

بررسی استرس اکسیداتیو در لوسومی حاد میلوییدی

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

چکیده

زمینه و هدف: بسیاری از داروهای شیمی درمانی موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند که می‌تواند بخشی از مکانیسم اثربخشی آن‌ها باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر شیمی درمانی بر وضعیت اکسیداتیو در بیماران مبتلا به لوسومی حاد میلوییدی (AML) است. روش بررسی: ۳۸ بیمار مبتلا به AML (۱۷ زن و ۲۱ مرد) با میانگین سنی ۴۹ ± ۱۲ وارد مطالعه شدند. این بیماران رژیم سیتارابین و داناروبیسین دریافت کردند. سطح سرمی مالون دال‌دید (MDA)، وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAS) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیس موتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در اریتروسیت‌ها قبل از شروع شیمی درمانی و ۱۴ روز پس از شیمی درمانی مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** مقادیر سرمی MDA در طی ۱۴ روز پس از شیمی درمانی افزایش یافت (از $۲/۶۸\pm۰/۸۹$ nmol/L به $۳/۱۴\pm۱/۲۹$ nmol/L با $p=0/۰۴$). سطح پلاسمایی TAS از $۱/۰۹\pm۰/۱۵$ mmol/L قبل از شیمی درمانی به $۱/۰۲\pm۰/۱۴$ mmol/L بعد از شیمی درمانی کاهش یافت ($p=0/۰۵$). فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX در اریتروسیت‌ها نیز در طی این دوره کاهش یافت و از مقدادر $۱۱۵۷/۲۴\pm۵۴۳/۶۱$ U/g به $۹۸۴/۰\pm۴۱۹/۰۹$ U/g در مقدادر $۴۱/۴۰\pm۶/۴۴$ U/g به $۴۶/۹۶\pm۱۲/۷۰$ U/g ($p=0/۰۲$) برای GPX رسید. **نتیجه‌گیری:** در این مطالعه، افزایش سطح MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت SOD، GPX و TAS مشاهده شد که نشان می‌دهد شیمی درمانی با سیتارابین و داناروبیسین در بیماران مبتلا به AML موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد. ولی توصیه به مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدان در هین شیمی درمانی باید با احتیاط انجام شود چرا که تولید رادیکال‌های آزاد ممکن است بخشی از مکانیسم اثربخشی این داروها باشد.

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

علی اصفهانی^{۱*}، زهره قریشی^۲

علیرضا نیکانفر^۱، زهره صناعت^۱

امیر قربانی حقجو^۳، نادره رشتچی زاده^۳

۱- گروه خون، بیمارستان شهید قاضی طباطبائی، 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 طباطبائی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه خون

تلفن: ۰۴۱-۳۳۴۴۸۱۱-۳

email: ali_sfhn@yahoo.com

مقدمه

و پیش‌آگهی عاری از بیماری Disease free survival در خوبی ندارد.^۴ عوامل خطر متعددی با بروز AML ارتباط دارند از جمله: بزرگ،^۵ تشعشع، دخانیات، شیمی درمانی‌های قبلی و حشره‌کش‌ها.^۶ اخیراً ارتباط بین استرس اکسیداتیو و بروز AML نیز مطرح شده است.^۷ بسیاری از داروهای شیمی درمانی که در درمان سرطان به کار می‌روند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند که بخشی از فعالیت متابولیک این داروها محسوب می‌شود^۸ و این داروها با افزایش تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) Reactive Oxygen Species را اثربخشی خود را افزایش می‌دهند.^۹ از سال ۱۹۷۳ ترکیب داروی آنتراسیکلین و سیتارابین درمان القایی استاندارد برای بیماری AML بوده است.^{۱۰} به نظر می‌رسد هر دوی این داروها موجب تولید رادیکال‌های آزاد و

