Original Article

Evaluation of Serum malondialdehyde concentrations and enzymatic activity of paraoxonase and arile esterase in women with a recurrent spontaneous abortion

Sanjadi M, Nayeri H*

Department of Biochemistry, Islamic Azad University of Falavarjan Branch, Isfahan, I. R. Iran.

Received: 2018/11/25 | Accepted: 2019/07/30

Abstract:

Background: Recurrent spontaneous abortion (RSA) is considered as a harmful event for couples, and can lead to serious problems such as anxiety and depression in couples. Malondialdehyde (MDA) is involved in a variety of disorders including spontaneous abortion (RSA). Paraoxonase and Ariel Esterase are antioxidant enzymes with various protective effects. This study aimed to investigate the relationship between serum MDA level and enzymatic activity of paraoxonase and arile esterase enzymes with RSA risk.
Materials and Methods: In this case-control study, 53 RSA patients and 47 healthy age- and sex-matched subjects as the control group were enrolled in the study. Level of MDA were determined in serum sample by using a calorimetrically method with thiobarbituric acid (TBA). The activity of enzymes Paraoxonase and arylesterase were measured by spectrophotometry.
Result: The mean serum level of MDA was significantly increased in RSA patients compared to a healthy control group (5.85±1.00 vs. 5.47±0.77, $P<0.05$). We did not observe any significant difference between two groups in mean activity of enzymes Paraoxonase and arylesterase. We found a positive statistical correlation between the serum levels of MDA and anti-paternal cytotoxic antibody (APCA) (r=+0.20, $P=0.04$).
Conclusion: The present study reveals that oxidative stress and lipid peroxidation in women with a history of spontaneous abortion may increase and subsequently may play a role in non-pregnant women with a history of RSA. Therefore, the increase of oxidative stress in women with a history of RSA is not related solely to pregnancy.

Keywords: Recurrent abortion, Oxidative stress, Malondialdehyde, Paraoxonase, Arylesterase

***Corresponding Author:**
Email: Hashem.nayeri@yahoo.com
Tel: 0098 933 600 5705
Fax: 0098 513 841 6015

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 23, No 5, Pages 535-542

Please cite this article as: Sanjadi M, Nayeri H. Evaluation of Serum malondialdehyde concentrations and enzymatic activity of paraoxonase and arile esterase in women with a recurrent spontaneous abortion. ***Feyz*** 2019; 23(5): 535-42.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

بررسی میزان غلظت سرمی مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیمی آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل‌استراز در زنان با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی

مریم سنجدی[۱]، هاشم نیری[۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: سقط مکرر به‌عنوان یک رویداد آسیب‌زا برای زوج‌ها مطرح است و منجر به بروز علائمی همچون اضطراب و افسردگی در زوجین می‌شود. مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در بیماری‌های گوناگونی ازجمله سقط مکرر خودبه‌خودی (RSA) نقش دارد. پاراکسوناز و آریل‌استراز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با اثرات محافظتی گوناگون می‌باشند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط سطح سرمی MDA و فعالیت آنزیمی آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل‌استراز در زنان با سقط مکرر خودبه‌خودی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد ۵۳ زن غیربارردار با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی به‌عنوان گروه بیماران و ۴۷ زن غیربارردار به‌عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های سرم با یک روش رنگ‌سنجی با تیوباربیتوریک اسید تعیین شد. فعالیت آنزیم پاراکسوناز و آریل‌استراز توسط روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

نتایج: میانگین سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید در گروه بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته‌بود (P=۰/۰۳، ۷/۵۵±۱/۰۰ vs. ۵/۴۷±۰/۷۷). اختلاف معناداری در فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل‌استراز در دو گروه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که در زنان با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی، استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد و متعاقباً ممکن است نقش‌هایی در زنان غیربارردار با سابقه RSA داشته‌باشد. بنابراین افزایش استرس اکسیداتیو در زنان با سابقه RSA تنها مربوط به دوران بارداری نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: سقط مکرر، استرس اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدهید، پاراکسوناز، آریل‌استراز

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۵۴۲-۵۳۵

مقدمه

بر طبق تعریف، سقط مکرر به از دست دادن سه یا تعداد بیشتری حاملگی، پشت‌سرهم قبل از هفته بیستم بارداری گفته می‌شود [۱]. دلایل متعددی برای وقوع سقط‌های مکرر خودبه‌خودی وجود دارد. عوامل ایمونولوژیکی، آناتومیکی، اندوکرینی و ژنتیکی مهم‌ترین عوامل در این زمینه محسوب می‌شوند [۲]. عوامل دیگری ازجمله: وجود ناهنجاری‌های کروموزومی، هیپوتیروئیدی درمان‌نشده، سندرم آنتی‌فسفولیپید، عفونت‌ها و عوامل محیطی نیز در این زمینه می‌توانند دخالت داشته باشند [۳]. اخیراً عدم تعادل بین سیستم اکسیدان- آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یکی از عوامل مهم در وقوع سقط‌های مکرر خودبه‌خودی مطرح شده‌است. استرس اکسیداتیو نقش مهمّی در پاتوژنز سقط مکرر در سه‌ماهه‌های مختلف بیماری دارد [۴].

