

تقدير مستويات الكورتيزول وبعض مضادات الأكسدة لمجموعة من مرضى الربو

بلال سعد الزبيدي, زيد محمد المهداوي, عدنان فاضل العزاوي
جامعة تكريت / كلية العلوم- قسم علوم الحياة

خلاصة:

الربو مرض التهابي متعدد الاسباب يتأثر بالتداخل بين العوامل الوراثية والبيئية حيث يمكن أن تؤدي التغيرات في بعض العوامل الفسلجية المناعية والوراثية الى تقدم المرض. لذلك أجريت هذه الدراسة لتقدير مستويات الكورتيزول وبعض مضادات الاكسدة (الكلوتاتايون، الألبومين والبروتين الكلي) لمجموعة من مرضى الربو.

جمعت عينات الدم من (70 مريضا مصابا) بالربو من كلا الجنسين (39 اناث و 31 ذكور) تراوحت أعمارهم بين 18-75 سنة تم تشخيصهم من قبل الاطباء المختصين في مركز الزهراء الأستشاري للحساسية والربو في بغداد و(20 شخصا) من الاصحاء من كلا الجنسين بأعمار مماثلة ايضا. تم فصل الدم للحصول على المصل (Serum) لاجراء الاختبارات الكيموحيوية والهرمونية. استخدمت تقنية الأمتزاز المتاعي للأنزيم المرتبط (ELISA) Enzyme linked immune-sorbent assay لقياس مستوى الكورتيزول اما بقية الاختبارات البايوكيميائية فتم قياسها باستخدام تقنية المطياف الضوئي.

اظهرت النتائج ارتفاعا «معنويا» ($P < 0.01$) في مستوى هرمون الكورتيزول لمجموعة المرضى مقارنة مع مجموعة الاصحاء بينما انخفضت مستويات مضادات الاكسدة (الألبومين الكلوتاتايون والبروتين الكلي) في مصل الدم المرضى بالمقارنة مع مجموعة الاصحاء عند مستوى معنوية ($P < 0.01$).

نستنتج من ذلك وجود علاقة بين ارتفاع مستوى هرمون الكورتيزول وانخفاض مستوى الأختبارات الكيموحيوية ومرض الربو والتي يمكن ان تؤدي الى زيادة شدة المرض. الكلمات المفتاحية: الكورتيزول الربو، مضادات الأكسدة.

Estimation of cortisol levels and some antioxidants in asthma patients

Bilal S. AL-Zubaidy , Zaid M. AL-Mahdawi and Adnan F. AL-Azaawie
Department of Biology, College of Science, Tikrit University

Abstract:

Asthma is multiple inflammatory disease influenced by the interference between genetic and environmental factors where changes in some physiological, immunological and genetic factors can lead to disease progression. Therefore, this study was conducted to estimate the levels of cortisol and some antioxidants (glutathione, albumin and total protein) for a group of asthmatic patients.

Blood samples were collected from (70) patients with asthma for both sexes (39 females and 31 males) ranging from 1875- years old. They were diagnosed by specialists at Al Zahraa Center for Allergy and Asthma in Baghdad and (20) persons Healthy people of both sexes with similar ages. Blood was separated for Serum for hormonal and physiological tests. The enzyme-sorbent assay (ELISA) technique was used to measure the level of cortisol, while the other biochemical tests were measured using optical spectrophotometer.

The results showed a significant increase ($P < 0.01$) in the cortisol levels of the patients group compared with healthy group, while the levels of antioxidants (albumin, clotathione and total protein) decreased in serum patients compared with healthy group at a significant level ($P < 0.01$).

We conclude that there is a relationship between the high level of cortisol hormone and low level of the biochemical tests and asthma, which can lead to increased severity of the disease.

Keywords: Cortisol, Asthma, Antioxidants.

