دراسة مستوى بعض الإنزيمات في مرضى ارتفاع ضغط الدم

منال عدنان إبراهيم ، نزار احمد ناجي

قسم الكيمياء ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير مرض ارتفاع ضغط الدم على بعض المتغيرات الكيموحيوية في الدم، ومقارنتها مع القيم الطبيعية (مجاميع السيطرة) والبالغ عددهم (125) (47 إناث و72 ذكور) والذين تراوحت أعمارهم بين (21–70) سنة وشملت الدراسة المتغيرات(انزيم ميتالواندوببتديز ، انزيم اللاكتيت ديهايدروجنيز ، انزيم AST ،انزيم ALT ،انزيم SOD ،و MDA)

وقد بينت نتائج الدراسة لأنزيم ميتالواندوببتديز في مصل دم الأصحاء ومرضى ضغط الدم عدم تأثر فعالية الأنزيم (مجموعة الأصحاء) بالجنس والعمر والتدخين، بينما وجد ارتفاع معنوي في فعالية الأنزيم في مصل دم مجموعة المرضى من كلا الجنسين وبفئات عمرية مختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة ، وتبين عدم تأثر فعالية أنزيم ميتالواندوببتديز في مجموعة المرضى بالجنس والعمر والتدخين ،في حين تبين ارتفاع الفعالية مع زيادة مدة المرض.

كما بينت النتائج ارتفاع معنوي في فعالية أنزيم اللاكتيت ديهيدروجنيز في مرضى ضغط الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة . أما إنزيمي AST ALT, فقد أظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى أنزيم ASTلدى مرضى ضغط الدم (بوزن طبيعي و الوزن زائد)لم يظهر أنزيم ALT أي فرق معنوي لدى مرضى ضغط الدم (بوزن طبيعي ووزن زائد) مقارنة مع الأصحاء .

وكذلك شملت هذه الدراسة متابعة مستوى المتغيرات الكيموحيوية الأخرى في مرضى الضغط، إذ وجد انخفاض معنوي في فعالية أنزيم SOD مع طول الفترة الزمنية للمرض، وارتفاع معنوي في مستوى MDA عند مستوى ($P\leq0.05$) لدى مرضى ضغط الدم مقارنة بالأصحاء

وعند احتساب معامل الارتباط الخطي لتوضيح العلاقة بين المتغيرات الكيموحيوية فقد تبين وجود ارتباط طردي معنوي($P\leq0.05$) بين إنزيمي SODو LDH و(عامل الخطورة LDL/HDL)،كذلك وجدت علاقة ارتباط عكسي بين أنزيم SOD و MDA .

المقدمة

ارتفاع ضغط الدم High Blood Pressure (Hypertension)

لقد عرف العلماء حالة ارتفاع ضغط الدم عندما تصبح القيمة أكبر أو تساوي (140/90) ملم زئبق بصورة مستمرة[1]. وغالبا" ما يطلق على ارتفاع ضغط الدم بالقاتل الصامت لان أكثر المصابين به لا يشكون من أية أعراض .وهو عامل خطورة رئيس بالنسبة للأوعية القلبية والذي يساهم في تطور عدد من الأمراض مثل أمراض القلب التاجية Coronary Heart Diseases (CHD) والنزف الدماغي Cerebral Hemorrhage واعتلال شبكة العين Hypertensive Retinopathy والاعتلال الكلوي [2] Nephropathy.

أنزيمميتالوا ٍندوببتديز Metalloendopeptidase

يعد أنزيم ميتالوا ٍندوببتديز (EC 3.4.24.11) من عائلة البتايديزات من نوع II وهي من أنزيمات التحلل المائي[3].و الاسم العام للأنزيم هو ميتالوا ٍندوببتديز Metalloendopeptidase إذ يشير المقطع ميتالو إلى أن الأنزيم من الأنزيمات المعدنية إذ يحوي على عنصر الخارصين كعامل مرافق[4][5] في حين يشير المقطع إندوببتديز إلى عمل الأنزيم على كسر الأواصر الببتيدية للببتيدات والبروتينات داخل سلسلة الببتيد[6]، ويوجد الأنزيم في أعضاء مختلفة من جسم الحيوان والإنسان، كما يوجد في البكتريا والطفيليات[7].

إن إنزيمميتالوا ٍندوببتديز يعمل على تحليل العديد من الببتيدات الهرمونية والعصبية داخل الجسم وا ٍبطال نشاطها الأيضي (Metabolic inactivation) [8] ،كما يعمل على تحليل البراديكنين (Bradykinin) وهو عبارة عن ببتيد يتكون من تسعة أحماض أمينية، وتحليل مواد أساس موجودة في أنسجة مختلفة للكائن الحي مثل الإنسولين (lnsulin) والاوكسي توسين (Oxytocine) وسوماتوستاتين (somatostatin) والنيوروتنسين (Neurotensin) والكلوكاكون (Glucagon)[9].والكازئين (Casein) والهيموكلوبيولين (Haemoglobulin) والالدوليز (Aldolase) وأيضا ألبومين مصل البقر (Bovine serum albumin,BSA)[10].

