مقایسه میزان استرس اکسیداتیو در افراد سیگاری و غیرسیگاری

اکرم رنجبر[1]، هاجر رجبیان[2]، یحیی ژند[2]، الهه میرزازاده[2]، اکرم اسماعیلی[2]، سارا قاسمی نژاد[2]، علی اکبرملکی راد[3]

چکیده

مقدمه: عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را استرس اکسیداتیو گویند . یکی از منابعی که حاوی رادیکال‌های آزاد فراوانی است و به نظر می‌رسد استرس اکسید اتیو را القاء می‌کند سیگارمی‌باشد.

روش کار: این پژوهش یک مطالعه مقطعی تحلیلی بود که در آن از پرسش‌نامه‌ای که حاوی اطلاعاتی در مورد سن ، جنس ،میزان تحصیلات،سابقه استعمال سیگار، تعداد سیگار مصرفی در روز و ابتلابه بیماری‌های خاص بود، استفاده شد. گروه مورد را ۴۳ نفر سیگاری با سابقه استعمال سیگار بیش از پنج سال و میانگین سنی ۳۷/۷ سال و گروه شاهد را نیز۴۳ نفر تشکیل می دادند که از نظر سن و جنس با گروه مورد همسان شده بودند. جهت بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیو آزمایشاتی شامل سنجش ظرفیت تام آنتی اکسیدان‌های پلاسما[4]، گروه های تیول[5] ، پراکسیداسیون لیپیدی[6] و فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز[7] انجام گرفت.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که میزان ظرفیت آنتی اکسیدان‌های تام پلاسما در افرادسیگاری۰/۰۳ ± ۱/۸۹میکرو مول بر میلی لیتر و در افراد غیرسیگاری ۰/۰۴ ± ۲/۲۴ میکرومول برمیلی لیتراست. هم‌چنین میزان گروه‌های تیول پلاسما در افراد غیر سیگاری۰/۴۸ ± ۰/۸۱میکرو مولار و در افراد سیگاری ۰/۰۸ ± ۰/۲۲میکرو مولار است. میزان p در داده های فوق برابر با ۰/۰۱ بود. فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز و میزان پراکسیداسیون لیپیدی در افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیر سیگاری افزایش نشان داد اما این افزایش معنی دار نبود . هم‌چنین ارتباط بین سابقه استعمال سیگار و پارامترهای استرس اکسیداتیو بررسی شد که این ارتباط معنی دار نبود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصله میزان استرس اکسیداتیو در افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیر سیگاری افزایش نشان داد که نمایان‌گر افزایش رادیکال‌های آزاد در افراد سیگاری است . به این ترتیب به نظر می‌رسد تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در افراد سیگاری در کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد موثر باشد .

واژگان کلیدی : سیگار کشیدن ،استرس اکسید اتیو ، رادیکال‌های آزاد ، آنتی اکسیدان

مقدمه

رادیکال‌های آزاد اتم ها یا مولکول‌هایی هستند که به خاطر داشتن الکترون منفرد دائماً در بدن در گردش بوده و به ماکرومولکول‌های بدن جانداران مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها وDNA آسیب وارد می‌کنند. برای مقابله با آسیب حاصل از رادیکال‌های آزاد سیستمی تحت عنوان «سیستم دفاع آنتی اکسیدان» در بدن وجود دارد. در حالت عادی در بدن یک فرد سالم بین تولید رادیکال‌های آزاد و این سیستم توازن برقرار است، اما اگر به هر دلیلی این تعادل به هم بخورد، مثلا فرد بیمار شود یا در برابر آلوده کننده‌های محیطی قرار گیرد، به طوری که تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یابد یا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تضعیف شود، حالتی به نام «استرس

۱- عضو هیات علمی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک.
۲- دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک.
۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی.

4- FRAP: Ferric reducing ability of plasma.
5- Thiol groups
6- TBARS : Thiobarbituricacid reactive substances.
7- GGT : Gamma glutamy transpeptidase.