المقدمة

قد يؤثران على وظائف الرئة والقصبات الهوائية، بما في ذلك تقلص العضلات الملساء في الشعب الهوائية، واستجابة مسالك مجرى الهواء، وفرط تنسج الغشاء المخاطي، وخلل التنسج والتروية الوعائية⁽⁹⁾. وجود التهاب الشعب الهوائية هو سمة بيوكيميائية مهمة من الربو. الإجهاد التأكسدي مع أنواع الأكسجين التفاعلية هو مكون أساسي للالتهاب، على الرغم من أن مضادات الأكسدة في المضيف يجب أن تزيل أنواع الأكسجين التفاعلية. تلعب العوامل الوراثية دوراً مهماً في قدرة الشخص على التعامل مع الأكسدة مما يؤدي إلى اختلافات في استمرارية الالتهاب، وتفعيل آليات القصبية الهوائية وتسريع ظهور أعراض الربو⁽¹⁰⁾. تعد مضادات الأكسدة غير الأنزيمية مثل الجلوتاثيون أحد مضادات الأكسدة الوقائية الرئيسية في الرئتين والتي تلعب دوراً رئيسياً في تنظيم الاستجابات الالتهابية. يلعب الجلوتاثيون دوراً رئيسياً في الدفاع ضد مجموعة متنوعة من الأمراض. فهو يزيل السموم من المواد المسببة للسرطان، والجذور الحرة والبيروكسيدات، وينظم الجهاز المناعي، والوظيفة المناعية الكيميائية وهيكل بنية البروتين⁽¹¹⁾. إن الجلوتاثيون المنخفض هو الجزيء الرئيسي في نظام مضاد للأكسدة، فهو قادر على حذف الجذور الحرة إما مباشرة أو غير إنزيمي أو إنزيمي من الجلوتاثيون بيروكسيدز وبالتالي الحفاظ على الجزيئات الخلوية في تقليل الإجهاد. وأشارت بعض المصادر إلى أن مستويات الجلوتاثيون في السائل من الجهاز التنفسي البطانية كانت أعلى 100 مرة من مستويات البلازما⁽¹²⁾. الألبومين المصل عبارة عن بروتين متعدد الوظائف ذي شحنة سالبة له خصائص نقل ووظائف مضادة للأكسدة. لديها العديد من الأنشطة المضادة للأكسدة الناتجة عن قدرتها بأن تتصل مع المعادن

الربو مرض ألتهابي مزمن يحصل في الممرات الهوائية يتصف بأعراضه المتنوعة المتكررة الحدوث ويسبب نوبات متكررة من الصفير وضيق في التنفس والسعال هذه النوبات تسبب انسداد المجرى الهوائي، تلعب العديد من الخلايا والعناصر الخلوية دوراً مهماً في حدوث الربو⁽¹⁾. الربو مرض معقد يسببه مزيج من العوامل الوراثية والبيئية والتداخل بينهما⁽²⁾.

الربو مشكلة صحية عامة يصيب حوالي 300 مليون فرد في جميع أنحاء العالم⁽³⁾. في الوقت الحالي ازداد انتشار الربو التحسسي على مستوى العالم بسبب تلوث الهواء والمهيجات البيئية الأخرى التي توجد بشكل خاص في البلدان الصناعية والنامية⁽⁴⁾. الاستجابة الألتهاوية في الممرات الهوائية للمرضى الذين يعانون من الربو تتضمن التفاعل بين الظهارة الداخلية للجهاز التنفسي مع جهاز المناعة الذاتية Innate immune system ومناعة التكيف Adaptive immunity والذي يسبب حدوث استجابة ألتهاوية مزمنة⁽⁵⁾.

يؤثر الكورتيزول على العديد من أنظمة الجسم بما في ذلك جهاز المناعة، حيث يعمل الكورتيزول على الوظائف المناعية التي تشترك في الألتهاوية التحسسي، حيث يمنع نضوج الخلايا التغصنية وتمايزها مما يؤدي إلى تقليل إفراز المواد المحفزة للحساسية من الخلايا التائية^(6,7).

