

## استرس اکسیداتیو و عناصر کمیاب در بیماران همودیالیزی غیردیابتی

رضا علی پناه مقدم<sup>۱</sup>، دکتر محمد مآذنی<sup>۲</sup>، دکتر عباس نقی زاده باقی<sup>۳</sup>، علی نعمتی<sup>۴</sup>، دکتر مجتبی امانی<sup>۵</sup>،

دکتر بهمن بشردوست<sup>۶</sup>، امیر منصور وطن خواه<sup>۷</sup>، دکتر شهاب بهلولی<sup>۸</sup>

<sup>۱</sup> مربی گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

<sup>۲</sup> نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

E-mail: m.mazani@arums.ac.ir

<sup>۳</sup> استادیار تربیت بدنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل <sup>۴</sup> مربی گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

اردبیل <sup>۵</sup> استادیار گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل <sup>۶</sup> استادیار گروه داخلی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل <sup>۷</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۸</sup> استادیار گروه فیزیولوژی-فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** شواهد حاکی از بالا بودن استرس اکسیداتیو در بیماران همودیالیزی است. هدف از این تحقیق، بررسی استرس اکسیداتیو، مقادیر سرمی روی و مس در بیماران همودیالیزی غیر دیابتی می باشد.

**روش کار:** در یک مطالعه مورد-شاهدی ۶۰ بیمار همودیالیزی غیر دیابتی مراجعه کننده به بخش همودیالیز بیمارستان بوعلی اردبیل و ۶۰ فرد سالم هم‌هنگ از نظر جنس و سن بین سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ مطالعه شدند. پارامترهای پروفایل لیپیدی، قند خون، کراتینین، اوره، پروتئین تام، آلبومین، روی، مس، مالون دی آلدئید، ظرفیت تام آنتی اکسیدان و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در دو گروه اندازه‌گیری شدند. نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۶ و آزمون تی مورد بررسی قرار گرفت و ضریب همبستگی پیرسون برای سنجش وابستگی بین متغیرها به کار برده شد.

**یافته‌ها:** میزان روی، قند خون، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، HDL-C و LDL-C در گروه بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز خون و ظرفیت تام آنتی اکسیدان سرم در بیماران همودیالیزی به طور معنی‌داری بیشتر از افراد سالم بود. غلظت‌های سرمی مس و مالون دی آلدئید در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد که در بیماران همودیالیزی غیر دیابتی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانع تشدید استرس اکسیداتیو شده است. همچنین کمبود روی در این بیماران مشاهده گردید.

**کلمات کلیدی:** همودیالیز؛ سوپراکسید دیسموتاز؛ گلوتاتیون پراکسیداز؛ استرس اکسیداتیو؛ روی

دریافت: ۹۰/۱/۱۸ پذیرش: ۹۰/۵/۲۰

### مقدمه

تعداد مبتلایان به نارسایی کلیه و تحت درمان با همودیالیز بطور فزاینده‌ای در جهان و در ایران بالا می‌رود و میزان مرگ و میر حاصل از این بیماری‌ها نیز قابل توجه بوده و در حال افزایش است [۲].

بیماری مزمن کلیوی و بیماری مرحله آخر کلیوی (ESRD)<sup>۱</sup> از مشکلات سلامت عمومی در جهان هستند [۱].

<sup>۱</sup>End-Stage Renal Disease

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Alipanahmogadam R, Mazani M, Naghizadeh Baghi A, Nemati A, Amani M, Bashardoost B, Vatankhah AM, Bohlooli SH. Oxidative Stress and Trace Elements in Patients with Non-Diabetic Hemodialysis. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(3): 228-237. (Full text in persain)

برای مقابله با ترکیبات اکسیدکننده، مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن بوجود آمده‌اند که شامل مکانیسم‌های غیر آنزیمی نظیر: ویتامین E، بتاکاروتن، ویتامین C و کوآنزیم Q و مکانیسم‌های آنزیمی نظیر: آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD<sup>۲</sup>) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX<sup>۳</sup>) می‌باشند [۱۴].

خواص آنتی‌اکسیدانی روی نیز در سیستم‌های بیوشیمیایی آشکارا نشان داده شده است [۱۵]. بیماری‌های کلیوی از جمله بیماری‌هایی هستند که در جریان آن متابولیسم روی مختل می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که اختلالات مربوط به متابولیسم عناصر کمیاب اختلال کارکرد کلیه و در بیماران اورمیک در موارد متعددی رخ می‌دهد و مقادیر سرمی روی غالباً در بیماران اورمیک و در بیماران همودیالیزی کمتر از گروه کنترل یا کمتر از مقادیر نرمال بوده و یا حداقل در محدوده نرمال می‌باشد [۱۶-۲۲، ۱۰].

حتی بیمارانی که دیالیز نمی‌شوند اما مشکل کلیوی دارند دچار اختلالاتی در زمینه متابولیسم عناصر کمیاب هستند [۲۳].

