

## ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید و زنان باردار سالم

عیسی نورمحمدی<sup>۱</sup>، مصطفی آتش‌بسته<sup>۲</sup>، ابوالفضل مهدی‌زاده<sup>۳</sup>، محمد شعبانی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران  
<sup>۲</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران  
<sup>۳</sup> دانشیار، گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران  
<sup>۴</sup> استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** علی‌رغم اهمیت پره‌اکلامپسی به عنوان عامل اصلی مرگ مادر و جنین بخصوص در کشورهای در حال توسعه، هنوز علت بوجود آمدن آن مشخص نمی‌باشد. مطالعه حاضر جهت بررسی میزان تغییرات مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گلبول‌های قرمز زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید در مقایسه با زنان باردار سالم انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه مقطعی-مقایسه‌ای، میزان آسیب‌پذیری غشاء اریتروسیته‌ها از طریق اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز ۳۰ زن باردار سالم، ۲۵ زن مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و ۲۶ زن مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید بستری در بیمارستان‌های رسول اکرم (ص) و شهید اکبرآبادی دانشگاه علوم پزشکی ایران اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** حساسیت اریتروسیته‌ها در برابر پراکسید هیدروژن در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بطور معنی‌داری بیشتر از زنان باردار سالم بود ( $p < 0/05$ ). سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بطور معنی‌داری بیشتر از زنان باردار سالم بود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی بیماری پره‌اکلامپسی دارد. بنابراین تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و استفاده از مکمل‌های غذایی ممکن است نقش مؤثری در پیش‌گیری از وقوع پره‌اکلامپسی داشته باشند.

**واژگان کلیدی:** پره‌اکلامپسی، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، مالون‌دی‌آلدئید.

### مقدمه

پره‌اکلامپسی (preeclampsia) یک اختلال چند سیستمی است که به عنوان علت اصلی بیماری و مرگ و میر مادر و جنین شناخته شده است (۱). بیماری پره‌اکلامپسی پدیده‌ای

مخصوص حاملگی انسان است و تقریباً در ۱۰-۳ درصد حاملگی‌ها و بعد از هفته ۲۴ به وقوع می‌پیوندد (۲). از طرفی در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده که پره‌اکلامپسی ۳-۲ درصد کل حاملگی‌ها را دربرگرفته و هر ساله باعث مرگ ۶۰۰۰۰ نفر در سراسر جهان می‌گردد (۳). به نظر می‌رسد که پره‌اکلامپسی یک سندرم هماتوایمونولوژیکال است که سیستم قلبی عروقی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و با ادم، پروتئینوری و افزایش فشار خون همراه است (۴). تصور می‌شود ناهنجاری

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران، مصطفی آتش‌بسته

(email: atash.bio@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۲/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۷/۳۰

بررسی قرا گرفتند. ۱۰ میلی لیتر خون وریدی در سه ماهه سوم حاملگی گرفته شد که نیمی از آن درون لوله‌های حاوی هپارین جهت اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز ریخته شد. خون مادران پس از تعیین هموگلوبین توتال آنها، به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و لایه بافی کوت و پلاسما به آرامی جدا شد. نیمی از اریتروسیت‌های حاصل، ۲ بار با بافر فسفات حاوی NaCl با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (یک حجم بافر فسفات با  $\text{pH} = 7/4$  به اضافه ۹ حجم سدیم کلراید ۰/۱۵ مولار) شسته شده برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت. قسمت دوم اریتروسیت‌ها، ۳ مرتبه با سرم فیزیولوژی (سدیم کلراید ۹ درصد) شستشو داده شده و با همولیزات‌های تهیه شده برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز استفاده شدند. بقیه خون مادران جهت اندازه‌گیری کاتالاز به لوله‌های حاوی سیترات منتقل گردید. این نمونه‌ها نیز پس از سانتریفیوژ و جدا شدن پلاسما آنها بصورت پکت شده تا زمان اندازه‌گیری به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

