Archive of SID

مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱: ۱۴۳-۱۳۶

● **مقاله تحقیقی** کد مقاله: ۰۱۳

مارکرهای آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و لیپیدها در بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری

مریم سرور طاهرآبادی ۱
دکتر علیرضا نخعی ۲*
دکتر محمدرضا روحانی ۳
دکتر اسماعیل صانعی‌مقدم ۴
دکتر سهیلا خسروی ۵

۱- دانشجوی فوق‌لیسانس بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
۲- دانشیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
۳- استادیار گروه چشم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
۴- دکترای علوم آزمایشگاهی، پژوهشگر
۵- پزشک عمومی، پژوهشگر

* **نشانی نویسنده مسؤول:** زاهدان- میدان دکتر حسابی- مجتمع آموزشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان- دانشکده پزشکی- گروه بیوشیمی

تلفن: ؟

نشانی الکترونیکی:
Alireza_nakhaee@yahoo.com

چکیده

زمینه: کاتاراکت پیری یکی از شایع‌ترین دلایل نابینایی در جهان می‌باشد. عوامل مختلفی در ایجاد کاتاراکت پیری نقش دارند که مهم‌ترین آنها استرس اکسیداتیو است. استرس اکسیداتیو در اثر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد یا کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن ایجاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد باعث آسیب اکسیداتیو اجزای سلولی شده و ترکیباتی تولید می‌کنند که به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو استفاده می‌شوند. این مطالعه به منظور بررسی مارکرهای آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و لیپیدها در بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری و مقایسه آن با افراد سالم انجام شد.

روش کار: در این مطالعه مورد- شاهدی، که بر روی ۴۵ بیمار مبتلا به کاتاراکت پیری و ۴۵ فرد سالم انجام گرفت، مارکرهای استرس اکسیداتیو پروتئین‌ها و لیپیدها در نمونه سرم اندازه‌گیری شد. پروتئین کربونیل و توتال تیول احیاء به عنوان مارکر آسیب کسیدتیو پروتئین‌ها و مالون‌دی‌آلدهید به عنوان نشانهٔ اکسیداسیون لیپیدها مورد بررسی قرار گرفت. متوسط سطح سرمی مارکرهای استرس اکسیداتیو بین دو گروه بیمار وکنترل با استفاده از (SPSS Version18) و آزمون‌های آماری مناسب مقایسه شد.

یافته‌ها: میزان پروتئین کربونیل سرم در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۰/۲۳۳ ±۰/۰۹۶ و۰/۲۴۸ ±۰/۱۰۴ بود که از لحاظ آماری اختلاف چشمگیری نداشت (P=۰/۲۶۵)، اما مشاهده شده که سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید در گروه بیمار (۲/۵۳ ± ۱۰/۳۲) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۱۶ ± ۶/۱۵) بالاتر است (P <۰/۰۰۱). میزان توتال تیول احیاء سرم در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۱۰۴/۲ ± ۲۷۷/۵ و ۱۲۱/۳ ± ۳۹۲/۵ بود. توتال تیول سرم در بیماران در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P <۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدهای عدسی چشم یکی از دلایل ایجاد کاتاراکت می‌باشد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد با پیشرفت سن، به استرس اکسیداتیو منجر شده و با اکسیدکردن لیپیدها و گروه‌های تیول پروتئین‌ها می‌تواند ریسک ابتلاء به کاتاراکت پیری را افزایش دهد. کاهش توتال تیول احیاء و افزایش مالون‌دی‌آلدهید در سرم بیماران نسبت به گروه کنترل در مطالعه حاضر بیانگر دخالت استرس اکسیداتیو در ایجاد کاتاراکت پیری است.

واژگان کلیدی: کاتاراکت پیری، استرس اکسیداتیو، پروتئین کربونیل، توتال تیول احیاء، مالون‌دی‌آلدهید

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۹/۲۸ تاریخ اصلاح نهایی: ۹۱/۳/۳۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۱۳

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کاتاراکت پیری یک بیماری چند عاملی (multifactorial) است که در افراد مسن بروز می‌کند. استرس اکسیداتیو، افزایش قند خون، قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش، سیگار کشیدن و فاکتورهای ژنتیک، ریسک فاکتورهای دخیل در ایجاد کاتاراکت هستند. از بین این عوامل استرس اکسیداتیو مهم‌ترین ریسک فاکتور تلقی می‌شود. [۱]