فلزاتی مانند مس و آهن تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاتالیز کرده و بنابر این نقش مهمی در شروع و تزیاید پراکسیداسیون لیپیدی دارند. روی دارای اثر آنتاگونیستی بر خواص کاتالیتیک فلزات آهن و مس بوده و می‌تواند از این طریق میزان تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش داده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشد [۱۵].

بررسی‌ها حاکی از آن است که یک عدم تعادل بین مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات اکسیدان تولید شده در بیماران کلیوی وجود

تقریباً نصف این مرگ و میرها در اثر بیماری قلبی-عروقی است. اتیولوژی بیماری قلبی-عروقی در این بیماران پیچیده است. از علل این امر می‌توان به شیوع بالای ریسک فاکتورهای بیماری قلبی-عروقی در این بیماران اشاره کرد. برخی از این ریسک فاکتورها می‌توانند زمینه‌ساز ایجاد آترواسکلروز باشند به طوری که نشان داده شده بیماری مزمن کلیوی با آترواسکلروز ارتباط نزدیکی دارد. استرس اکسیداتیو یکی از اصلی‌ترین ریسک فاکتورهای زمینه‌ساز آترواسکلروز است که احتمالاً نقش کلیدی در ایجاد و تشدید بیماری قلبی-عروقی در بیماران کلیوی دارد. بنابراین استرس اکسیداتیو به عنوان یک هدف جدید برای

ملاحظات درمانی مد نظر است [۲، ۳، ۱]. اصطلاح استرس اکسیداتیو نخستین بار توسط سیز توصیف شد [۵] و عبارت از آسیب بافتی است که در اثر تولید زیاد ترکیبات اکسیدکننده و یا عدم کارایی مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در حذف آنها ایجاد می‌شود. ترکیبات اکسیداتیو می‌توانند بطور طبیعی در بدن تولید شوند اما فعال شدن نابجای استرس اکسیداتیو قادر به ایجاد آسیب عروقی و آترواسکلروز است [۶، ۳].

در حضور استرس اکسیداتیو، مولکول‌های LDL-C<sup>۱</sup> به راحتی اکسید می‌شوند و این مولکول‌های اکسید شده باعث شروع و تشدید روند‌های التهاب عروق، تشکیل پلاک آترومایی و آترواسکلروز می‌شوند [۸، ۷].

شواهد زیادی در دهه‌های اخیر بالا بودن استرس اکسیداتیو در بیماران همودیالیزی را تأیید کرده‌اند [۱۱، ۹] و آن را بعنوان یکی از مشکلات مهم در بیماران همودیالیزی مطرح نموده‌اند [۱۳، ۱۲].

<sup>۲</sup>Superoxide Dismutase

<sup>۳</sup>Glutathion Peroxidase

<sup>۱</sup>Low Density Lipoprotein-Cholestrol

دارد. مکانیسم‌های متعددی در افزایش استرس اکسیداتیو در این بیماران دخیل هستند که از مهمترین آنها می‌توان به دیابت، سن زیاد و فشار خون بالای کلیوی در این بیماران اشاره کرد که آنها را مستعد افزایش استرس اکسیداتیو می‌کند [۲۴، ۱۴].

بیماری دیابت یکی از مهمترین شرایط افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد. بررسی‌ها حاکی از افزایش قابل توجه استرس اکسیداتیو همراه با کاهش قابل توجه آنزیم‌های GPX و SOD در بیماران دیابتی تحت همودیالیز مزمن است. با تشدید استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد آنزیم‌های GPX و SOD در بیماران دیابتی تحت همودیالیز، ریسک ابتلا به آترواسکلروز و پیشرفت بیماری قلبی-عروقی در این بیماران افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه آترواسکلروز از مهمترین علل بیماری‌های قلبی-عروقی و مرگ و میر در بیماران همودیالیزی است [۲۵] و با در نظر گرفتن اختلالات مربوط به متابولیسم عناصر کمیاب بویژه روی و مس در بیماران ESRD هدف ما از این تحقیق، بررسی استرس اکسیداتیو و مقادیر سرمی روی و مس در بیماران همودیالیزی غیر دیابتی است تا با حذف دیابت که عامل مهمی در ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد روند استرس اکسیداتیو را در این بیماران بررسی نماییم.

