بررسی استرس اکسیداتیو در لوسمی حاد میلوییدی

علی اصفهانی[1*]، زهره قریشی[2]
علیرضا نیکانفر[1]، زهره صناعت[1]
امیر قربانی حقجو[3]، نادره رشتچی زاده[3]

۱- گروه خون، بیمارستان شهید قاضی طباطبایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۲- گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول: تبریز، بیمارستان شهید قاضی طباطبایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه خون
تلفن: ۳-۳۳۴۳۸۱۱-۰۴۱۱
email: ali_sfhn@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۹/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: بسیاری از داروهای شیمی‌درمانی موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند که می‌تواند بخشی از مکانیسم اثربخشی آن‌ها باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر شیمی‌درمانی بر وضعیت اکسیداتیو در بیماران مبتلا به لوسمی حاد میلوییدی (AML) است. ***روش بررسی:*** ۳۸ بیمار مبتلا به AML (۱۷ زن و ۲۱ مرد) با میانگین سنی ۱۲/۴۹±۳۴/۰۵ وارد مطالعه شدند. این بیماران رژیم سیتارابین و داناروبیسین دریافت کردند. سطح سرمی مالون دآلدیید (MDA)، وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAS) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیس موتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در اریتروسیت‌ها قبل از شروع شیمی‌درمانی و ۱۴ روز پس از شیمی‌درمانی مورد بررسی قرار گرفتند. ***یافته‌ها:*** مقادیر سرمی MDA در طی ۱۴ روز پس از شیمی‌درمانی افزایش یافت (از ۰/۸۹nmol/L±۲/۶۸ به ۱/۲۹nmol/L±۳/۱۴ با p=۰/۰۴). سطح پلاسمایی TAS از ۰/۱۵mmol/L±۱/۰۹ قبل از شیمی‌درمانی به ۰/۱۴mmol/L±۱/۰۲ بعد از شیمی‌درمانی کاهش یافت (p=۰/۰۰۵). فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX در اریتروسیت‌ها نیز در طی این دوره کاهش یافت و از Hb مقادیر ۵۴۳/۶۱U/g±۱۱۵۷/۲۴ به Hb در مقادیر ۴۱۹/۰۹U/g±۹۸۴/۰۱ (p=۰/۰۴) برای SOD و از Hb ۱۳/۷۰U/g±۴۶/۹۶ به Hb ۶/۴۴U/g±۴۱/۴۰ (p=۰/۰۲) برای GPX رسید. ***نتیجه‌گیری:*** در این مطالعه، افزایش سطح MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت SOD، GPX و TAS مشاهده شد که نشان می‌دهد شیمی‌درمانی با سیتارابین و داناروبیسین در بیماران مبتلا به AML موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد. ولی توصیه به مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدان در حین شیمی‌درمانی باید با احتیاط انجام شود چرا که تولید رادیکال‌های آزاد ممکن است بخشی از مکانیسم اثربخشی این داروها باشد.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان، لوسمی حاد میلوییدی، سیتارابین، داناروبیسین.

مقدمه

لوسمی حاد میلوییدی Acute Myeloid Leukemia (AML) نئوپلاسم رده میلوییدی گلبول‌های سفید خون است و ویژگی آن تجمع غیرطبیعی سلول‌های بلاست در مغز استخوان است که مانع از تولید سلول‌های خونی طبیعی می‌شود.[1] AML عموماً در بزرگ‌سالان دیده می‌شود و بروز آن با افزایش سن بیشتر می‌گردد.[2] میزان بروز آن در بزرگ‌سالان زیر ۶۵ سال ۱/۸ در هر صد هزار است در حالی‌که این رقم برای افراد بالای ۶۵ سال به ۱۷/۹ در هر صد هزار می‌رسد.[3] حدود ۳۰٪ از افرادی‌که به AML مبتلا می‌شوند و در محدوده سنی بین ۱۸ تا ۶۰ سال قرار دارند می‌توانند درمان شوند با این وجود شیمی‌درمانی به‌ویژه در بیماران مسن‌تر عوارض شدیدتری در بر دارد و پیش‌آگهی عاری از بیماری Disease free survival خوبی ندارد.[4] عوامل خطر متعددی با بروز AML ارتباط دارند از جمله: بنزن، تشعشع، دخانیات، شیمی‌درمانی‌های قبلی و حشره‌کش‌ها.[1] اخیراً ارتباط بین استرس اکسیداتیو و بروز AML نیز مطرح شده است.[1و5] بسیاری از داروهای شیمی‌درمانی که در درمان سرطان به‌کار می‌روند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند که بخشی از فعالیت متابولیک این داروها محسوب می‌شود[6] و این داروها با افزایش تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) اثر بخشی خود را افزایش می‌دهند.[7] از سال ۱۹۷۳ ترکیب داروی آنتراسیکلین و سیتارابین درمان القایی استاندارد برای بیماری AML بوده است.[8] به‌نظر می‌رسد هر دوی این داروها موجب تولید رادیکال‌های آزاد و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