مضادات الأكسدة هي واحدة من المواد الكيميائية التي يمكن أن تمنع أكسدة جزيء ويمكن أن ينفى الآثار المرضية للأكسدة التي تسببها الجذور الحرة في الكائنات الحية⁽⁸⁾. زيادة الإجهاد التأكسدي في الربو تشير إلى أن الأكسجين النشط والنروجين

، التي قد تخضع لتفاعلات تخفيض الأوكسدة⁽¹³⁾.
 البروتين الكلي والألبومين بأستخدام مقياس الطيف الضوئي لجميع المرضى المصابين بالربو والضوابط. التحليل الأحصائي

تم إجراء التحليلات الإحصائية باستخدام برنامج حاسوبي SPSS الإصدار 20. تم حساب المتوسط والانحراف المعياري (SD) وقيمة P للكورتيزول ومضادات الأوكسدة باستخدام اختبار t الذي اعتبر معنوياً عند ($P < 0.05$) وذات دلالة معنوية عند ($P < 0.01$) للمرضى ومجموعة الأصحاء.

النتائج

تراوحت أعمار كلا المجموعتين من 18-75 سنة، ولم يكن هناك فرق ثابت في توزيع الجنس بين المرضى (31 من الذكور و 39 من الإناث) ومجموعة صحية (12 ذكور و 8 إناث). تم الحصول على متوسط الكورتيزول ومستويات مضادات الأوكسدة لمرضى الربو ومجموعات الأصحاء المشاركة في هذه الدراسة في الجدول (1).

المواد وطرائق العمل

تحضير وجمع العينات

أجريت الدراسة على 70 مريضاً يعانون من الربو التحسسي من مركز الزهراء للحساسية والربو في بغداد، الذين تم تشخيصهم من قبل أطباء متخصصين و(20) شخصاً تم اختيارهم كمجموعة سيطرة. تراوحت أعمارهم بين 18-75 سنة، تم أخذ بعض المعلومات من المرضى والأشخاص الأصحاء مثل العمر والجنس والمنطقة والتاريخ العائلي. تحت ظروف تعقيم كاملة، تم جمع خمسة مل من الدم من جميع المرضى والأصحاء خلال الفترة من سبتمبر إلى أكتوبر 2017، تم فصل المصل لقياس الاختبارات الكيموحيوية.

قياس الكورتيزول ومضادات الأوكسدة

يتم قياس مستويات كورتيزول المصل باستخدام مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) وفقاً لتعليمات الشركة الصانعة .

جدول(1): مقارنة بين مستويات الكورتيزول ومضادات الأوكسدة بين مجموعة مرضى الربو والأصحاء.

Parameter	Groups		P value
	(Patients No. (Mean ± SD	(Control No. (Mean ± SD	
Cortisol	70 (209 ± 44.3)	20 (85.9 ± 32.7)	0.01**
Glutathione	70 (10.8± 2.01)	20 (16.73± 4.87)	0.01**
Total Protein	70 (6.11± 0.39)	20 (8.82± 1.74)	0.01**
Albumin	70 (4.16± 1.32)	20 (5.21± 0.63)	0.01**

تشير النتائج الموضحة في الجدول رقم (1) إلى زيادة معنوية ($P < 0.01$) في مستويات الكورتيزول لدى مرضى الربو مقارنة بمجموعة السيطرة، في حين كان هناك انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في

المستويات من مضادات الأكسدة (الجلوتاثيون، البروتين الكلي والألبومين) لمرضى الربو مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (2): مقارنة بين مستويات الكورتيزول ومضادات الأكسدة بين مجموعة مرضى الربو والأصحاء حسب العمر والجنس.

Parameter	Groups		P value
	Patients No. (Mean ± SD)	Control No. (Mean ± SD)	
Cortisol (Gender)	Male 31 (214 ± 46.5)	Female 39 (202 ± 41.2)	0.27
Cortisol (Age)	≥ 40 Year (195 ± 40.6)	≤ 40 Year (222 ± 44)	0.01**
Glutathione (Gender)	Male 31 (11.43±1.77)	Female 39 (10.3±2.07)	0.01**
Glutathione (Age)	≥ 40 Year (10.78±1.5)	≤ 40 Year (10.81±2.41)	0.947
Total Protein (Gender)	Male 31 (5.92±0.84)	Female 39 (6.26±0.97)	0.136
Total Protein (Age)	≥ 40 Year (6.22±1.02)	≤ 40 Year (6±0.82)	0.320
Albumin (Gender)	Male 31 (4.1±0.81)	Female 39 (4.2±0.46)	0.586
Albumin (Age)	≥ 40 Year (6.22±1.02)	≤ 40 Year (4±0.49)	0.235