Agarwal و همکاران در سال ۲۰۰۵، بیان داشتند که استرس اکسیداتیو یک عامل مهم برای از دست رفتن حاملگی است که این به دلیل عدم تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان در هنگام بارداری می‌باشد [۴]. Gulum و همکاران در سال ۲۰۱۶، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، میزان پاراکسوناز و آریل‌استراز را در خون و پلاسمای مایع منی مردان نابارور بررسی نمودند و نتایج نشان داد که استرس اکسیداتیو نقش مهمّی را در ناباروری مردان ایفا می‌کند که منجر به عدم کارایی اسپرم می‌شود. رادیکال‌های آزاد، باعث شروع پراکسیداسیون لیپید در غشا می‌شوند و نتیجه نهایی پراکسیداسیون لیپید، تولید مواد مضری است که مهم‌ترین آن‌ها آلدهیدها هستند [۵]. یکی از مهم‌ترین آلدهیدها مالون دی‌آلدهید (MDA) است که یک شاخص برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید می‌باشد. اگرچه سطح مالون‌دی‌آلدهید در زنان با سابقه سقط مکرر مورد بررسی قرار نگرفته است، اما بررسی سطح آن در مطالعه‌ای که بر روی موارد خودبه‌خودی و تکی سقط صورت گرفته‌است، نشان می‌دهد که بدون توجه به نوع سقط، سطح این مارکر به‌طور معناداری قبل از بروز سقط نسبت به زمان بعد از سقط افزایش یافته‌است [۵]. از طرف دیگر پاراکسوناز۱ (PON) به‌عنوان آنزیمی آنتی‌اکسیدانی است که پراکسیدهای لیپیدی موجود در لیپوپروتئین‌های اکسیدشده را

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲. استادیار، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

* نشانی نویسنده مسؤول:

فلاورجان، اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه بیوشیمی

تلفن: ۰۹۳۳۶۰۰۵۷۰۵ دورنویس: ۰۵۱۳۸۴۱۶۰۱۵

پست الکترونیک: Hashem.nayeri@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۴ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۵/۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

هیدرولیز می‌کند [۵]. مطالعات زیادی رابطه معکوس فعالیت این آنزیم با شرایط استرس اکسیداتیو را نشان داده‌است. کاهش فعالیت پاراکسوناز در چندین بیماری تحت‌تأثیر استرس اکسیداتیو، مانند: دیابت، استئوآرتریت، آترواسکلروز و بیماری قلبی-عروقی ثابت شده‌است [۶]. پاراکسوناز دارای سه دسته آنزیمی شناخته‌شده است؛ ازجمله: پاراکسوناز، آریل‌استراز (ARE) و دیازوکوناز [۷]. هر دو PON و ARE برای تشکیل یک جزء مهمّ سیستم آنتی-اکسیدانی آنزیمی پلاسما تعامل می‌کنند [۷]. باتوجه به پروسه پراکسیداسیون لیپید و نیز اهمیت مکانیسم‌های استرس اکسیداتیو که منجر به تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن می‌شوند و به‌دلیل نقش این مکانیسم‌ها در سقط مکرر و نظر به این‌که تاکنون مطالعه‌ی مشابهی به بررسی مارکرهای مهمّ استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به سقط مکرر نپرداخته‌است، بررسی مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مارکرهای پراکسیداسیون لیپید و استرس اکسیداتیو در این بیماران از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. اگرچه ممکن است میزان استرس اکسیداتیو و تولید مارکرهای آن نظیر مالون‌دی‌آلدهید که نشانی از میزان فعالیت این مکانیسم‌ها در بدن می‌باشد، در بیماران مبتلا به سقط مکرر افزایش یافته‌باشد، اما بررسی آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی این ترکیبات نیز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد؛ چراکه ممکن است این افزایش در ترکیبات حاصل از استرس اکسیداتیو ناشی از نقص در آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی آن‌ها باشد. علاوه‌بر نقص‌های ذکرشده، تاکنون مطالعه‌ای به بررسی مارکرهای استرس اکسیداتیو و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی این ترکیبات در زنان مبتلا به سقط مکرر نپرداخته است، بنابراین بررسی سطح مالون‌دی‌آلدهید و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های پاروکسوناز و آریل‌استراز در این بیماران از اهمیت بسزایی برخوردار بوده، می‌تواند کمک شایانی به شناسایی بخشی از مکانیسم‌های اتیولوژیک و پاتوژنز این بیماری بکند.

