

Association between Serum Nitric Oxide Levels and Antioxidant Enzymes in Non-Diabetic Patients with Coronary Artery Diseases

Fatemeh Khaki Khatibi¹, Ali Reza Yaghoubi^{2*}

¹Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 19 Mar, 2015 Accepted: 14 Jul, 2015

Abstract

Background & Objectives: Nitric Oxide (NO) is the relaxing factor of endothelium and may contribute to atherosclerosis. Decrement of Antioxidants is another risk factor for Coronary Artery Disease (CAD) in Non-diabetic individual. This study was designed to investigate the NO concentration and Antioxidants levels in a group of patients with CAD in North West of Iran.

Materials & Methods: One hundred forty person studied, including 70 patients with angiographically diagnosed CAD and 70 age and sex matched normal controls were studied. Exclusion criteria were; diabetes, malignancies and liver disease. The levels of Nitric oxide in the serum samples of each individual were measured by Griess Method. The activities of SOD and GPX and Total Antioxidant Capacity were determined using Randox Kits on an automated chemical analyzer (Abbott, model Alcyon 300, USA).

Results: We found diminished levels of NO in CAD groups compared to controls ($P<0.05$). Erythrocyte SOD, GPX activities and TAC level were reduced significantly in CAD patients ($P<0.05$ in all cases).

Conclusions: The low levels of NO might be another risk factor for progression of coronary artery disease in the non-diabetic patients. Decrease of Antioxidants also may suggest their involvement in atherosclerosis.

Keywords: Nitric Oxide, Antioxidants, Coronary Artery Disease, Non-diabetic

*Corresponding author:

E-mail: alireza_yaghoubi@yahoo.com

مقاله پژوهشی

ارتباط سطوح سرمی نیتریک اکساید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بیماران عروق کرونری غیردیابتی

فاطمه خاکی خطیبی^۱، علیرضا یعقوبی^{۲*}

^۱گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲مرکز تحقیقات قلبی عروقی رجائی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

دریافت: ۹۳/۱۲/۲۸ پذیرش: ۹۴/۴/۲۳

چکیده

زمینه و اهداف: نیتریک اکساید (NO) یک فاکتور اتساع دهنده اند و تلایالی است و ممکن است با کاهش آن فرایند آترواسکلروزیس تسریع یابد. همچنین کاهش آنتی‌اکسیدانت‌ها نیز یکی دیگر از عوامل بیماری عروق کرونر در افراد غیردیابتی می‌باشد. این مطالعه میزان NO و آنتی‌اکسیدانت‌ها را در بیمارانی که در شمال غرب ایران از CAD خطر رنج می‌برند بررسی نمود. همچنین ارتباط این پارامترهای مهم بیوشیمیایی در افراد CAD نیز تعیین شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۴۰ نفر شامل ۷۰ بیمار با آنژیوگرافی تشخیص داده شده از نوع CAD و ۷۰ نفر با سن و جنس همسان شده و بدون CAD به عنوان کنترل، مورد مطالعه قرار گرفتند. فاکتورهایی چون دیابت، بدخیمی‌ها، بیماری کبد و بیماری‌های دیگر ملاک خروج از مطالعه بودند. سطوح نیتریک اکساید در نمونه‌ها توسط متد گریس اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX و TAC در نمونه‌ها با استفاده از کیت راندوکس و با دستگاه اتوآنالایزور (Abbott, model Alcyon 300, USA) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه بیمار غلظت NO در مقایسه با گروه سالم پایینتر بود ($P < 0.05$). همچنین فعالیت آنزیمی SOD و GPX اریتروسیت و سطوح TAC در بیماران بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ($P < 0.05$ در کل موردها).

نتیجه‌گیری: سطوح پایین NO ممکن است یک ریسک فاکتور دیگر در پیشرفت بیماری عروق کرونری در بیماران مورد مطالعه باشد. کاهش آنتی-اکسیدانت‌ها نیز ممکن است در ایجاد و پیشرفت آترواسکلروزیس سهمیم باشد.

کلید واژه‌ها: نیتریک اکساید، آنتی‌اکسیدانت‌ها، بیماری عروق کرونری، غیردیابتی

* ایمیل نویسنده رابط: alireza_yaghoubi@yahoo.com

مقدمه

پیشگیری از بیماری عروق کرونری (CAD) و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از آن در کشورهای در حال توسعه به عنوان یک مشکل اساسی مطرح است. بیماری عروق کرونری در اثر آترواسکلروزیس به وجود می‌آید. آترواسکلروزیس منجر به گرفتگی عروق می‌شود و علل مختلفی دارد (۱). یکی از علت‌های مهم در CAD عملکرد غیرطبیعی اندوتلیال عروق کرونری است که موجب یک عده فرایندهای متوالی و ایجاد پلاک می‌گردد. این فرایندها شامل انقباض عروقی، التهاب، اکسیداسیون، پرولیفراسیون و ترومبوز می‌باشند (۲). نقش عروق کرونری رساندن خون به نسوج قلبی است وقتی که این عروق در شخص مبتلا به CAD