لوسومی حاد میلوییدی Acute Myeloid Leukemia (AML) نوپلاسم رده میلوییدی گلوبول‌های سفید خون است و ویژگی آن تجمع غیرطبیعی سلول‌های بلاست در مغز استخوان است که مانع از تولید سلول‌های خونی طبیعی می‌شود.^{۱۱} عموماً در بزرگ‌سالان دیده می‌شود و بروز آن با افزایش سن بیشتر می‌گردد.^{۱۲} میزان بروز آن در بزرگ‌سالان زیر ۶۵ سال $۱/۸$ در هر صد هزار است در حالی که این رقم برای افراد بالای ۶۵ سال $۱۷/۹$ در هر صد هزار می‌رسد.^{۱۳} حدود ۳۰٪ از افرادی که به AML مبتلا می‌شوند و در محدوده سنی بین ۱۸ تا ۶۰ سال قرار دارند می‌توانند درمان شوند با این وجود شیمی درمانی به ویژه در بیماران مسن‌تر عوارض شدیدتری در بر دارد

سطح بدن به روش انفوژیون 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 کردند. 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 به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ 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 به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند. اریتروسیت‌های شسته و سانتریفیوژ شده با آب سرد دوباره تقطیر شده به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شدند و پانزده دقیقه در دمای ۰°C ۴ نگهداری گردیدند. لیزات حاصله با ۰/۰۱ مول بر لیتر با فرفسفات pH=۷ رقیق شد. فعالیت آنزیم با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری 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 گرانتین و گرانتین اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با ماده ۴-(4-iodophenyl)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T) و اکشن داده و یک رنگ قرمز تشکیل می‌گردد که با طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز با میزان مهار این اکشن اندازه‌گیری می‌شود. واحد SOD مقداری است که موجب ۵٪ مهار اکشن فوق می‌گردد. نتایج به صورت 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

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 سوپراکسید دیس موتاز Superoxide Dismutase (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (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 لیبیدها در بیماران مبتلا به AML است و تغییرات مؤلفه‌های اکسیدان/ آنتی‌اکسیدان در خون بیماران مبتلا به AML با اندازه‌گیری الف) مالون دی‌آلدیید (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیبیدها) ب) وضعیت تام آنتی‌اکسیدانی Total Antioxidant Status (TAS) (ج) سوپراکسید دیس موتاز 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 طباطبائی 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 بلک و تایید زیرگروه توسط آزمایش فلوسیتو متری 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 به ازای متر مربع

و GPX در قبل و بعد از شیمی درمانی با استفاده از آزمون χ^2 اندازه گیری شده است. مقادیر $0.05 < p < 0.005$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شده است و آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS ویراست ۱۳ انجام شده است.

یافته ها

در این مطالعه ۳۸ بیمار شامل ۱۷ زن (۴۴٪) و ۲۱ مرد (۵۵٪) با میانگین سنی 34 ± 5 سال و بازه ۱۸ تا ۷۱ سال بررسی شدند. $2/6 \pm 2/6$ ٪، $7/9 \pm 3/1$ ٪، $44/7 \pm 13/2$ ٪ از این بیماران به ترتیب مبتلا به زیرگروه های M0, M1, M2, M3, M4 باشد (جدول ۱). تغییرات در سطح SOD, TAS, MDA, GPX با مقایسه مقادیر به دست آمده آن ها در قبل از شیمی درمانی 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 شیمی درمانی به میزان قابل توجهی افزایش یافت (از 89 ± 68 nmol/L به 142 ± 10 nmol/L). سطح پلاسمایی TAS بر اثر شیمی درمانی تغییر یافت و از 15 ± 10 nmol/L قبل از شیمی درمانی به 29 ± 14 nmol/L بعد از شیمی درمانی کاهش یافت. ملاحظه می شود که سطح TAS به میزان زیادی کاهش نشان می دهد ($p = 0.005$). فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و GPX در اریتروسیت ها نیز در طی این دوره ۱۴ روزه شیمی درمانی کاهش یافت و از 41 ± 40 U/g Hb به 61 ± 54 U/g Hb (p = 0.04) (p = 0.02) برای SOD و از 44 ± 9 U/g Hb به 13 ± 9 U/g Hb (p = 0.02) برای GPX رسید (جدول ۲).