مواد و روش‌ها

جمعیت‌های موردمطالعه

این مطالعه در سال ۱۳۹۶ در شهر اصفهان انجام شد. نمونه‌های بیماران از آزمایشگاه‌های اریترون، جم و پاستور جمع‌آوری شد. در این مطالعه مورد-شاهدی تعداد ۵۳ بیمار با سابقه سقط مکرر که تشخیص این بیماری برای آن‌ها توسط متخصص زنان و زایمان صورت گرفته بود، به‌روش تصادفی ساده بااستفاده از جدول اعداد تصادفی انتخاب شدند. همچنین تعداد ۴۷ زن بدون سابقه سقط مکرر که از نظر سن، جنس و شاخص توده بدنی (BMI) با گروه بیمار تفاوت معناداری نداشتند، نیز به‌عنوان گروه کنترل سالم وارد مطالعه شدند. اطلاعات دموگرافیک و کلینیکی بیماران بااستفاده از چک‌لیست تعبیه‌شده توسط دو کارشناس آزمایشگاه پیش از نمونه‌گیری خون جمع‌آوری شد. از افراد شرکت‌کننده در این مطالعه، فرم رضایت‌نامه‌ی کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان دریافت شد.

متغیرهای مطالعه:

در این مطالعه ۶ متغیر اصلی به کار گرفته شده بود که شامل موارد ذیل بود:

سقط مکرر خودبه‌خودی: کیفی- مستقل

سن: کمّی- مستقل

جنس: کیفی- مستقل

پاراکسوناز: کمّی- وابسته

آریل‌استراز: کمّی- وابسته

مالون‌دی‌آلدهید: کمّی- وابسته

معیارهای ورود به مطالعه:

۵۳ بیمار مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی که طبق معیارهای تشخیص RSA، تشخیص سقط مکرر خودبه‌خودی توسط پزشک معالج برای آن‌ها قطعی است، وارد مطالعه خواهند شد.

سقط بیش از سه مورد

سقط قبل از هفته‌ی ۲۰ ام بارداری باشد.

حداقل باید یک‌سال از آخرین سقطشان گذشته باشد.

معیارهای خروج از مطالعه:

وجود بیماری‌های زمینه‌ای و مزمن

بیماری‌های اتوایمن

عدم رضایت بیمار

جمع‌آوری نمونه

میزان ۵ میلی‌لیتر خون وریدی محیطی از بیماران و گروه کنترل توسط دو کارشناس آزمایشگاه جمع‌آوری و در لوله‌های آزمایشگاهی بدون ماده ضدّانعقاد ذخیره شد. نمونه‌ها سانتریفیوژ شده، پلاسمای آن‌ها جداسازی شد و سپس در فریزر و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های سنجش سطح سرمی و میزان فعالیت آنزیمی نگهداری شدند.

اندازه‌گیری غلظت MDA سرمی

میزان سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید به روش آنالیز تیوباربیتوریک اسید و به‌صورت اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. محلول استاندارد حاوی مالون‌دی‌آلدهید از مخلوط حاوی سرم به‌همراه محلول تری‌کلریک‌اسید ۲۰ درصد و سدیم دو دسیل سولفات ۸/۱ درصد و محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۸ درصد استخراج شد. سپس این محلول استخراج‌شده به مدت یک‌ساعت

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

جوشانده و سپس خنک و به آن ان-بوتانول اضافه شد. لایه ارگانیک اسید بعد از سانتریفیوژ به مدت ده دقیقه با دور ۴۰۰۰rpm جدا و با طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانش شد. برای تهیه معرف‌ها از آب‌مقطر خالص استفاده شد. قبل از شروع آزمایش دمای معرف‌ها به دمای اتاق رسانده شد. برای تهیه معرف ۵/۲ گرم معرف ۲ با ۵۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به حجم رسید. برای تهیه محلول استاندارد MDA با غلظت ۱۰ mM، ابتدا ۳۳ میکرولیتر از معرف ۳ با ۲۰ از معرف ۴ به حجم رسانده شد و محلول به‌مدت دو ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت و برای تهیه استوک ۱۰mM، ۱۰ میکرولیتر از محلول استاندارد MDA با غلظت mM ۱۰ با آب‌مقطر به حجم نهایی ۱۰ml رسانده شد. پس از آن یک-سری رقت ۶ تایی با غلظت ۱۰-۰ میکرومولار تهیه شد.

لوله آزمایش شماره ۱: حاوی یک میلی‌لیتر آب‌مقطر (نمونه شاهد)

لوله آزمایش شماره ۲: حاوی یک میلی‌لیتر از محلول استاندارد MDA + ۴ میلی‌لیتر آب‌مقطر

لوله آزمایش شماره ۳: حاوی یک میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA + ۱/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر

لوله آزمایش شماره ۴: حاوی ۱/۵ میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA + ۱ میلی‌لیتر آب‌مقطر

لوله آزمایش شماره ۵: حاوی ۲ میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA + ۰/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر

لوله آزمایش شماره ۶: حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA

سنجش فعالیت پاراکسوناز

پاراکسوناز یک آنزیم مرتبط با HDL است. این آنزیم عمدتاً در کبد تولید شده، به جریان خون می‌ریزد. پاراکسوناز، هیدرولیز ترکیبات بسیار سمّی مانند آفت‌کش‌ها و ... را بر عهده دارد. بااستفاده از کیت سنجش، فعالیت آنزیم پاراکسوناز (PON1) اندازه‌گیری شد. این سنجش به‌عنوان شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و نشانگر بیماری‌های قلبی-عروقی و کبدی است. کیت حاوی بافر Tris-Hcl و $CaCl_2$ و پاراکسون می‌باشد. در این روش پاراکسوناز، سوبسترای پاراکسون را کاتالیز کرده، پارانیتروفنل حاصل می‌شود. ابتدا از نمونه‌های موجود در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۹۰۰ میکرولیتر از محلول‌های حاوی سوبسترا را با ۱۰۰ میکرولیتر سرم مخلوط نموده، به درون کووت‌های دستگاه اسپکتوفتومتر انتقال دادیم و در طول موج ۴۱۲ نانومتر میزان تولید پارانیتروفنل را پس از ۲ دقیقه اندازه‌گیری کرده، OD را ثبت نمودیم.

سنجش فعالیت آریل‌استراز

آریل‌استراز یکی از فعالیت‌های آنزیم پاراکسوناز، در سم-زدایی فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها نقش دارد. فعالیت آریل‌استرازی در التهاب، استرس اکسیداتیو، بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان‌ها کاهش می‌یابد. بااستفاده از این روش کار سنجش آنزیم اندازه‌گیری شد. آنزیم PON1، فنیل‌استات را کاتالیز می‌کند و فنل و استیک‌اسید حاصل می‌شود. میزان تولید فنل در طول موج ۲۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کیت حاوی بافر tris-hcl و cacl2 و فنل‌استات به‌عنوان سوبسترا و پایدارکننده می‌باشد. ۹۰۰ میکرولیتر از محلول آماده‌شده را با ۱۰۰ میکرولیتر از سرم‌ها و سپس با سمپلر مخلوط می‌کنیم. بعد در دستگاه اسپکتوفتومتر جذب محلول در طول موج ۴۱۲ پس از ۲ دقیقه قرائت شد. این مراحل برای سایر سرم‌ها تکرار شد. Mackness و همکاران نشان دادند که آنزیم پاراکسوناز دارای دو نوع فعالیت پاراکسونازی (قابل اندازه‌گیری در برابر پاراکسون) و آریل‌استرازی (قابل اندازه-گیری در برابر فنیل‌استات) می‌باشد [۸]. به نظر می‌رسد این آنزیم احتمالاً دو شکل آنزیمی متداول با خصوصیات کیفی منحصر به فرد دارد. گزارش شده‌است که فعالیت این آنزیم در برابر پاراکسون دارای تغییرپذیری بیشتری است؛ درحالی‌که فعالیت آریل‌استرازی از ثبات بیشتری برخوردار است و معیار بهتری از غلظت آنزیمی می‌باشد.

آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری در دو سطح توصیفی و استنباطی انجام شد. در سطح توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف معیار استفاده شد. در سطح استنباطی پس از انجام آزمون کولموگروف اسمیرنوف به‌منظور بررسی نرمال‌بودن داده‌ها، در صورت برقراری فرض نرمال‌بودن برای مقایسه متغیرهای کمّی بین دو گروه از آزمون تی مستقل و در غیر این صورت از آزمون من-ویتنی استفاده شد. از آزمون کای دو به‌منظور مقایسه متغیرهای کیفی بین دو نمونه استفاده شد. از مدل رگرسیون لجستیک به‌منظور بررسی هم‌زمان اثر متغیرهای موردمطالعه بر وجود یا عدم وجود سابقه‌ی سقط استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل آماری بااستفاده نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفت.

نتایج

۱- میانگین سن و BMI در گروه بیماران به‌ترتیب برابر با ۳۱/۶۶±۵/۰۳ و ۲۶/۴۶±۴/۲۸ و در گروه کنترل برابر با ۳۲/۱۴±۵/۱۹ و ۲۷/۵۲±۴/۴۵ بود و تفاوت معناداری در سن و BMI دو گروه مشاهده نشد (P=۰/۶۳، P=۰/۲۲). سایر اطلاعات

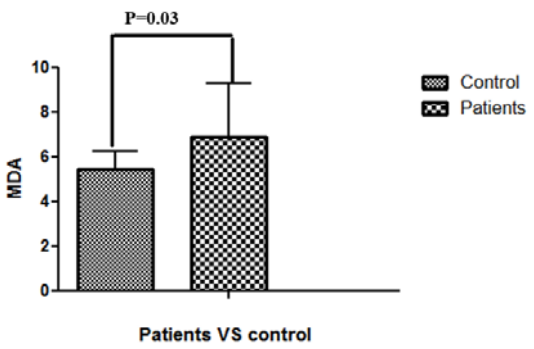
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

دموگرافیک گروه بیماران و گروه کنترل در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌است (آزمون t).

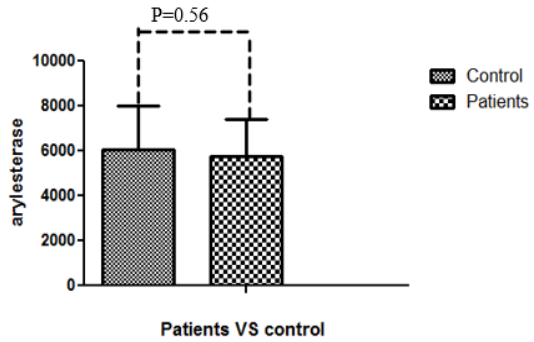
۲- میزان سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید به‌روش آنالیز تیوباربیتوریک اسید و به‌صورت اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. میانگین سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید در گروه بیماران به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته‌بود (P=۰/۰۳، ۵/۴۷±۰/۷۷ vs. ۷/۵۵±۱/۰۰)، (شکل شماره ۱) (آزمون t).

۳- میزان فعالیت پاراکسوناز به‌روش اسپکتروفتومتری بررسی شد که در آن از پاراکسون به‌عنوان سوبسترا استفاده شده‌است. تفاوت معناداری بین افراد سالم و بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی در میانگین فعالیت آنزیم‌های آریل‌استراز و پاراکسوناز مشاهده نشد (P=۰/۴۲، P=۰/۵۶). (شکل‌های شماره ۲ و ۳) آزمون t. همچنین یک ارتباط معنادار بین میانگین سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید و تست APCA مشاهده شد. به این صورت که با افزایش سطح آنزیم مالون‌دی‌آلدهید مقدار آنتی‌بادی APCA نیز افزایش پیدا می‌کرد (P=۰/۰۴، r=۰/۲) آزمون ضریب همبستگی Pearson. (جدول شماره ۲).

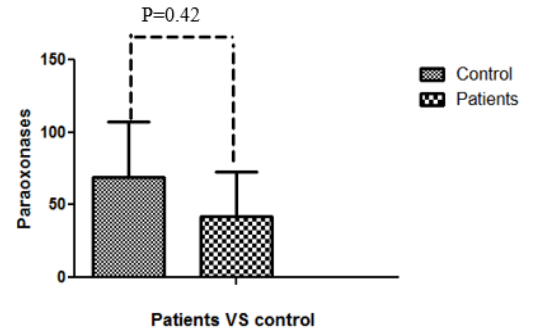
۴- طبق نتایج جدول شماره ۳ و براساس مدل رگرسیون لجستیک، از بین کلیه‌ی متغیرهای تأثیرگذار بر روی سقط مکرر مورد بررسی در این تحقیق، تنها اثر متغیر MDA در سطح خطای ۵ درصد معنادار مشاهده شد (P<۰/۰۵). مقدار نسبت شانس برای MDA ۱۰ برابر ۱/۴۷ بود، بدان معنا که به ازای هر ۰/۱ واحد افزایش در مقدار MDA (۱ واحد افزایش ۱۰MD) شانس ابتلا به سقط مکرر ۱/۵ برابر خواهد شد. بنابراین افزایش MDA به‌عنوان یک عامل خطر در سقط مکرر می‌باشد.



شکل شماره ۱- مقایسه میانگین غلظت سرمی مالون‌دی‌آلدهید که تفاوت معناداری را در دو گروه نشان می‌دهد.



شکل شماره ۲- مقایسه میانگین غلظت سرمی آریل‌استراز که تفاوت معناداری را در دو گروه نشان نمی‌دهد.



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین غلظت سرمی پاراکسوناز که تفاوت معناداری را در دو گروه نشان نمی‌دهد.

جدول شماره ۱- اطلاعات دموگرافیک بیماران و افراد کنترل

مشخصات دموگرافیک	گروه بیماران	گروه کنترل	مقادیر P
تعداد افراد	۵۳	۴۷	-
سن (سال)	۳۱/۶۶±۵/۰۳	۳۲/۱۴±۵/۱۹	۰/۶۳
شاخص توده بدنی(کیلوگرم/ مترمربع)	۲۶/۴۶±۴/۲۸	۲۷/۵۲±۴/۴۵	۰/۲۲
تعداد سقط	۳/۴۹±۰/۸۲	-	-
آزمایش APCA	۵	۰	۰/۲۲

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

جدول شماره ۲- بررسی رابطه APCA ratio با سقط مکرر

گروه APCA ratio	کنترل تعداد (درصد)	آزمایش تعداد (درصد)	سطح معناداری
منفی (<۰/۱۲۳)	(۱۰۰)۴۷	(۹۰/۶)۴۸	۰/۰۳۸
مثبت (>۰/۱۲۳)	۰	(۹/۴)۵	
کل	(۱۰۰) ۴۷	(۱۰۰)۵۳	

جدول شماره ۳- برآورد ضرایب رگرسیون لجستیک و نسبت بخت‌ها برای متغیرهای تأثیرگذار بر سقط مکرر