منقبض بشود دردی در ناحیه قلب ایجاد می‌شود (۳). همچنین ریسک فاکتورهای مربوط به CAD نیز ارتباط تنگاتنگی با اختلال عملکرد اندوتلیالی دارند (۴). از میان بسیاری از ریسک فاکتورهای مربوط به پیشرفت CAD که شامل هیپرتانسیون، هیپرلیپیدمی، دیابت (مهمترین ریسک فاکتور)، سن، جنس، چاقی، سیگار و سابقه فامیلی هستند؛ استرس اکسیداتیو نیز، در حال حاضر به عنوان یک ریسک فاکتور مهم و جدید در نظر گرفته می‌شود (۵). همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل سوپراکسید دیس موتاز (SOD)، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) در اریتروسیتها و آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیماتیک به همراه توتال آنتی

حالت ناشتا گرفته شد. ۵ میلی‌لیتر به ترتیب ۱ میلی‌لیتر برای خون تام جهت اندازه‌گیری GPX, SOD و Hb و از باقی خون، در کمتر از نیم ساعت سرم نمونه‌ها از قسمت لخته جدا گردید و سرم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد و خون تام در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند.

آزمایشهای بیوشیمیایی

فعالیت آنزیم SOD بروش کلریمتری (اسپکتروفوتومتری) و با استفاده از کیت RANSOD ساخت شرکت RANDOX انگلستان اندازه‌گیری شد. نقش SOD تسریع دیسموتاسیون رادیکال (O₂-) و تبدیل آن به H₂O₂ و O₂ می‌باشد. در این روش جهت اندازه‌گیری فعالیت SOD از گزانتین و آنزیم گزانتین اکسیداز (XOD) استفاده می‌شود و رادیکال های O₂- تولید شده قادرند با ۲- (۴- یدوفنیل) - ۳ - (۴- نیتروفنیل) - ۵- فنیل تترازولیوم کلراید (I.N.T) وارد واکنش شده و تولید فرمازان قرمز رنگ بکنند. فعالیت SOD بوسیله میزان مهار این واکنش (مهارتولید رنگ قرمز) اندازه‌گیری می‌شود (۷). اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بروش کلریمتری (اسپکتروفوتومتری) و با استفاده از کیت RANSEL ساخت شرکت RANDOX انگلستان صورت گرفت.

اساس: GPX، اکسیداسیون گلوکاتایون (GSH) را بوسیله کومن هیدروپراکسید کاتالیز می‌کند. در حضور گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و NADPH، گلوکاتایون اکسید شده (GSSG) فوراً به شکل احیا در می‌آید و این واکنش همراه با اکسید شدن NADPH و تبدیل آن به NADP+ انجام می‌گیرد (۸). اندازه‌گیری ظرفیت توتال آنتی-اکسیدانت پلاسما (TAC): اندازه‌گیری توتال آنتی‌اکسیدانت پلاسما بروش کلریمتری (اسپکتروفوتومتری) با استفاده از کیت RANDOX صورت گرفت. ابتدا ترکیب ABTS (۲،۲- آزینو- دی- [۳- ایتیل بنزوتیازولین سولفات]) با یک پراکسیداز (مت میوگلوبین) و H₂O₂ جهت سنتز رادیکال کاتیون ABTS+ انکوبه می‌گردد. این ماده رنگ آبی - سبز نسبتاً پایدار دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. آنتی‌اکسیدانت‌های موجود در نمونه‌ها موجب کاهش تولید این رنگ می‌گردند، بطوری که درجه کاهش رنگ با میزان غلظت آنتی‌اکسیدانت متناسب است (۹). اندازه‌گیری نیتریک اکسید در سیستم‌های بیولوژیکی نیازمند دقت بسیار زیاد می‌باشد زیرا که نیتریک اکسید در حضور چندین مولکول محلول بیولوژیک، متحمل یک سری واکنش شده و سریعاً به نیتريت و یا نیترات تبدیل می‌شود و در سیستم‌های بیولوژیک دارای نیمه عمر نسبتاً کوتاهی در حدود کمتر از یک ثانیه می‌باشد. نیتريت و نیترات متابولیت‌های نهایی نیتریک اکسید را تشکیل می‌دهند. مقدار نسبی نیتريت و نیترات متغیر است و نمی‌توان میزان آن را با اطمینان پیش‌بینی نمود. بنابراین بهترین شاخص تعیین کل نیتریک اکسید، بدست آوردن مجموع نیتريت و نیترات می‌باشد (۱۰). متد گریس (Griess Method) یک روش مستقیم و ساده جهت اندازه‌گیری دو متابولیت نیتریک اکسید یعنی نیتريت و نیترات می‌باشد که در دو مرحله انجام می‌گیرد. در مرحله اول توسط واکنش احیا، نیترات به نیتريت تبدیل می‌شود و سپس در