ایجاد استرس اکسیداتیو در بدن می‌شوند که با آسیب‌های سلولی همراه است.[۹-۱۲] تعداد زیادی از مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در بدن رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند و از سلول‌ها در برابر آسیب ناشی از ROS محافظت می‌کنند.[۷] در میان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز Superoxide Dismutase (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز Glutathione Peroxidase (GPX) نقش مهمی در حمایت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ایفا می‌کنند.[۱۳]

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر شیمی‌درمانی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدها در بیماران مبتلا به AML بوده است و تغییرات مؤلفه‌های اکسیدان/ آنتی‌اکسیدان در خون بیماران مبتلا به AML با اندازه‌گیری الف) مالون دی آلدیید (به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها) ب) وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی Total Antioxidant Status (TAS) ج) سوپراکسید دیسموتاز و د) گلوتاتیون پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعات قبل و بعد (Before-after) است. تمامی افراد مورد مطالعه، از میان بیماران مراجعه‌کننده به بخش خون و سرطان بیمارستان شهید قاضی طباطبایی دانشگاه علوم پزشکی تبریز از ۸۵/۸/۱۵ تا ۸۷/۸/۱۵ انتخاب شدند. معیارهای ورود به طرح شامل سن بالاتر از ۱۸ سال، تایید AML توسط هماتولوژیست با استفاده از رنگ‌آمیزی رایت گیمسا، سودان بلاک و تایید زیرگروه توسط آزمایش فلوسیتومتری و دارا بودن شرایط شیمی‌درمانی در نظر گرفته شد. معیارهای خروج از طرح نیز شامل این موارد بود: دریافت هر گونه مکمل آنتی‌اکسیدان در محدوده سه ماه قبل از شروع شیمی‌درمانی، ابتلا به بدخیمی دیگری به غیر از AML و دریافت هر گونه شیمی‌درمانی قبلی. در این بیماران نمونه خون قبل از شیمی‌درمانی و در روز ۱۴ بعد از شیمی‌درمانی جهت بررسی‌های بیوشیمیایی گرفته شد. فرم رضایت‌نامه آگاهانه قبل از خون‌گیری از همه بیماران اخذ گردید. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز این مطالعه را تایید کرده است. تمامی بیماران مورد مطالعه داروی سیتارابین (با نام تجاری Alexan، ساخت شرکت داروسازی EBEWE Pharma, Austria) را با دوز روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای متر مربع سطح بدن به روش انفوزیون ۲۴ ساعته از روز یک تا هفت و داروی داناروبیسین (با نام تجاری Daunoblastina از دسته آنتراسیکلین‌ها ساخت شرکت pharmacia Italia S.p.A, Italy) را با دوز ۴۵ میلی‌گرم به ازای متر مربع سطح بدن در روزهای یک تا سه دریافت کرده‌اند. این رژیم شیمی‌درمانی، درمان القایی استاندارد در بیماران AML محسوب می‌شود.

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه از لابراتوارهای راندوکس (Randox Laboratories, Crumlin, Antrim, UK) و شرکت مرک (Merck, Darmstadt, Germany) تهیه شد.

تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD از خون تام هپارینه استفاده شد. ۰/۵ml خون کامل به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شد و سپس پلاسمای آن جدا گردید، پس از آن اریتروسیت‌ها چهار بار با ۳ml محلول نمکی ۰/۹٪ شسته شدند و پس از هر بار شستشو به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شدند. اریتروسیت‌های شسته و سانتریفوژه شده با آب سرد دوباره تقطیر شده به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شدند و پانزده دقیقه در دمای ۴ °C نگهداری گردیدند. لیزات حاصله با ۰/۰۱ مول بر لیتر با فرفسفات pH=۷ رقیق شد. فعالیت آنزیم با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و با کیت تجاری راندوکس- رانسود اندازه‌گیری شد. این روش توسط دو دانشمند به نام‌های McCord و Fridovich معرفی گردیده است.[۱۴] در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با ماده 2- (4-iodophenyl)-3-(4- nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T) واکنش داده و یک رنگ قرمز تشکیل می‌گردد که با طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با میزان مهار این واکنش اندازه‌گیری می‌شود. واحد SOD مقداری است که موجب ۵۰٪ مهار واکنش فوق می‌گردد. نتایج به‌صورت واحد SOD به ازای گرم هموگلوبین بیان می‌شود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: فعالیت آنزیم GPX نیز با استفاده از خون تام هپارینه که با محلول درابکین رقیق شده بود بر اساس روش Paglia and Valentine اندازه‌گیری شد.[۱۵] در این آزمایش نیز کیت تجاری راندوکس- رانسود استفاده شد. بر اساس این روش آنزیم GPX، اکسیداسیون گلوتاتیون احیا (GSH) توسط

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

کومن هیدروپراکسید را کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) بلافاصله به فرم احیا تبدیل می‌شود و همزمان با آن NADPH به $NADP^+$ اکسید می‌گردد. کاهش در جذب در طول‌موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شده، نتایج به‌صورت واحد آنزیم به ازای گرم هموگلوبین بیان می‌گردد.

اندازه‌گیری وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAS): از سرم تازه که با سانتریفوژ خون با دور ۲۵۰۰rpm برای مدت ۱۵ دقیقه به‌دست آمده برای اندازه‌گیری سطح TAS استفاده شد و کیت اندازه‌گیری وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی متعلق به لابراتوارهای راندوکس مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ABTS® با یک پراکسیداز (مت میوگلوبین) و H_2O_2 برای تولید رادیکال کاتیون $ABTS^{\cdot+}$ انکوبه می‌شود. این ماده یک رنگ نسبتاً ثابت آبی- سبز تولید می‌کند که در طول موج ۶۰۰nm قابل اندازه‌گیری است. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه خون از تولید این ماده به نسبت غلظتشان جلوگیری می‌کنند. در این روش ۲۰µl از نمونه سرم با یک میلی‌لیتر کروموژن (۶/۱ میکرومول در لیتر) مت‌میوگلوبین و ۶۱۰ مول در لیتر ABTS® ترکیب شده، در دمای ۳۷ °C انکوبه می‌شود و سپس جذب اولیه با طول موج ۶۰۰nm گزارش می‌گردد. پس از آن محتوای کووت با ۲۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۰/۲۵ میکرومول بر لیتر مخلوط شده، پس از سه ثانیه میزان جذب مجدداً در ۶۰۰ نانومتر خوانده می‌شود. میزان کاهش جذب کاتیون $ABTS^{\cdot+}$، ناشی از آنتی‌اکسیدان‌های موجود در سرم با یک استاندارد مقایسه می‌گردد.

اندازه‌گیری مالون دی آلدیید: اندازه‌گیری سطح سرمی MDA نیز با روش اسپکترو فوتومتری انجام می‌شود. در این روش با ارزیابی مواد واکنشی تیوباربیتوریک اسید Thiobarbituric Acid- Reactive Substances (TBARs) می‌توان آسیب وارد شده به لیپیدها ناشی از مقادیر بالای ROS را اندازه‌گیری نمود. پر اکسیداسیون لیپید براساس روش Lapenna با استفاده از اسید فسفوریک ۱٪ و تیوباربیتوریک (TBA) اسید ۰/۶٪ اندازه‌گیری می‌شود.[۱۶] رنگ صورتی تولید شده ناشی از واکنش TBA با MDA در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت نانومول TBARs بر میلی‌لیتر سرم و با استفاده از MDA به‌عنوان استاندارد بیان می‌شود. نتایج مطالعه به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار (Mean± SD) بیان شده است. تفاوت سطح TAS، MDA و تفاوت در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX در قبل و بعد از شیمی‌درمانی با استفاده از آزمون χ^2 اندازه‌گیری شده است. مقادیر $p<0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده است و آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۳ انجام شده است.