متغیر	آماره والد	درجه آزادی	سطح معناداری	مقدار ضریب	نسبت بخت (فاصله‌اطمینان ۹۵٪)
مقدار ثابت	۸/۸۲۴	۱	۰/۰۰۳	-۱۰/۱۱	---
سن	۱/۸۰۹	۱	۰/۱۷۹	-۰/۰۷۰	۰/۹۳(۰/۸-۱)
شاخص توده‌ی بدنی	۰/۵۶	۱	۰/۸۱۳	-۰/۰۱۴	۰/۴۸(۰/۷-۱/۲)
اریل‌استراز	۱/۰۴۸	۱	۰/۳۰۶	۰/۰	۱/۱(۰/۸۵-۱/۴)
10MDA	۱۵/۵۵	۱	۰/۰۰۱≥*	۰/۳۸۶	۱/۴۷(۱/۲-۱/۸)
پاراسکوناز	۰/۳۴۵	۱	۰/۵۵۷	-۰/۰۰۴	۰/۶۸(۰/۸۳=۱/۳)
100apca_rasio	۳/۳۲	۱	۰/۰۶۸	-۰/۲۶۳	۱/۳(۱-۱/۷)

بحث

در این مطالعه سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید در گروه بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی در مقایسه با گروه افراد سالم به‌طور معناداری افزایش یافته بود. همچنین یک ارتباط آماری مثبت بین سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید و آنتی‌بادی سیتوتوکسیک ضدّپدری (APCA) مشاهده کردیم. بااین‌وجود اختلاف معناداری در فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل‌استراز در دو گروه مشاهده نشد. یکی از مهم‌ترین محصولاتی که طی فرآیند پراکسیداسیون ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر در بدن تولید می‌شود، مالون‌دی‌آلدهید است. در مطالعات گذشته به‌طور شایع اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدها انجام شده‌است. براساس مطالعات Korpacka و همکاران در سال ۲۰۰۸، مالون‌دی‌آلدهید یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدها است که میزان آن در شرایط استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد و با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد و افزایش استرس اکسیداتیو در سقط مکرر را ثابت می‌کند. علاوه بر این، مالون‌دی‌آلدهید در سنتز ترومبوکسان و سیکلواکسیژناز که دو مسیر مهمّ التهابی هستند، نیز نقش دارد. در نتیجه، اندازه‌گیری آن می‌تواند علاوه بر این‌که نشانی از وضعیت اکسیداسیون در بدن باشد تا حدودی میزان التهاب در بدن را نیز نشان دهد [۹]. استرس اکسیداتیو نقش مهمّی در پاتوفیزیولوژی سقط و نیز بروز سقط مکرر دارد. استرس اکسیداتیو باعث آسیب اندوتلیوم جفت، رگ‌زایی ناقص جفتی و اختلال سیستم ایمنی می‌شود که این‌ها خود به‌طور مستقیم نقشی اساسی در پاتوفیزیولوژی سقط مکرر ایفا می‌کنند. همچنین مشخص شده‌است که مارکرهای بیوشیمیایی آسیب غشایی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند محصولات پراکسیداسیون چربی، قبل از بروز سقط مکرر به بیشترین میزان خود در خون این بیماران می‌رسند [۱۹]. در مطالعه حاضر میزان مالون‌دی‌آلدهید در نمونه خون بیمارانی که دچار سقط مکرر بودند، اندازه‌گیری شد و میانگین میزان مالون‌دی‌آلدهید افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه سالم نشان داد که با مطالعات ذکرشده هم‌راستا است. در مطالعه حاضر فعالیت آریل‌استراز و پاراکسوناز در دو گروه موردمطالعه تغییر معنی‌داری نداشت. افزایش مالون‌دی‌آلدهید در بیماران به‌عنوان مارکر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. همچنین، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می‌کند و بنابراین باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید می‌شود که در مطالعه حاضر هم‌زمان با افزایش مالون‌دی‌آلدهید در بیماران تغییری در میزان فعالیت آنزیم‌های آریل‌استراز و پاراکسوناز مشاهده نکردیم که عدم معنی‌دار بودن فعالیت پاراکسوناز و آریل‌استراز در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل تعداد محدود نمونه‌های مورد آزمایش، عدم ثابت‌بودن فاکتورهای مؤثر بر روی فعالیت این آنزیم همچون تغذیه، فعالیت بدنی، داروهای مورد مصرف بیمار و عوامل محیطی برون‌زاد و درون‌زاد هر فرد بیمار باشد [۱۰]. Dirican و همکاران در سال ۲۰۰۴، همبستگی منفی بین فعالیت پاراکسوناز و مالون‌دی‌آلدهید را که ناشی از تخریب اکسیداتیو وسیع پاراکسوناز می‌باشد، نشان دادند؛ در واقع اتصال پاراکسوناز به HDL وابسته