التي تشترك في الأتهاب التحسسي، حيث يمنع نضوج الخلايا التغصنية وتميزها مما يؤدي إلى تقليل إفراز المواد المحفزة للحساسية من الخلايا التائية^(16,15). إن الكورتيزول يزيد من أستموات الخلايا الحمضة والخلايا القعدة وقد تبين إنه يمنع أنتقال هذه الخلايا من المستجيب إلى موقع الأتهاب عن طريق خفض تنظيم جزيئات الألتصاق لخلايا الدم البيض مثل جزيء ألتصاق الكريات البيض البطانية (Endothelial leukocyte adhesion molecule - 1 (ELAM-1) أو جزيء الألتصاق بين الخلايا (Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)^(17,18). إن انخفاض مستويات الكورتيزول أو عدم وجود أستجابة للكورتيزول يؤدي إلى تفاقم أعراض الحساسية وهذا

أيضاً، تبين النتائج في الجدول (2) إلى عدم وجود فروقات معنوية في مستويات الكورتيزول حسب الجنس ولكن توجد فروقات معنوية في مستويات الكورتيزول حسب العمر وعند مستوى معنوية ($p < 0.01$) وكذلك عدم وجود فروقات معنوية في مستويات مضادات الأكسدة ما عدى الكلوتاثيون حيث لوحض ارتفاعه عند الذكور أعلى مما هو عليه عند الإناث وعند مستوى معنوية ($p < 0.01$).

المناقشة

الإجهاد الحاصل من مرض الربو يتسبب في إفراز الكورتيزول وبالتالي يقلل من أتهاب الممرات الهوائية⁽¹⁴⁾. يؤثر الكورتيزول على العديد من أنظمة الجسم بما في ذلك جهاز المناعة، حيث يعمل الكورتيزول على الوظائف المناعية

التي تؤدي إلى استهلاك الألبومين وبالتالي انخفاض مستوياته في البلازما في المرضى المصابين بالربو⁽²⁵⁾. الألبومين يعمل من خلال مواقع ارتباط متعددة وله خصائص في أقتناص الجذور الحرة الحاصلة من مرض الربو^(27,26). إن انخفاض مستويات الألبومين ناتجة من الأجهاد التأكسدي الحاصل في مرضى الربو، حيث لوحض انخفاضه في دراسة أجريت على اليابانيين والروس البالغين المصابين بالربو^(29,28).

إن انخفاض مستويات البروتين الكلي لدى الأشخاص المصابين بالربو ناتج من عدم مقدرة الجسم على امتصاص البروتينات الضرورية بالإضافة إلى وجود عوامل أخرى يمكن أن تكون سبب في انخفاض كمية البروتين الكلي ومن هذه العوامل هي حصول مشاكل في الكلى أو حصول خلل في الكبد وغالباً ما تكون هذه الأسباب نتيجة لتناول مجموعة من العقاقير التي من الممكن أن تكون ذات تأثيرات سلبية على وظيفته الكبد والكلى وبالتالي تسبب قلة في تراكيز البروتينات الكلية.

التأثير يكون أكثر وضوحاً تحت تأثير الأجهاد، حيث وجدت دراسة⁽¹⁹⁾ بأن عدم الاستجابة للكورتيزول أو انخفاض الكورتيزول يصاحبه ارتفاع مستويات الهستامين وبالتالي حدوث الأزيز التنفسي والصفى وضيق في الصدر. وأن عدم الاستجابة للمستويات العاليه من الكورتيزول أو انخفاض مستويات تكون مصحوبة بمستويات مرتفعه من الخلايا الحمظة والخلايا البائية، وزيادة أفراس ال IgE وزيادة سايتوكينات الألتهاب الأولى وبالتالي تفاقم أعراض الربو⁽²⁰⁾.