اکسیدانت (TAC) نقش مهمی در CAD دارند به این صورت که کاهش این آنزیم‌ها زمینه را برای ایجاد بیماری فراهم می‌کند (۵ و ۱). نیتریک اکساید (NO) یک فاکتور مهم اتساع دهنده عروق است که در اندوتلیوم تولید می‌شود. NO در سیستم گردش خون نقش مهمی دارد زیرا به طور شدید تونسیسته عضله صاف سلولهای اندوتلیال را تنظیم می‌کند. در صورت عملکرد غیرطبیعی سلول‌های اندوتلیال، اسپاسم به وجود می‌آید. همراهی عوامل فوق با اختلال عملکرد اندوتلیال و کاهش دسترسی به NO موجب افزایش قابلیت نفوذ عروق به لیپیدهای آتروژنیک و سلولهای التهابی نظیر منوسیت و لنفوسیت‌های T می‌گردد. در نتیجه رویدادهای متوالی که تقویت کننده همدیگر هستند منجر به تشکیل پلاکهای آترواسکلروتیک می‌گردند. این رویدادها شامل نفوذ منوسیتها و ماکروفاژها از دیواره عروقی صدمه دیده و تبدیل آنها به سلولهای کف مانند (foam cells) (که بوسیله LDL اکسیده صورت می‌گیرد) و تکثیر سلولهای صاف عضلانی عروقی و انتقال آنها به طرف قسمت داخلی عروق می‌باشند (۶).

در این تحقیق بررسی ارتباط سطوح سرمی نیتریک اکساید با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (SOD, GPX, TAC) در بیماران عروق کرونری غیردیابتی (مهمترین ریسک فاکتور CAD) در بین دو گروه بیمار و سالم مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت. هدف از انجام تحقیق این می‌باشد که نقش NO و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را در کمک به جلوگیری از پیشرفت گرفتگی عروق دریابیم و از این طریق نقش این دو پارامتر مهم را در پیشگیری و درمان عروق کرونری در معالجات مدنظر قرار دهیم. لازم به ذکر می‌باشد در این مطالعه، افراد با بیماری‌های زمینه‌ای حذف شده‌اند و افراد مورد مطالعه فقط بیماری CAD داشتند و غیردیابتی بودند.

مواد و روش‌ها

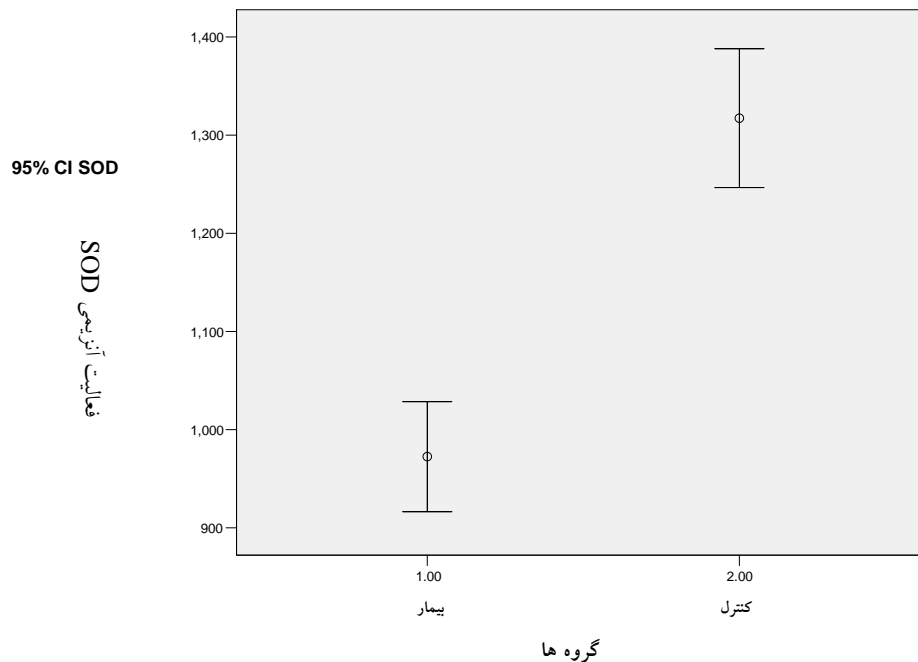
این مطالعه از نوع توصیفی-مقایسه‌ای بوده و توسط کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تصویب گردیده است. در این مطالعه ۱۴۰ نفر از بیماران مبتلا به CAD مراجعه کننده به بیمارستان شهید مدنی تبریز انتخاب شدند. مدت زمان خونگیری از بیماران ۴ ماه طول کشید. افرادی که به این مطالعه وارد شدند که علائم بیماری عروق کرونری را داشته و بیماری آنها بوسیله آنژیوگرافی تایید شده بود. داشتن سن ۷۰-۴۰ و عدم مصرف داروهای درمان کننده هایپرلیپیدمی و عدم وجود دیابت (قند خون بالای ۱۲۰ mg/dl) در افراد CAD جزو شرایط ورود به مطالعه بوده است. بیماران با اختلالات کلیوی (کراتی نین بالای ۲ mg/dl)، افراد با نارسایی کبد، هیپرتیروئیدیسم، بیماران مبتلا به نئوپلازی، افراد MI و بیماریهای دیگر از مطالعه حذف شدند. بیماران بر اساس نتایج آنژیوگرافی به دو دسته شامل بیماران با آنژیوگرام طبیعی (گروه Non CAD) بعنوان گروه کنترل و بیماران با گرفتگی عروق بعنوان گروه بیمار تقسیم گردیدند. اطلاعات مربوط به فشارخون، وزن، قد، سابقه فامیلی، هایپرلیپیدمی، سن و جنس افراد بیمار از طریق پرسشنامه‌های مربوطه جمع‌آوری گردید. نمونه‌گیری: از تمام افراد مورد مطالعه ۱۰ میلی‌لیتر خون در