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

بودن این آنزیم را به HDL تأیید می‌کند [۱۱]. در همین راستا Durrington و همکاران در سال ۲۰۰۱، گزارش نمودند که به‌دلیل جایگاه پاراکسوناز روی HDL و ارتباط نزدیک پاراکسوناز با نقش آنتی‌اکسیدانی HDL، میزان این لیپوپروتئین در بیماران بر روی فعالیت آنزیم بسیار حائز اهمیت است [۱۲]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان سطح سرمی فاکتورهایی مانند لیپوپراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، بتاکاروتن، ویتامین A و ویتامین E بر روی ۴۰ زن باسابقه سقط نشان داده‌است که سطح فاکتورهای آنتی‌اکسیدان به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل پایین‌تر است. در مطالعه‌ای دیگر میزان پاراکسوناز، آریل‌استراز و مالون‌دی‌آلدئید در افرادی که در معرض تشعشعات یونیزان هستند، اندازه‌گیری شد و محققان به این نتیجه رسیدند که ارتباط معکوس معنی‌دار بین پاراکسوناز و آریل‌استراز و مالون‌دی‌آلدهید وجود ندارد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد [۱۳]. به‌نظر می‌رسد همبستگی منفی بین فعالیت پاراکسوناز و مالون‌دی‌آلدهید، ناشی از تخریب اکسیداتیو وسیع پاراکسوناز می‌باشد و اتصال پاراکسوناز به HDL وابسته‌بودن این آنزیم را به لیپید تأیید می‌کند [۲۰]. درواقع برای فعالیت پاراکسوناز، محیط آب‌گریز HDL ضروری است. فسفولیپیدها و مخصوصاً آن‌هایی که زنجیر اسیدچرب بلندی دارند، آنزیم پاراکسوناز را پایدار می‌کنند و برای اتصال آن در سطح لیپوپروتئین ضروری هستند. فعالیت پایین پاراکسوناز در HDL همچنین می‌تواند به خاطر حضور مهارکننده‌های گردشی مثل محصولات پراکسیداسیون لیپیدها باشد [۱۱]. از طرفی عدم‌تغییر فعالیت پاراکسوناز صرفاً نتیجه تغییرات HDL نبوده، بلکه ناشی از غیرفعال شدن اکسیداتیو آنزیم می‌باشد که طی این مکانیسم گروه سولفیدریل آزاد آنزیم PON-1 با لیپیدهای اکسیده خاص، واکنش می‌دهد و درنهایت PON-1 غیرفعال می‌شود [۱۰] احتمالاً حمله رادیکال‌های آزاد به آنزیم، باعث غیرفعال شدن آن می‌شود [۱۴]. یک مکانیسم دیگر در رابطه با عدم فعالیت آنزیم PON-1 می‌تواند از سرکوب‌شدن سنتز آنزیم به‌خاطر نقص ژنتیکی منشأ بگیرد [۱۰] و یا احتمالاً برخاسته از تنظیم کاهش رونویسی آن در کبد باشد [۱۵]. عفونت به‌عنوان یکی از عوامل اصلی در سقط مکرر زنان مطرح می‌باشد. در همین راستا Ayar و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثر آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل‌استراز را در نوزادان مبتلا به عفونت دوره جنینی بررسی و مشاهده نمودند که سطح آنزیم آریل‌استراز نشانه قوی برای سپسیس در بیماران می‌باشد [۲۱]. در مطالعه‌ی دیگری فعالیت پاراکسونازی و آریل‌استرازی سرم در بیماران مبتلا به سرطان معده بررسی شد. در این مطالعه ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان معده با ۳۰ فرد سالم به‌صورت مقایسه‌ای مطالعه و بررسی شدند. براساس این مطالعه فعالیت پاراکسونازی در افراد بیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد سالم بود که نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو در این بیماری و تضعیف قدرت آنتی‌اکسیدانی و بدترشدن وضعیت اکسیداتیو بدن است [۲۲]. به‌طور کلی وجود مغایرت در نتایج مطالعه حاضر با بعضی از مطالعات ممکن است به متفاوت بودن ساختار ژنتیکی جوامع مختلف و تفاوت‌های نژادی مربوط باشد [۱۶]. شرایطی مانند دیابت، بیماری‌های تیروئید، سندرم متابولیک، نارسایی کلیوی و افزایش سن در ارتباط با فعالیت کاهش‌یافته پاراکسونازها می‌باشد [۱۸،۱۷]. این مطالعه اوّلین مطالعه‌ای است که به افزایش مالون‌دی‌آلدهید و نقش بالقوه استرس اکسیداتیو در زنان با سقط مکرر اشاره می‌کند. بااین‌وجود دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد؛ در مطالعه حاضر همزمان با افزایش MDA در بیماران، تغییرات فعالیت آریل‌استرازی و پاراکسونازی مشاهده نکردیم که عدم معنی‌دار بودن فعالیت پاراکسونازی و آریل‌استرازی در مطالعه حاضر احتمالاً به‌دلیل تعداد محدود نمونه‌های مورد آزمایش، عدم ثابت‌بودن فاکتورهای مؤثر بر روی فعالیت این آنزیم همچون تغذیه، فعالیت بدنی، داروهای مورد مصرف بیمار و عوامل محیطی برون‌زاد و درون‌زاد هر فرد بیمار باشد. یکی دیگر از محدودیت‌های مهمّ این پژوهش مربوط به این موضوع است که در توازن اکسیدان-آنتی‌اکسیدان مؤلفه‌های متعددی دخیل هستند که در این پژوهش فقط سه عامل آن PON و MDA و ARE ارزیابی شدند و بنابراین تعمیم نتایج به کلّ توازن اکسیدان–آنتی‌اکسیدان بدون توجه به سایر مؤلفه‌ها ممکن است اشتباهاتی به دنبال داشته باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی در این مطالعه افزایش مالون‌دی‌آلدهید که یک شاخص برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی است، بیانگر این است که در زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی، میزان استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد که دلالت بر عدم وجود تعادل بین سیستم اکسیدان–آنتی‌اکسیدان دارد که درنهایت باعث تشدید استرس اکسیداتیو می‌شود. اگرچه افزایش استرس اکسیداتیو در زنان با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی تنها مربوط به دوران بارداری نیست. در پایان چند پیشنهاد جهت مطالعات آینده ارائه می‌شود: انجام مطالعات جامع‌تر با حجم نمونه‌ی بیشتر، در بیماران مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی، مقدار بیان آنزیم‌های دخیل در سیستم اکسیدان و آنتی‌اکسیدان در سطح ژنی اندازه‌گیری شود، بررسی ارتباط وجود تیروئیدیت خودایمن با بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی و درنهایت بررسی ارتباط بین