برای بررسی آسیب‌پذیری غشاء در برابر اکسیداسیون، اریتروسیت‌های شسته شده با PBS مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا گلبول‌های قرمز در معرض پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) قرار داده شدند تا لیپیدهای غشا اکسید شده و حداکثر مالون‌دی‌آلدئید تولید شود. برای این منظور روش Stocks و Dormandy با توجه به تغییرات اعمال شده توسط Cynamon و همکارانش مورد استفاده قرار گرفت (۱۳، ۱۴). از اریتروسیت‌های تهیه شده به روش فوق دو سری سوسپانسیون ۵ درصد تهیه شد (۱۰۰ میکرولیتر اریتروسیت بعلاوه ۱/۹ میلی لیتر PBS). به این نحو که برای تهیه یک سوسپانسیون تنها از PBS استفاده شد. در حالی که بافر استفاده شده در سوسپانسیون دوم حاوی سدیم آزاید (مهار کننده کاتالاز به میزان ۲۶ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر بافر) بود. سپس  $\text{H}_2\text{O}_2$  (۰/۷۵ درصد برای نمونه‌های حاوی سدیم آزاید و ۳ درصد برای نمونه‌های بدون سدیم آزاید) به میزان هم حجم با سوسپانسیون به آن اضافه شد. نمونه‌های حاصل به مدت ۲ ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، در حالی که در فواصل کوتاه برای جلوگیری از ته‌نشین شدن سوسپانسیون، لوله‌ها تکان داده می‌شدند. به عنوان کنترل از آب مقطر به جای  $\text{H}_2\text{O}_2$  استفاده شد.

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید روش Buege و Aust مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). در این روش یک مولکول MDA با

اریتروسیت‌ها با تغییر ترکیبات لیپیدی پلاسما در ارتباط باشد. افزایش غلظت لیپیدهای پلاسما با افزایش غلظت لیپید غشاء RBC همراه است که باعث شکنندگی غشاء RBC و حساسیت آن در برابر اکسیداسیون می‌شود (۵).

علی‌رغم تحقیقات گسترده، علت و پاتوفیزیولوژی پره‌اکلامپسی مبهم باقی مانده است. برخی مطالعات به نقش اختلالات اندوتلیال عروق در پاتوفیزیولوژی پره‌اکلامپسی اشاره دارند. این مطالعات نشان می‌دهند که فشارهای اکسیداتیو به صورت افزایش مواد اکسید کننده در ایجاد این بیماری نقش مهمی دارند. بعلاوه افزایش سطح محصولات ناشی از پراکسیداسیون چربی‌ها و تغییر در عملکرد سیستم دفاعی آنتی‌اکسیداتیو، که دلیلی بر افزایش فشارهای اکسیداتیو هستند، نیز نقش بسیار مهمی در ایجاد پره‌اکلامپسی دارند (۸-۶). در شرایط طبیعی بدن (Reactive Oxygen Species: ROS: گونه‌های فعال اکسیژن) و آنتی‌اکسیدان‌ها در یک حالت متعادل باقی می‌مانند. زمانی که این تعادل در جهت افزایش ROS مختل گردد باعث ایجاد فشار اکسیداتیو (Oxidative stress: OS) در فرد می‌شود (۹). بطور کلی دو نوع اصلی از رادیکال‌های آزاد در بدن وجود دارد که شامل گونه‌های فعال اکسیژن و گونه‌های فعال نیتروژن می‌باشد (۱۰، ۱۱). در حالت طبیعی برخی مولکول‌ها تحت عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها، ROS را به  $\text{H}_2\text{O}$  تبدیل کرده و از افزایش تولید ROS جلوگیری می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیماتیک شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلووتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) مسؤؤل محافظت‌های داخل سلولی بوده و مولکول‌های غیر آنزیمی مثل  $\alpha$  توکوفرول و کاروتنوئیدها نیز در دفاع خارج سلولی نقش دارند (۱۲).