میانگین سطح گلوکز در بیماران 17 ± 110 mg/dl بود. میانگین سطح گلوکز در گروه کنترل 15 ± 99 mg/dl بود. میانگین SOD در گروه بیمار $89/80 \pm 99/33$ U/gHb و در گروه کنترل $89/68 \pm 1213/26$ U/gHb بود. بررسی نتایج آزمون t (t-test) برای گروه‌های مستقل نشان داد که تفاوت میانگین SOD در دو گروه از لحاظ آماری معنی دار می باشد ($P < 0/001$). میانگین GPX در گروه بیمار 11 ± 49 U/gHb و در گروه کنترل 9 ± 60 U/gHb بود. بررسی نتایج آزمون t (t-test) برای گروه‌های مستقل نشان داد که تفاوت میانگین GPX در دو گروه از لحاظ آماری معنی دار می باشد ($P < 0/001$). میانگین ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانت (TAC) در بیماران مورد مطالعه $0/5 \pm 1/44$ mmol/l و در گروه کنترل $0/2 \pm 1/89$ mmol/l بود. بررسی نتایج آزمون تفاوت میانگین برای گروه‌های مستقل نشان داد که تفاوت میانگین سطح TAC در دو گروه از لحاظ آماری معنی دار می باشد ($P < 0/001$), یعنی در حالت کل فعالیت آنزیمی SOD، GPX و TAC در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافته بود (جدول ۲، نمودار ۱). میانگین نیتریک اکساید (NO) در گروه بیمار 75 ± 109 (μM) و در گروه کنترل 62 ± 132 (μM) بود. بررسی نتایج آزمون t (t-test) برای گروه‌های مستقل نشان داد که تفاوت میانگین NO در دو گروه از لحاظ آماری معنی دار می باشد ($P < 0/05$) یعنی سطوح سرمی NO در گروه بیمار بطور معنی داری پایین تر از گروه کنترل بود (جدول ۳).

مرحله دوم معرف گریس بر روی نمونه مورد آزمایش اضافه می - گردد که موجب تبدیل نیتريت به ترکیبی بنام آزو (AZO) به رنگ زرشکی سیر می‌گردد که در طول موج 540 نانومتر توسط دستگاه الایزا قابل اندازه‌گیری می‌باشد. آنالیز آماری: داده‌های به دست آمده از مطالعه بوسیله روش‌های آماری توصیفی (فراوانی) - درصد و میانگین \pm انحراف معیار) آزمون تفاوت میانگین (آزمون t) برای گروه‌های مستقل و آزمون رابطه مجذور کای (کای اسکوئر) جهت مقایسه متغیرهای کیفی و کمی در دو گروه مورد مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه کلیه آنالیزها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS- ۱۵ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در این مطالعه مقدار $P > 0/05$ از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها بوسیله آزمون کلموگروف - اسمیرنوف و نمودار Q-Q مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

مطالعه ما بر روی ۱۴۰ نفر (۷۰ نفر بیمار و ۷۰ نفر سالم) انجام گردید و نتایج حاصل در بیماران با نتایج افراد سالم مقایسه شد. میانگین سن در گروه بیمار 57 ± 7 سال و در گروه کنترل 55 ± 8 سال بود. داده‌های بالینی (تعداد/درصد) گروه‌های بیمار و کنترل در جدول شماره ۱ موجود می‌باشد. اختلاف معنی دار بین دو گروه در سن، جنس و سابقه فامیلی وجود نداشت اما در فشارخون (هیپرتانسیون) اختلاف معنی دار بین دو گروه وجود دارد (جدول ۱). افراد دیابتی از مطالعه حذف شدند. جهت اطمینان از عدم دیابت، از گروه بیمار و سالم آزمایش قند خون ناشتا بعمل آمد.



نمودار ۱: نمودار مربوط به SOD در دو گروه بیمار و کنترل

سریع با NO واکنش می‌دهد و منجر به تولید پراکسی نیتريت و کاهش فعالیت NO می‌گردد. پراکسی نیتريت، یک اکسیدانت قوی است که بطور فیزیولوژیکی اثرات حمایتی دارد اما در مقادیر بالا یک علتی از ضایعات بافتی است. بنابراین تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) که ایجاد استرس اکسیداتیو می‌کند منجر به انقباض عروق و عملکرد بد اندوتلیال در بیماران CAD گردیده و در نتیجه به شدت ضایعه می‌انجامد. بنابراین NO یک نقش مهم در تنظیم تونسیته عروق را بر عهده دارد.