إن لأنزيمميتالوا ٍندوببتديز أهمية سريرية فقد تبين إرتباط فعاليته بمرض العجز الكلوي المزمن والتهاب كبيبات الكلى (Glomerulonephritis) للبالغين وللنساء الحوامل[11] كما وجد ارتفاع فعاليته عند الإصابة ببعض الامراض مثل امراض الكبد (Liver diseaseas)[12] والازمة الربوية الحادة والروماتيزم ، في حين وجد بعض الباحثون ان فعالية انزيمميتالوا ٍندوببتديز تنخفض لدى المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية الحادة (Acute myocardial necrosis) وكذلك لدى المرضى المصابين بالتهاب المفاصل (Arthritis)[13]. كما أشار الباحثون ان لانزيم ميتالوا ٍندوببتديز علاقة ببعض الامـــراض كمرض الزهايمر (Alzheimer disease, AD)[14] وداء السكري (Diabetes mellitus) من النوع الثاني (Type 11) وأيضا عند حالات الاصابة بالانفلونزا (Influenza) والإسهال الحاد (Acute diarrhea) والعديد من امراض السرطان [15]، فقد تبين ان خلايا اللوكيميا تؤشر مستويات عالية الفعالية الانزيمية كذلك تبين ان مستضد الـ (Common acute lymphocytic (CALLA)

(eukemia antigen متعلق بـ(85%) من حالات لوكيميا الاطفال (Childhood leukemia)[16].

إنزيم اللاكتيت ديهايدروجنيز Lactate dehydrogenase

ينتمي هذا الأنزيم إلى مجموعة أنزيمات الأكسدة والاختزال (Oxidoreductase) (EC1.1.1.27) [17] وهو أحد الأنزيمات الخلوية الذي يعمل على مادتي أساس (Substrate) [18]، إذ يحفز أكسدة اللاكتيت إلى البايروفيت بوجود NAD^+ كمستقبل لايون الهيدروجين وان هذا التفاعل عكسي، ويفضل التوازن باتجاه اختزال البايروفيت إلى اللاكتيت،[19].

أنزيما ALT و AST

ألنين أمينو ترانسفريز (ALT) Alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2) واسبارتيت امينو ترانسفيريز (AST) Aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1) هما عضوان من عائلة المجموعة الناقلة لمجموعة الامين [20]، يوجد إنزيم (ALT) بتراكيز عالية في الكبد، ويوجد أيضاً ولكن بتراكيز أقل في كل من عضلات القلب، والكلية، والبنكرياس، ومصل الدم . أما إنزيم AST فانه يوجد بتراكيز عالية في عدد من أنسجة الجسم كالقلب، والكبد، والكلية، وبتراكيز أقل في أنسجة أخرى كالعضلات، والدماغ، والرئة [21]، وقد يرتفع مستوى تركيز كل من AST و ALT في مصل الدم، وذلك عائد بصورة رئيسة الى الضرر الحاصل في انسجة الجسم الحاوية على هذين الانزيمين.

إنزيم Superoxide Dismutase (SOD)

يعد إنزيم(EC 1.15.1.1) Superoxide Dismutase (SOD) من البروتينات المعدنية الموجود في كل الكائنات الحية[22]،وقد عزل هذا البروتين لأول مرة في سنة 1959 كبروتين يحتوي على النحاس لذلك سمي SOD الدم بـ Erythrocuprein ،وسميSOD الجهاز العصبي بـ Cerebrocuprein وسمي SOD الكبدي بـ[23] Hepatocuprein . ويعد SOD احد الدفاعات الخلوية الرئيسة ضد ايون السوبر اوكسايد Superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$)[24]. إذ يعمل على تحفيز تحول جزيئتي Superoxide ($O2^{\cdot-}$) إلى بيروكسيد الهيدروجين وجزيئه الأوكسجين كما موضح أدناه [25]

$$O2^{\cdot-} + O2^{\cdot-} \xrightarrow[SOD]{2H^+} H2O2 + O2$$

وهناك ثلاثة أنواع من إنزيم (SOD) موجودة في أنسجة الثدييات التي تحفز التفاعل نفسه مع تشابه الفعالية ، إذ احدهما يحتوي على عنصر المنغنيز (Mn-SOD) ويقع في الحشوة الداخلية للمايتوكوندريا[26] و أما النوع الثاني فيحتوي على عنصر الحديد (Fe-SOD) ويوجد في الخلايا البدائية النواة ([27] Prokaryotes) ، والنوع الثالث يحتوي على كل من Cu^{+2} وZn^{+2}(Cu-Zn SOD)و الموجود في سايتوبلازم الخلايا الحقيقية لنواة (Eukaryotes) [28].

المالون داي الديهايد Malon Dialdehyde (MDA)

يعد MDA واحداً من أبرز الدلائل التي تستعمل للبحث عن وجود فرط الأكسدة في أنسجة الجسم. حيث ينتج من خلال أكسدة الدهون غير المشبعة، وبالأخص التي تحتوي على أصرتين مزدوجة أو ثلاثة [29] ، وهناك مركبات مثل الالديهايدات طويلة السلسلة، والالديهايدات قصيرة السلسلة، والكيتونات والدايونات، عند تفاعلها مع MDA تكون اصنافا عالية الفعالية وتكون ما يسمى بفرط الكاربونيل Carbonyl Stress والذي يعد مظهرا شائعا للمرض [30].