بنابراین با توجه به اهمیت عوامل بیوشیمیایی فوق‌الذکر خصوصاً در دوران بارداری و حالت پره‌اکلامپسی و با توجه به نتایج متفاوت در تحقیقات محققین مختلف، طرح تحقیقاتی حاضر به منظور مطالعه سطح عملکرد این آنزیم‌ها در زنان باردار سالم و زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در ایران انجام شد.

## مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی - مقایسه‌ای، ۸۱ زن باردار مراجعه کننده به بیمارستان‌های حضرت رسول اکرم (ص) و شهید اکبرآبادی شامل ۳۰ زن دارای حاملگی طبیعی، ۲۵ زن مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و ۲۶ زن مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید که از مراقبت دوران بارداری یکسانی برخوردار بودند، مورد

## یافته‌ها

میانگین سنی ( $\pm$  انحراف معیار) مبتلایان به پره‌اکلامپسی شدید، پره‌اکلامپسی خفیف و زنان باردار سالم به ترتیب  $۲۶/۹ \pm ۴/۵$ ،  $۲۶/۴ \pm ۳/۹$  و  $۲۵/۵ \pm ۴/۱$  سال بود و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد (NS). میزان فشار سیستولیک ( $۱۳۴/۶ \pm ۴/۹$  میلی‌متر جیوه) و دیاستولیک ( $۸۶/۴ \pm ۴/۶$  میلی‌متر جیوه) خون در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف بیشتر از زنان باردار سالم (فشار سیستولیک  $۱۰۹/۳ \pm ۶/۷$  میلی‌متر جیوه و فشار خون دیاستولیک  $۷۲/۵ \pm ۵/۶$  میلی‌متر جیوه) بوده و در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید (فشار سیستولیک  $۱۵۴/۸ \pm ۱۲$  میلی‌متر جیوه و فشار خون دیاستولیک  $۱۰۳/۹ \pm ۱۱/۲$  میلی‌متر جیوه) از هر دو گروه قبلی بیشتر بود ( $p < ۰/۰۵$ ). میزان حجم توده بدنی (BMI) در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی ( $۳۳/۹ \pm ۲/۲$  کیلوگرم بر مترمربع در پره‌اکلامپسی شدید و  $۳۳/۲ \pm ۳/۱$  کیلوگرم بر مترمربع در پره‌اکلامپسی خفیف) بیشتر از زنان باردار سالم ( $۲۷/۷ \pm ۳/۵$  کیلوگرم بر مترمربع) بود ( $p < ۰/۰۵$ )، در حالی که تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر BMI بین زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید وجود نداشت (NS).

میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) تولید شده از لیپیدهای غشاء گلبول قرمز که در معرض یک اکسید کننده قوی یعنی  $H_2O_2$  قرار داشتند (در حضور یا بدون حضور سدیم آزاید) در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید و خفیف بیشتر از زنان باردار سالم بود که نشان دهنده آسیب پذیری بیشتر غشاء گلبول‌های قرمز زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در اثر استرس اکسیداتیو بوده است ( $p < ۰/۰۵$ ) (جدول ۱). با استفاده از آزمون آماری Scheffe مشخص گردید میزان مالون دی‌آلدهید (در حضور سدیم آزاید) در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید بطور معنی‌داری بیشتر از زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف بود ( $p < ۰/۰۵$ ).

**جدول ۱- آسیب‌پذیری گلبول‌های قرمز بر حسب میزان تولید مالون دی‌آلدهید در زنان باردار سالم و مبتلایان به پره‌اکلامپسی\***

زنان باردار سالم (n=۳۰)	پره‌اکلامپسی خفیف (n=۲۵)	پره‌اکلامپسی شدید (n=۲۶)	
مالون دی‌آلدهید			
با حضور آزاید	$۴۵۷/۱ \pm ۴۱/۲$	$۵۷۶/۵۳ \pm ۳۲/۷$	$۶۲۶/۷ \pm ۴۶/۵$
مالون دی‌آلدهید بدون حضور آزاید	$۳۶۹/۲۹ \pm ۴۵/۵۴$	$۴۸۶/۲ \pm ۳۱/۳$	$۵۰۹/۹ \pm ۴۴/۸$

\* اختلاف معنی‌داری بین مبتلایان به پره‌اکلامپسی و زنان باردار سالم و بین زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید و پره‌اکلامپسی خفیف مشاهده شد ( $p < ۰/۰۵$ ).

