مستوى مضادات الأكسدة في مصل دم مرضى ارتفاع الكولسترول في الدم

أميرة احمد حمدون

كلية الطب البيطري/جامعة الموصل

الاستلام 08/10/2006 القبول 07/06/2007

Abstract

This study included evaluation the relationship between cholesterol and antioxidants level in the human with hypercholesterolemia .

Blood of 33 samples were collected from patients with hypercholesterolemia 18 male and 15 female with age ranging between (42 – 60)year . 20 samples of blood were also collected from human with normal cholesterol (10 male , 10 female) , this group considered the control group .

Cholesterol , Vitamin C , Glutathione , SOD activity , peroxy nitrite ,and albumin levels , were measured in the serum of both groups .

The statistical results showed a significant increase ($p < 0.05$) in the SOD activity and peroxy nitrite concentration in the human with hypercholesterolemia for both sex compared with the control group , while insignificant increase was showed in the albumin levels in the hypercholesterolemia patients compared with control group .

The results also showed a significant decrease ($p < 0.05$) in vitamin C and glutathione levels in the patients with hypercholesterolemia for both sex compared with control group .

This study demonstrated that there was a relationship between antioxidants levels and hypercholesterolemia patients , male and female include (Vitamin C , Glutathione , Peroxy nitrite , Superoxide Dismutas enzyme).

الخلاصة

شملت هذه الدراسة تقدير مستوى مضادات الاكسدة في مصل دم الاشخاص المصابين بارتفاع الكولسترول .

تم جمع 33عينة دم من اشخاص مصابين بارتفاع الكولسترول في الدم 18 ذكور و 15 اناث و باعمار تتراوح بين(42–60) سنة , كما تم جمع 20 عينة دم من اشخاص و بمستوى كولسترول طبيعي 10 ذكور و 10 اناث وعدت هذه المجموعة مجموعة سيطرة .

تم تقدير مستوى كل من: الكولسترول و فيتامين C و الكلوتاثايون وكذلك تم تقدير فعالية انزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز وتقديرمستوى بيروكسي نتريت و الالبومين في مصل الدم لكلا المجموعتين.

اظهرت النتائج الاحصائية ارتفاعا معنويا في مستوى فعالية انزيم SOD و تركيز بيروكسي نتريت لدى الاشخاص المصابين بارتفاع كولسترول الدم و لكلا الجنسين مقارنة مع مجموعة السيطرة ($P<0.05$) . في حين لم تلحظ فروق معنوية في مستوى الالبومين بين المرضى المصابين بارتفاع الكولسترول و مجموعة السيطرة .

كما أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في مستوى فيتامين C و الكلوتاثايون للمرضى المصابين بارتفاع كولسترول الدم و لكلا الجنسين مقارنة بمستوياتها مع مجموعة السيطرة ($P<0.05$) .

نستنتج من هذه الدراسة ان هناك علاقة بين ارتفاع مستوى كولسترول الدم و مستوى بعض مضادات الاكسدة في الذكور و الاناث والتي تتضمن (فيتامين C و الكلوتاثايون و البيروكسي نتريت و انزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز) .

المقدمة Introduction

إن ازدياد مستوى الكولسترول في الدم يؤدي إلى إمكانية تعرضه للأكسدة داخل الجسم حيث يترسب على الجدران الداخلية للشرايين مما يسبب تلفا للخلايا البطانية للشرايين فضلا عن الخلايا النسيجية الأخرى (1) , و لقد تم إثبات دور الإجهاد التاكسدي في حدوث و تقدم الإصابة بأمراض القلب و الأوعية الدموية حيث أن تحرر الجذور الحرة بكميات تفوق قدرة الجسم على إبطال مفعولها يؤدي إلى أكسدة المواد الدهنية و بالدرجة الأساس الكولسترول و ترسبه في بطانة الشرايين مما يؤدي إلى ظهور العديد من الأمراض المتعلقة بالقلب و الأوعية الدموية منها احتشاء عضلة القلب (2) . و تعمل مضادات الأكسدة على حماية الجسم من حالة الكرب التاكسدي عن طريق تقليل تراكيز الجذور الحرة و اكتساحها مثل الكلوتاثايون و انزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز أو عن طريق منع تكوين التفاعلات المتسلسلة المكونة للجذور الحرة اضافة الى ايقاف انتشارها مثل فيتامين E و فيتامين C (3).