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین واکنش‌های تولیدکننده رادیکال‌های آزاد و فرآیندهای خنثی‌کننده این رادیکال‌هاست. رادیکال‌های آزاد عموماً ترکیباتی ناپایدار، بسیار واکنش‌پذیر و مولکول‌هایی پرانرژی هستند. [۲] گونه‌های فعال اکسیژن [Reative Oxygen Species (ROS)] و گونه‌های فعال نیتروژن [Reactive Nitrogen Species (RNS)] که طی فرآیندهای متابولیکی نرمال در همه ارگانیزم‌های هوازی تولید می‌شوند، نمونه‌هایی از رادیکال‌های آزاد هستند. [۳] گونه‌های فعال اکسیژن شامل آنیون سوپراکسید (O2-.)، رادیکال هیدروکسیل (OH.)، رادیکال آلکوکسیل (RO.)، رادیکال پراکسیل (ROO.)، پراکسیدهیدروژن (H2O2) و اکسیژن تک (O2) می‌باشند. گونه‌های فعال نیتروژن شامل نیتریک‌اکساید (NO.)، نیتریک‌دی‌اکساید (NO.2) و پراکسی نیتریت (OONO-) هستند. علاوه بر منابع بیولوژیک، رادیکال‌های آزاد دارای منابع خارجی نیز می‌باشند. منابع خارجی آنها عبارتند از: دود سیگار، تشعشع، نور ماوراء بنفش، آلودگی محیطی، حلال‌های صنعتی، داروها و آفت‌کش‌ها که بدن انسان در تماس با آنها رادیکال آزاد تولید می‌کند. [۴]

به دلیل اینکه رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن ترکیبات شیمیایی بسیار فعالی هستند، می‌توانند از طریق حمله به ماکرومولکول‌هایی از قبیل لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث آسیب اکسیداتیو به بافت‌های زنده شوند. در بدن مکانیسم‌های دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد وجود دارد. تحت شرایط فیزیولوژیکی بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی تعادل وجود دارد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از افزایش قرار گرفتن در معرض اکسیدان‌های محیطی و افزایش تولید در بدن و کاهش ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از مکانیسم‌های تخریب مولکولی و بافت‌های سلولی در طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی شناخته شده است.۵ آسیب اکسیداتیو در بدن، باعث به وجودآمدن بیماری‌هایی مثل بیماری‌های قلبی- عروقی، بیماری‌های پوستی، بیماری‌های کبدی، بیماری‌های خود ایمنی، نارسایی کلیه، پرکاری تیروئید و ... می‌شود. [۶]

عدسی چشم عضوی تخم مرغی شکل، فاقد عروق خونی و اندامی شفاف است که عملکرد اصلی آن متمرکز کردن نور بر روی شبکیه می‌باشد. عدسی دارای بیشترین پروتئین‌های ساختاری است که کریستالین (crystalline) نامیده می‌شوند. این پروتئین‌ها اجازه می‌دهند عدسی شفاف و دارای قدرت انکساری لازم باشد. وجود پروتئین‌های نامحلول، رها شدن پروتئین‌هایی که دچار تغییرات پس از ترجمه شده‌اند و تشکیل تجمعات پروتئینی با وزن مولکولی بالا از اصلی‌ترین دلایلی هستند که باعث می‌شوند عدسی به طور پیشرونده‌ای همراه با افزایش سن شفافیت خود را از دست بدهد. کم شدن شفافیت عدسی که از تجمع پروتئین‌ها یا کدورت عدسی ناشی می‌شود باعث پراکنده شدن نور و اختلال بینایی و سرانجام باعث از دست دادن بینایی می‌گردد، این وضعیت پاتولوژیکی به عنوان کاتاراکت شناخته می‌شود. [۱] دلیل اصلی کاهش شفافیت عدسی با پیشرفت سن، می‌تواند اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌های آن باشد.

در عدسی‌های کاتاراکتی اکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد. لیپیدهایی که پیوند دوگانه زیادتری دارند در مقایسه با لیپیدهای اشباع بیشتر اکسید می‌شوند. این امر خود باعث سفت‌تر شدن غشاء سلول می‌شود که ممکن است در نشر نور نقش داشته باشد. [۱] مالون دی‌آلدهید (MDA) یکی از آخرین محصولات پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلول می‌باشد که به عنوان مارکر اکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد. [۳]

حمله اکسیداتیو به پروتئین‌ها باعث تغییراتی مثل تغییر اسیدهای آمینه پروتئین‌ها، قطعه قطعه شدن زنجیره پپتیدی، ایجاد اتصالات عرضی دی‌سولفیدی، تغییر بار الکتریکی و نهایتاً مستعد شدن پروتئین برای پروتئولیز می‌شود. [۷] پروتئین کربونیل‌ها یکی از مهم‌ترین بیومارکرهای اکسیداسیون پروتئین‌ها بوده و از نظر شیمیایی پایدار می‌باشند. [۸] گروه‌های پروتئین کربونیل از طریق اکسیداسیون مستقیم اسیدهای آمینه یا در اثر واکنش ثانویه با محصولات اکسیداسیون اولیه قندها و لیپیدها ایجاد می‌شوند. [۹] چنین اثرات اکسیداتیوی در پروتئین‌ها باعث تغییراتی در ساختار و عملکرد پروتئین‌ها می‌شوند.