لازم به ذکر است که تغییرات سطح SOD, TAS, MDA و GPX در اثر شیمی درمانی در بیماران زن و مرد تفاوتی در بر نداشت (به ترتیب با $p = 0.08$, $p = 0.077$, $p = 0.074$, $p = 0.013$). ما تغییرات سطح این مؤلفه ها را در بیماران مبتلا به AML M3 و بیماران مبتلا به سایر انواع AML نیز مقایسه کردیم. بیماران مبتلا به AML M3 داروی آتراء All Trans Retinoic Acid (ATRA) را نیز به عنوان جزیی از درمان القایی استاندارد خود دریافت می کنند. بر اساس نتایج ما تغییرات سطح SOD, TAS, MDA و GPX در طی شیمی درمانی به ترتیب با $p = 0.02$, $p = 0.09$, $p = 0.06$ و $p = 0.04$ میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) بین بیماران مبتلا به AML M3 و سایر بیماران تفاوتی نشان نداد.

کومن هیدروپراکسید را کاتالیز می کند. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) بلا فاصله به فرم احیا تبدیل می شود و همزمان با آن NADPH به $NADP^+$ اکسید می گردد. کاهش در جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری شده، نتایج به صورت واحد آنزیم به ازای گرم همو گلوبین بیان می گردد. آندازه گیری وضعیت تام آنتی اکسیدانی (TAS) از سرم تازه که با سانتریفیوژ خون با دور 2500 rpm برای مدت ۱۵ دقیقه به دست آمده برای اندازه گیری سطح TAS استفاده شد و کیت اندازه گیری وضعیت تام آنتی اکسیدانی متعلق به لابراتوارهای راندوکس مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ABTS[®] با یک پراکسیداز (مت میو گلوبین) و H_2O_2 برای تولید رادیکال کاتیون $^{\cdot}OH$ انکویه می شود. این ماده 600 nm قابل اندازه گیری است. آنتی اکسیدان های موجود در نمونه خون از تولید این ماده به نسبت غلظتشان جلوگیری می کنند. در این روش $20\mu\text{l}$ از نمونه سرم با یک میلی لیتر کروموزن $(6/1\text{ میکرومول در لیتر})$ مت میو گلوبین و $610\text{ مول در لیتر ABTS}^{\cdot}$ ترکیب شده، در دمای 37°C انکویه می شود و سپس جذب اولیه با طول موج 600 nm گزارش می گردد. پس از آن محتوای کووت با $200\text{ میکرولیتر H}_2O_2$ 25°C میکرومول بر لیتر مخلوط شده، پس از سه ثانیه میزان جذب مجدد در 600 nm نانومتر خوانده می شود. میزان کاهش جذب کاتیون $^{\cdot}OH$ ناشی از آنتی اکسیدان های موجود در سرم با یک استاندارد ABTS مقایسه می گردد.

اندازه گیری مالون دی آلدیید: اندازه گیری سطح سرمی MDA نیز با روش اسپکترو فوتومتری انجام می شود. در این روش با ارزیابی مواد واکنشی تیوباربیتریک اسید Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (TBARS) می توان آسیب وارد شده به لبییدها ناشی از مقادیر بالای ROS را اندازه گیری نمود. پر اکسیداسیون لبیید بر اساس روش Lapenna با استفاده از اسید فسفوریک ۱٪ و تیوباربیتریک (TBA) اسید 0.06% اندازه گیری می شود.¹⁶ رنگ صورتی تولید شده ناشی از واکنش TBA با MDA در طول موج 532 nm نانومتر اندازه گیری و نتایج به صورت نانومول TBARS بر میلی لیتر سرم و با استفاده از MDA به عنوان استاندارد بیان می شود. نتایج مطالعه به صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) (بیان شده است. تفاوت سطح MDA و تفاوت در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی TAS, SOD)