## روش کار

در یک مطالعه مورد-شاهدی طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷، ۶۰ بیمار همودیالیزی غیر دیابتی مراجعه کننده به بخش همودیالیز بیمارستان بوعلی اردبیل و ۶۰ فرد سالم هم‌هنگ از نظر جنس و سن مطالعه شدند. ملاحظات اخلاقی از قبیل محرمانه ماندن اطلاعات و اخذ رضایت‌نامه آگاهانه از افراد شرکت کننده در تحقیق رعایت شد. از شرایط ورود به

مطالعه دیالیزی بودن و نداشتن دیابت بود و افراد دیابتی در هر دو گروه کنترل و بیماران از مطالعه حذف شدند. تمامی بیماران هفته‌ای ۳-۲ بار به مدت چهار ساعت با استفاده از غشای سلولزی همودیالیز می‌شدند. بعد از پر کردن فرم‌های مشخصات مربوطه، در حالت ناشتا (قبل از همودیالیز در گروه بیماران) خون‌گیری شد. حدود ۲ سی سی از نمونه خون تام برای تعیین فاکتورهای هماتولوژیک به آزمایشگاه ارسال گردید. از خون تام ۲ سی سی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX کلبول‌های قرمز خون، جداسازی و تا زمان انجام آزمایش در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از سانتریفیوژ مابقی خون گرفته شده، سرم برای آزمایشات بیوشیمیایی و اندازه‌گیری غلظت سرمی روی، مس و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی جداسازی گردید و تا زمان انجام آزمایش در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آزمایش CBC با استفاده از دستگاه Cell Counter مدل Sysmex K1000 انجام شد. اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی شامل پروفایل لیپیدی، قند خون، کراتینین، اوره، پروتئین تام، آلبومین با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی استاندارد داخلی و به روش اسپکتروفوتومتری توسط دستگاه اتوآنالیزور مدل Abbott Alcyon 300 انجام شد. اندازه‌گیری مقادیر آنتی اکسیدان تام سرم بر اساس روش TEAC (کیت RANDOX) انجام شده است. روش TEAC بر اساس مهارکنندگی با آنتی اکسیدان‌های جاذب رادیکال کاتیون <sup>1</sup>ABTS است. در این روش ABTS با پراکسیداز و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> جهت تولید کاتیون ABTS انکوبه شده و رنگ پایدار آبی-سبز (حداکثر جذب نوری ۶۰۰ نانومتر) تولید می‌شود که به طور اسپکتروفوتومتری قابل اندازه‌گیری است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GPX با استفاده از کیت Ransel شرکت Randox انگلستان و بر اساس روش

<sup>1</sup>2, 2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]

### تجزیه و تحلیل داده ها

از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ جهت انجام تمام محاسبات استفاده شد. داده ها به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین نشان داده شده اند. اختلاف بین گروه های مطالعه شده با استفاده از آزمون آماری تی مستقل مقایسه شده است. ضریب همبستگی پیرسون جهت سنجش وابستگی بین متغیرها به کار برده شد. سطح معنی داری در تمامی موارد مساوی یا کوچکتر از ۰/۰۵ فرض شده است.

### یافته ها

مشخصات دموگرافیک گروه کنترل و گروه بیماران در جدول ۱ آورده شده است.

پاگیلا<sup>۱</sup> و والتین انجام شد. اساس این روش شامل اکسیداسیون گلوکاتایون توسط آنزیم GPX و در مرحله بعدی احیای گلوکاتایون اکسید شده توسط آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (NADPH) و اندازه گیری جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر می باشد. مقادیر سرمی مالون دی آلدئید (MDA<sup>۲</sup>) از روش karatas و همکاران و با استفاده از دستگاه HPLC مدل Jasco اندازه گیری شد [۲۶].

در این روش ۰/۰۵ سی سی سرم روی ۰/۲۵ سی سی تری کلرواستیک اسید ۰/۱ مولار اضافه کرده و روی آن مقدار ۰/۷ سی سی آب مقطر اضافه می کنیم سپس در دور ۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ می نماییم سپس از مایع رویی به مقدار

جدول ۱. ویژگی های عمومی افراد مورد مطالعه

متغیرها	گروه کنترل (n=60)	گروه بیمار (n=60)	p
سن(سال)	۴۶/۴۶±۱۵/۷۱	۵۶/۰۳±۱۶/۸۷	NS
جنس(زن/مرد)	۲۲/۳۸	۲۲/۳۸	NS
وزن(کیلوگرم)	۷۶/۵۹±۱۲/۸۷	۶۴/۶۰±۱۵/۷۱	p=0.001
(BMI) (Kg/m <sup>2</sup> ) شاخص توده بدن	۲۷/۲۵±۴/۳۴	۲۳/۶۷±۴/۶۷	p=0.001
فشار خون دیاستولی (mmHg)	۷۷/۳۷±۶/۹۸	۸۱/۴۵±۹/۸۹	p=0.001
فشار خون سیستولی (mmHg)	۱۲۰/۹۰±۹/۸۹	۱۴۵/۱۶±۲۴/۲۸	p=0.001