تضمن اهداف البحث عدة نقاط وهي كالآتي :-

1. تقدير فعالية أنزيم ميتالواندوبتديز في مصل مرضى ارتفاع ضغط الدم ومقارنتها بالأصحاء
2. قياس فعالية أنزيم (SOD), (MDA) في مرضى ارتفاع ضغط الدم ومقارنتها بالأصحاء
3. قياس مستوى أنزيم LDH في مرضى ارتفاع ضغط الدم ومقارنتها بالأصحاء
4. قياس مستوى أنزيم AST, ALT في مرضى ارتفاع ضغط الدم ومقارنتها بالأصحاء
5. محاولة أيجاد ومتابعة العلاقة بين المتغيرات أعلاه مع بعضها

المواد وطرائق العمل

جمع العينات وطرائق القياس

جمعت خلال هذه الدراسة (125) حالة طبيعية تراوحت أعمارهم بين (21–70) سنة منهم (47 إناث و78 ذكور) و(115) حالة مرضية لأشخاص مصابين بارتفاع ضغط الدم تراوحت أعمارهم بين (30–80) سنة منهم (50 أنات و65 ذكور) ودونت المعلومات الخاصة بكل عينة في استمارة استبيان معدة لهذا الغرض إذ تم سحب الدم من المرضى والأصحاء بحجم (8–10) مللتر في أنابيب بلاستيكية ذات أغطية حاوية على مادة مانعة للتخثر (EDTA) ، ووضع حوالي (2–3) ملي لتر من الدم المسحوب في أنبوب بلاستيكي ذي غطاء محكم وخالي من مانع التخثر (Plain Tube) ولأجل الحصول على المصل، فقد تم ترك الدم في درجة حرارة الغرفة لحين تخثره ، ومن ثم وضع في جهاز الطرد المركزي لمدة (5) دقائق بسرعة (3000) دورة / دقيقة ، وتم بعدها فصل مصل الدم (الراشح) الخالي من كريات الدم الحمراء بسرعة (لضمان عدم تسرب الإنزيم من كريات الدم الحمراء) وتم أجراء الفحوصات البايوكيميائية بعد فصل مصل الدم مباشرة ويفضل تجميده إذا تأخر التحليل.

إذ استخدم مصل الدم والبلازما لأجراء الاختبارات المشار إليها في الجدول (1)

المتغيرات المقاسة	الطرائق المستخدمة
إنزيم ميتالو اندوبيبتديز	طريقة (Kanazawa & Johnston)، بتحليل مادة الأساس الكازئين[31]
إنزيم LDH	اختزال البايروفيت الى اللاكتيت بوجود NADH[32]
إنزيم AST	يعتمد مبدا الطريقة على التفاعل[33] L-Aspartate + α-ketoglutarate $\xrightarrow{AST}$ Oxaloacetate + L-glutamate
إنزيم ALT	ويعتمد مبدأ عمل هذه الطريقة على التفاعل الآتي[34] L-Alanine + α-ketoglutarate $\xrightarrow{ALT}$ Pyruvate + L-Glutamate
إنزيم SOD	الطريقة اليدوية باستعمال NBT كمنحنى تثبيط[35]
MDA	طريقة Aust بإضافة TBA[36]

وتم تحديد معيار كتلة الجسم Body mass Index (BMI) [37] باستخدام المعادلة:-

معيار كتلة الجسم (BMI)= $\frac{\text{الوزن بالكغم}}{\text{مربع الطول بالمتر}}$

ان المواد الكيميائية المستخدمة مجهزة من شركات عالمية مختلفة وهي:**(Fluka)** ،**(BDH)**،**(Sigma)** ، كما استخدمت عدة قياسية جاهزة من شركة bt لقياس AST,ALT ومن شركة **(Biosystems)** لقياس LDH

التحليل الإحصائي

تم تحليل نتائج هذه الدراسة باستخدام تحليل التباين Anova وتم استخدام اختبار t-test لتحليل التباين بين مجموعتين واختبار F لتحليل التباين بين أكثر من مجموعة عند مستوى الاحتمالية $P\leq 0.05$ وتم إيجاد معامل الارتباط الخطي "r" Correlation coefcient لإيجاد العلاقة بين المتغيرات المدروسة في هذا البحث.

النتائج والمناقشة

تقدير فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل دم مجموعة المرضى

تم تقدير فعالية انزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل دم مرضى ضغط الدم الذين تراوحت أعمارهم بين (25–80) سنة من كلا الجنسين وتم بحث العوامل المؤثرة على فعالية الأنزيم في مصل دم مجموعة المرضى وكما يلي :

1- تأثير العمر

تم تقسيم مرضى ضغط الدم إلى ثلاث فئات عمرية كما في الجدول (3) إذ وجد إرتفاع تدريجي في فعالية الأنزيم مع زيادة المراحل العمرية في حين لم يظهر فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية $P\leq 0.05$ في فعالية الأنزيم للمراحل العمرية الثلاث

الجدول (3) فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل مجموعة المرضى بحسب العمر

مجموعة المرضى	العدد	فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز Mean ± S.D U/ml	P- Value
40–25	35	15.731 ± 0.35	≤ 0.05
60–41	50	16.12 ± 0.33	≤ 0.05
≥60	30	16.63 ± 0.37	≤ 0.05

2- تأثير التدخين

تبين عدم وجود فرق معنوي عند مستوى الاحتمالي $P\leq 0.0$ في فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل دم مجموعة المرضى المدخنين إذ بلغت (17.34 ± 0.17 U/ml) والمرضى غير المدخنين (U/ml 17.51 ± 0.3)

3- تأثير الجنس

تم دراسة تأثير الجنس على فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل دم مجموعة المرضى وبينت النتائج عدم وجود فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية $P\leq 0.05$ في فعالية الأنزيم بين الذكور والإناث إذ كانت الفعالية في مصل دم الذكور (16.14 ± 0.23 U/ml) وفي مصل دم الإناث (15.82 ± 0.18 U/ml) مما يدل على عدم تأثر فعالية الإنزيم بالجنس، وهذا يتفق مع ما ذكره (Selemi *et al*., 1996)[38] حول فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز وعدمتأثر ه بالجنس .