NO همچنین پرولیفراسیون اندوتلیال و آنژیوژنیز را تحریک می‌کند در نتیجه یک نقش مهمی را در بهداشت زخم و میکروسیرکولاسیون ایفا می‌کند. همچنین NO رهایی اندوتلین ۱ (مقبض کننده رگ)، چسبندگی لکوسیت به اندوتلیوم، تجمع پلاکتی، تولید سوپراکسید توسط NADPH اکسیداز و پرولیفراسیون سلول‌های ماهیچه ای صاف را مهار می‌کند (۱۱). وجود یک ماده وازودیلاتور مشتق شده از اندوتلیوم (NO) می‌تواند هم اثرات فیزیولوژیک و هم اثرات پاتولوژیک مهمی داشته باشد. NO می‌تواند در اکثر بافت‌ها و سلول‌ها سنتز شود. از نقش های مهم آن در سیستم کاردیوواسکولار، تنظیم رگ و فشار خون می‌باشد. از نقش‌های دیگر آن همانطور که ذکر شد مهار تجمع پلاکتی، چسبندگی لکوسیت، پرولیفراسیون سلول ماهیچه صاف و اکسیداسیون LDL می‌باشد. کاهش تولید NO منجر به ایجاد رخدادهایی از قبیل انقباض عروقی، تجمع پلاکتی، مهاجرت مونوسیت‌ها به دیواره رگ، LDL اکسیده و تولید Foam cell می‌شود که این عوامل در پیشرفت آترواسکلروزیز نقش بسزائی دارند. در مطالعه دیگری که توسط Soydinc و همکاران (۶) انجام گردیده مجدداً اشاره به ارتباط استرس اکسیداتیو با NO شده است. بدین صورت که افزایش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش سنتز NO می‌گردد. با وجودی که بیماران CAD، سطوح MDA افزایش یافته‌ای دارند، هیچ ارتباط معنی‌داری بین MDA و NO بدست نیامد. سطوح NO در بیماران پایین‌تر از افراد سالم می‌باشد. در یک مطالعه سطوح NO بطور معنی‌داری در افراد CAD کاهش یافته بود. لازم به ذکر می‌باشد که بیماران CAD فشار خون نیز داشتند. در همان مطالعه، سطوح NO بیماران CAD بدون فشار خون تقریباً شبیه به گروه کنترل بود. این مطالعات نشان می‌دهد که وجود فشار خون نیز مهم می‌باشد زیرا با کاهش NO، انقباض عروق بیشتر شده، در نتیجه فشار خون بالا خواهد رفت (۶). در مطالعات دیگر سطوح NO سرم در CAD کاهش یافته بود و یا تغییر پیدا نکرده بود. در هر حال مطالعه‌ای که بتواند ارتباط دقیقی از سطوح NO سرم در CAD را مشخص نماید وجود ندارد. علت امر این می‌تواند باشد که پارامتر NO ممکن است از بافت‌های دیگری تولید شده و در خون افزایش یابد و با وجود اینکه عملکرد غیرطبیعی اندوتلیال وجود دارد و رو به پیشرفت است، با وجود این سطوح NO سرم می‌تواند نرمال باشد، علاوه بر این مواد دیگری از قبیل استیل کولین نیز نقش اتساع دهنده‌گی بر عروق را دارد و می‌تواند جایگزین نقش NO در عروق باشد (۶).

جدول ۱: داده‌های بالینی گروه‌های بیمار و کنترل

مشخصات	بیماران غیردیابتی		کنترل	
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
مونث/مذکر، تعداد (%)	(۲۵٪) / ۳۵	(۲۵٪) / ۳۵	(۲۵٪) / ۳۵	غیرمعنی‌دار
سن، سال	۵۷ ± ۷	۵۵ ± ۸	۵۵ ± ۸	غیرمعنی‌دار
**فشارخون، تعداد (%)	۴۰ (۵۷٪)	۲۶ (۳۷٪)	۲۶ (۳۷٪)	P=۰/۰۱*
سابقه فامیلی، تعداد (%)	۳۷ (۳۹٪)	۲۰ (۲۹٪)	۲۰ (۲۹٪)	غیرمعنی‌دار

* P > ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد. ** واحد فشارخون = mmHg

جدول ۲: پارامترهای سطوح آنتی‌اکسیدانت‌ها در دو گروه بیمار و کنترل

پارامترها	بیماران غیردیابتی	کنترل	*P value
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
SOD(U/gHb)	۸۷۰/۳۳ ± ۹۹/۸۰	± ۸۹/۶۸	P < ۰/۰۰۱
GPX(U/gHb)	۴۹ ± ۱۱	۱۲۱۳/۲۶	P < ۰/۰۰۱
TAC(mmol/L)	۱/۴۴ ± ۰/۰۵	۱/۸۹ ± ۰/۰۲	P < ۰/۰۰۱

* P < ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۳: پارامتر سطوح نیتریک اکساید (NO) در دو گروه بیمار و کنترل

پارامتر	بیماران	کنترل	*P value
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
نیتریک اکساید (NO) (μM)	۱۰۹ ± ۷۵	۱۳۲ ± ۶۲	P = ۰/۰۲

* P > ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد.

بحث

امروزه بیماری عروق کرونری بعنوان یک مشکل اساسی در جهان مطرح می‌باشد. تحقیقات بسیاری در جهت پیشگیری از آن در حال انجام می‌باشد تا بتوان با کمترین خسارت در جهت رفع این مشکل اقدام نمود. یکی از علت‌های مهم در CAD عملکرد غیرطبیعی اندوتلیال عروق کرونری است که موجب یک عده فرایندهای متوالی و توسعه پلاک می‌گردد. این فرایندها شامل انقباض عروقی، التهاب، اکسیداسیون، پرولیفراسیون و ترومبوز می‌باشند (۲). عواملی از جمله عمل جراحی عروق، وجود کافی آنزیم های آنتی‌اکسیدانت از قبیل SOD و کاتالاز باعث می‌شود که عملکرد اندوتلیال اصلاح گردد (۴).