MDA در این مطالعه نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لپیدی در ۳۸ بیمار مورد مطالعه ما بود. سیستم کبدی میکروزومی مونواکسیژن‌ناز یکی از نواحی اصلی بدن است که داروهای شیمی‌درمانی مثل آنتراسیکلین‌ها در آن جا ROS تولید می‌کنند، گرچه مکانیسم‌های دیگر آنزیمی (مثل گزانین 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 آن جا ROS تولید می‌کنند.^{۱۸} دانارویسین یک آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلین است که برای درمان بسیاری از بدخیمی‌ها مثل لوسمی‌های حاد، لنفوم، سرطان معده، پستان و تخمدان، تومورهای استخوانی و سارکوم کاپوسی به کار می‌رود.^{۱۹} مکانیسم‌های متعددی برای فعالیت متابولیک آنتراسیکلین‌ها به عنوان 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 به طریق 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} به عبارت دیگر دانارویسین وضعیت اکسیداتیو را به واسطه ساختار کوئینون خود القا می‌کند، به این ترتیب که NADPH-سیتوکروم P450 این دارو را به یک رادیکال آزاد سمی کوئینون تبدیل می‌کند که به دنبال آن رادیکال سمی کوئینون توسط اکسیژن دوباره اکسید شده به شکل اول باز می‌گردد و در طی این واکنش آنیون‌های سوپراکسید تولید می‌گردد.^{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 آلدیدهای قابل انتشار تولید کنند.^{۲۱} همان‌طور که افزایش MDA در مطالعه ما معنکس‌کننده این مسئله بود. داروی شیمی‌درمانی سیتارابین (سیتوزین آرabinوزید) در درمان لوسمی‌ها به کار می‌رود.^{۲۰} 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 به خوبی مشخص نیست. یک فرضیه حاکم از آن است

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

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

M0-M4: زیرگروه‌های لوسمی حاد میلوییدی

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

مؤلفه‌ها	p	قبل از شیمی‌درمانی	بعد از شیمی‌درمانی	پلاسما
(nmol/L) TAS				
۰/۰۵		۱/۰۲±۰/۱۴	۱/۰۹±۰/۱۵	
۰/۰۴		۳/۱۴±۱/۲۹	۲/۶۸±۰/۸۹	(nmol/L) MDA
(U/gHb) SOD				
۰/۰۴		۹۸۴/۰۱±۴۱۹/۰۹	۱۱۵۷/۲۴±۵۴۳/۶۱	
۰/۰۲		۴۱/۴۰±۶/۴۴	۴۶/۹۶±۱۳/۷۰	(U/gHb) GPX

تمام مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. $p < 0.05$ از نظر آماری معنی دار می‌باشد. مقایسه مقادیر قبل از شیمی‌درمانی و ۱۴ روز بعد از آن با استفاده از آزمون آماری 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 MDA بیماران مبتلا به AML بررسی و مشاهده کردیم سطح پلاسمایی MDA پس از شیمی‌درمانی با سیتارابین و دانارویسین افزایش چشم‌گیری پیدا کرد در حالی که سطوح SOD, TAS و GPX کاهش یافت. افزایش