4- تأثير مدة المرض

تم دراسة تأثير مدة المرض على فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز إذ لوحظ وجود فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية $P\leq 0.05$ بين المصابين بارتفاع ضغط الدم لمدة سنتين أو أقل مع مجموعة المرضى المصابين بارتفاع ضغط الدم لمدة (2–5) سنوات ومجموعة المرضى المصابين بالضغط لمدة (6 ≤) سنوات كما موضح في الجدول (4)

الجدول (4) فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز في مصل دم مجموعة المرضى بحسب مدة المرض

مدة المرض(بالسنوات)	العدد	فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز Mean ± S.D U/ml	P- Value
≤2	30	17.0 ± 0.24	≤ 0.05
5–2 سنوات	50	17.9 ± 0.24	≤ 0.05
≥6	35	18.8 ± 0.30	≤ 0.05

ويعود السبب إلى زيادة عمليات الإجهاد ألتأكسدي في مرضى ضغط الدم مما يؤدي إلى زيادة تحطم البروتينات مع زيادة مدة المرض، والذي يعمل على زيادة ارتفاع فعالية أنزيم ميتالواندوبيدتيز في مصل الدم، مما يتفق مع ما ذكره كل من (Vendemial.,1999)[39] و (Zitta et al., 2003)[40] ، كما بين (آل مصطفى 2010) [41]أن فعالية أنزيم ميتالواندوبيبتديز تزداد في المرضى مع تأثير وجود

الأمراض الأخرى معاً كأمراض القلب والسكري والشلل النصفي والروماتيزم وبدراسته لتأثير الوراثة، لم يظهر أي فرق معنوي يذكر في فعالية هذا الأنزيم .

تقدير فعالية أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز

جدول (3–4) فعالية أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز في مصل دم المرضى والأصحاء

	العدد	LDH U/L Mean ± S.D	P-Value
الأصحاء (السيطرة)	40	284 ± 11.2	
مرضى ضغط الدم	45	502 ± 21	≤0.05

في هذه الدراسة تم تقدير فعالية أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز في مصل دم مجموعة مرضى ضغط الدم إذ اظهر ارتفاع معنوياً عند مستوى الاحتمالية0.05 ≥P عند مجموعة الأصحاء (السيطرة) مما يدل على أن مرض ضغط الدم يؤثر على فعالية أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز ويعود سبب ذلك إلى أن ازدياد الضغط المزمن يؤدي إلى جرح الطبقة الداخلية لجدار الشريان الداخلي المغذي للقلب وتجمع الصفيحات الدموية وتضييق الشريان وانسداده وقلة جريان الدم المؤكسج المغذي للقلب، مما يؤدي إلى تلف في خلايا العضلة القلبية فتحرر أنزيم LDH إلى الدورة الدموية، وكذلك تفرزها من الكلية لان عجز القلب مرتبط بعجز الكلية [42] ففي حالة عجز القلب يقل النتاج القلبي وبالتالي يقل جريان الدم إلى الكلية مما ينشط نظام(RAAS Renine Angiotensin Aldosteron system) ويقود إلى تقلص الأوعية الدموية الكلوية [43]

فعالية الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين AST, ALT

تعد الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Amino transferases ذات أهمية كبيرة في تشخيص أمراض الكبد والقلب إذ تعدمؤشراً حساساً لإصابة الخلايا الكبدية ويوجد كلا الأنزيمين AST, ALT في الحالة الطبيعية بمستويات منخفضة ولكنها تتباين بتباين الحالات المرضية[44]، ففي مرضى ضغط الدم أظهرت النتائج انه لا يوجد فرق معنوي في مستوى إنزيم ALT في حالة المرضى مقارنة بالأصحاء في حين أن هناك ارتفاعاً معنوياً في مستوى أنزيم AST مقارنة بالأصحاء، أما بالنسبة للوزن فلم يتأثر مرضى ضغط الدم بزيادة الوزن بالنسبة لمستويات كلا الإنزيمين

الجدول (5) مستوى AST , ALT عند الأصحاء ومرضى الضغط بوزن طبيعي ووزن زائد

الأنزيم	الأصحاء (السيطرة)U/L Mean ±S.D	العدد	مرضى الضغط وزن طبيعي U/L Mean ±S.D	العدد	مرض الضغط بوزن زائد U/L Mean ±S.D
ALT	29 .23± 1.7	60	29 .73 ± 2.3	55	30 .14 ± 1.7
AST	17 .20 ± 0.8	60	28 . 33 ± 1.7	55	28 . 99 ± 1.5

