen and Jan moller. Total homocysteine in clinical practice. *Ann Cline biochem* 2000; 37:627-648.

14. Arnesen E, Refsum H, Bonaa KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24:704-709.

15. Puri A, Gupta OK, Dwivedi RN, Bharadwaj Rp, Naraian VS, Singh S. Homocysteine and Lipid levels in young patients with coronary artery disease. *Assoo Physicians India* 2003; 51:681-5.

16. Morales JJ, Sanchez B, Verdejo J, Ponce LS, Mutchinick OM. Hyperhomocysteinemia as risk factor in a Mexican population. *Arch Cardiol Mex* 2003; 73:103-5.

17. Toft E, Ellegaard Hansen V, Hagstrup CJ, Berg SE, et al. Plasma homocysteine,

پلاسما در بیماران مبتلا به CAD و افراد شاهد پیدا نکرده اند (۲۱).

با توجه به این که نظرات متفاوتی در ارتباط با تأثیر هوموسیستئین بر بیماریهای قلبی وجود دارد، پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در این زمینه صورت گیرد، بخصوص روشن کردن وضعیت تغذیه ای و ویتامینها و ارتباط آن با میزان هوموسیستئین پلاسما در جمعیت ایران کاری ارزشمند خواهد بود.

### سپاسگزاری

در پایان از پرسنل بیمارستان افشار یزد، بخصوص پرسنل بخش قلب و آزمایشگاه که در این تحقیق ما را یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

### References:

1. Paul FJ, Andrew GB, Peter WF, Sharon R, Irwin HR, Jacob S. Determination of plasma total homocysteine concentration in the fringham offspring cohort. *Am J Nutr* 2001; 73:613-21.
2. Hustad S, Ueland PM, Vollset SE, Zhang Y, Bjorke-Monsen AL, Schneede J. Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase c677t polymorphism *Clin Chem* 2000; 46:1065-71.
3. Clarke R, Stamsbie D. assessment of homocysteine as a cardiovascular risks factor in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 2001;38:624-632.
4. Moghadasian MH, McManus BM, Frohlich JJ. Homocysteine and coronary artery disease- clinical evidence, genetic and metabolic Background. *Arch Intern Med* 1997; 157:2299-308.
5. Hunkey GJ, Elkelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354:407-413.
6. Clark R, Robinson K, Vaughten E, cahalanc S, Fowler B, Graham I.

20. Qujeq D, Omran TS, Hosini L. Correlation between total homocysteine, low density lipoproteine cholesterol and high-density lipoproteine cholesterol in serum of patients with myocardial infarction. Clin Biochem 2001; 34:97-101.

21. Sastry BKS, Indira N, Anand B, Kedarnath B, Surya Prabha B, and Soma Raju, B. A Case-Control study of plasma homocysteine levels in South Indians with and without coronary artery disease. Indian Heart Journal 2001; 53: 749-753.

angiographically proven coronary artery disease, and wine consumption. Eur J Intern Med. 2003; 14:244-8.

18. Graham IM, Daly E, Refsum HM, Robinson K, Bratts trom IE, Ueland PM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. JAMA 1997; 277:1775-1781.

19. Adachi H, Hirai Y, Fujiura Y, Matsuka H, Satoh A, Imaizumi T. Plasma homocysteine levels and atherosclerosis in Japan: epidemiological study by use of carotid ultrasonography. Stroke 2002; 33:2177-81.