نتایج مطالعه Kayyum و همکاران (۵)، کاهش معنی‌داری از NO را در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. مطالعات زیادی کاهش فعالیت NO را در حالت‌های پاتولوژیکی دیگر از قبیل آسیب در اثر پرفوزیون مجده، هیپرکلسترولمیا، دیابت ملیتوس و نارسایی مزمن قلب را نشان می‌دهند. یافته‌های مطالعات دیگران بطور مشخص و واضح نشان می‌دهد که در CAD در طی استرس اکسیداتیو که با افزایش تولید سوپر اکسید همراه است، یک کاهش معنی‌داری از NO در رگ‌های آترواسکلروتیک نیز به وجود می‌آید. مکانیسم واکنش از این قرار می‌باشد که سوپر اکسید بطور

است یک پاسخ سازشی باشد و در نتیجه منجر به افزایش دیسموتاسیون سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن گردد (۱۷). در طی مطالعاتی در بیماران CAD سطوح کاهش یافته‌ای از SOD مشاهده شد که می‌تواند نتیجه‌ای از کاهش تولید مقادیر SOD باشد زیرا در طی افزایش تولید مواد اکسیدانته که همراه با مصرف زیاد آنتی‌اکسیدانته‌ها می‌باشد کاهش SOD، GPX و TAC را خواهیم داشت. دلیل دیگر جهت کاهش GPX این می‌باشد که ممکن است نتیجه‌ای از کاهش سطوح سلنیوم باشد (۱۸).

GPX، یک آنزیم حاوی سلنیوم و آنتی‌اکسیدانته مهم اریتروسیت‌ها می‌باشد (۱۳ و ۱۲). GPX یک نقش مهمی در مکانیسم جمع‌آوری پراکسیل و در غشای سلول نقش محافظتی غشای سلول را بر عهده دارد (۱۹).

تحقیق ما کاهش معنی‌داری در فعالیت‌های SOD و GPX در بیماران CAD نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق با گزارشات Kayyum و همکاران (۵) مطابقت دارد. SOD یک آنزیم آنتی‌اکسیدانته کلیدی می‌باشد که بطور منظمی بین اندوتلیوم و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف عروق در قسمتی از دیواره آرتریال قرار گرفته است. وجود زیاد رادیکال‌های آزاد از قبیل ROS منجر به مصرف بیشتر SOD در غشا گردیده و در نتیجه منتهی به کاهش SOD در خارج سلولی می‌گردد. از طرفی وجود رادیکال‌های آزاد در آترواسکلروزیز و کاهش NO می‌تواند با کاهش SOD خارج سلولی ارتباط داشته باشد.

در اوایل ۱۹۹۰، Miller و همکاران، تست جدیدی را جهت اندازه‌گیری توتال آنتی‌اکسیدانته‌ها تحت عنوان TAC (Total Antioxidant Capacity) طراحی نمودند. از مزیت‌های مهم این تست، اندازه‌گیری کل آنتی‌اکسیدانته‌ها در یک نمونه بیولوژیک می‌باشد. همچنین TAC بعنوان بیومارکری برای تشخیص، پیش‌آگهی و جلوگیری از بیماری می‌باشد (۱۵). بیماران آترواسکلروزیز کاهش گلوکاتون اریتروسیت، ویتامین C سرم، TAC و افزایش غلظت MDA را نشان داده‌اند (۲۰). تحقیقات، افزایش آسیب‌های فراوان DNA در هسته‌های سلول‌های عروق کرونری و کاهش TAC پلاسما در بیماران CAD را نشان می‌دهد (۲۱).

نقش پاتولوژیکی استرس اکسیداتیو در بیماری عروقی به خوبی شناخته شده است (۲۲). در یک مطالعه بیماران هیپرتانسیو (فشار خون بالا) دارای مقادیر افزایش یافته‌ای از لیپید پراکسیداسیون خون و کاهش سطوح TAC بودند (۲۳) و TAC ارتباط معکوسی با فشار خون دیاستولیک را نشان داده است. همان نتایج بصورت مجدد و همزمان، این بار در موش‌های هیپرتانسیو نشان داده شده، بدین صورت که مقادیر TAC مغز، قلب، کبد و کلیه در موش‌های هیپرتانسیو، در مقایسه با موش‌های طبیعی پایین‌تر بوده است (۲۴). در موش‌های هیپرتانسیو با حساسیت کلیه، افزایش استرس اکسیداتیو با کاهش NO ارتباط داشت (۲۵).