گروه‌های تیول موجود در پروتئین‌های بدن به عنوان یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم و یکی از اصلی‌ترین عوامل احیاءکننده داخل

www.SID.ir

Archive of SID

سلولی و خارج سلولی می‌باشند. میزان گروه‌های تیول موجود در پروتئین‌ها و توتال تیول موجود در بدن نشان دهنده وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد. هر چه تولید رادیکال‌های آزاد در بدن بیشتر باشد به همان مقدار از میزان تیول احیاء در بدن کاسته می‌شود. بنابراین سنجش میزان توتال تیول احیاء می‌تواند در بررسی میزان استرس اکسیداتیو ایجاد شده در بدن مفید باشد. [۱۰]

از آنجایی که اندازه‌گیری محصولات اکسیداسیون پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک در نمونه‌های بیولوژیکی می‌تواند جهت پی بردن به دخالت رادیکال‌های آزاد در ایجاد بیماری مفید باشد، این مطالعه به منظور بررسی مارکرهای اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدها در سرم خون افراد مبتلا به کاتاراکت و افراد سالم انجام شد.

مواد و روش‌ها

بیماران و افراد سالم

مطالعه مورد- شاهدی حاضر، بر روی ۴۵ بیمار مبتلا به کاتاراکت پیری و ۴۵ فرد سالم که از لحاظ سن و جنس با گروه بیمار همسان بودند، انجام گرفت. بیماران از افرادی انتخاب شدند که به علت ابتلا به کاتاراکت پیری مورد عمل جراحی قرار گرفتند و سن کمتر از ۶۵ سال داشتند. افراد سالم از بین افراد اهدا کننده خون مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون انتخاب شدند. افرادی که در هر دو گروه از مکمل‌های ویتامینی استفاده می‌کردند یا به آرتریت روماتوئید، دیابت، هپاتیت، بیماری‌های التهابی یا هر نوع بیماری سیستمیک دیگر مبتلا بودند و استعمال سیگار داشتند از مطالعه خارج شدند. از هر فرد ۲ سی‌سی خون تام جمع‌آوری شد و پس از جداسازی سرم، نمونه سرم تا زمان انجام آزمایش‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری توتال تیول

جهت اندازه‌گیری توتال تیول از روش HU11 با اندکی تغییر در نحوه انجام آزمایش استفاده شد. در این روش DTNB Dithiobisnitrobenzoic acid توسط گروه‌های تیول به ۲- نیترو -۵- مرکاپتوبنزوئیک اسید احیاء می‌شود. آنیون ۲- نیترو -۵- مرکاپتوبنزوئیک اسید، یک ترکیب زرد رنگ است. لذا شدت رنگ ایجاد شده در واکنش، متناسب با غلظت توتال تیول احیاء خواهد بود. [۱۲]

در پلیت الیزا به چاهک‌های مربوط به نمونه و استاندارد به ترتیب ۱۲/۵ میکرولیتر سرم و استاندارد (غلظت‌های مختلف گلوتاتیون احیاء)، ۲۵۰ میکرولیتر بافر TE (دارای ۰/۲۵ مولار تریس با pH=۸/۲ محتوی ۲۰ میلی‌مولار (EDTA) و ۱۲/۵ میکرولیتر معرف DTNB 10 میلی مولار (حل شده در متانول مطلق) اضافه شد. در چاهک‌های مربوط به بلانک سرمی ۲۶۲/۵ میکرولیتر بافر TE و ۱۲/۵ میکرولیتر سرم اضافه شد. در چاهک مربوط به بلانک معرف ۲۶۲/۵ میکرولیتر بافر TE و ۱۲/۵ میکرولیتر معرف DTNB اضافه شد. پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت و سپس جذب توسط دستگاه ELIZA Reader در طول موج خوانش ۴۰۵ نانومتر و طول موج رفرانس ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها به صورت دوتایی انجام شد. میانگین جذب بلانک سرمی و بلانک معرف از متوسط جذب نمونهٔ مربوطه کم شد. در مورد استانداردها جذب بلانک معرف از جذب استاندارد کم و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت توتال تیول هر کدام از نمونه‌ها تعیین گردید.