بلغت فعالية أنزيم ALTفي مجموعة مرضى ضغط الدم بوزن زائد وكانت في مرضى ضغط الدم بوزن طبيعي (29.73 ± 2.3 U/L) مما يوضح عدم وجود فرق معنوي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وفي حالة قياس مستوى فعالية أنزيم AST في مجموعة مرضى ضغط الدم بوزن زائد وجد أن مستوى (28.99 ± 1.5 U/L) أما مرض ضغط الدم بوزن طبيعي فقد بلغ (28.33 ± 1.7 U/L) و هو يوضح عدم وجود فرق معنوي عند مستوى الاحتمالية P≤0.05 للمرضى بوزن طبيعي، ووزن زائد ولكن يتبين من الجدول (5) أن مستوى فعالية أنزيم AST قد ارتفع بشكل معنوي لدى مرضى ضغط الدم بوزن زائد وطبيعي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،كما أن ارتفاع مستوى AST يعد مؤشراً للإصابة بمرض ضغط الدم بغض النظر عن المؤشرات الأخرى المعروفة كزيادة BMI وداء السكر وخلل الدهون فضلا عن التاريخ العائلي للمرض وتحدث الزيادة بفعالية AST عند حدوث أي ضرر بأنسجة القلب وا ن حدوث غلق للشريان الاكليلي سببه الترسبات الدهنية التي تؤدي إلى حدوث (نقص اوكسجين الانسجة) Anoxia مما يؤدي بالنهاية إلى اضمحلال جزء معين من عضلة القلب وان هذا الضرر يؤدي إلى تسرب هذه الأنزيمات من خلايا القلب ، المتضررة إلى مجرى الدم[45].

تقدير مستوى فعالية أنزيم SOD

الجدول (6) مستوى فعالية SOD في الأصحاء والمرضى بحسب العمر ومدة المرض

المجموعة	العدد	فعالية أنزيم U/L SOD mean±S.D	P-value
الأصحاء	125	2 .206± 0.061	
المرضى	115	3 .102± 0.21	≤0.05
مرضى (1–5) سنوات	55	3 .380± 0.247	≤0.05
مرضى 5≥	60	2 .680± 0.134	≤0.05
(30–39)	50	2 .998± 0.021	≤0.05
40≥	65	3 .432± 0.312	≤0.05

يلاحظ من الجدول (6)ارتفاعاً معنوياً لفعالية أنزيم SOD للمرضى مقارنة مع الأصحاء بمستوى P≤0.05 وان هذا الارتفاع يتفق مع ما ذكره (Sharma *et al.*, 1996) [46]و (chan&cheng., 2000) [47] أن للجذور الحرة دور مهم في نشوء مرض ارتفاع ضغط الدم وان أنزيم SOD يعد مانع تأكسد طبيعي في الإنسان وله دور مهم في كسح جذور (O_2^{-}) وهذا ما يؤدي إلى حدوث تغيرات في فعاليتها عند ارتفاع ضغط الدم ، وكعامل دفاعي للجسم يقوم أنزيم SOD بزيادة فعاليته لتخليص الجسم من الجذور الحرة، وكذلك يلاحظ من الجدول(6) انخفاض فعالية أنزيم SOD مع طول فترة مرض ارتفاع ضغط الدم وان انخفاض فعالية SOD مع طول فترة ارتفاع الضغط سببها قلة حساسية التغذية (Negative Feedback) التي تحدث رد

فعل تزداد بموجبها الأنظمة المضادة للأكسدة كرد فعل على الإجهاد التأكسدي (Oxidative stress) وان حساسية هذه الأنظمة تقل مع مرور الزمن[48] مما يؤدي إلى تحطم الأعضاء وهذا يؤشر إلى تكوين كمية مفرطة من أصناف الأوكسجين الفعال (ROS) مع انخفاض نشاط آلية مانع التأكسد في كل من الدم وعدة أنظمة خلوية أخرى تتضمن ليس فقط خلايا الجدار الوعائي وا ٍنما أيضا تلك التي وجدت في الدم [49] وكذلك الحال بالنسبة لتأثير العمر حيث نلاحظارتفاعاً معنوياً عند مستوى P≤0.05 لأنزيم SOD مع زيادة العمر.

تقدير مستوى MDA

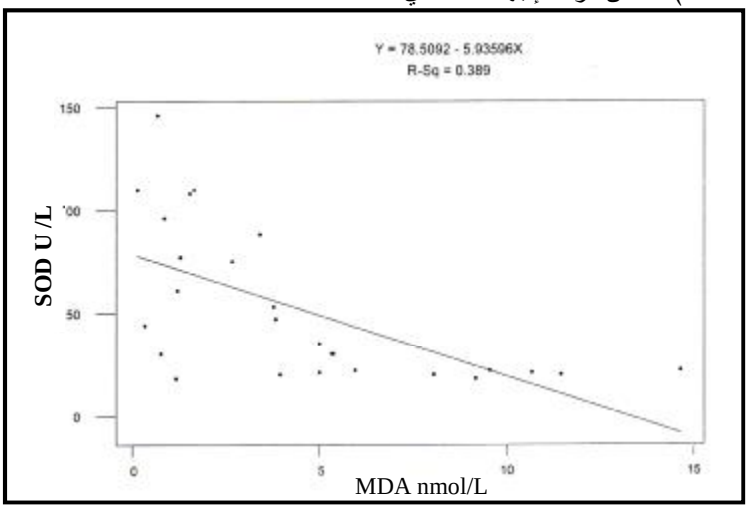
الجدول (7) مستوى MDA في الأصحاء ومرضى ضغط الدم حسب العمر ومدة المرض

