

Original Article

Evaluation of Serum malondialdehyde concentrations and enzymatic activity of paraoxonase and arylesterase 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 arylesterase 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 arylesterase in women with a recurrent spontaneous abortion. *Feyz* 2019; 23(5): 535-42.

بررسی میزان غلظت سرمی مالون دی آلدید و فعالیت آنزیمی آنزیم های پاراکسوناز و آریل استراز در زنان با سابقه سقط مکرر خود به خودی

*^۱ مریم سنجدی ، هاشم نیری

خلاصه:

سابقه و هدف: سقط مکرر به عنوان یک رویداد آسیب‌زا برای زوج‌ها مطرح است و منجر به بروز علامتی همچون اضطراب و افسردگی در زوجین می‌شود. مالون دی آلدید (MDA) در بیماری‌های گوناگونی از جمله سقط مکرر خود به خودی (RSA) نقش دارد. پاراکسوناز و آریل استراز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با اثرات محافظتی گوناگونی می‌باشند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط سطح سرمی MDA و فعالیت آنزیمی آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل استراز در زنان با سقط مکرر خود به خودی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد شاهدی، تعداد ۵۳ زن غیرباردار با سابقه سقط مکرر خود به خودی به عنوان گروه بیماران و ۴۷ زن غیرباردار به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. سطح سرمی مالون دی آلدید در نمونه‌های سرم با یک روش رنگ‌سنجه با تیوباریتوريک اسید تعیین شد. فعالیت آنزیم پاراکسوناز و آریل استراز توسط روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد.

نتایج: میانگین سطح سرمی مالون دی آلدید در گروه بیماران سقط مکرر خود به خودی در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافته- بود ($P=0.03$, $5/47 \pm 0.77$ VS. $5/55 \pm 0.00$). اختلاف معناداری در فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل استراز در دو گروه مشاهده شد.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که در زنان با سابقه سقط مکرر خود به خودی، استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد و متعاقباً ممکن است نقش‌هایی در زنان غیرباردار با سابقه RSA داشته باشد. بنابراین افزایش استرس اکسیداتیو در زنان با سابقه RSA تنها مربوط به دوران بارداری نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: سقط مکرر، استرس اکسیداتیو، مالون دی آلدید، پاراکسوناز، آریل استراز

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

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 می- باشد [۱]. Gulum و همکاران در سال ۲۰۱۶، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، میزان پاراکسوناز و آریل استراز را در خون و پلاسمای مایع منی مردان نابارور بررسی نمودند و نتایج نشان داد که استرس اکسیداتیو اسپرم 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 آلدیدها هستند [۲]. یکی از مهم‌ترین آلدیدها مالون دی آلدید (MDA) است که یک شاخص برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید می‌باشد. اگرچه سطح مالون دی- آلدید در زنان با سابقه سقط مکرر مورد بررسی قرار نگرفته است، اما بررسی سطح آن در مطالعه‌ای که بر روی موارد خود به- خودی و تکی سقط صورت گرفته است، نشان می‌دهد که بدون توجه به نوع سقط، سطح این مارکر به طور معناداری قبل از بروز سقط نسبت به زمان بعد از سقط افزایش یافه است [۳]. از طرف دیگر پاراکسوناز ۱ (PON) به عنوان آنزیمی آنتی‌اکسیدانی است که پراکسیدهای لیپیدی موجود در لیبوپروتئین‌های اکسیدشده را

مقدمه

بر طبق تعریف، سقط مکرر به از دست دادن سه یا تعداد بیشتری حاملگی، پشت‌سرهم قبل از هفت‌هفته بیست بارداری گفته می- شود [۱]. دلایل متعددی برای وقوع سقط‌های مکرر خود به خودی وجود دارد. عوامل ایمونولوژیکی، آناتومیکی، اندوکرینی و ژنتیکی مهم‌ترین عوامل در این زمینه محسوب می‌شوند [۲]. عوامل دیگری از جمله: وجود ناهنجاری‌های کروموزومی، هیپوتیروثیدی درمان‌نشده، سترم آنتی‌فسفولیپید، عفونت‌ها و عوامل محیطی نیز در این زمینه می‌توانند دخالت داشته باشند [۳]. اخیراً عدم تعادل بین سیستم اکسیدان- آنتی‌اکسیدان به عنوان یکی از عوامل مهم در وقوع سقط‌های مکرر خود به خودی مطرح شده است. استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژن سقط مکرر در سمه‌ماهه‌های مختلف بیماری دارد [۴].