عدم تغییرات معنی دار: NS

دو گروه از نظر سن و جنس تفاوتی با همدیگر نداشتند. وزن و BMI در افراد بیمار بطور معنی داری کمتر از گروه شاهد است. فشارخون سیستولیک و دیاستولیک در بیماران همودیالیزی بیشتر از افراد سالم می باشد. همانطوری که در جدول ۲ آمده است غلظت سرمی روی، قند خون، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، HDL-C<sup>۳</sup> و LDL-C در افراد بیمار بطور معنی داری کمتر از افراد سالم می باشد. غلظت سرمی اوره و کراتینین در بیماران همودیالیزی بیشتر از افراد سالم می باشد. غلظت سرمی مس و MDA در دو گروه تفاوت معنی داری نداشت. فعالیت آنزیم های SOD و GPX گلبول های قرمز خون در بیماران همودیالیزی

۱۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق می کنیم. اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گلبول های قرمز با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری (کیت RANSOD شرکت RANDOX) انجام شده است. اساس این آزمایش تسریع دیسموتاسیون رادیکال O<sub>2</sub><sup>\*</sup> و تبدیل آن به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و O<sub>2</sub> توسط آنزیم SOD است.

اندازه گیری غلظت سرمی روی و مس با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Spectra AA ۲۲۰ صورت گرفت. شاخص توده بدن (BMI<sup>۳</sup>) نیز از تقسیم وزن (Kg) بر مجذور قد (m<sup>2</sup>) بدست آمده است.

<sup>۱</sup>Paglia & Valentine

<sup>۲</sup>Malondialdehyd

<sup>۳</sup>Body Mass Indexe

<sup>۴</sup>High Density Lipoprotein-cholesterol

بیماران، دارای نقش کلیدی است. گزارش‌های متعدد حاکی از افزایش مارکرهای اکسیداتیو پروتئین، پراکسیداسیون لیپید و نیز افزایش مارکرهای اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک در

بیشتر از افراد سالم می‌باشد و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم در بیماران همودیالیزی بیشتر از افراد سالم می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین وانحراف معیار متغیرها در افراد مورد مطالعه

متغیرها	گروه کنترل (n=60)	گروه بیمار (n=60)	p
کلیسترول (mg/dl)	۲۱۶/۶۸±۴۱/۴۲	۱۸۰/۱۳±۴۷/۲۹	P=0.001
تری گلسرید (mg/dl)	۱۹۱/۱۳±۱۳۳/۹۵	۱۴۵/۴۱±۶۷/۹۱	P=0.016
LDL-C (mg/dl)	۱۳۴/۹۷±۳۳/۷۰	۱۱۶/۲۵±۴۰/۳۷	P=0.005
HDL-C (mg/dl)	۴۱/۵۷±۱۲/۹۵	۳۶/۰۹±۱۱/۰۳	P=0.011
قندخون (mg/dl)	۸۷/۳۳±۱۱/۵۴	۷۳/۳۷±۱۳/۵۱	P=0.001
آلبومین (g/dl)	۴/۷۱±۰/۳۶	۴/۱۴±۰/۲۶	P=0.001
پروتئین تام (g/dl)	۸/۳۱±۰/۰۷	۷/۵۵±۰/۴۲	P=0.001
مس (µg/dl)	۱۶۹/۵۹±۲۴/۴۴	۱۶۱/۴۹±۳۶/۸۵	NS
روی (µg/dl)	۱۳۸/۱۶±۱۷/۴۱	۱۰۳/۵۷±۲۶/۰۵	P=0.001
MDA (nmol/ml)	۱±۰/۵۲	۱/۰۳±۰/۳۸	NS
اوره (mg/dl)	۳۳/۶۲±۸/۰۳	۱۴۹/۱۶±۳۴/۱۵	P=0.001
کراتینین (mg/dl)	۰/۹۵±۰/۲۳	۹/۸۸±۰/۲۸	P=0.001
سوپر اکسید دیسموتاز (U/gHb)	۱۰۷۹/۱۶±۱۵۰/۳۰	۱۱۷۶/۵۸±۳۲۶/۶۷	P=0.032
گلوتاتیون پراکسیداز (U/gHb)	۳۲/۶۲±۴/۸۷	۴۸/۱۷±۱۳/۴۱	P=0.001
ظرفیت تام آنتی اکسیدان (mmol/L)	۰/۸۹±۰/۱۷	۱/۱۵±۰/۱۸	P=0.001

عدم تغییرات معنی دار: NS

این بیماران است [۲۷،۲۵].