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]

آنتی‌بادی ضدّپراکسیداز (Anti-TPO) و سطح مالون‌دی‌آلدهید در این بیماران.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از حمایت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و سرکار خانم دکتر شاکری متخصص زنان و زایمان که در انجام این مطالعه کمک‌های فراوانی کردند، تشکر به عمل می‌آورند.

References:

[1] Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. ***Rev Obstet Gynecol*** 2009; 2(2): 76.

[2] Nunes DP, Spegiorin LC, Mattos CC, Oliani AH, Vaz-Oliani DC, Mattos LC. The ADA* 2 allele of the adenosine deaminase gene (20q13. 11) and recurrent spontaneous abortions: an age-dependent association. ***Clin*** 2011; 66(11): 1929-33.

[3] El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. ***Int J Womens Health*** 2017; 9: 331.

[4] Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. ***Reprod Biol Endocrinol*** 2005; 3(1): 28.

[5] Gulum M, Gumus K, Yeni E, Dogantekin E, Ciftci H, Akin Y, et al. Blood and semen paraoxonase—arylesterase activities in normozoospermic and azoospermic men. ***Androl*** 2017; 49(9): e12752.

[6] Gil-Villa AM, Cardona-Maya W, Agarwal A, Sharma R, Cadavid Á. Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect?. ***Fertil Steril*** 2009; 92(2): 565-71.

[7] Kim DS, Marsillach J, Furlong CE, Jarvik GP. Pharmacogenetics of paraoxonase activity: elucidating the role of high-density lipoprotein in disease. ***Pharmacogenomics*** 2013; 14(12): 1495-515.

[8] Mackness M, Mackness B. Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. ***Gene*** 2015; 567(1): 12-21.

[9] Krzystek-Korpacka M, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamian A. Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes—connection with inflammation. ***Clin Biochem***. 2008; 41(10-11): 804-11.

[10] Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease. ***Am J Cardiovasc Drugs*** 2004; 4(4): 211-7.

[11] Dirican M, Akça R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. ***J Nephrol*** 2004; 17(6): 813-8.

[12] Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 2001; 21(4): 473-80.

[13] Serhatlioglu S, Gursu MF, Gulcu F, Canatan H, Godekmerdan A. Levels of paraoxonase and arylesterase activities and malondialdehyde in workers exposed to ionizing radiation. ***Cell Biochem Funct*** 2003; 21(4): 371-5.

[14] Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Erogul J, Sorenson R, Bisgaier CL, et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. ***Free Radic Biol Med*** 1999; 26(7-8): 892-904.

[15] Camuzcuoglu H, Arioz DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. ***Gynecol Oncol*** 2009; 112(3): 481-5.

[16] Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 2002 1; 22(8): 1329-33.

[17] Précourt LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, Delvin E, Seidman E, et al., The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation. ***Atheroscler*** 2011; 214(1): 20-36.

[18] Solati M, Raiszadeh F, Azizi FE. Lipids, apolipoproteins, lipid oxidation and paraoxonase enzyme activity In diabetic and non-diabetic end stage renal disease patients. ***Int J Endocrinol Metab*** 2008; 4: 175-82.

[19] Modaresi A, Nafar M, Sahraei Z. Oxidative stress in chronic kidney disease. ***Iran J Kidney Dis*** 2015; 9(3): 165.

[20] Kural BV, Örem C, Uydu HA, Alver A, Örem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant–antioxidant system in patients with dyslipidemia. ***Coron Artery Dis*** 2004; 15(5): 277-83.

[21] Ayar G, Atmaca YM, Alışık M, Erel Ö. Effects of paraoxonase, arylesterase, ceruloplasmin, catalase, and myeloperoxidase activities on prognosis in pediatric patients with sepsis. ***Clin Biochem*** 2017; 50(7-8): 414-7.

[22] Gałczyński K, Bełtowski J, Nowakowski Ł, Vasilevska D, Rechberger T, Semczuk A. Serum paraoxonase 1 activity and protein N-homocysteinylation in primary human endometrial cancer. ***Tumour Biol*** 2018; 40(9): 1010428318797869.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2023-09-27]