یافته‌ها

در این مطالعه ۳۸ بیمار شامل ۱۷ زن (۴۴/۷٪) و ۲۱ مرد (۵۵/۳٪) با میانگین سنی ۳۴/۰۵±۴۹ سال و بازه ۱۸ تا ۷۱ سال بررسی شدند. ۲/۶٪، ۷/۹٪، ۴۴/۷٪، ۳۱/۶٪ و ۱۳/۲٪ از این بیماران به‌ترتیب مبتلا به زیرگروه‌های M4, M3, M2, M1, M0 بودند (جدول ۱). تغییرات در سطح SOD, TAS, MDA و GPX با مقایسه مقادیر به‌دست آمده آن‌ها در قبل از شیمی‌درمانی و ۱۴ روز بعد از آن با استفاده از آزمون آماری T زوجی (Paired t- test) مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). مقادیر سرمی MDA در طی دوره ۱۴ روزه پس از شیمی‌درمانی به‌میزان قابل توجهی افزایش یافت (از ۲/۶۸±۰/۸۹nmol/L به ۳/۱۴±۱/۲۹nmol/L با $p=0/04$). سطح پلاسمایی TAS بر اثر شیمی- درمانی تغییر یافت و از ۱/۰۹±۰/۱۵nmol/L قبل از شیمی‌درمانی به ۱/۰۲±۰/۱۴nmol/L بعد از شیمی‌درمانی کاهش‌یافت. ملاحظه می‌شود که سطح TAS به‌میزان زیادی کاهش نشان می‌دهد ($p=0/005$). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX در اریتروسیت‌ها نیز در طی این دوره ۱۴ روزه شیمی‌درمانی کاهش یافت و از ۱۱۵۷/۲۴±۵۴۳/۶۱U/g Hb به ۹۸۴/۰۱±۴۱۹/۰۹U/g Hb ($p=0/04$) برای SOD و از ۴۶/۹۶±۱۳/۷۰U/g Hb به ۴۱/۴۰±۶/۴۴U/g Hb ($p=0/02$) برای GPX رسید (جدول ۲).

لازم به ذکر است که تغییرات سطح GPX, TAS, MDA و SOD در اثر شیمی‌درمانی در بیماران زن و مرد تفاوتی در بر نداشت (به‌ترتیب با $p=0/8$، $p=0/13$، $p=0/74$ و $p=0/77$). ما تغییرات سطح این مؤلفه‌ها را در بیماران مبتلا به AML M3 و بیماران مبتلا به سایر انواع AML نیز مقایسه کردیم. بیماران مبتلا به AML M3 داروی آترا All Trans Retinoic Acid (ATRA) را نیز به‌عنوان جزیی از درمان القایی استاندارد خود دریافت می‌کنند. بر اساس نتایج ما تغییرات سطح GPX, TAS, MDA و SOD در طی شیمی‌درمانی به‌ترتیب با $p=0/12$، $p=0/12$، $p=0/49$ و $p=0/66$ بین بیماران مبتلا به AML M3 و سایر بیماران تفاوتی نشان نداد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

جدول-۱: مشخصات دموگرافیک و نوع ابتلا به لوسمی حاد میلوییدی

متغیر	مقادیر
تعداد بیماران	۳۸
جنس	
زن	۱۷ (٪۴۴/۷)
مرد	۲۱ (٪۵۵/۳)
سن	
بازه	۱۸-۷۱
میانگین	۳۴/۰۵±۱۲/۴۹
نوع لوسمی (فراوانی)	
M0	۱(٪۲/۶)
M1	۳(٪۷/۹)
M2	۱۷(٪۴۴/۷)
M3	۱۲(٪۳۱/۶)
M4	۵(٪۱۳/۲)

M0-M4: زیرگروه‌های لوسمی حاد میلوییدی

جدول-۲: سطح عوامل اکسیدان/ آنتی‌اکسیدان در ۳۸ بیمار مبتلا به لوسمی حاد میلوییدی تحت شیمی‌درمانی