گزارشات نشان داده است که در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی، استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد و تفسیرهای پاتوفیزیولوژیک متعددی در این زمینه از جمله دیابت، فعال شدن نوتروفیل‌ها توسط غشای همودیالیز، سوء تغذیه، آنمی، وضعیت اورمیک، سن بالا، التهاب و ... ارائه شده است. برای بررسی وجود استرس اکسیداتیو روش ایده‌آل اندازه‌گیری مقادیر رادیکال‌های آزاد ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ،  $\text{O}^{2-}$  و ...) است ولی به دلیل نیمه‌عمر خیلی کوتاه این مولکول‌ها، از نظر تکنیکی اندازه‌گیری آنها ممکن نیست بنابراین بهترین کار، اندازه‌گیری محصولات حاصل از آسیب این مولکول‌ها می‌باشد. وقتی که رادیکال‌های آزاد بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی غلبه کنند باعث اکسیداسیون فسفو لیپیدها می‌شود. یکی

## بحث

در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX گلبول‌های قرمز به صورت معنی‌داری افزایش یافته است و میزان سرمی MDA به مقدار خیلی جزئی افزایش یافته است که معنی‌دار نمی‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX گلبول‌های قرمز در مطالعه ما مطابق برخی مطالعات قبلی در این زمینه می‌باشد بطوریکه میمیک-اکا و همکاران نشان داده‌اند که در بیماران همودیالیزی فعالیت SOD گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد [۲۹-۲۷].

بیماران اورمیک دارای خطر بالای ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی هستند و در این زمینه اختلالاتی نظیر دیابت، زمینه را برای تشدید استرس اکسیداتیو فراهم نموده و استرس اکسیداتیو هم در ایجاد آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی در این

این بیماران سطوح سرمی MDA افزایش می‌یابد [۳۱،۲۵].

با توجه به اینکه دیابت یکی از علل اصلی بیماری مزمن کلیوی می‌باشد [۱]. بنابراین حذف بیماران دیابتی از مطالعه حاضر می‌تواند یکی از علل کاهش سطوح سرمی MDA در این بررسی نسبت به مطالعات مشابه قبلی باشد [۳۰،۲۹،۱].

در اکثر بررسی‌ها که افراد دیابتی در آنها حذف نشده‌اند، میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX گلبول‌های قرمز کاهش یافته و میزان MDA سرمی افزایش یافته است. از طرف دیگر چون در بررسی ما بر خلاف مطالعات مشابه، روی بیماران همودیالیزی مزمن صورت نگرفته است بنابراین احتمال دارد که در مراحل ابتدایی همودیالیز فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد و با وجود استرس اکسیداتیو در این بیماران، میزان MDA سرم به علت حذف رادیکال‌های آزاد توسط این آنزیم‌ها، کاهش می‌یابد [۳۲،۲۹،۲۸].

در ضمن بررسی فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX گلبول‌های قرمز به تنهایی نمی‌تواند تغییرات MDA را توصیف کند و بایستی در کنار آنها، فاکتورهای دیگری مانند عوامل ایجادکننده استرس اکسیداتیو و غیره نیز مورد بررسی قرار گیرند. در مطالعه ما ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم نیز افزایش یافته است که مطابق با افزایش فعالیت آنزیم‌های GPX و SOD گلبول‌های قرمز و نیز مطابق با بررسی‌های انجام شده در این زمینه می‌باشد ولی بر خلاف نتایج مطالعه پرابه‌کار در این مورد می‌باشد [۳۴،۳۳،۴]. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سرم در مطالعه ما و بررسی‌های مشابه [۳۳،۴] می‌تواند توجیه‌کننده افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم در بررسی ما باشد بطوری که در بررسی پرابه‌کار، میزان فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافته و به موازات آن ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم نیز کاهش یافته است [۳۴].

از محصولات عمده این اکسیداسیون، MDA می‌باشد. مطالعات نشانگر افزایش استرس اکسیداتیو و بدنبال آن افزایش سطوح سرمی MDA در بیماران همودیالیزی است. در بررسی استرس اکسیداتیو بایستی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیز مد نظر باشد [۲۹،۲۸،۲۵].

گزارشات متناقضی در مورد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بیماران همودیالیزی وجود دارد بطوریکه برخی بررسی‌ها حاکی از افزایش فعالیت آنزیم SOD گلبول‌های قرمز در این بیماران است. همچنین نشان داده شده است که در بیماران همودیالیزی فعالیت آنزیم GPX گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد [۳۰،۲۹].

با توجه به نقش آنزیم‌های آنتی اکسیدان در کاهش رادیکال‌های آزاد، با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها، انتظار می‌رود شاخص‌های رادیکال‌های آزاد نظیر MDA نیز در سرم کاهش یابند.

همچنین شتترل<sup>۱</sup> نشان داده است که در بیماران همودیالیزی فعالیت GPX گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد [۳۰].

عدم افزایش غلظت سرمی MDA در مطالعه ما بر خلاف یافته‌های قبلی است و نشان می‌دهد افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در این بیماران از افزایش سطوح سرمی MDA با وجود استرس اکسیداتیو در آنها جلوگیری نموده است [۳۰،۲۹]. بنظر می‌رسد این نتیجه مربوط به افراد مورد مطالعه باشد بطوریکه در بررسی حاضر افراد دیابتی از مطالعه حذف شده‌اند ولی در مطالعات قبلی به این موضوع اشاره نشده است [۳۰،۲۹].