المجموعة	العدد	MDA n mol/L Mean ± S.D	P-value
الأصحاء	125	4 .88± 0.20	
المرضى	115	7 .58± 0.29	≤0.05
مرضى (1–5) سنوات	55	6 .124± 0.31	≤0.05
مرضى ≥5	60	8 .01± 0.49	≤0.05
(30–39)	50	6 .84± 0.21	≤0.05
≥40	65	8 .34± 0.30	≤0.05

يلاحظ من الجدول (7) وجود ارتفاع معنوي في مستوى MDA لدى مرضى ضغط الدم بالمقارنة مع مستواه في الأصحاء ،إن عمليات الأكسدة الفوقية للدهون غير المشبعة ربما تؤدي إلى ازدياد في أنتاج الجذور الحرة أو قد تؤدي إلى اختفاء كفاءة العمليات الدفاعية المضادة للأكسدة لدى مرضى ضغط الدم بالمقارنة مع تلك الموجودة في الأشخاص الأصحاء[50] وقد بين الباحثان (Krishna&Venkatara., 2007) [51] أن فرط الإجهاد التأكسدي ينتج عنه تولد الجذور الحرة (free radicals) التي تهاجم الدهون غير المشبعة الموجودة في تركيب الأغشية الخلوية مسببة بذلك حدوث للأكسدة الدهن المتمثلة في المالون داي الديهايد MDA الذي يعمل على تحطيم الغشاء الخلوي للخلية لذا يعد MDA العامل الرئيسي المساهم في رفع ضغط الدم لأنه يحدث اضطرابات في وظائف الأوعية الدموية حيث أن هذه العملية تتداخل مع الكثير من العمليات المهمة المنظمة للخلية كعمليات السيطرة على تنظيم المواد الأساسية الداخلة والخارجة للخلية وا ٍيصال المواد الداخل خلوية [52] ان ارتفاع مستوى MDA يؤدي إلى سرعة استهلاك الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة Antioxidant System مما يؤدي إلى تلف الأنسجة وزيادة تركيز الدهون ولا سيما LDL-C بسبب الخلل الحاصل في مستقبلات LDL-C ممايؤدي إلى ار تفاع عامل الخطورة Risk factor بزيادة مستوى دليل التعصد LDL/HDL إذ تعد هذه النسبة مهمة في تحديد الخطورة المستقبلية لمرض ضغط الدم.

وكذلك أظهرت النتائج في جدول (7) وجود زيادة معنوية عند مستوى الاحتمالية (P0.05) في مستوى MDA في مصل مرضى الضغط مع زيادة عدد سنوات الإصابة بالمرضى (1–5 سنوات) و (5 ≤) بالمقارنة مع الأصحاء وهذا يتفق مع ما وجده (Atalay& laa., 2002) [53]من وجود زيادة في مستوى MDA مع زيادة عدد سنوات الإصابة وربما يعود السبب إلى زيادة في توليد الجذور الحرة ومن ثم زيادة الأكسدة الفوقية للدهون (زيادة تركيز MDA)

كما بين الجدول (7) وجود زيادة معنوية عند مستوى الاحتمالية (P<0.05) في مستوى MDA مع تقدم العمر وهذه النتيجة مطابقة لدراسات سابقة اظهرت زيادة في مستوى MDAمع تقدم العمر (Inal *et al.*,2001) [54] و (Katarzyha., 2006) [55] والتي تؤدي إلى فقدان حالت التوازن بين مستويات مضادات الأكسدة وأصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) (Reactive oxygen species) وهذا يولد حالة الكرب التأكسدي (Oxidative stress).



الشكل (1) العلاقة بين فعالية أنزيم SOD ومستوى MDA

والمضادات الأنزيمية للأكسدة الفوقية للدهون و لاسيما (SOD) تعاني من انخفاض في فعاليتها في حالة مرضى ضغط الدم (5≤ سنوات) بسبب حالة الأكسدة الفوقية للدهون غير المشبعة ، وهكذا نلاحظ تراكم تراكيز عالية من H_2O_2 بسبب انخفاض فعالية أنزيم GPX المرافق لحالة ضغط الدم التي تؤدي إلى تثبيط أنزيم[56] SOD وبالتالي فأن هذه الميكانيكية تعطي تفسيراً واضحاً لعلاقة الارتباط العكسية بين فعالية أنزيم SOD المضاد للأكسدة الفوقية للدهون وتركز MDA الذي يعتبر مقياساً لتلك الأكسدة .

المصادر :

1- Chobanian A., Bakris G. , Black H., Cushman W., Green L. and IZZO J., et al; (2003). The Seventh report of the Joint National committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure .JAMA; 289:2560-2571.

2- Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In: J.H. Laragh, B.M Brenner (eds), Hypertension: pathophysiology. Diagnosis and Management, pages 81-100.Raven press, New York, 1990.

3- Turner A. and Tanzawa K. (1997): "Mammalian membrane metallo endopeptidase: NEP, ECE, KELL, and PEX".J. FASEB. 11(5): 355-364.

4- Turner J., Isaac R. and Coates D. (2001): "The neprilysin(NEP) family of zinc metallo endopept'-d?se: genomics and function". J. Bioessays. 23(3): 261-269.

5- Sansoe G., Aragno M., Mastrocola R., Cutrin J., Silvano S., Mengozzi G., Smedile A., Rosina F., Danni O. and Rizzetto M. (2006):"Over expression of kidney neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) and renal function in experimental cirrhosis". Am. J. physiol. Renal Physiol. 290(6): 1337-1343.