در مطالعه‌ای که توسط Kayyum و همکاران انجام شده است، در بیماران CAD، سطوح TAC بطور معنی‌داری پایین‌تر بوده است و ارتباطی نیز بین مقادیر TAC و شدت بیماری مشاهده گردید (۵). Fazendas و همکاران (۲۶) گزارش نمودند که سطوح

علت کاهش NO در گروه بیمار ممکن است بعلت عملکرد غیر طبیعی اندوتلیال باشد که در CAD بعلت غیرطبیعی بودن عملکرد اندوتلیال NO به خوبی سنتز نشده است. همچنین در مطالعه ما به نظر می‌رسد که عوامل استرس اکسیداتیو از قبیل افزایش MDA و کاهش آنتی‌اکسیدانته‌ها در بیماران CAD نیز منجر به کاهش NO گردیده است.

نقش استرس اکسیداتیو در پیشرفت CAD به خوبی شناخته شده است. گونه‌های واکنشی اکسیژن (رادیکال‌های آزاد) می‌تواند به تمام انواع بیومولکول‌ها شامل لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA زیان برساند. بدن توسط مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانته‌ها که شامل نوع آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد، می‌تواند انواع رادیکال‌های آزاد را غیرفعال نمایند (۱۳ و ۱۲).

افزایش رادیکال‌های آزاد که منجر به LDL اکسیده می‌گردد و در نتیجه باعث می‌شود که عملکرد عروق بخوبی انجام نگیرد. بعنوان مثال منجر به کاهش در سطوح NO می‌گردد همچنین باعث آپوپتوزیز یا مرگ سلول‌های اندوتلیال گشته و افزایش در تولید سلول‌های ماهیچه صاف و سنتز مولکول‌های پیش‌التهابی می‌گردد (۶). کاهش NO یک مسئله مهم در پیشرفت آترواسکلروزیز می‌باشد.

بعضی مطالعات نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدانته‌ها توسط دو مکانیسم مهم اثرات دفاعی علیه CAD دارند. اولین مکانیسم، فعالیت آنتی‌اکسیدانته LDL می‌باشد. برای مثال حمایت LDL از آنتی‌اکسیدانته‌ها علیه تغییرات اکسیداتیو در مایعات اکستراسلولار فضای زیر اندوتلیال می‌باشد.

دومین مکانیسم، فعالیت سلول یا بافت بخصوصی در جهت حمایت از آنتی‌اکسیدانته‌ها است. برای مثال افزایش برداشت آنتی‌اکسیدانته‌ها توسط سلول‌های عروقی و در نتیجه افزایش آنتی‌اکسیدانته‌ها در درون سلول‌های عروقی. نتیجه این افزایش در سلول‌های عروقی، کاهش تولید ROS است که در نتیجه منجر به کاهش اکسیداسیون LDL سلولی شده و در نتیجه LDL مصون می‌ماند و به سلول آسیب کمی وارد می‌شود. علاوه بر اینها آنتی‌اکسیدانته‌های سلولی ممکن است مقاومت سلول‌های عروقی را نسبت به اثرات زیان آور LDL اکسیده افزایش دهد. هر دو مکانیسم ذکر شده فوق همچنین ممکن است به کاهش چسبندگی ملکولی و بیان (Monocyte Chemotactic Protein-1 MCP-1) منتهی شود، در نتیجه کاهش تشکیل Foam cell و افزایش فعالیت NO اندوتلیالی به وجود آمده و فعالیت آتروژنریس کاهش می‌یابد. (۱۴). مطالعات زیادی در طی سالها از استرس اکسیداتیو و مواد دفاعی علیه آن (دفاع آنتی‌اکسیدانته‌ها) بدست آمده است. اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانته شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتون رداکتاز (GR)، گلوکاتون پراکسیداز (GPX)، سرولولپلاسمین و پروتئین‌ها از قبیل متالوتیونین در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی کاربرد دارد (۱۵).

NO یک تحریک کننده قوی برای بیان (SOD) می‌باشد (۱۶). SOD یک آنزیم آنتی‌اکسیدانته مهم می‌باشد که دارای یک اثر آنتی‌توکسیک علیه آنیون سوپراکسید است. بیان بالای SOD ممکن

امر پیشرفت CAD را کاهش خواهد داد زیرا منجر به کاهش اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها خواهد شد.

نتیجه‌گیری

استرس اکسیداتیو به همراه سایر ریسک فاکتورها نقش مهمی در آغاز و پیشرفت آترواسکلروزیس دارند، همچنین کاهش NO نیز می‌تواند در پیشرفت آترواسکلروزیس سهیم باشد. این مطالعات نشان می‌دهد که مواد آنتی‌اکسیدانت (ضد استرس اکسیداتیو) به همراه عوامل افزایش دهنده NO می‌توانند در جلوگیری از آترواسکلروزیس دخیل باشند.