اندازه گیری مالون‌دی‌آلدهید

به منظور اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید (MDA) از معرف تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) و روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. [۱۳] در این روش یک مولکول MDA با دو مولکول TBA واکنش داده و کمپلکس صورتی رنگی ایجاد می‌کند که شدت رنگ آن متناسب با غلظت MDA است. [۱۴] برای اندازه‌گیری MDA، در لوله‌های در پیچ‌دار ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۱٪، ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید و ۰/۵ میلی‌لیتر سرم یا استاندارد (غلظت‌های مختلف ۱،۱،۳،۳- تترامتوکسی پروپان) مخلوط شد. در لوله مربوط به بلانک به جای سرم یا استاندارد ۰/۵ میلی‌لیتر بافر سالین- فسفات (PBS) اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور g3000 سانتریفیوژ گردید تا محلول بالایی شفاف شود. سپس جذب نمونه‌ها و استانداردها در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت مالون‌دی‌آلدهید تعیین گردید.

اندازه‌گیری پروتئین کربونیل

جهت اندازه‌گیری پروتئین کربونیل از روش الیزا استفاده شد. در این روش نمونه پروتئینی با معرف دی‌نیتروفنیل هیدرازین (DNPH) واکنش داده و جذب پلیت الیزا می‌شود. سپس با استفاده از اولین آنتی‌بادی اختصاصی ضد DNPH و دومین آنتی‌بادی کونژوگه میزان پروتئین کربونیل اندازه‌گیری می‌شود. در این مطالعه از کیت شرکت Biocell که بر اساس روش Buss15 طراحی شده است، جهت اندازه‌گیری پروتئین کربونیل استفاده گردید. به منظور اتصال

www.SID.ir

Archive of SID

گروه‌های کربونیل پروتئین‌ها با معرف DNPH به ۵ میکرولیتر از هر نمونه سرم یا استاندارد پروتئین کربونیل ۲۰۰ میکرولیتر محلول 10 DNPH میلی‌مولار در گوانیدین هیدروکلراید ۶ مولار محتوی ۰/۵ مولار پتاسیم دی هیدروژن فسفات pH=۲ /۵ اضافه و پس از مخلوط شدن به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. ۵ میکرولیتر از هر نمونه یا استاندارد کونژوگه شده با DNPH با ۱ میلی‌لیتر بافر PBS (فسفات بافر سالین pH = ۷/۵) مخلوط شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر آن به چاهک پلیت الیزا (Nunc, Maxisorb) منتقل و پلیت به مدت یک شب در یخچال قرار داده شد. در ادامه بر اساس روس ارائه شده توسط شرکت سازنده کیت عمل شد. با استفاده از غلظت و جذب استانداردها، منحنی استاندارد رسم و غلظت پروتئین کربونیل در واحد nmol/mg تعیین شد. تمام آزمایش‌ها به صورت دوتایی انجام شدند.

محاسبات آماری: با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف توزیع آماری متغیرها مورد بررسی قرار گرفت. مارکرهایی که توزیع نرمال داشتند با استفاده از آزمون t-test و متغیرهایی که از توزیع نرمال برخوردار نبودند با آزمون آماری غیرپارامتری U Man-Withney مقایسه شدند و P<0.05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این تحقیق ۴۵ بیمار و همین تعداد فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. سن بیماران و افراد سالم مورد بررسی به ترتیب ۵/۱ ± ۵۶/۳ و ۴/۹۲ ± ۵۴/۹ بود و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین سن دو گروه وجود نداشت (P =۰/۲). در گروه بیماران ۲۲ مرد و ۲۳ زن و در گروه کنترل ۲۴ مرد و ۲۱ زن مورد مورد بررسی قرار گرفتند. از نظر جنسیت نیز بین دو گروه اختلافی مشاهده نشد (P =۰/۸).

توتال تیول از توزیع نرمال برخوردار بود(P =۰/۲) در حالی که توزیع پروتئین کربونیل و مالون دی‌آلدئید در گروه‌های مورد مطالعه نرمال نبود (P< ۰.۰۰۵) . نتایج حاصل از اندازه‌گیری مارکرهای استرس اکسیداتیو پروتئین‌ها و لیپیدها در دو گروه بیمار وکنترل در جدول- ۱ مقایسه شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود غلظت سرمی توتال تیول در بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری در مقایسه با افراد گروه کنترل به میزان چشمگیری پایین‌تر است (P < ۰/۰۰۱). این نتایج همچنین افزایش چشمگیر سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید را در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱). با وجود این، بین سطح سرمی پروتئین کربونیل در دو گروه بیمار و کنترل تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود ندارد (P =۰/۲۶۵).