6- ALmenoff J. and Orlowski M. (2006): "Biochemical and immunological properties of a membrane-bound brain metallo endopeptidase: Comparison with thermolysin like kidney neutral metallo endopeptidase". J. Neurochem. 42(1): 151-157.

7- Kerr A. and Kenny J. (1974): "The purification and specificityof a neutral endopeptidase from rabbit kidney brush border" .Biochem. J. 137:477-488.

8- Rose C., Voisin S., Gros C., Schwartz J. and Ouimet T. (2002): "Cell-Specific activity of neprilysin2 isoforms and enzymic specificity compared with neprilysin". J. Biochem. 363(3): 697-705.

9- Erdos E. and Skidgel A. (1989): "Neutral endopeptidase 24.11 (enkephalinase) and related regulators of peptide hormones". J. FASEB. 3: 145-151.

10- Tanja O., Facchinetti P., Rose C., Bonhomme M., Cros C. and Schwartz C.(2000): "Neprilysin II: a putative novel metallo protease and its isoforms in CNS and testis". Biochem. Biophys. Res. Commun. 275(1) 274.

11- Grellier P., Picard I., Bernard F., Mayer R., Heidrich H., Monsigny M. and Sclirevel J. (1989): "Purification and identification of a neutral endopeptidase in*Plasmodium falciparum schizonts and merozoites"*.Parasitol.Res. 75(6): 455-460

12- Ronco P. and Debiec H. (2007): "Podocyte antigens and glomerular disease" J. Nephron. Exp. Nephrol. 107(2): 41-46.

13- Oefner C., Pierau S., Schulz H., and Dale G. (2007): "Structural studies of a bifunctional inhibitor of neprilysin and DPP-IV'.J. Acta. Cryst. 63:975-981.

14- Bahrami S., Malone J., Lear S. and Martin A. (2006): "CD10 expression in cutaneous adnexal neoplasms and a potential role for differentiating cutaneous metastatic renal cell carcinoma". J. Arch. Pathol. Lab. Med. 130(9): 1315-1319.

15- Huntsman D., Gilks C., Dabiri S., Carter B., Hayes M. and Mkretsov N. (2007): "Stromal CD 10 expression in invasive breast carcinoma correlates witli poor prosriosi s. estrogen receptor negativity and high grade". J.Med. Pathol. 20(1): 84-89.

16- Bunn P., Heifrich B. , Brenner D., Chan C., Dukes D., Cohen A. and Miller Y. (1998): "Effects of recombinant neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) on the growth of lung cancer cell lines in vitor and in vivo". Clin, cancer Res. 4: 2895

17- htpp://www.biodia.com/test231.html.

18- Cutler C.(2003): All Refer.com. Health, Encyclopedia: LDH Veri med. Health care Net Work., P.L.

19- Kaplan L.(1989): "Clinical chemistry: Theory, analysis and correlation The C.V. Mosby Co., 2th ed., PP.784-793.

20- MurrayR. (2002): "Methods of Analysis to A ccompany Clinical chemistry: Thory, Analysis, Correlation", 4th ed., E lsevier Scienc,Inc.

21- lawrence A. and Amadio J. (2002): Clinical Chemistry''4th ed., by L.A. Kaplan and A.J. pesce.

22- Clarkson M. and Tompson H. (2000):Am. J. Clin.72, 6375.

23- Frank S., Kampfer H., Podda M., Kaufmamn R. and Pfeilschifter(2000):Biochem. 346; 719-729.

24- Dean R., Stocker R. and Davies M.(1997): **Mediated Protein Oxidation**
324:1

25- Granzioli V., Schiavo R., Casari E., Marzatico F. (1998): Antioxidant enzymatic activities and Lipid peroxidation in cultured humam chondrocytes from vertebral plate cartilage FEBS Lett. 431; 149-153.

26- Benov L. and Fridovch I. (1998): Growth in iron-enriched medium partially compensates Escherichia coli for the lack of manganese and iron-SOD. Biol, Chem.273; 10313-10316.

27- Griggs R., Andereoil T., et al.(2001):**"Mechanism of thyroid Hormone action"** 4th ed. W.B. Saunders Co. philadephian P. 241.

28- A1-Dalawye K.(2004): Ph.D,thesis University of Tikrit.

kidney insufficiency and anemia. Dis. Time., 10(1): 1 - 9.

43- Silverberg D., Wexler D., Blum M. and Iaina A. (2003): Anemiain chronic kidney disease and congestive heart failure. Blood purification. 21: 124- 130.

44- Piton A., Poynard T., Imbert-Bismut F.(1998): Factors associate with serumalanin transaminase activity in healthy subjects: conseguencse for the definition of normal Values, for selection of blood donors , and for patients with Chronic hepatitis C.Hepatology Vol.27:P.1213-9.

45- AL-Khalidy A(2006): Effect of chemotherapy on vitamin B_{12}, folic acid and some parameters on leukemia(chronic myeloid leukemia) in iraqi patients .PHD thesis ,collge of Ibnal –Haitham university of Baghdad.

46- Sharma R., Hodis H., Mack W., Sevanian A. and Jramsch D.(1996): Am. J. Hypertens ; 9 (6) : 577 - 90.

47- Chan P. and Cheng J.,(2000): Am. J. Hyper.; 13 (4) Part 2: 272 A - 273 A.

48- Romero J. and Reckelhoff J.(1999):Hypertension;34: 943 - 949.