مؤلفه‌ها	قبل از شیمی‌درمانی	بعد از شیمی‌درمانی	p
پلاسما			
(nmol/L) **TAS**	۱/۰۹±۰/۱۵	۱/۰۲±۰/۱۴	۰/۰۰۵
(nmol/L) **MDA**	۲/۶۸±۰/۸۹	۳/۱۴±۱/۲۹	۰/۰۴
اریتروسیت			
(U/gHb) **SOD**	۱۱۵۷/۲۴±۵۴۳/۶۱	۹۸۴/۰۱±۴۱۹/۰۹	۰/۰۴
(U/gHb) **GPX**	۴۶/۹۶±۱۳/۷۰	۴۱/۴۰±۶/۴۴	۰/۰۲

تمام مقادیر به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند. $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. مقایسه مقادیر قبل‌از شیمی‌درمانی و ۱۴ روز بعد از آن با استفاده از آزمون آماری χ^2 (Paired t- test) ارزیابی شد. TAS: Total antioxidant status, MDA: Malondialdehyde, SOD: Superoxide dismutase, GPX: Glutathione Peroxidase

بحث

در این مطالعه سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX در اریتروسیت‌ها و همچنین سطح پلاسمایی MDA و TAS را با مقایسه مقادیر قبل از شیمی‌درمانی و ۱۴ روز پس از شیمی‌درمانی در بیماران مبتلا به AML بررسی و مشاهده کردیم سطح پلاسمایی MDA پس از شیمی‌درمانی با سیتارابین و داناروبیسین افزایش چشم‌گیری پیدا کرد در حالی‌که سطوح SOD, TAS و GPX کاهش یافت. افزایش MDA در این مطالعه نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در ۳۸ بیمار مورد مطالعه ما بود. سیستم کبدی میکروزومی مونواکسیژناز یکی از نواحی اصلی بدن است که داروهای شیمی‌درمانی مثل آنتراسیکلین‌ها در آن‌جا ROS تولید می‌کنند، گرچه مکانیسم‌های دیگر آنزیمی (مثل گزانتین اکسیداز) و غیرآنزیمی (واکنش‌های Fenton and Haber-Weiss) نیز در این امر نقش دارند. زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی در قلب ناحیه دیگری است که آنتراسیکلین‌ها در آن‌جا ROS تولید می‌کنند.[۱۷و۱۸] داناروبیسین یک آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلین است که برای درمان بسیاری از بدخیمی‌ها مثل لوسمی‌های حاد، لنفوم، سرطان معده، پستان و تخمدان، تومورهای استخوانی و سارکوم کاپوسی به‌کار می‌رود.[۱۹] مکانیسم‌های متعددی برای فعالیت متابولیک آنتراسیکلین‌ها به‌عنوان داروهای ضد سرطان پیشنهاد شده است. جالب توجه‌ترین مکانیسم، تاثیر دارو بر DNA دورشته‌ای و مهار فعالیت آنزیم توپوایزومراز II است. بخش کوئینون آنتراسیکلین‌ها می‌تواند به‌طریق آنزیمی احیا شود و در این احیای تک الکترونی یک الکترون به اکسیژن مولکولی انتقال می‌دهد و موجب تولید یک آنیون سوپراکسید و متعاقب آن رادیکال‌های هیدروکسیل از سوپراکسید می‌شود.[۱۸] به‌عبارت دیگر داناروبیسین وضعیت اکسیداتیو را به‌واسطه ساختار کوئینون خود القا می‌کند، به این ترتیب که NADPH– سیتوکروم P450 این دارو را به یک رادیکال آزاد سمی کوئینون تبدیل می‌کند که به‌دنبال آن رادیکال سمی کوئینون توسط اکسیژن دوباره اکسید شده به شکل اول باز می‌گردد و در طی این واکنش آنیون‌های سوپراکسید تولید می‌گردند.[۲۰] این فرایندها موجب تحریک فعالیت آنزیمی SOD شده که این خود موجب افزایش تولید هیدروپراکسیدها می‌گردد. در این زمان آنزیم GPX در پاسخ به سطح بالای پراکسیداز تحریک شده با استفاده از یون‌های فلزی موجب تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل می‌گردد. رادیکال‌های هیدروکسیل می‌توانند با اسیدهای چرب چند غیر اشباع واکنش داده آلدییدهای قابل انتشار تولید کنند[۲۰] همان‌طور که افزایش MDA در مطالعه ما منعکس‌کننده این مسأله بود. داروی شیمی‌درمانی سیتارابین (سیتوزین آرابینوزید) در درمان لوسمی‌ها به‌کار می‌رود.[۱۰] این دارو موجب تولید ROS و آسیب اکسیداتیو به DNA و آپوپتوز وابسته به P53 می‌شود. مکانیسمی که با آن سیتارابین موجب تشکیل ROS می‌گردد هنوز به‌خوبی مشخص نیست. یک فرضیه حاکی از آن است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