جدول ۱- غلظت سرمی توتال تیول، مالون‌دی‌آلدهید و پروتئین کربونیل در دو گروه بیمار و کنترل

مارکر / گروه	بیمار	کنترل	P- Value
توتال تیول (µM)	۲۷۷/۵ ± ۱۰۴/۲	۳۹۲/۵ ± ۱۲۱/۳	<۰/۰۰۱
مالون‌دی‌آلدهید (µM)	۱۰/۳۲ ± ۲/۵۳	۶/۱۵ ±۱/۱۶	<۰/۰۰۱
پروتئین کربونیل (nmol/mg protein)	۰/۲۳۳ ± ۰/۹۶	۰/۲۴۸ ± ۰/۱۰۴	۰/۲۶۵

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر پروتئین کربونیل و توتال تیول به عنوان مارکرهای آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و مالون‌دی‌آلدهید به عنوان نشانه آسیب اکسیداتیو لیپیدها در بیماران کاتاراکتی و افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که توتال تیول سرم در بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری در مقایسه با افراد سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر است، در حالی که میزان مالون‌دی‌آلدهید در بیماران بیشتر از افراد سالم بود. بین میزان پروتئین کربونیل در دو گروه تفاوتی وجود نداشت. به طور کلی، نتایج مطالعهٔ حاضر بالا بودن واکنش‌های اکسیداتیو را در بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری در مقایسه با افراد غیرکاتاراکتی نشان می‌دهد. هنگامی‌که مواد اکسیدان با منشأ داخلی یا خارجی در بدن بیش از مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی باشند، مواد اکسیدان به ترکیبات مختلف سلول از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب وارد می‌کنند. [۱۶و۱۷] لیپیدها حساس‌ترین ترکیبات در مقابل استرس اکسیداتیو هستند. در اثر اکسیداسیون لیپیدها ترکیبات مختلفی ایجاد می‌شوند، مالون‌دی‌آلدهید متداولترین مارکر استرس اکسیداتیو لیپیدها می‌باشد. [۱۸] گروه‌های کربونیل به‌طور طبیعی در پروتئین‌ها وجود دارند، حمله رادیکال های آزاد به پروتئین‌ها باعث اکسیداسیون زنجیره

www.SID.ir

Archive of SID

جانبی بعضی از اسیدهای آمینه ساختمان پروتئین و ایجاد گروه‌های کربونیل اضافی (پروتئین کربونیل) می‌شود که عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پروتئین کربونیل مارکر بسیار خوبی در بررسی اکسیداسیون شدید پروتئین‌هاست. [۱۹] گروه‌های تیول در ساختمان پروتئین‌ها و تعدادی از ترکیبات غیر پروتئینی وجود دارند و نقش آنتی اکسیدانی اعمال می‌کنند، بدین معنی که در شرایط استرس اکسیداتیو، این گروه‌ها با خنثی کردن مواد اکسیدان، دچار اکسیداسیون شده و توتال تیول احیاء کاهش می‌یابد. [۲۰] اثرات اکسیداسیون ترکیبات بافتی در داخل سرم خون ظاهر می‌شود و با توجه به اینکه تهیه سرم خون نسبت به بافت‌ها یک روش غیر تهاجمی است، اندازه‌گیری مارکرهای آسیب اکسیداتیو در سرم می‌تواند اطلاعات مفیدی را در ارتباط با وضعیت اکسیداتیو بدن فراهم کند.

آسیب اکسیداتیو در بدن می‌تواند در ایجاد بیماری‌های مختلف، به ویژه بیماری‌های مرتبط با سن دخالت داشته باشد. [۲۱و۲۲] کاتاراکت پیری یکی از این بیماری‌هایی است که عمدتاً در سنین بالای ۴۵ سال دیده می‌شود. چندین عامل از قبیل فشار اسمزی، تجمع پروتئین‌ها، تغییرات پس از ترجمهٔ پروتئین‌ها و استرس اکسیداتیو در ایجاد کاتاراکت نقش دارند. [۲۳]