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 نهاد مسئول؛

فلاورجان، اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه بیوشیمی
تلفن: ۰۵۱۳۸۴۱۶۰۱۵ - ۰۹۳۳۶۰۰۵۷۰۵، دوچرخه‌سواری، Hashem.nayeri@yahoo.com

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

گروه کنترل سالم وارد مطالعه شدند. اطلاعات دموگرافیک و کلینیکی بیماران باستفاده از چک لیست تعییشده 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: کمی - مستقل

جنس: کیفی - مستقل

پاراکسوناز: کمی - وابسته

آریل استراز: کمی - وابسته

مالون دی آلدید: کمی - وابسته

معیارهای ورود به مطالعه:

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

سقط بیش از سه مورد

سقط قبل از هفت‌تی ۲۰ ام بارداری باشد.

حداقل باید یک سال 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 ضد‌انعقاد 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 مالون دی آلدید به روش آنالیز تیوباریتوريک اسید و به صورت اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. محلول استاندارد حاوی مالون دی آلدید از محلول حاوی سرم به همراه محلول تری کلریک اسید ۲۰ درصد و سدیم دو دیسل سولفات ۸/۱ درصد و محلول تیوباریتوريک اسید ۰/۸ درصد استخراج شد. سپس این محلول استخراج شده به مدت یک ساعت

هیدرولیز می‌کند [۵]. مطالعات زیادی رابطه معکوس فعالیت این آنزیم با شرایط استرس اکسیداتیو را نشان داده است. کاهش فعالیت پاراکسوناز در چندین بیماری تحت تأثیر استرس اکسیداتیو، مانند: دیابت، استئوآرتربیت، آتروواسکلروز و بیماری قلبی-عروقی ثابت شده است [۶]. پاراکسوناز دارای سه دسته آنزیمی شناخته شده است: از جمله: پاراکسوناز، آریل استراز (ARE) و دیازوکوناز [۷]. هر دو PON و ARE برای تشکیل یک جزء مهم سیستم آنتی-اکسیدانی آنزیمی پلاسمایا تعامل می‌کنند [۷]. با توجه به پروسه پراکسیداسیون لبید و نیز اهمیت مکانیسم‌های استرس اکسیداتیو که منجر به تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن می‌شوند و به دلیل نقش این مکانیسم‌ها در سقط مکرر و نظر به این که تاکنون مطالعه‌ی مشابهی به بررسی مارکرهای مهم استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به سقط مکرر نپرداخته است، بررسی مالون دی آلدید به عنوان یکی از مهم‌ترین مارکرهای پراکسیداسیون لبید و استرس اکسیداتیو در این بیماران از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. اگرچه ممکن است میزان استرس اکسیداتیو و تولید مارکرهای آن نظیر مالون دی آلدید که نشانی از میزان فعالیت این مکانیسم‌ها در بدن می‌باشد، در بیماران مبتلا به سقط مکرر افزایش یافته باشد، 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 ذکر شده، 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 مالون دی آلدید و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل استراز در این بیماران از اهمیت بسزایی برخوردار بوده، می‌تواند کمک شایانی به شناسایی بخشی از مکانیسم‌های اتیولوژیک و پاتوژن 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، به روش تصادفی ساده باستفاده 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 به عنوان

سنچش فعالیت آریل استراز

آریل استراز یکی از فعالیت‌های آنژیم پاراکسوناز، در سه‌زدایی فرآیند پراکسیداسیون لبیدها نقش دارد. فعالیت آریل استرازی در التهاب، استرس اکسیداتیو، بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان‌ها کاهش می‌باید. باستفاده از این روش کار سنچش آنژیم اندازه‌گیری شد. آنژیم PON1، فنیل استات 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 فنل استات به عنوان سوبسترا و پایدارکننده می‌باشد. ۹۰۰ میکرولیتر از محلول آماده شده را با ۱۰۰ میکرولیتر از سرم‌ها و سپس با سمپلر مخلوط می‌کنیم. بعد در دستگاه اسپکتوفوتومتر 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 آنژیم پاراکسوناز دارای دو نوع فعالیت پاراکسونازی (قابل اندازه‌گیری در برابر پاراکسون) و آریل استرازی (قابل اندازه‌گیری در برابر فنل استات) می‌باشد [۸]. به نظر می‌رسد این آنژیم احتمالاً دو شکل آنژیمی متداول با خصوصیات کیفی منحصر به فرد دارد. گزارش شده است که فعالیت این آنژیم در برابر پاراکسون دارای تغییرپذیری بیشتری است؛ در حالی که فعالیت آریل استرازی از ثبات بیشتری برخوردار است و معیار بهتری از غلظت آنژیمی می‌باشد.