که سیتارابین تولید ATP را افزایش می‌دهد و موجب بالا رفتن سطح فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در سلول‌های لوسمیک می‌شود که این امر موجب تولید ROS می‌گردد. از سوی دیگر سیتارابین می‌تواند بر متابولیسم لیپیدها تاثیر بگذارد. کولین فسفوترانسفراز با استفاده از سیتارابین دی‌رادیل‌گلیسرول و مشتق کولینی سیتارابین را تولید می‌کند. دی‌رادیل‌گلیسرول توسط آنزیم دی‌گلیسرید لیپاز داستریفیه شده و این واکنش منجر به تشکیل اسیدهای چربی از قبیل آراشیدونیک اسید می‌شود و متابولیسم این اسیدهای چرب موجب افزایش تولید ROS خواهد گردید. با این وجود مکانیسم دقیقی که تولید ROS و افزایش استرس اکسیداتیو توسط سیتارابین را شرح دهد چندان روشن نیست.[۱۰] سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن از سه سطح تشکیل شده است.[۱] آنتی‌اکسیدان‌های سطح اول اساساً از تشکیل ROS جلوگیری می‌کنند و شامل آنزیم‌های GPX, SOD و پروتیین‌های باند شونده به فلزات (فریتین و سرولوپلاسمین) می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های سطح دوم مانع از واکنش‌های زنجیره‌ای می‌شوند و به این ترتیب رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازند. این آنتی‌اکسیدان‌ها شامل ویتامین E، ویتامین C، بتاکاروتن، اسید اوریک، آلبومین و بیلی‌روبین می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های سطح سوم آنزیم‌هایی هستند که بیومولکول‌هایی مانند DNA که توسط رادیکال‌های آزاد آسیب دیده‌اند ترمیم می‌کنند. با اندازه‌گیری وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAS)، مجموع اثرات آنتی‌اکسیدان‌های این سه گروه در جریان خون ارزیابی می‌شود.[۱] بنابراین تعیین سطح TAS ابزار مناسبی برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن محسوب می‌شود[۲۱] و کاهش آن همان‌گونه که در این مطالعه دیده می‌شود می‌تواند نمایان‌گر مصرف این آنتی‌اکسیدان‌ها توسط ROS باشد. SOD خط اول دفاع آنزیمی بدن در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که دیس موتاسیون آنیون سوپراکسید به هیدروژن پراکسید (H_2O_2) را کاتالیز می‌کند. هیدروژن پراکسید می‌تواند توسط آنزیم‌های GPX یا کاتالاز به آب و اکسیژن تبدیل شود.[۱۶] علاوه بر H_2O_2، GPX در ترکیب با گلوتاتیون احیا (GSH) با اکسید کردن گلوتاتیون موجب احیا لیپیدها یا هیدروپراکسیدهای غیر لیپیدی می‌شود.[۱۳و۲۲] تخلیه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند ناشی از تلاش بدن برای مواجهه با افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدها باشد. فرضیه دیگر این است که SOD, GPX خود نسبت به اکسیداسیون توسط ROS و پراکسیدهای لیپیدی آسیب‌پذیر هستند به‌عبارت دیگر این آنزیم‌ها می‌توانند توسط سوبستراهای خودشان غیر فعال شوند.[۲۳و۲۴] MDA و آنیون‌های سوپراکسید نیز می‌توانند تا حدی موجب مهار فعالیت آنزیم GPX گردند.[۲۴و۲۵] افزایش سطح پلاسمایی MDA همراه با تخلیه سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پس از شیمی‌درمانی در بیماران مورد مطالعه ما مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعات پیشین در بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوبلاستیک[۲۶] و لنفوم هوچکین[۲۷] است. همچنین نتایج مشابهی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات،[۲۴] ملانوم[۲۸] و بیماران مبتلا به سرطان دهان تحت پرتودرمانی[۷] دیده شده است. مقادیر طبیعی مرجع آزمایشگاهی ما برای SOD, TAS و GPX در افراد بزرگ‌سال سالم از این قرار است، TAS: ۱/۳۰±۱/۷۷nmol/L، SOD: ۱۶۰۱-۱۱۰۲U/gHb و GPX: ۷۳/۶-۲۷/۵U/gHb. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میانگین سطح TAS در این بیماران قبل از شیمی‌درمانی نیز پایین‌تر از سطح طبیعی بوده است (۱/۰۹±۰/۱۵nmol/L) و میانگین سطح SOD پس از شیمی‌درمانی به پایین‌تر از سطح نرمال رسیده است (۹۸۴/۰۱±۴۱۹/۰۹U/gHb). شواهد زیادی نشان می‌دهد که ROS در ایجاد و پیش‌برد سرطان موثر است. این‌که آیا استرس اکسیداتیو در ایجاد AML نیز نقش دارد هنوز مشخص نیست و توجهات زیادی را به خود معطوف کرده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این مطالعه شیمی‌درمانی با داناروبیسین و سیتارابین در بیماران مبتلا به AML موجب افزایش سطح MDA و کاهش چشمگیر GPX, SOD و TAS به‌عنوان اجزای مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌گردد. به‌نظر می‌رسد این تغییرات ناشی از تولید مقادیر زیاد ROS در بیماران مبتلا به AML تحت شیمی‌درمانی با داناروبیسین و سیتارابین است. به‌نظر می‌رسد بررسی ارتباط بین وضعیت اکسیدانی/ آنتی‌اکسیدانی بدن با مسمومیت ناشی از شیمی‌درمانی امری لازم باشد. علاوه بر آن، مطالعه تاثیر مکمل یاری با آنتی‌اکسیدان‌ها برای بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در این بیماران پیشنهاد می‌گردد. از آنجایی‌که نمی‌توان با قطعیت گفت که ایجاد استرس اکسیداتیو بخش اصلی مکانیسم عمل این داروهای شیمی‌درمانی باشد، توصیه می‌شود استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدان با احتیاط انجام پذیرد. *سپاسگزاری:* از جناب آقای وطن‌خواه به‌خاطر کمک‌های بی‌دریغشان در انجام آزمایشات بیوشیمیایی بسیار سپاسگزاریم.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