تاکنون مطالعات زیادی به منظور درک بهتر نقش استرس اکسیداتیو در پاتوژنز کاتاراکت پیری انجام شده است. Pradhan و همکاران پراکسیداسیون لیپیدها و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را در سرم و اریتروسیت‌های بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آنها مانند مطالعه ما افزایش مالون‌دی‌آلدهید سرم بیماران را در مقایسه با افراد سالم نشان داد. در مطالعه آنها فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و میزان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی سرم بیماران کمتر از گروه کنترل بود، در حالیکه بین مارکرهای استرس اکسیداتیو موجود در اریتروسیت‌ها بین گروه بیمار و کنترل تفاوتی وجود نداشت. [۲۴] در مطالعه‌ای Ates و همکارانش به بررسی آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به کاتاراکت پرداختند. در این مطالعه که بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به کاتاراکت و ۶۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد، سطح مالون‌دی‌آلدهید پلاسمایی در بیماران کاتاراکتی نسبت به افراد سالم بالاتر بود. [۲۵] نتایج این تحقیق نیز با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. Li و همکاران در آمریکا با مطالعه بر روی بیماران ۷۰-۵۰ ساله که در ابتدای بروز کاتاراکت بودند، تفاوتی را در میزان پراکسیداسیون لیپیدهای بیماران و گروه کنترل مشاهده نکردند. [۲۶] بر طبق بررسی‌های انجام شده توسط Garg و همکاران در هند بر روی ۲۵ مورد با کاتاراکت پیری پیشرفته و ۲۵ مورد با کاتاراکت اولیه و ۳۰ فرد سالم در همان سن به عنوان کنترل، مشخص شد که محصولات پراکسیداسیون لیپیدها (مالون‌دی آلدهید) در سرم بیماران مبتلا به کاتاراکت پیری اولیه و پیشرفته نسبت به افراد سالم بالاتر است. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز اریتروسیت‌ها در افراد مبتلا به کاتاراکت پیری اولیه نسبت به افراد سالم کاهش یافته و در کاتاراکت پیری پیشرفته نیز کاهش چشمگیری پیدا کرده است. [۲۷] بر طبق مطالعه انجام شده توسط Simonelli و همکاران در ایتالیا جهت بررسی نقش پراکسیداسیون لیپیدها در ایجاد کاتاراکت، مالون‌دی‌آلدهید در عدسی‌های شفاف و کاتاراکتی افراد غیر دیابتی (کاتاراکت پیری) و عدسی کاتاراکتی افراد دیابتی اندازه‌گیری شد. عدسی‌های کاتاراکتی دارای مالون‌دی‌آلدهید بیشتری نسبت به عدسی‌های شفاف بودند. [۲۸] نتایج مطالعه ما و مطالعات بسیاری از محققین نشان دهنده آن است که پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند در پیشرفت کاتاراکت پیری نقش داشته باشد. به نظر می‌رسد تغییرات اکسیداتیو لیپیدها در عدسی باعث تاری عدسی و پیشرفت کاتاراکت می‌گردد. [۱] احتمالاً به این علت که مالون‌دی‌آلدهید باعث ایجاد پیوندهای عرضی بین پروتئین‌های عدسی می‌شود. همچنین، به نظر می‌رسد که پراکسیداسیون لیپیدها با اکسیداسیون پروتئین‌های غشاء در ارتباط باشد به طوری که این امر باعث از بین رفتن گرادیان یون‌ها در دو طرف غشاء و بر هم خوردن فشار اسمزی سلول و پیشرفت کاتاراکت می‌گردد. [۲۹]

در چندین مطالعه آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی بیماران کاتاراکتی مورد بررسی قرار گرفتند. در مطالعه‌ای که توسط Li و همکاران انجام شد تفاوتی در آنتی‌اکسیدان‌های تام سرم بیماران مبتلا به کاتاراکت اولیه و افراد سالم مشاهده نشد. [۲۶] در مطالعه Ravindran و همکاران نشان داده شد که بین غلظت ویتامین C سرم و ابتلا به کاتاراکت پیری ارتباط معکوس وجود دارد. [۳۰] در مطالعه دیگری گزارش شده است که ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در بیماران مبتلا به کاتاراکت کمتر از افراد سالم است. [۳۱] گلوتاتیون احیاء که یکی از آنتی اکسیدان‌های اصلی موجود در عدسی و یکی از اجزاء توتال تیول می‌باشد نیز در کاتاراکت توسط تعدادی از محققین مطالعه شده است. بر اساس مطالعه انجام شده توسط Sabu George و همکاران بر روی بیماران ۸۵-۴۰ ساله مشخص شد که فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز عدسی، همچنین غلظت گلوتاتیون احیاء موجود در عدسی و خون افراد مبتلا به کاتاراکت در مقایسه با افراد سالم کاهش یافته است. [۳۲] همچنین بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Chandrasena و همکارانش بر روی افراد دارای کاتاراکت پیری و کاتاراکت دیابتی، سطح بالاتری از