و لقد أشارت الدراسات إلى دور مضادات الأكسدة في العلاج أو الوقاية من أمراض القلب و تصلب الشرايين فقد أشار الباحث Voutilainen (4) وجماعته إلى أن مضادات الأكسدة تعمل على منع أكسدة الكولسترول و ترسبه في بطانة الشرايين و بالتالي التقليل من خطورة الإصابة بأمراض القلب التاجية .

المواد و طرائق العمل Materials and Methods

جمع نماذج مصل الدم :

تـم جمـع 33 عينة دم مـن أشخاص مصابيـن بارتفاع كولسـترول الـدم 18 ذكور و 15 إناث من مختبر الصحة في المستشفى الجمهوري و كانت أعمارهم تتـراوح بين (42–60) سنة. كما تم جمع 20 عينة دم لأشخاص و بنفس الفئة العمرية كان مـستوى الكولسترول لديهم طبيعياً و اعتبروا مجموعة سيطرة 10 منهم ذكور و 10 إناث.بعد جمـع العينات و ضعت في حمام مائي بدرجة 37 °م و لمدة 15 دقيقة بعدها تـم فـصل الجـزء المتخثر من المحلول الرائق باستخدام جهاز الطرد المركزي (centrifuge) بـسرعة 4000 دورة / دقيقة و لمدة 10 دقائق ، فصل المحلول الرائق الذي يمثل مصل الدم .

طرائق العمل Methods

تم تقدير مستوى الكولسترول في مصل الدم باسـتخدام عدة التحليل الجاهزة(Kit) و المجهزة من شركة Syrbio السورية عند طول موجي 500 نانوميتر .

اعتمدت طريقة الباحث Stanley (5) وجماعته في تقدير فيتامين C في مصل الدم و التي تتضمن أكسدته بواسطة النحاس بعدها يتم قياس شدة الامتصاص عند 520 نانوميتر , تم حساب تركيز فيتامين C في مصل الدم من خلال المنحني القياسي , حيث تم تحضير المنحني القياسي باخذ تراكيز من فيتامين C تراوحت بين (0–20) مـايكروغرام/مـل ثـم قيـست امتصاصية النماذج و سقطت على المنحني القياسي .

كما تم قياس تركيز الكلوتاثايون Glutathione (GSH) في مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة من قبل Sedlak (6) و تعتمد الطريقـة علـى اسـتخدام محلـول المان (5,5-dithio bis(2-Nitrobenzoic acid) DTNB(Ellmans reagent , إذ يتفاعل مع الكلوتاثايون مكونا ناتجا ملونا تتم قراءة الامتصاص له عند 412 نانوميتر.

وتـم تـقـدير فعـاليـة أنزيـم SOD باسـتخدام طريقـة Modified photo chemical Nitro blue Tetrazolum method (7) و اعتمـدت هذه الطريقة على تقدير فعالية أنزيم SOD بصورة غير مباشرة من خلال ظهور التغيير في الكثافة الضوئية للفورمازين المتكون من اختزال $O^{\cdot}_2^{-}$ لصبغة نايترو بلوتترازوليوم (NBT) الذي بدوره يتولد من تشعيع عينات مصل الدم , اذ ان الانخفاض بالكثافة الـضوئية دلالـة على زيادة فعالية انزيم SOD ,اذ قيست شدة الامتصاص عند 560 نانوميتر .

أما جـذر البيروكـسي نتريـت peroxy nitrite radical فقـد تـم تقديـر مسـتواه فـي مصـل الـدم باستخدام طريقة Vanuffelen و جماعته (8) المحورة، إذ

أن جذر البيروكسي نتريت يعمل على نيترة (nitration) الفينول الى نايتروفينول و ان كمية النايتروفينول المتكونة تعكس مستوى جذر البيروكسي في مصل الدم و تمت قراءة شدة الامتصاص له عند 412 نانوميتر.