References

1. Er TK, Tsai SM, Wu SH, Chiang W, Lin HC, Lin SF, et al. Antioxidant status and superoxide anion radical generation in acute myeloid leukemia. *Clin Biochem* 2007;40(13-14):1015-9.
2. Colvin GA, Elfenbein GJ. The latest treatment advances for acute myelogenous leukemia. *Med Health R I* 2003;86(8):243-6.
3. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, et al, editors. SEER cancer statistics review, 1975-2002. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2005.
4. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341(14):1051-62.
5. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;293(1-2):53-62.
6. Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer* 2000;37(1):1-18.
7. Sabitha KE, Shyamaladevi CS. Oxidant and antioxidant activity changes in patients with oral cancer and treated with radiotherapy. *Oral Oncol* 1999;35(3):273-7.
8. Yates JW, Wallace HJ Jr, Ellison RR, Holland JF. Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Chemother Rep* 1973;57(4):485-8.
9. Injac R, Strukelj B. Recent advances in protection against doxorubicin-induced toxicity. *Technol Cancer Res Treat* 2008;7(6):497-516.
10. Geller HM, Cheng KY, Goldsmith NK, Romero AA, Zhang AL, Morris EJ, et al. Oxidative stress mediates neuronal DNA damage and apoptosis in response to cytosine arabinoside. *J Neurochem* 2001;78(2):265-75.
11. Sheng-Tanner X, Bump EA, Hedley DW. An oxidative stress-mediated death pathway in irradiated human leukemia cells mapped using multilaser flow cytometry. *Radiat Res* 1998;150(6):636-47.
12. Hedley DW, McCulloch EA. Generation of reactive oxygen intermediates after treatment of blasts of acute myeloblastic leukemia with cytosine arabinoside: role of bcl-2. *Leukemia* 1996;10(7):1143-9.
13. Pejić S, Kasapović J, Todorović A, Stojiljković V, Pajović SB. Lipid peroxidation and antioxidant status in blood of patients with uterine myoma, endometrial polypus, hyperplastic and malignant endometrium. *Biol Res* 2006;39(4):619-29.
14. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244(22):6049-55.
15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
16. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cuccurullo F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2001;31(3):331-5.
17. Gille L, Nohl H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1997;23(5):775-82.
18. Conklin KA. Cancer chemotherapy and antioxidants. *J Nutr* 2004;134(11):3201S-3204S.
19. Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Res* 2002;62(16):4592-8.
20. Abd El-Gawad HM, El-Sawalhi MM. Nitric oxide and oxidative stress in brain and heart of normal rats treated with doxorubicin: role of aminoguanidine. *J Biochem Mol Toxicol* 2004;18(2):69-77.
21. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)* 1993;84(4):407-12.
22. Rajneesh CP, Manimaran A, Sasikala KR, Adaikappan P. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer. *Singapore Med J* 2008;49(8):640-3.
23. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, et al. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev* 1990;51(3):283-97.
24. Aydin A, Arsova-Sarafinovska Z, Sayal A, Eken A, Erdem O, Erten K, et al. Oxidative stress and antioxidant status in non-metastatic prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Clin Biochem* 2006;39(2):176-9
25. Arshad MA, Bhadra S, Cohen RM, Subbiah MT. Plasma lipoprotein peroxidation potential: a test to evaluate individual susceptibility to peroxidation. *Clin Chem* 1991;37(10 Pt 1):1756-8.
26. Battisti V, Maders LD, Bagatini MD, Santos KF, Spanevello RM, Maldonado PA, et al. Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukemia patients. *Clin Biochem* 2008;41(7-8):511-8.
27. Kaya E, Keskin L, Aydogdu I, Kuku I, Bayraktar N, Erkut MA. Oxidant/antioxidant parameters and their relationship with chemotherapy in Hodgkin's lymphoma. *J Int Med Res* 2005;33(6):687-92.
28. Gadjeva V, Dimov A, Georgieva N. Influence of therapy on the antioxidant status in patients with melanoma. *J Clin Pharm Ther* 2008;33(2):179-85.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 11, Feb 2011: 649-655