www.SID.ir

Archive of SID

گلوتاتیون احیاء در کاتاراکت دیابتی نسبت به کاتاراکت پیری یافت شد. [۳۳] در مطالعه ما توتال تیول احیاء که یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم بدن است در سرم افراد دیابتی کمتر از افراد سالم بود که با نتایج بسیاری از محققین هماهنگی دارد. غلظت بالای گلوتاتیون در عدسی، آن را به یک مولکول هدف، جهت عوامل اکسیدان تبدیل می‌کند. بنابراین گلوتاتیون باعث حمایت مولکول‌های آسیب‌پذیر در برابر عوامل اکسیدکننده می‌شود. [۳۴] کاهش گلوتاتیون احیاء و سایر آنتی اکسیدان‌های عدسی منجر به تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی (اتصالات عرضی) در پروتئین‌ها و ایجاد تجمعات پروتئینی در عدسی می‌شود. یکی از پدیده‌هایی که با پیشرفت سن در عدسی اتفاق می‌افتد و منجر به ایجاد کاتاراکت پیری می‌شود همین تجمعات پروتئینی است. [۳۵]

اکسیداسیون پروتئین‌ها در بدن و ایجاد پروتئین کربونیل یکی از تغییراتی است که با پیشرفت سن اتفاق می‌افتد و با بسیاری از بیماری‌ها در ارتباط است. [۳۶] مطالعات زیادی اکسیداسیون پروتئین‌های عدسی را در بیماری کاتاراکت نشان داده‌اند. [۳۷و۳۸] ولی بر اساس اطلاعات ما گزارشی در ارتباط با میزان پروتئین کربونیل در سرم بیماران کاتاراکتی وجود ندارد و تنها در یک مورد میزان اکسیداسیون پروتئین‌های سرم در بیماران مبتلا به کاتاراکت در مقایسه با گلوکوم گزارش شده است که در بیماری گلوکوم بیشتر از کاتاراکت بوده است. [۳۹] در مطالعه ما سطح پروتئین کربونیل سرم در در دو گروه بیمار وکنترل تفاوتی نداشت. شاید به این دلیل که گروه‌های کربونیل پروتئین‌ها در شرایط استرس اکسیداتیو بسیار شدید در پروتئین‌ها ظاهر می‌شوند و گروه‌های سولفیدریل قبل از وقوع اکسیداسیون اسیدهای آمینه پروتئین‌ها ترکیبات اکسیداتیو را خنثی و خود اکسید می‌شوند. [۴۰]

به هر حال بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر و با توجه به سایر مطالعات انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که وجود رادیکال‌های آزاد و عوامل اکسیدان باعث اکسیداسیون گروه‌های تیول پروتئین‌ها و لیپیدهای موجود در ساختار عدسی شده و افزایش کدورت عدسی و در نهایت ایجاد کاتاراکت پیری را سبب می‌شوند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه از محل هزینه‌های طرح شماره ۲۲۴۹-۸۹ مصوب حوزه پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام شده است. لذا از معاونت محترم پژوهشی به دلیل تأمین هزینه‌ها و کارشناسان مرکز چشم پزشکی الزهرا به خاطر همکاری در تهیه نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

مراجع

1- Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. FASEB J 1995; 9(12): 1173-82.

2- Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. Eastern Mediterranean Health Journal 1998; 4(2): 350-360

3- Dryden GW Jr, Deaciuc I, Arteel G, McClain CJ. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. Curr Gastroenterol Rep 2005; 7(4): 308-16

4- Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. Br J Hosp Med. 1990; 43(5): 334-44.

5- Pasupathi P, Bakthavathsalam G, Saravanan G, Latha R. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in patients with diabetes mellitus. J App Sci Res 2009; 5(7): 770-75 .

6- Minuz P, Fava C, Cominacini L. Oxidative stress, antioxidants, and vascular damage. Br J Clin Pharmacol 2006; 61(6): 774-777

7- Berlett BS, Stadtman ER. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. J Biol Chem 1997; 272(33): 20313-16.

8- Pantke U, Volk T, Schmutzler M, Kox WJ, Sitte N, Grune T. Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. Free Radic Biol Med 1999; 27(9-10): 1080-6.

9- Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. Free Radic Biol Med 2002; 32(9): 790-6.

10- Prakash M, Shetty Jk, Tripathy S, Verma M, Vasudev S, Bhandary PV. Serum total thiol status in Alcohol abusers. Asian Journal of Biochemistry 2008; 3: 48-51.

11- Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. Methods Enzymol. 1994; 233: 380-5.

12- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman, s reagent. Anal Biochem 1968; 25: 192-205 .

13- Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem 1978; 86: 271–278

14- Badcock NR, Zoanetti GD, Martin ES. Nonchromatographic Assay for malondialdehyde thiobarbituric acid adduct with HPLC equivalence. Clin Chem 1997; 43(9): 1655-57.

15- Buss IH, Chan TP, Sluis KB, Domigan NM, Winterbourn CC. Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method. Free Radic Biol Med 1997; 23(3): 361–66.