آنالیز آماری

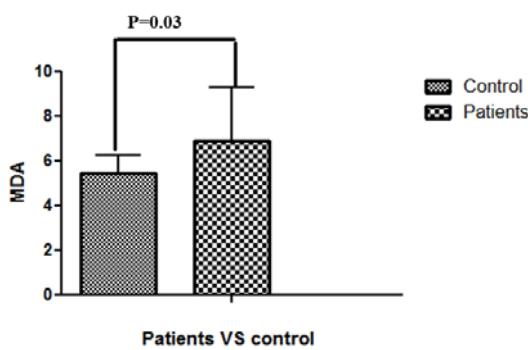
تجزیه و تحلیل آماری در دو سطح توصیفی و استنباطی انجام شد. در سطح توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف معیار استفاده شد. در سطح استنباطی پس از انجام آزمون کولموگروف اسمیرنوف به منظور بررسی نرمال‌بودن داده‌ها، در صورت برقراری فرض نرمال‌بودن برای مقایسه متغیرهای کمی بین دو گروه از آزمون تی مستقل و در غیر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

نتایج

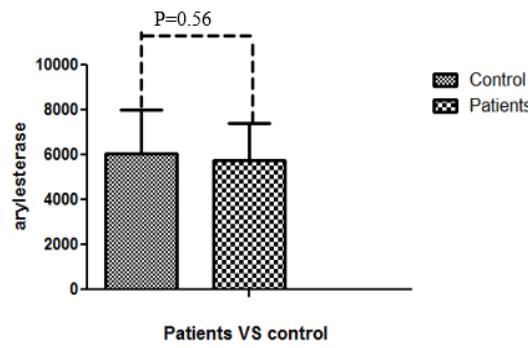
۱- میانگین سن و BMI در گروه بیماران به ترتیب برابر با $31/66 \pm 5/03$ و $26/46 \pm 4/28$ و در گروه کنترل برابر با $32/14 \pm 5/19$ و $27/52 \pm 4/45$ بود و تفاوت معناداری در سن و دو گروه مشاهده نشد ($P=0/63$, $P=0/22$). سایر اطلاعات

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 طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانش شد. برای تهیه معرف‌ها از آب مقطر خالص استفاده شد. قبل از شروع آزمایش دمای معرف‌ها به دمای اتاق رسانده شد. برای تهیه معرف $5/2$ گرم معرف ۲ با 50 میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسید. برای تهیه محلول استاندارد MDA با غلظت 10 mM با ابتدا 33 میکرولیتر از معرف 3 با 20 از معرف 4 به حجم رسانده شد و محلول به مدت دو ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت و برای تهیه استوک mM با 10 میکرولیتر از محلول استاندارد MDA با غلظت 10 با آب مقطر به حجم نهایی 10 ml رسانده شد. پس از آن یک سری رقت 6 تابی با غلظت 10 میکرومولار تهیه شد.