اکسیداتیو» پیش می آید .این حالت در ایجاد بیش از یک صد نوع بیماری مختلف دخالت دارد(۱). یکی از عواملی که به نظر می‌رسد استرس اکسید اتیو را القاء کند، سیگار می‌باشد(۲). از طرفی حدود ۲۶ درصد جمعیت مردان و ۳ درصد جمعیت زنان در ایران سیگاری می‌باشند(۳) و در هر ۱ سی‌سی دود سیگار ۰/۳ تا ۳/۳ بیلیون ذره با بیش از ۴۰۰۰ جزء شامل ۴۳ ماده سرطان‌زای شناخته شده وجود دارد(۴) که منبعی غنی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد و احتمالاً در تخریب فیبرهای الاستیکی،ایجاد آمفیزم و سرطان دخالت دارد. دود سیگار حاوی اکسیدهای نیتروژن از جمله NO_2 می‌باشد که این ماده خود یک نوع رادیکال آزاد است(۵). بدین منظور در این بررسی،میزان آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد همانند ارزیابی میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما، پراکسیداسیون لیپیدی، گروه‌های تیول، و هم‌چنین فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز ارزیابی شدکه با توجه به نتایج آن می‌توان به افراد سیگاری پیشنهاداتی برای ارتقاء سطح سلامت آنان با مصرف بیشتر میوه وسبزیجات ارائه داد.

روش کار

این مطالعه از نوع مقطعی تحلیلی بود. پرسش‌نامه‌ای حاوی سئوالاتی درمورد سن، جنس، میزان تحصیلات، سابقه استعمال سیگار ، تعداد سیگار مصرفی در روز و ابتلا به بیماری‌های خاص تهیه شد. ۴۳ نفر سیگاری به عنوان گروه مورد با سابقه سیگاری بودن بیش از ۵ سال ومیانگین سنی ۳۷/۷ سال و۴۳ نفر غیر سیگاری (که از نظر سن و جنس با گروه مورد همسان شده بودند) به عنوان افراد شاهد انتخاب شدند. پرسش‌نامه توسط نمونه ها تکمیل گردید. از هر فرد ۵ میلی لیتر خون سیاهرگی گرفته شد.

در این مطالعه از موادی همانند ۵ و۵ دی تیوبیس-۲- نیترو بنزوئیک اسید[1]، تریس، ۱و۱و۳و۳ تترامتوکسی پروپان (شرکت سیگما آمریکا)، ۲-تیو باربیتوریک اسید[2]، n بوتانول (از شرکت مرک آلمان)، ۶ و ۴ و۲ تری پیریدیل-s- تریازین[3] (از شرکت فلوکا ایتالیا)، بافر گلایسین وگلوپا -c- سوبسترا (از شرکت زیست شیمی) استفاده شد.کلیه روش‌های این بررسی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Jasco ۷۸۰۰ Uv-visible انجام شده است.

برای اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی (TBARS) نمونه پلاسما با تری کلرواستیک اسید۲۰ درصد مخلوط و سپس با اسید سولفوریک ۰/۰۵ مولارشستشوداده شد سپس تیو باربیتوریک اسید ۲ درصد در سولفات سدیم۲ مولار اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. محصولات پراکسیداسیون لیپیدی به وسیله n بوتانول استخراج وجذب آنها ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد(۶).

برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدان‌های تام پلاسماز اندازه گیری توانایی پلاسما در احیای یون‌های فریک به فرو استفاده شد. کمپلکس بین Fe^{2+} وTPTZ دارای ماکزیمم جذب نوری ۵۹۳ نانومترارزیابی گردید(۷).

جهت اندازه گیری گروه‌های SH پلاسما از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج۴۱۲ نانومتر با معرف DTNB استفاده شد(۸).

1- DTNB.
2-TBA.
3-TPTZ.