كما تم تقدير كمية الالبومين باستخدام طريقة بروموكريسول الأخضر (Bromo cresol green method) ليكون معقداً ملوناً مع الالبومين و قيست شدته عند طول موجي 630 نانوميتر , و التي استخدم فيها محاليل جاهزة من شركة Syrbio السورية.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم إيجاد المعدل و الانحراف القياسي بين مجاميع الدراسة , و اعتمد اختبار t (t-test) لمقارنة النتائج بين المجاميع.

النتائج و المناقشة Results and Discussion

تبين النتائج الموضحة في الجدول (1) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز الكولسترول في مصل دم الأشخاص المصابين بارتفاع كولسترول الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة لكلا الجنسين رافقه انخفاض في تركيز فيتامين C و الكلوتاثايون في مصل دم هؤلاء الأشخاص مقارنة مع مجموعة السيطرة لكلا الجنسين , إن هذا الانخفاض في فيتامين C و الكلوتاثايون يعني زيادة حالة الإجهاد التاكسدي و الجذور الحرة لهؤلاء المرضى و هذه الزيادة تعمل على تدمير و تحطيم الأغشية الخلوية (9) . إن الإجهاد التاكسدي(Oxidative stress) يؤدي الى نقصان في الأنظمة المضادة للأكسدة التي تقوم باكتساح أصناف الأوكسجين الفعالة المؤكسدة للخلايا (10) , اذ يعد فيتامين C (Ascorbic acid) احد مضادات الأكسدة التي تعمل على إزالة الجذور الحرة مثل ($OH^{\cdot},O^{\cdot}_2^{-}$) ليكون مركب Semidehydro ascorbic acid وبذلك يساعد على حماية الخلايا و يقلل من تلف الانسجة (12,11)

. أما انخفاض تركيز الكلوتاثايون في مصل دم الأشخاص المصابين بارتفاع كولسترول الدم فانه يعود إلى مشاركة الكلوتاثايون الفعالة في منع الأكسدة في حالة الكرب التاكسدي إما عن طريق الإزالة المباشرة للجذور الحرة أو عن طريق كونه مادة اساس لبعض الأنزيمات المضادة للاكسدة مثل الكلوتاثايون بيروكسيديز (GPX) (14,13) . كما أظهرت النتائج الموضحة في الجدول(1) و جود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية $P<0.05$ في امتصاصية الفورمازين في مصل دم مرضى ارتفاع كولسترول الدم مقارنة مع قيم مجموعة السيطرة و

لكلا الجنسين و هذا يدل على أن فعالية أنزيم SOD في مرضى ارتفاع كولسترول الدم يميل نحو الزيادة (17,16,15) . إن زيادة فعالية الأنزيم ربما تعود إلى زيادة في إنتاج جذر السوبر اوكسايد السالب عند مرضى ارتفاع كولسترول الدم نتيجة الكرب التاكسدي الذي قد يؤدي إلى زيادة فعالية الأنزيم للتخلص من الجذور الحرة المتولدة (18) . و يلاحظ من الجدول (1) وجود زيادة معنوية في تركيز جذر البيروكسي نتريت عند مرضى ارتفاع كولسترول الدم و لكلا الجنسين عند مستوى احتمالية $P<0.05$ و ربما يعود السبب في زيادة تركيز جذر البيروكسي نتريت إلى وجود زيادة في جذر السوبر اوكسايد السالب $O^{\cdot}_2^{-}$ إذ يتكون جذر البيروكسي نتريت نتيجة تفاعل (Nitric oxide radical)$NO^{\cdot -}$ مع جذر السوبر اوكسيد السالب ($O^{\cdot}_2^{-}$) (20,19) . كما أوضحت النتائج الموضحة في الجدول (1) وجود زيادة غير معنوية في مستوى و الالبومين في مصل الأشخاص المصابين بارتفاع كولسترول الدم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة و لكلا الجنسين .