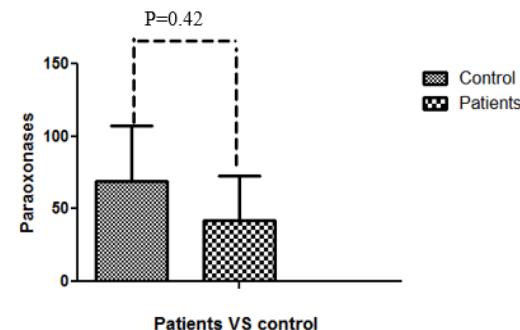
لوله آزمایش شماره ۱: حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر (نمونه شاهد) لوله آزمایش شماره ۲: حاوی یک میلی‌لیتر از محلول استاندارد MDA $4 + 1$ میلی‌لیتر آب مقطر لوله آزمایش شماره ۳: حاوی یک میلی‌لیتر محلول استاندارد $1/5 + MDA$ لوله آزمایش شماره ۴: حاوی $1/5$ میلی‌لیتر محلول استاندارد $1 + MDA$ لوله آزمایش شماره ۵: حاوی 2 میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA $+ 0/5$ میلی‌لیتر آب مقطر لوله آزمایش شماره ۶: حاوی 1 میلی‌لیتر محلول استاندارد MDA سنچش فعالیت پاراکسوناز پاراکسوناز یک آنژیم مرتبط با HDL است. این آنژیم عمدتاً در کبد تولید شده، به جریان خون می‌ریزد. پاراکسوناز، هیدرولیز ترکیبات بسیار سمتی مانند آفتکش‌ها و ... را بر عهده دارد. با استفاده از کیت سنچش، فعالیت آنژیم پاراکسوناز (PON1) اندازه‌گیری شد. این سنچش به عنوان شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و نشانگر Tris-HCl و CaCl₂ و پاراکسون می‌باشد. در این روش پاراکسوناز، سوبستراپی پاراکسون را کاتالیز کرده، پارانیتروفنل حاصل می‌شود. ابتدا از نمونه‌های موجود در یخچال با دمای 4 درجه سانتی‌گراد، 900 میکرولیتر از محلول‌های حاوی سوبسترا را با 100 میکرولیتر سرم مخلوط نموده، به درون کووت‌های دستگاه اسپکتوفوتومتر انتقال دادیم و در طول موج 412 نانومتر میزان تولید پارانیتروفنل را پس از 2 دقیقه اندازه‌گیری کرده، OD را ثبت نمودیم.



شکل شماره ۱- مقایسه میانگین غلظت سرمی مالون دی آلدید که تفاوت معناداری را در دو گروه نشان نمی دهد.



شکل شماره ۲- مقایسه میانگین غلظت سرمی آریل استراز که تفاوت معناداری را در دو گروه نشان نمی دهد.



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

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

۲- میزان سطح سرمی مالون دی آلدید به روش آنالیز تیوباریتوریک اسید و به صورت اسپکتروفوتومتری اندازه گیری شد. میانگین سطح سرمی مالون دی آلدید در گروه بیماران به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود ($P=0.03$) (آزمون t) (شکل شماره ۱) (آزمون t).

۳- میزان فعالیت پاراکسوناز به روش اسپکتروفوتومتری بررسی شد که در آن از پاراکسون به عنوان سوبسترا استفاده شده است. تفاوت معناداری بین افراد سالم و بیماران سقط مکرر خودبه خودی در میانگین فعالیت آنزیمهای آریل استراز و پاراکسوناز مشاهده نشد ($P=0.56$). (شکل های شماره ۲ و ۳ آزمون t همچنین یک ارتباط معنادار بین میانگین سطح سرمی مالون دی آلدید و تست PCA مشاهده شد. به این صورت که با افزایش سطح آنزیم مالون دی آلدید مقدار آنتی بادی PCA نیز افزایش پیدا می کرد ($P=0.04$). آزمون ضریب همبستگی Pearson (جدول شماره ۲).

۴- طبق نتایج جدول شماره ۳ و براساس مدل رگرسیون لجستیک، از بین کلیه متغیرهای تأثیرگذار بر روی سقط مکرر مورد بررسی در این تحقیق، تنها اثر متغیر MDA در سطح خطای ۵ درصد معنادار مشاهده شد ($P<0.05$). مقدار نسبت شانس برای MDA ۱۰ برابر ۱/۴۷ بود، بدان معنا که به ازای هر ۱۰ واحد افزایش در مقدار MDA ۱ واحد افزایش ۱۰ MD شانس ابتلا به سقط مکرر ۱/۵ برابر خواهد شد. بنابراین افزایش MDA به عنوان یک عامل خطر در سقط مکرر می باشد.

جدول شماره ۱- اطلاعات دموگرافیک بیماران و افراد کنترل

مشخصات دموگرافیک	گروه بیماران	گروه کنترل	مقادیر P
تعداد افراد	۵۳	۴۷	-
سن (سال)	$۳۱/۶۶\pm۵/۰۳$	$۳۲/۱۴\pm۵/۱۹$	$۰/۶۳$
شاخص توده بدنی (کیلوگرم / مترمربع)	$۲۶/۴۶\pm۴/۲۸$	$۲۷/۵۲\pm۴/۴۵$	$۰/۲۲$
تعداد سقط	$۳/۴۹\pm۰/۸۲$	-	-
آزمایش PCA	۵	۰	$۰/۲۲$