دو مولکول TBA واکنش داده و ترکیبی با رنگ قرمز تولید می‌کند که پرتوهای با طول موج حدود  $۵۳۵-۵۳۲$  نانومتر را جذب می‌کند (۱۶). مطابق این روش ابتدا یک محلول TCA-HCl شامل تری‌کلرواستیک اسید ۱۵ درصد (w/v)، تیوباربیتوریک اسید  $۰/۳۷۵$  درصد (w/v) و اسید کلریدریک N  $۰/۲۵$  تهیه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از نمونه فوق با ۲ میلی‌لیتر از محلول TCA-TBA-HCL مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار داده شدند. سپس لوله‌ها به سرعت با استفاده از آب سرد خنک شده و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شدند. جذب مایع رویی آن در  $۵۳۵$  نانومتر در برابر شاهد (blank) خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدهید با استفاده از ضریب خاموشی (extinction coefficient) آن که عبارت از  $M-1cm-1$  از  $۱۰۵ \times ۱/۵۶$  است محاسبه شد. نتایج بر حسب  $nmol/grHb$  گزارش شد.

اندازه‌گیری گلوکوتاتیون پراکسیداز به روش آنزیمی و از طریق روش تغییر یافته Anderson و همکارانش انجام شد (۱۷). در این روش سرعت اکسیداسیون گلوکوتاتیون توسط  $H_2O_2$  که بوسیله گلوکوتاتیون پراکسیداز موجود در همولیزیت کاتالیز می‌گردد، سنجیده می‌شود. گلوکوتاتیون اکسید شده حاصل، تحت اثر آنزیم گلوکوتاتیون ردوکتاز مجدداً احیا شده، یک مولکول NADPH به NADP تبدیل می‌شود. با تغییرات جذب NADPH در  $۳۴۰$  نانومتر می‌توان به سرعت تولید گلوکوتاتیون اکسید پی‌برد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از کیت Randox انجام شد. در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز جهت تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود.

این رادیکال‌ها 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride واکنش داده و رنگ قرمز فورمازان تولید می‌کنند. میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر حسب میزان مهار این واکنش مشخص می‌گردد (۱۸). روش مورد استفاده در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز در گلبول‌های قرمز روش کار رفته توسط هوگوبابی (Hugo Aebi) بود. در این روش سرعت تجزیه سوپراکسید  $H_2O_2$  در  $۲۴۰$  نانومتر به وسیله اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری می‌شود (۱۹).

داده‌های حاصل ابتدا از نظر نرمال بودن توزیع تست آماری شدند. با تأیید نرمال بودن داده‌ها، بررسی مقایسه‌ای توسط نرم افزار آماری (SPSS (version 12) به روش ANOVA و سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد از تست Scheffe استفاده گردید.

نیز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بطور معنی‌داری بیشتر از زنان باردار سالم بود.

از آنجایی که علی‌رغم تمام تحقیقات انجام شده در زمینه بیماری‌های همراه با فشار خون در دوران حاملگی، هنوز هم علل وقوع این نوع بیماری‌ها از پیچیدگی‌های فراوانی برخوردار می‌باشد و با توجه به این موضوع که بیماری پره‌اکلامپسی بخصوص در نوع شدید آن که به اکلامپسی منتهی می‌شود هنوز هم سلامت مادر و جنین را در جهان تهدید می‌کند، به نظر می‌رسد انجام تحقیقات گسترده‌تری جهت دستیابی به فاکتورهای پیش‌بینی‌کننده و درمان مناسب این بیماری ضروری است.