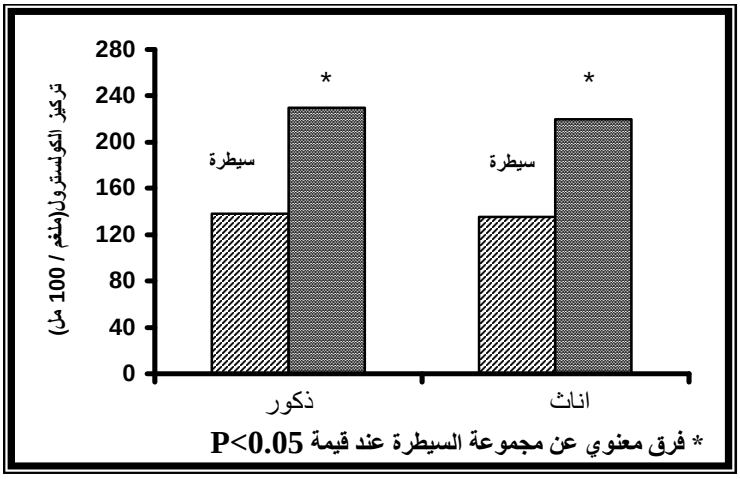
جدول (1) مستوى بعض مضادات الأكسدة و بعض المتغيرات الحيوية في مصل دم كل من ذكور و إناث الأشخاص المصابين بارتفاع كولسترول الدم و مقارنتها مع مستوياتها في مصل دم مجموعة السيطرة و لكلا الجنسين

المتغيرات	الذكور		الاناث	
	السيطرة العدد=10	المصابين بارتفاع كولسترول الدم العدد = 18	السيطرة العدد=10	المصابين بارتفاع كولسترول الدم العدد = 15
الكولسترول(ملغم/100مل)	5.35±138.33	*49.28±229.34	4.11±135.31	**14.77±219.57
فيتامين C(مايكرومول/لتر)	5.26±34.73	*1.74±21.29	5.92±32.99	*2.62±21.62
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	0.21±1.15	*0.18±0.568	0.21±1.052	*0.199±0.492
الفرق في امتصاصية الفورمازين	0.0044±0.0173	*0.0019±0.0045	0.0062±0.0164	*0.0023±0.0049
بيروكسي نتريت (مايكرومول/لتر)	9.103±74.64	*22.35±134.89	9.13±74.605	*10.33±138.67
الالبومين(غم/100مل)	0.20±3.86	0.64±4.86	0.22±3.68	1010±4.22

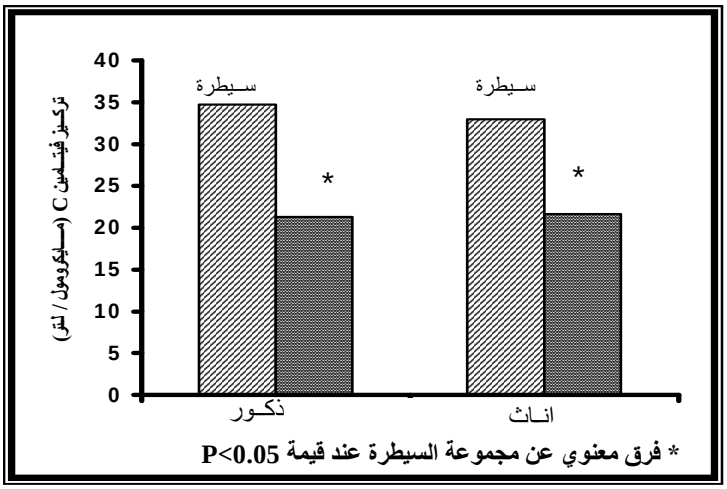
القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي

*** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.05$**

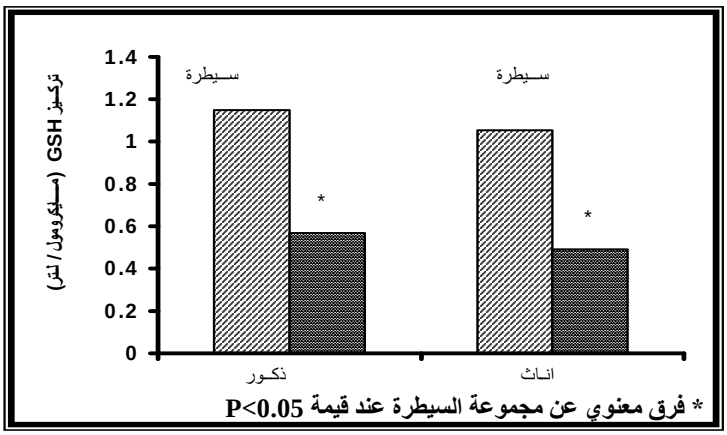
**** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.01$**



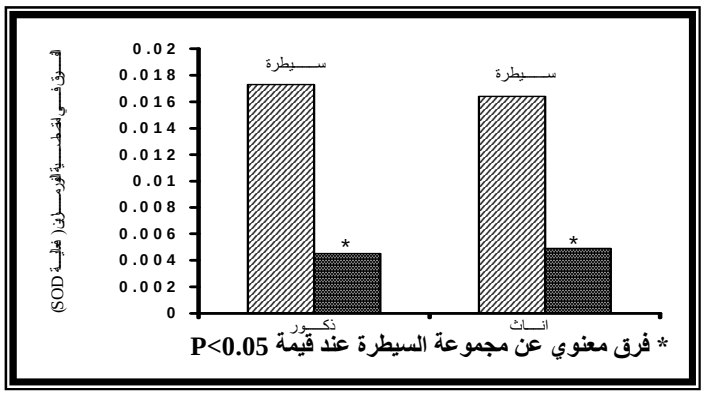
شكل (1) مستوى الكولسترول في مصل الدم لمجموعة السيطرة للذكور و الإناث مقارنة مع مستواه في مجموعة مرضى ارتفاع الكولسترول



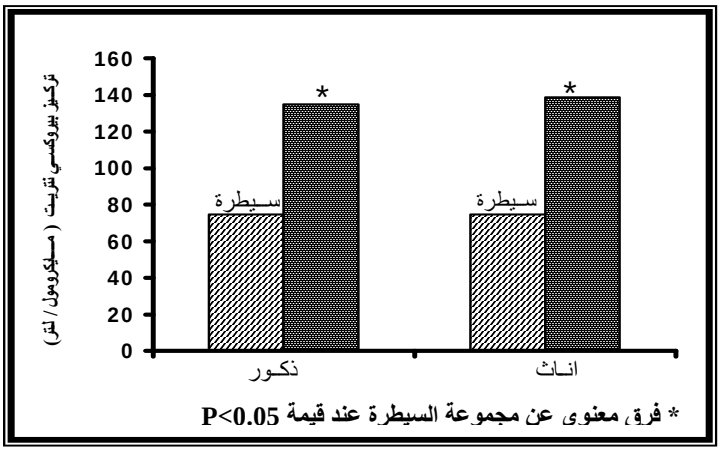
شكل (2) مستوى فيتامين C في مصل دم كل من مجموعة السيطرة و مجموعة المرضى بارتفاع كولسترول الدم



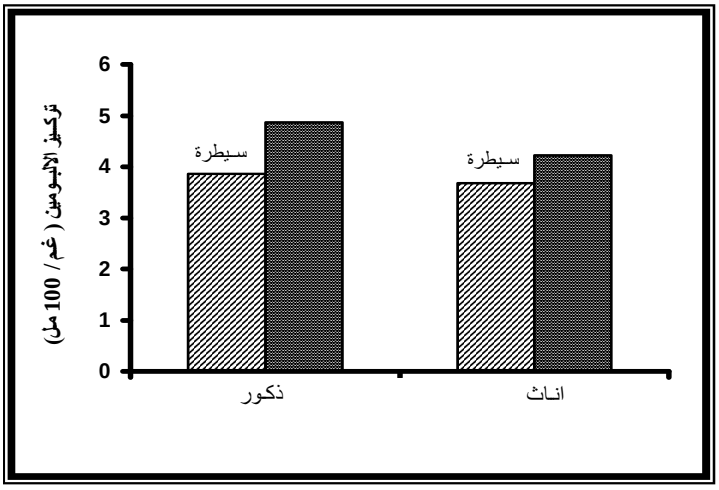
شكل (3) مستوى الكلوتاثايون في مصل دم كل من مجموعة السيطرة و مجموعة مرضى ارتفاع الكولسترول في الدم و لكلا الجنسين