جدول شماره ۲- بررسی رابطه APCA ratio با سقط مکرر

سطح معناداری	آزمایش	کنترل	گروه APCA ratio
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
منفی (۹۰/۶۴۸)	(۹۰/۶۴۸)	(۱۰۰/۴۷)	(<۰/۱۲۳)
مثبت (۹/۴۵)	.	.	(>۰/۱۲۳)
کل	(۱۰۰/۵۳)	(۱۰۰/۴۷)	

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

متغیر	آماره والد	درجه آزادی	مقدار ضریب (فاصله اطمینان٪/۹۵)	سطح معناداری	مقدار ضریب	آماره والد	درجه آزادی	مقدار ثابت	نسبت بخت
---	-۱۰/۱۱	۰/۰۰۳	-	-	-	۸/۸۲۴	۱	-	-
۰/۹۳(۰/۸-۱)	-۰/۰۷۰	۰/۱۷۹	-	-	-	۱/۸۰۹	۱	-	سن
۰/۴۸(۰/۷-۱/۲)	-۰/۰۱۴	۰/۸۱۳	-	-	-	۰/۵۶	۱	-	شاخص توده‌ی بدنی
۱/۱(۰/۸۵-۱/۴)	۰/۰	۰/۳۰۶	-	-	-	۱/۰۴۸	۱	-	اریل استراز
۱/۴۷(۱/۲-۱/۸)	۰/۳۸۶	۰/۰۰۱ \geq	-	-	-	۱۵/۰۵	۱	-	10MDA
۰/۶۸(۰/۸۳=۱/۳)	-۰/۰۰۴	۰/۵۵۷	-	-	-	۰/۳۴۵	۱	-	پاراکسوناز
۱/۳(۱-۱/۷)	-۰/۲۶۳	۰/۰۶۸	-	-	-	۲/۳۲	۱	-	100apca_rasio

اساسی در پاتوفیزیولوژی سقط مکرر ایفا می‌کنند. همچنین مشخص شده‌است که مارکرهای بیوشیمیایی آسیب غشاء‌یافته‌ی 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 آریل استراز و پاراکسوناز در دو گروه موردمطالعه تغییر معنی‌داری نداشت. افزایش مالوندی‌آلدهید در بیماران به عنوان 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 آریل استراز و پاراکسوناز مشاهده نکردیم که عدم معنی‌دار بودن فعالیت پاراکسوناز و آریل استراز در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل تعداد محدود نمونه‌های مورد آزمایش، عدم ثابت بودن فاکتورهای مؤثر بر روی فعالیت این آنزیم همچون تنذیه، 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 و سیع پاراکسوناز می‌باشد، نشان دادند؛ در واقع اتصال پاراکسوناز به HDL وابسته

بحث

در این مطالعه سطح سرمی مالوندی‌آلدهید در گروه بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی در مقایسه با گروه افراد سالم به طور معناداری افزایش یافته بود. همچنین یک ارتباط آماری مثبت بین سطح سرمی مالوندی‌آلدهید و آنتی‌بادی سیتوکسیک ضدپدری (APCA) مشاهده کردیم. با این وجود اختلاف معناداری در فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل استراز 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 به طور شایع اندازه‌گیری سطح مالوندی‌آلدهید به عنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدها انجام شده است. 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 ستز ترومبوکسان و سیکلولاکسیژنаз که دو مسیر مهم التهابی هستند، نیز نقش دارد. در نتیجه، اندازه‌گیری آن می‌تواند علاوه بر این که نشانی از وضعیت اکسیداسیون در بدن باشد تا حدودی میزان التهاب در بدن را نیز نشان دهد [۹]. استرس اکسیداتیو نقش مهمی 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 به طور مستقیم نقشی