برای ارزیابی فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز، جذب ۵ آمینو ۲نیترو بنزوات که درنتیجه واکنش L گاما گلوتامیل ۳ کربوکسیل ٤ نیترانیلید با گلایسین به دست آمد، در۴۰۵ نانومتر اندازه گیری شد(۹).

آزمون تی دانش‌آموزی برای ارزیابی معنی دار بودن تفاوت مشاهده شده بین میانگین پارامترهای استرس اکسیداتیو در گروه های مورد مطالعه استفاده و ارتباط بین پارامترهای فوق نیز به وسیله تست پیرسون بررسی شد. pکمتر از ۰/۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

هم‌چنین اصول اعلامیه هلسینکی در این مطالعه رعایت گردید.تمام آزمایشات در آزمایشگاه تحقیقات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد.

نتایج

یافته‌ها نشان داد که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد سیگاری ۰/۰۳ ± ۱/۸۹میکرو مول در میلی لیتر و در افراد غیرسیگاری ۰/۰٤ ± ۲/۲٤ میکرو مول در میلی لیتر می‌باشد. هم‌چنین میزان گروه‌های تیول پلاسما در افراد غیر سیگاری ۰/٤۸ ± ۰/۸۱ میلی مول و در افراد سیگاری ۰/۰۸ ± ۰/۲۲میلی مول بود. در داده‌های فوق p برابر با۰/۰۱ می‌باشد که نشان می دهد در افراد سیگاری میزان گروه‌های تیول و FRAP کاهش معنی‌دار داشته است. GGT وTBARS در افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیرسیگاری افزایش نشان داد اما این افزایش معنی دار نبود(جدول۱). هم‌چنین ارتباط بین سابقه استعمال سیگار و پارامترهای استرس اکسیداتیو بررسی شد که از نظر آماری معنی دار نبود.

جدول ۱ . وضعیت پارامترهای استرس اکسیداتیو در افراد مورد مطالعه

پارامترهای استرس اکسیداتیو	غیر سیگاری ۳۶ نفر (انحراف معیار ± میانگین)	سیگاری ۳۶ نفر (انحراف معیار ± میانگین)	P
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما میکرو مول در میلی لیتر	۲/۲۴ ± ۰/۰۴	۱/۸۹ ± ۰/۰۳	۰/۰۱
گروه‌های تیول پلاسما میلی مول	۰/۸۱ ± ۰/۴۸	۰/۲۲ ± ۰/۰۸	۰/۰۱
فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز واحد در لیتر	۷/۶ ± ۷/۸	۱۰/۹۴ ± ۱۱/۷۷	-
پراکسید اسیون لیپیدی نانو مول در میلی لیتر	۱۱/۳۵ ± ۳/۱۵	۱۲/۴۶ ± ۰/۰۴	۰/۰۱

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که در افرادی که سابقه استعمال سیگار بیش از۵ سال دارند ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما ، هم چنین میزان گروه‌های تیول پلاسما کاهش معنی‌داری یافته است و میزان