پره‌اکلامپسی به عنوان اختلالی که سیستم‌های متعددی را درگیر می‌کند، مطرح بوده و عموماً بر اثر وقوع یکسری حوادث ایمنونوتیک ایجاد می‌گردد. بر اساس تحقیقات انجام شده، در بیماری پره‌اکلامپسی نشانه‌هایی از اکسیداسیون لیپیدهای غشایی بر اثر افزایش استرس اکسیداتیو (ROS) مشاهده می‌شود. این مسئله بر اثر افزایش سطح سرمی مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها مشخص می‌گردد (۲۰). استرس اکسیداتیو در حقیقت عبارت است از حضور گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بدن، طوری که بر توانایی بدن در مقابله با آنها توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی غلبه کند. این حالت معمولاً در آترواسکلروزیس، سرطان‌ها، پره‌اکلامپسی و بسیاری از بیماری‌های دیگر مشاهده می‌شود (۲۱).

در کل، بیماری پره‌اکلامپسی یک موضوع بحث برانگیز بوده و به عنوان یک بیماری ناهمگن مطرح می‌شود. این امر احتمالاً باعث بوجود آمدن نتایج مختلف و متضاد از تحقیقات محققین مختلف در جوامع گوناگون گردیده است. برخی از محققین مانند Chamy و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در تحقیقات خود بر روی زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی و زنان دارای حاملگی سالم همراه با اشاره به افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید به کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید و گلوتاتیون پراکسیداز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی اشاره کرده‌اند (۲۲). Dirican و همکارانش نیز بر اساس مطالعات خود در سال ۲۰۰۵ کاهش میزان آنتی‌اکسیدان تام و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در مقایسه با زنان باردار سالم را بیان نموده‌اند (۲۰). از سوی دیگر برخی محققین مانند Lurba و همکارانش در سال ۲۰۰۴ با تحقیق بر روی زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی دریافتند هم‌زمان با عدم تغییر در میزان مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در مقایسه با زنان باردار سالم

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز گلبول‌های قرمز در زنان باردار سالم و زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین این سه گروه از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد ( $p < 0.05$ ). با استفاده از آزمون Scheffe برای مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد، مشخص گردید میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بطور معنی‌داری در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بیشتر از زنان باردار سالم بوده ( $p < 0.05$ )، ولی تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید وجود نداشت (NS). در مورد فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیز با استفاده از آزمون Scheffe مشخص شد میزان فعالیت این آنزیم بطور معنی‌داری در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید بیشتر از زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف بوده و در زنان باردار سالم از هر دو گروه قبلی کمتر بود ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زنان باردار سالم و زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید\*

زنان باردار سالم (n=۳۰)	پره‌اکلامپسی خفیف (n=۲۵)	پره‌اکلامپسی شدید (n=۲۶)	
۴۰/۹±۸	۵۹/۸±۶/۷	۶۷±۷/۸	گلوتاتیون پراکسیداز <sup>†</sup> (U/grHb)
۱۲۸۸/۱±۱۹۳/۵	۱۷۰۳/۸±۱۲۷/۶	۱۷۶۲/۵±۱۴۵/۲	سوپراکسید دیسموتاز <sup>‡</sup> (U/grHb)
۱۵۲/۶±۸/۴	۱۶۶/۲±۹/۲	۱۶۷/۶±۱۲/۱	کاتالاز <sup>‡</sup> (K/grHb)

\* تفاوت معنی‌دار بین سه گروه از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ( $p < 0.05$ ).  
<sup>†</sup> میزان فعالیت این آنزیم بطور معنی‌داری در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید بیشتر از زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف بوده و در زنان باردار سالم از هر دو گروه قبلی کمتر بود ( $p < 0.05$ ).  
<sup>‡</sup> میزان فعالیت این آنزیم‌ها بطور معنی‌داری در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بیشتر از زنان باردار سالم بود ( $p < 0.05$ ).