16- Clock E. New markers of oxidative damage to macromolecules. JMB 2008; 27: 1–16.

17- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clin Chem 2006; 52(4): 601-23.

18- Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. Method Enzymol 1984;105: 273-82.

19- Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. J Cell Mol Med 2006; 10(2): 389-406.

20- Telci A, Cakatay U, Salman S, Satman I, Sivas A. Oxidative protein damage in early stage type 1 diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract 2000; 50(3): 213–23.

21- Miquel J, Ramirez-Bosaa A, Soler A, Diez A, Carrion-Gutierrez MA, Diaz-Alperi J, Quintanilla-Ripoll E, Bernd A, Quintanilla-Almagro E. Increase with age of serum lipid peroxides: implications for the prevention of atherosclerosis. Mech Ageing Dev 1998 12;100(1): 17-24.

22- Serra JA, Dominguez RO, Marschoff ER, Guareschi EM, Famulari AL, Boveris A. Systemic

www.SID.ir

Archive of SID

oxidative stress associated with the neurological diseases of aging. Neurochem Res 2009; 34(12): 2122-32.

23- Mirsamadi M, Nourmohammadi I, Imamian M. Comparative study of serum Na+ and K+ levels in senile cataract patients and normal individuals. Int J Med Sci 2004; 1(3):165-69.

24- Pradhan AK, Shukla AK, Reddy MVR, Garg N. Assessment of oxidative stress and antioxidant status in age related cataract in a rural population. Indian Journal of Clinical Biochemistry 2004; 19 (1): 83-87.

25- Ates O, Alp HH, Kocer I, Baykal O, Salman IA. Oxidative DNA damage in patients with cataract. Acta Ophthalmol 2010; 88(8): 891-5.

26- Li L, Duker JS, Yoshida Y, Niki E, Rasmussen H, Russell RM, Yeum KJ. Oxidative stress and antioxidant status in older adults with early Cataract. Eye 2009; 23(6): 1464–68.

27- Garg R, Verma M, Mathur SP, Murthy PS. Blood lipid peroxidation products and antioxidants in senile cataract. IJCB 1996; 11(2):182-86.

28- Simonelli F, Nesti A, Pensa M, Romano L, Savastano S, Rinaldi E, et al. Lipid peroxidation and human cataractogenesis in diabetes and severe myopia. Exp Eye Res 1989; 49(2):181-7.

29- Mc Namara M., Augusteyn RC. The Effects of Hydrogen Peroxide on Lens Proteins –a Possible model for Nuclear Cataract. Exp Eye Res 1984; 38(1): 45- 56.

30- Ravindran RD, Vashist P, Gupta SK, Young IS, Maraini G, Camparini M, Jayanthi R, John N, Fitzpatrick KE, Chakravarthy U, Ravilla TD, Fletcher AE. Inverse association of vitamin C with cataract in older people in India. Ophthalmology 2011; 118(10): 1958–65.

31- Selvi R, Angayarkanni N, Biswas J, Ramakrishnan S. Total antioxidant capacity in eales' disease, uveitis and cataract. Indian J Med Res 2011; 134:83-90.

32- George S, Jyothi M, Mathew B, Shashidhar S. Changes in glutathione, glutathione- linked enzymes and hexose monophosphate shunt enzymes in senile cataract. India J Physiol Pharmacol 2003; 47(2): 191-96.

33- Chandrasena LG, Chackrewarthy S, Perera PTMJ, Silva DD. Erythrocyte antioxidant enzymes in patients with cataract. Ann Clin Lab Sci 2006; 36:201-4.

34- Cekic S, Zlatanovic G, Cvetkovic T, Petrovic B. Oxidative stress in cataractogenesis. Bosnian Journal of Basic Medical Science 2010; 10(3): 266-69.

35- Whikehart DR. Biochemistry of the eye. 2 the ed. Pensylvania. Butterworth-Heinemann. 2003; 27-33.

36- Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. Trends Mol Med 2003; 9(4): 169–76.

37- Boscia F, Grattagliano I, Vendemiale G, Micelli-Ferrari T, Altomare E. Protein oxidation and lens opacity in humans. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000; 41(9):2461-5.

38- Taylor A, Davies KJ. Protein oxidation and loss of protease activity may lead to cataract formation in the aged lens. Free Radic Biol Med 1987; 3(6):371-7.

39- Yagcı R, Ersoz I, Erdurmus M¸ Gure A, Duman S. Protein carbonyl levels in the aqueous humour and serum of patients with pseudoexfoliation syndrome. Eye 2008; 22(1): 128–31.

40- Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. Drug Metab Rev 2000; 32(3-4): 307–26.

www.SID.ir