آسیب‌پذیر هستند به عبارت دیگر این آنزیم‌ها می‌توانند توسط سوبستراهای خودشان غیر فعال شوند.^{۲۲،۲۳} MDA و آنیون‌های سوپراکسید نیز می‌توانند تا حدی موجب مهار فعالیت آنزیم GPX گردند.^{۲۴} افزایش سطح پلاسمایی MDA همراه با تخلیه سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پس از شیمی درمانی در بیماران مورد مطالعه ما مشابه نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین در بیماران مبتلا به لوسومی حاد لفغولاستیک^{۲۵} و لنفوم هوچکین^{۲۶} است. همچنین نتایج مشابهی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات،^{۲۷} ملانوم^{۲۸} و بیماران مبتلا به سرطان دهان تحت پرتودرمانی^{۲۹} دیده شده است. مقادیر طبیعی مرجع آزمایشگاهی ما برای SOD، TAS و GPX در افراد بزرگسال سالم از این قرار است، TAS: $1,30 \pm 1/77\text{nmol/L}$, SOD: $1,10-160\text{U/gHb}$ و GPX: $27/5-73/6\text{U/gHb}$. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میانگین سطح TAS در این بیماران قبل از شیمی درمانی نیز پایین‌تر از سطح طبیعی بوده است ($1/10-15\text{nmol/L}$) و میانگین سطح SOD پس از شیمی درمانی به پایین‌تر از سطح نرمال رسیده است ($984/10-419/0.9\text{U/gHb}$). 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 به دست آمده از این مطالعه شیمی درمانی با داناروبیسین و سیتاراپین در بیماران مبتلا به AML تحت شیمی درمانی با داناروبیسین و سیتاراپین است. TAS به عنوان اجزای مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌گردد. به نظر می‌رسد این تغییرات ناشی از تولید مقادیر زیاد ROS در بیماران مبتلا به AML تحت شیمی درمانی با داناروبیسین و سیتاراپین است. آنتی‌اکسیدانی در این بیماران پیشنهاد می‌گردد. از آنجایی که نمی‌توان مطالعه تاثیر مکمل یاری با آنتی‌اکسیدان‌ها برای بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در این بیماران پیشنهاد می‌گردد. عمل این داروهای شیمی درمانی باشد، توصیه می‌شود استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدان با احتیاط انجام پذیرد. سپاسگزاری: از جناب آقای وطن خواه به خاطر کمک‌های بی‌دریغشان در انجام آزمایشات بیوشیمیایی بسیار سپاسگزاریم.

که سیتاراپین تولید ATP را افزایش می‌دهد و موجب بالا رفتن سطح فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در سلول‌های لوسومیک می‌شود که این امر موجب تولید ROS می‌گردد. از سوی دیگر سیتاراپین می‌تواند بر متابولیسم لپیدها تاثیر بگذارد. کولین فسفوترانسферاز با استفاده از سیتاراپین دی‌رادیل گلیسرول و مشتق کولینی سیتاراپین را تولید می‌کند. دی‌رادیل گلیسرول توسط آنزیم دی‌گلیسرید لپیاز داستریفیه شده و این واکنش منجر به تشکیل اسیدهای چربی از قبیل آراسیدونیک اسید می‌شود و متابولیسم این اسیدهای چرب موجود افزایش تولید ROS خواهد گردید. با این وجود مکانیسم دقیقی که تولید ROS و افزایش استرس اکسیداتیو توسط سیتاراپین 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 SOD، GPX و پروتئین‌های 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 بیلی‌روین 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 لپیدها یا هیدروپراکسیدهای غیر لپیدی می‌شود.^{۲۲} تخلیه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند ناشی از تلاش بدن برای مواجهه با افزایش سطح پراکسیداسیون لپیدها باشد. فرضیه دیگر این است که SOD، GPX خود نسبت به اکسیداسیون توسط ROS و پراکسیدهای لپیدی

References

- 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.
- Colvin GA, Elsenbein GJ. The latest treatment advances for acute myelogenous leukemia. *Med Health R I* 2003;86(8):243-6.
- 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.
- Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341(14):1051-62.
- 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.
- Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer* 2000;37(1):1-18.
- 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.
- 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.
- Injac R, Strukelj B. Recent advances in protection against doxorubicin-induced toxicity. *Technol Cancer Res Treat* 2008;7(6):497-516.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244(22):6049-55.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
- Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cucurullo 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.
- Gille L, Nohl H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1997;23(5):775-82.
- Conklin KA. Cancer chemotherapy and antioxidants. *J Nutr* 2004;134(11):3201S-3204S.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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 Ghorbanikhaghjo 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.

Abstract

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

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 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.

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