بررسی‌های متعددی حاکی از افزایش استرس اکسیداتیو و بدنبال آن افزایش سطوح سرمی MDA در بیماران دیابتی است بطوریکه مطالعات دورسون و نخجوانی و همکاران آنها نشان داده است که در

<sup>۱</sup>Schettler

همچنین بعضی مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که کمبود غذایی روی می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار در سطح سرمی ویتامین E شود. ویتامین E یک عامل حفاظتی در برابر آسیب اکسیداتیو می‌باشد و از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها جلوگیری می‌کند بنابراین اگر این یافته در انسان‌ها هم صادق باشد این مسیر نیز در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی روی باید مد نظر قرار گیرد [۳۷].

در مطالعه ما مقادیر سرمی مس بیماران حدود  $161 \mu\text{g/dl}$  بود که در محدوده نرمال هست و این مقادیر تفاوتی با گروه شاهد ندارد (جدول ۲). در اکثر مطالعات مقادیر پلاسمایی مس در محدوده نرمال و یا بالاتر گزارش شده است [۳۹،۳۸،۲۲].

### نتیجه گیری

از این مطالعه چنین استنتاج می‌شود در بیماران غیر دیابتی که در مراحل ابتدایی همودیالیز هستند، استرس اکسیداتیو کمتر است و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانع تشدید استرس اکسیداتیو شده است. همچنین غلظت‌های روی سرم کمتر است. پیشنهاد می‌شود پایش روی سرمی و یا پلاسما حداقل در بیماران همودیالیزی در ایران به صورت روتین انجام پذیرد و در صورت کم بودن میزان روی سرمی جهت کاهش استرس اکسیداتیو مکمل یاری روی در این بیماران شروع شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۸۶۲۷۴ مصوب سال ۱۳۸۶ دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بوده و با بودجه دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام شده است. بدین‌وسیله از زحمات مدیریت و کارکنان محترم پژوهش‌قدردانی می‌شود. همچنین از کلیه بیماران و کارکنان درمانی محترم و عزیز که ما را در این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری می‌نمایم.

این مطالعه غلظت‌های سرمی Zn بیماران را حدود  $104 \mu\text{g/dl}$  نشان داد که در مقایسه با مقادیر پایه بیماران همودیالیزی تبریز ( $< 80 \mu\text{g/dl}$ ) بالاتر است [۱۱]. بنابراین بنظر می‌رسد وضعیت تغذیه‌ای بیماران ما از نظر دریافت Zn بهتر از بیماران همودیالیزی تبریز بوده است. هر چند مقادیر Zn بیماران ما در محدوده نرمال قرار دارند ولی این مقادیر در مقایسه با گروه شاهد کمتر هستند (جدول ۲) که در راستای بسیاری از پژوهش‌های قبلی است که در آن بیماران اورمیک و همودیالیزی دارای سطوح خونی Zn کمتر از گروه کنترل و یا پایین‌تر از محدوده نرمال و یا در محدوده حداقل نرمال بودند [۱۰-۱۶، ۲۲].

پایین بودن سطوح پلاسمایی Zn بیماران، دیدگاه کمبود روی را در افراد همودیالیزی تقویت می‌کند و بنابراین لزوم پایش میزان Zn سرم و شروع مکمل یاری روی را در صورت کمبود آن توصیه می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که روی باعث افزایش اثرات متالوتیونین‌ها می‌شود. متالوتیونین‌ها جاذب رادیکال‌های آزاد OH می‌باشند. بنابراین افزایش این مواد نیز می‌تواند در نقش آنتی‌اکسیدانی روی مهم باشد [۳۵].

یک اثر مهم دیگر روی نقش رقابتی آن در برابر یون‌های آهن و مس می‌باشد. یون‌های آزاد آهن و مس باعث می‌شوند تا  $\text{H}_2\text{O}_2$  به رادیکال آزاد OH تبدیل شود (واکنش Weis-Heber). بنابراین یون‌های آزاد آهن و مس به واسطه این واکنش استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهند. روی به عنوان یک یون رقابت‌کننده در این واکنش جلوی این تبدیل را می‌گیرد و باعث کاهش عوامل اکسیداتیو می‌شود. در برخی از مطالعات تجویز روی در افرادی که در معرض استرس اکسیداتیو هستند توصیه شده است [۳۶].