## بحث

این مطالعه نشان داد که حساسیت اریتروسیت‌ها در برابر پراکسید هیدروژن در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید بطور معنی‌داری بیشتر از زنان باردار سالم بود. هم‌چنین سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز

گونه‌های اکسیژن فعال (سوپراکسیدها) بخصوص در بافت جفت در پره‌اکلامپسی به اندازه‌ای است که در نهایت بر دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن غلبه کرده و مسیر بوجود آمدن بیماری پره‌اکلامپسی را هموار می‌کند (۲۵).

در این مطالعه فقط میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز سطح پراکسیداسیون لیپیدها در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی و زنان باردار سالم بررسی شده است. لذا انجام مطالعات بیشتر در زمینه مکانیسم‌های مولکولی متعدد دخیل در ایجاد بیماری پره‌اکلامپسی و تاثیر درمان بوسیله آنتی‌اکسیدان‌ها ضروری بنظر می‌رسد.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که افزایش تولید مالون دی‌آلدهید در پره‌اکلامپسی می‌تواند نشان دهنده افزایش آسیب پذیری غشاء گلبول‌های قرمز در این افراد باشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی احتمالاً بصورت بازخورد (*Feed back*) و در پاسخ به افزایش میزان گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) بوده و در جهت جلوگیری از بروز بیماری پره‌اکلامپسی می‌باشد. افزایش حجم توده بدنی (BMI) ممکن است بدلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، نفوذپذیری عروق و در نهایت ادم خارج رگی باشد. افزایش فشار سیستولی و دیاستولی خون در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید می‌تواند به دلیل عدم عملکرد مناسب گشادکننده‌های رگی مانند پروستاگلین‌ها و NO در برابر عملکرد منقبض‌کننده‌های رگی مانند ترومبوکسان A<sub>2</sub> و اندوتلین قابل توجیه باشد.

### تشکر و قدردانی

گردآورندگان این مقاله از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به جهت فراهم‌آوری منابع مالی و از خانم دکتر صیفی و خانم دکتر صحرايي که در جمع‌آوری نمونه‌های مناسب کمک شایان توجهی نمودند و همچنین از آقای دکتر حسین مهرالحسنی که بر انجام صحیح آزمون‌های آماری نظارت داشتند، سپاسگزاری می‌نمایند.

افزایش یافته و همچنین میزان ویتامین C در سرم این بیماران کاهش می‌یابد (۲۳). Sharma و همکارانش در سال ۲۰۰۵ و Zhang و همکارانش در سال ۱۹۹۱ نیز در تحقیقات خود بر افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی در مقایسه با زنان باردار سالم ادعان داشته‌اند (۲۴، ۲۱). بعلاوه Nurmohammadi و همکارانش در مطالعات خود به کاهش سطح عنصر روی در سرم زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی اشاره کرده‌اند که این امر ممکن است به دلیل نقش روی به عنوان کوفاکتور آنزیم سوپراکسید دیسموتاز قابل توجیه باشد (۲۶). لذا با افزایش سنتز آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بدن احتمالاً میزان نیاز بدن به عنصر روی نیز افزایش می‌یابد.

نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست آمده از مطالعات Lurba و همکارانش، Sharma و همکارانش و بالاخره Zhang و همکارانش همخوانی داشته (۲۳، ۲۱، ۲۴) و به وضوح افزایش میزان مالون دی‌آلدهید به عنوان شاخص اکسیداسیون لیپیدها و نیز افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در مقایسه با زنان باردار سالم را نشان داد. بعلاوه بر اساس مطالعات دموگرافیک انجام شده مشخص گردید که حجم توده بدنی احتمالاً به دلیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء اندوتلیال و افزایش نفوذپذیری عروق، همچنین فشار سیستولی و فشار دیاستولی احتمالاً به دلیل افزایش منقبض‌کننده‌های رگی مانند ترومبوکسان A<sub>2</sub> در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی خفیف و شدید نسبت به زنان باردار سالم افزایش می‌یابد. بنابراین علی‌رغم وجود نتایج متضاد در زمینه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پره‌اکلامپسی، تأثیر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در شکل‌گیری این بیماری انکارناپذیر به نظر می‌رسد. لذا وجود عوامل آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک و غیرآنزیماتیک که در بدن بصورت هماهنگ و یکپارچه عمل می‌کنند، جهت جلوگیری از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد بیماری پره‌اکلامپسی می‌تواند ضروری باشد. اگر چه این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پره‌اکلامپسی را نشان داده است ولی احتمالاً شدت افزایش