الكلوتاتايون أحد مضادات الأوكسدة الذي يعمل على حماية الخلايا والأنسجة من الأوكسدة ويلعب دوراً محورياً في مجموعة متنوعة من التفاعلات الأنزيمية وغير الأنزيمية التي تحمي الأنسجة من الأوكسدة، وبذلك فإن الشعب الهوائية للرتتين لديها نظام مضاد للأوكسدة يحميها من التعرض للمؤكسدات المؤذية⁽²¹⁾. في التفاعلات المضادة للأوكسدة يتم تحويل الكلوتاتايون إلى شكله المؤكسد، ثنائي كبريتيد الكلوتاتايون GSSG، إن حالات الربو الشديدة تؤدي إلى انخفاض مستويات الكلوتاتايون وأن انخفاضه يؤدي إلى فرط أستجابة الممرات الهوائية إن الكلوتاتايون يقلل من الأنتكماش العضلي وبالتالي فإن انخفاض مستوياته يؤدي إلى زيادة الأجهاد التأكسدي⁽²²⁾. هناك أدلة تشير على إن أمراض الحساسية مثل الربو القصبي، ألتهاب الأنف التحسسي وألتهاب الجلد التحسسي يسبب حدوث الأجهاد التأكسدي⁽²³⁾.

الألبومين أكثر البروتينات وفرة في بلازما الدم يعمل كمضاد أكسده مهم يساهم بنسبة تصل 28% من فعالية مضادات الأوكسدة⁽²⁴⁾. وأن خاصيته المضادة للأوكسدة فعالة بسبب هيكلته لذلك فليس من الغريب أن تظهر خصائصه المضادة للأوكسده

8. Almzaiel, A. J.; Ali, Al-Ameri, M. J and Rafad, T. (2017). Role of IL-4 and Glutathione Peroxidase in Patients with Obstructive Lung Diseases. *Karbala J. Med.* Vol.10, No.2, Aug.
9. Al-Abdulla, N.O.; Al Naama, L.M.; 2 Meaad, K.H. (2010). Antioxidant status in acute asthmatic attack in children. *J Pak Med Assoc.* Vol. 60, No. 12, December.
10. Mahmoud, I.; Mahmoud, H.S. Kassem, N.H. Abdel, W.; Abeer, A and Saad, P.M. (2011). The association between glutathione S-transferase P1 polymorphisms and asthma in Egyptians. *Alexandria Journal of Medicine*, 47: 105-115.
11. Al-Aly, R.A. (2012). Evaluate of Malondialdehyde Level and Antioxidant Systems in Asthma Patients. *Medical Journal of Babylon-Vol. 9- No.1.*
12. Sameer, H.F. (2014). Biomarkers of oxidative stress in acute and chronic bronchial asthma. *J Asthma, Early Online:* 1-7.
13. Samina, E.; Faiz-ul-Hassan, N.; Muhammad, A and Sami, A. (2017). Hematological and Biochemical Profile of Patients Suffering from Non-Atopic Asthma. *iMedPub, Vol. 2 No. 2:* 6.
14. Miller, G.E.; Gaudin, A.; Zysk, E and Chen, E. (2009). Parental support and cytokine activity in childhood asthma: the role of glucocorticoid sensitivity. *J. Allergy .Clin .Immunol;* Apr;123(4): 824 - 30.
15. Franchimont, D.; Kino, T.; Galon, J.;