49- Redon J., Oliva M., Tormos C., Giner V. and Saez G., (2003): Hypertension;41:1096.

50- Visoil F., Galli C. (1998): "The effect of minor constituent of olive oil onCardiovasculardisease: new finding" . Nutr. Rev., 56:142-145.

51- -krishna M. and Venkataramana G. (2007): Starts Of lipid peroxidation Glutathione,Ascorbic acid And antioxidant enzymes in patients with pregnancy induced hypertension ,lnd,J.phioloical pharmacol .51(3)pp:284-288.

52- Tietz N.(2000): fandamentel of clinical chinical 3th Ed.saunderes .Toxcol , Enco : 19(3):201-213.

53- Atalay M. and Laaksonen D. (2002): "Diabetes, oxidative stress and physical exercise", J. Sports Sci. and Med. 1: 1-14.

54- Inal M., Kanbak G., Sunal E. (2001): "Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level related to aging". Clin. Chem. Acta 305(1-2)75-80.

55- Katarzyha S. (2006): Lipid profile evaluated in patients with type 2 diabetcs on oral hypoglycemia trentment .Diabetic care vol. X1 X,NL, 60.

56- Al- Azzawi H., Ph.D. Thesis University of Baghdad, (2004).

29- Droy-Lefaix T., Bonhomme B. and Doly M.(1995):Invest Opthalmol. Vis. Sci.36; S855.

30- Gwen S., Scott S., Genovese T., Koprowski H. and Hodper D.(2005):Neuro cience 102(9);3483-3488.

31- Kanazawa M. and Johnston C. (2007): "Distribution and inhibition neutral metalloendopeptidase (NEP) (EC 3.4 24.11), the major degradation enzyme for atrial natriuretic peptide, in the rat kidney ".Clin. Exp. Pharm. Physiol. 18(6): 449-453.

32- Friedman and Young.(1997): Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press.

33- Scherwin E.(2003): liver function clinical chemistry Ttheeory , Analysis, Correlation , 4thed. Kaplan, L.A., pesce, A. J, Kaz-mierc-zaks, s.c., (mosby Inc. eds. St Louis USA), 492 and appendix

34- Young D.(1997): Effects of preanalyical variables on clinical laboratory tests 2nd edition, AACC press.

35- Benzie F., chuny W. and Tomlinson B.(1999): "Clin. Chem.", 45:pp.901-904.

36- Badock N., Zoanetti G. and Martin E. (1997): Nonchromatographic assay for malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct with HPLC equivalence. Clin Chem; 43:1655-1657.

37- Kopelman P. (2000): Obesty as a medical problem, Nutur, 404: 635-643.

38- Selmeci L., Szokodi I. and Horvat-Karaiz K. (1996): "A sensitive microplate-based continuous-monitoring (Kinetic) assay for serum neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) actr. Clin.Chim. Acta. 244(1): 111-116.

39- Vendemiale, G. (1999): "An update on the role of free radicals and
antioxidant defense in human disease". Int. J. Clin. Lab. Res.29(2): 49.

40- Zitta M., Geriberger J., Holzer H. and Reibnegger G. (2003): "Effect of hemodialysis on the antioxidant properties of serum". Biochem. Biophys. Acta. 1638(3): 267-272.

41- ال مصطفى، لقاء سعيد (2010) "دراسة كيموحياتية لانزيم ميتالو اندوببتديز وعلاقته بمرض العجز الكلوي المزمن" (رسالة ماجستير)،(كلية العلوم)، جامعة الموصل.

42- Silverberg D., Wexler D. and Iaina A. (2004): The cardio renalanemia (CRA) syndrome: congestive heart failure, chronic

Study Some Biochemical Parameters in Hypertension Patients

Manal A. Ibrahim & Nazar A. Naji
Department of chemistry, College of science, Tikrit University, Tikrit, Iraq

Abstract

The present study was carried out to determine the effect of hypertension on some biochemical parameters in the blood compared to that of normal values of healthy subjects in healthy control group(125) (47 females and 72 males) Their ages ranged between(21-70) years. The study included:-

The following biochemical parameters :(Metall oendopeptidase , LDH ,GOT, GPT, SOD MDA,)

A clinical study of Metallo endopeptidase on the serum of healthy and hypertensive patients was carried which has been shown that the activity of this enzyme in healthy subjects does not affect by sex, age, and smoking while there is significant increase in the activity of Metallo endopeptidase in the serum of the hypertensive patients for both sexes at different ages compared with that of control group while there was an increase in the activity of Metallo endopeptidase in relation to the duration of disease the result also demonstrated a significant increase in the activity of lactate dehydrogenase in hypertensive patients compared with that of control group.

ALT and AST enzyme levels have been estimation in this study which showed a significant increase in the level of AST in hypertensive patients for both normal weight and overweight compared with that of control group, while ALT level showed no significant difference in hypertensive patients for both normal weight and overweight compared with that of control group

This study also included the estimation of SOD and MDA in both hypertensive patients and healthy subjects (control group).It showed a significant decrease in the activity of SOD as the duration increases and there was a significant increase in the level of MDA($P \leq 0.05$)in hypertensive patients compared healthy group.

When calculating the liner correlation coefficient to reflect the relation among the biochemical variables the result demonstrated a positive significant correlations ($P \leq 0.05$)between SOD,LDH and risk factor LDL/HDL ,In addition there was a negative correlation between SOD and MDA.