Assessment of oxidative stress in acute myeloid leukemia

Ali Esfahani MD.[1*]
Zohreh Ghoreishi MSc.[2]
Alireza Nikanfar MD.[1]
Zohreh Sanaat MD.[1]
Amir Ghorbanihaghjo PhD.[3]
Nadereh Rashtchizadeh PhD.[3]

1- Department of Hematology-Oncology, Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
2- Department of Nutrition and Biochemistry, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Applied Drug Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

[*] Corresponding author: Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
Tel: +98-411-3343811-3
email: ali_sfhn@yahoo.com

Received: August 28, 2010 Accepted: December 04, 2010

Abstract

Background: Many chemotherapeutic regimens used in the treatment of cancer generate free radicals that may be a part of their beneficial effects. The aim of this study was to assess the oxidative status in patients undergoing chemotherapy for acute myeloid leukemia (AML).

Methods: Thirty-eight patients with AML (17 female and 21 male patients) with a mean age 34.05±12.49 years were included in the study. All the patients received cytarabine and daunorubicin as their standard induction therapy. Serum levels of malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), and also the erythrocyte superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities were measured before and 14 days after chemotherapy.

Results: Plasma malondialdehyde concentrations increased significantly (from a former 2.68±0.89 nmol/ml to 3.14±1.29 nmol/ml) 14 days post chemotherapy (p=0.04). Moreover, the total plasma antioxidant capacity changed from 1.09±0.15 mmol/L to 1.02±0.14 mmol/L (p=0.005). Erythrocyte superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity decreased over time from 1157.24±543.61 U/gHb to 984.01±419.09 U/gHb (p=0.04) and 46.96±13.70 U/gHb to 41.40±6.44 U/gHb (p=0.02), respectively.

Conclusion: In this study, an increase in malondialdehyde levels and a decrease in the levels of antioxidant enzymes and total antioxidant capacity were observed. It seems that chemotherapy by cytarabine and daunorubicin generates enormous amounts of free radicals in patients undergoing the treatment for AML. Use of antioxidant supplementation during chemotherapy i is discouraged as it may interfere with the generation of free radicals that may be a part of the therapeutic efficacy of these drugs.

Keywords: Acute myeloid leukemia, antioxidant, cytarabine, daunorubicin, oxidative stress.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-22]