المصادر

1. FitzGerald, M.; Chair.; Barnes, P.; Barnes, N.; Bateman, E.; Becker, A.; DeJongste, J.; Lemanske, J.R.; O'Byrne, P.; Ohta, K.; Pedersen, S.; Pizzichini, E.; Reddel, H.; Sullivan, S and Wenzel S. (2010). Global Initiative for Asthma GINA updated 2010 Global strategy for asthma management and prevention.
2. Martinez, F. D. (2007). "Genes, environments, development and asthma: a reappraisal". *European Respiratory Journal* 29 (1): 179-84.
3. Masoli, M and et al. (2004). The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 59, 469478-.
4. Lee, S.Y.; Chang, Y.S and Cho, S.H. (2013). Allergic diseases and air pollution. *Asia Pac Allergy* 2013; 3: 145-54.
5. Barnes, P.J. (2008). Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol.* 8(3):183192-.
6. Franchimont, D.; Kino, T.; Galon, J.; Meduri, G.U and Chrousos, G. (2002). Glucocorticoids and inflammation revisited: the state of the art. *Neuro immune modulation* ; 10: 247260-.
7. Piemonti, L.; Monti, P.; Allavena, P.; Sironi, M.; Soldini, L.; Leone B.E.; Socci, C and Di Carlo, V. (2001). Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation. *J Immunol;* 162: 6473 - 64 - 81.

- 486 in man. Toxicity, immunological and hormonal aspects. *J. Clin. Endocrinol .Metab*; 71; 14 - 1480.
21. Caramori, G and Papi, A.(2004). Oxidants and asthma. *Thorax Feb*;59(2):1703-.
22. Kloek, J.; Mortaz, E.; Van Ark, I.; Lilly, C.M.; Nijkamp, F.P and folkerst, G.(2010). Glutathione prevent the early asthmatic reaction anr airway hyperresponsiveness in guinea plgs. *Journal of physiology and pharmacology*; 61(1); 67 - 72.
23. Bowler, R.P and Crapo, J.D.(2002). Oxidative stress in allergic respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol Sep*;110(3): 349 - 56.
24. Gibson, P.G.; Allen, C.J.; Yang, J.P.; Wong, B.J.; Dolovich, J.; Denburg, J and Hargreave, F.E.(1993). Intraepithial mast cells in allergic and nonallergic asthma: assessment using bronchial brushings. *Am. Rev. Respir. Dis*.148: 80 - 86.
25. Stocker, R.; Yamamoto, Y., McDonagh and et al.(2006). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235: 1043.
26. Roche, M.; Rondeau, P and Singh, N.R.; Tarnus, E and Bourdon E.(2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett Jun 11*;582(13): 1783 - 7.
27. Quinlan, G.J.; Martin, G.S and Evans, T.W.(2005). Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology Jun*;41(6): 1211 - 9.
- Meduri, G.U and Chrousos, G.(2002). Glucocorticoids and inflammation revisited: the state of the art. *Neuro immune modulation* ; 10: 247260-.
16. Piemonti, L.; Monti, P.; Allavena, P.; Sironi, M.; Soldini, L.; Leone B.E.; Socci, C and Di Carlo, V.(2001). Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation. *J Immunol*; 162: 6473 - 64 - 81.
17. Cronstein, B.N.; Kimmel, S.C.; Levin, R.I.; Nartiniuk, F and Weissmann, G.(2009). A mechanism for the anti-inflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule-1, and intercellular adhesion molecule. *Proc. Natl. Acad .Sci USA*; 89: 9991- 9995.
18. Maegher, L.C.; Cousin, J.M.; Seckl, JR and Haslett, C.(2010). Opposing effects of glucorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol* ; 1 56: 4422-4428.
19. Barnes, P.J.(2008). Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol*. 8(3): 183 - 192.
20. Laue, L.; Lotze, M.T.; Chrousos, G.P.; Barnes, K.; Loriaux, D.L and Fleisher, T.A.(2007). Effect of chronic treatment with the glucocorticoid antagonist RU-

- 28 . Shima, M and Adachi, M.(2010). Association of respiratory symptoms with serum protease inhibitors and albumin levels in Japanese children. *Int J Epidemiol Dec*; 25 (6): 1213 - 9.
29. Vural, H.; Uzun, K.; Uz, E.; Kocyigit, A.; Cigli, A and Akyol O. (2009). Concentrations of copper, zinc and various elements in serum of patients with bronchial asthma. *J Trace Elem Med Biol Jun*;14(2): 88 - 91.