مطالعه و بررسی شدند. براساس این مطالعه فعالیت پاراکسونازی در افراد بیمار به طور معنی‌داری کمتر از افراد سالم بود که نشان-دهنده افزایش استرس اکسیدانتیو در این بیماری و تضعیف قدرت آنتی‌اکسیدانی و بدترشدن وضعیت اکسیدانتیو 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 نزدیک مریب 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 اولین مطالعه‌ای است که به افزایش مالون دی‌آلدھید و نقش بالقوه استرس اکسیدانتیو در زنان با سقط مکرر اشاره می‌کند. با این وجود دارای محدودیت‌های نیز می‌باشد؛ در مطالعه حاضر همزمان با افزایش MDA در بیماران، تغییرات فعالیت آریل استرازی و پاراکسونازی مشاهده نکردیم که عدم معنی‌دار بودن فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل تعداد محدود نمونه‌های مورد آزمایش، عدم ثابت‌بودن فاکتورهای مؤثر بر روی فعالیت این آنزیم همچون تعذیبه، فعالیت بدنی، داروهای مورد مصرف بیمار و عوامل محیطی بروزنزاد و درونزاد هر فرد بیمار باشد. یکی دیگر از محدودیت‌های مهم 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 کل توازن اکسیدان-آنتی‌اکسیدان بدون توجه به سایر مؤلفه‌ها ممکن است اشتباهاتی به دنبال داشته باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در این مطالعه افزایش مالون دی‌آلدھید که یک شاخص برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لپیدی است، بیانگر این است که در زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی، میزان استرس اکسیدانتیو و پراکسیداسیون لپیدها افزایش می‌یابد که دلالت بر عدم وجود تعادل بین سیستم اکسیدان-آنتی‌اکسیدان دارد که درنهایت باعث تشدید استرس اکسیدانتیو می‌شود. اگرچه افزایش استرس اکسیدانتیو 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

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 لپوپروتئین در بیماران بر روی فعالیت آنزیم بسیار حائز اهمیت است [۱۲]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان سطح سرمی فاکتورهای مانند لیپوپراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، بتاکاروتون، ویتامین E و ویتامین A بر روی ۴۰ زن با سابقه سقط نشان داده‌است که سطح فاکتورهای آنتی-اکسیدان به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل پایین‌تر است. در مطالعه‌ای دیگر میزان پاراکسوناز، آریل استراز و مالون دی‌آلدھید در افرادی که در معرض تشمعشات یونیزان هستند، اندازه‌گیری شد و محققان به این نتیجه رسیدند که ارتباط معکوس معنی‌دار بین پاراکسوناز و آریل استراز و مالون دی‌آلدھید وجود ندارد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۱۳]. به نظر می‌رسد همبستگی منفی بین فعالیت پاراکسوناز و مالون دی‌آلدھید، ناشی از تحریب HDL اکسیدانتیو وسیع پاراکسوناز می‌باشد و اتصال پاراکسوناز به HDL واپس‌بودن این آنزیم را به لپید تأیید می‌کند [۲۰]. درواقع برای فعالیت پاراکسوناز، محیط آب‌گریز HDL ضروری است. فسفولپیدها و مخصوصاً آن‌هایی که زنجیر اسیدچرب بلندی دارند، آنزیم پاراکسوناز را پایدار می‌کنند و برای اتصال آن در سطح لپوپروتئین ضروری هستند. فعالیت پایین پاراکسوناز در HDL همچنین می‌تواند به خاطر حضور مهارکننده‌های گردشی مثل محصولات پراکسیداسیون لپیدها باشد [۱۱]. از طرفی عدم تغییر فعالیت پاراکسوناز صرفاً نتیجه تغییرات HDL نبوده، بلکه ناشی از غیرفعال شدن اکسیدانتیو آنزیم می‌باشد که طی این مکانیسم گروه سولفیدریل آزاد آنزیم PON-1 با لپیدهای 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 ستتر آنزیم به‌خاطر نقص ژنتیکی منشأ بگیرد [۱۰] و یا احتمالاً برخاسته از تنظیم کاهش رونویسی آن در کبد باشد [۱۵]. عفونت به عنوان یکی از عوامل اصلی در سقط مکرر زنان مطرح می‌باشد. در همین راستا Ayar و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثر آنزیم‌های پاراکسوناز و آریل استراز را در نوزادان مبتلا به عفونت دوره جنینی بررسی و مشاهده نمودند که سطح آنزیم آریل استراز نشانه قوی برای سپسیس در بیماران می‌باشد [۲۱]. در مطالعه‌ی دیگری فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی سرم در بیماران مبتلا به سرطان معده بررسی شد. در این مطالعه ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان معده با ۳۰ فرد سالم به صورت مقایسه‌ای

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

آنچه بادی ضدپراکسیداز (Anti-TPO) و سطح مالوندی‌آلدهید در این بیماران.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندهای از حمایت‌های دانشگاه آزاد

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, Marsillac 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; 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, Alişik 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, Beltowski 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.