## References

- 1-Aghighi M, Heidary Rouchi A, Zamyadi M, Mahdavi-Mazdeh M, Norouzi SH, Rajolani H et al. Dialysis in Iran. *Iran J Kid Dis*. 2008 Jan; 2(1): 11-15.
- 2- Mollahadi M, Tayyebi A, Ebadi A, Daneshmandi M. Comparison between anxiety, depression and stress in hemodialysis and kidney transplantation patients. *Iranian Journal of Critical Care Nursing*. 2009 Winter; 2(4): 153-156. (Full text in Persian)
- 3-Kao M P C, Ang D S C, Pall A, Struthers A D. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *J Hum Hypertens*. 2010 Jan; 24(1): 1–8.
- 4-Montazerifar F, Hashemi M, Karajibani M, Dikshit M. Effect of antioxidant vitamins on lipid profile and total antioxidant capacity in hemodialysis patients. *Rawal Med J*. 2010 Jul-Dec; 35(2): 120-123.
- 5- Seis H. Oxidative stress: introductory remarks. London: Academic Press. 1985; 1–8.
- 6- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000 Nov; 408(6809): 239–247.
- 7-Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, Paragano A, Cacharron JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*. 2006 Feb; 5: 4.
- 8-London GM, Drueke TB. Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*. 1997 Jun; 51(6): 1678–1695.
- 9-Dursun E, Dursun B, Suleymanlar G, Ozben T. Effect of haemodialysis on the oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2005 Oct; 42(3): 123-8.
- 10- Galli F, Ronco C. Oxidative Stress in Hemodialysis. *Nephron*. 2000 Jan; 84(1):1-5.
- 11- Mazani M, Argani H, Rashtchizadeh N, Rohbaninoubar M, Ghorbanihagjo A, Mahdavi R, et al. The Effect of Zinc Supplementation on Oxidative Stress in Chronic Hemodialysis Patients [article in persian]. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences* 2006 Autumn; 6(3):291-9.
- 12-Siems W, Quast S, Carluccio F, Wiswedel I, Hirsch D, Augustin W. et al. Oxidative stress in chronic renal failure as a cardiovascular risk factor. *Clin Nephrol*. 2002 Jul; 58 (1):12-9.
- 13- Grune T, Sommerburg O, Siems WG. Oxidative stress in anemia. *Clin Nephrol*. 2000 Feb;53(1):18-22.
- 14-Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003 Jul; 18(7): 1272–1280.
- 15-Power SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr*. 2000 May; 130 (5):1447S-54S.
- 16- Cheralier CA, Liepa G, Murphy MD, Suneson J, Vanbeber AD, Gorman MA. et al. The effects of Zinc Supplementation on Serum Zinc and Cholesterol in Hemodialysis Patients. *Ren Nutr*. 2002; 10 (3):183-189.
- 17- Lee SH, Huang JW, Huang KY, Leu LJ, Kan YT, Yang CS, et al. Trace Metals abnormalities in Hemodialysis Patient: Relationship with Medication. *Artif Organs*. 2000 Nov; 24(11):841-4.
- 18- Bozalioglu S, Ozkan R, Turan M, Simsek B. Prevalence of zinc deficiency and immune response in short-term hemodialysis. *J Trace Elem Med Biol*. 2005; 18(3):243-9.
- 19- Castro AV, Caramori J, Barretti P, Baptistelli EE, Brando A, Borim EM, et al. Prolactin and zinc in dialysis patients. *Biol Trace Elem Res*. 2002 Jul;88(1):1-7.
- 20- Skarupskiene I, Kuzminskis V, Abdrachmanovas O, Ryselis S, Smalinskiene A. Zinc and aluminum concentrations in blood of hemodialysis patients and its impact on the frequency of infections. *Medicina (kaunas)*. 2005; 41(1): 65-68.
- 21-Cabral PC, Diniz AD, Arruda IK. Vitamin A and zinc status in patients on maintenance haemodialysis. *Nephrology (Carlton)*. 2005 Oct;10(5):459-63.
- 22- Zima T, Tesar V, Mestek O, Nemecek K. Trace elements in end-stage renal disease. 2. clinical implication of trace elements. *Blood Purif*. 1999; 17(4):187-98.