شكل (4) الفرق في امتصاصية الفورمازين في مصل دم كل من مجموعة السيطرة و مجموعة مرضى ارتفاع الكولسترول في الدم و لكلا الجنسين



شكل (5) مستوى جذر بيروكسي نتريت في مصل دم كل من مجموعة السيطرة و مجموعة مرضى ارتفاع كولسترول الدم و لكلا الجنسين



شكل (6) مستوى الالبومين في مصل دم كل من مجموعة السيطرة و مجموعة مرضى ارتفاع كولسترول الدم و لكلا الجنسين

References

1- Lawrence , A.Jones , C.M.and Briktt , M.J.J.Biol.Chem. , 278 (32):29410 – 29419 (2003).
2- Watanaba , T.Koba , S. , Kawamura , M.Itokawa , M.Nakagawa , Y.Iguchi , T.and Katagiri , T. Metabolism , 53 (4):476 – 482(2004).
3- Suga , T., Watanabe , T. , Matsumoto , Y . and Horie , S. , Biochemica et Biophysica Acta. , 794:218-224 (1984) .
4- Voutilainen , S.Nurmi , T.Murmi , T.Mursu , J.Rissanen , TH.Am.J.Clin.Nutri , 83(6)1265 – 71(2006).
5- Stanley , T.David , T.and Hawerds , S.Method in Enzymology , Vol.6.Vitamins and Coenzymes Part D(1979).
6- Sedlak , J.and Lindsay , R.H.(1968) , "Analytical biochemistry " p.192. cited by Al- Zamely (2001) .
7- Brown , M.S.and Goldstein (1983) Ann.Rev.Biochem. 52-223 cited by Al- Zamely etal. , (2001).
8- Vanuffelen , B.E.Van Derzec , J.Dekoster , B.M.(1998) . Biochem.J.330-719.cited by Al-Zamely etal(2001).
9- Fernandez – Robredo , P. Moya , D.Rodriguez , JA.Garcia – Layana , A.Invest Ophthalmol Vis Sci . 46(4):1140-6(2005).
10- Dukic , N.M.Atherosclerosis, 15(2).423-611(2003).
11- Stahl,w.and Sies , H.Diabetes.46:14-18(1997).
12- Jacobsen,Dw.Clin Chem(7):433-43(1998).
13- Sulyeman,D.Mustafa Y.Mchmet,K.Natan,A.Dliver,A. and Ahmet, A.Turk. J. Gastroenterol. 14(1);39-43(2003).
14- Yvonne,V.Yuan and David , D. Kitts . The American society for nutritional sciences J. Nutr. 133;679-688(2003).
15- Fukai , T. Galis, 25 and Mang ,X.P.J.Clin. Invest.101(10):2101-2121(1998).
16- Sentman, M.L. Evans , I.Mand Brannstron, T. Arter. Thromb. Vasc. Biol. ,21:1477-1488(2001).
17- Hoen,P.A.Vanderlons,C.A.and Von Berhel , D.J.Atherosclerosis 243(12):366-371)(2004).
18- Bennett SA, Magnus P. Med J. Aust.161:519 – 27(1994).
19- Patel, R.P.Levonen, A.L. Carwford ,J.H. and Darley-usmar, V.M. Cardiovas Res. 47:465-474(2000).
20- Cerriello , A. Mcrcuri , F. Quagliar,L. Assaloni ,R.Motz,E. Tonutti ,L. and Taboge, C.Diabetologia.44(7):834-838(2001).