### REFERENCES

- Rodrigo R, Parra M, Basco C, Fernandez V, Barja P, Guajardo J, et al. Pathophysiological basis for the prophylaxis of preeclampsia through early supplementation with antioxidant vitamins. *J Pharmacol Ther* 2005;107: 177-97.
- Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 222-235.
- Lepoton, Briley Al, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for preeclampsia (VIP trial): randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 1145-54.

4. Spickett CM, Reglinski J, Smith WE, Wilson R, Walker JJ, McKillop J. Erythrocyte glutathione balance and membrane stability during preeclampsia. *Free Radic Biol Med* 1998; 24:1049-55.
5. Cunningham FG, Lowe T, Guss S, Mason R. Erythrocyte morphology in women with severe preeclampsia and eclampsia. Preliminary observations with scanning electron microscopy. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153: 458-63.
6. Poranen AK, Ekblad U, Uotila P, Ahotupa M. Lipid peroxidation and antioxidants in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Placenta* 1996; 17:401-405.
7. Sagol S, Ozkinay E, Ozsener S. Impaired antioxidant activity in women with pre-eclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 1999; 64:121-27.
8. Serdar Z, Gur E, Colakogullari M, Develioglu O, Sarandol E. Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mild and severe preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 268:19-25.
9. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3: 28.
10. Pierce JD, Cackler AB, Arnett MG. Why should you care about free radicals? *RN* 2004; 67:38-42. quiz 43
11. Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, Goldberg JM, Miller KF, Agarwal A, et al. The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of *in vitro* fertilization. *Int J Fertil Women's Med* 2000; 45: 314-20.
12. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Experiment Pathol* 1989; 70: 737-57.
13. Stocks J, Dormandy TL. The Autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol* 1971; 20: 95-111.
14. Cynamon HA, Isenberg JN, Nguyen CH. Erythrocyte malondialdehyde release *in vitro*: a functional measure of vitamin E status. *Clinica Chimica Acta* 1985; 151: 169-76.
15. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52:302-10.
16. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186: 407-21.
17. Anderson HR, Nielson J, Nielson F, Grandsean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocyte. *Clin Chem* 1997; 43: 552-56.
18. McCord JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase an enzyme function for erythrocyte peroxidase (hemocuprein) *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
19. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-26.
20. Dirican M, Safak O, Uncu G, Sarandol E. Susceptibility of red blood cell lipids to *in vitro* oxidation and antioxidant status in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol* 2006; 38: 7-13.
21. Sharma JB, Sharma A, Bahador A, Vimala N, Satyam A, et al. Oxidative stress markers and antioxidant levels in normal pregnancy and preeclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 2006; 94: 23-27.
22. Chamy M.V, Lepe J, Catalan A, et al. Oxidative stress is closely related to clinical severity of preeclampsia. *Biological Research* 2006; 39: 229-236.
23. Lurba E, Gratacos E, Cabero L, Cabero L, Dominguez C. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status preeclampsia and normal pregnancy. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 557-70.
24. Zhang LC, Liang GD, Yang MG, Zhang YH, Shi FT. Significance of changes in serum Superoxide dismutase level in hypertensive syndrome of pregnancy. *Chinese Med J (Engl)* 1991; 104: 472-75.
25. Sikkema JM, Rijn BB, Franx A, Bruinse HW, Roos R, Stroes ESG, et al. Placental superoxide dismutase is increased in preeclampsia. *Placenta* 2001; 22: 304-308.
26. Nourmohammadi I, Akbaryan A, Fatemi Sh, Meamarzadeh AR, Nourmohammadi E. Serum Zinc concentration in Iranian preeclamptic and normotensive Pregnant Women. *Mid East J Fam Med* 2008; 6: 30-32.