TAC در افرادی که MI حاد داشتند، کاهش یافته بود. Yegin و همکاران (۲۷)، همچنین کاهش سطح TAC در سرم نشان دادند. یافته‌های ما نیز مطالعات دیگران را تایید می‌نماید. این کاهش سطح TAC ممکن است با یک مکانیسم حمایتی ارتباط داشته باشد زیرا در CAD به علت وجود استرس اکسیداتیو و وجود مواد اکسیدانت کاهش سطح TAC، SOD، GPX و وجود خواهد آورد. تحقیقات زیادی نیز در مورد نقش معالجه با آنتی‌اکسیدانت‌ها در بیماری قلبی کرونر انجام گردیده است (۲۸). توصیه ما برای بیماران CAD این می‌باشد که مکمل‌های رژیمی به همراه آنتی‌اکسیدانت‌ها (ویتامین‌های E و C) را مصرف نمایند. این

References

1. Khaki-Khatibi F, Samadi N, Rahnama B, Asgharzade M, Rahbani M, Vatankhah A. Association between Nucleotide mutation of eNOS Gene and serum level of Vessel Expansion Factor (VEF) in Non-Smoker patients with Vascular Heart Disease. *African Journal of Biotechnology* 2013; **12**(20): 3023-3028.
2. Khaki-Khatibi F, Samadi N, Ghojzade M, Yaghoubi A. Association between Inflammatory Factor, Lipid Peroxidation and Total-Antioxidant in Non-Diabetic patients of CAD. *JARCM* 2014; **2**(1): 33-38.
3. R.Rosik E. Arginine fights coronary artery disease. *Life Enhancement* 2002; 1-7.
4. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function. A critical determinant in atherosclerosis? *Circulation* 2004; **190** Suppl II; II-27-II-33.
5. Kayyum-Shaikh A, Suryakar AN. Oxidative stress and antioxidant status before and after supplementation of A-Z anti-oxidant tablets in coronary artery disease. *Biom Res* 2009; **20**(2): 136-140.
6. Soydinc S, Celik A, Demiryurek S, Davutoglu V, Tarakcioglu M, Aksoy M. The relationship between oxidative stress, nitric oxide, and coronary artery disease. *Eur J Gen Med* 2007; **4**(2): 62-66.
7. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH. Plasma lipid peroxidation Zinc and Erythrocyte cu-zn superoxide dismutase. *Res Vet Sci* 1983; **34**: 253-256.
8. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; **70**: 158.
9. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ. Factors in fluencing the antioxidant activity determined by the ABTSO + radical cation assay. *Clin Sci* 1993; **84**: 407-412.
10. M.Miranda K, G.Espey M, A.Wink D. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Biology and chemistry* 2001; **5**(1): 62-71.
11. Shaikh AK, N.Suryakar A. Oxidative stress, endothelial dysfunction and status of L- arginine and nitric oxide in coronary artery disease. *Biom Res* 2008; **19**(3): 211-214.
12. Mutlu-Turkoglu U, Akalin Z, Ilhan E. Increased plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem* 2005; **38**: 1059-1065.
13. Serdar Z, Aslan K, Dirican M. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem* 2006; **39**: 794-803.
14. K.Shaikh A, N.Suryakar A. Oxidative stress and antioxidant status before and after supplementation of A-Z anti-oxidant tablets in coronary artery disease. *Biomedical Research* 2009; **20**(2): 136-140.
15. Kusano C, Ferrari B. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2008; **7**(1):1-15.
16. Harrison D, Griendling K, Landmesser U. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003; **91**: 7A-11A.
17. Kaur K, Bedi G, Kaur M. Lipid peroxidation and the levels of antioxidant enzymes in coronary artery disease. *Indian J Clin Biochem* 2008; **23**(1): 33-37.
18. B.sharma S, Garg S. hs-CRP and oxidative stress in young CAD patients:a pilot study.*Indian journal of clinical Biochemistry* 2008; **23**(4): 334-336.
19. Vishnu-Priya V, Surapaneni KM. Erythrocyte Lipid Peroxidation, Glutathione, Ascorbic Acid, Vitamin E, Antioxidant Enzymes and Serum Homocysteine Levels in Patients with Coronary Artery Disease. *J Clin Diag Res* 2008; **2**: 1180-1185.
20. Tamer L, Sucu N, Polat G, Ercan B, Aytacoglu B, Yucebiligic G, et.al. Decreased serum total antioxidant status and erythrocyte-reduced glutathione levels are associated with increased serum malondialdehyde in atherosclerotic patients. *Arch Med Res* 2002; **33**: 257-260.
21. Demirbag R, Yilmaz R, Kocyigit A. Relationship between DNA damage, total antioxidant capacity and coronary artery disease. *Mutat Res* 2005; **570**: 197-203.
22. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; **25**: 29-38.

23. Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, Jain S, Kumari S, Khullar M, et.al. Different antioxidant status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem* 2005; **277**: 89-99.
24. Sun L, Gao YH, Tian DK, Zheng JP, Zhu CY, Ke Y, et.al. Inflammation of different tissues in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Sinica* 2006; **58**: 318-323.
25. Manningjr RD, Meng S, Tian N. Renal and vascular oxidative stress and salt-sensitive of arterial pressure. *Acta Physiol Scand* 2003; **179**: 243-250.
26. Fazendas P, Joao IF, Llobet S. Plasma Total antioxidant status in young survivors of myocardial infarction. *Rev Port Card* 2000; **19**: 463-467.
27. Yegin A, Yegin H, Aliciguzel Y. Erythrocyte Selenium glutathione peroxide activity is lower in patients with Coronary atherosclerosis. *Jpn Heart Jr* 1997; **38**: 793-779.
28. Serdar Z, Aslan K, Dirican M. lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem* 2006; **39**: 794-803.