- 23- Lin TH, Chen JG, Liaw JM, Juang JG. Trace elements and lipid peroxidation in uremic patients on hemodialysis. *Biol Trace Elem Res.* 1996 Mar;51(3):277-83.
- 24-Tepel M, Echelmeyer M, Orrie NN, Zidek W. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: effect of hemodialysis. *Kidney Int.* 2000 Aug; 58(2): 867–872.
- 25- Dursun B, Dursun E, Suleymanlar G, Ozben B, Capraz I, Apaydin A, and et al. The effect of hemodialysis on accelerated atherosclerosis in diabetic patients: correlation of carotid artery intima-media thickness with oxidative stress. *J Diabetes Complicat.* 2009 Jul-Agu; 23(4): 257–264.
- 26- Karatas F, Karatepe M, Baysar A, Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Analytical biochemistry.* 2002 Dec; 311: 76-79.
- 27-Senol E, Ersoy A, Erdinc S, Sarandol E, Yurtkuran M. Oxidative stress and ferritin levels in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Feb; 23(2): 665-672.
- 28-Gonzalez Rico M, Puchades M J, Garcia Ramón R, Saez G, Tormos MC, Miguel A. Effect of hemodialysis therapy on oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Nefrologia.* 2006; 26(2): 218-225.
- 29-Mimic-Oka J, Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Opac M, Simic T, Dimkovic N et al. Evaluation of oxidative stress after Repeated Intravenous Iron Supplementation. *Ren Fail.* 2005; 27(3): 345–351.
- 30- Schettler V, Kuhn W, Kleinoeder T, Armstrong VW, Oellerich M, Muller GA, et al. No acute impact of haemodialysis treatment on free radical scavenging enzyme gene expression in white blood cells. *J Intern Med.* 2003 Feb; 253(2): 201–207.
- 31- Nakhjavani M, Esteghamati A, Nowroozi S, Asgarani F, Rashidi A, Khalilzadeh O. Type 2 diabetes mellitus duration:an independent predictor of serum malondialdehyde levels. *Singapore Med J.* 2010 Jul; 51(7): 582-585.
- 32- Naga S, Ellakkany S, Barghash A, Eldeep E, Fawzy R. Effect of peritoneal dialysis and hemodialysis on oxidation end products in end stage renal disease patients. *Bull Alex Fac Med.* 2007; 43(1): 103-4.
- 33- Filiopoulos V, Hadjiyannakos D, Takouli L, Metaxaki P, Sideris V, Vlassopoulos D. Inflammation and oxidative stress in end-stage renal disease patients treated with hemodialysis or peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs.* 2009 Dec; 32(12): 872-82.
- 34- Prabhakar E, Suchitra M, Seshadri V, Aparna R, Sivakumar V, Srinivasa R. Ferric reducing ability of plasma and lipid peroxidation in hemodialysis patients: Intradialytic Changes. *Int J Nephrol Urol.* 2010; 2(3): 414-421.
- 35- Maret W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. *J Nutr.* 2000 May;130 (5):1455S-8S.
- 36- Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarkar FH. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med.* 2004 Oct 15;37(8):1182-90.
- 37- Bunk MJ, Dnistrian AM, Schwartz MK, Rivlin RS. Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1989 Apr;190(4):379-84.
- 38- Tetiker T, Paydas S, Yuregir G, Sagllker Y. Trace Elements Alterations in Chronic Hemodialysis Patients With Chronic Renal Failure And Proteinuria. *Journal of Islamic Academy of Sciences.* 1993; 61: 33-35.
- 39- Hsu W, Lee K, Lin S. Clinical manifestations of trace metal abnormality in hemodialysis patients: a multicenter collaborative study. *Dial Transplantation.* 1997; 26, 15–20.

## Oxidative Stress and Trace Elements in Patients with Non-Diabetic Hemodialysis

Alipanahmogadam R, MSc<sup>1</sup>; Mazani M, PhD<sup>2</sup>; Naghizadeh Baghi A, PhD<sup>3</sup>; Nemati A, MSc<sup>4</sup>; Amani M, PhD<sup>5</sup>; Bashardoost B, MD<sup>6</sup>; Vatankhah AM, MSc<sup>7</sup>; Bohlooli SH, PhD<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Lecturer in Basic Sciences Dept., School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>2</sup> Corresponding author: Assistant Prof. of Basic Sciences Dept., School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. E-Mail: m.mazani@arums.ac.ir

<sup>3</sup> Assistant Prof. of Sport, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>4</sup> Lecturer in Nutrition Dept. School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>5</sup> Assistant Prof. of Basic Sciences Dept., School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>6</sup> Assistant Prof. of Internal Disease Dept. School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>7</sup> MSc in Biochemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

<sup>8</sup> Assistant Prof. of Physiology & Pharmacology Dept., School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** Several evidences show that oxidative stress is high among patients with hemodialysis. This study was aimed to investigate the oxidative stress and serum level of zinc and copper in patients with non-diabetic hemodialysis.

**Methods:** In a case-control study, 60 patients with non-diabetic hemodialysis referred to hemodialysis section, Ardabil Bou-Ali hospital, and 60 healthy individuals, matched by age and sex, were selected. In each group, lipid profile, blood glucose, creatinine, urea, total protein, albumin, zinc, copper, malondialdehyde, total antioxidant capacity, activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase were measured. The results were analyzed statistically by using Pearson correlation coefficient and Student-t test.

**Results:** The amount of zinc, blood sugar, cholesterol, triglyceride, total protein, albumin, high density lipoprotein-C and low density lipoprotein-C were significantly lower in patients with hemodialysis in comparison with those in normal individuals. The activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase in red blood cells and serum total antioxidant capacity were significantly high in patients in comparison with those in control group. However, serum concentrations of copper and malondialdehyde in two groups were not statistically different.

**Conclusion:** The results of this study show that increase of antioxidant enzymes activity reduces the oxidative stress status in patients with non-diabetic hemodialysis. Zinc deficiency was also observed in these patients.

**Key words:** Hemodialysis; Superoxide Dismutase; Glutathione Peroxidase; Oxidative Stress; Zinc