فعالیت آنزیم گاما – گلوتامیل ترانس پپتیداز ومیزان پراکسید اسیون لیپیدی در مقایسه با افراد غیرسیگاری افزایش نشان داده است، که این افزایش معنی دار نبود. با توجه به کاهش گروه‌های تیول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما می‌توان گفت در افراد سیگاری تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته است. در حالت عادی در بدن بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی تعادل برقرار است. ولی اگر به هر دلیلی این تعادل به هم بخورد و تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یابد سیستم آنتی اکسیدانی تضعیف می‌شود، برای مثال در افرادی که در تماس با آلوده کننده‌های محیطی همانند دود سیگار هستند. در تحقیقی که در کالیفرنیا روی سیگاری ها انجام شد میزان پراکسیداسیون لیپیدی و F_2 - ایزوپروستان ها در مقایسه با افراد غیر سیگاری افزایش معنی‌داری نشان داد(۱۰). در تحقیق دیگری محققین به این نتیجه رسیدند که مصرف ویتامین E و C باعث بهبود عملکرد اندوتلیال عروق در افراد سیگاری می‌شود. براساس مطالعات فوق دود سیگار یکی از عوامل مضر برای بدن از طریق تاثیر بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی است (۱۱). مطالعه حاضر نتایج این بررسی را تایید می‌کند. به طوری که ظرفیت آنتی اکسیدان تام پلاسما که با روش FRAP در نمونه خون افراد سیگاری مورد ارزیابی قرار گرفته در مقایسه با افراد غیر سیگاری کاهش یافته است. این روش بسیار آسان ، ارزان ، حساس و دقیق می‌باشد که تمام آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما به جز گلوتاتیون را می‌سنجد، به همین خاطر به منظور ارزیابی آسیب وارده به پروتئین‌های پلاسما ناشی از رادیکال‌های آزاد میزان گروه‌های تیول پلاسما نیز در افراد سیگاری سنجیده شد که در مقایسه با افراد غیرسیگاری کاهش معنی‌داری نشان داد. براساس نتایج به دست آمده، دود سیگار حاوی موادی است که باعث ایجاد آسیب به ماکرومولکول‌های بدن انسان می‌شود. به طوری که افزایش آسیب ناشی از رادیکال آزاد به ماکرومولکول‌هایی همانند لیپیدها ، پروتئین‌ها و نیز سیستم آنتی اکسیدان در این مطالعه نشان داده شده است. رادیکال آزاد باعث آسیب به DNA می‌شود که این مورد یکی از مواردی است که سرطان زایی سیگار را تایید می‌کند. به طوری که رادیکال آزاد هیدروکسیل با بازهای گوانین در DNA متصل می‌شود و ایجاد متابولیت‌هایی می‌کند که سرطان زا هستند . با توجه به موارد فوق می‌توان به افرادی که سیگار می کشند یا در معرض دود آن هستند توصیه نمود که برای کاهش آسیب ناشی از رادیکال آزاد و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، میوه، سبزیجات و آنتی اکسیدان‌های مکمل استفاده کنند. البته در مورد اثرات سمی دود سیگار تحقیقات بیشتری در سطح مولکولی مورد نیاز است.

منابع

1. Halliwell B. Antioxidant characterization ,methodology & mechanisms. Biochem Phamacol 1995; 49(2) : 1341-1348.
2.Cochranc CG .Cellulur injury by oxidunts. Am J Med 1991;2236-255.

3.Ahmadi G, Khalili H,Jooibar R. Prevalence of cigarette smoking in Iran , Psjchol Rep 2001 , 89(2):339-41.
4.Robbins, Kumar, Cotran.Basic pathology. 7th edition. 2002, p. 274.
5.Prjorw A, Lightsenj GW. Mechanism of no reactions initiotion of lipid peranidtion and the production of Hno2. Science 1981; 214 , 435 -440.
6. Sathok. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determind by a new colorimetric method .Clin Chem Acta 1978 ; 90 : 37-73
7. Iris F , Bennzei f , Strain S . Ferric reducing antioxidant assay. Methods Enzymal 1999 ; 292:12-27.
8 . Hu Ml , Dillard Cy . Plasma shand GSH measurement .Methods Enzymol 1994 ; 233: 385 -87.
9. Novogrodsky A,Tate SS , Mister A . Gammaglutamyl transpeptidase is a lymphoid cell surface marker : relationship to blastogenesis ,differential and neoplasia. Proc Natl Acal Sci USA 1976; 37 : 2414.18.
10. Block G , Dietrich M , Norkus EP , Morrow JD. Factors associated with oxidative stress in human populations . Am J Epidemid 2002; 1.156 (3) : 274 -85.
11. Antoniades C , Tousoulis d , Tentouris C. Effects of antioxidant vitamins C and E on endothelial function and thrombosis fibrinoliysis system in smokers . Thromb Haemost 2003; 89(6): 990-5.